

# Иммунобиологические и генотерапевтические лекарственные препараты.

Классификация, применение в медицине. Общие требования к  
производству биологических лекарственных препаратов.  
Иммунобиологические лекарственные препараты.

**Дисциплина выбора  
«Иммунобиологические и генотерапевтические препараты»**

# Биологические лекарственные препараты

- - лекарственные препараты, действующее вещество которых произведено или выделено из биологического материала и для определения свойств и качества которых необходима комбинация биологических и физико-химических методов.

# Классификация биотехнологических лекарственных препаратов :

- биотехнологические;
- иммунологические (вакцины, гетерологичные иммуноглобулины и иммуносыворотки, диагностикумы и аллергены);
- препараты, получаемые из плазмы (альбумин, факторы свертывания, иммуноглобулин человека);
- препараты передовой терапии, включающие препараты для генной и клеточной терапий, а также препараты тканевой инженерии;
- Не рекомбинантные препараты (ботулотоксины, пищеварительные ферменты, урофоллитропины, гепарины и т. д).

# Особенности биологических лекарственных препаратов



# Классификация биотехнологических лекарственных препаратов:

- **биотехнологические лекарственные препараты** - это лекарственные препараты, производство которых осуществляется с использованием биотехнологических процессов и методов (в том числе ДНК-рекомбинантной технологии, технологии контролируемой экспрессии генов, кодирующих биологически активные белки в прокариотах и эукариотах, включая измененные клетки млекопитающих), гибридного метода и метода моноклональных антител;
- **генотерапевтические лекарственные препараты** – это лекарственные препараты, фармацевтическая субстанция которых является рекомбинантной нуклеиновой кислотой или включает в себя рекомбинантную нуклеиновую кислоту, позволяющую осуществлять регулирование, репарацию, замену, добавление или удаление генетической последовательности.

# Состав биологических лекарственных средств

*Биологические лекарственные средства могут содержать*

- белки, пептиды и/или производные белков и пептидов
- гликопротеины; живые или инактивированные микробы (бактерии, вирусы), их антигены, антитела к ним, метаболиты и другие действующие вещества биологического происхождения (например, цитокины, моноклональные антитела, рецепторы клеток, рекомбинантные белки, подобные цитокинам или факторам свертывания из плазмы крови, вакцины на основе рекомбинантных белков и т.п.)
- вспомогательные вещества различного функционального назначения (стабилизаторы, адъюванты, сорбенты, консерванты, наполнители и др)

# Особенности биопрепаратов

- **высокая специфичность механизма действия и «прицельность»**, что обуславливает их низкую неспецифическую токсичность, а их небезопасность в первую очередь опосредуется фармакологическим действием и иммуногенностью, а также способностью к неконтролируемой репликации или пролиферации и росту;
- **высокая чувствительность к окружающим факторам**, в результате чего как производство, так и хранение, транспортировка, реализация и применение биопрепаратов должны осуществляться в щадящих, строго контролируемых условиях. Клетки-продуценты очень требовательны к условиям содержания;
- **неустойчивость во внешней среде**, из-за чего биопрепараты, как правило, должны находиться в водных средах или подвергаться лиофилизации, в то время как низкомолекулярные вещества не имеют таких сильных ограничений, и зачастую могут находиться в капсулах, таблетках и т. п.;
- **преимущественно парентеральный путь введения** (как правило, внутривенно); поскольку при этом препарат поступает во внутренние среды организма, минуя защитные барьеры, их необходимо тщательно стерилизовать, что создает дополнительные проблемы, так как биопрепараты подвержены биологической контаминации и не могут подвергаться агрессивным методам стерилизации и очистки для устранения бионагрузки;
- **основной упор на разработку биологического действующего вещества**, обеспечение однородности его свойств, очистку и поддержание стабильности; разработка **формуляции** (водного раствора) относительно проста по сравнению с усилиями, прилагаемыми к разработке лекарственной формы для низкомолекулярных действующих веществ (таблетки, мази, аэрозоли, пластыри).

# Производство препаратов на основе клеток



# Производство биологических препаратов

- Разработка биопрепарата начинается с подбора клеточной мишени, на которую направлено действие препарата. Чаще всего это рецептор на поверхности живой клетки или другой поверхностный белок. После выбора мишени, к ней подбирается антиген связывающий участок антитела определенной аминокислотной последовательности (каждое антитело состоит из неизменной части, специфичной для конкретного биологического вида — человека, мыши и т. д., и антигенсвязывающего участка, отвечающего за действие на конкретную мишень) и тестируется *in silico* – проходит компьютерное моделирование. Затем, методом синтеза, производится ген, кодирующий этот аминокислотный порядок, с участками, обеспечивающими его активность в живой клетке.

# Способы интеграции гена в геном клетки биоматериала

- Электропорация.

*К клетке подается короткий импульс электрического тока, в результате чего клеточная мембрана дестабилизируется. Ген-вставка встроена в плазмиду, выполняющую функцию вектора – молекулу ДНК - проникает снаружи внутрь клетки, интегрируясь в нужные участки хромосомы. Почему невозможно доставить ген непосредственно в клетку, минуя процесс вставки в вектор? Как известно ген – это часть ДНК, определенная последовательностью нуклеиновых кислот. И если этот материал попадет внутрь клеточной мембраны, то будет бесследно растворен ферментами нуклеазами, которые присутствуют в цитоплазме клетки. И на этом исследование завершится*

# Способы интеграции гена в геном клетки биоматериала

- Вирусный вектор.

*В белковую структуру обезвреженного вируса встраивается нужный ген. Далее вирус встраивается в клетку-мишень, и таким образом доставляет необходимый материал внутрь живой клетки. Вектор на основе вируса самый эффективный способ доставки генетического материала в клетку. Но он очень трудоемок.*

**Для того, чтобы приступить к вставке гена в вирусную ДНК или РНК, необходимо подобрать подходящий вирус, который бы отвечал ряду параметров:**

- Был стабилен, то есть не склонен к спонтанным изменениям – мутациям
- Не влиял на жизнедеятельность клетки-мишени
- Имел емкость вмещающую большую вставку
- Встраивал геном в определенное место хромосомы хозяина
- Не вызывал иммунного ответа

## Термины и определения

<b>адъювант</b>	химическое или биологическое вещество, усиливающее иммунную реакцию на антиген и (или) увеличивающее продолжительность иммунитета;	<b>антитела</b>	белки, синтезированные В-лимфоцитами, которые специфически связываются с антигенами, индуцировавшими их синтез. В зависимости от метода производства выделяют два главных типа антител: моноклональные антитела и поликлональные антитела;
<b>антигены</b>	вещества (например, токсины, чужеродные белки, бактерии, вирусы, клетки ткани и др.), способные вызвать специфические иммунные реакции;	<b>банк клеток</b>	пул однородных клеток, хранящихся порциями в индивидуальных контейнерах в определенных условиях.

# Термины и определения

<b>биологическая фармацевтическая субстанция</b>	фармацевтическая субстанция, произведенная с использованием биологического источника, которая должна быть охарактеризована с использованием физических, химических и биологических испытаний и качество, которой определяется этими испытаниями в сочетании с контролем процессов ее производства;	<b>вирусный вектор</b>	вектор, произведенный путем модификации вируса с помощью методов молекулярной биологии для удерживания некоторых, но не всех, материнских генов вируса. При удалении генов, ответственных за способность вируса к репликации, созданный вектор является неспособным к репликации;
<b>вектор</b>	агент трансмиссии (молекула нуклеиновой кислоты, чаще всего ДНК), переносящий генетическую информацию от одной клетки или организма к другой, например плазмиды, вирусы;	<b>вспомогательные вещества</b>	вещества неорганического или органического происхождения, используемые в процессе производства, изготовления лекарственных препаратов для придания им необходимых физико-химических свойств <sup>1</sup> , кроме фармацевтических субстанций и упаковочного материала;

# Термины и определения

<b>ген</b>	последовательность ДНК, кодирующая один или несколько белков;	<b>исходные материалы</b>	исходные материалы представляют собой любые субстанции биологического происхождения, такие как микроорганизмы, органы и ткани животного происхождения, клетки или жидкости (включая кровь и плазму) человеческого или животного происхождения, а также биотехнологические клеточные субстраты (рекомбинантные и природные), включая первичные клетки;
<b>главный банк клеток (ГБК)</b>	гомогенная суспензия клеток хозяина, трансформированных экспрессионным вектором. Суспензию разливают в равных объемах в контейнеры, замораживают и хранят при условиях, обеспечивающих их стабильность. ГБК получают в установленных условиях из отобранного клеточного клона, содержащего экспрессирующую конструкцию;	<b>клеточный запас</b>	первичные клетки, размножившиеся до заданного количества клеток, разделенные на аликвоты и используемые в качестве исходного материала для производства ограниченного количества серий лекарственных препаратов на основе клеток;

# Термины и определения

<b>клетки хозяина</b>	клетки микроорганизмов или эукариотических клеточных линий, используемые для получения продукта, до внесения в них вектора;	<b>пассаж</b>	перенос микроорганизма из одной питательной среды в другую среду или от одного хозяина (животного, культуры клеток и пр.) другому;
<b>клеточная культура</b>	клеточная масса, полученная в результате выращивания <i>in vitro</i> клеток, изолированных от многоклеточных организмов;	<b>перенос генов</b>	процесс переноса гена в клетки, включая систему экспрессии, содержащуюся в системе доставки, которая называется вектором. Вектор может быть как вирусного, так и невирусного происхождения. После переноса генов генетически модифицированные клетки также могут называться "трансформированные клетки";

# Термины и определения

<b>плазмида</b>	часть ДНК, обычно существующая в бактериальной клетке в виде кольцевой структуры, отделенной от клеточной хромосомы. Плазмида может быть модифицирована с помощью методов молекулярной биологии, выделена из бактериальной клетки и использована для переноса и встраивания ее ДНК в геном другой клетки;	<b>рабочий банк клеток (РБК)</b>	гомогенная суспензия клеток, полученных на определенном уровне пассажа культивированием клеток из одного или более контейнеров ГБК, разлитая в равных объемах в контейнеры с целью хранения в условиях, обеспечивающих их стабильность. РБК используют для производства каждой серии готового продукта. Образцы рабочего банка клеток необходимо хранить, как минимум, до истечения срока годности последней выпущенной партии препарата;
<b>производственный штамм</b>	штамм микроорганизмов, который хранится на производстве в определенных условиях и используется для приготовления биологических препаратов;	<b>штамм-продуцент</b>	комплекс клетки хозяина и вектора.

# Термины и определения

<b>свободные от специфических патогенов</b>	животные материалы (например, куры, эмбрионы или культуры клеток), использующиеся для производства или контроля качества биологических лекарственных препаратов, полученные из групп животных (например, стад или стай), свободных от определенных патогенов. Такие стада или стаи определяются как группы животных, которые живут в общей среде и имеют ухаживающий за ними персонал, который не пребывает в контакте с животными, несвободными от специфических патогенов;	<b>уровень биологической безопасности</b>	совокупность мероприятий и средств, предотвращающих заражение окружающей среды и персонала при работе с биологическими агентами, определенной группы патогенности (I-IV);
---	--	---	---

# Термины и определения

<b>чистая культура (аксеничная культура)</b>	культура, представленная микроорганизмами только одного вида, характеризующимися общими морфологическими, культуральными, антигенными, биохимическими и другими свойствами);	<b>экспрессирующая конструкция</b>	вектор, который содержит кодирующую последовательность рекомбинантного белка и элементы, необходимые для его экспрессии;

# Общие требования к производству БЛС

- Производство БЛС отличается сложностью и многообразием технологических процессов, т.к. связано с биологическими процессами и материалами, такими как культивирование клеток или экстракция материала из живых организмов.
- Биологические процессы характеризуются вариабельностью, что приводит к непостоянству спектра и природы сопутствующих продуктов. Более того, материалы, используемые в процессах культивирования, сами по себе являются субстратами для роста микроорганизмов.
- Безопасность биологических лекарственных препаратов основывается на строгом контроле их исходных материалов. При оценке рисков контаминации исходного сырья и исходных материалов особое внимание уделяется риску, связанному с контаминацией возбудителями губчатой энцефалопатией животных (ОФС "Уменьшение риска передачи возбудителей губчатой энцефалопатии животных при применении лекарственных средств") и латентными вирусами (ОФС "Вирусная безопасность"). Также должно быть уделено внимание исходным материалам, непосредственно контактирующим с технологическим оборудованием или продукцией.

# Общие требования к производству БЛС

- Для предотвращения нежелательного изменения свойств, которое может произойти вследствие многократных пересевов или большого числа генераций, производство биологических фармацевтических субстанций и лекарственных препаратов, получаемых из культур микроорганизмов, культур клеток или размножением в эмбрионах, тканях и органах животных, должно быть основано на системе главной и рабочей посевных культур и (или) банков клеток.
- Количество генераций (удвоений, пассажей) между посевной культурой или банком клеток и биологической фармацевтической субстанцией либо лекарственным препаратом должно соответствовать требованиям спецификаций в регистрационном досье или протоколе клинических исследований. Посевные культуры и банки клеток необходимо создавать, хранить и использовать таким образом, чтобы риск их контаминации или изменения был минимальным (например, хранить в герметичных контейнерах в жидком азоте). Создание систем посевных культур и банков клеток, включая главные и рабочие посевные культуры, должно являться частью управления жизненным циклом БЛС и проводиться в надлежащих условиях.
- Используемые в процессе производства клетки и материалы биологического происхождения должны быть охарактеризованы и соответствовать требованиям микробиологической и вирусной безопасности в соответствии с **ОФС "Требования к клеточным культурам-субстратам производства биологических лекарственных препаратов"**.

## Условия обеспечения качества БЛС

- в производстве используют только изученные, генетически стабильные производственные штаммы микробов, охарактеризованные и депонированные в официальных коллекциях, ежегодно контролируемые по всем биологическим свойствам, в соответствии с регламентированными требованиями; при этом генетическая стабильность производственного штамма является критерием, ограничивающим число пассажей микроба

# Условия обеспечения качества БЛС

- используют адекватные питательные среды, обладающие высокими ростовыми свойствами (сырье, реактивы и реагенты, используемые при производстве питательных сред, должны иметь сертификаты, подтверждающие их качество);
- используют культуры клеток, в соответствии с рекомендациями ВОЗ, депонированные в официальных коллекциях и разрешенные к использованию для производства (при культивировании клеток не допускается использование нативной сыворотки крови человека, а также антибиотиков группы пеницилина)
- животные и птицы, куриные эмбрионы, используемые для производства БЛП, получают из хозяйств, благополучных в отношении бактериальных, вирусных, прионных и других болезней, опасных для человека, что подтверждается ветеринарными свидетельствами и справками ветеринарной лаборатории о санитарном состоянии поголовья, включающими микробиологические и биохимические контроли (ОФС "Иммуноглобулины и сыворотки (антитела) гетерологичные");

## Условия обеспечения качества БЛС

- - при производстве БЛП из плазмы и клеток крови и органов человека должны соблюдаться требования, предъявляемые к состоянию здоровья донора (ОФС "Лекарственные препараты из плазмы крови человека");
- - БЛП, в состав которых входят донорские ткани или клетки, должны соответствовать требованиям законодательства Российской Федерации в части прослеживаемости, уведомления уполномоченного федерального органа исполнительной власти о неблагоприятных реакциях и клинических случаях в ходе терапии, а также в части технических требований по идентификации, обработке, предохраниению, хранению и транспортировке донорских тканей и клеток.

# Стадии исследований биологического препаратов

- Доклинические. Проводятся испытания как *in vitro*, так и *in vivo*. Оценивается активность препарата, его токсичность, минимальные токсические дозы, проявления токсичности с течением времени, связываемость с рецептором
- Клинические. Проводятся при участии широких групп людей. Оценивается эффективность использования, побочные и нежелательные эффекты.

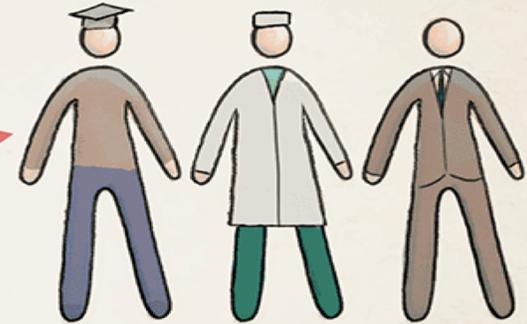
•

*С этой точки зрения схема регистрации биопрепарата схожа с лекарственным средством, полученным в результате химического синтеза. Только собрав исчерпывающее досье, препарат допускается к регистрации.*

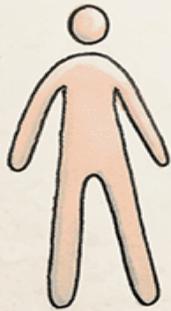
# Проблемы регулирования и производства генных и клеточных продуктов в России



неупорядоченное  
законодательство



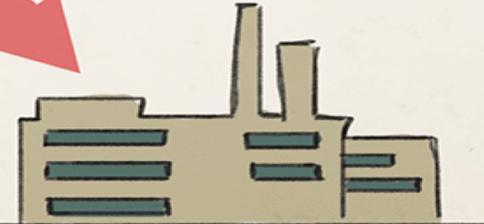
Дефицит  
профессиональных  
кадров



Поиск доноров



\$\$\$



Дороговизна производства