

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2015
УДК 615.07

Подходы к оценке биоаналогичности (биоподобия) биотехнологических лекарственных препаратов: вопросы качества

А.Н. Миронов, В.А. Меркулов, А.И. Лутцева, О.А. Ваганова, А.А. Бендрышев,
Т.А. Ефремова, Е.В. Кириченко, С.В. Швец, Е.В. Иванайнен

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, 127051, Москва, Россия

Резюме: В связи с окончанием срока действия патентов на большую часть востребованных биотехнологических лекарственных препаратов актуальной тенденцией становится увеличение количества заявок на регистрацию биоаналоговых (биоподобных) лекарственных препаратов (биоаналогов). В Российской Федерации процесс вывода на рынок биоаналоговых лекарственных препаратов только начинается. Следует ожидать, что в ближайшие годы общемировая тенденция вывода на рынок биоаналоговых копий ранее зарегистрированных препаратов станет и российской действительностью. В этой связи представляется актуальной разработка отечественных требований, предъявляемых к лекарственным препаратам, представляемым при регистрации в качестве биоаналоговых. В настоящей статье авторами предложены к обсуждению основные подходы по выбору критериев для подтверждения биоаналогичности лекарственных препаратов в части вопросов оценки их качества и определения объема исследований, необходимого для доказательства подобия и сопоставимости физико-химических и биологических свойств биоаналогичного лекарственного препарата с оригинальным.

Ключевые слова: оригинальный биотехнологический лекарственный препарат; биоаналоговый (биоподобный) лекарственный препарат; качество; исследования сопоставимости; производство; регистрация.

Библиографическое описание: Миронов АН, Меркулов ВА, Лутцева АИ, Ваганова ОА, Бендрышев АА, Ефремова ТА, Кириченко ЕВ, Швец СВ, Иванайнен ЕВ. Подходы к оценке биоаналогичности (биоподобия) биотехнологических лекарственных препаратов: вопросы качества. Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2015; (1): 4–10.

THE APPROACHES TO THE ASSESSMENT OF BIOSIMILARITY OF BIOTECHNOLOGICAL PREPARATIONS: QUALITY ISSUES

A.N. Mironov, V.A. Merkulov, A.I. Lutseva, O.A. Vaganova, A.A. Bendryshev,
T.A. Efremova, E.V. Kirichenko, S.V. Shvets, E.V. Ivanainen

Federal State Budgetary Institution «Scientific Center for Expert Evaluation of Medicinal Products»
of the Ministry of Health of the Russian Federation, 127051, Moscow, Russia

Abstract: Due to expiration of patents for most highly demanded biotechnological preparations there is a tendency for the increase in the number of applications for marketing authorisation of biosimilar preparations (biosimilars). In the Russian Federation, the process of bringing biosimilars to the market has just started. It should be expected that in the upcoming years the global tendency for bringing biosimilars of previously authorized preparations will become real in Russia. In this regard there is a need for developing national requirements for drugs submitted for marketing authorization as biosimilars. In the present article the authors propose for consideration main approaches for selecting criteria for confirmation of biosimilarity in terms of their quality assessment and determining the amount of studies required to confirm the similarity and comparability of physical, chemical and biological properties of biosimilars in comparison with the originator.

Key words: original biotechnological products; biosimilar; quality; comparability studies; manufacture; marketing authorization.

Bibliographic description: Mironov AN, Merkulov VA, Lutseva AI, Vaganova OA, Bendryshev AA, Efremova TA, Kirichenko EV, Shvets SV, Ivanainen EV. The approaches to the assessment of biosimilarity of biotechnological preparations: quality issues. Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products Bulletin 2015; (1): 4–10.

В последние годы актуальной тенденцией становится увеличение количества заявок на регистрацию биоаналоговых (биоподобных) лекарственных препаратов (биоаналогов) с последующим введением в практическое здравоохранение как развитых, так и развивающихся стран. Это вызвано окончанием срока действия патентов оригинальных биотехнологических лекарственных препаратов (ЛП). На сегодняшний день известны биоаналоги различных групп биотехнологических препаратов. Регуляторными агентствами развитых стран разработаны требования к экспертизе ЛП, подаваемых на регистрацию в качестве биоаналоговых, что обусловлено сложностью подтверждения биопо-

бия (биоаналогичности), оценки качества и значительным влиянием возможных различий на эффективность и безопасность препаратов.

Так, биоаналоговый ЛП моноклонального антитела «Ремикейд» (МНН инфликсимаб) был зарегистрирован Европейским агентством по лекарственным средствам (ЕМА) в сентябре 2013 г., а биоаналог «Лантуса» (МНН инсулин гларгин), разработанный одной из компаний группы Eli Lilly, был одобрен годом позднее – в сентябре 2014 г. [1–3, 15]. В США на настоящий момент не зарегистрированы биоаналоговые ЛП. Заявка на регистрацию биоаналогового филграстима находится на рассмотрении регуляторного агентства США [4].

В Российской Федерации процесс вывода на рынок биоаналоговых препаратов только начинается. Однако в ближайшие годы следует ожидать, что общемировая тенденция вывода на рынок биоаналогов станет и российской действительностью. В этой связи представляется актуальной разработка отечественных требований, предъявляемых к ЛП, представляемым при регистрации в качестве биоаналоговых [15, 16].

В настоящей статье авторами предложены к обсуждению основные подходы по выбору критериев для подтверждения биоаналогичности ЛП в части вопросов оценки их качества и определения объема исследований, необходимого для доказательства биоподобия и сопоставимости физико-химических и биологических свойств биоаналога с оригинальным (референтным) ЛП.

НОРМАТИВНО-ПРАВОВОЕ РЕГУЛИРОВАНИЕ ОБРАЩЕНИЯ БИОАНАЛОГОВЫХ (БИОПОДОБНЫХ) ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

ЕМА в 2005 году утвердило концепцию подтверждения биоаналогичности, в 2006 г. — общие требования к подтверждению биоаналогичности ЛП при проведении доклинических и клинических исследований, исследований сопоставимости, а также изучения качества биоаналогового препарата [7–9], позднее — отдельные руководства по подтверждению биоаналогичности отдельных групп биотехнологических ЛП. Под биоаналогом (biosimilar) ЕМА понимает биологический медицинский продукт, содержащий активную субстанцию ранее зарегистрированного в ЕС оригинального биологического медицинского продукта. Сопоставимость с референтным медицинским продуктом в отношении характеристик качества, биологической активности, безопасности и эффективности должна быть основана на всеобъемлющих исследованиях сопоставимости [5].

В 2014 году ЕМА было обновлено «Руководство по биоаналогичным медицинским продуктам, содержащим биотехнологически полученные белки: вопросы качества». Был внесен ряд новых положений, а именно: необходимость установления количественных диапазонов варьирования показателей качества биоаналогичного продукта по результатам проведения оценки диапазонов варьирования показателей качества репрезентативных серий референтного медицинского продукта; необходимость изучения пост-трансляционных модификаций (в том числе гликозилирования), необходимость проведения сравнительных исследований иммунохимических свойств для препаратов моноклональных антител, а также указание о том, что не требуется проведение сравнительных исследований стабильности биоаналогичного и референтного продуктов в реальном времени. [11].

Под термином «качество» при установлении возможной биоаналогичности ЛП понимают требования ко всему циклу обращения ЛП от этапов разработки и производства фармацевтической субстанции до обоснования и составления спецификации, изучения стабильности готового ЛП при государственной регистрации, а не только перечень показателей качества и их нормы.

Согласно российскому законодательству «биоаналоговый (биоподобный) лекарственный препарат (биоаналог) — биологический лекарственный препарат, схожий по параметрам качества, эффективности и безопас-

ности с референтным биологическим лекарственным препаратом в такой же лекарственной форме и имеющий идентичный способ введения». Референтным препаратом называют лекарственный препарат, который впервые зарегистрирован в Российской Федерации, качество, эффективность и безопасность которого доказаны на основании результатов доклинических исследований лекарственных средств и клинических исследований лекарственных препаратов. Определения понятий «биоаналога» и «референтного препарата» было внесено в Федеральный закон № 61 «Об обращении лекарственных средств» поправками от 22 декабря 2014 г., которые вступают в действие с 1 июля 2015 г. [12] и соответствующим образом, предложенным ведущими регуляторными агентствами [5, 6].

Одновременно с поправками к ФЗ-61 ФГБУ «НЦЭСМП» в 2014 г. выпущен IV том «Руководства по экспертизе лекарственных средств», в котором отражены основные требования по разработке лекарственных препаратов, содержащих в качестве фармацевтической субстанции моноклональные антитела, инсулины и их аналоги, эритропоэтины, фолликулостимулирующий гормон, колониестимулирующий фактор, низкомолекулярные гепарины, интерфероны и соматотропин [13]. Данное руководство также содержит рекомендации по проведению исследований сопоставимости и подтверждению биоаналогичности на уровне качества.

ПОДТВЕРЖДЕНИЕ БИОАНАЛОГИЧНОСТИ НА УРОВНЕ КАЧЕСТВА

Одной из основных характерных черт подтверждения биоаналогичности, с точки зрения вопросов качества, является необходимость проведения всех исследований, требуемых при разработке любого биотехнологического препарата, представления нормативной документации, а также и проведение сравнительных испытаний с референтным препаратом (исследования сопоставимости) при одновременном использовании ортогонального подхода к методам. Итогом следования научным принципам и поэтапного доказательства высокой степени сходства структуры молекулы, физико-химических, биологических и иммунохимических свойств, показателей качества, эффективности и безопасности референтного препарата и препарата, претендующего на биоаналогичность, является возможность снижения объемов доклинических и клинических исследований последнего.

Подтверждение достаточной степени подобия препарата референтному препарату, следовательно, его регистрация в качестве биоаналога, невозможны без предоставления всеобъемлющих данных по технологии производства, физико-химическим и биологическим (на моделях *in vivo* и *in vitro*, включая оценку токсичности на животных) свойствам, оценке функциональных характеристик, полученных при разработке как фармацевтической субстанции, так и ЛП; данных по сопоставимости, а также по подтверждению качества в ходе посерийного контроля. Подчеркнем, что представление максимально подробных данных относится ко всем упомянутым результатам и данным, поскольку оценка качества в ходе подтверждения биоаналогичности препарата не предполагает воспроизведения методик, задействованных в разработке биоаналога и в исследованиях сопоставимости. Подобно проце-

дуре регистрации всех других лекарственных средств, апробация методик и оценка качества ЛП, претендующего на биоаналогичность, предполагается только в части нормативного документа. Поэтому материалы разработчика представляются в регистрационном досье в таком виде, чтобы эксперты имели возможность провести не только оценку адекватности выбранного метода испытаний и использованного оборудования, но и самостоятельно оценить используемую методику, включая ее метрологические характеристики. Важным является представление данных по валидации как методик, включенных в нормативную документацию, так и методик, задействованных в разработке фармацевтической субстанции и ЛП. Разработчик, таким образом, представляет доказательства, подтверждающие возможность квалифицировать препарат как биоаналог. В связи с этим, включение в досье информации резюмирующего характера недостаточно для формирования заключения о незначимости или значимости выявленных отличий между биоаналоговым препаратом и референтным препаратом.

Референтный препарат. При выборе референтного ЛП (ЛП сравнения) необходимо принимать во внимание, что инноватор может производить свой ЛП на разных производственных площадках. В целях надлежащей экстраполяции доклинических и клинических данных, сравнение рекомендуется проводить с референтным препаратом, произведенным на производственной площадке, с которой препарат поступает с целью реализации в Российской Федерации.

Сравнительные исследования физико-химических и биологических свойств следует проводить с использованием как можно большего количества серий референтного и биоаналогового препаратов. Целесообразно, чтобы минимальное количество серий, задействованных в исследованиях сопоставимости, составляло не менее трех, как для биоаналогового, так и для референтного ЛП. Это справедливо и для субстанций, хотя, безусловно, является трудно достижимым. Использование нескольких серий биоаналога и референтного препарата позволит установить и нормировать границы варибельности получаемых значений исследуемых характеристик и показателей качества фармацевтической субстанции референтного ЛП и биоаналога в пределах изученных серий. Определение границ варибельности показателей качества — это инструмент получения информации о качестве референтного препарата.

В сравнительных исследованиях структуры, физико-химических и биологических свойств целесообразно задействовать те же серии биоаналога и референтного препарата, что и в ходе доклинических испытаний. Соответственно, кроме номеров серий, выбранных для исследования, их репрезентативность подтверждается информацией об объеме произведенных серий и сертификатами испытаний.

Состав. Необходимость представления данных по разработке состава ЛП, включая качественный и количественный состав вспомогательных веществ, является установленным требованием, относящимся к регистрации любого ЛП, в том числе и биоаналога. Это позволяет оценить обоснованность выбора состава биоаналога, стабильность действующего вещества в выбранной лекарственной форме, совместимость с материалами упаковки.

Составы биоаналога и референтного препарата могут отличаться в части вспомогательных веществ, не являющихся фармакологически активными компонентами.

Исследования сопоставимости. Для подтверждения биоаналогичности ЛП, полученного биотехнологическим путем, необходимо доказать, что он по своему качеству, безопасности, эффективности и иммуногенности не отличается от референтного препарата. Исследования сопоставимости, представляющая собой процедуры оценки сходства/подобия ЛП, заявляемого в качестве биоаналогового, и референтного препарата позволяют выявить, обосновать и оценить значимость выявленных различий между исследуемыми объектами, а также предположить их влияние на эффективность и безопасность.

Необходимость проведения исследований сопоставимости является общепринятым требованием [6, 10, 11]. Полученные данные представляются в дополнении к документации по разработке и контролю качества ЛП.

Данные исследования проводятся в отношении как фармацевтической субстанции биоаналога, так и его готовой лекарственной формы. Изучаются: структура полученного вещества, его родственные соединения и профиль примесей (включая данные, полученные в стрессовых условиях), специфические функциональные характеристики (например, длительность действия для инсулина), биологическая активность, стабильность ЛП.

Все исследования целесообразно проводить с использованием образцов, полученных в результате окончательно утвержденной технологии производства. Дополнительно следует представить данные, подтверждающие стабильность производственного процесса.

Информация, полученная в ходе исследования сопоставимости, также как и данные исследований нескольких серий биоаналога и референтного препарата, упомянутые ранее, служат не только достижению цели изучения всех свойств и характеристик вещества, но и вносят вклад в массив данных, позволяющих судить о диапазонах варибельности значений исследуемых характеристик и границ показателей качества.

При выявлении между биоаналогом и референтным препаратом различий потребуются оценка их значимости или, напротив, незначимости. В первую очередь необходимо выяснить — выходит параметр, по которому констатировано различие, за пределы варибельности референтного препарата и как оценивается его потенциальное влияние на эффективность, безопасность и иммуногенность ЛП.

Все получаемые результаты оценивают в совокупности с их научным обоснованием, то есть опираясь не только на результаты собственных исследований, которые должны быть получены с использованием адекватных математических моделей и подкреплены статистической обработкой массива данных, но и на результаты, опубликованные в доступных научно-аналитических источниках.

Различия между референтным препаратом и биоаналогом могут не только не снижать безопасность последнего, но и наоборот, придавать ему дополнительные преимущества (например, сниженное содержание примесей по сравнению с референтным препаратом). Различия, которые придают биоаналогу дополнительное преимущество, достаточно обосновать, как указано выше, научными данными и результатами собственных

исследований. Различия, которые, напротив, могут снижать безопасность и/или эффективность биоаналога по сравнению с референтным препаратом (например, более высокое содержание или наличие отличных от референтного препарата производственных примесей и/или родственных соединений, продуктов деградации и проч.), следует не только обосновать, но и представить клиническую оценку установленных различий. Последнее может потребовать проведения дополнительных доклинических и клинических исследований, подтверждающих отсутствие нежелательного потенциального влияния выявленных отличий на эффективность и безопасность, которое невозможно спрогнозировать только путем аналитической оценки.

Различия, способные снизить безопасность и/или эффективность, также как и более высокая эффективность биоаналога по сравнению с референтным ЛП может быть причиной того, что он не будет квалифицирован как биоаналоговый.

ТЕХНОЛОГИЯ ПРОИЗВОДСТВА БИОАНАЛОГА

Наличие или отсутствие подобия биоаналога референтному ЛП будет определяться, прежде всего, технологией производства. Технология производства и способы очистки будут определять структуру целевого продукта, в том числе и структуры высокого порядка (пространственная укладка белка), качественный и количественный состав родственных соединений и примесей. Сложность структуры биотехнологических препаратов, способ их получения, на который значительное влияние оказывают внешние факторы, свойства исходных компонентов и характеристики среды, информация о которых закрыта для производителя биоаналога, не позволяют воспроизвести точную копию оригинального (референтного) препарата. Таким образом, используемый вид клеток, экспрессирующая система, состав и свойства исходного сырья, участвующие в получении и соединении, имеющего сложное многомерное строение, оказывают прямое влияние на его физико-химические, биологические и иммунохимические свойства.

При доказательстве сопоставимости биоаналога референтному ЛП обязательными являются нижеследующие материалы и данные по разработке фармацевтической субстанции, входящей в состав биоаналога.

Полная информация о векторе и клетке-хозяине, включая подробное описание источника вектора и истории его получения; описание всех составных частей вектора (точка начала репликации, фланкирующие участки, гены устойчивости к антибиотикам и др.) и их функции, информацию об источниках происхождения составных частей вектора с указанием сайтов, использованных для конструирования вектора. В информацию о клетке-хозяине включают указания об источнике клетки и истории ее получения; описание фенотипа и генотипа клетки-хозяина, а также информацию о необходимых питательных средах и условиях культивирования.

Данные об экспрессирующей конструкции, элементах и характеристике экспрессирующей конструкции, описание технологии ее получения (включая описание метода введения вектора в клетку хозяина); состоянии вектора (трансформация экспрессирующей конструкции) внутри клетки хозяина; описание процедуры и обоснование критериев отбора трансформированных клеток; сведения о количестве копий экспрессирующей кон-

струкции и ее стабильности в клетке-хозяине; сведения о происхождении и идентификации клонируемого гена, а также данные о конструкции, генетике и структуре вектора экспрессии; анализ нуклеотидных последовательностей клонированного гена, включая любую оптимизацию кодона, а также фланкирующих регуляторных участков вектора экспрессии, с четкой идентификацией соответствующих экспрессированных последовательностей; подробное описание методики активации экспрессии клонируемого гена и контроля экспрессии в процессе производства; данные о стабильности генетических и фенотипических характеристик штамма-продуцента и о стабильности системы экспрессии «хозяин-вектор» в клеточном банке в установленных условиях хранения и восстановления их жизнедеятельности. Генетическая стабильность системы «хозяин-вектор» подтверждается документально.

Данные о производстве фармацевтической субстанции, включая информацию о системах Главного и Рабочего банков клеток (составленного из посевной культуры Главного банка клеток), используемых для получения рекомбинантного продукта, сведения об истории создания клеточной линии и получения банков клеток с указанием питательных сред и условий культивирования, использованных в процессе культивирования; условия хранения и стабильность в течение времени использования клеток; указание значимых фенотипических и генетических маркеров; процент клеток, удерживающих экспрессирующую конструкцию; определение числа копий, вставок или делеций и количества сайтов интеграции в экспрессирующей конструкции; описание нуклеотидной последовательности, кодирующей рекомбинантный белок, детальное описание методики, в соответствии с которой активируют экспрессию соответствующего гена и контролируют ее в процессе производства. При производстве биоаналоговых продуктов необходимо использовать тот же вид штамма-продуцента и экспрессирующей конструкции, что и в производстве референтного препарата.

Данные об очистке фармацевтической субстанции, содержащей информацию о методах, реагентах и материалах, использованных в процессе очистки, информацию, подтверждающую удаление или снижение содержания посторонних агентов, ДНК штамма-продуцента и белков клетки хозяина; удаление гетерологичных белков и веществ, используемых при очистке; описание методов, используемых для сбора клеток, экстракции и очистки продукта, описание мероприятий, проводимых в рамках внутрипроизводственного контроля качества, в том числе критерии приемлемости, которые валидируются и детально описываются. Немаловажно подтвердить воспроизводимость процесса очистки, а также представить данные о всестороннем исследовании его возможности удалять нежелательные вещества, возникающие в процессе производства, и/или примеси, связанные непосредственно с самим ЛП (например, белки клетки-хозяина, нуклеиновые кислоты, вирусы и другие специфические контаминанты, в том числе органические вещества, содержащиеся в исходных питательных средах, и нежелательные химические вещества, вводимые в ходе самого процесса очистки).

Помимо вышеуказанных сведений представляются также данные о контроле качества фармацевтической субстанции, осуществляемом при ее производстве и

обоснование выбора показателей качества и методов их контроля для включения в нормативную документацию.

Необходимо принимать во внимание, что при выявлении в ходе исследований сопоставимости различий в структуре, физико-химических свойствах, биологической активности и т.д. между фармацевтическими субстанциями биоаналога и референтного ЛП, а также между готовыми лекарственными формами биоаналога и референтным ЛП, может потребоваться пересмотр производственного процесса с целью минимизации или полного устранения выявленных различий и, соответственно, проведение повторных исследований структуры, активности, физико-химических свойств и других показателей.

Рабочей группой экспертов в рамках Международной конференции «Гармонизация технических требований к регистрации лекарственных препаратов для человека (ICH)» был выработан ряд новых рекомендаций по обеспечению безопасности, эффективности и качества лекарственных средств. В руководстве ICH Q8 «Фармацевтическая разработка» изложен новый подход к достижению целей фармацевтической разработки — «Качество через дизайн» («Quality by Design», QbD). Данный подход предполагает, что качество препарата должно быть сформировано на этапе фармацевтической разработки, оно не может быть гарантировано только с помощью контроля конечного продукта, а должно быть «встроено» в организованный на основе правил GMP процесс производства. Согласно концепции QbD процесс фармацевтической разработки должен целенаправленно сформировать качество препарата и включает обоснованный выбор его состава, разработку технологии, создание системы спецификаций на различных этапах производства, валидацию аналитических методик и технологических процессов, трансфер технологий из исследовательских подразделений в производственные [14]. Данный подход представляется целесообразным использовать и при разработке биоаналогичных продуктов.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ МЕТОДИКИ

При разработке и изучении сопоставимости биоаналога критерием выбора аналитической методики следует понимать не только адекватность того или иного аналитического подхода, но также специфичность и чувствительность метода и методики в степени, способной выявить незначительные различия между биоаналогом и референтным ЛП. Аналитические и биологические исследования проводятся с использованием, как минимум двух разных методов или подходов (т.н. «ортгональный подход»).

Физико-химические свойства. Для рекомбинантных пептидов определяют аминокислотную последовательность, аминокислотный состав, число и место расположения дисульфидных связей, вторичную и третичную структуру, исследуют свободные SH-групп, профиль гликозилирования (включая сайты гликозилирования), состав изоформ. Для других биотехнологических препаратов, например низкомолекулярных гепаринов, устанавливают последовательность олигосахаридов, соотношение сахаридов в молекулах и молекулярно-массовое распределение. Допустимость или же неприемлемость гетерогенности структуры, например аминокислотной последовательности и положения дисульфидных связей, будет зависеть от конкретного соединения. Для относи-

тельно коротких молекул, к которым, например, можно отнести инсулин или соматропин, такие различия не допустимы.

Установление первичной структуры и молекулярной массы следует проводить с использованием метода пептидного картирования с последующей масс-спектрометрией, включающей идентификацию аминокислот и установление их последовательности в триптических пептидах; метода аминокислотного анализа после гидролиза с последующим анализом образовавшихся продуктов; N- и C-концевым секвенированием; анти-тромбинной аффинной и анионообменной хроматографией; методов капиллярного электрофореза, электрофореза в полиакриламидном геле и др.

Для установления числа дисульфидных связей и сульфгидрильных групп используют спектрофотометрические методы. Кроме того, расположение дисульфидных связей может быть установлено методом пептидного картирования в восстанавливающих и невосстанавливающих условиях с последующей масс-спектрометрией.

Для установления вторичной и третичной структур используются методы кругового дихроизма, инфракрасной спектроскопии, измерение спектров флуоресценции, дифференциальной сканирующей калориметрии.

Профиль гликозилирования исследуется после отщепления гликанов с последующей их дериватизацией. Такой подход позволяет провести углубленный анализ строения олигосахаридов и сиаловых кислот. Профили олигосахаридов, состав моносахаридов и сиаловых кислот изучается с использованием следующих методов: обращено-фазовой хроматографии, масс-спектрометрии, капиллярного электрофореза с использованием различных способов детектирования, мицеллярной электрокинетической хроматографии и др.

Наличие и состав изоформ исследуются методами ионной хроматографии, капиллярного электрофореза и изоэлектрического фокусирования.

Оценка физико-химических свойств включает и проведение общих фармакопейных тестов (например, рН, потеря в массе при высушивании, специфическая абсорбция, общее количество азота и др.).

Биологическая активность. Биологические свойства отражают функциональную активность ЛП. Они тесно связаны с доклинической фармакодинамической (специфической) активностью. Сравнительная оценка активности биоаналогичного ЛП с референтным ЛП проводится различными методами в тестах *in vivo* и *in vitro* и является обязательной при исследовании их сопоставимости.

Указанными методами, в зависимости от наименования лекарственного средства, оценивают подлинность, количественное содержание, а также проводят исследование специфических функциональных характеристик, например, пролонгированного действия для некоторых инсулинов или ингибиторная активность по измерению анти-Ха и анти-IIa активности для низкомолекулярных гепаринов.

Чистота и примеси. Изучение физико-химических свойств биоаналога должно включать идентификацию его родственных соединений, продуктов деградации и производственных примесей, а также количественную оценку содержания указанных соединений.

Родственные соединения. Качество биоаналога оценивается по содержанию деамидированных и окисленных

форм, продуктов деградации, димеров и агрегатов, изоформ, диссоциированных субъединиц и др. Оценку содержания родственных соединений следует проводить с использованием методов обращено-фазовой, эксклюзионной и ионообменной ВЭЖХ, методов обращено-фазовой, эксклюзионной и ионообменной ВЭЖХ, ЯМР (в т.ч. двумерный), различными видами электрофореза, методами изоэлектрического фокусирования и фракционирования в поле сил, рамановской спектроскопии, спектроскопии в ближнем ИК-диапазоне и др. Необходимо обращать внимание на то, что сравнительная оценка качественного и количественного состава родственных соединений должна включать в себя исследование фармацевтической субстанции и ЛП не только в выбранной временной точке, но и исследования, полученные в условиях ускоренного старения или стрессового воздействия.

Производственные примеси. Отличия в составе и содержании примесей, связанных с процессом производства (белки клетки-хозяина, ДНК клетки-хозяина, компоненты питательной среды, реактивы, растворители и проч.) между биоаналогичным и референтным ЛП допускаются, однако, при этом их содержание следует минимизировать. Оценке подлежат также специфичные производственные примеси для того или иного наименования. Например, для инсулина это одноцепочечный предшественник, для которого определяется его остаточное количество, контролю также подлежит уровень проинсулинподобной иммунореактивности. В обоих случаях используется метод иммуноферментного анализа. Для низкомолекулярных гепаринов это посторонние глюкозаминогликаны, детектируемые методом ЯМР, содержание которых жестко нормируется.

СТАБИЛЬНОСТЬ БИОАНАЛОГА

Данные по изучению стабильности являются обязательными для регистрации любого ЛП. При регистрации биоаналога следует представить данные исследования его сопоставимости с референтным ЛП при воздействии стрессовых условий. Получаемые результаты применяются для определения различия в стабильности объектов исследования, установления профилей деградации, включая выявление дополнительных продуктов деградации, требующих оценки в ходе производства и хранения.

Данные сравнительных исследований по показателям качества, полученные при различных режимах хранения препаратов, необходимо использовать для получения дополнительной информации для доказательства сходства путей деградации биоаналога и референтного препарата.

Сравнительное исследование стабильности биоаналога и референтного ЛП в режиме реального времени и условий хранения, включенных в спецификацию, может

не потребоваться. Вместе с тем, необходимы данные по стабильности биоаналога (минимум трех серий) в первичной упаковке (контейнер) в заявленных условиях хранения в соответствие с программой проведения исследования стабильности, включающий мониторинг стабильности биоаналога в течение всего срока годности, поскольку это общее требование для всех ЛП, представляемых с целью регистрации. Когда это возможно, в программу исследования стабильности включают серии ЛП, произведенные с использованием фармацевтической субстанции разных серий. Стабильность этих ЛП должна быть подтверждена соответствующими данными, собранными до и после хранения ЛП в заявленных условиях в течение периода времени, продолжительность которого равна заявленному максимальному сроку хранения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Сложность процесса получения биотехнологических ЛП, значительное влияние на него внешних факторов, свойств исходных компонентов и характеристик среды, информация о которых закрыта для производителя биоаналога не позволяют воспроизвести точную копию оригинального (референтного) ЛП. Поэтому регистрация неоригинальных биологических ЛП (биоаналогов) на основании требований, регламентирующих регистрацию неоригинальных химических препаратов (воспроизведенных ЛП), не гарантирует безопасность и эффективность их применения. В этой связи особую актуальность приобретает разработка критериев оценки качества биоаналоговых ЛП.

Авторами проведен анализ требований регуляторных агентств развитых стран, материалов по зарегистрированным в ЕМА биоаналоговым ЛП, данных научных публикаций. По результатам проведенных исследований определены принципы поэтапного подтверждения сопоставимости и критерии оценки биоаналогичности лекарственных средств для доказательства сходства биоаналога и оригинального ЛП в ходе их предрегистрационной экспертизы в Российской Федерации. Установлен перечень параметров и физико-химических свойств, подлежащих оценке при разработке ЛП и подтверждении качества в ходе посерийного контроля. На основании полученных данных выбраны параметры и критерии оценки при подтверждении биоаналогичности (биоподобия) препаратов.

Полученные результаты исследований предназначены для использования производителями лекарственных средств при подготовке материалов с целью представления их в рамках регистрационного досье. Положения, изложенные в настоящей статье, могут быть также использованы уполномоченными организациями-разработчиками ЛП, представляющими интересы производителя ЛП при осуществлении регистрационной деятельности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Summary of product characteristics. Inflectra. [cited 2014 Jan 23]. Available from: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/002778/WC500151489.pdf.
2. Summary of product characteristics. Remsima. [cited 2014 Jan 23]. Available from: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/002778/WC500151489.pdf.
3. Summary of product characteristics. Abasaglar. [cited 2014 Jan 23]. Available from: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/002835/WC500175381.pdf.
4. Advisory committee briefing materials: available for public release. FDA Oncologic Drugs Advisory Committee Meeting ZARXIO® (filgrastim). January 7,

REFERENCES

1. Summary of product characteristics. Inflectra. [cited 2014 Jan 23]. Available from: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/002778/WC500151489.pdf.
2. Summary of product characteristics. Remsima. [cited 2014 Jan 23]. Available from: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/002778/WC500151489.pdf.
3. Summary of product characteristics. Abasaglar. [cited 2014 Jan 23]. Available from: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/002835/WC500175381.pdf.
4. Advisory committee briefing materials: available for public release. FDA Oncologic Drugs Advisory Committee Meeting ZARXIO® (filgrastim). January 7,

2015. [cited 2014 Jan 23]. Available from: <http://www.fda.gov/>.
- Guideline on similar biological medicinal products. URL: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2014/10/WC500176768.pdf.
 - Guidance for Industry Quality Considerations in Demonstrating Biosimilarity to a Reference Protein Product (draft guidance). [cited 2014 Jan 23]. Available from: <http://www.fda.gov/downloads/drugs/guidancecomplianceregulatoryinformation/guidances/ucm291134.pdf>.
 - Guideline on similar biological medicinal products. [cited 2014 Jan 23]. Available from: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003517.pdf.
 - Guideline on similar biological medicinal products containing Biotechnology-derived proteins as active substance: Non-clinical and clinical issues. [cited 2014 Jan 23]. Available from: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003920.pdf.
 - Guideline on similar biological medicinal products containing Biotechnology-derived proteins as active substance: quality issues. [cited 2014 Jan 23]. Available from: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003953.pdf.
 - Guidelines on evaluation of similar Biotechnological products (sbps). [cited 2014 Jan 23]. Available from: http://www.who.int/biologicals/areas/biological_therapeutics/BIOTHERAPEUTICS_FOR_WEB_22APRIL2010.pdf?ua=1.
 - Guideline on similar biological medicinal products containing biotechnology-derived proteins as active substance: quality issues (revision 1)/ [cited 2014 Jan 23]. Available from: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2014/06/WC500167838.pdf.
 - О внесении изменений в Федеральный закон «Об обращении лекарственных средств». Федеральный закон № 429 от 22 декабря 2014 г.
 - Миронов А.Н., ред. Руководство по экспертизе лекарственных средств. Т. 4. М.: Полиграф Плюс; 2014.
 - Guidance for Industry Q8(R2) Pharmaceutical Development. [cited 2014 Jan 23]. Available from: <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/Guidances/ucm073507.pdf>.
 - Ваганова ОА, Ефремова ТА, Миронов АН. и др. Направления совершенствования лекарственных препаратов моноклональных антител. Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2014; 1: 32–39.
 - Солдатов АА, Авдеева ЖИ, Алпатова НА и др. Проблемы регистрации биологических неоригинальных лекарственных препаратов. Биопрепараты 2014; 4(52): 24–36.
 2015. [cited 2014 Jan 23]. Available from: <http://www.fda.gov/>.
 - Guideline on similar biological medicinal products. URL: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2014/10/WC500176768.pdf.
 - Guidance for Industry Quality Considerations in Demonstrating Biosimilarity to a Reference Protein Product (draft guidance). [cited 2014 Jan 23]. Available from: <http://www.fda.gov/downloads/drugs/guidancecomplianceregulatoryinformation/guidances/ucm291134.pdf>.
 - Guideline on similar biological medicinal products. [cited 2014 Jan 23]. Available from: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003517.pdf.
 - Guideline on similar biological medicinal products containing Biotechnology-derived proteins as active substance: Non-clinical and clinical issues. [cited 2014 Jan 23]. Available from: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003920.pdf.
 - Guideline on similar biological medicinal products containing Biotechnology-derived proteins as active substance: quality issues. [cited 2014 Jan 23]. Available from: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003953.pdf.
 - Guidelines on evaluation of similar Biotechnological products (sbps). [cited 2014 Jan 23]. Available from: http://www.who.int/biologicals/areas/biological_therapeutics/BIOTHERAPEUTICS_FOR_WEB_22APRIL2010.pdf?ua=1.
 - Guideline on similar biological medicinal products containing biotechnology-derived proteins as active substance: quality issues (revision 1)/ [cited 2014 Jan 23]. Available from: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2014/06/WC500167838.pdf.
 - On Amendments to the Federal Law «On Circulation of Medicines». Federal Law № 429 of December 22, 2014 (in Russian).
 - Mironov AN, ed. Guideline on expertise of medicines. V. 4. Moscow: Poligraf Plus; 2014 (in Russian).
 - Guidance for Industry Q8(R2) Pharmaceutical Development. [cited 2014 Jan 23]. Available from: <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/Guidances/ucm073507.pdf>.
 - Vaganova OA, Efremova TA, Mironov AN, et al. Directions for improving of medicines of monoclonal antibodies. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya* 2014; 1: 32–39 (in Russian).
 - Soldatov AA, Avdeeva ZhI, Alpatova NA, et al. The aspects of biosimilar marketing approval process. *Biopreparaty* 2014; 4(52): 24–36 (in Russian).

ОБ АВТОРАХ:

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Российская Федерация, 127051, Москва, Петровский бульвар, 8.

Миронов Александр Николаевич. Генеральный директор, д-р мед. наук.

Меркулов Вадим Анатольевич. Первый заместитель генерального директора, д-р мед. наук.

Лутцева Анна Ивановна. И.о. начальника Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств, канд. фарм. наук.

Ваганова Ольга Александровна. Начальник лаборатории биотехнологических препаратов Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств, канд. фарм. наук.

Бендришев Александр Александрович. Главный эксперт лаборатории биотехнологических препаратов Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств, канд. хим. наук.

Ефремова Татьяна Александровна. Эксперт 2-й категории лаборатории биотехнологических препаратов Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств.

Кириченко Елена Владимировна. Эксперт 1-й категории лаборатории биотехнологических препаратов Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств.

Швец Сергей Витальевич. Главный эксперт лаборатории биотехнологических препаратов Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств, канд. хим. наук.

Иванайнен Елена Викторовна. Главный эксперт лаборатории биотехнологических препаратов Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств.

АДРЕС ДЛЯ ПЕРЕПИСКИ:

Ваганова Ольга Александровна; Vaganova@expmed.ru

Статья поступила 15.01.2015 г.

Принята к печати 10.02.2015 г.