

# Подходы USP к оценке качества биопрепаратов

Паскаль Энгер / Pascal Anger, *консультант*

*Председатель Экспертного комитета USP BIO4*

*Член Экспертного комитета BIO3*

21 мая 2019



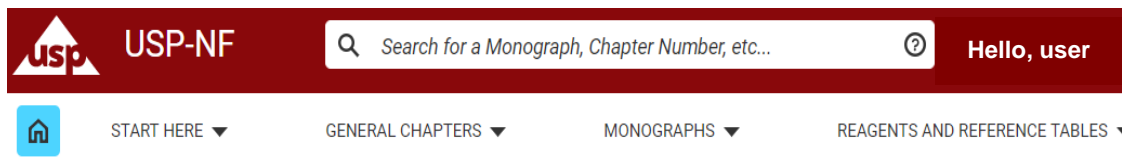
# План

- ▶ Подходы USP к стандартам биологических/биотехнологических препаратов (биопрепаратов): Обзор
- ▶ Разбор случая с частной статьей на биопрепарат: Гепарины
- ▶ Стандарты для моноклональных антител
- ▶ Статьи, описывающие лучшие практики: остаточные ДНК и белки клеток хозяина
- ▶ Выводы



# USP: Общественные стандарты

Признаны более чем в 140 странах

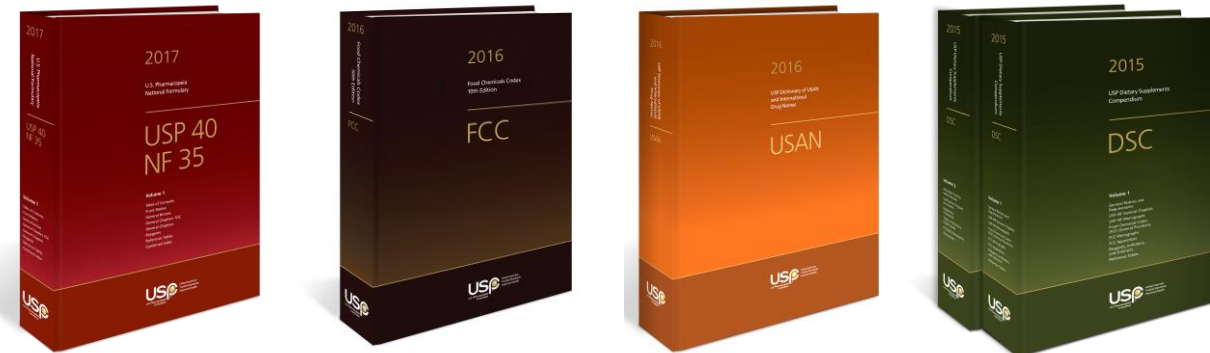


## New USP-NF Online Dashboard

Get the most out of your new USP-NF Online! Explore this area for helpful video tutorials and links to USP resources.

### NEW USP-NF ONLINE DASHBOARD

<p><b>Please Read: Release Notes</b> Please read for known issues on this release.</p>	<p><b>Improved Search Tutorial</b> Get relevant contextual results much faster.</p>	<p><b>Navigation Basics Tutorial</b> Browse smartly with information arranged relevantly.</p>	<p><b>Understanding Official Status Tutorial</b> What you need to know about USP-NF versions and official status.</p>
<p><b>PLEASE READ: RELEASE NOTES</b> Please read for known issues on this release</p>	<p><b>IMPROVED SEARCH TUTORIAL</b> Watch a video tutorial on the improved search tool!</p>	<p><b>NAVIGATION BASICS TUTORIAL</b> Learn how to navigate the new USP-NF Online</p>	<p><b>OFFICIAL STATUS TUTORIAL</b> Understand official dates for monographs and general chapters</p>
<p><b>Dissolution Toolkit</b> View the Dissolution Toolkit.</p>	<p><b>Reference Standard Mobile App</b> Stay notified. USP compliance made easy. Download the USP Reference Standards App today!</p>	<p><b>Access to the old (legacy) USP-NF Online platform.</b> Click here for access.</p>	<p><b>Update</b> Delayed Implementation for Second Supplement to USP41-NF36</p>
<p><b>DISSOLUTION TOOLKIT</b> Click here for helpful information on Dissolution</p>	<p><b>REFERENCE STANDARD APP</b> Download the free USP Reference Standards App today</p>	<p><b>LEGACY USP-NF ONLINE</b> Access the legacy (old) USP-NF Online</p>	<p><b>IMPORTANT COMPENDIAL UPDATES</b> Keep up with the latest compendial updates.</p>



# Стандарты USP в USP–NF



## ▶ Документальные стандарты / в виде нормативной документации

### – Частные статьи

- Спецификации для фармацевтических продуктов, находящихся в обращении (от выпуска до истечения срока годности)
- Спецификации: испытания, количественные определения и критерии приемлемости для демонстрации соответствия продукта требуемым стандартам качества

### – Общие статьи

- Охватывают более широкие темы и более широко применимые методы
- Статьи с нумерацией от <1000> по <1999> являются информационными и содержат общую информацию и рекомендации
- Статьи с нумерацией ниже <1000> являются компендиальными, применимыми и подлежащими исполнению, если на них имеются ссылки в Общих замечаниях, частных статьях или другой применимой общей статье с нумерацией ниже <1000>
- Часто содержат описание специфической методики и стандартных образцов (СО)

## ▶ Стандартные материалы в виде физических образцов

- Обеспечивают прослеживаемые стандарты для доказательства широкого ряда приемлемости методик

# Разработка стандарта на биопрепараты в соответствии с Законом PHS\*\*\*.

## Начало взаимодействия с заинтересованными сторонами

\*\*\*Закон о системе общественного здравоохранения



\* USP, без поддержки FDA и заинтересованных сторон, не будет публиковать в качестве официальных новых стандартов частные статьи на специфические биологические продукты.

\*\* Даже если не удастся разработать стандарт USP, собранная научная информация может быть доступна в качестве документа, описывающего лучшие практики.

# Частные статьи на биопрепараты

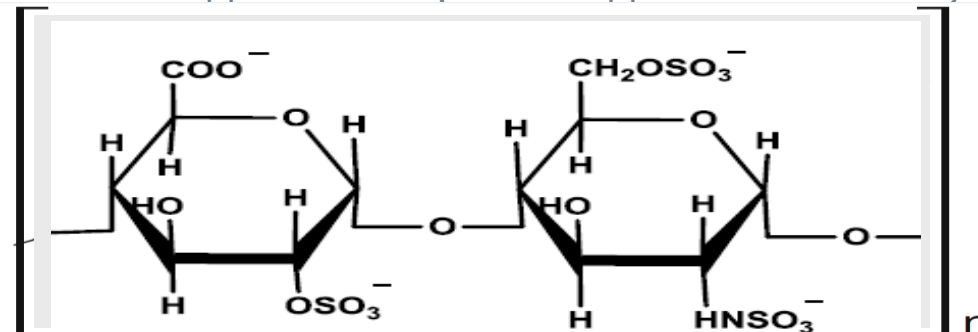
Разбор случая: Гепарин



# Гепарины



- ▶ Гепарин является представителем семейства гликозаминогликанов (GAG)
- ▶ Гепарин – это полисахарид, полисульфатированная отрицательно заряженная гетерогенная смесь с молекулярной массой от 2000 до 50 000 Дальтон
- ▶ Главное сырье – кишечник свиньи, большинство сырья поставляется из Китая
- ▶ Основная дисахаридная повторяющаяся единица – 2-О-сульфатированная идуроновая кислота и 6-О-сульфатированный, азот-сульфатированный глюкозамин – на нее приходится приблизительно 75%
- ▶ Остаток молекулы составляют 5 других дисахаридных единиц
- ▶ Кроме этого, является исходным материалом для низкомолекулярного гепарина





# Хронология пересмотра частной статьи на гепарин



2007-2008	2008	JUN '08-FEB '09	MAR-DEC 2009	2010	2011	2012	2013	2014							
<b>STAGE 1</b>		<b>STAGE 2</b>		<b>STAGE 3</b>											
<p><b>CRISIS</b></p> <p><b>HEPARIN</b></p> <p>Кризис с гепарином</p> <p>Сообщения о ряде смертей и сотнях серьезных нежелательных реакций</p>		<p><b>март</b> FDA предлагает USP сотрудничество в улучшении стандартов на гепарин</p> <p><b>апрель-май</b> USP валидирует методы FDA</p> <p><b>июнь</b> USP выпускает пересмотренную частную статью на гепарин натрия и 2 новых стандартных образца (CO)</p>		<p>Привлечение методов, которые используют фарм. производители</p> <p>Валидация методов</p> <p>Привлечение серии данных для поддержки спецификаций</p>		<p><b>март</b> USP совершенствует частную статью на гепарин по всем показателям: Подлинность, Дозировка, Органические примеси, отсутствие OSCS*. USP выпускает 5 новых CO</p> <p><b>март-май</b> Стандарты открыты для публичного комментирования</p> <p><b>1 октября</b> Официальный статус частной статьи на гепарин натрия после второго пересмотра</p>		<p>FDA предлагает продолжить оптимизацию методов частной статьи</p> <p>USP разрабатывает методы</p>		<p>USP валидирует методы</p> <p>Межлабораторные контрольные исследования с целью изучения методов анализа примесей и методики определения молекулярной массы</p> <p><b>1 ноября 2012</b> Третий этап пересмотра проекта частной статьи на Гепарин натрия: оптимизация протонного спектра ЯМР, методики ионообменной ВЭЖХ, пересмотр методики определения примесей белковой природы с более узкими границами спецификации, новая методика определения примесей нуклеотидов с более узкими границами спецификации. USP выпустила два новых CO</p> <p><b>Ноябрь 2012 – март 2013</b> Стандарты размещены для общего комментирования</p>		<p>Пересмотренная в ходе третьего этапа частная статья на гепарин натрия опубликована в <i>USP 37-NF 32</i></p>		<p><b>1 мая 2014</b> Результаты пересмотра третьего этапа получают статус официальных</p>	

\*пересульфатированный хондроитинсульфат



# Пересмотренная в ходе третьего этапа частная статья на гепарин натрия



## Подлинность

- A.  $^1\text{H}$  ЯМР спектр
- B. Хроматографическая подлинность
- C. Соотношение анти-факторов Ia и IIa
- D. Определения молекулярной массы
- E. Испытания подлинности: Общее, Натрий, <191>

Количественное определение: Активность анти-фактора IIa

Другие компоненты: Определение азота, Метод I <461>

## Примеси

- Остаток после прокаливания <218>
- Тяжелые металлы, Метод II <231>
- Предельное значение галактозамина в общем гексозамине
- Отсутствие пересульфатированного хондроитинсульфата
- Примеси нуклеотидов
- Примеси белковой природы

## Специфические испытания

- Испытание на бактериальные эндотоксины <85>
- Потеря в массе при высушивании <731>
- pH <791>
- Испытания на стерильность <71>

# Стандарты моноклональных антител

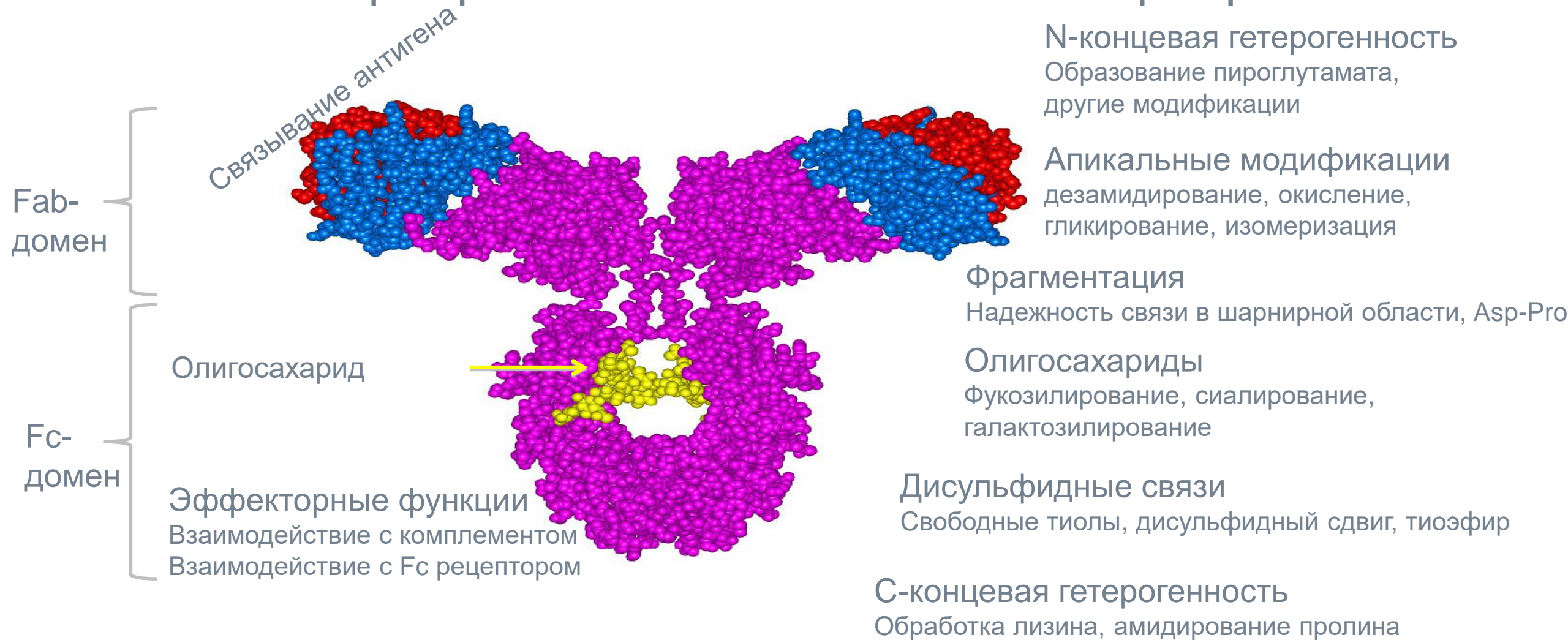


# Общие критические характеристики качества



## Биологические характеристики

## Физико-химические характеристики



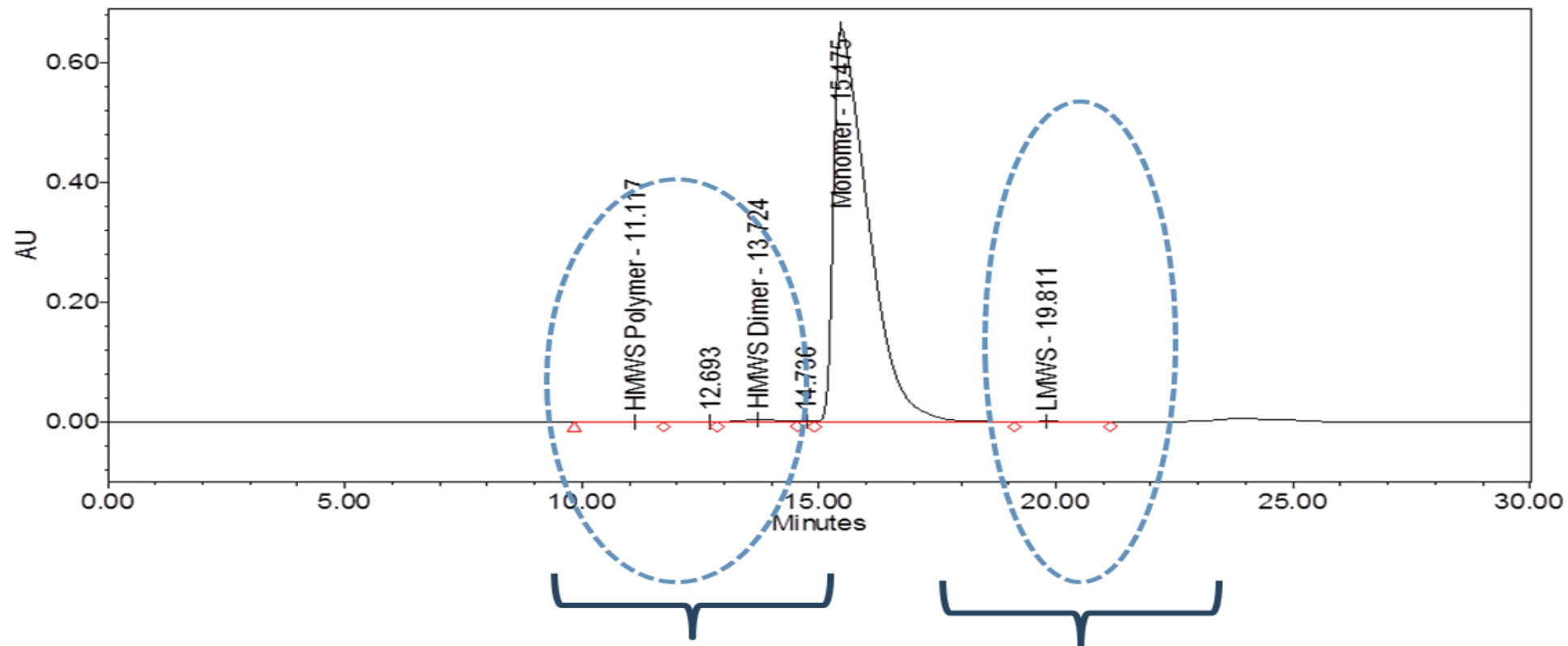
# Статья <129> Аналитические методики для моноклональных антител для медицинского применения



- Содержит набор проверенных фармакопейных методик с установленными критериями пригодности системы для использования в отношении моноклональных антител для медицинского применения
  - Эксклюзионная хроматография(SEC)
  - Капиллярный ДСН электрофорез (сокращенный и полный)
  - Определение олигосахаридов
  - Определение сиаловой кислоты
- Содержит СО Моноклонального IgG USP для определения пригодности системы (№ в каталоге:1445550) для обеспечения пригодности методов
- Не содержит специфичных для продукта критериев приемлемости

# Статья <129> Определение пригодности системы методом SEC-HPLC

Хроматограмма со стандартным образцом Моноклонального IgG USP для определения пригодности системы



HMWS

= Высоко-молекулярные соединения

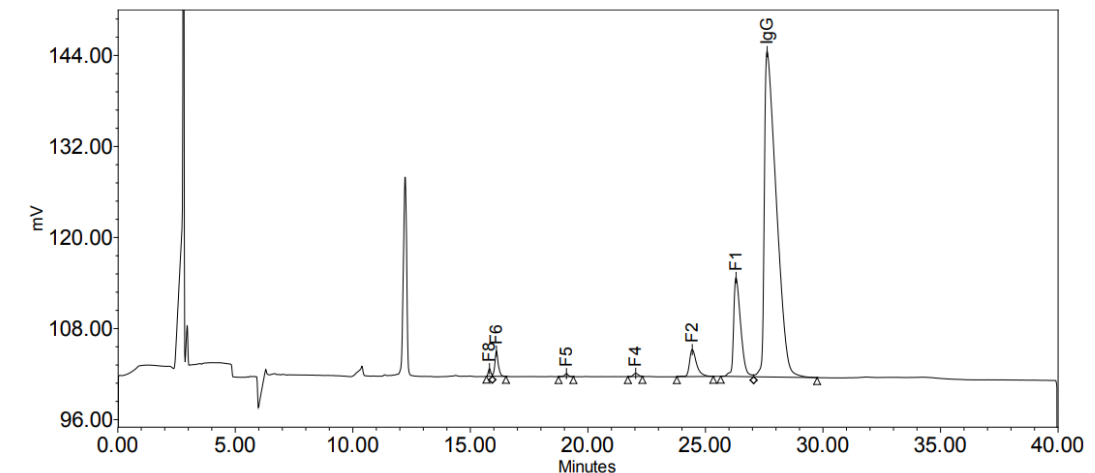
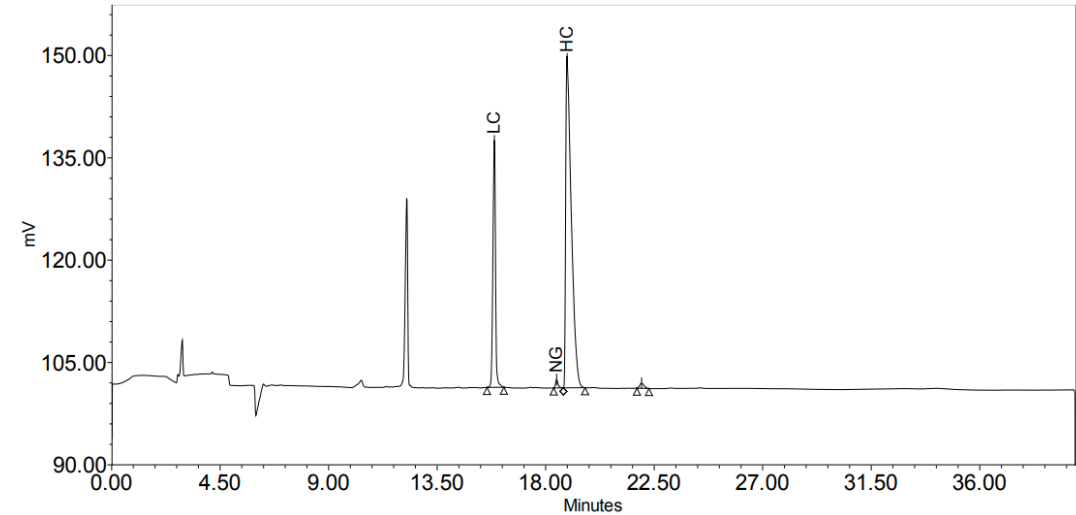
LMWS

= Низкомолекулярные соединения

# СО Моноклонального IgG USP для определения пригодности системы



- ▶ Сокращенная и полная методика капиллярного ДСН электрофореза
- ▶ Требования пригодности для стандартов USP для определения рабочих характеристик
  - Сокращенная
    - Однородность данных на электрофореграмме
    - Разрешение
    - Отношение негликозилированных к общей тяжелой цепи
  - Полная
    - Однородность данных на электрофореграмме
    - Разрешение, количество основных изоформ, относительное стандартное отклонение



# Статьи, описывающие лучшие практики

Разбор случая: Остаточные ДНК и белки  
клеток хозяина





# Определения терминов: «примеси в биопрепаратах, связанные с продуктом» и «связанные с процессом», согласно ICH Q6B



- ▶ Примеси, связанные с продуктом, (например, прекурсоры, некоторые продукты деградации) – вариации молекул, которые появляются при изготовлении и/или хранении и которые не обладают свойствами, сопоставимыми по активности, эффективности и безопасности со свойствами целевого продукта
- ▶ Примеси, связанные с процессом производства, включают примеси, которые появляются в ходе производственного процесса клеточных субстратов (например, **белки клеток хозяина, ДНК клеток хозяина**), культуры клеток (например, индукторы, антибиотики или компоненты среды) или последующей обработки.



▶ Статья <1130> *Методы, основанные на определении нуклеиновых кислот (Испытание на остаточную ДНК)*

- Информационная общая статья, содержащая лучшие практики
- Официальный статус с декабря 2016 г.

▶ Статья <509> *Испытание на остаточную ДНК*

**NEW**

- Новая статья, содержащая валидированный метод
- Два соответствующих стандартных образца:
  - Стандартный образец геномной ДНК CHO USP (30 нг/мкл)
  - Стандартный образец геномной ДНК *E. coli* USP (30 нг/мкл)
- Будет опубликована во Втором дополнении к *USP42-NF37*, официальный статус с 1 декабря 2019 г.

# Основное содержание статьи <1130> USP



- ▶ Введение
  - Стратегии решения вопросов с остаточной ДНК
    - Устранение препятствий во время процесса валидации
    - Рутинный мониторинг остаточной двухцепочечной ДНК
    - Предварительная обработка образцов
- ▶ Количественное определение остаточной ДНК на основе гибридизации
- ▶ Количественное определение остаточной ДНК на основе ДНК-связывающего белка
- ▶ Методы Полимеразной цепной реакции (ПЦР)
  - Количественная ПЦР (qPCR)
  - Альтернативные стратегии обнаружения
  - Вопросы для рассмотрения

# Основное содержание статьи <509> Испытание на остаточную ДНК



- ▶ Подготовка образца (экстракция)
  - Стадия расщепления протеиназы К в сочетании с экстракцией хаотропной соли (NaI) и осаждением изопропанола
    - Опрос USP показал, что 95% респондентов извлекают образцы, и 62% из них используют хаотропные агенты
  
- ▶ Метод количественной ПЦР для обнаружения ДНК
  - Опрос USP в глобальном масштабе показал, что 82% респондентов используют методы qPCR – в настоящее время это наиболее часто используемый метод для обнаружения ДНК
  - Включает
    - Последовательности праймеров и зондов для СНО и *E. coli*
    - Требования пригодности системы
    - Критерии приемлемости для точности и % относительного стандартного отклонения
      - Предел, определяемый в частной статье на продукт

- ▶ Остаточные белки клеток хозяина могут влиять на качество, безопасность и эффективность продукции, в том числе:
  - Иммунные реакции на белки клеток хозяина
  - Нежелательная биоактивность (гомологичность к эндогенным белкам человека)
  - Ферментативная активность, воздействующая на лекарственное вещество или вспомогательные вещества (например, липазы для полисорбата), влияющая на стабильность, активность
  
- ▶ Риски могут варьироваться в зависимости от многих факторов, включая:
  - Доза (мг биопрепаратов / кг массы тела )
  - Путь введения
  - Частота дозирования (острые или хронические заблевания)
  - Количество биотерапевтических препаратов, которые принимает пациент
  - Популяция пациентов (иммунно-скомпрометированная и др.)

# Сложности при анализе белков клеток

## хозяина



- ▶ Имеется множество вариантов белков клеток хозяина в зависимости от клеточного субстрата, а также положения относительно хода производственных процессов
  - Белки клеток хозяина могут варьировать в количестве (~3-11), гидрофобности и молекулярном весе (от ~5 КДА до ~250 КДА)
  - Клеточные субстраты хозяина различаются: бактерии, дрожжи, клетки млекопитающих или насекомых
- ▶ Низкие уровни остаточных белков клеток хозяина в большом количестве белкового продукта
- ▶ Популяция видов белков клеток хозяина может изменяться в ходе производственного процесса
- ▶ Не все белки клеток хозяина являются иммуногенными, поэтому могут не обнаруживаться с помощью иммуноферментных методов
- ▶ Если определен белок клеток хозяина обогащен во время очищения продукта, может наблюдаться ложно отрицательный результат или определяться низкие значения дозы (эффект крючка)
- ▶ Задачей является разработка критически важных реагентов и процесса характеристики для обеспечения обнаружения большинства белков клеток хозяина

# Общая статья <1132> Измерение количества белков клеток хозяина в биофармацевтических продуктах



- ▶ Официальный статус в USP41-NF36 1S (декабрь 2015 г.)
- ▶ Содержит:
  - Методы иммуноферментного количественного определения
    - Реактивы
    - Разработку метода
    - Квалификацию
    - Валидацию
  - Поддерживающие / Ортогональные методологии
    - Методы электрофореза (1D и 2D SDS-PAGE и CE-SDS)
    - Вестерн-блоттинг
    - Хроматографические методы
    - Масс-спектрометрические методы
- ▶ Нет стандартных образцов



# Разработка стандартов для испытания рабочих характеристик



- ▶ Стандарты для испытания рабочих характеристик
  - Физические стандартные образцы, которые поддерживают аналитические испытания биопрепаратов на протяжении всего жизненного цикла продукта
  - Используют для гарантии и подтверждения рабочих характеристик методов и процесса
  - Широко применимы к семействам или классам продуктов в отличие от конкретного лекарственного вещества или лекарственного продукта
  
- ▶ Примеры
  - Смеси олигосахаридов (A-D) для анализа гликанов
  - Стандарты IgG моноклональных антител для испытания пригодности системы для характеристики моноклональных антител (SEC и CE)
  - BSA (бычий сывороточный альбумин) для количественного определения белка, пригодности системы (для белков, которые не имеют конкретного стандартного образца)

***Стандарты, относящиеся к определению белков клеток хозяина, признаны высоко приоритетными в ходе круглого стола с экспертами фармпромышленности***

- USP продолжает модернизировать свои частные статьи и разрабатывать другие фармакопейные стандарты в сотрудничестве с заинтересованными сторонами
- USP расширит свою коллекцию высококачественных стандартных образцов, которые используются для характеристики биопрепаратов на протяжении всего хода разработки лекарств
- Команда USP Biologics привлечет внешних экспертов, чтобы расставить приоритеты в стандартах, которые наиболее необходимы производителям и регуляторам, в том числе для передовых методов лечения
- Следите за нашей деятельностью: <https://www.usp.org/biologics>

call for candidates

2020–2025

## Присоединяйтесь к нам

Работайте в сотрудничестве с высокомотивированными лидерами из научной, медицинской области, практического здравоохранения, фармпромышленности и академических организаций, чтобы помочь нам в установлении стандартов с целью обеспечить возможность двум миллиардам людей во всем мире получить качественные лекарственные препараты, диетические добавки и продукты питания

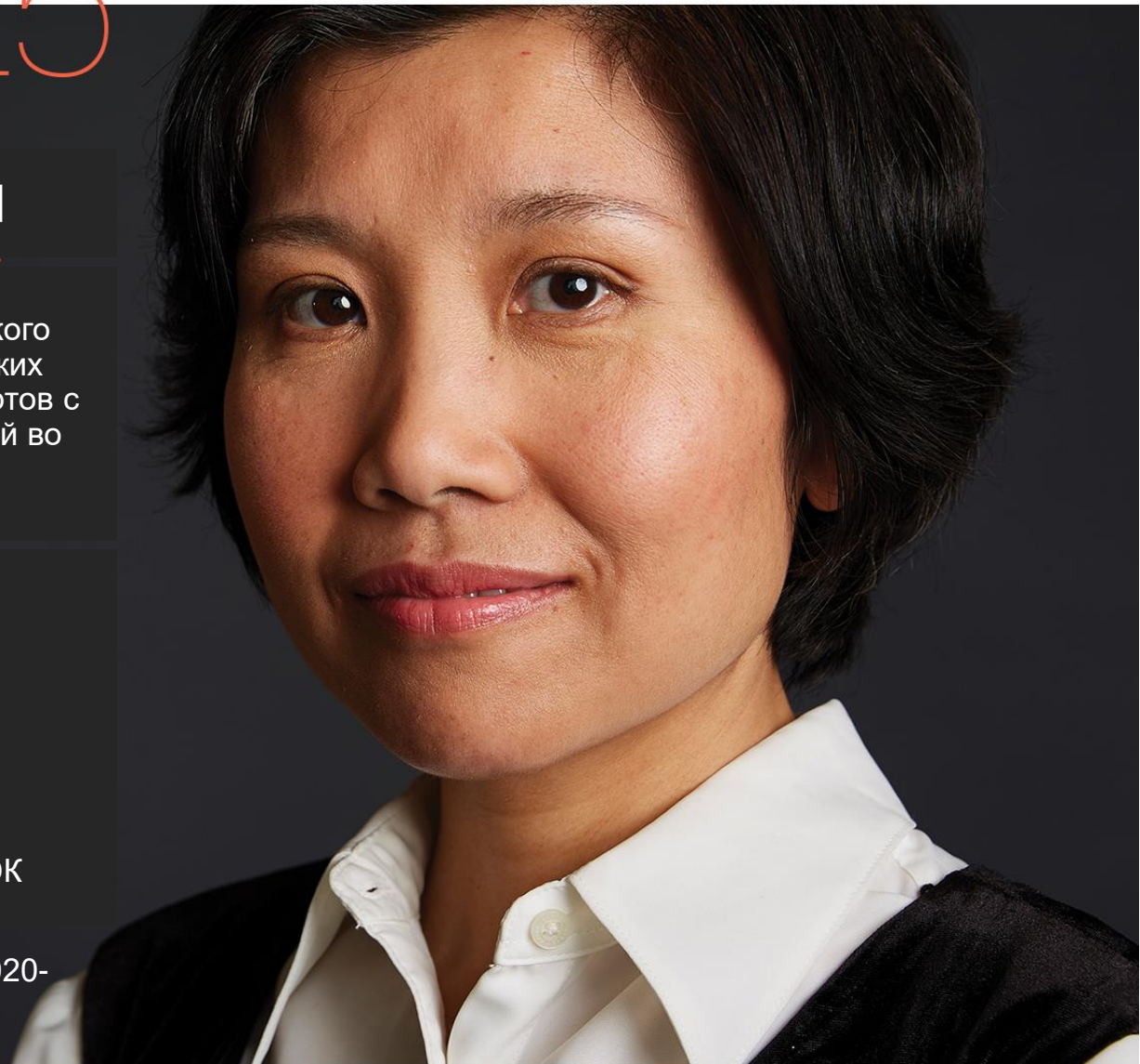
### Важные даты:

**Июль 2018:** USP объявила приглашение кандидатов на период 2020-2025

**Январь 2020:** Срок подачи заявок на выдвижение председателей экспертных комитетов (ЭК)

**Май 2020:** Срок подачи заявок на выдвижение членов ЭК

**Июль 2020:** Начало работы Экспертного совета и ЭК 2020-2025



For additional information visit [callforcandidates.usp.org](https://callforcandidates.usp.org) or contact [USPVolunteers@usp.org](mailto:USPVolunteers@usp.org).

# Вопросы



**Empowering a healthy tomorrow**

**Спасибо**



**Empowering a healthy tomorrow**