

**НАЦІОНАЛЬНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ УКРАЇНИ  
«КИЇВСЬКИЙ ПОЛІТЕХНІЧНИЙ ІНСТИТУТ  
імені ІГОРЯ СІКОРСЬКОГО»  
Факультет біомедичної інженерії  
Кафедра трансляційної медичної біоінженерії**

«На правах рукопису»  
УДК 615.014.24, 616.832-004.21

До захисту допущено:  
Завідувач кафедри трансляційної  
медичної біоінженерії  
\_\_\_\_\_Олександр БЕСАРАБ  
«   » \_\_\_\_\_ 2024 р.

**Магістерська дисертація  
на здобуття ступеня магістра  
за освітньо-професійною програмою «Регенеративна та  
біофармацевтична інженерія»  
зі спеціальності 163 «Біомедична інженерія»  
«Біоінженерний проект виробництва рекомбінантних моноклональних антитіл  
для використання при комплексній терапії розсіяного склерозу»**

Виконав:  
студент II курсу, групи БФ-21мп  
Корх Дмитро Сергійович \_\_\_\_\_

Науковий керівник:  
Доктор філософії, доцент кафедри ТМБ  
Мотроненко Валентина Василівна \_\_\_\_\_

Рецензент:  
К.т.н., старший викладач каф. біоенергетики,  
біоінформатики та екобіотехнології  
Зубченко Людмила Сергіївна \_\_\_\_\_

Засвідчую, що у цій дипломній  
роботі немає запозичень з  
праць інших авторів без  
відповідних посилань.  
Студент \_\_\_\_\_



**Пояснювальна записка**

**до дипломного проєкту**

**на тему: «Біоінженерний проєкт виробництва рекомбінантних моноклональних антитіл для використання при комплексній терапії розсіяного склерозу»**

**Національний технічний університет України**  
**«Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського»**  
**Факультет біомедичної інженерії**  
**Кафедра трансляційної медичної біоінженерії**

Рівень вищої освіти: другий (магістерський)

Спеціальність: 163 – Біомедична інженерія

Освітньо-професійна програма «Регенеративна та біофармацевтична інженерія»

ЗАТВЕРДЖУЮ

В.о. завідувача кафедри  
трансляційної медичної  
біоінженерії

\_\_\_\_\_ Олександр БЕСАРАБ  
«\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2023 р.

**ЗАВДАННЯ**  
**на магістерську дисертацію студенту**

Корху Дмитру Сергійовичу  
(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема дисертації: Біоінженерний проект виробництва рекомбінантних моноклональних антитіл для використання при комплексній терапії розсіяного склерозу, науковий керівник дисертації Доктор філософії, доцент кафедри ТМБ Мотроненко Валентина Василівна, затверджені наказом по університету від «06» листопада 2023 р. № 5161-с.
2. Термін подання дисертації здобувачем «10» січня 2024 р.
3. Об'єкт дослідження: наукове обґрунтування технологічних рішень виробництва рекомбінантних моноклональних антитіл
4. Предмет дослідження: технологія виробництва рекомбінантних моноклональних антитіл для використання при комплексній терапії розсіяного склерозу.
5. Перелік завдань, які потрібно розробити: визначити можливі шляхи розробки та впровадження виробництва моноклональних антитіл в Україні, запропонувати технологічне рішення виробництва рекомбінантних моноклональних антитіл для використання при комплексній терапії розсіяного склерозу, розробити систему забезпечення якості на виробництві, оцінити ризики запропонованої технології виробництва та провести їх перспективну валідацію, запропонувати стартап-проект по впровадженню запропонованої технології
6. Орієнтовний перелік ілюстративного матеріалу: технологічна схема виробництва моноклональних антитіл, схема компоновки приміщення та обладнання виробництва моноклональних антитіл, схема логістичних потоків на виробництві моноклональних антитіл.
7. Консультанти розділів дисертації: не передбачено робочим навчальним планом.
8. Дата видачі завдання: «2» листопада 2023 р.

## Календарний план

№ з/п	Назва етапів виконання магістерської дисертації	Термін виконання етапів магістерської дисертації	Примітка
1	Аналіз літературних джерел по моноклональних антитілах	28.10.23 – 30.10.23	
2	Пошук нормативно-технічної документації для забезпечення реалізації проекту виробництва моноклонального антитіла	31.10.23-03.11.23	
3	Технологія виготовлення моноклональних антитіл та забезпечення контролю якості	04.11.23-11.11.23	
4	Технологічна схема виробництва	12.11.23-15.11.23	
5	Схема компоновки приміщень	16.11.23-20.11.23	
6	Схема потоків сировини та персоналу	21.11.23-23.11.23	
7	Оцінка ризиків	24.11.23-25.11.23	
8	Розробка старта-проекту	26.11.23-29.11.23	
9	Оформлення роботи	30.11.23-01.12.23	
10	Підготовка до захисту МД	02.12.23-16.01.24	

Здобувач:

студент гр. БФ-21мп \_\_\_\_\_

Дмитро КОРХ

Науковий керівник

дисертації: \_\_\_\_\_

Валентина МОТРОНЕНКО

доцент каф. ТМБ

## АНОТАЦІЯ

Магістерська дисертація має обсяг 115 сторінок, де міститься 1 рисунок та 17 таблиць. Загалом опрацьовано 68 джерел.

**Актуальність:** Розсіяний склероз є серйозною проблемою глобального здоров'я, яка впливає на якість життя пацієнтів і може викликати різноманітні фізичні та психологічні виклики. Рекомбінантні моноклональні антитіла зарекомендували себе, як перспективні терапевтичні засоби в сфері імунотерапії та можуть бути використані для модулювання відповіді імунної системи пацієнтів при лікуванні низки захворювань, в тому числі – розсіяного склерозу. Зокрема, їхня спрямованість на конкретні молекули або клітини може допомогти в контролі запалення, покращенні ремісійних періодів та уповільненні прогресування захворювання.

Однією з ключових переваг рекомбінантних моноклональних антитіл є їхня специфічність до певних молекул чи механізмів патології, що дозволяє максимізувати терапевтичний ефект, мінімізуючи при цьому негативний вплив на нормальні клітини.

Виробництво рекомбінантних моноклональних антитіл в контексті лікування розсіяного склерозу відкриває можливість персоналізованого та точкового впливу на патологічні процеси, що є важливим аспектом у сфері індивідуалізованої медицини. Використання таких імунотерапевтичних засобів може сприяти покращенню клінічних показників, зменшенню частоти загострень та підвищенню якості життя пацієнтів з розсіяним склерозом.

Розглянуто під час виконання магістерської дисертації перспективи використання моноклональних антитіл при лікуванні розсіяного склерозу, загальні механізми дії моноклональних антитіл проти РС, проаналізовано стан проблеми в Україні та широко відомі технології одержання антитіл. Розроблено технологічну, схему потоків сировини і персоналу та схему компоновки приміщень виробництва рекомбінантних моноклональних антитіл для використання при комплексній терапії розсіяного склерозу згідно

з чинним законодавством України. Технологічний процес одержання рекомбінантних моноклональних антитіл складається з 10 основних етапів. Виробництво моноклональних антитіл також має обґрунтування компоновки приміщень за класами чистоти і відповідну систему контролю якості. Підготовка продукції до всіх етапів виробництва передбачає потенційні ризики. Проведено для всіх ризиків перспективну валідацію і представлено шляхи мінімізації.

Розроблено стартап-проект для запуску виробництва та розраховано економічні показники. Наприклад, вартість однієї ампули (45 мл) не перевищуватиме 15 000 грн.

**Ключові слова:** моноклональні антитіла, розсіяний склероз, технологічна схема, технологія виробництва, контроль якості.

## SUMMARY

The master's thesis has a volume of 115 pages, which contains 1 figure and 17 tables. A total of 68 sources were processed.

**Relevance:** Multiple sclerosis is a serious global health problem that affects patients' quality of life and can cause a variety of physical and psychological challenges. Recombinant monoclonal antibodies represent a powerful tool in the field of immunotherapy and can be used to modulate the immune system response of patients with multiple sclerosis. Specifically, their targeting of specific molecules or cells can help control inflammation, improve remission periods, and slow disease progression.

One of the key advantages of recombinant monoclonal antibodies is their specificity to certain molecules or mechanisms of pathology, which allows to maximize the therapeutic effect while minimizing the negative impact on normal cells.

The production of recombinant monoclonal antibodies in the context of treatment of multiple sclerosis opens up the possibility of personalized and point impact on pathological processes, which is an important aspect in the field of individualized medicine. The use of such immunotherapeutic agents can help improve clinical indicators, reduce the frequency of exacerbations, and improve the quality of life of patients with multiple sclerosis.

The **purpose** of the dissertation: to design a technology for the production of recombinant monoclonal antibodies for use in the complex therapy of multiple sclerosis.

The **object** of the research is the scientific justification of the technology for the production of recombinant monoclonal antibodies.

The **subject** of research is the production technology of recombinant monoclonal antibodies for use in the complex therapy of multiple sclerosis.

**Scientific novelty** of the obtained results. For the first time in Ukraine, the theoretically grounded principles of the technology for obtaining recombinant

monoclonal antibodies for use in the complex therapy of multiple sclerosis are presented.

The prospects for the use of monoclonal antibodies in the treatment of multiple sclerosis, the general mechanisms of action of monoclonal antibodies against MS, the state of the problem in Ukraine and widely known technologies for obtaining antibodies were considered during the execution of the master's thesis. A technological, flow diagram of raw materials and personnel and a diagram of the layout of the premises for the production of recombinant monoclonal antibodies for use in the complex therapy of multiple sclerosis have been developed in accordance with the current legislation of Ukraine. The technological process of obtaining recombinant monoclonal antibodies consists of 10 main stages. The manufacture of monoclonal antibodies necessitates the arrangement of facilities based on purity classes and the implementation of a related quality control system. Anticipated hazards are identified during every phase of the production process. A comprehensive validation was performed for all potential dangers, and strategies for minimizing them were offered.

A start-up project has been developed for production implementation and economic indicators have been calculated, namely: the cost of 1 ampoule (45 ml) will not exceed UAH 15,000.

**Keywords:** monoclonal antibodies, multiple sclerosis, technological scheme, production technology, quality control.

## ЗМІСТ

ВСТУП.....	11
1.1 Загальні механізми дії моноклональних антитіл проти РС.....	13
1.2 Стан проблеми в Україні .....	14
1.3 Вибір моноклонального антитіла.....	16
1.4 Вибір технології антитіл .....	27
Висновки до розділу 1 .....	31
РОЗДІЛ 2. НОРМАТИВНО-ТЕХНІЧНА ДОКУМЕНТАЦІЯ НА СИРОВИНУ, ПРОМІЖНІ ПРОДУКТИ ТА НА ГОТОВУ ПРОДУКЦІЮ .....	33
Висновки до розділу 2.....	38
РОЗДІЛ 3. ТЕХНОЛОГІЯ ВИРОБНИЦТВА МОНОКЛОНАЛЬНИХ АНТИТІЛ ДЛЯ ВИКОРИСТАННЯ В КОМПЛЕКСНІЙ ТЕРАПІЇ АТЕРОСКЛЕРОЗУ .....	40
3.1 Характеристика моноклонального антитіла, що виробляється .....	40
3.2 Технологічна схема та опис стадій виробничого процесу .....	56
3.3 Апаратурно-технологічна схема компоновки приміщень і обладнання .....	65
3.4 Обґрунтування потоків сировини і персоналу .....	66
Висновки до розділу 3.....	68
РОЗДІЛ 4. СИСТЕМА КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ НА ВИРОБНИЦТВІ .....	69
4.1 Рекомендації щодо оцінки якості продукції.....	69
4.2 Рекомендації щодо контролю якості на проміжних етапах виробництва .....	72
4.3 Рекомендації щодо контролю якості кінцевого продукту.....	73
Висновки до розділу 4.....	75
РОЗДІЛ 5. ОЦІНКА ВИРОБНИЧИХ РИЗИКІВ.....	78
Висновки до розділу 5.....	88
РОЗДІЛ 6. СТАРТАП-ПРОЄКТ.....	89
6.1. Резюме стартап-проєкту .....	89
6.2 Детальний ринковий аналіз реалізації проєкту .....	91
6.3 Розрахунок фінансових показників .....	96
6.4 Розробка ринкової стратегії стартап проєкту .....	97
Висновки до розділу 6.....	99
ВИСНОВКИ .....	100
СПИСОК ДЖЕРЕЛ ЛІТЕРАТУРИ .....	102

## ВСТУП

Розсіяний склероз (РС) є хронічним захворюванням центральної нервової системи, яке може спричиняти різноманітні неврологічні проблеми у пацієнтів. Хоча існують деякі лікарські засоби для терапії РС, у багатьох випадках їх ефективність обмежена або виникають побічні ефекти.

Рекомбінантні антитіла є перспективним напрямком в дослідженнях і лікуванні розсіяного склерозу. Вони можуть бути спрямовані на певні молекулярні мішені, що є відповідальними за патологічні процеси в РС, і таким чином допомагати знижувати запалення і ущільнення мієліну, що є характерними ознаками цього захворювання.

Проектування лабораторії для виробництва такого лікарського засобу є важливим кроком в розвитку нових методів лікування РС. Це дозволить проводити дослідження, виробляти рекомбінантні антитіла, оцінювати їх ефективність і безпеку, а також розробляти оптимальні технологічні процеси для їх виробництва в масштабі, якщо результати будуть показові.

Актуальність цієї дисертації визначається потребою в більш ефективних методах лікування РС і можливістю рекомбінантних антитіл стати однією з таких методів. Це має потенціал покращити якість життя пацієнтів з РС і вплинути на подальший розвиток медицини в цілому.

**Мета дисертації:** запропонувати технологічне рішення виробництва рекомбінантних моноклональних антитіл для використання при комплексній терапії розсіяного склерозу.

Відповідно меті необхідно виконати наступні задачі:

1. На основі аналізу моноклональних антитіл для використання в комплексній терапії розсіяного склерозу та існуючих технологій їх виробництва визначити можливі шляхи розробки та впровадження

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ		
Вим	Лист	№ докум.	Підпис	Дата			
Розробив		Корх Д. С.				Літ.	Лист
Перевірив		Мотроненко В.В.					Листів
Реценз.		Зубченко Л. С.					115
Н. Контр.					КПІ ім. Ігоря Сікорського		
Затвердив		Бесараб О. Б.					

виробництва моноклональних антитіл для використання в терапії розсіяного склерозу в Україні.

2. Спроекувати технологію виробництва рекомбінантних моноклональних антитіл.

3. Розробити систему забезпечення якості на виробництві рекомбінантних моноклональних антитіл.

4. Оцінити ризики запропонованої технології виробництва та провести їх перспективну валідацію.

5. Запропонувати стартап-проект по впровадженню запропонованої технології.

**Об'єкт дослідження** – наукове обґрунтування технологічних рішень виробництва рекомбінантних моноклональних антитіл.

**Предмет дослідження** – технологія виробництва рекомбінантних моноклональних антитіл для використання при комплексній терапії розсіяного склерозу.

**Наукова новизна отриманих результатів.** Вперше в Україні представлено теоретично обґрунтовано і запропоновано технологічні рішення виробництва рекомбінантних моноклональних антитіл для використання при комплексній терапії розсіяного склерозу.

#### **Обсяг і структура дисертації.**

Обсяг магістерської дисертації 112 сторінок. Робота складається з шести розділів: аналізу літературних джерел, нормативно-технічної документації для реалізації виробництва рекомбінантних моноклональних антитіл, технології виробництва рекомбінантних моноклональних антитіл для використання при комплексній терапії розсіяного склерозу, оцінки ризиків та стартап проекту, також містить вступ, висновки та перелік літературних джерел. Дисертація має 1 ілюстрацію та 17 таблиць. Перелік опрацьованих джерел становить 68.

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		12

## РОЗДІЛ 1. ПЕРСПЕКТИВИ ВИКОРИСТАННЯ МОНОКЛОНАЛЬНИХ АНТИТІВ ПРИ ЛІКУВАННІ РОЗСІЯНОГО СКЛЕРОЗУ

Розсіяний склероз (РС) — хронічне запальне захворювання, яке вражає центральну нервову систему (ЦНС), що викликає широкий спектр неврологічних розладів. Поширеність помітно відрізняється в різних регіонах світу. В Україні, поширеність хвороби оцінюється приблизно в 200 випадків на 100 000 населення: у два рази вище кількість випадків захворювання у жінок, ніж у чоловіків. Розсіяний склероз є викликом не лише для постраждалих, а й для системи охорони здоров'я суспільства через значні витрати на розробку ліків для подолання цієї хвороби[1-4].

Як один з перспективних напрямків лікування, на сьогоднішній день є використання моноклональних антитіл різного типу. Це пов'язано з їх здатністю специфічно взаємодіяти з певними молекулярними мішенями, такими як рецептори на поверхні клітин, фактори росту або інші біологічно активні речовини. Моноклональні антитіла можуть бути спрямовані проти конкретних молекулярних мішеней, що дозволяє їм точно впливати на патологічні процеси в організмі [5, 6]. Це відкриття відкриває нові можливості для розробки ефективних методів лікування різноманітних захворювань, включаючи такі, як: розсіяний склероз, онкологія та інші.

### 1.1 Загальні механізми дії моноклональних антитіл проти РС

Моноклональні антитіла (МА) є важливими інструментами у медицині, зокрема в боротьбі з розсіяним склерозом (РС). Вони можуть впливати на РС за допомогою кількох загальних механізмів дії.

Перш за все, МА можуть специфічно взаємодіяти з клітинами імунної системи, такими як В-клітини та Т-клітини, що грають ключову роль у

					<b>БФ 2108.11.40.001 ПЗ</b>			
<i>Вим</i>	<i>Лист</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>		<i>Лім.</i>	<i>Лист</i>	<i>Листів</i>
<i>Розробив</i>		<i>Корх Д. С.</i>						115
<i>Перевірив</i>		<i>Мотроненко В.В.</i>						
<i>Реценз.</i>		<i>Зубченко Л. С.</i>						
<i>Н. Контр.</i>								
<i>Затвердив</i>		<i>Бесараб О. Б.</i>						
					<i>КПІ ім. Ігоря Сікорського</i>			

патогенезі РС. Це може призвести до модуляції активації цих клітин та зменшення запалення в центральній нервовій системі, що характерно для РС [6, 7].

Другий механізм полягає в тому, що МА можуть спрямовуватися проти конкретних молекулярних мішеней, які грають роль у патогенезі РС. Наприклад, деякі МА можуть бути спрямовані проти клітин або молекул, що сприяють запаленню та пошкодженню мієліну, що є характерною ознакою РС [8].

Крім того, МА можуть брати участь у процесах фагоцитозу, при якому фагоцити (наприклад, макрофаги) здатні "поглинати" та руйнувати патогенні клітини або молекули, що сприяють розвитку РС [9].

Таким чином, моноклональні антитіла можуть впливати на розвиток та перебіг розсіяного склерозу через ряд різних механізмів, що робить їх потенційно важливими для розробки нових методів лікування цього захворювання.

## 1.2 Стан проблеми в Україні

Розсіяний склероз – це стійке прогресуюче захворювання центральної нервової системи. На сьогодні в Україні проводиться активна розробка препаратів, які мають за мету уповільнення атрофії головного мозку, запалення, демієлінізації та зменшення частоти загострень, а також прогресування інвалідності. Серед них залишаються ефективними бета-інтерферони, пегільовані інтерферони, глатирамера ацетат, терифлуномід. Моноклональні антитіла, такі як даклізумаб та окрелізумаб, демонструють ефективність, особливо при агресивному перебігу захворювання.

Дослідження підтверджують успішне застосування окрелізумабу та даклізумабу в лікуванні розсіяного склерозу, знижуючи частоту загострень та прогресування інвалідності. Комбінаційне лікування, наприклад, ребіфером,

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		14

також вивчається для досягнення кращих результатів. Наталізумаб, зокрема, діє, запобігаючи зв'язку запальних клітин з ендотеліальними клітинами та їхньому проникненню в паренхіму головного мозку [9-11].

У жовтні 2019 року на ринку України з'явиться новий високоефективний препарат для лікування розсіяного склерозу - Лемтрада. Згідно з висновками Інституту клінічного та економічного аналізу (ICER, 2017), Лемтрада входить до топ-3 найбільш ефективних препаратів для лікування розсіяного склерозу. Цей препарат є новим підходом до лікування рецидивно-ремітивного розсіяного склерозу, який не вимагає постійної терапії. [12].

Препарат відзначається високою ефективністю та стабільним контрольованим профілем безпеки та переносимості, що підтверджено результатами клінічних досліджень. Довгострокові дані з базових та розширених клінічних випробувань свідчать про те, що тривала клінічна ефективність Лемтрада може бути пов'язана з особливими якісними змінами у процесі репопуляції лімфоцитів імунної системи.

У дослідженні безпеки та ефективності препарату протягом 7 років в групі пацієнтів з активним перебігом захворювання, які раніше отримували інші хворобо-модифікуючі терапії, 60% пацієнтів досягли NEDA (відсутність активності захворювання). У 69% пацієнтів, які отримували Лемтрада, відбулася стабілізація інвалідизації, а у 44% відміталось підтверджене зниження ступеня інвалідизації. По мірі часу знижувалася частота проявів побічних явищ [13-15].

Важливо враховувати, що, незважаючи на сучасний прогрес, немає методу повного одужання від розсіяного склерозу. Лікування має на меті зниження симптомів та уповільнення прогресу захворювання. Інтеграція нових методів лікування, таких як окрелізумаб та наталізумаб, дозволяє покращити якість життя пацієнтів і зменшити його вплив на інвалідність.

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		15

### 1.3 Вибір моноклонального антитіла

Моноклональні антитіла є важливим засобом для терапії розсіяного склерозу, що є хронічним захворюванням центральної нервової системи. Їх виробляються шляхом клонування одного типу клітин, які виробляють специфічні антитіла проти певного антигену.

Механізм дії моноклональних антитіл полягає в тому, що вони спрямовано взаємодіють з певними клітинами чи білками, що грають ключову роль у патогенезі розсіяного склерозу. Це може включати взаємодію з лімфоцитами, що сприяє зниженню запалення та руйнування мієліну, а також зменшення ризику рецидивів захворювання [16].

Застосування моноклональних антитіл для терапії розсіяного склерозу може значно полегшити стан хворого, зменшити частоту загострень та ускладнень захворювання, покращити якість життя пацієнта. Водночас, це може допомогти у зменшенні дози та частоти прийому імуномодельюючих препаратів, що має важливе значення для пацієнтів з розсіяним склерозом [15-18].

У цілому, моноклональні антитіла виявляються дуже ефективними у лікуванні розсіяного склерозу та можуть використовуватися як монотерапія або в поєднанні з іншими методами лікування для досягнення оптимальних результатів.

Існують наступні моноклональні антитіла, які застосовуються для терапії розсіяного склерозу: Наталізумаб, Алемтузумаб, Ритуксимаб, Daclizumab, Ocrelizumab, Устекінумаб, ch5D12, детальна інформація про які наведена в таблиці 2.1. На сьогоднішній день лише одне моноклональне антитіло було ліцензовано для лікування розсіяного склерозу: наталізумаб, решта – знаходяться на різних етапах розробки та випробування [19].

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		16

Характеристика моноклональних антитіл, які можна використовувати для  
терапії розсіяного склерозу

Назва	Тип монокло-нального Ab	Цільова молекула	Механізм дії	Пробна стадія	Країна в якій проходять випробування
Natalizumab (Tysabri)	Humanised	$\alpha 4$ -integrin	Запобігання міграції активованих лімфоцитів через гематоенцефалічний бар'єр	Ліцензований	Данія/Ірландія
Alemtuzumab (Campath-1H)	Humanised	CD52	Тривала Т-клітинна лімфопенія (і тимчасове виснаження В-клітин і моноцитів)	III етап	Німеччина
Rituximab (Rituxan)	Chimeric	CD20	Виснаження В-клітин	II етап	Індія
Ocrelizumab	Humanised	CD20	Виснаження В-клітин	II етап	Німеччина
Daclizumab (Zenepax)	Humanised	CD25 (IL-2R $\alpha$ )	Зниження виживання активованих Т-клітин, можливо, НК-клітин	II етап	США
Ustekinumab (CNTO-1275)	Human	IL12p40 + IL23p40	Блокада інтерлейкіну-12 та інтерлейкіну-23	II етап	Швейцарія
ch5 D12	Chimeric	CD40	Антигенпрезентуючі клітини	Доклінічний	США

Наталізумаб (Tysabri, Biogen Idec) – єдине моноклональне антитіло, ліцензоване для лікування рецидивуючого розсіяного склерозу. Його дія спрямована на міграцію лімфоцитів через гематоенцефалічний бар'єр, що відбувається на ранньому етапі формування ураження при РС. Білок  $\alpha_4 \beta_1$  інтегрин присутній на лімфоцитах і взаємодіє з молекулою судинно-клітинної адгезії 1 (VCAM-1) у кровоносних судинах головного та спинного мозку, щоб уможливити міграцію до центральної нервової системи (ЦНС). Наталізумаб зв'язує субодиницю  $\alpha_4$  (дуже пізній антиген 4), запобігаючи цим процесам та зупиняє проходження лімфоцитів до ЦНС. Два великих подвійних дослідження III фази; AFFIRM (наталізумаб проти плацебо) та SENTINEL (наталізумаб плюс інтерферон  $\beta_1\alpha$  проти плацебо плюс інтерферон  $\beta_1\alpha$ ) оцінювали безпеку та ефективність протягом 2-річного періоду [20].

У дослідженні AFFIRM 942 пацієнти були рандомізовані у співвідношенні 2 ÷ 1 і отримували або наталізумабу 300 мг кожні 4 тижні або інфузію плацебо, 856 пацієнтів завершили дослідження. Пацієнти мали рецидивуючо-ремітуючий розсіяний склероз (PPPC) (EDSS 05) з одним рецидивом за попередні 12 місяців, не приймали інтерферон або глатирамеру ацетату протягом 6 місяців і не отримували іншої імуносупресії протягом 12 місяців. Через 2 роки спостерігалось відносне зниження, на 68 %, річної частоти рецидивів у групі наталізумабу. Наталізумаб знижував ризик стійкого прогресування інвалідності на 42 % через 2 роки. Збільшення уражень T2 МРТ було зменшено на 83 %, а середня кількість уражень, що підсилюються гадолінієм, – на 92% [21].

У дослідженні SENTINEL пацієнти мали рецидивуючо-ремітуючий розсіяний склероз (PPPC) (EDSS 05) та один або більше рецидивів протягом щонайменше 12 місяців терапії у попередньому році. 1196 пацієнтів були рандомізовані у співвідношенні 1 ÷ 1, одні – отримували наталізумаб чотири рази на тиждень, інші – плацебо чотири рази на тиждень. Дані 25 пацієнтів були виключені, а 14 % пацієнтів, що залишилися вийшли з дослідження.

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		18

Комбінована терапія призвела до зниження відносного ризику стійкого прогресування інвалідності. Щорічна частота рецидивів становила 0,34 при застосуванні комбінованої порівняно з 0,75 при застосуванні лише ІФН-б1а [22]. Нові ураження були зменшені на 83 % при застосуванні комбінованої терапії.

Наталізумаб був схвалений FDA у листопаді 2004 року після того, як було доведено його ефективність у зниженні частоти рецидивів протягом 1 року, а також після того, як були отримані докази, що підтверджують ефективність протягом 2 років [23].

У двох пацієнтів, які брали участь у дослідженні SENTINEL згодом розвинулася прогресуюча мультифокальна лейкоенцефалопатія і вони померли. Один з них отримав 28 доз наталізумабу, а інший закінчив дослідження і отримав загалом 37 дози без ознак розсіяного склерозу на момент розтину. Ці випадки призвели до призупинення маркетингу наталізумабу та клінічних досліджень у лютому 2005 року. Пізніше було виявлено ще один випадок лейкоенцефалопатія у пацієнта, який лікувався наталізумабом від хвороби Крона. Більше випадків лейкоенцефалопатія у пацієнтів з розсіяним склерозом на той час не було виявлено, і призупинення клінічних випробувань з наталізумабом було скасовано в лютому 2006. У червні 2006 р. призупинення маркетингу було скасовано за умови, що в США відповідні пацієнти отримуватимуть лише наталізумаб монотерапію за схемою мінімізації ризику схемою "TOUCH" (Tysabri Outreach: Unified Tysabri Outreach: Unified Commitment to Health). TYGRIS-ROW (Tysabri Global Observational Program in Safety Rest of World) – це спостережне дослідження з безпеки дослідження безпеки пацієнтів, які отримують лікування наталізумабом у будь-якій країні за межами США. Британські настанови наразі рекомендують застосовувати наталізумаб лише пацієнтам зі швидко прогресуючим тяжким рецидивуючим розсіяним склерозом, що визначається двома рецидивами протягом 12 місяців плюс одне вогнище

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		19

ураження, що підсилюється гадолінієм на МРТ або значним збільшенням навантаження на T2 вогнище ураження порівняно з попереднім скануванням. З моменту повторного схвалення наталізумабу було зареєстровано ще п'ять випадків ПМЛ; всі вони виникли у хворих на РС пацієнтів, які отримували монотерапію. Про два з них було повідомлено в липні 2008 року; один після 17 доз наталізумабу, а другий у пацієнта, який отримував 14 доз наталізумабу. Третій випадок, про який повідомлялося у жовтні 2008 року стався у пацієнта, який отримав 14 доз наталізумаб. Четвертий випадок, про який повідомлялося в грудні 2008 р., стався після 26 місяців лікування наталізумабом і п'ятий випадок був підтверджений у лютому 2009 року після 12 місяців терапії [24-27].

Інші побічні ефекти лікування наталізумабом включають інфузійні реакції та гіперчутливість. У дослідженнях AFFIRM і SENTINEL 6 % пацієнтів, які отримували наталізумаб, розвинулися стійкі антитіла, які призводять до зниження ефективності та посилення інфузійних реакцій. Існують постмаркетингові докази того, що наталізумаб може викликати клінічно значуще ураження печінки, яке може виникати вже через 6 днів після першого лікування, а також після багаторазових доз. Пацієнти повинні бути повністю поінформовані про ризики застосування наталізумабу до початку лікування та перебувати під ретельним наглядом [28].

Алемтузумаб (Campath-1H, Genzyme та Bayer Schering Pharma) – це гуманізовані моноклональні антитіла проти CD52, що містяться на лімфоцитах, моноцитах та еозинофілах. Функція антигену CD52 досі невідома. Алемтузумаб призводить до швидкого та глибокого лізису клітин та лімфопенії. Він ліцензований для лікування хронічної лімфоцитарної лейкемії і використовується в дослідницьких випробуваннях при розсіяному склерозі з 1991 року.

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		20

При застосуванні В-лімфоцитів та моноцитів, відновлення відбувається протягом 3 місяців, однак кількість CD4+ Т-клітин залишаються низькими в середньому протягом 5 років. Ранні дослідження показали, що при застосуванні алемтузумабу при вторинно-прогресуючому РС, рецидиви ефективно пригнічуються, однак накопичення інвалідизації з часом продовжувалося. Також було досліджено, що він є високоефективним на ранніх стадіях розсіяного склерозу порівняно з інтерфероном b1a. У дослідженні CAMMS223 фази II за участю 334 пацієнтів з раннім рецидивуючим перебігом розсіяного склерозу приймали пацієнти, які отримували високі або низькі дози щорічних інфузій алемтузумабу або триразових ін'єкцій на тиждень ін'єкції інтерферону b1a протягом 3-річного періоду [29].

Алемтузумаб виявився високоефективним і призвів до зниженню швидкості накопичення інвалідності, а також зменшенню річної частоти рецидивів. Щорічна частота рецидивів становила 0,1 у пацієнтів, які отримували алемтузумаб, порівняно з 0,36 у групі інтерферону b1a. Бали за шкалою EDSS у групі алемтузумабу покращилися на 0,39 бала і погіршилися на 0,38 бала в групі інтерферону ( $p < 0,001$ ). Об'єм ураження на МРТ зменшився більше в групі алемтузумабу порівняно з групою інтерферону b1 a, це було достовірно через 12 місяців ( $p = 0,01$ ) та 24 місяці ( $p = 0,005$ ), але не через 36 місяців. Загалом не було виявлено суттєвих відмінностей у результатах між високою та низькою дозою алемтузумабу.

У вересні 2005 року дозування алемтузумабу було призупинено у зв'язку з розвитком імунної тромбоцитопенічної пурпури у трьох пацієнтів, один з яких не повідомив про свої симптоми і згодом помер від внутрішньомозкового крововиливу. У групі алемтузумабу 75 % пацієнтів не отримали третій цикл лікування через призупинення. Загалом у шести пацієнтів (2,8 %), які отримували алемтузумаб розвинулася тромбоцитопенічна пурпура порівняно з одним пацієнтом, який отримував інтерферон b1a [30].

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		21

Аутоімунне захворювання щитовидної залози спостерігалось у 22,7 % пацієнтів, які отримували лікування алемтузумабом (більшість були з гіпертиреозом) порівняно з 2,8 % пацієнтів, які отримували інтерфероном b1a. Інфекції легкого та помірного ступеня тяжкості також збільшилася в групі алемтузумабу. Інфузійні реакції на алемтузумаб були поширеними, хоча серйозні реакції спостерігалися лише у 1,4 %. Випадок не пов'язаної з ВЕБ-інфекцією лімфоми Беркітта був зареєстрований у одного пацієнта, який отримував лікування алемтузумабом. Також було два повідомлення про хворобу Гудпасчера у пацієнтів з розсіяним склерозом, які отримували лікування алемтузумабом в інших клінічних дослідженнях.

Незважаючи на побічні ефекти алемтузумабу, 83 % пацієнтів, які отримували лікування, завершили 36-місячне дослідження CAMMS223. порівняно з лише 59 % пацієнтів, які отримували інтерферон b1a. Основні причинами припинення лікування в групі інтерферону b1a були відсутність ефективності та побічні реакції. Надзвичайно багатообіцяючу клінічну та радіологічну ефективність алемтузумабу наразі перевіряється у двох дослідженнях III фази з ретельним моніторингом його потенційних побічних ефектів [31].

Ритуксимаб (Rituxan, Genentech та Biogen Idec) – це химерне моноклональне анти-CD20 антитіло, схвалене для лікування ревматоїдного артриту. Воно призводить до виснаження CD20-позитивних В-клітин (пре-В-клітин та зрілих В-клітин), але не виснажує плазматичні клітини або клітини-попередники в кістковому мозку. Раніше більшість методів лікування розсіяного склерозу були спрямовані на Т-клітини, але успіх ритуксимабу при ревматоїдному артриті та зростаюча кількість доказів про участь антитіл у патогенезі РС призвели до випробувань застосування ритуксимабу в лікуванні РС. Безпека та переносимість була спочатку показана в I-ій фазі дослідження за участю 26 пацієнтів. У наступній фазі II, дослідження було проведено з 104 пацієнтами з рецидивуючим розсіяним склерозом у

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		22

співвідношенні 2 ÷ 1 для отримання двох дослідних груп: дози ритуксимабу або інфузії плацебо. Пацієнти мали принаймні один рецидив протягом попереднього року і не використовували інші терапії щонайменше 60 днів до початку лікування.

У групі ритуксимабу кількість рецидивів була меншою порівняно з плацебо. Частка пацієнтів з рецидивами становила 15,4 % проти 34,3 % відповідно через 24 тижні та 20,3 % проти 40 % через 48 тижнів. Загальна кількість уражень, що підсилюються гадолінієм були зменшені у групі ритуксимабу на 12, 16, 20, 24 та 48 тижнів [11].

Інфузійні реакції були поширеними (78 %) у групі пацієнтів, які отримували ритуксимаб. Частота інфекцій була подібними в обох групах; однак інфекції сечі та синусит були більш поширеними в групі ритуксимабу. Через 48 тижнів у чверті пацієнтів, які отримували ритуксимаб, були виявлені химерні антитіла. Автори [17] повідомляють, що зменшення запальних уражень спостерігалось вже через 4 тижні після введення першої дози. Оскільки ритуксимаб не виснажує плазматичні клітини і рівень антитіл не зазнає значних змін, малоймовірно, що він чинить свою дію через зниження рівня патогенних антитіл. Інші механізми, такі як зменшення кількості антигену або зменшення секреції прозапальних цитокінів В-клітинами, є більш правдоподібними. Лікарі, які застосовують ритуксимаб, повинні бути уважними до можливого розвитку прогресуючої лейкоенцефалопатії, повідомлялося про такі випадки у пацієнтів, які лікувалися від ревматоїдного артриту.

Ритуксимаб також застосовувався у дослідженні II фази при первинно-прогресуючого розсіяного склерозу, результати якого були представлені на Всесвітньому конгресі з лікування та дослідження розсіяного склерозу у Монреалі у вересні 2008 року. У цьому дослідженні 439 пацієнтів з первинно-прогресуючим РС були рандомізовані у співвідношенні 2 ÷ 1 на прийом ритуксимабу або плацебо. Відсоток пацієнтів з підтвердженим

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		23

прогресуванням захворювання через 96 тижнів (визначений як збільшення балів за шкалою інвалідності, що зберігається протягом 12 тижнів) статистично не відрізнявся між двома групами (38,5 % для плацебо проти 30,2% для ритуксимабу). Медіана зміна об'єму ураження T2 на МРТ від початкового рівня до 96-го тижня була значно нижчою для ритуксимабу ( $p=0,0008$ ). Враховуючи недостатню ефективність та ризик розвитку серйозних інфекцій, що спостерігався у пацієнтів, які отримували групі ритуксимабу (4,5 % проти  $< 1,0$  % у групі плацебо) застосування ритуксимабу не може бути виправданим у разі РС [12, 31].

Даклізумаб (Daclizumab). Даклізумаб (Зенепакс) – це анти-CD25 антитіло, яке було протестовано у відкритому дослідженні II фази за участю пацієнтів, які клінічно не відповіли на терапію інтерфероном. Перед початком лікування пацієнти перебували під наглядом протягом 4 місяців на інтерферонотерапії і повинні були мати щонайменше 0,67 нових уражень, на місяць. Загалом 11 пацієнтів отримали по сім доз препарату, перші дві дози вводили раз на два тижні, а потім кожні 4 тижні. Загалом препарат переносився добре, спостерігалось незначне збільшення кількості легких інфекцій та два випадки транзиторних порушень функції печінки. Даклізумаб призвів до зниження на 78 % кількості нових утворень та нових контрастно-підсилюючих уражень; це відбулося протягом 1,52 місяця. Також спостерігалось зниження на 80 % частоти загострень [14, 23].

Механізм дії даклізумабу є шокованим. Автори ініціювали клінічне дослідження виходячи з гіпотези, що лімфоцити у хворих на РС хронічно активовані і залежать від високоафінної сигналізації IL2R. Однак при вивченні впливу даклізумабу було виявлено незначні зміни у функції T-лімфоцитів пацієнтів. Було виявлено лише 20-відсоткове зниження проліферації CD4+ і не було ніякого впливу на проліферацію CD8+ клітин або секрецію T-клітинних цитокінів. Кількість CD4+ та CD8+ клітин була лише незначно знижена. На противагу цьому спостерігалось поступове збільшення кількості CD56

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		24

яскравих NK-клітин, що корелювало зі зниженням активності захворювання на МРТ [15, 24].

*In vitro* було показано, що ці NK-клітини обмежують виживання активованих Т-лімфоцитів за допомогою контакт-залежного механізму. Опосередкована NK-клітинами регуляція активованих Т-лімфоцитів, була також опосередкована активованих Т-клітин, як було показано *in vivo*, оскільки збільшення кількості NK-клітин корелювало з невеликим, але значним зменшенням кількості CD4+ та CD8+ клітин.

В іншому невеликому дослідженні II фази брали участь дев'ять пацієнтів, які мали принаймні один рецидив протягом попередніх 12 місяців під час лікування інтерфероном та отримували два вогнища ураження на будь-якому з чотирьох базових МРТ-сканувань. Терапія інтерфероном продовжували терапію на додаток до даклізумабу.

Пацієнти припиняли прийом інтерферону, якщо не було контрастно-підсилюючих уражень через 5,5 місяців і продовжували лікування тільки даклізумабом протягом 10 місяців. Якщо контрастно-підсилюючі ураження поверталися, інтерферон відновлювали, а дозу даклізумабу збільшували з 1 мг/кг до 1,5 мг/кг. Розширене дослідження дозволило продовжити лікування до до 27,5 місяців. Одинадцять пацієнтів були зараховані, хоча один припинив лікування після двох курсів через інфекції сечі та тяжкий рецидив, а інший був відкликаний після розвитку транзиторної тромбоцитопенії під час прийому триметоприму-сульфаметоксазолу. Решта дев'ять пацієнтів завершили 27,5 місяців терапії. Всі пацієнти припинили прийом інтерферону через 5,5 місяців, хоча у трьох згодом розвинулися нові ураження і відновили лікування разом зі збільшеною дозою даклізумабу. Чотириразове зменшення кількості нових уражень, що підсилюються контрастом уражень, що підсилюють контрастування, порівняно з початковим рівнем, спостерігалось через усі часові інтервали, а також зменшення частоти рецидивів.

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		25

Терапія добре переносилася, у одного пацієнта розвинулася лімфаденопатія, яка відступила після завершення дослідження [16, 25].

Уstekinumab – це моноклональне антитіло проти субодиниці p40, яка є компонентом як інтерлейкіну-12 та інтерлейкіну-23. Інтерлейкін-12 стимулює диференціацію Th1-лімфоцитів та продукцію IFN-g, тоді як інтерлейкін-23 стимулює вироблення інтерлейкіну-17, що продукує CD4+ клітини під назвою «Th17». Дослідження, проведені на тваринній моделі РС виявила роль обох цих типів клітин в ініціації ураження ЦНС. Уstekinumab на сьогоднішній день показав багатообіцяючі результати для лікування псоріазу в клінічних дослідженнях.

У II фазі подвійного дослідження було рандомізовано 246 пацієнтів з РС до однієї з чотирьох доз уstekinumabu підшкірно (27 мг, 90 мг або 180 мг чотири рази на тиждень або 90 мг вісім разів на тиждень) або плацебо. Пацієнти мали два рецидиви за попередні 2 роки або один рецидив за останні 6 місяців, і не отримували іншого лікування щонайменше 3 місяці. Не було виявлено суттєвих відмінностей між групами плацебо та уstekinumabu за кількістю нових гадолінієвих уражень на 23-му тижні або за частотою рецидивів.

Уstekinumab загалом добре переносився хоча 32% пацієнтів повідомили про посилення реакцій у місці ін'єкції реакції та інфекції [17, 26].

ch5D12 – це химерне моноклональне CD40 антитіло було протестовано на мармуровій мавпі на моделі експериментального аутоімунного енцефаломієліту розсіяного склерозу. CD40 є костимулюючою молекулою, присутньою на антигенпрезентуючих клітинах та В-клітинах. Ліганд CD40 знаходиться на Т-клітинах, при взаємодії з CD40 він призводить до активації антигенпрезентуючих клітин та зміни ізотипу В-клітин. Також нещодавно було показано, що взаємодія CD40CD40L важлива для розвитку клітин Th17.

В одному дослідженні індукували експериментальну енцефалопатію у восьми мавп шляхом введенням рекомбінантного білка мієліну MOG в

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		26

повному ад'юванті Фрейнда. Мавп лікували ch5D12 або плацебо до і після індукції. Чотири мавпи в групі плацебо розвинули експериментальну енцефалопатію на 41-й день; для порівняння, у жодної з мавп, які отримували плацебо, не розвинулися клінічні ознаки енцефалопатії протягом 50-денного періоду лікування. Однак, після припинення лікування енцефалопатія поступово з'являлась.

У наступному дослідженні автори [18] перевірили вплив ch5D12 на існуючу експериментальну енцефалопатію на моделі мармурової мавпи. Лікування за допомогою ch5D12 (три мавпи) або плацебо (чотири мавпи) було розпочато, як тільки ураження почали розвиватися. Розширення та інтенсивність ураження у мавп, які отримували лікування, було пригнічено, проте клінічної користі не спостерігалось. Не було виявлено жодних очевидних побічних ефектів у невеликої кількості мавп, які отримували лікування; однак, попередні дослідження із застосуванням моноклональних антитіл проти CD40L призвели до збільшення тромбоемболії. Враховуючи невизначену клінічну користь та потенціал тромбоемболічних ускладнень, необхідно отримати більше доказів перед тим, як розпочинати дослідження у пацієнтів з РС [18, 27].

#### **1.4 Вибір технології антитіл**

Моноклональні антитіла можуть бути отримані за допомогою технології рекомбінантної ДНК (рДНК-технологія), гібридомної технології, методом іморталізації В-лімфоцитів або інших технологій (наприклад, технології відображення, генетичної модифікації тварин). Гібридомна технологія моноклональних антитіл (МА) є ключовою методологією в області виробництва та отримання специфічних антитіл для лікування різноманітних захворювань.

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		27

Моноклональні антитіла отримані від нелюдського виду (наприклад, миші, щури), "олюднені" в різному ступені за допомогою інженерних амінокислотних замінів, які роблять їх більш схожими на послідовності отримані від людини. Це робиться за допомогою технологій рекомбінантної ДНК [8, 30]. Ритуксимаб, антитіло проти білка HER2/neu на поверхні клітин, було схвалено в 1997 році для лікування раку молочної залози. Для його створення отримані гібридомним методом варіабельні фрагменти об'єднали з людськими константними доменами і таким чином досягли вмісту людських ділянок понад 70%. Трасузумаб був революційним засобом лікування раку молочної залози, що збільшило час до прогресування захворювання та загальну виживаність[9, 24].

Зазвичай розробка генно-інженерної конструкції для вираження антитіла розпочинається з вибору системи експресії, вектора та оптимізації нуклеотидної послідовності, яка кодує антитіло. Вкрай важливо змінити склад кодонів, щоб максимізувати експресію антитіла. Амінокислотний склад білка оптимізується для зменшення ймовірності осадження, агрегації та імуногенності. Також ключове забезпечити правильне згортання (фолдування) ланцюгів і їх взаємодію. Сучасні програми дозволяють оптимізувати нуклеотидну послідовність генно-інженерних конструкцій для виробництва антитіл *in silico* (за допомогою комп'ютерних симуляцій), але остаточне вирішення залишається за експериментальними даними.

Для створення генно-інженерної конструкції використовують плазміди, що представляють собою кільцеву ДНК, що кодує не лише сам ген білка, але й допоміжні елементи. Для ефективною транскрипції у клітині використовують промотор цитомегаловірусу. У зв'язку з тим, що антитіло складається з двох поліпептидних ланцюгів, легких і важких, воно використовує або двоплазмідну систему експресії, або один вектор, який містить обидва гени. Найкраще використовувати останній варіант, оскільки він дозволяє точно регулювати співвідношення продукції легких (LC) і важких

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		28

(НС) ланцюгів. Дослідження показали, що в природних умовах в В-клітинах легкі ланцюги синтезуються в більшій кількості, ніж важкі, що сприяє ефективній продукції антитіл.

Важливим є також наявність гену стійкості до антибіотика векторі, який дозволяє відбирати клітини, містять вектор. Антибіотик спричинює загибель клітин, які не несуть вектор. Навіть при синтезі антитіл в клітинах ссавців, попередні операції з вектором, такі як вставка гену і клонування, проводяться в бактеріях.

Широко відомий на сьогодні спосіб одержання та застосування для лікування аутоімунних захворювань імунотоксину, що складається з повнорозмірного моноклонального антитіла до мембранного білка CD5, присутнього на 85-100 % зрілих Т-лімфоцитів, та А-ланцюга рицину. Поєднання двох компонентів здійснюється за рахунок хімічної кон'югації. До недоліків описаного методу відноситься отримання А-ланцюга рицину за допомогою виділення рицину з рослинного джерела (насіння рицини), відновлення дисульфідного зв'язку між А-і В-ланцюгами токсину та очищення А-ланцюга від В-ланцюга і повнорозмірного рицину за допомогою хроматографії. Такий спосіб отримання А-ланцюга рицину вимагає особливих заходів безпеки при виробництві (рицин відноситься до біологічної зброї і є вкрай токсичним для людини) та ретельного контролю повноти очищення. Крім того, рецептор CD5 присутній на 20-30 % В-клітин у здорових людей, що зумовлює побічну дію описаного імунотоксину [12].

У рішенні, поданому в європейській заявці EP365087A1, розкрито спосіб отримання імунотоксинів для терапії або профілактики аутоімунних захворювань (у тому числі, розсіяного склерозу), що являють собою кон'югати пептидів, що розпізнаються Т-лімфоцитами, та активної частини (А-цепи з радіоактивними ізотопами  $^{90}\text{Y}$ ,  $^{153}\text{Sm}$ ,  $^{43}\text{Sc}$ ,  $^{57}\text{Cu}$ ,  $^{186}\text{Rh}$ ,  $^{188}\text{Rh}$ ,  $^{212}\text{Bi}$ ,  $^{211}\text{At}$ ,  $^{103}\text{Pd}$ ).

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		29

Для терапії розсіяного склерозу пропонується використовувати пептиди, що відповідають фрагментам основного білка мієліну 1-16, 1-37, 59-74, 68-88, 89-169, 114-122. Недоліками описаного способу є: складність та дорожняча хімічного синтезу відповідного специфічного пептиду;

необхідність виділення А-ланцюга рицину з природного джерела або синтез комплексу хелатора з радіоактивним ізотопом (в обох випадках потрібні особливі заходи безпеки під час виробництва); втрати напівпродуктів при синтезі кон'югату специфічної та активної частини імунотоксину [13].

Гібридомні клітини створюються шляхом об'єднання В-лімфоцитів, що виробляють антитіла, і мієломних клітин. Цей процес забезпечує створення популяції клонованих клітин, які однорідно виробляють специфічні антитіла до конкретного антигену. Гібридні клітини, які були відібрані для виробництва моноклональних антитіл, можуть бути експандовані у великому масштабі в культурі, що дозволяє виробляти великі кількості антитіл для медичного використання. Гібридомні клітини можуть бути створені на основі відібраних клітин від імунізованих тварин, що дозволяє отримати антитіла, які реагують на конкретний антиген.

Гібридомна технологія дозволяє відносно швидко та ефективно отримати значні кількості моноклональних антитіл, порівняно з іншими методами виробництва. Гібридомні клітини можуть бути адаптовані для виробництва різних видів моноклональних антитіл, що розширює їхній спектр застосувань у лікуванні різних захворювань. Після створення гібридних клітин, вони можуть бути відтворені в лабораторних умовах, не потребуючи постійної участі тварин, що є важливим фактором у питаннях етики та відповідності стандартам тваринного добробуту. Саме тому для виробництва буде використана гібридомна технологія.

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		30

## Висновки до розділу 1

Аналізуючи вищезазначене дійшли висновку, що серед існуючих моноклональних антитіл, найоптимальнішим варіантом для виробництва, можна вважати наталізумаб, адже він був схвалений FDA у листопаді 2004 року після того, як було доведено його ефективність у зниженні частоти рецидивів протягом 1 року, а також після того, як були отримані докази, що підтверджують ефективність протягом 2 років. В деяких випадках наталізумаб може використовуватися як монотерапія для лікування рецидивів РС, що може зменшити потребу в інших лікарських засобах. У порівнянні з деякими іншими ліками для РС, які можуть вимагати інтерферонотерапії, наталізумаб може бути ефективним без такого супровідного лікування. У багатьох випадках наталізумаб добре переноситься пацієнтами, а його терапевтичний ефект може бути важливим для управління хворобою. Ліки на основі наталізумабу, зазвичай, вводяться пацієнтам повільно та перорально, що може забезпечити стабільний рівень лікування та зменшити необхідність у щоденних або щомісячних прийомах препаратів. Як моноклональне антитіло, наталізумаб виявляє високий рівень специфічності до свого молекулярного мішеня, що мінімізує побічні ефекти та забезпечує таргетований вплив на імунну систему. Тому в даній роботі запропоновано виробництво рекомбінантних моноклональних антитіл Наталізумаб за допомогою гібридної технології.

Гібридна технологія виробництва рекомбінантних моноклональних антитіл є кращою в порівнянні з іншими методами виробництва з численних причин.

По-перше, гібридна технологія дозволяє отримати великі кількості однорідних моноклональних антитіл. Це важливо для забезпечення стабільності та однаковості якості продукту. Крім того, гібридна технологія дозволяє отримати антитіла з високою чистотою, що є критично важливим для медичного застосування.

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		31

По-друге, гібридомна технологія дозволяє використовувати клітинну лінію, що може бути легко культивована в промисловому масштабі. Це робить процес виробництва більш ефективним та економічно вигідним.

По-третє, гібридомна технологія дозволяє модифікувати генетичну структуру клітин для покращення властивостей отриманих антитіл, таких як афінність до антигену або стабільність у різних умовах зберігання.

Крім того, гібридомна технологія дозволяє швидко впроваджувати нові технології та покращення у процес виробництва, що робить її більш гнучкою та адаптивною до змін у вимогах ринку.

Отже, гібридомна технологія виробництва рекомбінантних моноклональних антитіл є кращою через свою ефективність, економічну вигоду, можливість модифікації та швидкості реагування на зміни.

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		32

## РОЗДІЛ 2. НОРМАТИВНО-ТЕХНІЧНА ДОКУМЕНТАЦІЯ НА СИРОВИНУ, ПРОМІЖНІ ПРОДУКТИ ТА НА ГОТОВУ ПРОДУКЦІЮ

Додержання норм і стандартів чинної нормативно-технічної документації на сировину, проміжні та готову продукцію рекомбінантних моноклональних антитіл для використання при комплексній терапії розсіяного склерозу є ключовим аспектом процесу виробництва цієї медичної продукції. Ця документація включає в себе всі необхідні вимоги, стандарти та технічні характеристики, які повинні бути дотримані під час виробництва, зберігання та транспортування цих продуктів.

Для сировини, що використовується для отримання рекомбінантних моноклональних антитіл, нормативно-технічна документація включає в себе вимоги до якості, чистоти та стабільності сировини, а також методи її аналізу та контролю. Проміжні продукти також підлягають обов'язковому контролю якості та стабільності згідно з встановленими стандартами.

Готова продукція, тобто рекомбінантні моноклональні антитіла, також має свою нормативно-технічну документацію, яка включає в себе вимоги до якості, ефективності та безпечності цих препаратів. Ця документація також містить інформацію про умови зберігання, транспортування та використання рекомбінантних моноклональних антитіл.

Всі ці нормативно-технічні документи є необхідними для забезпечення якості та безпеки медичної продукції, а також для виконання всіх вимог законодавства при отриманні рекомбінантних моноклональних антитіл, так як їх використовують для виробництва медичних виробів. Вони є основою для контролю за процесом виробництва та забезпечують високий рівень якості продукції, що є важливим для забезпечення ефективної терапії розсіяного склерозу [32-35].

					<b>БФ 2108.11.40.001 ПЗ</b>		
<i>Вим</i>	<i>Лист</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>			
<i>Розробив</i>		<i>Корх Д. С.</i>				<i>Літ.</i>	<i>Лист</i>
<i>Перевірив</i>		<i>Мотроненко В.В.</i>					<i>Листів</i>
<i>Реценз.</i>		<i>Зубченко Л. С.</i>					115
<i>Н. Контр.</i>					<i>КПІ ім. Ігоря Сікорського</i>		
<i>Затвердив</i>		<i>Бесараб О. Б.</i>					

Відповідно стандарту ДСТУ EN ISO 13485:2018 «Медичні вироби. Система управління якістю. Вимоги до регулювання» процес виробництва рекомбінантних моноклональних антитіл регламентується рядом нормативно-правових актів, стандартів та технологічних регламентів, що гарантують високу якість та безпечність готового продукту. У таблиці 2.1 представлено перелік основних нормативних документів, що застосовуються для реалізації представленого виробництва.

Таблиця 2.1

Перелік нормативних документів, які застосовуються під час виробництва

№	Назва нормативного документа	Процеси, які регламентується нормативний документ
1	ISO 13022:2021 <i>Medical products containing viable human cells – Application of risk management and requirements for processing practices</i> (Медичні вироби, що містять життєздатні клітини людини – Застосування управління ризиками та вимоги до методів обробки) [32].	Якість вихідної сировини, матеріалів та готової продукції
2	ДСТУ ISO 9000:2015 (ISO 9000:2015, IDT) Системи управління якістю. Основні положення та словник термінів [33].	Якість вихідної сировини, матеріалів та готової продукції
3	ДСТУ ISO 9001:2015 (ISO 9001:2015, IDT) Системи управління якістю. Вимоги [34].	Якість вихідної сировини, матеріалів та готової продукції

№	Назва нормативного документа	Процеси, які регламентується нормативний документ
4	СТ-Н МОЗУ 42-7.4:2015 Лікарські засоби. Подібні біологічні препарати, що містять моноклональні антитіла – неклінічні та клінічні питання: Стандартизація фармацевтичної продукції. Том 2 (М. Ляпунов, О. Безугла, Ю. Підпружников, Н. Гудзь, Я. Закревська, 2017) [35].	Якість вихідної сировини, матеріалів та готової продукції
5	ЕМА/СНМР/ВМWP/403543/2010 «Guideline on similar biological medicinal products containing monoclonal antibodies – non-clinical and clinical issues, 30 May 2012» (Настанова з подібних біологічних лікарських препаратів, що містять моноклональні антитіла, – неклінічні та клінічні питання, 30 травня 2012 р.) [36].	Якість вихідної сировини, матеріалів та готової продукції
6	ДСТУ ISO 19011:2019 (ISO 19011:2018, IDT) Настанови щодо проведення аудитів систем управління [37].	Якість вихідної сировини, матеріалів та готової продукції
7	ДСТУ EN ISO 15194:2018 «Вироби медичні для діагностики <i>in vitro</i> . Вимірювання величин у зразках біологічного походження. Вимоги до атестованих стандартних зразків і вмісту супровідної документації» [38].	Якість вихідної сировини, матеріалів та готової продукції

Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата

БФ 2108.11.40.001 ПЗ

Лист

35

№	Назва нормативного документа	Процеси, які регламентується нормативний документ
8	ДСТУ EN ISO 10993-1:2015 (EN ISO 10993-1:2009, IDT; ISO 10993-1:2009, IDT) Біологічне оцінювання медичних виробів. Частина 1. Оцінювання і тестування в рамках процесу управління ризиками [39].	Якість вихідної сировини, матеріалів та готової продукції
9	ДСТУ EN ISO 10993-5:2015 (EN ISO 10993-5:2009, IDT; ISO 10993-5:2009, IDT) Біологічне оцінювання медичних виробів. Частина 5. Випробовування на цитотоксичність <i>in vitro</i> [40].	Якість вихідної сировини, матеріалів та готової продукції
10	ДСТУ EN ISO 10993-4:2019 (EN ISO 10993-4:2017, IDT; ISO 10993-4:2017, IDT) Біологічне оцінювання медичних виробів. Частина 4. Обирання тестів, взаємодіючих з кров'ю [41].	Якість вихідної сировини, матеріалів та готової продукції
11	ДСТУ EN ISO 10993-11:2019 (EN ISO 10993-11:2018, IDT; ISO 10993-11:2017, IDT) Біологічне оцінювання медичних виробів. Частина 11. Випробовування на системну токсичність, Додаток G [42].	Якість вихідної сировини, матеріалів та готової продукції
12	ДСТУ EN ISO 10993-9:2015 (EN ISO 10993-9:2009, IDT; ISO 10993-9:2009, IDT) Біологічне оцінювання медичних виробів. Частина 9. Основні принципи якісного та кількісного аналізу потенційних продуктів деградації [43].	Якість вихідної сировини, матеріалів та готової продукції

Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата

БФ 2108.11.40.001 ПЗ

Лист

36

№	Назва нормативного документа	Процеси, які регламентується нормативний документ
13	TC ISO/TC 276 Biotechnology (Біотехнологія) [44].	Якість вихідної сировини, матеріалів та готової продукції
14	ISO 20391-1:2018 <i>Biotechnology – Cell Counting – Part I: General Guidance on Cell Counting Method</i> (Біотехнологія - Підрахунок клітин – Частина 1: Загальні вказівки щодо методів підрахунку клітин) [45].	Якість вихідної сировини, матеріалів та готової продукції
15	ISO 20391-2:2019 Biotechnology – Cell counting – Part 2: Experimental design and statistical analysis to quantify counting method performance (Біотехнологія – Підрахунок клітин – Частина 2: Експериментальне проектування та статистичний аналіз для кількісної оцінки ефективності методу підрахунку клітин) [46].	Якість вихідної сировини, матеріалів та готової продукції
16	ДСТУ EN ISO 14971:2015 (EN ISO 14971:2012, IDT; ISO 14971:2007, IDT) Вироби медичні. Настанови щодо управління ризиком [47].	Контроль виробничих ризиків та шляхи їх запобіганню (перспективна валідація).
17	ДСТУ EN 980:2007 (EN 980:2003, IDT) Символи графічні для маркування медичних виробів [48].	Контроль виробничих ризиків та шляхи їх запобіганню (перспективна валідація).

Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата	

БФ 2108.11.40.001 ПЗ

Лист

37

№	Назва нормативного документа	Процеси, які регламентується нормативний документ
18	ДСТУ EN ISO 15223-1:2018 (EN ISO 15223-1:2016, IDT; ISO 15223-1:2016, Corrected version 2017-03, IDT) Вироби медичні. Символи, застосовані під час маркування на медичних виробках, етикетках та в супровідній документації. Частина 1. Загальні вимоги [49].	Контроль виробничих ризиків та шляхи їх запобіганню (перспективна валідація).
19	ДСТУ EN 1041:2019 (EN 1041:2008, IDT) Вироби медичні. Інформація, яку надає виробник [50].	Контроль виробничих ризиків та шляхи їх запобіганню (перспективна валідація).
20	ДСТУ EN ISO 14937:2014 (EN ISO 14937:2009, IDT) Стерилізація виробів медичного призначення. Загальні вимоги до характеристик агента, що стерилізує, а також до розробляння, валідації та поточного контролювання процесу стерилізації медичних виробів [51-53].	Контроль виробничих ризиків та шляхи їх запобіганню (перспективна валідація).

## Висновки до розділу 2

Відповідно до стандарту ISO 13485:2018 на виробництві рекомбінантних моноклональних антитіл відбувається впровадження системи управління якістю. Тому в даному розділі представлено перелік чинних стандартів, що використовуються під час виробництва. З'ясовано, що

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		38

не впроваджені стандарти для структури, конструкції, та властивостей моноклональних антитіл, а тому на сьогодні в Україні не існує повної нормативно-технічної документації для виробництва у даній сфері.

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		39

### РОЗДІЛ 3. ТЕХНОЛОГІЯ ВИРОБНИЦТВА МОНОКЛОНАЛЬНИХ АНТИТІЛ ДЛЯ ВИКОРИСТАННЯ В КОМПЛЕКСНІЙ ТЕРАПІЇ АТЕРОСКЛЕРОЗУ

#### 3.1 Характеристика моноклонального антитіла, що виробляється

Наталізумаб (англ. Natalizumab, лат. Natalizumabum) – синтетичний препарат, який є гуманізованим рекомбінантним моноклональним антитілом (від миші) до альфа-4-інтегрину.

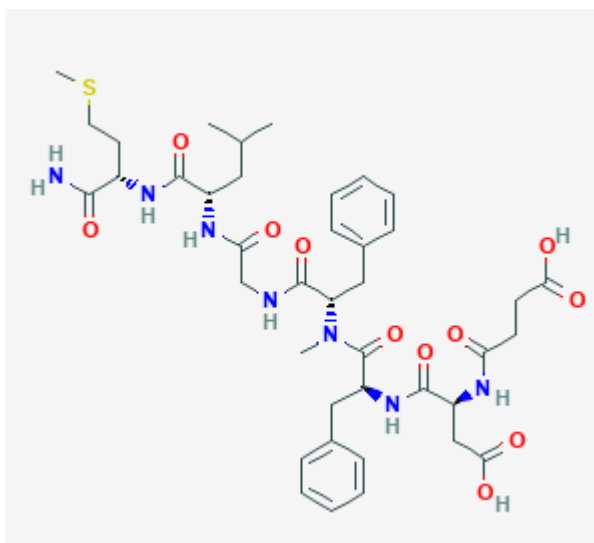


Рисунок 3.1 – Хімічна структура Наталізумабу

Наталізумаб, був затверджений FDA для лікування розсіяного склерозу та хвороби Крона у 2006 році. [20-22].

Наталізумаб рекомендується як монотерапія для хворих на ремітуючу форму розсіяного склерозу:

- пацієнти, які мають активний перебіг захворювання, не зважаючи на попереднє лікування інтерфероном бета. Ця група включає пацієнтів, які не отримали повний та адекватний курс бета-інтерферону протягом принаймні одного року. Критеріями для цієї групи є наявність принаймні одного рецидиву протягом попереднього року терапії та не менше 9 Т2-гіперінтенсивних вогнищ на МРТ головного мозку або не менше одного

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ		
Вим	Лист	№ докум.	Підпис	Дата			
Розробив		Корх Д. С.			Літ.	Лист	Листів
Перевірив		Мотроненко В.В.					115
Реценз.		Зубченко Л. С.			КПІ ім. Ігоря Сікорського		
Н. Контр.							
Затвердив		Бесараб О. Б.					

вогнища, видимого при застосуванні контрастних засобів для МРТ з гадолінієм. "Пацієнти без відповіді на терапію" означає тих, у кого залишається незмінною або збільшується частота загострень порівняно з попереднім роком або хто досі має важкі загострення при лікуванні тривалістю менше року [23].

- пацієнти із швидко прогресуючими важкими ремітуючими розсіяними склерозами (мають 1 і більше вогнищ на МРТ головного мозку та перенесли 2 та більше загострень протягом року і, які містять гадоліній, або значне збільшення в режимі T2 обсягу ураження (у порівнянні із результатами попередніх МРТ) [24].

Наталізумаб є селективним інгібітором молекул адгезії. Він взаємодіє з  $\alpha 4$ -субодиницею людського інтегрину, яка експресується на поверхні всіх лейкоцитів, крім нейтрофілів. Він міцно зв'язується з  $\alpha 4\beta 1$ -інтегрином, блокуючи взаємодію адгезивної молекули клітин судин з рецептором VCAM-1, а також лігандом остеопонтину, доменом фіронектину, утвореним шляхом альтернативного сплайсингу. Крім того, наталізумаб запобігає взаємодії  $\alpha 4\beta 7$ -інтегрину з молекулою адгезії MadCAM-1. Це запобігає лейкоцитам переміщатися до місць запалення через ендотелій. Наталізумаб може діяти шляхом придушення взаємодії  $\alpha 4$ -експресуючих лейкоцитів з їхніми лігандами. Це пригнічує запальні реакції в уражених тканинах. Таким чином, наталізумаб має здатність зупинити запальні процеси, які відбуваються в тканинах, які були уражені, а також запобігти подальшому залученню імунних клітин до області запалення. [25-27].

Активовані Т-лімфоцити проходять через гематоенцефалічний бар'єр і пошкоджують тканини головного мозку. Міграція лейкоцитів через цей бар'єр залежить від взаємодії між ендотелією кровоносних судин і молекулами адгезії на поверхні активованих лейкоцитів. Зокрема, коли взаємодія між  $\alpha 4\beta 1$  та його мішенями порушується, активність запалення в мозку знижується.

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		41

Результати багаторазових доклінічних досліджень з безпеки наталіумабу свідчать про відсутність особливих факторів ризику для людини та відсутність генотоксичності препарату.

У дослідженнях *in vivo* було виявлено зміну міграції лімфоцитів, що відповідає фармакологічній активності наталіумабу; також спостерігалось підвищення кількості лейкоцитів та маси селезінки. Важливо відзначити, що ці зміни були оборотні та не викликали видимих токсикологічних наслідків.

У дослідженнях на мишах не було виявлено прискорення поділу клітин меланоми та лімфобластного лейкозу під впливом наталіумабу.

Важливим аспектом є те, що при використанні наталіумабу у людей не було виявлено мутагенного ефекту за результатами досліджень методами Еймса або тесту на хромосомні аберації. Також в *in vitro* дослідженнях проліферації клітинних ліній пухлин, що містять  $\alpha 4$ -інтегрин, не було виявлено ознак цитотоксичності [32].

Результати досліджень на тваринах, проведених з використанням доз, що перевищують рекомендовані для людини, не вказують на вплив наталіумабу на репродуктивну здатність самців морських свинок.

П'ять проведених досліджень, зокрема три на морських свинках та два на мавпах *Сynomolgus*, не виявили тератогенних ефектів чи впливу на зростання потомства внаслідок застосування наталіумабу. В одному з досліджень на морських свинках було зафіксовано незначне зниження виживання дитинчат. У дослідженні на мавпах з групою, яка отримувала 30 мг/кг наталіумаба, спостерігалася подвійна збільшення частоти мимовільних абортів порівняно з контрольною групою. Це було пов'язано з високою частотою абортів у першій групі, яку не спостерігали у другій групі. Інше дослідження виявило вплив наталіумабу на частоту мимовільних абортів.

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		42

Експерименти на вагітних самках мавп *Cynomolgus* показали, що застосування наталізумабу впливає на розвиток плоду, включаючи анемію, зниження тромбоцитів, збільшення маси селезінки та зменшення маси печінки та тимусу. Ці зміни були пов'язані із збільшенням екстремедулярного кровотворення в селезінці, атрофією тимусу та зниженням кровотворення в печінці. Зниження концентрації тромбоцитів також відзначалося у нащадків самок, які отримували наталізумаб до пологів. Всі ці зміни виникали при застосуванні доз, що перевищують рекомендовані для людини, та відновлювалися після припинення лікування наталізумабом. У деяких самок мавп *Cynomolgus*, які отримували наталізумаб до пологів, було виявлено незначну концентрацію препарату в грудному молоці, вказуючи на можливість виділення наталізумабу через грудне молоко [33-36].

*Фармакокінетика.* Середня сироваткова  $C_{max}$  наталізумабу після повторного внутрішньовенного введення в дозі 300 мг хворим на РС була  $(110 \pm 52)$  мкг/мл. Середня  $C_{ss}$  талізумабу в період введення варіювала від 23 до 29 мкг/мл. Прогнозований час досягнення  $C_{ss}$  становив приблизно 36 тижнів.

Вибірка для фармакокінетичного аналізу включала понад 1100 хворих на РС, які отримували наталізумаб у дозі від 3 до 6 мг/кг. З них 581 отримував фіксовану дозу 300 мг як монотерапію. Середнє  $\pm$  SD (стандартне відхилення) час кліренсу при стаціонарному стані становив  $(13,1 \pm 5)$  мл/год із середнім  $\pm$  SD  $T_{1/2}$   $(16 \pm 4)$  дня. При аналізі було досліджено вплив вибірових змінних, включаючи масу тіла, вік, стать, функцію печінки та нирок, а також наявність антитіл до наталізумабу на фармакокінетику. Було показано, що на розподіл наталізумабу впливають лише маса тіла та антитіла до наталізумабу. Виявлено, що маса тіла впливає на кліренс наталізумабу, причому цей вплив менший за пропорційний; наприклад, 43% зміни маси тіла призводить до зміни кліренсу на 31–34%. Зміни кліренсу немає клінічного значення. Циркуючі антитіла до наталізумабу підвищують його кліренс приблизно втричі, що

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		43

відповідає зниження концентрації наталізумабу, що спостерігається, у хворих з циркулюючими антитілами [37].

Фармакокінетика наталізумабу у дітей з РС або хворих на печінкову або ниркову недостатність не вивчалася.

Дослідження фармакодинаміки та ефективності плазмаферезу для зниження концентрації наталізумабу в крові проводилися за участю 12 пацієнтів з РС. Результати виведення наталізумабу після трьох процедур плазмаферезу (з більш ніж 5-8-денним інтервалом) становили приблизно 70-80%. Це можна порівняти з 40% виявлених у попередньому дослідженні після скасування наталізумабу за аналогічний період часу. Вплив плазмаферезу на відновлення міграції лімфоцитів і, зрештою, на клінічне використання невідомий [38].

*Протипоказання.* Гіперчутливість до наталізумабу, прогресуюча багатоосередкова лейкоенцефалопатія, підвищений ризик інфекції умовно-патогенними мікроорганізмами, зокрема, імунодефіцитні стани (наприклад, хворі, які отримують або одержували імунодепресанти, такі як мітоксантрон або циклофосфамід, див. «Запобіжні заходи»), одночасне застосування інтерферону бета або глатирамера ацетату, злоякісні новоутворення (за винятком базальноклітинного раку шкіри), а також випадки, пов'язані із застосуванням препарату у дітей та підлітків, визначають обмеження та особливості використання даного засобу. Такий підхід спрямований на максимальний захист пацієнтів та зменшення можливих ризиків при лікуванні.

*Застосування при вагітності та годуванні груддю.* Категорія дії на плід згідно з FDA - C. Недостатньо даних про введення наталізумабу вагітним жінкам. Результати досліджень на тваринах свідчать про можливу репродуктивну токсичність, але ризик для людей залишається невідомим. Призначення наталізумабу під час вагітності слід проводити лише у випадках нагальної потреби. У випадку вагітності під час прийому наталізумабу

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		44

рекомендується негайно припинити терапію. Зазначено, що наталізумаб виділяється з грудним молоком, тому пацієнтки, які отримують цей препарат, мають припинити годування груддю [39].

*Побічні дії речовини Наталізумаб.* Під час плацебо-контрольованого дослідження наталізумабу у 1617 хворих на розсіяний склероз протягом 2 років (плацебо 1135), небажані явища, що спричинили дострокове припинення участі, відзначалися у 5,8% пацієнтів, отримуючих наталізумаб (і 4,8%, що отримували плацебо). Протягом 2 років дослідження побічні явища виявлені у 43,5% пацієнтів, які отримували наталізумаб, і у 39,6% (небажані явища розцінені як пов'язані з лікуванням лікарем), які отримували плацебо. Частота побічних явищ у групі наталізумабу була на 0,5% вищою, ніж у групі плацебо, як вказано нижче. Реакції були класифіковані за системно-органими класами, використовуючи терміни з MedDRA, з частотою: часто (>1/100, <1/10); рідко (>1/1000, <1/100). Небажані явища в кожній групі були розділені за частотою [40].

Інфекції та інвазії: часто спостерігаються інфекції сечовивідних шляхів та назофарингіт.

Імунна система: часто може розвинутися кропив'янка; рідко виникає гіперчутливість.

Нервова система: часто можливі симптоми, такі як головний біль та запаморочення.

Шлунково-кишкові порушення: часто спостерігаються блювота та нудота.

Кістково-м'язова система та сполучна тканина: часто виникає біль у суглобах.

Загальні порушення та реакції у місці введення: часто спостерігаються озноб, лихоманка та стомлюваність.

Реакції на інфузію. Під час дворічного контрольованого клінічного дослідження у пацієнтів із розсіяним склерозом, реакції, пов'язані з інфузією,

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		45

визначалися як побічні явища, що виникали протягом інфузії або протягом першої години після завершення. Ці явища були зафіксовані у 23,1% хворих, що отримували наталізумаб, та у 18,7% тих, хто отримував плацебо. Зокрема, в групі наталізумабу частіше спостерігалися такі явища, як запаморочення, нудота, кропив'янка та озноб (детальніше див. в розділі про реакції гіперчутливості) [41].

Реакції гіперчутливості. Відповідно даних дворічних контрольованих клінічних досліджень, частота випадків гіперчутливості, у хворих на РС, досягла на сьогодні 4%.

Відмічені анафілактичні/анафілактоїдні реакції у хворих менше ніж у 1%, які приймають наталізумаб. Зазвичай реакції гіперчутливості з'являються під час інфузії або впродовж години після неї.

Імуногенність. У десять відсотків пацієнтів із розсіяним склерозом виявили антитіла до оперлізумабу під час двопічного контрольованого клінічного дослідження. Приблизно у 6% пацієнтів виявлено циркулюючі антитіла до оперлізумабу, що означає дворазовий позитивний результат. Ще 4% пацієнтів отримали позитивний результат. Циркулюючі антитіла зменшують ефективність оперлізумабу, а частота реакцій гіперчутливості збільшується. Озноб, нудота, блювання та припливи крові були іншими реакціями на інфузію, спричинені циркулюючими антитілами. Після шестимісячної терапії, якщо є підозра на циркулюючі антитіла, або через зниження ефективності, або якщо виникає реакція на інфузію, аналіз слід повторити через шість тижнів після першого позитивного результату. Лікування слід припинити у пацієнтів з циркулюючими антитілами, оскільки це може призвести до зниження ефективності або підвищення частоти реакцій гіперчутливості. [33].

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		46

Інфекції, включаючи прогресуючу багатоосередкову лейкоенцефалопатію (ПМЛ), та інфекції, зумовлені умовно-патогенними мікроорганізмами. Згідно з результатами дворічного контрольованого клінічного дослідження у хворих на РС, частота інфекцій склала приблизно 1,5 випадку на пацієнто-рік як у групі, яка отримувала наталізумаб, так і в групі, що приймала плацебо. Природа інфекцій в обох групах була схожою, хоча був зафіксований випадок діареї, викликаной *Cryptosporidium*. Інші умовно-патогенні інфекції, включаючи смертельні випадки, були зареєстровані під час інших клінічних досліджень.

У групі, що отримувала наталізумаб, в ході клінічних досліджень зафіксовано невелике збільшення частоти герпесвірусних інфекцій (вірус оперізуючого герпесу та вірус простого герпесу) порівняно з групою, яка отримувала плацебо. Варто відзначити, що під час раннього постмаркетингового спостереження зафіксовано один смертельний випадок герпесвірусного енцефаліту [35].

Більшість пацієнтів, у яких виникли інфекції під час лікування наталізумабом, не відмовлялися від терапії, а з правильним лікуванням вдалося досягти одужання. У ході клінічних досліджень також були зафіксовані випадки розвитку прогресуючої багатоосередкової лейкоенцефалопатії (ПМЛ), які, як правило, призводили до серйозної інвалідності чи летального випадку.

Базові клінічні дослідження показали два випадки ПМЛ, включаючи один летальний, у пацієнтів, які отримували лікування інтерфероном бета протягом понад 2 років та стали жертвами супутньої інфекції, що виникла внаслідок довготривалого прийому імунодепресантів. У іншому випадку, пацієнт із захворюванням Крона, довготривала терапія імунодепресантами та наявність лімфопенії, також призвели до смертельного випадку внаслідок розвитку ПМЛ.

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		47

Розвиток ПМЛ також був зафіксований у постмаркетинговому дослідженні серед пацієнтів, які отримували наталізумаб у вигляді монотерапії [42].

Реакції з боку печінки. Порушення функції печінки виявлені під час постмаркетингового моніторингу, де спостерігалися випадки серйозного ураження печінки, підвищення активності печінкових ферментів та гіпербілірубінемії у пацієнтів, що отримували наталізумаб. Зокрема, отримано спонтанні повідомлення про такі реакції.

Злоякісні новоутворення. Щодо злоякісних новоутворень, протягом більш як 2 років терапії не було виявлено суттєвих відмінностей у частоті виникнення злоякісних новоутворень між групами наталізумабу та плацебо. Проте для повного виключення впливу наталізумабу на частоту виникнення злоякісних новоутворень вимагаються подальші, тривалі дослідження.

Вплив на лабораторні показники. Під час лікування наталізумабом спостерігається збільшення кількості лімфоцитів, моноцитів, еозинофілів, базофілів та ядерних форм еритроцитів у крові. Концентрація нейтрофілів залишається стабільною. Збільшення кількості лімфоцитів, моноцитів, еозинофілів та базофілів коливається в межах 35-140% порівняно із вихідними значеннями, але загальна клітинна кількість залишається в нормі. Під час терапії наталізумабом відзначається невелике зниження концентрації Нв (середнє зниження 0,6 г/дл), гематокриту (середнє зниження 2%) та еритроцитів (середнє зниження 0,1 10<sup>6</sup>/л). Зазвичай, протягом 16 тижнів після останньої дози наталізумабу, всі гематологічні показники повертаються до вихідних значень, і ці зміни не виявляються за супроводом клінічних симптомів [21].

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		48

*Взаємодія.* Безпека та ефективність використання наталіумабу у поєднанні з іншими імунодепресантами або протипухлинними лікарськими засобами наразі залишається невизначеною. Одночасний прийом цих засобів може збільшити ризик інфекційних ускладнень, включаючи ті, що спричинені умовно-патогенними мікроорганізмами, тому такий комбінований прийом є протипоказаним.

У пацієнтів, які раніше отримували терапію імунодепресантами, існує підвищений ризик розвитку прогресуючої багато осередкової лейкоенцефалопатії (ПМЛ). З надлишковою обережністю та після відновлення функції імунної системи слід розглядати призначення наталіумабу пацієнтам, які раніше отримували імунодепресанти. Перед призначенням наталіумабу лікар повинен уважно оцінити кожен клінічний випадок для виявлення можливих проявів імунодефіциту [23].

За результатами фази III клінічних досліджень у пацієнтів із хворобою Crohn, додаткове короткочасне лікування рецидивів кортикостероїдами не призвело до збільшення випадків інфекцій. Таким чином, короткочасна терапія кортикостероїдами може проводитися паралельно з наталіумабом.

Несумісність. Важливо уникати змішування інфузійного розчину наталіумабу з іншими лікарськими засобами, за винятком 0,9% розчину натрію хлориду.

*Передозування.* На даний момент не має повідомлень про випадки передозування наталіумабом.

*Спосіб застосування та дози.* Засіб застосовується внутрішньовенно у вигляді інфузії у дозі 300 мг один раз на 4 тижні. Лікування наталіумабом повинно бути призначене та контрольоване лікарем, що спеціалізується на діагностиці та лікуванні неврологічних захворювань, в установах, обладнаних засобами для проведення МРТ [35].

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		49

*Запобіжні заходи.*

ПМЛ (прогресуюча мультифокальна лейкоенцефалопатія) є серйозним ускладненням, пов'язаним із застосуванням наталіумабу. Збільшений ризик розвитку ПМЛ пов'язаний із інфекцією, яку викликає умовно-патогенний ДНК-поліомавірус Джона Каннінгема (JC-вірус). Ця інфекція може призвести до смертельного результату або важкої інвалідизації.

З урахуванням потенційного ризику розвитку ПМЛ лікар та пацієнт повинні уважно вивчити індивідуальне співвідношення користі та ризику при визначенні можливості лікування наталіумабом. Пацієнти та їхні доглядачі повинні бути налаштовані на ретельний моніторинг та розпізнавання ранніх ознак та симптомів ПМЛ.

Низка факторів ризику, які описані нижче, пов'язана з високим ризиком розвитку ПМЛ:

Наявність антитіл до JC-вірусу;

Тривале лікування, особливо більше 2 років. Враховуючи обмежений досвід застосування наталіумабу протягом більше 6 років, ризик розвитку ПМЛ у таких пацієнтів наразі не може бути оцінений належним чином;

Використання імуносупресорів у комбінації з лікуванням наталіумабом.

Важливо враховувати наявність антитіл до JC-вірусу при призначенні та продовженні лікування наталіумабом, оскільки це значно впливає на ризик розвитку прогресуючої мультифокальної лейкоенцефалопатії (ПМЛ).

У пацієнтів, у яких виявлені антитіла до JC-вірусу, існує підвищений ризик виникнення ПМЛ. З іншого боку, в пацієнтів, де антитіла до JC-вірусу не виявлені, ризик розвитку ПМЛ значно менший.

Тривалість терапії також впливає на ризик. Пацієнти, які отримують лікування більше 2 років, особливо разом із застосуванням імуносупресорів, мають великий ризик розвитку ПМЛ. Якщо пацієнт має всі три фактори ризику (антитіла до JC-вірусу, тривалість терапії більше 2 років та застосування

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		50

імуносупресорів), рекомендується уважно переглянути ризики та переваги продовження лікування наталіумабом.

Важливо проводити дослідження на антитіла до JC-вірусу на початку лікування наталіумабом або у пацієнтів, які вже отримують наталіумаб, які мають невідомий статус антитіл до JC-вірусу. Це допомагає більш точно оцінити ризик розвитку ПМЛ та прийняти індивідуально збалансовані рішення щодо подальшого лікування [40].

Для оцінки ризику розвитку ПМЛ у різних групах пацієнтів, рекомендується звертатися до лікаря та дотримуватися його конкретних рекомендацій з лікування.

Визначення антитіл до JC-вірусу не слід використовувати для самостійної діагностики ПМЛ. Цей аналіз повинен проводитися лише з метою оцінки ризику розвитку у конкретного пацієнта.

Необхідно уникати визначення антитіл до JC-вірусу протягом 2 тижнів після плазмаферезу, оскільки після цієї процедури антитіла можуть бути видалені з сироватки крові, що може призвести до неточних результатів.

Після двох років лікування наталіумабом, пацієнт повинен пройти повторне інформування про ризик розвитку ПМЛ на тлі прийому препарату.

Початок терапії наталіумабом вимагає проведення базової МРТ, яка повинна бути виконана не раніше, ніж за 3 місяці до початку лікування. Це становить важливу вихідну точку для оцінки стану пацієнта. Після базового обстеження кожна наступна МРТ рекомендується проводити не рідше, ніж один раз на рік протягом усього курсу терапії.

Пацієнт повинен знаходитися під постійним медичним спостереженням для своєчасного виявлення нових неврологічних симптомів, характерних для розвитку ПМЛ, або погіршення існуючих. У випадку появи нових неврологічних симптомів необхідно негайно призупинити терапію до виключення можливості ПМЛ [41].

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		51

Лікар повинен продовжувати систематичне спостереження за пацієнтом для вчасного виявлення можливих симптомів неврологічної дисфункції. У випадку сумнівних симптомів рекомендується додаткова діагностика, включаючи порівняння результатів МРТ з базовим обстеженням, дослідження спинномозкової рідини (СМР) на наявність ДНК JC-вірусу та повторне неврологічне обстеження.

У випадку відсутності підтвердження ПМЛ, терапію наталізумаб можна відновити. Лікар повинен особливо уважно відстежувати будь-які симптоми, які можуть вказувати на можливий розвиток ПМЛ, особливо ті, які можуть залишитися непоміченими самим пацієнтом, наприклад, симптоми когнітивних або психічних порушень. Рекомендується порадити пацієнтові інформувати близьких родичів або доглядаючих осіб про те, що він отримує лікування, оскільки вони можуть виявити симптоми, які пацієнт може пропустити [31].

У випадку розвитку підтвердженої ПМЛ необхідно негайно припинити терапію наталізумабом. У хворих на ПМЛ, що перенесли імуносупресію, після відновлення імунітету спостерігається поліпшення клінічних результатів. Це підкреслює важливість ретельного моніторингу та взаємодії між лікарем і пацієнтом для вчасного виявлення можливих ускладнень та ефективного керування лікуванням.

ПМЛ та запальний синдром відновлення імунітету (ВСВІ). Майже у всіх хворих, які приймали наталізумаб і розвинули прогресуючу багатоосередкову лейкоенцефалопатію (ПМЛ), відзначалася відновлення імунітету та розвиток Вірусного Синдрому Відновлення Імунітету (ВСВІ) після відміни препарату. З метою прискорення очищення організму від наталізумабу при виявленні ПМЛ, застосовують процедуру плазмаферезу. ВСВІ у пацієнтів із ПМЛ, які отримували наталізумаб, може призвести до серйозних неврологічних ускладнень, включаючи смертельний вихід [32].

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		52

Необхідно проводити уважний моніторинг синдрому ВСВІ, що, як правило, розвивається протягом кількох днів або тижнів після проведення плазмаферезу у пацієнтів із ПМЛ, що отримували наталізумаб. Крім того, важливо здійснювати відповідне протизапальне лікування під час відновлення ПМЛ.

Інші інфекції, спричинені умовно-патогенними мікроорганізмами. Зафіксовано випадки інфекцій, породжених умовно-патогенними мікроорганізмами при застосуванні наталізумабу, переважно в хворих на хворобу Крона, осіб із станами імунодефіциту та у пацієнтів із супутніми захворюваннями. Важливо відзначити, що такі інфекції можуть розвиватись навіть у відсутності супутніх захворювань. Пацієнти, хворі на паростковий коліт, що отримували монотерапію наталізумабом, також виявили схильність до інфекцій.

При призначенні наталізумабу необхідно враховувати можливість розвитку інфекцій, викликаних умовно-патогенними мікроорганізмами, що варто включити до диференційованого діагнозу. При підозрі на інфекцію, спричинену умовно-патогенними мікроорганізмами, слід призупинити терапію наталізумабом до виключення інфекції на підставі результатів відповідних досліджень.

У випадку розвитку інфекції, спричиненої умовно-патогенними мікроорганізмами, рекомендується повністю припинити терапію наталізумабом.

Гіперчутливість. Наталізумаб може викликати гіперчутливість, включаючи серйозні загальні реакції. Ці явища зазвичай виявляються під час або після інфузії, особливо на початку процедури та під час повторного введення після тривалої перерви (три місяці або більше) після короткочасного курсу (одна або дві інфузії). Ризик гіперчутливості важливо враховувати при кожній інфузії [34].

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		53

Пацієнти повинні залишатися під наглядом під час інфузії та годину після неї. Лікувальний заклад повинен мати необхідне обладнання для лікування реакцій гіперчутливості. При перших ознаках гіперчутливості слід зупинити введення наталізумабу та негайно розпочати лікувальні заходи.

Пацієнти, які виявили реакції гіперчутливості, повинні негайно припинити терапію наталізумабом.

#### Супутні або попереднє лікування імуносупресорами.

Безпека та ефективність використання наталізумабу у поєднанні з іншими імуносупресорами або протипухлинними засобами залишаються питанням дослідження. Наразі недостатньо вивчено цей аспект, і спільний прийом цих препаратів може збільшити ризик інфекцій, включаючи ті, що спричинені умовно-патогенними мікроорганізмами, тому його використання визначається як протипоказане [20].

У хворих, що отримували імуносупресори, існує підвищений ризик розвитку прогресуючої мультифокальної лейкоенцефалопатії (ПМЛ). З наданням наталізумабу пацієнтам, які раніше використовували імуносупресори, слід бути обережними, очікуючи відновлення функції імунної системи. Призначення наталізумабу лікарем має враховувати кожен випадок і визначати можливі ознаки імунодефіциту.

Дослідження III фази виявили, що в хворих на прогресуючий розсіяний склероз при супутньому застосуванні короткочасного курсу кортикостероїдів не спостерігалось збільшення частоти інфекцій. Таким чином, короткочасну терапію кортикостероїдами можна проводити паралельно з наталізумабом [39].

#### *Проблеми застосування моноклональних антитіл*

Імуногенність. Коли мишачі моноклональні антитіла використовуються в якості терапії, вони розпізнаються як чужорідні білками і можуть індукувати нейтралізуючі антитіла проти mAb антитіла. Щоб зменшити імуногенність, різні кількості мишачого імуноглобуліну були замінені на людський

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		54

еквівалент. Таким чином "химерні антитіла" мають мишачий антиген зв'язуючий домен мишачого антигену, злитий з каркасом людського. Гуманізовані антитіла йдуть ще далі, що визначає комплементарність. Крайньою формою цієї технології є "супергуманізація", коли навіть частини мишачого антигензв'язуючого елемента гуманізуються [40].

Іншим аспектом імуногенності є доза та шлях введення. Загалом внутрішньовенне введення є менш імуногенним, ніж підшкірне. Крім того, згідно з деякими класичними спостереженнями, або дуже низькі, або дуже високі дози будь-якого чужорідного білка можуть досягти низької або високої "зонної толерантності" при внутрішньовенному введенні. Ймовірно, саме з цієї причини 1 г ритуксимабу внутрішньовенно, є менш імуногенним, ніж 20 мг Campath1H внутрішньовенно. Геніальне вирішення цієї проблеми запропонували Герман Вальдманн та його колеги. Вони показали, що варіант Campath-1H, в якому одна амінокислота в антиген-зв'язуючого ланцюгу була змінена, щоб скасувати зв'язування з клітинами і тому його можна вводити у дуже великих дозах [18, 29].

Інфузійні реакції. З моменту першого застосування моноклональних антитіл, що виснажують клітини, були пов'язані з гострою інфузійною реакцією, пов'язаною з вивільненням цитокінів: зокрема TNF-а після анти-CD3 антитіл та інших цитокінів.

Попереднє лікування кортикостероїдами може зменшити вивільнення цитокінів та пов'язані з ними симптоми. Fc-частина антитіла також може бути змінена таким чином, що вона більше не індукує вивільнення цитокінів, як у випадку агліюзильних анти-CD3.

Проникнення в ЦНС. Дуже мало ймовірно, що значні кількості моноклональних антитіл, введених внутрішньовенно, проникають у ЦНС навіть у пацієнтів з активною формою РС, у яких буде кілька ділянок прориву гематоенцефалічного бар'єру. Існує також багато повідомлень про індукцію метастазів у головному мозку у жінок з хорошою системною відповіддю на

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		55

трастузумаб при раку молочної залози, що свідчить не лише про те, що антитіло не проникає через гематоенцефалічний, але й про те, що створюється "безпечний притулок" для метастазів [30, 42].

### **3.2 Технологічна схема та опис стадій виробничого процесу**

Представлена технологічна схема розроблена для отримання моноклональних антитіл у додатку Б. Вона дозволяє отримати 100 млн. ампул на рік об'ємом 45 мл готового МАП в очищеній формі.

#### **ДР 1 Санітарна підготовка виробництва**

##### **ДР1.1 Приготування робочих розчинів**

##### **ДР1.1.1 Приготування миючого розчину**

Закупівля розчинів для первинної та щоденної обробки робочих поверхонь приміщення по типу «NormaClean» в об'ємі 5 літрів.

##### **ДР1.1.2 Приготування дезінфікуючих розчинів**

Закупівля дезінфекційного засобу по типу «Медіоцид» в об'ємі 5 літрів.

##### **ДР1.2 Підготовка персоналу**

Відповідно до статті 17 ЗУ «Про охорону праці» – працівники мають проходити попередній (під час прийняття на роботу) і періодичні медичні огляди. Працівники, які не пройшли медичне обстеження не допускаються до роботи.

Усі працівники повинні мати належну кваліфікацію та підготовку, а також, згідно із принципами GMP, постійно підвищувати кваліфікацію та якість роботи. Навчання працівників може мати різний обсяг і характер залежно від початкового рівня підготовки, посади, обов'язків та завдань. За різновидом заняття поділяються:

Вступні заняття – для працівників, які тільки розпочинають роботу. Мета – ознайомлення з усіма вимогами, питаннями охорони праці забезпечення належної якості.

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		56

Посадові заняття – для ознайомлення співробітників із засадами GMP, що стосуються їх посади. Мають відбуватися регулярно, один раз на квартал, а у разі використання нового обладнання чи методу роботи - щоразу.

Для працівників, які виконують певну вузькоспеціалізовану роботу, існують спеціальні заняття. Нарешті кожен працівник отримує індивідуальне оцінювання своїх знань. Оцінка включає оцінку теоретичних і практичних знань. До роботи допускаються лише особи, які отримали не менше 90 балів із 100.

#### **ДР 1.2.1 Забезпечення належного професійного стану персоналу**

Персонал повинний мати високий рівень професійних знань для роботи

#### **ДР1.3 Підготовка виробничих приміщень**

Цей етап включає перевірку справності техніки, меблів та допоміжних конструкцій виробничих приміщень.

##### **ДР1.3.1 Щоденне прибирання**

Цей етап передбачає очищення робочих поверхонь від непотрібних матеріалів перед початком роботи.

##### **ДР1.3.2 Генеральне прибирання**

Цей етап передбачає застосування бактерацидних речовин для очищення робочого простору лабораторії, поверхонь та робочих інструментів.

#### **ДР1.4 Підготовка технологічного одягу**

Підготовка комплекту одягу складається з огляду перед пранням, прання, сушіння, термічної обробки (в паровому стерилізаторі або прасування) одягу; миття, сушіння і термічної обробки рукавичок; вологої та дезінфекційної обробки взуття.

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		57

## **ДР1.5 Підготовка обладнання**

Цей етап передбачає підготовку обладнання, посуду та засобів до роботи.

### **ДР1.5.1 Мийка та дезінфекція посуду**

Спочатку посуд та інструменти ретельно очищають від залишків попередньої роботи, включаючи залишки клітин та білкових матеріалів.

Далі вони проходять мийку в миючому розчині «NormaClean». Після мийки посуд та інструменти дезінфікують в спеціальному розчині «Медіоцид».

### **ДР1.5.2 Ополіскування**

Після дезінфекції посуд та інструменти повинні бути ретельно промиті водою для видалення залишків розчинів та забезпечення чистоти.

### **ДР 1.5.3 Стерилізація обладнання**

Процедура стерилізації виконується за допомогою насиченої пари при температурі 125-130 °С протягом 90 хвилин. Забезпечується комплексний мікробіологічний та технічний контроль з метою перевірки ефективності стерилізації та надійності функціонування обладнання.

## **ДР2 Підготовка стерильного повітря**

Використовуване повітря для аерації середовища під час вирощування в біореакторі повинно бути стерильним та мати температуру в межах 28-30°C.

### **ДР2.1 Забір повітря**

Забір зовнішнього повітря здійснюється через повітрозбірник, який розташований на 2 м вище даху будинку.

### **ДР2.2 Попередня очистка від механічних частинок**

Попередня очистка повітря має на меті вловлювання значної кількості механічних часток, пилу, волосся та пилку, попереднім фільтром з ефективністю очистки на рівні 10-20 %. Це дозволяє продовжити термін використання більш дорогих основних фільтрів та пошкоджень

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		58

компресійного обладнання. Також, даний фільтр за рахунок використання активованого вугілля, фільтрує леткі органічні сполуки – гази та молекули запаху.

### **ДР2.3 Очищення повітря на фільтрах I ступеню**

На даному етапі застосовуються фільтри грубої очистки класу G3, які забезпечують очищення до 90%.

### **ДР2.4 Очищення повітря на фільтрах II ступеню**

Тут застосовуються фільтри класу HEPA високого класу очищення, які забезпечують очищення до 99%.

### **ДР3 Підготовка води**

Проводиться за допомогою дистиллятора в лабораторії. Наприкінці дистиляції органічне забруднення (ТОС — загальний органічний вуглець) не повинно перевищувати 0,5 ч/млн. Загальне неорганічне забруднення (TDS) не може перевищувати 0,05 часу на млн.. Згідно з СТ-Н МОЗУ 42- 3.7:2013 технологія очищення проходить через етапи: підігрівання та термостатування – фільтрація груба – пом'якшення – фільтрація через фільтр вугільний – фільтрація через фільтр з діаметром отворів 3 мкм – зворотній осмос.

Виконується контроль технологічний, хімічний та мікробіологічний.

### **ДР4 Підготовка флаконів**

#### **ДР 4.1. Миття флаконів**

Миття виконується в два етапи. Для поверхневого очищення використовується очищена вода, яка нагрівається до температури 55-60 °С і подається струменем. Для внутрішнього промивання також використовується очищена вода, яка подається вакуумним методом.

#### **ДР 4.2. Сушка та стерилізація флаконів**

Флакони розміщуються в тунельних сушарках, де вони піддаються процесу висушування при температурі 150 °С за допомогою інфрачервоного випромінювання.

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		59

Після цього відбувається стерилізація при температурі 280-300 °С для забезпечення повної безпеки продукції.

### **ДР5 Підготовка поживного середовища**

Середовища доступні у формі готових розчинів, 10-кратних концентратів і сухих порошків. Для отримання найточніших результатів рекомендується готувати середовища з сухих порошків в умовах лабораторії. Однак важливим фактором є якість використовуваної води, яка повинна бути деіонізованою та пройти процес дистиляції два або три рази.

Склад поживного середовища ГАТ:

Гіпоксантин – 4,5 г/л;

Аміноптерин – 2 г/л;

Тимідин – 6 г/л.

Підготовка середовищ проводиться на деіонізованій воді. Розчини проходять фільтрацію за допомогою установки з мембраною розміром пор 0,2 мікрметра. Після цього розчини розливаються на аліквоти об'ємом 500-1000 мл та зберігаються при температурі 2-8°С протягом 6 тижнів.

### **ДР6 Підготовка посівного матеріалу**

#### **ДР6.1 Відтворення музейної культури**

Кріоампули з замороженими клітинами залишають на повітрі протягом 2-3 хвилин та занурюють у водяну баню із температурою 37-40°С, при цьому легко струшуючи. Пробірки тримають у воді до повного розтанення льоду. Після цього, за допомогою піпетки переносять суспензію гібридом в імунологічні пробірки об'ємом 15 мл, повільно додаючи 10-15 мл теплового середовища ГАТ.

#### **ДР6.2 Вирощування в колбах з шейкером**

Клітини NS/0, вирощують в теплі протягом 12 годин у колбах, щоб отримати інокулят, підтримуючи рН = 6,7- 7,1 і температуру в межах 36-37 °С. Процес вирощування здійснюється на орбітальному шейкері з частотою струшування 15 обертів на хвилину.

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		60

### **ТП7 Процес вирощування антитіл в біореакторі**

Для успішної роботи з отримання культури гібридом рекомендується проводити експерименти в окремому приміщенні, розташованому максимально від дверей та зовнішніх стін для уникнення зовнішніх впливів. Основним обладнанням, необхідним для проведення робіт, є ламінарний бокс із вертикальним або горизонтальним потоком стерильного повітря.

Отримання антитіл здійснюється у поволоконних системах біореактора мембранного типу від компанії FiberSell System, що використовує поживне середовище ГАТ. У картриджі міститься пучок волокон із напівпроникною мембраною, через яку клітини отримують поживу та забезпечують газообмін. Завдяки адгезії, клітини прикріплюються до зовнішньої поверхні мембрани. Такий тип біореактора дозволяє досягти великої щільності і концентрації клітин в культуральній рідині, мінімізуючи ймовірність механічних пошкоджень клітин, що важливо для ефективного росту тваринних клітин.

Параметри культивування: температура – 37 °С, рН – 7,3, час – 8 діб, кількість клітин –  $6-7 \cdot 10^7$ .

### **ТП8 Мембрана фільтрація**

Суспензію антитіл проходить фільтрацію на двох етапах для отримання чистого продукту. На першому етапі використовується фільтр Sartoclear PB1 для видалення великих часток при тиску 20 кПа і розмірі пор мембрани 11-4 мкм. На другому етапі проводиться стерилізуюча фільтрація за допомогою фільтра Sartopore 2 XLG, який має широкий діапазон хімічної сумісності, при тиску 40 кПа і розмірі пор мембрани 0,8-0,2 мкм. Відфільтрований розчин зберігається при температурі 0-4°C для подальшого використання.

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		61

## **ТП 9 Очищення антитіл за допомогою хроматографії**

### **ТП9.1 Афінна хроматографія**

Особлива біохімічна взаємодія між молекулами призводить до розпаду; у нашому випадку це рекомбінантний білок А та сефарозна смола. Функція носія в афінній хроматографії полягає в тому, щоб створити тверду матрицю, до якої приєднується ліганд або через вставку, або без неї. Перед початком роботи колонку ретельно вимити та висушити. Потім помістіть тампон з вати в нижню частину колонки та закріпіть її на штативі таким чином, щоб під нею був приємник, конічна колба об'ємом 25-50 см<sup>3</sup>.

Для проведення афінного очищення використовується колонка, зв'язана з білком, об'ємом 10 мл. Перед застосуванням зразку колонку промивають зі швидкістю 1,5-2 мл/хв протягом 5-10 об'ємів 0,02 М натрій-калій фосфатного буфера з рН 7,0-7,2 (KН<sub>2</sub>РO<sub>4</sub> та Na<sub>2</sub>НРO<sub>4</sub>). Відфільтровану рідину пропускають через колонку із швидкістю 1 мл/хв. Після цього колонку промивають 10-15 об'ємами фосфатного буфера. Елювання проводять за допомогою 0,1 М лимонної кислоти об'ємом 15 мл. Вихід антитіл реєструється при 280 нм. Отриманий продукт збирають у флакон, що містить 2 мл 1М трис-основи. Рівень рН отриманого розчину перевіряють за допомогою індикаторного паперу і повинен бути у діапазоні 7,0-8,0. При відхиленнях рН вміст коригують, додаючи кислоту або трис-основу. Після виходу піку продукту, колонку промивають зі швидкістю 1,5-2 мл/хв 10-20 об'ємами 0,02 М натрій-калій фосфатного буфера до досягнення нейтрального рівня рН. Концентрація отриманих антитіл, отриманого таким методом, коливається від 20 до 40 мг/мл

### **ТП 9.2 Аніонообмінна хроматографія**

Наступний етап розділення здійснюється за допомогою іонообмінної хроматографії, яка базується на принципі зворотнього стехіометричного обміну іонів, утворених у речовині. Смола з високим потоком, така як Q-Sepharose Fast Flow або подібна, є найкращим вибором. Розчин з низькою іонною силою використовується для очищення та врівноваження смоли.

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		62

Такі розчини включають етаноламін-HCl з рН 8,5, який має низький вміст солі або взагалі не містить солі. При використанні органічного іонообмінника розміри колонки вибирають за наступними правилами: відношення діаметра колонки до довжини має бути в межах 1:5–1:10 для нехроматографічного застосування; для більшості простих хроматографічних розділень – від 1:20 (зазвичай) до 1:50; і для деяких спеціальних розділень – до 1:200 і навіть більше. Перед початком роботи колонку ретельно вимити та висушити. Потім помістіть тампон з вати в нижню частину колонки та закріпіть її на штативі таким чином, щоб під нею міг бути приємник (конічна колба об'ємом 25-50 см<sup>3</sup>).

### **ТП 9.3 Хроматографія з гідрофобною взаємодією**

Останній етап хроматографії відбувається на основі гідрофобної взаємодії молекул. Перед роботою колонку ретельно вимити, висушити, примістити у нижню частину колонки тампон з вати та закріпити у штативі таким чином, щоб під нею можна було розташувати приємник – конічну колбу об'ємом 25-50 см<sup>3</sup>. Використовується колонка розміром 1,5 x 20 см<sup>3</sup> сефадексом G-25, яка зрівноважена фосфатним буфером, проходячи через неї із швидкістю 2 мл/хв протягом 20 хв. Розчин антитіл у об'ємі 2-3 мл наносять на гель, після чого, коли гель поглине розчин, наносять такий же об'єм буферу. Після поглинання гелем буферу, колонку заповнюють фосфатним буфером догори, вставляють адаптер і проводять елюцію фосфатним буфером із швидкістю 2 мл/хв.

### **ТП 10 Концентрація і обмін буфера за допомогою ультрафільтрації**

Після цього проводиться процес ультрафільтрації (15нм) за допомогою низького рівня рН - 5-7 (400 Вт, 24 кГц). Кінцевий елюат концентрують і обмінюють буфер на остаточну формулу, де отримують концентроване антитіло.

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		63

### **ТП11 Контроль якості готової продукту**

З кожної партії випадковим чином відбирається проба готового продукту, яка перевіряється згідно із ознаками, наведеними у розділі 4.3. Один цикл виготовлення партії рекомбінантних моноклональних антитіл займає від 60 до 75 днів, і третина цього часу відводиться на проведення контролю якості. Виконуються хімічний, мікробіологічний та технологічний контролю для забезпечення відповідності рекомбінантних моноклональних антитіл встановленим стандартам та нормативам.

### **ПВ12 Пакування та відвантаження продукції**

Використовуються темні скляні флакони об'ємом 60 мл з кришками з пластику.

Флакони повинні бути без пошкоджень або дефектів. Флакони мають бути виготовлені з темного скла, щоб запобігти руйнуванню антитіл світлом.

Охолоджувальні елементи містяться в пластикових контейнерах і флаконах об'ємом 45 мл, щоб гарантувати, що антитіла залишаться стабільними під час транспортування.

### **ЗВ13 Переробка та знешкодження відходів**

Автоклавування біологічних відходів використовується при температурі  $t = 135^{\circ}\text{C}$  і  $t = 60$  хв.

Перед цим інструменти, посуд і обладнання вимочуються в дезінфекційному розчині.

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		64

### 3.3 Апаратурно-технологічна схема компоновки приміщень і обладнання

Виробництво було розподілено за цехами на наступні основні приміщення:

- 0, 1, 2 - приміщення для підготовки персоналу;
- 3 - склад сировини;
- 4 - цех підготовки матеріалів;
- 5 - лабораторія культивування *in vivo*;
- 6 - лабораторія культивування *in vitro*;
- 7 - цех виділення та очищення;
- 8 - цех стерилізації продукції;
- 9 - цех контролю якості;
- 10 - цех пакування та маркування;
- 11 - цех зберігання готової продукції.

Існує чотири входи/виходи для виробництва; два з них призначені для персоналу (один в приміщенні 0 та один в кінці коридору відповідно), а інші два призначені для вивантаження сировини та завантаження готової продукції (один в приміщенні 3 та один в приміщенні 11 відповідно).

Класи А, В, С і D були використані для визначення чистоти приміщень. З 12 виробничих приміщень в зоні А/В знаходяться три: цех підготовки матеріалів, лабораторія культивування *in vitro* та лабораторія культивування *in vivo*. Необхідність чистоти класу А/В в цих кімнатах пов'язана з надзвичайно важливими процесами, які відбуваються в них, а також високим ризиком мікробіологічної загрози для матеріалу, який виробляється. Хоча є обмеження, персонал може отримати доступ до даних приміщень.

Приміщення розміщені в ламінарних боксах, а вхід до них здійснюється через повітряні шлюзи 2А/В для коридору та 3А/В для складу сировини. В приміщеннях класу А/В встановлено автоматичні двері-слайдери, щоб

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		65

заощадити місце та забезпечити мінімальний контакт оточуючого середовища з персоналом.

У зоні В було п'ять приміщень: одне для підготовки персоналу, одне для виділення та очищення, одне для стерилізації продуктів, одне для контролю якості та одне для пакування та маркування. У цих приміщеннях відбуваються надзвичайно важливі процеси, які, натомість, представляють меншу небезпеку для продукції. Повітряні шлюзи 2А та 3А були перенесені з невиробничих приміщень до зони класу В.

До зони С було розподілено три приміщення: одне для підготовки персоналу, інше для зберігання сировини та третє для зберігання готової продукції. Оскільки процеси, що відбуваються тут, не є важливими для виробництва, в приміщеннях цього класу все ще зберігається достатній рівень чистоти.

До зони D було віднесено одне приміщення для підготовки персоналу. Специфікація обладнання наведена у додатку А.

### **3.4 Обґрунтування потоків сировини і персоналу**

Сировина завантажується через боковий вхід приміщення 3. Далі сировина надсилається через повітряний шлюз 3А/В до приміщень 4 та 5, згідно з протоколом виробництва. Там створюється рекомбінантна клітинна лінія NS/0 та поживне середовище.

Після отримання готового поживного середовища клітинні лінії транспортуються до приміщення 6, де вони вирощуються в шейкерних інкубаційних колбах. Після цього інокулянт надсилається в кімнату 7 для виділення клітин і їх ретельної очищення.

У приміщенні вісім продуктів і пакувальні матеріали зі складу сировин стерилізуються.

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		66

Проби продукції відбираються в приміщенні 9, і якщо вони відповідають встановленим стандартам, продукція та пакувальні матеріали відправляються до пакувально-маркувального цеху 10, а потім на склад зберігання готової продукції 11. Продукти вивантажуються через вхід складу 11.

На схемі виробництва зелена стрілочка вказує на потоки людських ресурсів.

Персонал потрапляє до виробничої зони через приміщення 0, 1 і 2. Персонал не залишає в приміщенні верхній одяг, взуття та особисті речі. В першому приміщенні є рукомийники, де персонал використовує миючі та дезінфікуючі засоби для миття рук. Люди, які працюють у зонах класу С, працюють у цьому приміщенні, одягаючи халат і рукавички, і вони виходять через вихід зліва чи справа, в залежності від того, на якому складі вони працюють. У приміщенні 2 працівники класів А/Б і В повинні мати халати, маски, окуляри та стерильні рукавички, а також змінне взуття. Далі працівники розподіляються за своїми цехами або лабораторіями. У кінці робочого дня всі працівники зон А/Б і В можуть вийти через вихід, який знаходиться в кінці коридору, або повернутися в приміщення 1 для особистих речей, які зберігаються в приміщенні 0. Люди в зонах С у приміщенні 1 залишають роботу.

Відповідно до протоколів безпеки повітряні шлюзи 2А/В і 3А/В використовуються для доступу до приміщень класу А/Б. Крім того, персонал може переміщатися прямо з одного ламінарного боксу до іншого, щоб доставити необхідні матеріали чи сировини, якщо це необхідно; наприклад, з приміщень 4 та 5 до приміщення 6 і з приміщення 5 до приміщення 4.

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		67

### Висновки до розділу 3

Технологічний процес виготовлення виробництва рекомбінантних моноклональних антитіл є складним і включає 10 основних етапів. Кожен етап виробництва ретельно планується з метою забезпечення високої якості кінцевої продукції та мінімізації можливих ризиків. Технологія виробництва доповнюється правильним розміщенням обладнання та комунікацій в приміщеннях з урахуванням класу чистоти. Крім того, розроблено схеми для потоків персоналу, сировини та матеріалів відповідно до нормативних вимог. Система контролю якості на всіх етапах виробництва також ретельно розроблена згідно з усіма нормативно-технічними вимогами.

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		68

## РОЗДІЛ 4. СИСТЕМА КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ НА ВИРОБНИЦТВІ

### 4.1 Рекомендації щодо оцінки якості продукції

Для забезпечення якості готової продукції необхідною умовою являється контроль якості вихідної сировини, матеріалів, напівпродуктів і готової продукції. Параметри контролю для оцінки якості сировини, матеріалів та напівпродуктів, наведені у таблиці 4.1.

Таблиця 4.1. Параметри контролю для оцінки якості продукції

Найменування	НТД, що регламентує показник якості	Показник для перевірки	Нормативне значення
<b>1. Сировина</b>			
Натрію фосфат	СТ МОЗУ 42-1.0:2005 «Фармацевтична продукція. Система стандартизації. Основні положення»	Фізичний стан Запах Стерильність	Порошок Запах відсутній Так
Моногідрат	СТ-Н МОЗУ 42-01-2003 Лікарські засоби. Технологічний процес.	Фізичний стан Запах Масова частка моногідрату Стерильність	Порошок Запах відсутній Не менше 5% Так

БФ 2108.11.40.001 ПЗ

Вим	Лист	№ докум.	Підпис	Дата	Лім.	Лист	Листів
Розробив		Корх Д. С.					
Перевірив		Мотроненко В.В.					115
Реценз.		Зубченко Л. С.			КПІ ім. Ігоря Сікорського		
Н. Контр.							
Затвердив		Бесараб О. Б.					

Двоосновний	СТ МОЗУ 42-1.0:2005 «Фармацевтична продукція. Система стандартизації. Основні положення»	Зовнішній вигляд Ефірний вміст Стерильність	Чітка прозора рідина 99% Так
Гептагідрат	СТ-Н МОЗУ 42-01-2003 Лікарські засоби. Технологічний процес.	Фізичний стан Запах Стерильність	Порошок Запах відсутній Так
Вода очищена	Монографія ДФУ 2.0, 2016. Т.2. С. 129	Сухий залишок Нітрати Алюміній Важкі метали Бактеріальні ендотоксини Хлориди  Сульфати Амонію солі Кальцій і магній	$\leq 1$ мг $\leq 0,00002\%$ $\leq 0,000001\%$ $\leq 0,00001\%$ $< 0,25$ МО/мл немає змін у розчині  немає змін у розчині $\leq 0,00002\%$ Чисте синє забарвлення

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		70

## 2. Матеріали

Скляні флакони	Документація виробника продукту	Матеріал Герметичність Чистота Об'єм Товщина скла	Темне нейтральне скло Так <5% домішок 60 мл 4-5 мм
Піпетки, чашки Петрі, колби	ДСТУ ISO 11138-1:2003 «Стерилізація виробів медичної призначеності. Загальні вимоги»	Стерильність	Так

## 3. Напівпродукти

Антигенний розчин	Згідно виробничого регламенту	Вміст  Розчинник Об'єм	РPMI 1640 з L- глутаміном +10% FBS +Пеніцилін (100 од/мл)/Стрептоміцин (100 мг/л) Фізіологічний розчин 0,2 мл
Культура гібридомних клітин	Згідно виробничого регламенту	Життєздатність	95% і більше
Очищені моноклональні антитіла	Згідно виробничого регламенту	Концентрація антитіл  Чистота Стерильність	5-10 мг/мл  95% і більше Так, відсутність росту будь-яких сторонніх мікроорганізмів

Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата

БФ 2108.11.40.001 ПЗ

Лист

71

Контроль параметрів якості сировини здійснюється періодично при прийомі нової партії сировини на склад. Для цього працівники здійснюють відбір проб та проводять лабораторний аналіз показників якості.

Контроль параметрів якості матеріалів при прийомі здійснюється візуально. Для оцінки якості фільтрів здійснюють випробування на ефективність, використовуючи аерозоль DEHS. Пробовідбірники, розташовані до і після фільтра, повинні з'єднуватися з лічильником часток жорсткими трубками однакової довжини і форми. Здійснюється контроль кількості пропускаємих частинок.

#### **4.2 Рекомендації щодо контролю якості на проміжних етапах виробництва**

##### Контроль якості персоналу:

Людина — безпосередньо бере участь у більшості процесів виробництва та постійно стикається з усіма його компонентами. Таким чином, необхідні необхідні навички та практичний досвід роботи, дотримання гігієнічних правил і одягу, регулярний контроль знань персоналу за допомогою тестів і оцінок, щоб забезпечити як чистоту та безпеку кінцевого продукту, так і захист самих працівників. Підготовка персоналу до можливого джерела контамінації включає навчання та контроль технологічних процесів. Основою підготовки персоналу є навчання правильному використанню дезінфікуючих засобів і обладнання, а також підготовки рук, одягу та рукавичок.

##### Контроль якості сировини:

Виробництво високоякісного напівготового, а потім і готового продукту базується на якісній сировині. Рекомендується при купівлі сировини чітко дотримуватися вказаних у таблиці показників. Дозволяється купувати лише сертифіковані товари з усією дійсною та наявною відповідною сертифікацією, необхідними підписами та штампами. Крім того, під час покупки необхідно

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		72

перевірити документацію, яка підтверджує попереднє тестування сировини на стерильність, концентрацію білка, наявність бактеріального ендотоксину та інші характеристики. Крім того, необхідно порівняти ці значення з показниками в наведеної вище таблиці.

#### Контроль якості матеріалів:

Матеріали виробництва є важливою частиною, яка робить процес виробництва дійсним або полегшує; тому вони повинні бути високоякісними та відповідати всім вимогам наведеним у таблиці. Перед і після кожного використання весь інструментарій і посуд, незалежно від того, скляні, керамічні чи металеві, стерилізується в автоклаві за стандартними виробничими процедурами. Для того, щоб продукт не псувався, фізичні характеристики матеріалу, який використовується для пакування, мають повністю відповідати вказаним характеристикам. Флакони повинні бути чистими, біонейтральними, не містити домішок і залишатися герметичними, коли їх закривають.

#### Контроль якості напівпродуктів:

Перед готовим продуктом сировина називається напівпродуктом. На цьому етапі контролю якості дуже важливо порівняти показники, отримані за допомогою методу контролю, з тими, що вказані в таблиці.

### **4.3 Рекомендації щодо контролю якості кінцевого продукту**

Контроль якості кінцевого продукту рекомбінантних моноклональних антитіл є критичним етапом в процесі виробництва. Для забезпечення якості продукту необхідно провести комплексну оцінку фізико-хімічних властивостей, активності та чистоти антитіл.

Першим етапом контролю якості є аналіз фізико-хімічних властивостей, таких як молекулярна маса, структура, стабільність та розчинність. Це дозволяє переконатися в правильності синтезу та правильності складу продукту.

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		73

Другим етапом є визначення активності антитіл. Це може бути здійснене за допомогою різних біохімічних та імунологічних методів, таких як ELISA або Western blot. Важливо переконатися, що рекомбінантні моноклональні антитіла мають високу специфічність та активність проти мишени.

Третім етапом є оцінка чистоти продукту. Це включає в себе виявлення будь-яких забруднень, таких як імпури, ендотоксини або пирогенні речовини, які можуть негативно вплинути на безпеку та ефективність продукту.

Всі ці етапи контролю якості дозволяють забезпечити, що рекомбінантні моноклональні антитіла відповідають всім вимогам якості та безпеки та готові до подальшого використання у медичних дослідженнях та лікуванні пацієнтів. Основні параметри контролю для оцінки якості кінцевого продукту наведено у табл. 3.2.

Таблиця 4.2. Параметри контролю для оцінки якості кінцевого продукту

Показник, що перевіряється	Метод контролю	Нормативне значення показника
Фізико-хімічні властивості	Пептидне картування [58], визначення послідовності протеїнів, МС [61]	Розподіл наявних основних гліканових структур (зазвичай у G0-, G1- та G2-фазах)
Концентрація антитіл	ІФА [64]	Не менше 5мг/мл
Стерильність	Бактеріальний посів [62]	Відсутність росту мікроорганізмів
Ступінь очистки МАТ	Хроматографія [56]	Вміст домішок не більше 5%.

Встановлення фізико-хімічних характеристик передбачає визначення класу, підкласу та будови легкого ланцюга (каппа та/або лямбда ланцюг) моноклонального антитіла. Амінокислотна послідовність повинна бути виведена з послідовності ДНК та підтверджена експериментально відповідними методами, такими як пептидне картування, визначення

послідовності протеїнів та мас-спектрометрія. Також необхідно проаналізувати мінливість N- та C-кінцевих амінокислотних послідовностей.

Для оцінки цілісності або некомплектності дисульфідних зв'язків потрібно визначити вільні сульфгідрильні (тіолові) групи та дисульфідні зв'язки. Також слід визначити вміст вуглеводнів (нейтральні сахариди, аміносахариди та сіалові кислоти) та проаналізувати структуру вуглеводневих ланцюжків.

Для моноклональних антитіл характерно наявність центрів N-глікозилювання на важких ланцюгах, розміщених в Fc-області. Легкий ланцюг, зазвичай, не глікозилюваний, але може мати місце додатковий центр глікозилювання у важких ланцюгах. Також необхідно охарактеризувати гліканові структури та визначити розподіл основних гліканових структур.

Для повної характеристики моноклонального антитіла необхідно провести аналіз структур вищого порядку за допомогою відповідних фізико-хімічних методів.

При неправильному проведенні автоклавування можлива загибель певної кількості моноклональних антитіл, тому рекомендується проводити повторний ІФА для контролю концентрації антитіл в клітинному розчині. Нормативне значення повинно становити не менше 5мг/мл.

Зразки готової продукції відбираються та поміщаються в триптозо-соєве поживне середовище. Наприкінці використовується електронна мікроскопія для дослідження матеріалу, щоб оцінити наявність росту мікроорганізмів. Стерилізація працює, коли немає росту.

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		75

Після того, як гель-фільтрація використовується для оцінки ступеня очистки моноклональних антитіл, пікова чистота вимірюється спектрофотометрією на довжині хвилі 280 нм. Чистота антитіл у клітинному розчині можна визначити за допомогою чистоти пікової рідини. Чистота після очищення має становити не менше 95%, або 5% домішок.

#### **Висновки до розділу 4.**

Система якості, яка застосовується в процесі виробництва рекомбінантних моноклональних антитіл для використання при комплексній терапії розсіяного склерозу, є важливою складовою, що забезпечує безпечність та ефективність цих біологічних препаратів. Система якості визначається строгими стандартами, регуляторними вимогами та сучасними методами контролю, спрямованими на забезпечення високого рівня якості та надійності продукції.

Перш за все, система якості включає в себе контроль над виробничим процесом, від початкових стадій клітинного культивування і введення генетичних конструкцій до вираження та очищення моноклональних антитіл. Строгий моніторинг усіх етапів дозволяє уникнути можливих контамінацій, забезпечуючи чистоту та ідентичність продукту.

Крім того, система якості включає в себе валідацію методів дослідження, що використовуються для аналізу якості та чистоти продукту. Це дозволяє впевнитися в надійності отриманих даних та дотриманні встановлених специфікацій.

Забезпечення безпечності виробництва рекомбінантних моноклональних антитіл також включає в себе відповідність вимогам стандартів безпеки та біозахисту. Всі працівники, що працюють

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		76

в лабораторіях і виробничих приміщеннях, повинні дотримуватися встановлених протоколів та використовувати необхідний захисний одяг для уникнення можливих ризиків.

Таким чином, система якості відіграє ключову роль у гарантуванні безпечності та ефективності виробництва рекомбінантних моноклональних антитіл для лікування розсіяного склерозу. Це дозволяє забезпечити пацієнтів високоякісним та надійним медичним продуктом, що відповідає всім сучасним стандартам та нормативам.

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		77

## РОЗДІЛ 5. ОЦІНКА ВИРОБНИЧИХ РИЗИКІВ

Термін «виробництво моноклональних антитіл» стосується як виробництва лікарських засобів, які є стерильними, так і виробництва, яке відбувається в асептичних умовах. Забезпечення належної якості ліків є важливою частиною фармацевтичного виробництва. Таким чином, створення міцної та ефективної системи управління якістю та забезпечення якості є особливо важливою частиною виробничого процесу. Дотримання системи GMP та фармацевтичної якості, а також впровадження системи аналізування ризиків та критичних контрольних точок (НАССП) гарантує, що продукція буде якісною та ефективною.

Основними принципами НАССП є:

- аналіз небезпечних факторів;
- визначення критичних контрольних точок;
- встановлення критичних меж;
- створення системи моніторингу;
- встановлення коригуючих дій;
- встановлення процедури перевірки;
- встановлення процедури реєстрації даних.

При аналізі системи якості пріоритетним має бути аналіз мікробіологічного ризику протягом життєвого циклу лікарського засобу. Кожна стадія виробництва в асептичних умовах потребує валідації та ретельної перевірки. Існує висока ймовірність помилок під час асептичних процесів, які можуть призвести до випуску продукту низької якості. Ручна або механізована операція з лікарським препаратом, який був попередньо стерилізований, або первинними пакувальними матеріалами до або під час асептичного компонування є потенційно небезпечною для контамінації, тому

					<b>БФ 2108.11.40.001 ПЗ</b>		
<i>Вим</i>	<i>Лист</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>			
<i>Розробив</i>		<i>Корх Д. С.</i>			<i>Лім.</i>	<i>Лист</i>	<i>Листів</i>
<i>Перевірів</i>		<i>Мотроненко В.В.</i>				7	115
<i>Реценз.</i>		<i>Зубченко Л. С.</i>			<i>КПІ ім. Ігоря Сікорського</i>		
<i>Н. Контр.</i>							
<i>Затвердив</i>		<i>Бесараб О.Б.</i>					

повинна бути ретельно перевірена та контролювана. У процесі виробництва готового продукту повинні використовуватися системи та обладнання, що пройшли кваліфікацію, відповідний чином навчений і кваліфікований персонал, контрольоване навколишнє середовище та повністю документовані та валідовані технологічні процеси. Проаналізувавши схему виробництва можна визначити наступні ККТ:

- санітарна підготовка виробництва, що включає підготовку дезінфікуючих та миючих розчинів та підготовку персоналу - на цих стадіях може виникнути ризик хімічного ураження та ризик відхилення в проведенні технологічного процесу (очікуваний ризик R 1 ), забезпечення належного санітарного стану персоналу - на цих стадіях може виникнути ризик мікробіологічної контамінації, ризик відхилення в проведенні технологічного процесу, а також ризик хімічного ураження (очікуваний ризик R 2 ), підготовка виробничих приміщень, що включає підготовку посуду та інструментів, підготовку обладнання та прибирання приміщень - на цих стадіях може виникнути ризик мікробіологічної контамінації, ризик відхилення в проведенні технологічного процесу, а також ризик хімічного ураження (очікуваний ризик R 3 ), підготовка технологічного одягу, а саме огляду перед пранням, прання, сушіння, термічної обробки (в паровому стерилізаторі або прасування) одягу; миття, сушіння і термічної обробки рукавичок; вологої та дезінфекційної обробки взуття (очікуваний ризик R 4 ), підготовка обладнання, посуду та засобів та їх стерилізація - на цих стадіях може виникнути ризик відхилення в проведенні технологічного процесу (очікуваний ризик R 5 );

- підготовку повітря, що включає забір, попередню очистку та очищення на 2 етапах фільтрами різного класу очищення - на цих стадіях може виникнути ризик відхилення в проведенні технологічного процесу (очікуваний ризик R 6 );

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		79

- підготовка компонентів поживного середовища, що включає дозування та розчинення поживного середовища - на цих стадіях може виникнути ризик мікробіологічної контамінації і ризик відхилення в проведенні технологічного процесу(очікуваний ризик R 7 );

- процес вирощування в колбах з шейкером та біореакторі - на цих стадіях може виникнути ризик мікробіологічної контамінації, а також ризик відхилення в проведенні технологічного процесу (очікуваний ризик R 8 );

- очищення за допомогою мембраної фільтрації - на цих стадіях може виникнути ризик мікробіологічної контамінації, а також ризик відхилення в проведенні технологічного процесу (очікуваний ризик R 9), очищення за допомогою хроматографії в декілька етапів: афінна хроматографія, аніонообмінна хроматографія та гідروفобна хроматографія - на цих стадіях може виникнути ризик мікробіологічної контамінації, а також ризик відхилення в проведенні технологічного процесу (очікуваний ризик R 10), концентрація і обмін буфера з ультрафільтрацією - на цих стадіях може виникнути ризик мікробіологічної контамінації, а також ризик відхилення в проведенні технологічного процесу (очікуваний ризик R 11);

- пакування та відвантаження продукції- на цих стадіях може виникнути ризик мікробіологічної контамінації, а також ризик відхилення в проведенні технологічного процесу (очікуваний ризик R 12);

Як видно з матриці ризиків (табл.5.1), найбільш критичними точками є підготовка компонентів поживного середовища та процес вирощування в колбах з шейкером; найменш критичними - пакування та відвантаження продукції, переробка та знешкодження відходів.

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		80

Таблиця 5.1-Матриця ризиків виробничого процесу

		Якісні рівня тяжкості		
		незначний	помірний	значний
Якісні рівні вірогідності	Високий	R3	R2	R7, R8
	Середній		R5	R9, R10, R11
	Низький	R12	R4, R6, R1	

Нижче наведено таблицю з контрольними точками та параметрами контролювання та їх нормативними значеннями під час кожної із стадій та/або підстадій технологічного процесу для забезпечення вироблення якісної та безпечної продукції.

Таблиця 5.2- Аналіз можливих ризиків під час виробництва рекомбінантних моноклональних антитіл та методи впливу

Група ризиків	Небезпека	Причина появи	Шкода	Оцінка ризику			Заходи щодо зниження рівня ризику	Оцінка ризику після заходів		
				Імовірність	Тяжкість	Загальний вплив		Імовірність	Тяжкість	Загальний вплив
Ризики на підготовчому етапі	Неналежний температурний режим	Використання сухожарової шафи	Погана стерилізація, можливість контамінації	3	4	12	Перевірка налаштувань сухожару. Налаштування згідно регламенту.	2	4	8
	Неналежне миття та стерилізація ампул	Підготовка ампул перед наповнення антитілами	Псування напівпродуктів.	2	5	10	Робота відповідно із СОП. Вчасне обслуговування та калібрування приладів. Перевірка дій персоналу.	1	5	5

Ризик и під час синтезу	Фільтри	Використання фільтрів неправильними розмірами пор	Неналежна фільтрація	4	3	12	Робота персоналу згідно СОПів. Вчасна перевірка, заміна і обслуговування фільтрів	2	3	6
	Трубопровід	Пошкодження трубопроводу	Витікання готових середовищ назовні. Розгерметизація виробництва. Забруднення кімнат, трубопроводів.	3	4	12	Розміщення трубопроводів ізолювано (за обшивкою), але з можливим досупом за потреби. Використання стійких та надійних матеріалів під час будування	1	4	4
Ризик и під час очищення антитіл	Процес фільтрування	Використання фільтрів	Погана фільтрація через неналежне налаштування або встановлення пор завеликих розмірів	4	4	16	Вчасне очищення від фільтрату. Перевірка встановлених фільтрів.	1	4	4

	Процес стерилізації	Встановлення неправильних температур. Використання звичайних, а не стерилізаційних фільтрів	Вакцина не відповідає встановленим параметрам. Партія неякісна	4	4	16	Стерилізація проводиться в асептичних умовах. Лише у визначених технологією апаратах та згідно із СОП	1	4	4
	Процес герметизації	Неналежна герметизація. Не пройдений контроль якості	Забруднення та псування готових антитіл	4	5	20	Обов'язковий контроль якості після герметизації	2	5	10
Ризик и для готов их антиті л	Умови зберігання	Застосування низьких температур для ліофілізації та подальшого зберігання	Псування готових антитіл	4	5	20	Контроль за параметрами підчас тривалого зберігання.	1	5	5

	Умови транспортування	Доставка антибіотиків замовникам	Встановлення помилкової температури. Псування партії антибіотиків.	3	5	15	Співпраця з надійним та сертифікованим перевізником відповідно до СОП. Перевірка кваліфікації персоналу	1	5	5
Інші ризики	Шуми	Використання різноманітних апаратів великої кількості	Виведення з ладу апаратів. Негативний вплив на персонал.	3	3	9	Вчасне калібрування та обслуговування. Передбачення шумоізоляції приміщень	1	3	3
	Повітря неналежного класу чистоти	Створення у лабораторії цехів з чотирма класами чистоти та використання повітря відповідної якості до класу чистоти приміщення	Забруднення апаратів, середовищ, тари інструментів, одягу персоналу.	3	5	15	Робота персоналу згідно СОПів. Вчасне обслуговування та калібрування приладів. Перевірка якості повітря на кожному етапі. Запровадження автоматизованої системи очищення та подання повітря. Планова перевірка справності фільтрів	2	3	6

	Застарілі та нечинні ДСТУ і настанови	Людська помилка. Безлад у документації. Похабне виконання обов'язків	Порушення законодавства. Випуск неякісного продукту.	4	4	15	Структурована та впорядкована документація. Оновлення ДСТУ, Настанов та СОПів згідно із законодавством. Проведення аудитів.	1	1	1
	Обладнання	Використання великої кількості лабораторного обладнання	Поломки під час роботи, розгерметизація, помилки під час змішування, збої налаштування	5	3	15	Взяття на роботу інженера з обслуговування апаратів. Пояснення персоналу умов роботи з кожним приладом та його специфікацією. Правильний і вчасний догляд та обслуговування.	2	2	4
	Людський фактор	Робота персоналу у лабораторії на різних стадіях виробництва	Втручання та помилка на будь-якому етапі виробництва	5	5	25	Прийняття на роботу дипломованих спеціалістів. Нормований робочий день. Огляд персоналу перед допуском до лабораторії. Забезпечення належних умов праці. Контроль виконання правил та обов'язків.	1	5	5

В разі виявлення обраних ризиків запропоновано методи управління ними (табл.4.3). Для кожного ризику може бути запропоновано декілька методів управління, а для декількох ризиків може бути запропонований один метод управління.

Таблиця 5.3 – План заходів з управління ризиками

Назва ризику	Назва методу управління ризиком	Період виконання/ застосування методу	Очікувані результати від впровадження методів управління	Відповідальні виконавці
Брак кваліфікації	Зниження частоти збитку	Під час масової реалізації	Зниження частоти збитків завдяки навчанню персоналу	Технологи, начальник дільниці
Невдала технологія, неправильне обране обладнання	Здобуття додаткової інформації. Стратегічне планування діяльності.	Під час впровадження у виробництво	Оптимізація технології та виробничих процесів	Біотехнолог
Несвоєчасна поставка сировини	Залучення професійної компанії для організації	Під час впровадження у виробництво, масової реалізації	Прискорення відновлення робочого процесу, оптимізація роботи.	Фахівці з фінансів та закупівель

БФ 2108.11.40.001 ПЗ

Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата

Лист

87

Встановлення жорсткої монополії	Активний цілеспрямований маркетинг	З початку реалізації ідеї	Збільшення зацікавленості споживачів	Начальник виробництва
Людський фактор	Зниження частоти збитку	Під час масової реалізації	Під час масової реалізації	Технологи, начальник виробничої дільниці лаборант

### Висновки до розділу 5.

У даному розділі проводилася оцінка ризиків, пов'язаних з виготовленням рекомбінантних моноклональних антитіл для використання при комплексній терапії розсіяного. Під час аналізу було виявлено, описано та передбачено наслідки для потенційних ризиків. Найбільш поширеними та ймовірними є ризики, пов'язані з використанням апаратів у лабораторіях синтезу та можливими людськими помилками. Найбільш серйозний негативний вплив можливий через можливе пошкодження та забруднення рекомбінантних моноклональних антитіл, яке може трапитися на будь-якому етапі виготовлення. Для кожного передбаченого ризику було розроблено план дій для зменшення ймовірності та наслідків ризику або його повного уникнення.

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		88

## РОЗДІЛ 6. СТАРТАП-ПРОЄКТ

### 6.1. Резюме стартап-проєкту

**Тема:** впровадження та розвиток виробництва лікарського засобу для комплексної терапії розсіяного склерозу на основі рекомбінантних моноклональних антитіл в Україні.

**Мета стартапу:** розробити технологічну лінію та розпочати виробництво субстанції на основі рекомбінантних моноклональних антитіл, для застосування в медичних цілях, в тому числі при комплексній терапії розсіяного склерозу.

**Напрямки застосування:** фармація, імунологія.

**Основна проблема, яку зможе вирішити реалізований стартап:** потреба у забезпеченні населення України лікарського засобу, який можна застосовувати для терапії.

#### Цінність:

- Більша ефективність у порівнянні з іншими типами лікарських засобів, які використовують на сьогодні.
- Зменшення витрат державного бюджету шляхом зниження вартості виробництва (нижча заробітна плата працівників у порівнянні з міжнародними виробниками, зниження вартості доставки до закладів охорони здоров'я).

**Суб'єкт замовлення:** Біоген Айдек Мануфактурінг АпС»/«Елан Фарма Інтернейшнл Лтд», Данія/Ірландія

**Місце товару у міжнародній класифікації товарів:** Клас 5: Фармацевтичні, медичні та ветеринарні препарати; гігієнічні препарати на медичні потреби; дієтичні харчові продукти і речовини, призначені для медичного чи ветеринарного використання, продукти для дитячого

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ		
Вим	Лист	№ докум.	Підпис	Дата			
Розробив		Корх Д. С.			Літ.	Лист	Листів
Перевірив		Мотроненко В.В.				7	115
Реценз.		Зубченко Л. С.			КПІ ім. Ігоря Сікорського		
Н. Контр.							
Затвердив		Бесараб О.Б.					

харчування; дієтичні добавки для людей і для тварин; пластири, перев'язувальні матеріали; матеріали для пломбування зубів, стоматологічний віск; дезінфікувальні засоби; препарати для знищення шкідників; фунгіциди, гербіциди.

**Наявність аналогів або прототипів ідей:** на території України відсутні підприємства, що займаються виробництвом моноклональних антитіл. У світі наявні як великі, так і малі фармацевтичні корпорації, які налагодили виробництво моноклональних антитіл. Найбільш відомі: Sanofi, Vetter Pharmafertigung.

Додаткові характеристики, які стосуються даного стартап-проєкту, можна розглянути у таблиці 6.1.

Таблиця 6.1 – Додаткові характеристики стартап-проєкту

№ п/п	Характеристика	Значення
1	КВЕД підприємства	КВЕД-2010, клас 21.10 Виробництво основних фармацевтичних продуктів-
2	Очікувана потужність	Велике підприємство
3	Масштаб виробництва	Масове
4	Рівень спеціалізації	Вузькопрофільне
5	Чисельність персоналу	Середнє (до 1000 осіб)
6	Бізнес модель стартапу	B2G (business to government)
7	Ключові фактори успіху стартапу	Наявність потреби у ефективному способі терапії розсіяного склерозу
8	Споживачі	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Пацієнти</li> <li>- Заклади охорони здоров'я</li> <li>- Міністерство охорони здоров'я України</li> </ul>

9	Джерела фінансування	Зовнішні (фармацевтичні компанії)
10	Потенційні постачальники складових компонентів розробки	Фармацевтична компанія «Дарниця», ВАТ "Фармак", АТ «ПЗМС» та інші
11	Спосіб реалізації продукції	Отримання тендерів на постачання через електронну систему публічних закупівель «Prozorro»

## 6.2 Детальний ринковий аналіз реалізації проекту

Визначення сильних (S), слабких (W) та нейтральних (N) характеристик ідеї стартап-проекту у порівнянні із потенційними конкурентами (виробниками моноклональних антитіл), представлено у таблиці 6.2.

Таблиця 6.2 – Порівняльна таблиця сильних, слабких та нейтральних характеристик проекту

№ п/п	Характеристика	Пропозиції конкурентів				S	W	N
		Власний проект	Natalizumab	Alemtuzumab	Rituximab			
1	Довіра потенційних користувачів	-	+	+	+		+	
2	Контроль якості	-	+	+	+			+
3	Наявність та доступність ресурсів	-	+	+	+		+	
4	Налагоджена лінія виробництва	-	+	+	+		+	
5	Ефективність	+	+	+	+	+		
6	Вартість виробництва	+	-	-	+	+		

Порівнявши сильні, слабкі та нейтральні сторони проекту, можна зробити висновок, що ефективність запланованої технології та вартість виробництва у порівнянні з аналогами є сильними сторонами цієї ідеї. Водночас недоліками є лінії виробництва, відсутність налагодженого контролю якості та довіра потенційних користувачів. Тим не менш, потенційний споживач, Міністерство охорони здоров'я України (Державна служба України з лікарських засобів та контролю за наркотиками), може забезпечити контроль якості, тому ця характеристика є нейтральною[68].

Розглянемо також фактори можливостей (opportunities) та загроз (threats), які представлені у таблицях 6.3 та 6.4.

Таблиця 6.3 – Фактори можливостей

№ п/п	Фактор	Можливість	Можлива реакція
1	Відсутність конкуренції на ринку	Інші компанії в Україні не виробляють моноклональних антитіл.	Можливість отримати підтримку уряду та внутрішніх інвесторів
2	Науково-технічний розвиток	У світі та в Україні виробництво моноклональних антитіл є досить новою галуззю фармакології.	Можливість отримати більше інформації про те, наскільки добре працює певна вакцина та внести зміни. можливість підвищити науковий потенціал інститутів НАНу
3	Стратегічна важливість проекту для держави	Зараз Україна повністю залежить від поставок закордонних постачальників та міжнародних програм	Державне сприяння бізнесу

Таблиця 6.4 – Фактори загроз

№ п/п	Фактор	Загроза	Можлива реакція компанії
1	Створення нових конкурентів	Крім того, інші українські фармацевтичні компанії можуть розпочати виробництво.	Участь маркетологів; створення рекламної кампанії, яка розповідає про розробку препарату на основі моноклонального антитіла
2	Труднощі з поширенням продукту на міжнародний ринок	Потрібні міжнародні конкуренти мають хорошу репутацію та можуть підтримувати свої інтереси.	Зменшення витрат на виробництво за допомогою розширення та зниження цін для іноземних споживачів
3	Державна політика	Реєстрація бізнесу та медичних засобів	Найняти бухгалтера та кваліфікованого юриста для обліку
4	Забезпечення якості ліків	Можливість підробки	Розробити детальну політику розповсюдження продукту з огляду на наявні міжнародні аналоги

Розглянемо також аналіз конкуренції в галузі, використовуючи методику М. Портера:

### 1. Потужність постачальників.

У світі існує широка мережа постачальників обладнання для виробництва, розчинів, ампул тощо. Крім того, є підрядники по дистрибуції та ремонту. Таким чином, можна припустити, що постачальники не будуть відігравати важливу роль у бізнес-моделі.

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		93

## **2. Потужність покупців.**

Фармацевтичні компанії: великі та середні фармацевтичні компанії зацікавлені у виробництві рекомбінантних моноклональних антитіл для лікування ревматоїдного синдрому (РС), а також різноманітних захворювань, таких як рак, імунологічні захворювання тощо.

Біотехнологічні компанії: Рекомбінантні mAbs можуть бути використані для різноманітних медичних застосувань компаніями, що спеціалізуються на розробці інноваційних біотехнологічних продуктів.

## **3. Загроза нових учасників.**

Виробництво ліків є небезпечним як для іноземних компаній, так і для українських (наприклад, завод «Ензим», ЗАТ «Біофарма» (Київ), ВАТ «Дніпрофарм»). Водночас можна вважати, що при ефективній рекламній кампанії та покращеному виробничому циклі цей фактор не є проблемою.

## **4. Загроза заміни товарів/послуг.**

Вважається, що потреба в лікуванні розсіяного склерозу постійно зростає, оскільки це захворювання досить поширене, молоде та зараз невиліковне. Таким чином, ця складова забезпечує можливість.

## **5. Конкурентне суперництво.**

Оскільки існують сертифіковані аналоги, на ринку існує високий рівень конкуренції, але якщо препарат є ефективним, у країні буде дуже мало конкуренції.

Таким чином, виходячи з п'яти сил Портера, можна зробити висновок, що цей стартап стійкий до зовнішніх і внутрішніх небезпек.

Таблиця 6.5 містить опис елементів конкурентоспроможності нашого продукту

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
						94
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		

Таблиця 6.5 – Фактори конкурентоспроможності.

№ п/п	Фактор	Обґрунтування
1	Новизна	Зважаючи на те, що цей препарат не виробляється в Україні, міжнародні виробники не мають іншого аналога.
2	Якість	Цей препарат є надзвичайно ефективним порівняно з іншими подібними препаратами.
3	Ціна	Виробництво препарату коштує досить мало, порівняно з його конкурентами.

Проведемо також SWOT-аналіз стартап-проекту.

Таблиця 6.6 – SWOT-таблиця

<p><b>Сильні сторони</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Постійний попит і широкий спектр потенційних клієнтів</li> <li>• Ефективність препарату</li> <li>• Велика кількість підрядників та постачальників</li> </ul>	<p><b>Слабкі сторони</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Наявність глобальних конкурентів</li> <li>• Високий рівень безпеки та ефективності сповільнює впровадження</li> </ul>
<p><b>Можливості</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Немає конкурентів в Україні</li> </ul>	<p><b>Загрози</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Можливість внутрішньої конкуренції</li> </ul>

Крім того, ми проведемо технологічний аналіз стартап-проекту за допомогою аналізу того, наскільки технологічно ефективна ідея проекту.

**Технології для реалізації ідеї:** виробництво препарату на основі моноклональних антитіл.

**Наявність технологій:** наявні, однак є потреба у покращенні ефективності

**Доступність технологій:** доступні.

Таким чином, за даних умов можна вважати, що технічна реалізація є можливою.

### 6.3 Розрахунок фінансових показників

Орієнтовна вартість виготовлення препарату представлена у таблицях 6.7, 6.8. Розрахунки представлені на виробництво 100 млн ампул/рік ємністю 45 мл.

Таблиця 6.7 – Витрати на матеріали

№ п/п	Найменування	Вартість (у млн доларів)
1	Вартість матеріалу для моноклональних антитіл	538
2	Виробничі витрати	90
3	Вартість пакувальних, закупорювальних, гігієнічних матеріалів	19
4	Вартість допоміжних речовин	57
5	Вартість ампул	43
	<b>Усього</b>	<b>745</b>

Таблиця 6.8 – Оперативні витрати

№ п/п	Найменування	Показник
1	Кількість людино-годин, необхідних для виготовлення вакцини	207 000 годин
2	Кількість працівників	>250 чоловік
3	Вартість (середня заробітна плата до податків – 3 000 доларів/місяць)	1 200 000 доларів
4	Оренда приміщення та обладнання (на рік)	5 000 000 доларів
5	Вартість додаткових витрат (транспортів, юридичні формальності, амортизаційні витрати, податки тощо)	10 000 000 доларів
	<b>Усього</b>	<b>≈ 15 млн доларів</b>

Таким чином, орієнтовна вартість виробництва 100 мільйонів ампул рекомбінантних моноклональних антитіл на рік становить приблизно 747 мільйонів доларів, що становить 7.45 доларів за ампулу або приблизно 1.49 доларів за дозу (в одній ампулі міститься п'ять доз). Водночас для повноцінного запуску виробництва потрібно враховувати витрати на випробування, сертифікації, контроль якості та інші непередбачені витрати.

#### 6.4 Розробка ринкової стратегії стартап проекту

Розробка ринкової стратегії підприємства є необхідною для успішної реалізації цього стартап-проекту. Ця стратегія включає визначення цільової групи потенційних споживачів, розробку стратегії розвитку та розробку стратегії протидії конкурентам.

Таблиця 6.9 – Вибір цільової групи потенційних споживачів

№ п/п	Фактор	Характеристика
1	Профіль цільової групи	Державні
2	Готовність споживачів споживати продукт	Готові
3	Орієнтовний попит у межах цільової групи	Високий
4	Ступінь конкуренції	Високий
5	Простота входу	Складний

Крім того, ми повинні визначити основну стратегію розвитку для нашого стартап-проекту.

- 1) Альтернатива розвитку: покращення сильних сторін проекту та технології;
- 2) Метод охоплення ринку: розширення маркетингових досліджень;
- 3) Ключові конкурентні переваги: ефективність препарату, перший український препарат;
- 4) Диференціація є основною стратегією розвитку.

Базова стратегія поведінки буде складатися з основних характеристик у випадку появи конкурентів на внутрішньому ринку.

- 1) Проект є «першопрохідцем» в Україні
- 2) Компанія може залучати потенційних пацієнтів у конкурентів завдяки вигідним цінам і репутації у закупівлях;
- 3) Компанія намагатиметься покращити технологію виробництва вакцини, а не копіювати характеристики конкурентів;
- 4) Домінатор буде основною стратегією конкурентної поведінки.

## Висновки до розділу 6.

У даному відділі представлено стартап-проект, що ґрунтується на розробленій технології виробництва рекомбінантних моноклональних антитіл для використання при комплексній терапії розсіяного склерозу. Детально описані основні економічні, фінансові та ринкові параметри даного підприємства, включаючи аналіз сильних та слабких сторін, а також методи зменшення впливу зовнішніх та внутрішніх чинників. Проведено оцінку вартості виробництва та розроблено стратегію ринкової поведінки.

В результаті проведеного аналізу прийнято висновок, що даний проект може бути успішно втіленим та прибутковим, особливо при ціні однієї ампули, яка не перевищує 15000 гривень. Це в контексті того, що зарубіжні компанії позначають свої продукти ціником від 60000 до 80000 гривень. Однак, при створенні підприємства, обов'язковою враховуваною складовою повинні стати особливості ведення бізнесу з державними закладами охорони здоров'я та можливими конкурентами.

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
						99
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		

## ВИСНОВКИ

Магістерська дисертація присвячена розробці та реалізації технології виробництвом рекомбінантних моноклональних антитіл для використання при комплексній терапії розсіяного склерозу.

На основі аналізу стану проблеми, наукових досліджень та літературних даних було обрано моноклональне антитіло, яке має найбільшу ефективність та є найдослідженішим, для впровадження його виробництва в Україні. Окрім того, науково обгрунтовано обрану технологію виробництва, яка дозволить отримати найкращі результати в співставленні якість-ефективність кінцевого продукту.

На основі отриманих результатів була спроектована технологія виробництва рекомбінантних моноклональних антитіл для використання при комплексній терапії розсіяного склерозу та визначено можливі шляхи розробки та впровадження виробництва моноклональних антитіл в Україні. Спроектована технологія виробництва рекомбінантних моноклональних антитіл, містить всі ключові елементи, які дозволять її реалізувати в промислових масштабах, включаючи технологічну схему виробництва, схему компоновки приміщень та обладнання, а також схеми логістичних потоків, з зазначенням класів чистоти та основних технологічних параметрів процету й обладнання для їх реалізації.

Запропоноване виробництво доповнено розробленою системою контролю якості на всіх етапах та підетапах виробництва, включаючи контроль персоналу, приміщень та обладнання. Також визначено систему контролю вхідної сировини та матеріалів, а також контроль напівпродуктів та кінцевого продукту.

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ		
Вим	Лист	№ докум.	Підпис	Дата			
Розробив		Корх Д. С.			Літ.	Лист	Листів
Перевірив		Мотроненко В.В.				7	115
Реценз.		Зубченко Л. С.			КПІ ім. Ігоря Сікорського		
Н. Контр.							
Затвердив		Бесараб О.Б.					

Основний акцент у цій системі робиться на контролі якості готової продукції, з зазначенням всіх методик для контролю основних показників якості, останнього.

Запропонована технологія пройшла оцінку ризиків, які можуть виникнути під час виробництва, в результаті якої було визначено найбільш критичні стадії процесу, для яких проведена перспективна валідація з метою мінімізації можливих негативних наслідків для виробництва та майбутніх споживачів.

На завершальному етапі представлено розробку стартап-проєкту, яка містить основні економічні, фінансові та ринкові характеристики. Проведена оцінка сильних та слабких сторін проєкту, а також визначені шляхи зменшення негативного впливу зовнішніх та внутрішніх факторів на успішність підприємства.

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
						101
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		

## СПИСОК ДЖЕРЕЛ ЛІТЕРАТУРИ

1. Bennett M.J., Karki S., Moore G.L., Leung I.W., Chen H., Pong E., Desjarlais J.R. Engineering fully human monoclonal antibodies from murine variable regions. *Journal of molecular biology*. 2010; 396(5): 1474-90. PMID: 20045416. DOI:10.1016/j.jmb.2009.12.046

2. Nelson A.L., Dhimolea E., Reichert J.M. Development trends for human monoclonal antibody therapeutics. *Nature reviews drug discovery*. 2010; 9(10): 767-74. PMID: 20811384. DOI:10.1038/nrd3229

3. Lin W., Kurosawa K., Murayama A., Kagaya E., Ohta K. B-cell display-based one-step method to generate chimeric human IgG monoclonal antibodies. *Nucleic acids research*. 2010; 39(3): e14. PMID: 21062829. PMCID: PMC3035438. DOI: 10.1093/nar/gkq1122

4. Harding F.A., Stickler M.M., Razo J., DuBridge R. The immunogenicity of humanized and fully human antibodies: residual immunogenicity resides in the CDR regions. *MAbs*. 2010; 2(3): 256-65. PMID: 20400861. PMCID: PMC2881252. DOI:10.4161/mabs.2.3.11641

5. Voronina E.V., Lobanova N.V., Jahin I.R., Romanova N.A., Seregin Ju.A. Rol' faktora nekroza opuholej-al'fa v immunopatogeneze zabolevanij razlichnoj jetiologii i ego znachimost' v razvitii anticitokinovoj terapii monoklonal'nymi antitelami. *Medicinskaja immunologija*. 2018; 20(6): 797-806.

6. Thomas A. Waldmann; "Anti-Tac (daclizumab, Zenapax) in The Treatment of Leukemia, Autoimmune Diseases, and in The Prevention of Allograft Rejection: A 25-Year Personal Odyssey", *Journal of Clinical Immunology*, 2006. (IF: 5)

7. Bernd C Kieseier; Heinz Wiendl; Bernhard Hemmer; Hans-Peter Hartung; "Treatment and Treatment Trials in Multiple Sclerosis", *Current Opinion in Neurology*, 2007. (IF: 4)

					<b>БФ 2108.11.40.001 ПЗ</b>			
<i>Вим</i>	<i>Лист</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>		<i>Лім.</i>	<i>Лист</i>	<i>Листів</i>
<i>Розробив</i>		<i>Корх Д. С.</i>						
<i>Перевірив</i>		<i>Мотроненко В.В.</i>					7	115
<i>Реценз.</i>		<i>Зубченко Л. С.</i>				<i>КПІ ім. Ігоря Сікорського</i>		
<i>Н. Контр.</i>								
<i>Затвердив</i>		<i>Бесараб О.Б.</i>						

8. Hirst C. L.; Pace A.; Pickersgill T. P.; Jones R.; McLean B. N.; Zajicek J. P.; Scolding N. J.; Robertson N. P.; "Campath 1-H Treatment in Patients with Aggressive Relapsing Remitting Multiple Sclerosis", Journal of Neurology, 2008. (IF: 4)

9. Peter Huppke; Wiebke Stark; Claudia Zürcher; Brenda Huppke; Wolfgang Brück; Jutta Gärtner; "Natalizumab Use in Pediatric Multiple Sclerosis", Archives of Neurology, 2008. (IF: 3)

10. Naismith R. T.; Piccio L.; Lyons J. A.; Lauber J.; Tutlam N. T.; Parks B. J.; Trinkaus K.; Song S. K.; Cross A. H. "Rituximab Add-on Therapy for Breakthrough Relapsing Multiple Sclerosis", Neurology, 2010. (IF: 4)

11. Joseph R. Berger; Sidney A. Houff; Eugene O. Major; "Monoclonal Antibodies And Progressive Multifocal Leukoencephalopathy", MABS, 2010. (IF: 4)

12. Clemens Warnke; Til Menge; Hans-Peter Hartung; Michael K Racke; Petra D Cravens; Jeffrey L Bennett; Elliot M Frohman; Benjamin M Greenberg; Scott S Zamvil; Ralf Gold; Bernhard Hemmer; Bernd C Kieseier; Olaf Stüve; "Natalizumab And Progressive Multifocal Leukoencephalopathy: What Are The Causal Factors And Can It Be Avoided?", Archives of Neurology, 2010. (IF: 5)

13. Michael G Tovey; Christophe Lallemand; "Immunogenicity And Other Problems Associated With The Use Of Biopharmaceuticals", Therapeutic Advances in Drug Safety, 2011. (IF: 4)

14. Kallioli G.D., Ivashkiv L.B. TNF biology, pathogenic mechanisms and emerging therapeutic strategies. Nature Reviews Rheumatology. 2016; 12(1): 49. MID: 26656660. PMCID: PMC4809675. DOI: 10.1038/nrrheum.2015.169

15. Rolfo C, Sortino G, Smits E, Passiglia F, Bronte G, Castiglia M, Raez L. Immunotherapy: is a minor god yet in the pantheon of treatments for lung cancer?. Expert review of anticancer therapy. 2014; 14(10): 1173-87. PMID: 25148289. DOI: 10.1586/14737140.2014.952287

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		103

16. Monaco C., Nanchahal J., Taylor P., Feldmann M. Anti-TNF therapy: past, present and future. *International immunology*. 2014; 27(1): 55-62. PMID: 25411043. PMCID: PMC4279876. DOI: 10.1093/intimm/dxu102

17. Weger W. Current status and new developments in the treatment of psoriasis and psoriatic arthritis with biological agents. *British journal of pharmacology*. 2010; 160(4): 810-20. PMID: 20590580. PMCID: PMC2935988. DOI:10.1111/j.1476-5381.2010.00702.x

18. Steinitz M. Production of human monoclonal antibodies by the Epstein–Barr virus method. *Human MAbs*. 2014; 1060: 111-22. PMID: 24037838. DOI: 10.1007/978-1-62703-586-6\_6

19. Gottlieb A., Menter A., Mendelsohn A., Shen Y.K., Li S., Guzzo C., Kavanaugh A. Ustekinumab, a human interleukin 12/23 monoclonal antibody, for psoriatic arthritis: randomised, double-blind, placebo-controlled, crossover trial. *The Lancet*. 2009; 373(9664): 633-40. PMID: 19217154. DOI: 10.1016/S0140-6736(09)60140-9

20. Lannfelt L., Möller C., Basun H., Osswald G., Sehlin D., Satlin A., et al. Perspectives on future Alzheimer therapies: amyloid- $\beta$  protofibrils-a new target for immunotherapy with BAN2401 in Alzheimer's disease. *Alzheimer's research & therapy*. 2014; 6(2): 16-8. PMID: 25031633. PMCID: PMC4054967. DOI: 10.1186/alzrt246

21. Penninkilampi R., Brothers H.M., Eslick G.D. Safety and efficacy of anti-amyloid- $\beta$  immunotherapy in Alzheimer's disease: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Neuroimmune Pharmacology*. 2017; 12(1): 194-203. PMID: 28025724. DOI: 10.1007/s11481-016-9722-5

22. Prymak O.S. Efektyvnist` zastosuvannya infliksymabu u khvorykh iz serednjotyazhkym vyrazkovym kolitom bez poperednjogo pryznachennya bazovoyi terapiyi. *Suchasna gastroenterologiya*. 2016; 5: 84-7.

23. Sevigny J., Chiao P., Bussière T., Weinreb P.H., Williams L., Maier M., et al. The antibody aducanumab reduces A $\beta$  plaques in Alzheimer's disease. *Nature*.

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
						104
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		

2016; 537(7618): 50-6. PMID: 27582220. DOI: 10.1038/nature19323

24. Baselga J., Cortés J., Kim S.B., Im S.A., Hegg R., Im Y.H., Clark, E. Pertuzumab plus trastuzumab plus docetaxel for metastatic breast cancer. New England Journal of Medicine. 2014; 366(2): 109-19. PMID: 22149875. PMCID: PMC5705202. DOI: 10.1056/NEJMoa1113216

25. Jaffe G.J., Dick A.D., Brézin A.P., Nguyen Q.D., Thorne J.E., Kestelyn P., Chu D.S., et al. Adalimumab in patients with active noninfectious uveitis. New England Journal of Medicine. 2016; 375(10): 932-43. PMID: 27602665. DOI: 10.1056/NEJMoa1509852

26. Leonardi C.L., Kimball A.B., Papp K.A., Yeilding N., Guzzo C., Wang Y. Efficacy and safety of ustekinumab, a human interleukin-12/23 monoclonal antibody, in patients with psoriasis: 76-week results from a randomised, double-blind, placebo-controlled trial (PHOENIX 1). The Lancet. 2008; 371(9625): 1665-74. PMID: 18486739. DOI: 10.1016/S0140-6736(08)60725-4

27. Smolen J.S., Emery P. Infliximab: 12 years of experience. Arthritis research & therapy. 2011; 13(1): S1-2. PMID: 21624181. PMCID: PMC3123963. DOI: 10.1186/1478-6354-13-S1-S2

28. Hauser S.L., Bar-Or A., Comi G., Giovannoni G., Hartung H.P., Hemmer B., Traboulsee A., et al. Ocrelizumab versus interferon beta-1a in relapsing multiple sclerosis. New England Journal of Medicine. 2017; 376(3): 221-34. PMID: 28002679. DOI: 10.1056/NEJMoa1601277

29. Stüve O., Gold R., Chan A., Mix E., Zettl U., Kieseier B.C.  $\alpha$ 4-Integrin antagonism with natalizumab. Journal of neurology. 2008; 255(6): 58-65. doi: 10.1007/s00415-008-6011-0

30. Montalban X., Hauser S.L., Kappos L., Arnold D.L., Bar-Or A., Comi G., Lublin F., et al. Ocrelizumab versus placebo in primary progressive multiple sclerosis. New England Journal of Medicine. 2017; 376(3): 209-20. PMID: 28002688. DOI: 10.1056/NEJMoa1606468

31. Dougados M., Kissel K., Sheeran T., Tak P.P., Conaghan P.G., Mola E.M.,

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
						105
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		

Bernasconi C., et al. Adding tocilizumab or switching to tocilizumab monotherapy in methotrexate inadequate responders: 24-week symptomatic and structural results of a 2-year randomised controlled strategy trial in rheumatoid arthritis (ACT-RAY). *Annals of the rheumatic diseases*. 2013; 72(1): 43-50. PMID: 22562983. PMCID: PMC3551223. DOI:10.1136/annrheumdis-2011-201282

32. *Класифікація медичних виробів*. Міністерство охорони здоров'я України, 2020, [moz.gov.ua/uploads/3/16105-dn\\_20200122\\_142\\_dod\\_1.pdf](https://moz.gov.ua/uploads/3/16105-dn_20200122_142_dod_1.pdf).

33. ISO. *Medical products containing viable human cells — Application of risk management and requirements for processing practices*. ISO 13022:2021, 2021.

34. Науково-дослідний інститут метрології вимірювальних і управляючих систем (ДП «НДІ «Система»). *Системи управління якістю. Основні положення та словник термінів*. ДСТУ ISO 9000:2015 (ISO 9000:2015, IDT), 2015.

35. Науково-дослідний інститут метрології вимірювальних і управляючих систем (ДП «НДІ «Система»). *Системи управління якістю. Вимоги*. ДСТУ ISO 9001:2015 (ISO 9001:2015, IDT), 2015.

36. Україна, Міністерство охорони здоров'я України. Настанова МОЗ України "Лікарські засоби. Подібні біологічні лікарські препарати, що містять моноклональні антитіла, — неклінічні та клінічні питання. 21 лип. 2015, <https://compendium.com.ua/uk/clinical-guidelines-uk/standartizatsiya-farmatsevtichnoyi-produktsiyi-tom-2/st-n-mozu-42-7-4-2015/>. СТ-Н МОЗУ 42-7.4:2015.

37. Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP). *Guideline on similar biological medicinal products containing monoclonal antibodies — non-clinical and clinical issues*. EMA/CHMP/BMWP/403543/2010, 2012.

38. Технічний комітет стандартизації «Системи управління якістю» (ТК 189). *Настанови щодо проведення аудитів систем управління*. ДСТУ ISO 19011:2019 (ISO 19011:2018, IDT), 2019.

39. Державне підприємство «Український науково-дослідний і

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
						106
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		

навчальний центр проблем стандартизації, сертифікації та якості» (ДП «УкрНДНЦ»). *Вироби медичні для діагностики in vitro. Вимірювання величин у зразках біологічного походження. Вимоги до атестованих стандартних зразків і вмісту супровідної документації.* ДСТУ EN ISO 15194:2018 (EN ISO 15194:2009, IDT; ISO 15194:2009, IDT), 2018.

40. «Український науково-дослідний і навчальний центр проблем стандартизації, сертифікації та якості» (ДП «УкрНДНЦ»). *Біологічне оцінювання медичних виробів. Частина 1. Оцінювання і тестування в рамках процесу управління ризиками.* ДСТУ EN ISO 10993-1:2015 (EN ISO 10993-1:2009, IDT; ISO 10993-1:2009, IDT), 2015.

41. ДП «Український науково-дослідний і навчальний центр проблем стандартизації, сертифікації та якості» (ДП «УкрНДНЦ»). *Біологічне оцінювання медичних виробів. Частина 5. Випробовування на цитотоксичність in vitro.* ДСТУ EN ISO 10993-5:2015 (EN ISO 10993-5:2009, IDT; ISO 10993-5:2009, IDT), 2015.

42. ДП «Український науково-дослідний і навчальний центр проблем стандартизації, сертифікації та якості» (ДП «УкрНДНЦ»). *Біологічне оцінювання медичних виробів. Частина 4. Обирання тестів, взаємодіючих з кров'ю.* ДСТУ EN ISO 10993-4:2019 (EN ISO 10993-4:2017, IDT; ISO 10993-4:2017, IDT), 2015.

43. ДП «Український науково-дослідний і навчальний центр проблем стандартизації, сертифікації та якості» (ДП «УкрНДНЦ»). *Біологічне оцінювання медичних виробів. Частина 11. Випробовування на системну токсичність.* ДСТУ EN ISO 10993-11:2019 (EN ISO 10993-11:2018, IDT; ISO 10993-11:2017, IDT), 2015.

44. ДП «Український науково-дослідний і навчальний центр проблем стандартизації, сертифікації та якості» (ДП «УкрНДНЦ»). *Біологічне оцінювання медичних виробів. Частина 9. Основні принципи якісного та кількісного аналізу потенційних продуктів деградації.* ДСТУ EN ISO 10993-

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
						107
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		

9:2015 (EN ISO 10993-9:2009, IDT; ISO 10993-9:2009, IDT), 2018.

45. ISO - International Organization for Standards. *Biotechnology*. TC ISO/TC 276, 2013.

46. ISO - International Organization for Standards. *Biotechnology — Cell counting — Part 1: General guidance on cell counting methods*. ISO 20391-1:2018, 2018.

47. ISO - International Organization for Standards. *Biotechnology — Cell counting — Part 2: Experimental design and statistical analysis to quantify counting method performance*. ISO 20391-2:2019, 2019.

48. ДП «Український науково-дослідний і навчальний центр проблем стандартизації, сертифікації та якості» (ДП «УкрНДНЦ»). *Вироби медичні. Настанови щодо управління ризиком*. ДСТУ EN ISO 14971:2015 (EN ISO 14971:2012, IDT; ISO 14971:2007, IDT), 2015.

49. Український медичний центр сертифікації. *Символи графічні для маркування медичних виробів*. ДСТУ EN 980:2007 (EN 980:2003, IDT), 2007.

50. ТК 77 «Медична техніка». *Вироби медичні. Символи, застосовані під час маркування на медичних виробках, етикетках та в супровідній документації. Частина 1. Загальні вимоги*. ДСТУ EN ISO 15223-1:2018 (EN ISO 15223-1:2016, IDT; ISO 15223-1:2016, Corrected version 2017-03, IDT), 2020.

51. ДП «Український науково-дослідний і навчальний центр проблем стандартизації, сертифікації та якості» (ДП «УкрНДНЦ»). *Вироби медичні. Інформація, яку надає виробник*. ДСТУ EN 1041:2019 (EN 1041:2008, IDT), 2019.

52. Державне українське об'єднання «Політехмед». *Стерилізація виробів медичного призначення. Загальні вимоги до характеристик агента, що стерилізує, а також до розроблення, валідації та поточного контролювання процесу стерилізації медичних виробів*. ДСТУ EN ISO 14937:2014 (EN ISO 14937:2009, IDT), 2014.

БФ 2108.11.40.001 ПЗ

						Лист
						108
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		

53. ISO - International Organization for Standards. *Medical products containing viable human cells — Application of risk management and requirements for processing practices*. ISO 13022:2012, 2012.

54. Perdriger A., Mariette X., Kuntz J.L., Brocq O., Kara-Terki R., Le Loet X., Combe B. Safety of infliximab used in combination with leflunomide or azathioprine in daily clinical practice. *The Journal of rheumatology*. 2006; 33(5): 865-9. PMID: 16652418

55. Katsicas MM, Russo R. Biologic agents in juvenile spondyloarthropathies. *Pediatric Rheumatology*. 2016; 14(1): 1-8. doi: 10.1186/s12969-016-0076-6

56. Van Dyck C.H. Anti-amyloid- $\beta$  monoclonal antibodies for Alzheimer's disease: pitfalls and promise. *Biological psychiatry*. 2018; 83(4): 311-9. PMID: 28967385. PMCID: PMC5767539. DOI: 10.1016/j.biopsych.2017.08.010

57. Niroda AI, Bratasyuk AM, Chubirko KI, Varvarynec AV. Porivnyannya efektyvnosti likuvannya infliksymabom ta budesonidom u khvorykh nespecyfichnym vyrazkovym kolitom. *Semejnaya medycyna*. 2016; 5: 111-3.

58. Colombel J.F., Sandborn W.J., Rutgeerts P., Enns R., Hanauer S.B., Panaccione R., Pollack P.F. Adalimumab for maintenance of clinical response and remission in patients with Crohn's disease: the CHARM trial. *Gastroenterology*. 2007; 132(1): 52-65. PMID: 17241859. DOI: 10.1053/j.gastro.2006.11.041

59. Siemers E.R., Sundell K.L., Carlson C., Case M., Sethuraman G., Liu-Seifert H., et al. Phase 3 solanezumab trials: secondary outcomes in mild Alzheimer's disease patients. *Alzheimer's & Dementia*. 2016; 12(2): 110-20. doi: 10.1016/j.jalz.2015.06.1893

60. Adolfsson O., Pihlgren M., Toni N., Varisco Y., Buccarello A.L., Antonello K., et al. An effector-reduced anti- $\beta$ -amyloid ( $A\beta$ ) antibody with unique  $a\beta$  binding properties promotes neuroprotection and glial engulfment of  $A\beta$ . *Journal of Neuroscience*. 2012; 32(28): 9677-89. PMID: 22787053. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.4742-11.2012

61. Tsetsos N, Goudakos JK, Daskalakis D, Konstantinidis I, Markou K.

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
						109
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		

Monoclonal antibodies for the treatment of chronic rhinosinusitis with nasal polyposis: a systematic review. *Rhinology*. 2018; 56(1): 11-21. PMID: 29396960. DOI:10.4193/Rhin17.156

62. Bohrmann B., Baumann K., Benz J., Gerber F., Huber W., Knoflach F., et al. Gantenerumab: a novel human anti-A $\beta$  antibody demonstrates sustained cerebral amyloid- $\beta$  binding and elicits cell-mediated removal of human amyloid- $\beta$ . *Journal of Alzheimer's Disease*. 2012; 28(1): 49-69. PMID: 21955818. DOI: 10.3233/JAD-2011-110977

63. Aebi S., Davidson T., Gruber G., Cardoso, ESMO Guidelines Working Group. Primary breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of oncology*. 2011; 22(6): 12-24. PMID: 21908498. DOI: 10.1093/annonc/mdr371

64. Baselga J., Cortés J., Kim S.B., Im S.A., et al. Pertuzumab plus trastuzumab plus docetaxel for metastatic breast cancer. *New England Journal of Medicine*. 2012; 366(2): 109-19. doi: 10.1056/NEJMoa1113216

65. Cardoso F., Harbeck N., Fallowfield L., Kyriakides S., Senkus E., ESMO Guidelines Working Group. Locally recurrent or metastatic breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of oncology*. 2012; 23(7): 11-9. PMID: 22997442. DOI: 10.1093/annonc/mds232

66. Black R.S., Sperling R.A., Safirstein B., Motter R.N., Pally A., Nichols A., et al. A single ascending dose study of bapineuzumab in patients with Alzheimer disease. *Alzheimer disease and associated disorders*, 2010; 24(2): 198-203. PMID: 20505438. PMCID: PMC3715117. DOI: 10.1097/WAD.0b013e3181c53b00

67. Burstein A.H., Zhao Q., Ross J. et al. Safety and pharmacology of ponezumab (PF04360365) after a single 10-minute intravenous infusion in subjects with mild to moderate Alzheimer disease. *Clinical neuropharmacology*. 2013; 36(1): 8-13. PMID: 23334069. DOI: 10.1097/WNF.0b013e318279bcfa

68. Маркетинг стартап-проектів [Електронний ресурс] : навч. посіб. Для

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
						110
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		

усіх спеціальностей другого освітнього ступеню «магістр» / За заг. ред. С. О. Солнцева / С.О. Солнцев, О.В. Зозульов, Н. В. Юдіна, Т. О. Царьова, Н. В. Язвінська ; Київ : КПІ ім. Ігоря Сікорського.

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
						111
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		

Додаток А

Таблиця А.1 – Специфікація обладнання.

Позиція	Позначення	Найменування	Кількість	Маса	Примітки
Зб-3, Зб-6, Зб-9, Зб-26	Бутель з нижнім тубусом з 3/4 BSP	Збірник	4		Міралаб, об'єм 5 л, матеріал — поліетилен
Р-1, Р-4, Р-7	GL 80-194- 01400	Реактор з перемішуючим пристроєм для приготування миючих та дезінфікуючих засобів	3		Хімотест Україна, мішалка якірного типу, швидкість до 500 об/хв, номінальна місткість 5000 мл
Пз-16	ІМР ХХ 000	Повітрозабірник	2		Engineering srl. Висота: 8000 мм
Ф-17	PARKER 060K	Фільтр	1		Best Technical Solutions group Продуктивність: 3600 м <sup>3</sup> Розмір пор: 4 мкм
Вн-18, Вн22	ВЦП 6-45	Вентилятор	2		Вентиляторний завод «Горизонт» Потужність : 30кВт Швидкість обертання: 1500 об/хв

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		112

T-19, T-23	Roen Est	Теплообмінник для повітря	2		Італія, для нагрівання і охолодження Розхід повітря: 2 340 м <sup>3</sup> /час Гідравтичний опір: 5,01 кПа Макс. коректна Температура води: 130°C Макс. коректний тиск: 1,6 МПа
H-27, H-32	«Pasco» FP2	Насос	2		Продуктивність: 700 м <sup>3</sup> /год Матеріал: нержавіюча сталь AISI 316L
Ф-21, Ф-25, Ф-26, Ф-30, Ф-38	HEPA-фільтр H14	Фільтр	6		Remark-Kauser Продуктивність: 5400 м <sup>3</sup> /год·м <sup>2</sup> Лінійна швидкість: 1,5 м/с Ефективність 99,995%
P-33 1 7,4	OS-40	Реактор для змішування компонентів ПС	1	7,4	Рива-Сталь Макс Діапазон швидкості — 50-2000, В'язкість 50 000 мПа·с

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		113

Вф-39	Biostat® DDCU	Виробничий біореактор	1		SARTORIUS, нерж.сталь Об'єм: 50 л, барботер з електромагнітни м клапаном для спрямування потoku повітря, Асептична система відбору проб Мішалка — відкрита турбінна, нижньопривідна , Частота обертання валу - 2 с <sup>-1</sup> Теплообмінна рубашка із спіральними перегородками Співвідношення висоти до діаметра: 2:1 Підтримує SIP/CIP
ХК-46, ХК52, ХК-77	Profinia™	Хроматографічн а колона	3		BioRad, діапазон витрат 0,2-20 мл/хв, поглинання 280 нм, максимальний протитиск 3,4 бар

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		114

AP-80	ТБ-056	Апарат для розливу	1	380	Технологія Бізнес, об'єм дози 1-200 мл, габарити 2250×1600×1500
ПК-82	JC-CTM	Апарат для пакування в коробки	1	750 кг	ROLSTECH Продуктивність: 70 упаковок/хв Габарити 2455×965×1440 мм
ME-81	LCC	Машина етикетувальна	1	240	ROLSTECH Продуктивність: 300 фл/хв Габаритні розміри : 2100×1100×1700 мм
A3-53	VM300TE/A	Апарат для запаювання	1		Frosty розміри: 370×510×370 мм, потужність 0,4 кВт
ПМ-83	ROLS#90	Апарат для маркування	1	60	ROLSTECH Механічна швидкість: 120 цикл/хв Кількість рядків друку: 1-3 Габарити: 1000×600×1500 мм

					БФ 2108.11.40.001 ПЗ	Лист
Вим.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		115