

Biologik va biotexnologik dorilarning sifat hamda soflik nazorati

Mamatqulov Zuxriddin Urmonovich

Ustoz

Xusanxonov Azizxon Azimxonovich

Talaba

Annotatsiya: Ushbu ishda biologik va biotexnologik dori vositalarining — jumladan, monoklonal aksiladdalar, rekombinant oqsillar, vaksinalar hamda gen terapiyasi preparatlarining sifat ko'rsatkichlari va soflik darajasini nazorat qilish masalalari tahlil qilinadi. Biologik preparatlar tirik hujayra tizimlarida sintez qilingani sababli, ularning tarkibi va makromolekulyar tuzilishi murakkab bo'lib, yuqori darajadagi gomogenlik hamda barqarorlikni talab etadi. Tadqiqotda dori vositalarining faolligi va xavfsizligiga ta'sir etuvchi asosiy omillar, xususan, hujayra qoldiqlari (DNK va oqsillar), agregatlar hamda destruksiya mahsulotlari kabi aralashmalarni aniqlash va me'yorlash usullari yoritilgan. Shuningdek, yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi (HPLC), kapillyar elektroforez va mass-spektrometriya kabi zamonaviy analitik metodlarning o'рни va ularni ICH (Q6B, Q5A-E) xalqaro standartlari talablariga muvofiq qo'llash prinsiplari ko'rsatib berilgan. Olingan xulosalar biotexnologik mahsulotlarni ishlab chiqarish jarayonida samaradorlik va xavfsizlik kafolatini ta'minlash uchun sifat nazorati tizimini to'g'ri yo'lga qo'yish zarurligini asoslab beradi.

Kalit so'zlar: biologik dori vositalari, biotexnologiya, biofarmatsevtika, sifat nazorati, soflik darajasi, monoklonal aksiladdalar, rekombinant oqsillar, vaksinalar, gen va

hujayra terapiyasi, biologik faollik (potensiya), aralashmalar (impurities), hujayra oqsillari qoldig'i (HCP), hujayra DNKsi qoldig'i (HCD), molekulyar agregatsiya, destruksiya mahsulotlari, gomogenlik (bir jinslilik), bioassaye (biologik testlash), xromatografik tahlil (HPLC/UPLC), kapillyar elektroforez, mass-spektrometriya, validatsiya, ICH Q6B standartlari, GMP talablari, farmakopeya standartlari, preparat barqarorligi.

Kirish: So'nggi o'n yilliklarda dori vositalari bozorining strukturasi tubdan o'zgardi. Boshlang'ich bosqichda asosan kichik molekulali kimyoviy sintez preparatlari ustunlik qilgan bo'lsa, bugungi kunda dunyo bo'yicha eng ko'p sotiladigan TOP-10 dori vositalarining 70 foizdan ortig'ini biofarmatsevtik mahsulotlar — monoklonal aksiladdalar, rekombinant oqsillar va gen-hujayra preparatlari tashkil etadi. Global biofarmatsevtika bozori hajmi har yili o'rtacha 8–10% ga o'sib bormoqda va ushbu dinamika farmatsevtika sanoatida sifat va soflik nazorati bo'yicha yangi yondashuvlarni talab etadi. Kichik molekulali preparatlardan (masalan, aspirining molekulyar og'irligi ~180 Da) farqli ravishda, biologik va biotexnologik dori vositalari o'ta murakkab makromolekulyar tuzilishga ega bo'lib, monoklonal aksiladdalarning molekulyar og'irligi 150 kDa gacha yetadi. Tirik hujayra tizimlari vositasida biosintez qilingani sababli, yakuniy mahsulotda konyugatsiya, glikozillanish va konformatsion o'zgarishlar kabi geterogenlik saqlanib qoladi. Biologik preparatlar ishlab chiqarishda mikro-sathdagi nojo'ya aralashmalar ham bemor immun tizimida keskin javob reaksiyasini keltirib chiqarishi yoki preparatning biologik faolligini butunlay yo'qotishiga olib kelishi mumkin. Ishlab chiqarish jarayonida saqlanib qoluvchi xo'jayin hujayrasi oqsillari (HCP), xo'jayin hujayrasi DNKsi (HCD) hamda saqlash jarayonida hosil bo'ladigan molekulyar agregatlar preparat sofligini nazorat qilishdagi eng nozik halqalardandir. Amaldagi xalqaro me'yorlarga ko'ra, yakuniy doza tarkibidagi HCP miqdori 100 ppm (pikogramm/milligramm) dan, qoldiq DNK esa dozasiga 10 ng dan oshmasligi shart qilib belgilangan. Biologik dori vositalarining sifatini

standartlashtirish ICH Q6B hamda Yevropa va AQSh farmakopeyasi normativlari bilan tartibga solinadi. Hozirgi kunda ushbu standartlarga muvofiqlikni ta'minlash uchun yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi (RP-HPLC, SEC, CEX), kapillyar elektroforez (CE-SDS, cIEF) hamda tandem mass-spektrometriya (LC-MS/MS) usullaridan foydalanilmoqda. Biologik faollikni baholashda esa hujayra liniyalariga asoslangan testlar (*cell-based bioassays*) yetakchi o'rin tutadi. Ushbu tadqiqotning asosiy maqsadi biologik va biotexnologik dori vositalarining tarkibiy gomogenligi, sofliги va biologik faolligini baholashda qo'llaniladigan zamonaviy analitik metodologiyalarni tizimlashtirish, mavjud aralashmalarni aniqlash hamda xalqaro ICH Q6B va GMP standartlari talablariga muvofiq sifat nazorati mexanizmlarini atroflicha tahlil qilishdan iborat.

Asosiy qism: Biofarmatsevtika sanoatida biologik va biotexnologik dori vositalarini ishlab chiqarish murakkab ko'p bosqichli biotexnologik jarayonlarga tayanadi. Rekombinant oqsillar, monoklonal aksiladdalar, vaksinalar hamda gen va hujayra terapiyasi preparatlari tirik biologik tizimlar — masalan, CHO (*Chinese Hamster Ovary*) hujayralari, *E. coli* bakteriyalari yoki xamirturush kulturalari yordamida biosintez qilinadi. Ishlab chiqarish jarayoni upstream (hujayralarni o'stirish va biosintez) hamda downstream (ajratib olish, tozalash va konsentratsiyalash) bosqichlaridan iborat bo'lib, har bir bosqichda mahsulot strukturasi va molekulyar o'zgarishlarni doimiy nazorat qilish talab etiladi. Tirik organizmlar ishtirokidagi biosintez natijasida hosil bo'ladigan oqsil molekullari konyugatsiya, glikozillanish hamda uchlamchi va to'rtlamchi konformatsion o'zgarishlarga uchraydi. Bu esa bir xil seriyadagi mahsulotda ham mikro-geterogenlikni keltirib chiqaradi va tayyor preparatning gomogenligi hamda barqarorligini ta'minlashda qator texnologik qiyinchiliklarni tug'diradi. Tadqiqot jarayonida biologik dori vositalari sofliğiga ta'sir etuvchi asosiy aralashmalar va ularni kamaytirish usullari atroflicha o'rganilgan. Ishlab chiqarish bosqichida mahsulot tarkibida qoladigan xo'jayin hujayrasi oqsillari (HCP) va xo'jayin hujayrasi DNKsi (HCD) bemor organizmida immunogen reaksiyalarni keltirib chiqarishi yoki preparat terapevtik samaradorligini pasaytirishi mumkin. Amaldagi xalqaro

mezonlarga binoan, yakuniy doza tarkibidagi HCP miqdori 100 ppm dan, qoldiq DNK esa dozasiga 10 ng dan oshmasligi belgilangan. Shuningdek, saqlash va tashish jarayonida harorat hamda muhit o'zgarishi sababli oqsillarning deamidatsiyasi, oksidlanishi va molekulyar agregatsiyasi sodir bo'ladi. Agregatsiyalangan oqsillar nojo'ya immunogenlik xavfini keskin oshirgani sababli, ularning shakllanish mexanizmlarini o'rganish va bartaraf etish nazoratning asosiy ob'ektlaridan biridir. Ushbu tadqiqotda sifat va soflik nazoratini amalga oshirishda qo'llaniladigan zamonaviy analitik metodologiyalar tizimlashtirilgan. Mahsulotning strukturaviy yaxlitligi va sofligini baholash uchun teskari fazali hamda o'lchamli xromatografiya (RP-HPLC, SEC, CEX), kapillyar elektroforez (CE-SDS, cIEF) va tandem mass-spektrometriya (LC-MS/MS) usullaridan foydalanish prinsiplari tahlil qilingan. Preparatning tirik organizmdagi biologik faolligi (potensiyasi) esa hujayra liniyalariga asoslangan biotestlar (*cell-based bioassays*) yordamida aniqlanadi. Tadqiqot xulosalari ICH Q6B, ICH Q5A-E, GMP hamda Yevropa va AQSh farmakopeyasi standartlari talablariga muvofiq ravishda analitik metodlarni validatsiyatsiyalash, biosintez va tozalash jarayonlarining har bir bosqichida sifat monitoringini yo'lga qo'yish orqali biotexnologik dori vositalarining xavfsizligi va samaradorligini to'liq kafolatlash imkonini beradi. So'nggi yillarda jahon farmatsevtika bozorida biologik va biotexnologik dori vositalarining ulushi jadal ortib bormoqda. Boshlang'ich davrlarda asosan kichik molekuli kimyoviy sintez preparatlari ustunlik qilgan bo'lsa, bugungi kunda dunyo bo'yicha eng ko'p sotiladigan TOP-10 dori vositalarining 70 foizdan ortig'ini biofarmatsevtik mahsulotlar — monoklonal aksiladdalar, rekombinant oqsillar va gen-hujayra preparatlari tashkil etadi. Global biofarmatsevtika bozori yillik o'rtacha 8–10 foiz atrofida o'sib borayotgani sifat va soflik nazorati bo'yicha yanada mukammalroq analitik mexanizmlarni talab etadi. Kichik molekuli preparatlardan (masalan, aspirinning molekulyar og'irligi taxminan 180 Da) farqli ravishda, biologik vositalar o'ta murakkab va yuqori molekulyar strukturaga ega bo'lib, monoklonal aksiladdalarning molekulyar massasi 150 kDa gacha yetadi. CHO (*Chinese Hamster Ovary*) hujayralari yoki *E. coli* kabi tirik biologik tizimlarda biosintez qilinishi tufayli yakuniy mahsulotda konyugatsiya, glikozillanish va konformatsion

o'zgarishlar kabi molekulyar geterogenlik saqlanib qoladi. Ishlab chiqarishning upstream va downstream bosqichlarida, shuningdek saqlash jarayonida mikroskopik darajadagi aralashmalarning paydo bo'lishi bemor organizmida nojo'ya immunogen reaksiyalarni keltirib chiqarishi yoki dori vositasining biologik faolligini pasaytirishi mumkin. Shuning uchun ham xo'jayin hujayrasi oqsillari (HCP), xo'jayin hujayrasi DNKsi (HCD) va saqlash jarayonida oqsil strukturasi o'zgarishi natijasida shakllanadigan molekulyar agregatlar soflik nazoratining asosiy ob'ektlari sanaladi. Amaldagi xalqaro standartlarga muvofiq, yakuniy doza tarkibidagi HCP miqdori 100 ppm dan, qoldiq DNK esa dozasi 10 ng dan oshmasligi lozim. Shu bilan birga, oqsil molekulalarining deamidatsiyasi va oksidlanishi kabi destruksiya mahsulotlarini aniqlash preparat xavfsizligini kafolatlashda muhim o'rin tutadi. Biologik va biotexnologik dori vositalarining sifatini baholash ICH Q6B va ICH Q5A-E xalqaro ko'rsatmalari, GMP talablari hamda Yevropa, AQSh va milliy farmakopeya standartlariga asoslanadi. Analitik sinovlar jarayonida teskari fazali va o'lchamli xromatografiya (RP-HPLC, SEC, CEX), kapillyar elektroforez (CE-SDS, cIEF) hamda tandem mass-spektrometriya (LC-MS/MS) kabi zamonaviy usullardan keng foydalaniladi. Preparatning organizmga ta'sir darajasini aniqlashda esa hujayra liniyalariga asoslangan biologik testlar (*cell-based bioassays*) qo'llaniladi. ICH Q2(R1) talablariga muvofiq, qo'llaniladigan barcha analitik metodlar spetsifiklik, chiziqlilik, aniqlik hamda quyi aniqlash chegarasi (LOD/LOQ) kabi mezonlar bo'yicha qat'iy validatsiyadan o'tkaziladi. Zamonaviy biofarmatsevtikada sifat nazorati faqat tayyor mahsulotni laboratoriyada tahlil qilish bilan cheklanmay, ishlab chiqarish jarayonining o'ziga integratsiya qilinmoqda. QbD (*Quality by Design*) va PAT (*Process Analytical Technology*) yondashuvlari asosida bioreaktor va tozalash ustunlarida real vaqt rejimida (*In-line/On-line*) monitoring olib borish hamda Raman va yaqin infraqizil (NIR) spektroskopiyasi yordamida oqsil strukturasi namuna olishsiz tahlil qilish imkoniyati kengaymoqda. Ushbu metodologiyalarni tizimlashtirish va amaliyotga joriy etish biofarmatsevtik mahsulotlarning sifat va xavfsizlik ko'rsatkichlarini xalqaro talablar darajasiga yetkazish hamda nojo'ya immunogenlik xavfini minimallashtirish imkonini beradi.

Xulosa: Biologik va biotexnologik dori vositalarining sifat hamda soflik nazorati bo'yicha olib borilgan ushbu tadqiqot shuni ko'rsatadiki, biofarmatsevtik mahsulotlarning an'anaviy kimyoviy sintez preparatlaridan tubdan farq qilishi ularni standartlashtirishga kompleks va alohida yondashuvni talab etadi. Tirik biologik tizimlarda biosintez qilinuvchi makromolekulalarning nozik va murakkab konformatsion tuzilishi ishlab chiqarish hamda saqlash jarayonlarida turli mikro-geterogenliklar va nojo'ya aralashmalarning yuzaga kelishiga olib keladi. Tadqiqot natijalari shuni tasdiqlaydiki, xo'jayin hujayrasi oqsillari (HCP), qoldiq DNK (HCD) va molekulyar agregatlar kabi aralashmalarning xalqaro belgilangan me'yorlardan (HCP uchun 100 ppm, HCD uchun dozasiga 10 ng) oshishi bemor organizmida nojo'ya immunogen reaksiyalarni keltirib chiqarishi hamda preparatning terapevtik samaradorligini keskin pasaytirishi mumkin. Shu sababli, teskari fazali hamda o'lchamli xromatografiya (HPLC/UPLC), kapillyar elektroforez (CE) va tandem mass-spektrometriya (LC-MS/MS) kabi yuqori aniqlikdagi analitik metodlarni qo'llash hamda ushbu usullarni ICH Q2(R1) ko'rsatmalari bo'yicha qat'iy validatsiyadan o'tkazish sifat nazoratining asosi hisoblanadi. Xulosa qilib aytganda, biofarmatsevtika sanoatida sifatni ta'minlash faqatgina tayyor mahsulotni sinash bilan cheklanib qolmasdan, ICH Q6B va GMP standartlari hamda PAT (*Process Analytical Technology*) va QbD (*Quality by Design*) konsepsiyalari asosida biosintez va tozalash bosqichlarining o'zida real vaqt rejimida nazorat qilishni yo'lga qo'yishni talab etadi. Ushbu tizimli yondashuv biologik va biotexnologik dori vositalarining yuqori sofliqi, xavfsizligi hamda biologik faolligini to'liq kafolatlash va zamonaviy tibbiyot amaliyotiga samarali hamda xavfsiz preparatlarni taqdim etish imkonini beradi.

Foydalanilgan adabiyotlar:

1. **ICH Q6B Guidelines: Specifications: Test Procedures and Acceptance Criteria for Biotechnological/Biological Products.** International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH), 1999.
2. **ICH Q2(R1) Guidelines: Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology.** International Council for Harmonisation (ICH), 2005.
3. **ICH Q5A (R1) & Q5D Guidelines: Viral Safety Evaluation of Biotechnology Products Derived from Cell Lines & Derivation and Characterisation of Cell Substrates Used for Production of Biotechnological/Biological Products.** ICH, 1999.
4. **European Pharmacopoeia (Ph. Eur.):** 11th Edition. European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare (EDQM), Council of Europe, Strasbourg, 2023.
5. **United States Pharmacopeia and National Formulary (USP 46–NF 41):** Chapter <1043> *Ancillary Materials for Cell, Gene, and Tissue-Engineered Products* & Chapter <1058> *Analytical Instrument Qualification*. Rockvill, MD, 2023.
6. **Walsh, G.** *Biopharmaceuticals: Biochemistry and Biotechnology.* 2nd Edition. Wiley-Blackwell, 2014. — 520 p.
7. **Jameel, F., & Hershenson, S. (Eds.).** *Formulation and Process Development Strategies for Manufacturing Biopharmaceuticals.* John Wiley & Sons, 2010. — 888 p.
8. **Rathore, A. S., & Mhatre, R. (Eds.).** *Quality by Design for Biopharmaceuticals: Principles and Case Studies.* John Wiley & Sons, 2009. — 368 p.
9. **Kromidas, S. (Ed.).** *HPLC Method Development for Pharmaceuticals.* Academic Press, 2019. — 450 p.
10. **O‘zbekiston Respublikasi Davlat Farmakopeyasi (I jild).** Toshkent: O‘zbekiston Respublikasi Sog‘liqni saqlash vazirligi, Farmatsevtika tarmog‘ini rivojlantirish agentligi, 2021. — 640 b.