**Разработка и валидация методики пептидного картирования рекомбинантного моноклонального антитела инфликсимаб**

***Кочерженко А.М.,1Мартынов Л.Ю.1***

*Студент, 2 курс магистратуры*

*1 “РТУ МИРЭА – Российский технологический университет”*

*Институт тонких химический технологий имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия*

*E-mail: kocherzhenko-an@mail.ru*

Применение моноклональных терапевтических антител является инновационным подходом к лечению различных заболеваний, таких как рак, аутоиммунные и инфекционные заболевания. Эти препараты действуют путем связывания со специфическими молекулами на поверхности клеток (антигенами) и блокирования их активности или предотвращения взаимодействия с другими клетками. Моноклональные антитела могут применяться как самостоятельный метод лечения, так и в сочетании с другими видами терапий, такими как химио- и радиотерапия [1].

Согласно требованиям нормативной документации лекарственные препараты на основе рекомбинантных белков должны быть охарактеризованы по показателю “Идентификация”. Одним из таких методов является пептидное картирование, которое позволяет подтвердить первичную структуру белковых молекул, определить возможные изменения первичной структуры, оценить воспроизводимость технологического процесса получения активной фармацевтической субстанции и генетическую стабильность продуцента. Принцип метода заключается в химическом или ферментативном расщеплении белков до образования пептидных фрагментов с последующим их разделением и идентификацией. Составление пептидных карт может рассматриваться как метод «отпечатков пальцев» белка.

Инфликсимаб - химерное рекомбинантное моноклональное антитело, состоящее на 75% из человеческой и на 25% из мышиной последовательности, которое специфически связывает растворимый и мембраносвязанный ФНОα. Препарат применяется при лечении ряда заболеваний, включая ревматоидный артрит, псориаз, анкилозирующий спондилит [2]. Согласно данным государственного реестра лекарственных средств в России зарегистрировано три лекарственных препарата на основе моноклонального антитела инфликсимаб.

В соответствии с требованиями ГФ РФ XV ОФС.1.7.2.0035.18 «Пептидное картирование» проведена разработка и валидация методики пептидного картирования рекомбинантного моноклонального антитела инфликсимаб. Подобраны условия пробоподготовки белка, которые включают этапы выделения и очистки, а также избирательного расщепления пептидных связей. Оценена полнота гидролиза белка при предлагаемых условиях расщепления методом электрофореза в полиакриламидном геле. Разделение полученных в результате ферментативного гидролиза пептидных фрагментов выполняли методом обращенно-фазовой хроматографии с диодноматричным детектированием. Расшифровка хротомаграфических пиков выполнялась с использованием ВЭЖХ с масс-спектрометрическим детектором. Валидационные испытания методики были выполенены в соответствии с требованиями ГФ РФ XV ОФС.1.1.0012 «Валидация аналитических методик». Разработанная методика может быть использована для проведения анализа рекомбинантного моноклонального антитела инфликсимаб по показателю качества “Идентификация”.

**Литература**

1. Wang X., An Z. Molecular and functional analysis of monoclonal antibodies in support of biologics development // Protein & cell. 2018. Vol. 9(1). P. 74-85.
2. Marzo, M., Felice, C., Rapaccini, G. L., et. al. Infliximab: A Review of Its Use in the Treatment of Inflammatory Bowel Disease // Clinical Medicine Insights: Therapeutics. 2011. Vol. 3. P. 15-29.