

Питання якості біологічних/біотехнологічних лікарських засобів та імуногенності

ГЕРАСИМЧУК ТАЇСА ВОЛОДИМИРІВНА

ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО «ДЕРЖАВНИЙ ЕКСПЕРТНИЙ ЦЕНТР
МОЗ УКРАЇНИ»

Зміст презентації

1. Визначення біологічних, біотехнологічних препаратів, біосимілярів;
2. Інформація про джерела отримання біотехнологічних лікарських засобів;

3. Законодавчі аспекти в ЄС (Україні) щодо біосимілярів.
4. Імуногенність біологічних/біотехнологічних лікарських засобів. Керівництва та настанови з питань імуногенності. Деякі положення керівництв EMEA/CHMP/BWP/14327/2006. rev.1 “Guideline on Immunogenicity assessment of biotechnology-derived therapeutic proteins-24.09.2015”; EMEA/CHMP/BMWP/86289/2010 “Guideline on Immunogenicity assessment of monoclonal antibodies intended for in vivo clinical use, 24 May 2012” / Настанова СТ-Н МОЗУ 42-7.3:2015;
5. Джерела можливої імуногенності біотехнологічних препаратів. Фактори, що стосуються якості препаратів.
6. Властивості та особливості протеїнів: фізичні, хімічні, структурні.
7. Висновки

Біофармацевтичні /біотерапевтичні лікарські засоби

- ❖ Це ЛЗ, діючі речовини яких виробляються живими системами за допомогою біотехнології та використовуються для терапевтичних цілей і діагностики *in vivo*.
- ❖ Вони включають: пептиди, протеїни, антитіла, олігонуклеотиди і похідні нуклеїнових кислот, препарати ДНК.
- ❖ Біотехнологічні препарати – є підкатегорією більш широкої категорії біологічних препаратів.

Механізм дії фармацевтичних ліків

Мишенями для більшості синтетичних /хімічних ЛЗ є протеїни; у звичайному рецепторі протеїни розміщені на поверхні клітини або всередині у вигляді каталічних протеїнів – ензимів. Ціль заключається в тому, щоб понизити або збільшити активність протеїну і як наслідок змінити фізіологічний процес, який викликає хворобу або хворобливий стан.

Так як ці протеїни різні і знаходяться в різних місцях клітин, кожний новий ЛЗ повинен бути розроблений з нуля. Крім того, інтерференція з активністю протеїну не в цільовому розташуванні може викликати побічні реакції. Такі ЛЗ також не повністю селективні, так, як можуть зв'язуватися з подібними, але не цільовими протеїнами, що також приводить до ПР.

Приклади механізму дії БФ/БТП

- ▣ Деякі хвороби виникають із-за того, що дефектні гени не продукують правильний протеїн або не продукують його у достатній кількості для задоволення потреб організму. Пр-дом є інсулін для лікування діабету і фактор звернення крові при гемофілії.
- ▣ Інші хвороби є наслідком того, що продукування деяких протеїнів занадто високе. Н-д, при 25 % раку молочної залози на поверхні ракових клітин різко підвищується присутність рецепторного протеїну.
 - В результаті клітини сильніше сприймають сигнали росту і продовжують ділитися. При використанні *антитіла* (тип протеїну) для блокування таких рецепторів і попередження їх від отримання сигналів росту клітин і, як наслідок, заторможення росту клітин.
 - Крім того, зв'язування антитіла з рецептором стимулює деякі імунні клітини вбивати клітини пухлини. Таким чином, використання терапевтичних протеїнів або антитіл в якості ЛЗ представляє **більш специфічну і пряму форму терапії.**

Терапевтичні антитіла

- точно націлені біотехнологічні ліки, які розпізнають і зв'язуються з поверхневим антигеном і викликають біологічний відгук. Терапевтичне антитіло може саме бути ЛЗ або може бути носієм сильного ЛЗ. Після зв'язування з антигеном терапевтичне антитіло може виконувати декілька функцій:
 - Активувати рецептори на клітинній мембрані і змінити функцію клітини.
 - Блокувати ріст пухлини.
 - Спровокувати імунну систему організму на атаку даної клітини
 - Сенсibilізувати клітину пухлини до хіміотерапії.

Проблеми, які супроводжують впровадження БТ/БС процес лікування

Майбутнє медицини – це застосування біотехнологій для створення за їх допомогою нових ЛЗ, які вибірково діють на патологічні процеси в організмі при цілій низці тяжких захворювань, які раніше були невиліковними.

Однак з появою нових біотехнологічних препаратів виникла і низка проблем таких як: економічна складова- висока вартість ЛЗ, тривалість лікування та висока вартість лікування як для пацієнта так іноді і для держави,

правова складова – патентний захист,

зниження вартості препаратів – заміна високоподібними копіями біосимілярів (приблизно на 35-37% ціна нижче оригінальних ЛЗ),

питання безпеки - імуногенність

БІОФАРМАЦЕВТИЧНІ ПРЕПАРАТИ (БФ)

Отримані з живих організмів за допомогою біотехнології

БФ оригінатор

Використовується як референтний препарат для розробки Біосимілярів (БС)



Біосиміляр

Може бути доступний від виробника, відмінного від компанії оригінатора після закінчення патентного захисту/захисту даних

Визначення біосиміляру

- Європейське агенство лікарських засобах (EMA): «біосиміляр – це біологічний лікарський препарат, який містить **версію активної речовини вже зареєстрованого оригінального біологічного лікарського препарату (референтного лікарського препарату)**. За результатами всебічних досліджень порівнянності, **біосиміляр демонструє подібність референтному лікарському препарату за параметрами якості, біологічної активності, безпеки і ефективності**. (EMA, Guideline on similar biological medicinal products, 2014)
- Всесвітня організація охорони здоров'я (ВООЗ): подібний біотерапевтичний препарат (ПБТП) як біотерапевтичний препарат, який **подібний щодо якості, безпеки і ефективності вже ліцензованому референтному біотерапевтичному препарату**. (ВООЗ, Guidelines on Evaluation of Similar Biotherapeutic Products (SBPs), 2009)
- Управління США по контролю за якістю харчових продуктів і лікарських засобів (US FDA) характеризує біосиміляр як «біологічний препарат, який **має високу ступінь подібності референтному препарату, незважаючи на незначні відмінності у відношенні клінічно неактивних компонентів, який не має клінічно значимих відмінностей від референтного препарату щодо безпеки, чистоти і активності**». (Section 7002(b)(3) of the Affordable Care Act, adding section 351(i)(2) of the PHS Act).

Законодавчі аспекти в ЄС

- ▣ Термін БС взятий із Законодавства ЄС, 2003
- БС реєструються в ЄС на основі Централізованої Процедури (ЕМЕА).
- Законодавство ЄС і всі Керівництва направлені на те, щоб гарантувати якість, безпеку і ефективність БС і по можливості уникнути зайвих клінічних досліджень (керівництво по відтворених біологічних лікарських засобах CHMP/437/04, rev 1 - “Guideline on Similar Biological Medicinal Products” CHMP/437/04, rev 1, яке встановлює принципи, прийнятні для біосимілярів).
- Поетапна розробка на основі досліджень подібності
- ЕМЕА/CPMP/BWP/247713/2012 – СТ-Н МОЗУ 42-8.0:2013 Керівництво з подібних біологічних лікарських препаратів, що містять білки, які отримані шляхом біотехнологій, як активні речовини: питання якості

Що необхідно знати для розуміння БС

- технологію і науку, що лежить в основі БС, Особливості виробництва і регуляції, а також:
-
- термінологія
 - якість, безпека і ефективність
 - Подібність з оригінальним препаратом
 - Доклінічні і клінічні дослідження
 - фармаконагляд
 - **іммуногенність**
 - доступність
 - ідентифікація і прослідкованність
 - взаємозамінність і заміна

Деякі положення керівництва - ЕМЕА/СРМР/ВВР/247713/2012 :

- Для реєстрації біосимілярів необхідно надавати **повне досьє з якості (Модуль 3 СТД)**, яке має супроводжуватися **відповідними даними**, що підтверджують їх порівнянність з **референтним препаратом**.
- Заявники повинні враховувати, що дані порівняння біосимілярів з референтним лікарським препаратом **є додатковим елементом** стандартних вимог до досьє з якості, та розглядаються окремо від даних, представлених у Модулі 3.
- Біосиміляр повинен вироблятися та контролюватися у відповідності з **власною розробкою**

Основні принципи реєстрації БС

Подібні біологічні препарати не являються генеричними лікарськими засобами і більшість підходів до реєстрації і застосуванню генеричних ЛЗ в даному випадку не прийнятні



Поетапний підхід

- Демонстрація подібності біосиміляру референтному біологічному препарату у відношенні якості є обов'язковою умовою для зменшення об'єму доклінічних і клінічних даних, які необхідні для реєстрації

Генерик/Біосиміляр

Для **генерика** – термін застосовується ідентичний, аналогічний, копія до оригінального референтного препарату, тобто мають однакову ефективність та безпеку.

Біосиміляри - подібні, біоподібні оригінальному, референтному препарату, оскільки неможливо створити два абсолютно ідентичних банки клітин, які використовуються для отримання активної речовини, та з точністю повторити тривалий і складний процес виробництва. Причина неабсолютної ідентичності полягає у значних відмінностях самих організмів, на які фіксується цільовий протеїн, а також у методах їх отримання, очистки або у способах глікозилування.

Всі дослідження для доведення біоподібності проводяться поетапно – якість, безпека, ефективність у порівняльних дослідженнях з референтним оригінальним препаратом з дизайном “head to head”, а не “per se”.

Біосиміляри

Активна речовина біосиміляру, на відміну від хімічно синтезованих молекул, не ідентична, а подібна до активної речовини біотехнологічного походження оригінального препарату.

Причини не ідентичності полягають в значних відмінностях живої експресуючої системи, на яку фіксується цільовий протеїн, в методах їх отримання (up stream), очистки (down stream) та у способах їх глікозилування (посттрансляційні модифікації).

Всі вказані чинники впливають на фармакокінетику, ефективність та імуногенність біотехнологічних препаратів.

Біосиміляри

Біологічний/біотерапевтичний препарат нерозривно пов'язаний з його специфічним виробничим процесом, оскільки навіть незначні зміни в їх виробничому процесі можуть привести до значних змін їх властивостей, зокрема пов'язаних з їх багатовимірною структурою молекул, амінокислотною послідовністю і посттрансляційними модифікаціями, продукт-зв'язаними речовинами, продукт-зв'язаними домішками, процес-зв'язаними домішками.

БФ/БС - Парадигма процесу виробництва

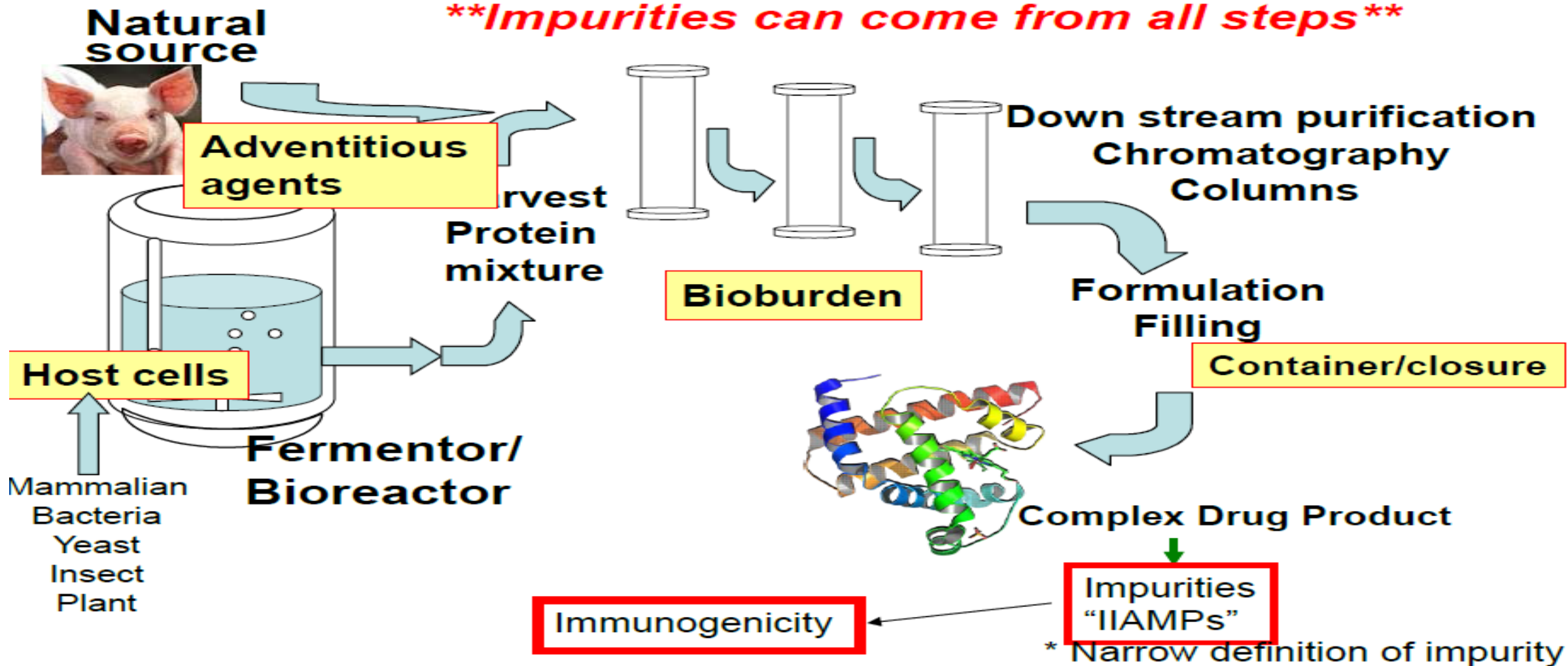
Біотехнологічні препарати (оригінальні) – є продуктом виробничого процесу, його розробки, стандартизації, доклінічного та клінічного вивчення ефективності, безпеки.

Біосиміляри (біологічно подібні препарати) – є продуктом власного виробничого процесу з використанням наукової інформації щодо діючої речовини оригінального/референтного препарату та не менше 10 років досвіду застосування РП: -наявна можливість експериментально вивчити зразки оригінального БТ; -вивчити наукову літературу щодо діючої речовини оригінального БТ, коротку характеристику оригінального ЛЗ.

БС має свій власний незалежний технологічний процес.

Biotechnology Process

****Impurities can come from all steps****



Критичні точки в технологічному процесі

- Система експресії – клітини тварин, бактерії, дріжджі, комахи або клітини рослин, та ін.
- Культура клітин / ферментація / генетична стабільність: серія або безперервне виробництво
- Ланцюжок ДНК / транскрипція
- Виділення і очищення діючої речовини
- Характеризація отриманого в результаті білка + глікозилування або інші модифікації
- Тестування нерасфасованої діючої (лікарської) речовини
- Композиція готового ЛЗ
- Тестування готового препарату (лікарський засіб)
- Незначні зміни у процесі виробництва можуть мати великий вплив на клінічну дію лікарського засобу (ICH Q5E). Послідовність у виробництві має важливе значення.

Охарактеризування препарату

- Означає значно **більше**, ніж просто рутинні тести по контролю якості
- Передбачається, що **ряд** параметрів буде підданий оцінці за допомогою різних методів, **а не тільки одного методу**
- Первинна структура білку, вторинна/ третинна/вищого порядку, **глікозилювання, фосфорилування**, окиснення, та інш.
- Домішки, які мають відношення до препарату або клітин організму господаря/носія (включаючи залишкову ДНК; **валідація вірусної безпеки**)
- Біологічна активність
- Композиція ЛЗ і стабільність
- Специфікація випуску серії- комплекс тестів для охарактеризування лікарського засобу; набір специфікацій

КОМПОЗИЦІЇ БФ/БТП/БС, ВЛАСТИВОСТІ, СТАБІЛЬНІСТЬ

Лікарська форма (композиція) біотехнологічних ліків

- ❑ Біотехнологічні ліки (в тч. БС) (протеїни) майже завжди повинні бути у вигляді водних розчинів для збереження структури протеїну.
- ❑ Для концентрування протеїну із ферментаційного середовища, в якому його концентрація звичайно набагато нижча ніж терапевтична, використовують різні методи хроматографування, ліофілізації, діалізу і осадження або спецфільтрації. Всі ці методи потенційно можуть впливати на стабільність протеїну як діючу речовину/ЛЗ.

Продовження: властивості

- ▣ Для біологічної активності, протеїни/білки повинні зберігати не тільки первинну структуру, а також вторинну, третинну і четвертинну (вищого порядку).
- ▣ Активний паттерн структури сильно залежить від оточуючого середовища навколо молекули (розчинник/буфер, рН, температура та інш.).
- ▣ Це обмежує вибір лікарських форм простими забуференими розчинами. Правильна формуляція повинна допомогти в збереженні протеїну в його природній формі, попередити агрегацію, окислення і забезпечити стабільність у всіх відношеннях.

Стабільність Біотерапевтичних Продуктів

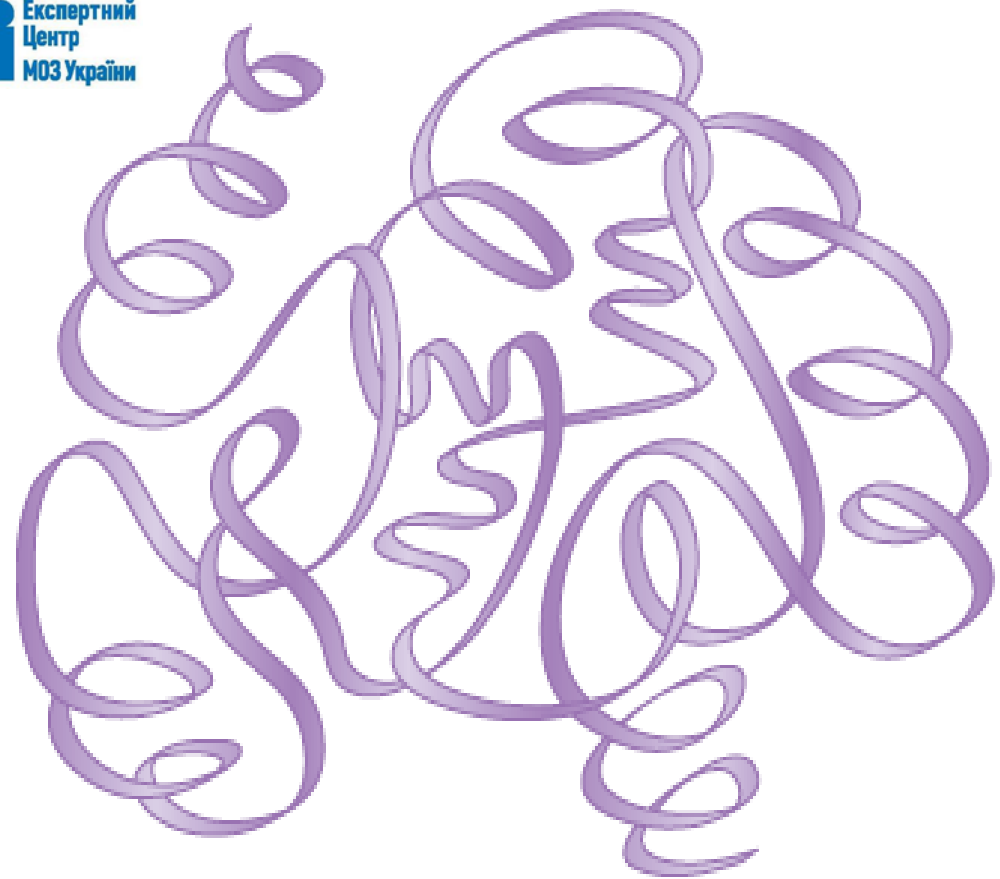
- ❑ Як **фізична так і хімічна нестабільність** може викликати втрату біологічним препаратом його активності і створювати потенціал для токсичності та імуногенності.
- ❑ Нестабільність може мати місце при виробництві, на стадії очистки, формуляції або зберігання, а також при роботі з препаратом в **процесі підготовки його до інжекування**.
- ❑ Втрата або зміни протеїну не завжди можуть бути віддетектовані лабораторними вимірюваннями, тому для біотехнологічних препаратів є критичним **суворий контроль процесу** (технології і її виконання), а також **зберігання і підготовка до застосування**.

Продовження: властивості

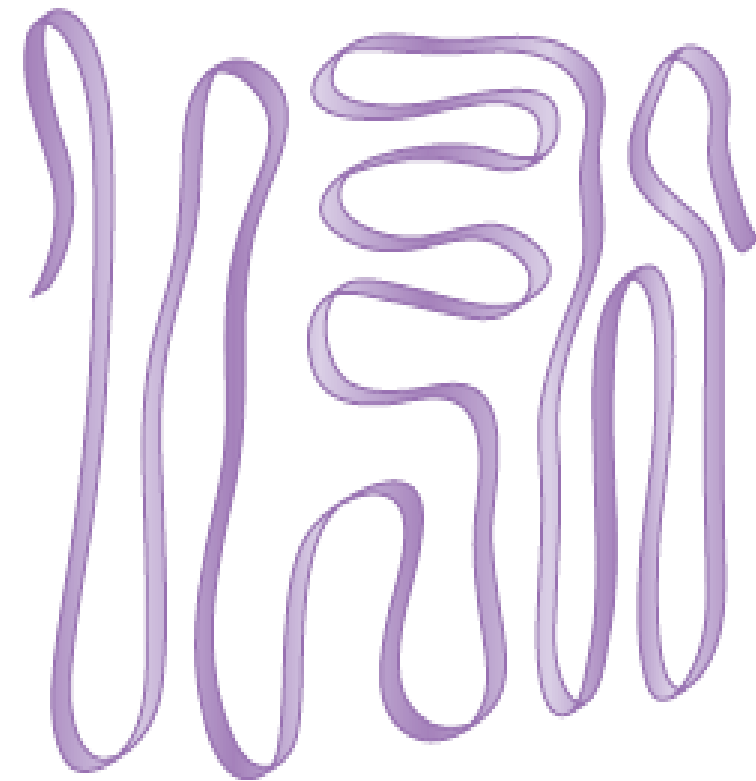
- ▣ Первинна структура протеїну визначається пептидним ланцюжком, який піддається **деградації і розчепленню хімічними реакціями – хімічна нестабільність**.
- ▣ Ковалентні (пептидні) зв'язки можуть бути розчеплені впливом гідролізу *in vitro* або *in vivo* і протеїн буде розчеплений на декілька інших молекул. Інші реакції: **окислення, деамідування, іноді, ізомеризація**.
- ▣ Цей тип проблем з хімічною стабільністю подібний тим, які зустрічаються для малих молекул з амідними або складно-ефірними зв'язками і **можуть бути мінімізовані правильним вибором рН і буферу**.

Продовження: властивості

- ❑ *Фізична нестабільність* – для протеїнів дуже важлива властивість
- ❑ **Денатурація** – визначається як **модифікація вторинної, третинної або четвертинної структури молекули протеїну**. Це процес, при якому руйнуються водневі зв'язки, гідрофобні взаємодії і солеві зв'язки, і протеїн переходить із своєї природної складчастої форми в **нескладчастий ланцюжок без специфічної тривимірної структури**. Із-за того, що реакції денатурації не достатньо сильні, щоб зруйнувати пептидні зв'язки, первинна структура залишається незмінною.



Folded protein



Denatured protein

Figure 18.9. Denaturation of a protein. The active, folded protein can be denatured to yield a partially or completely unfolded structure.

Особливості протеїнів:

- ▣ Фізична нестабільність може бути мінімізована за допомогою використання відповідних **допоміжних речовин** (солі, цукри, амінокислоти і гліцерин), які захищають молекулу.
- ▣ Деякі протеїни денатурируються і осаджуються коли **розчини перемішуються або збовтуються із-за виникнення бульбашок повітря і адсорбції молекул протеїну на поверхні розподілу, де вони можуть піддаватися конформаційним змінам.**
- ▣ **Перемішування** розчину протеїну **слід уникати** як при виготовленні, так і при транспортуванні і використанні. **Агрегація** часто збільшується при більш **високих температурах.**
- ▣ Тому, препарати на основі протеїнів слід транспортувати і зберігати в холодильнику, що збільшує вартість препарату.

Продовження

- ▣ Хімічна і фізична нестабільність знижує концентрацію нативного протеїну (активного протеїну) як функція часу.
- ▣ Наприклад, інсулін швидко агрегує і втрачає активність, коли зберігається при температурах вище температури холодильника.
- ▣ Крім того, **продукти деградації можуть викликати серйозні негативні реакції через їх імуногенний потенціал.**

Імуногенність БТ ЛЗ/БС

- це одна з особливостей терапевтичних протеїнів і стосується здатності спричиняти небажані імунні реакції та їх клінічні наслідки.

Прояви імуногенності можуть бути:

Генералізована імунна реакція- у вигляді реакцій гіперчутливості будь-якого ступеня тяжкості та локалізації (висипання, кропив'янка, ангіоневротичний набряк, анафілактичний шок тощо),

Нейтралізація екзогенного протеїну- у вигляді відсутності або зниження терапевтичної ефективності ЛЗ (н-д, тяжка тромбоцитопенія при утворенні антитіл до гранулоцитарного колонієстимулюючого фактора, еритроцитарна аплазія при утворенні антитіл до екзогенного еритропоєтину, втрата ефективності інтерферону альфа-2 при гепатиті)

Нейтралізація ендogenous (власного протеїну) –у вигляді пригнічення чи припинення функцій певних органів або систем (н-д, істинна еритроцитарна аплазія як результат утворення антитіл до ендogenous еритропоєтину на тлі застосування препарату р-еритропоєтину).

EMA/CHMP/BWP/14327/2006. rev.1 “Guideline on Immunogenicity assessment of biotechnology-derived therapeutic proteins-24.09.2015”

містить рекомендації щодо виявлення потенційних причин виникнення імуногенності та усунення її наслідків, а також загальні вказівки щодо проведення систематичної оцінки імуногенності зареєстрованих біотехнологічних препаратів.

Фактори, які можуть вплинути на розвиток імунної відповіді до терапевтичного протеїну:

Фактори, пов'язані з пацієнтом та хворобою:

генетичні фактори, що модулюють імунну відповідь; генетичні фактори, пов'язані з генним дефектом;

фактори, пов'язані з віком пацієнта; фактори, пов'язані з хворобою;

супутня терапія; фактори, пов'язані з позологією;

попередньо існуючі антитіла;

Структура протеїну та імунологічна толерантність

Біотехнологічні аналоги ендогенних протеїнів людини можуть бути причиною розвитку імунної відповіді через зміни в: _____

Молекулярній структурі:

- зміни в первинній амінокислотній послідовності
- агрегати
- зміни у структурі протеїну, що виникли в результаті посттрансляційних модифікацій; нелюдські глікоформи; модифікація амінокислот;
- інших змін на усіх виробничих етапах отримання активної речовини
- виробничого процесу готового препарату
- зберігання
- застосування

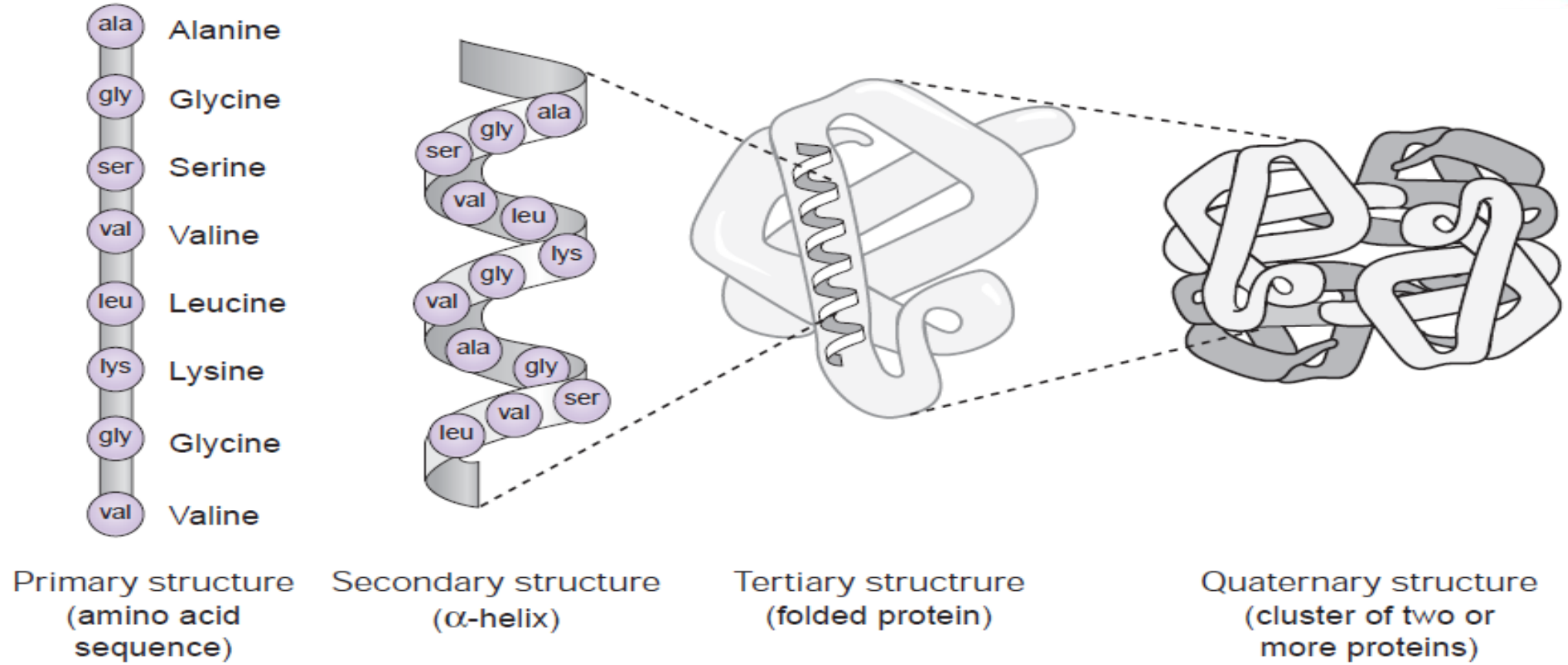


Figure 18.3. Level of structure of proteins. Amino acids linked by peptide bonds form the chain of the primary structure. Secondary structure results from interactions (mainly hydrogen bonding) between the side chains of the amino acid residues in the chain. The side chains of the amino acids interact further via hydrogen bonds or disulfide bonds to fold the protein into its three-dimensional tertiary structure that is compatible with the environment. The quaternary structure arises as a result of association of two or more protein molecules to form a complex.

Структура протеїну та імунологічна толерантність

Наявність або відсутність вуглеводних залишків в їх структурі може мати як прямий так і непрямий вплив на імуногенність ТП;

Полісахарид може сам індукувати імунну відповідь (н-д, **полісахариди нелюдського походження**) або його присутність може вплинути на конформацію протеїну таким чином, що протеїн стає імуногенним.

Хімічно модифіковані протеїни вважаються новими терапевтичними речовинами, які здатні індукувати імунні реакції – н-д, виробляються антитіла, індуковані спеціально проти ПЕГ-частини пегільованих ТП, включаючи попередньо існуючі антитіла проти ПЕГ.

У випадках, коли модифікацією – пегілюванням, глікозилюванням прикриваються імуногенні епітопи ТП за умови збереження нативної конформації протеїну, це може привести до зменшення імуногенності.

Гібридні/хімерні протеїни можуть містити нео-епітопи через введення чужорідних пептидних послідовностей у зв'язках/гібридних переходах – чужорідна частка може сформувати імунну відповідь на власний протеїн

Властивості терапевтичних протеїнів: Глікозилювання протеїнів

- ▣ Більшість ендогенних протеїнів піддаються пострасляційній модифікації, в результаті якої вуглеводи приєднуються до протеїну (глікозилювання) з утворенням глікопротеїну (Мал.).
- ▣ **Правильне глікозилювання дуже важливе для фізико-хімічної і біологічної поведінки терапевтичного протеїну – ЛЗ, як видно із Таблиці .**

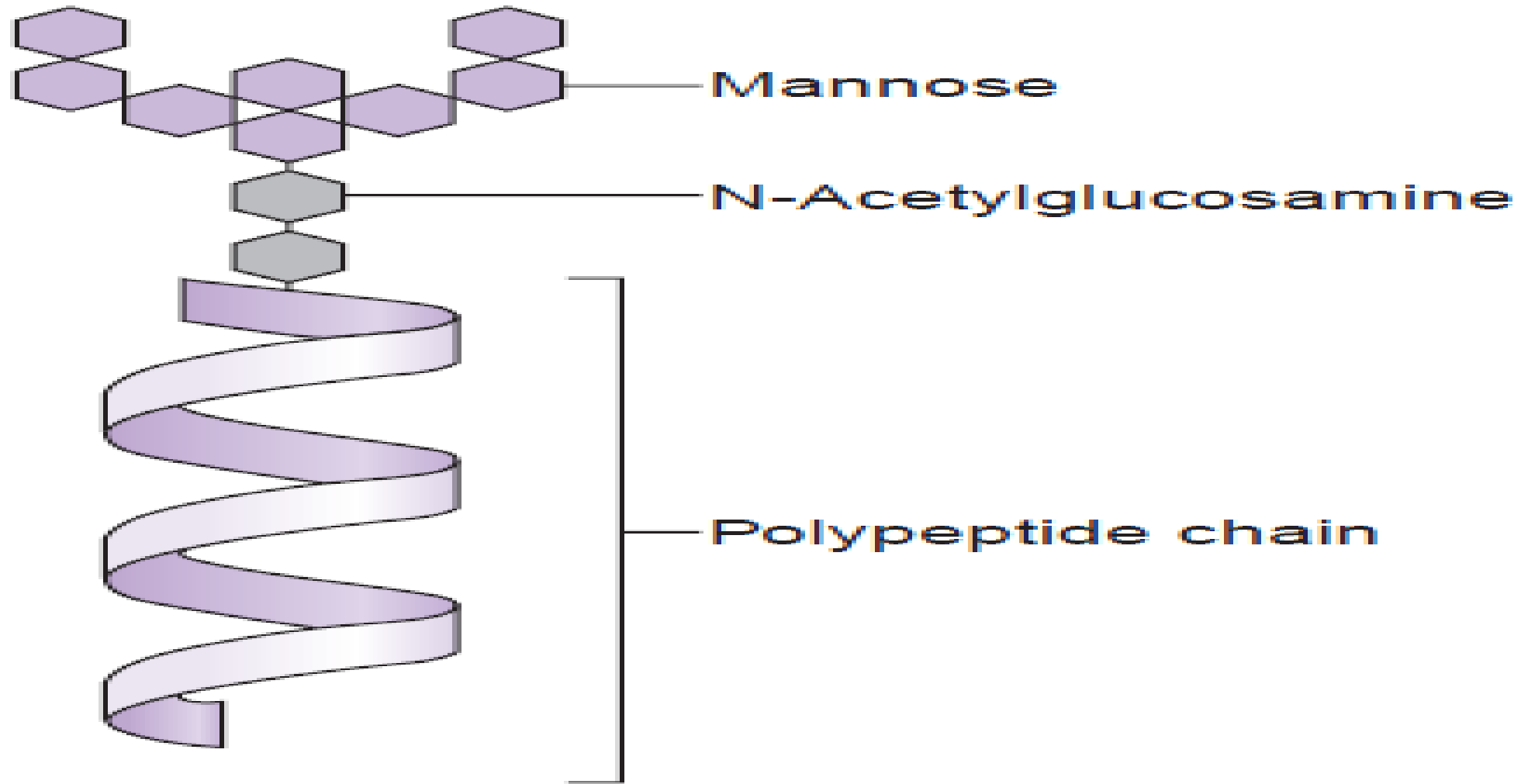


Figure 18.4. Illustration of a typical glycoprotein, with a carbohydrate (mannose) covalently bonded to the protein by N-acetylglucosamine

TABLE 18.2. Physicochemical and Biological Properties That Are Changed When a Protein Undergoes Glycosylation or Other Posttranslational Modification

Physicochemical Properties

Solubility

Protein folding behavior

Stability of 3D conformation

Susceptibility to hydrolysis

Susceptibility to denaturation

Biological Properties

Immunogenicity

Affinity for, and binding to, target

Interaction with other proteins

Plasma half-life

Localization

Передбачення ймовірної імуногенності

Специфічні атрибути препарату: *Чистота*

1. Процес-супутні варіанти

- протеїни клітин хозьяїна
- ДНК клітин хозьяїна

2. Продукт- зв'язані варіанти при випуску і при стабільності

- усічені форми молекули протеїну
- окислені/деамідовані варіанти
- формування залишків isoAsp
- агрегати
- денатурація протеїну (продукту)

Специфічні атрибути препарату

1. Формуляція готового продукту вибирається з метою підвищення стабільності продукту – належного збереження нативної конформації ТП.

Вибір надійної композиції залежить від розуміння фізичної та хімічної природи активної речовини та допоміжних речовин самих по собі та у комбінації одна з одною та матеріалом первинної упаковки (речовини, що витягуються, домішки з контейнерів та пробок, утворені в процесі їх виробництва).

Склад, джерело походження допоміжної речовини та матеріалу первинної упаковки можуть впливати на імуногенність ТП.

Ці фактори слід враховувати при внесенні змін у композицію/упаковку.

При необхідності розведення інфузійних розчинів та використання інфузійних пристроїв, виготовлених з різних матеріалів можуть вплинути на якість препарату та спричинити негативні ефекти, що сприяють імуногенності.

Проблеми, пов'язані з якістю ЛЗ*

Біосиміляри завжди повинні мати **100% ідентичну амінокислотну послідовність** як у оригінального/РП.

Пост-трансляційна модифікація повинна бути в межах діапазону, продемонстрованого для РП.

Зазначення біоподібності/biosimilarity повинне ґрунтуватися **на дуже суворій демонстрації порівнянності** атрибутів якості препарату з врахуванням перемінних, які можуть вплинути на небажану імуногенність.

З т.з. імуногенності, вимога **100% ідентичності амінокислотної послідовності** вказує, що кандидат в БС містить одні і ті ж епітопи як в референтного препарату

Відмінності в імуногенному потенціалі м.б. Зв'язані з відмінностями в:

- конформаційній структурі, н-д, мультамери або агрегати терапевтичного білку, які здібні стимулювати імунні ефекторні клітини безпосередньо.
- посттрансляційне гілкозилювання або пегілювання, включаючи структури, які можуть бути визнані раніше існуючими антитілами у сенсibiliзованих осіб
- домішки, пов'язані з процесом, н-д, залишкові білки E.coli, або дріжжовий бета-глюкан або ВЕ, які можуть стимулювати вроджені імунні клітини для зміни адаптивного імунного відгуку на ТП.

Специфічні атрибути препарату

3. Домішки

- Протеїни клітини-хозяїна, які пройшли очистку спільно з активною речовиною, ліпіди або ДНК з клітини-хозяїна, мікробні протеїни, забруднюючі речовини з виробничого процесу. Ризик імуногенності протеїнів клітин-хозяїна залежать від джерела (клітинної лінії) терапевтичного протеїну.

Вказані процес-супутні домішки присутні в активній речовині та готовому препараті, які потенційно можуть бути адьювантами- речовинами, що стимулюють імунну відповідь на антигени та індукувати імунні реакції проти себе, а також проти активної речовини.

Характеристики якості, які впливають на імуногенність

Таблиця 1. Імуногенність: критичні характеристики якості відомі

Характеристика (наприклад)	Коментарій / аналітичний метод (приклади)
Амінокислотна послідовність	Повинні бути ідентичними / ортогональні пептидні карти з секвенуванням за допомогою мас-спектрометрії і тандемної мас-спектрометрії у високій роздільній здатності
Агрегати	Критичний фактор / гель-проникаюча хроматографія (SEC), частота зливання світових мерехтінь (FFF), детектування розсіювання лазерного випромінення с кратними кутами (MALLS), динамічне розсіювання світла, площа під фармакокінетичною кривою (AUC), методи формування зображення, характеристика часток
Фолдинг, дисульфідні мости, вільні цистеїни	Спектроскопія кругового дихроїзма (КД), воднево-дейтерієвий обмін, Фур'є-інфрачервона спектроскопія, рентгеновська спектроскопія, одномірна і двумірна спектрометрія ядерного магнітного резонансу (ЯМР), пептидне мапування
Розклад	Продукти розкладу, які не зустрічаються в організмі, потенційно імуногенні / обернено-фазова високоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ), катіонообмінна хроматографія, гідрофобна хроматографія з використанням папаїну, іонообмінна хроматографія з використанням папаїну, пептидна карта, мас-спектрометрія
Білки клітин-господаря	Допоміжний ефект або комплексоутворення/ імуноферментний аналіз (ІФА), мас-спектрометрія (МС)
Речовини, що вимиваються і екстрагуються	Допоміжний ефект або вплив на фолдинг/ агрегацію, ВЕРХ з застосуванням детекторів з високою чутливістю, мас-спектрометрія
Глікозилування: Galactose-α1,3-Galactose	ВЕРХ з нормальними фазами 2AB-мічених гліканів, зв'язана з мас-спектрометрією з іонізацією електророзпилення, розчеплення під дією екзоглікозидаз, мас-спектрометрія з лазерною іонізацією і десорбцією із рідкої матриці (MALDI TOF/TOF), капілярний гель-електрофорез (CGE), пептидна карта
Глікозилування: N-	ВЕРХ з нормальними фазами, хроматографія на слабких аніонообмінниках, високоефективна аніонообмінна

Інсулін – імуногенність*

Marvel Life Sciences -Заявка на три БС кандидати інсуліну в грудні 2011 р: Solumarv[®] (розчинний швидкодіючий інсулін); Isomarv Medium[®] (середньодіючі ізофан інсуліни); Combimarv[®] (суміш 2-х продуктів, 70% довго діючого ізофан інсуліну + 30 % розчинного інсуліну швидкої дії), які були видізані заявником в 2012 р на основі серйозних проблем, які зауважило ЄМА, а саме:

Відсутність демонстрації подібності атрибутів якості продукту і фармакодинаміки з РП.

Аналіз клінічної безпеки показав більш високу частоту реакцій гіперчутливості у суб'єктів , що отримували БС інсуліну;

Інсуліни Marvel мали більш низьку ефективність протягом періоду лікування 12-24 тижні у порівнянні з версіями РП. При цьому, були доступні недостатні дані, щоб виключити роль підвищеної імуногенності в наданих клінічних досліджень по безпеці та ефективності.

Інсуліни Marvel *

Інсуліни Marvel мали більш високий середній титр антитіл- до-інсуліну на 28 тижднів досліджень.

Агенство відмітило, що відмінності в процесі виробництва препаратів могли б привести до більш високих рівней потенційно-імуногенних домішок. При цьому аналіз специфічності антитіл не була підтверджена для виявлення конкретної домішки.

Крім того, клінічні зразки не були протестовані на наявність антитіл, що реагують з білками клітин-хозяїна.

Аналіз на нейтралізуючі антитіла був заявником застосований, але Агенство не прийняло придатність запропонованого методу для визначення інгібування біологічної активності інсуліну. Надані результати не містили даних 6- місячного вивчення імуногенності перед поданням заяви.

ПУР не був адекватно конкретним у відношенні післяреєстраційного вивчення імуногенності на результат лікування.

Імуногенність еноксапарину та інших НИЗЬКОМОЛЕКУЛЯРНИХ гепаринів*

НМГ – суміш лінійних полісахаридів, які містять змінну кількість хімічно різних дисахаридних будівельних блоків.

НІТ- гепаринова індукована тромбоцитопенія – побічна дія на імунну систему – тромботичний розлад, що викликаний зв'язуванням антитіл з комплексами, які утворюються з гепарином або НМГ з ендогенним хемокіновим тромбоцитарним фактором 4 (PF4, також відомий як хемокіновий ліганд CXС 4 CXCL4). Частота виникнення для гепаринів 1-4 %, НМГ – 0.2-0.4 %.

3 фактори, що впливають на імуногенність:

1)однаковість АФІ, що включає: еквівалентність фізико-хімічних властивостей; еквівалентність вихідної сировини гепарину і способу деполімеризації; еквівалентність в будівельних блоках дисахаридів, мапування фрагментів і послідовність олігосахаридних залишків; еквівалентність в біохімічних і біологічних випробуваннях; еквівалентність фармакодинамічного профілю *in vivo*/

Імуногенність еноксапарину та інших низькомолекулярних гепаринів*

2) домішки в продукті, які можуть впливати на асоціацію НМГ з хемокіном PF4, а також розмір і заряд комплексу, сформованого з PF4;

3) домішки в продукті, які можуть модифікувати визначення, розподіляти і презентувати продукт імунній системі

Всі дослідження для біосимілярів НМГ проводяться у порівнянні з референтним препаратом.

Домішки можуть бути як продукт-супутні так і процес-супутні домішки, які можуть бути відомими (залишкові протеїни, нуклеїнові кислоти і ліпіди) або частково охарактеризованими або неідентифікованими.

Імуногенність еноксапарину та інших низькомолекулярних гепаринів*

Рекомендовані підходи:

- 1) Тестування НМГ, а також нефракціонованого гепарину, як вихідного матеріалу та інших матеріалів на наявність домішок (протеїнів, ліпідів, нуклеїнових кислот);
- 2) Оцінка здатності виробничого процесу видаляти потенційні домішки;
- 3) Охарактеризація кількості і походження домішок продукту в НМГ відносно таких самих домішок в обраному референтному препараті.

*Scientific considerations in the review and approval of generic enoxaparin in the United States/ Sau Leei, Andre Rawland other/

* Immunogenicity-Related Considerations for Low Molecular Weight Heparin. Guidance for Industry, February 2016

Висновки

- ❑ Демонстрування «біоподібності» не являється тривіальним; важливо враховувати навіть **мінімальні розбіжності в СМС** (хімія, виробництво, контроль), зокрема у профілі домішок, і їх можливий вплив на клінічну ефективність і безпеку препарату у порівнянні з РП.
- ❑ Необхідно уважно вибирати **референтний препарат**
- ❑ Дуже важлива взаємодія з регуляторними органами під час розробки (**наукова консультація**), для забезпечення аналітичної порівнянності.
- ❑ Поетапний підхід, прийнятий Європейським агентством по лікарських засобах (і FDA, BOOЗ, ін.), **передбачує аналітичну подібність центральною в парадигмі біоподібності.**

Біосиміляри можуть бути подібними, але не можуть бути ідентичними

В керівництві по біоподібним препаратам ЕМА (CHMP/437/04, rev1 “Guideline on Similar Biological Medicinal Products”) йдеться:

«Слід визнати, що, по визначенню, подібні біологічні лікарські препарати не являються генериками, тому можуть бути незначні відмінності між біосимілярами різних виробників і/або у порівнянні з оригінальним препаратом, і ці відмінності можуть бути не видно до тих пір, поки не з’явиться **тривалий досвід їх застосування**».

Використані джерела

1. BIOTECHNOLOGY AND BIOLOGICAL PREPARATIONS, Ronald P. Evens, Clinical Research, Amgen Inc., Thousand Oaks, California, U.S.

2. European Medicines Agency (EMA)- <http://www.ema.eu.int/>
3. European Commission, Enterprise and Industry – http://ec.europa.eu/enterprise/pharmaceuticals/index_en.htm
4. World Health Organization (WHO) <http://www.who.int/en>
5. European Generics medicines Association (EGA) - <http://www.egagenerics.com>
6. Веб-сайт біологічної стандартизації – <http://www.who.int/biologicals>
7. Методичні рекомендації «Особливості біологічних, біотехнологічних продуктів і біосимілярів» http://www.dec.gov.ua/site/file_uploads/ua/biosimilars/3.pdf

1. Парадигма «подібний, але не аналогічний»: мікрогетерогенність не є специфічною характеристикою для біосимілярів, це нормальна властивість /риса любого біологічного препарату;

2. Отриманий БС і РП в технічному відношенні можуть не бути повністю ідентичними оскільки розробникам БС слід розробити свій власний технологічний процес.

Основні і додаткові дані для демонстрації подібності: порівняльні аналітичні дані складають основу для програми розробки БС і можуть впливати відносно кількості і типу даних тестування на тваринах і клінічних даних, які необхідні для демонстрації подібності.

3. Розуміння критичних характеристик якості: БС повинен мати високу степінь подібності з РП по всіх клінічно значимих якісних характеристиках, які можуть вплинути на клінічний ефект. Це значить, що всі критично значимі характеристики якості (тобто які важливі для функції молекули) повинні бути співставимими.

Резюме

Оцінка аналітичної подібності з використанням сучасних аналітичних методів: використання сучасних біохімічного, біофізичного і біологічного аналізу.

Значимість оцінки залежить від можливостей наявних методів хіміко-аналітичного аналізу

Аналітична подібність і потенційний вплив на екстраполяцію – особливо важливі структурні елементи, які мають значення для імуногенності і механізмів дії при різних показаннях.

Потенційний клінічний ефект характеристик якості на ефективність, ФК, імуногенність (яка є основною причиною для проведення клінічних досліджень), безпека/токсичність: фармакологічна токсичність (біологічна дія).

Дякую за увагу!

Герасимчук Таїса Володимирівна

gerass@dec.gov.ua