

Biológiai gyógyszerek, új készítmények

Szökő Éva
Gyógyszerhatástani Intézet

Biológiai gyógyszer minden olyan termék, melynek hatóanyaga biológiai anyag. Biológiai anyag az az anyag, mely biológiai forrásból készült vagy abból vonták ki, és minőségének meghatározásához a fizikai-kémiai és biológiai módszerek kombinációjára van szükség csakúgy, mint a gyártásához és a gyártás ellenőrzéséhez.” (Directive 2001/83/EC)

Fő típusaik

Vérplazma készítmények

Vakcinák

Heparinok (standard heparin, LMWH-k)

Hormonok, hormon analógok

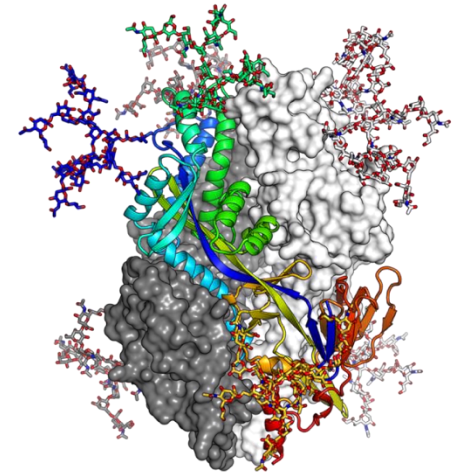
Növekedési faktorok

Monoklonális antitestek, fúziós fehérjék

Sejt- és génterápiás készítmények

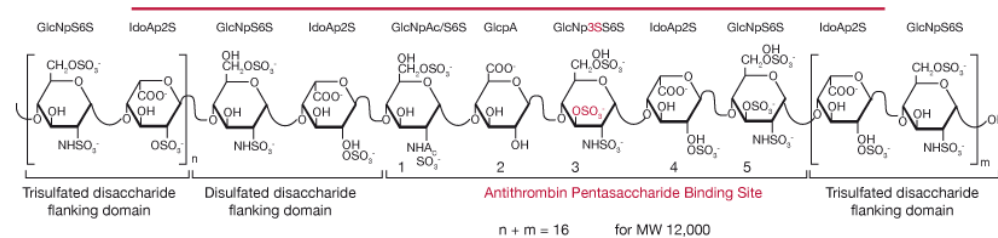
A biológiai készítmények hatóanyagai makromolekulák, többségük fehérje, glikoprotein, polipeptid

Előállításuk döntően rekombináns DNS technológiával történik



Kivétel a heparinok – szulfatált glikozaminoglikán láncok keveréke, sok negatív töltés, polidiszperz keverék

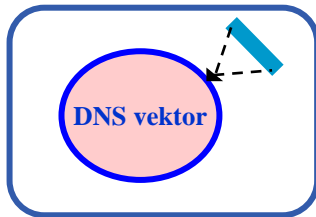
Szöveti extrakció – standard heparin az LMWH-kat a láncok hasításával, frakcionálással állítják elő



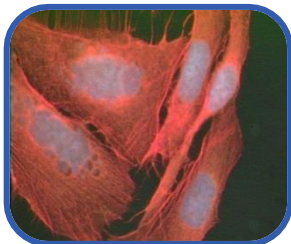
Rekombináns fehérjék

Biotechnológiai módszerekkel baktérium-, élesztő- vagy állati (növényi) sejtenyészetekben termelt polipeptidek, fehérjék, glikoproteinek

a megfelelő gén kiválasztása és klónozása a DNS vektorba



a gén bejuttatása a sejtbe



pl. baktérium, élesztő, emlős sejt



fermentáció

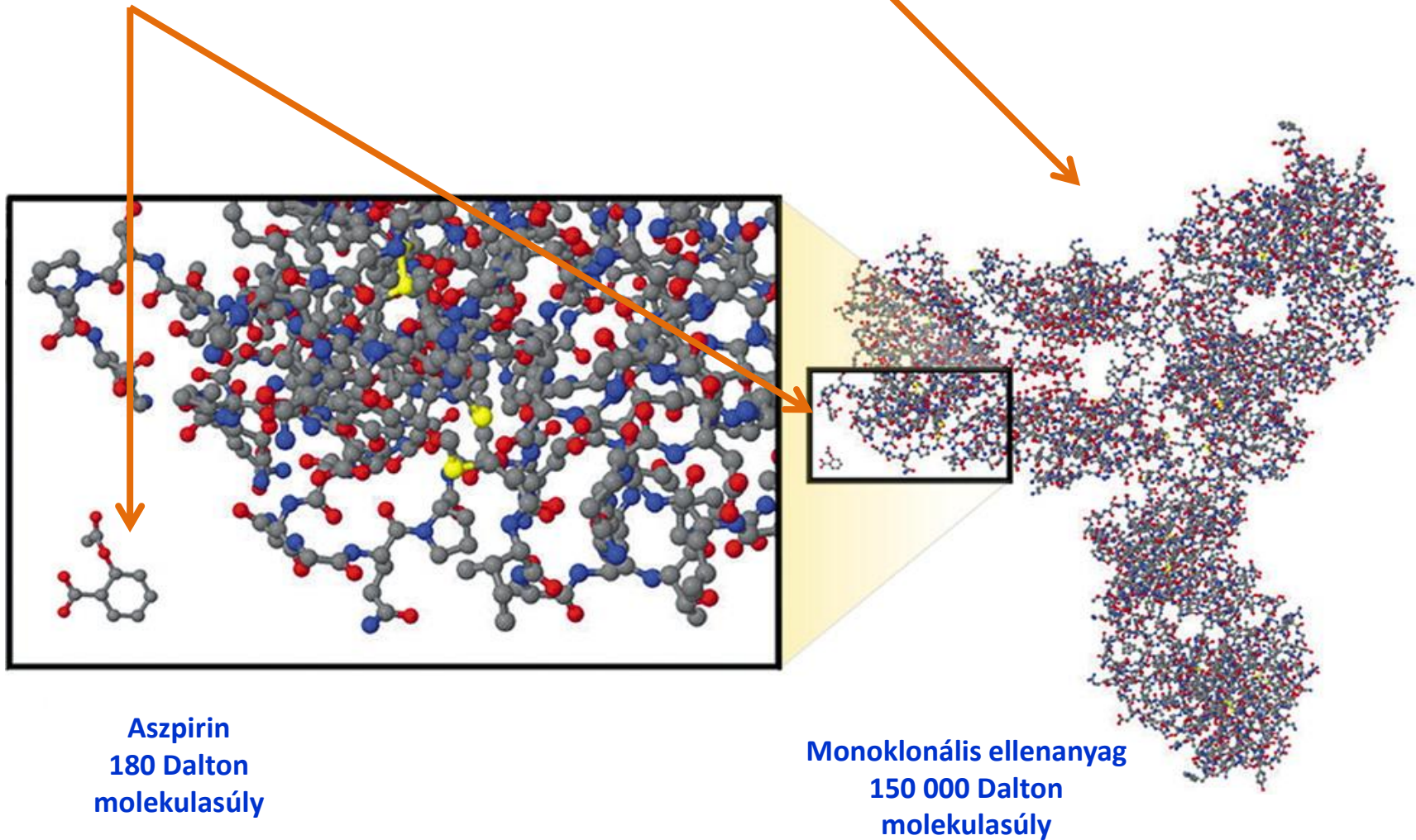


a fehérje kinyerése, tisztítása, kezelése



formulálás

Egy biológiai monoklonális antitest (mAb) és az aszpirin méretének összehasonlítása

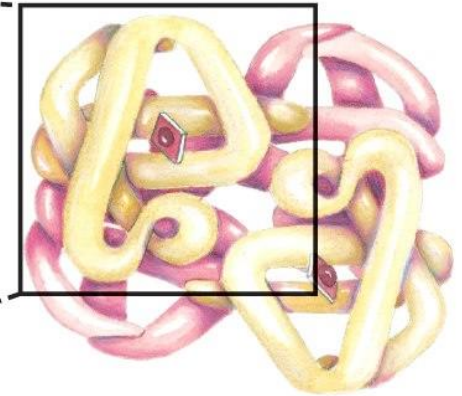
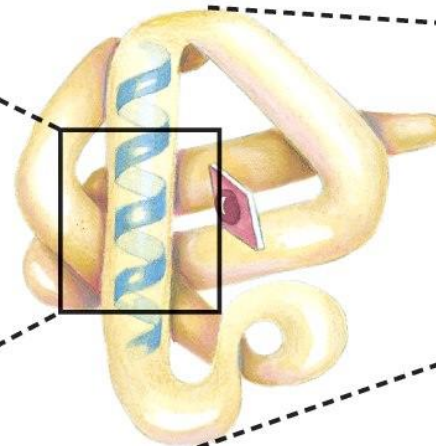
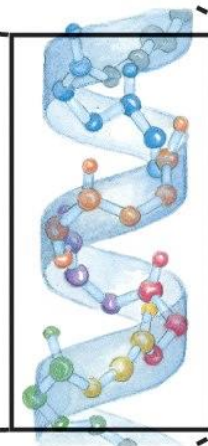
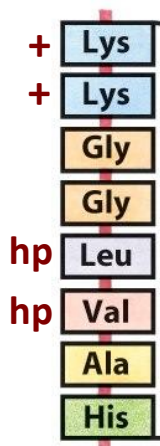


Elsődleges
szerkezet

Másodlagos
szerkezet

Harmadlagos
szerkezet

Negyedleges
szerkezet



aminosav
sorrend

α -hélix
 β -redő

polipeptidlánc
teljes térbeli konformációja

összefűzött
peptid alegységek

Poszt-transzlációs módosulások (pl. glikoziláció)

A gyártási folyamat eredményeként egyedi végső molekulaszerkezet jön létre

A fehérjék lehetséges módosulásai

Biológiai, poszt-transzlációs módosulás

pl. glikoziláció, foszforilálás, metilálás, stb.

Módosulás a gyártás során

pl. oxidáció, deamidáció, proteolízis, aggregáció, stb.

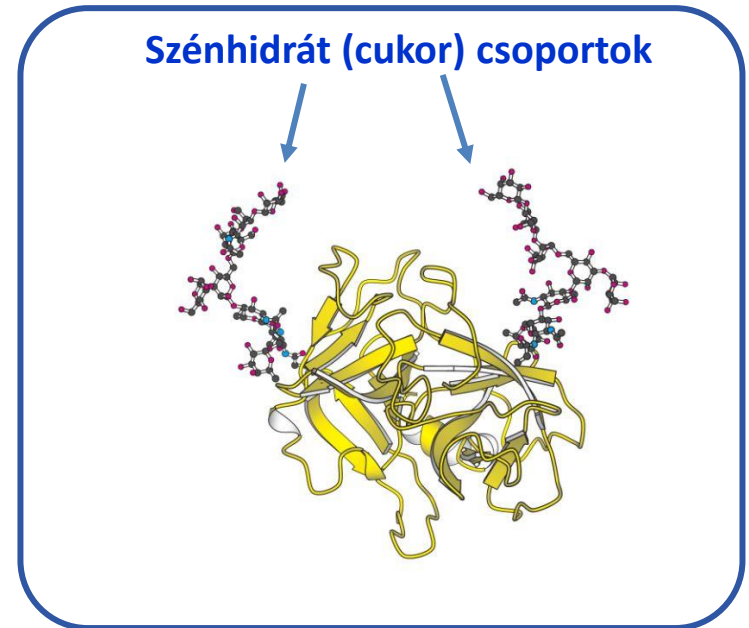
A módosulások befolyásol(hat)ják a térbeli szerkezetet → a kötődést



**a hatástartamot – felezési időt
az immunogenitást
a stabilitást**



**a hatékonyságot
a gyógyszerbiztonságot**



A biológiai hatóanyag előállítása



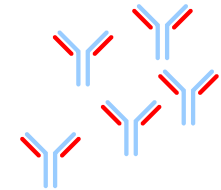
Sejtbank



Sejttenyésztés



Tisztítás



Gyógyszerhatóanyag

A molekula jellemzőit befolyásoló tényezők:

- idő
- pH
- hőmérséklet
- sejttenyésztő médium
- oxigén szint / tejsav felszaporodása
- keverés

Leggyakrabban érintett tulajdonságok:

- szénhidrát profil (glikoziláció)
- elektromos töltést hordozó izoformák arányai
- aggregációs vagy fragmentációs hajlam

A molekula/készítmény jellemzőit befolyásoló tényezők:

- a gazdasejt DNS-ének és fehérjéinek eltávolítása
- fragmentumok és aggregátumok eltávolítása
- fehérjekoncentráció
- végső beállító puffer

„Az eljárás maga a termék”

Kismolekula és makromolekula hatóanyag jellemzői



Kismolekula

Teljesen ismert szerkezet¹

Könnyen tisztítható, jellemzői könnyen meghatározhatók analitikai módszerek segítségével²

Homogén, az előírásoknak megfelelő, nagy tisztaságú termék²

Szobahőmérsékleten stabil^{1,2}

Ritkán immunogén^{1,2}



Makromolekula

Komplex, heterogén struktúra¹

Komplex tisztítási eljárások szükségesek, és jellemzői nehezen meghatározhatók¹

Heterogén termék, nehéz standardizálni²

Szobahőmérsékleten instabil^{1,2}

Nagyobb immunogenitási kockázat^{1,2}

1. Declerck PJ. *GaBI J* 2012;1:13-6

2. Sekhon BS and Saluja V. *Biosimilars* 2011;1:1-11

Első generáció – endogén anyagok

- hormonok, pl. *somatropin, human insulin*
- növekedési faktorok, pl. *epoetin, filgrastim*
- citokinek, pl. *interferonok*

Alkalmazásuk célja a hiány pótlása/a működés serkentése

Második generáció – módosított, tervezett fehérjék

➤ hormon analógok (eltérő aminosav szekvencia)

inzulin analógok:

insulin aspart, insulin lispro, insulin glulisin,
insulin glargin, insulin degludec, insulin detemir

inkretin analógok: exenatid, liraglutid

parathormon fragmens: teriparatid

➤ monoklonális antitestek, antitest fragmensek

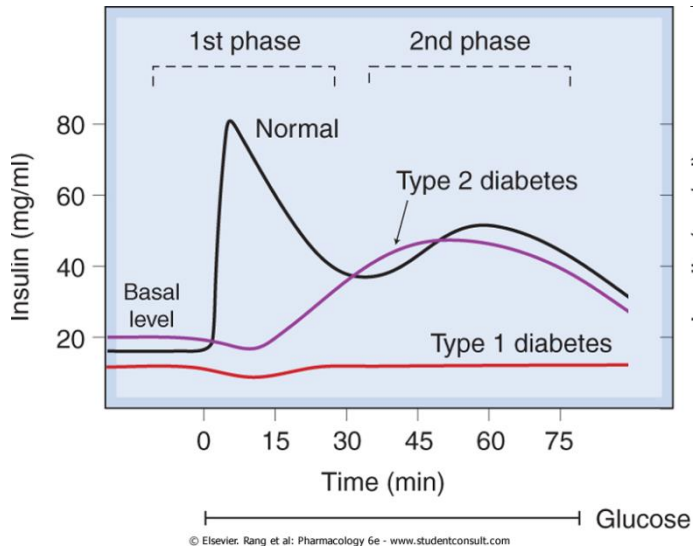
➤ fúziós fehérjék

➤ módosított antitestek, antitest konjugátumok

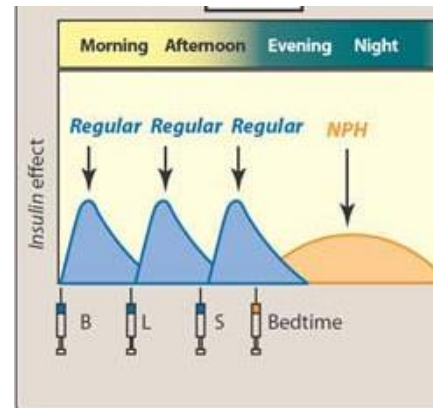
A módosítások célja

- a farmakokinetikai tulajdonságok javítása
- a stabilitás növelése
- a terápiás hatás növelése
- új hatásmód

Élettani inzulin szekréció



1-es típusú diabétesz kezelési sémák

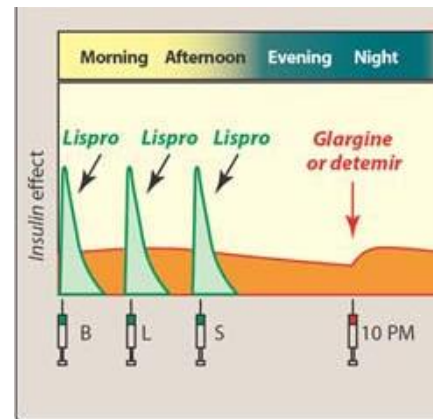


Ultragyors hatásúak étkezés előtt

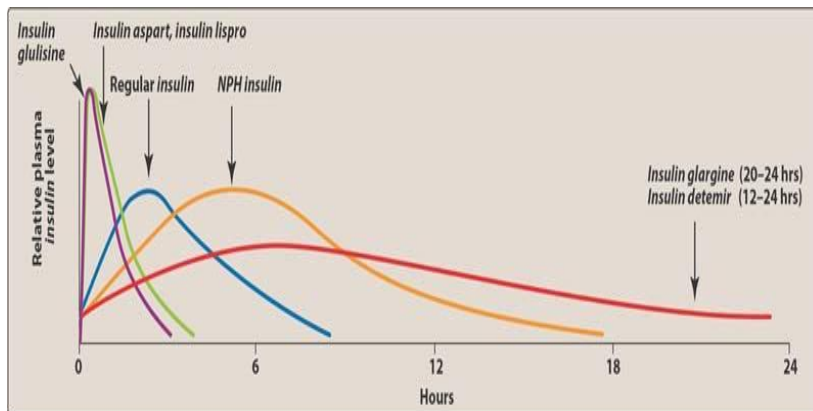
insulin lispro
insulin aspart
insulin glulizin

Hosszú hatásúak bázis inzulinok

insulin glargin
insulin degludec
insulin detemir



Inzulin analógok felezési ideje



Inkretinek – a bélben termelődő hormonok

fokozzák a glukóz-függő inzulin termelést, javítják az inzulin rezisztenciát, kismértékben lassítják a gyomorürülést és mérséklik az étvágyat

GLP-1 analógok – főleg 2-es típusú diabetes kezelésére, kombinációban

gyors hatásúak

exenatid (Byetta) – sc. injekció, napi 2x, nagyobb étkezések előtt 60 perces időszakban (legalább 6 óra közöttük)

hosszú hatásúak

liraglutid (Victosa) – sc. injekció, naponta 1x

lixisenatid (Lyxumia) – sc. injekció, naponta 1x

exenatid szuszpenzió (Bydureon) – sc. injekció, hetente 1x

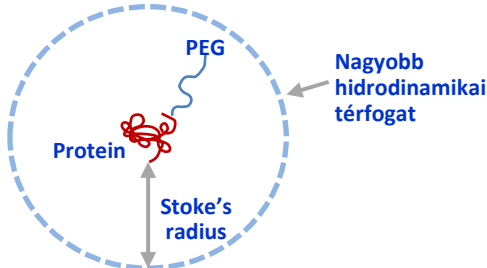
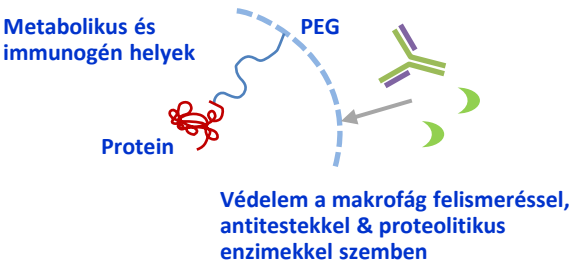
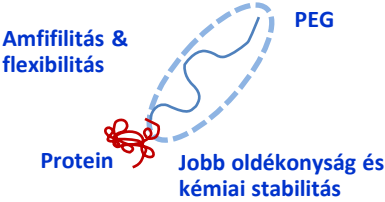
dulaglutid (Trulicity) – sc. injekció, hetente 1x

kombináció

insulin degludec + liraglutid (Xultophy) – sc. injekció, naponta 1x

insulin glargin + lixisenatid (Suliqua) – sc. injekció, naponta 1x

A pegiláció megnyújtja a fehérje keringésben töltött idejét, védi a degradációtól és növeli a stabilitását

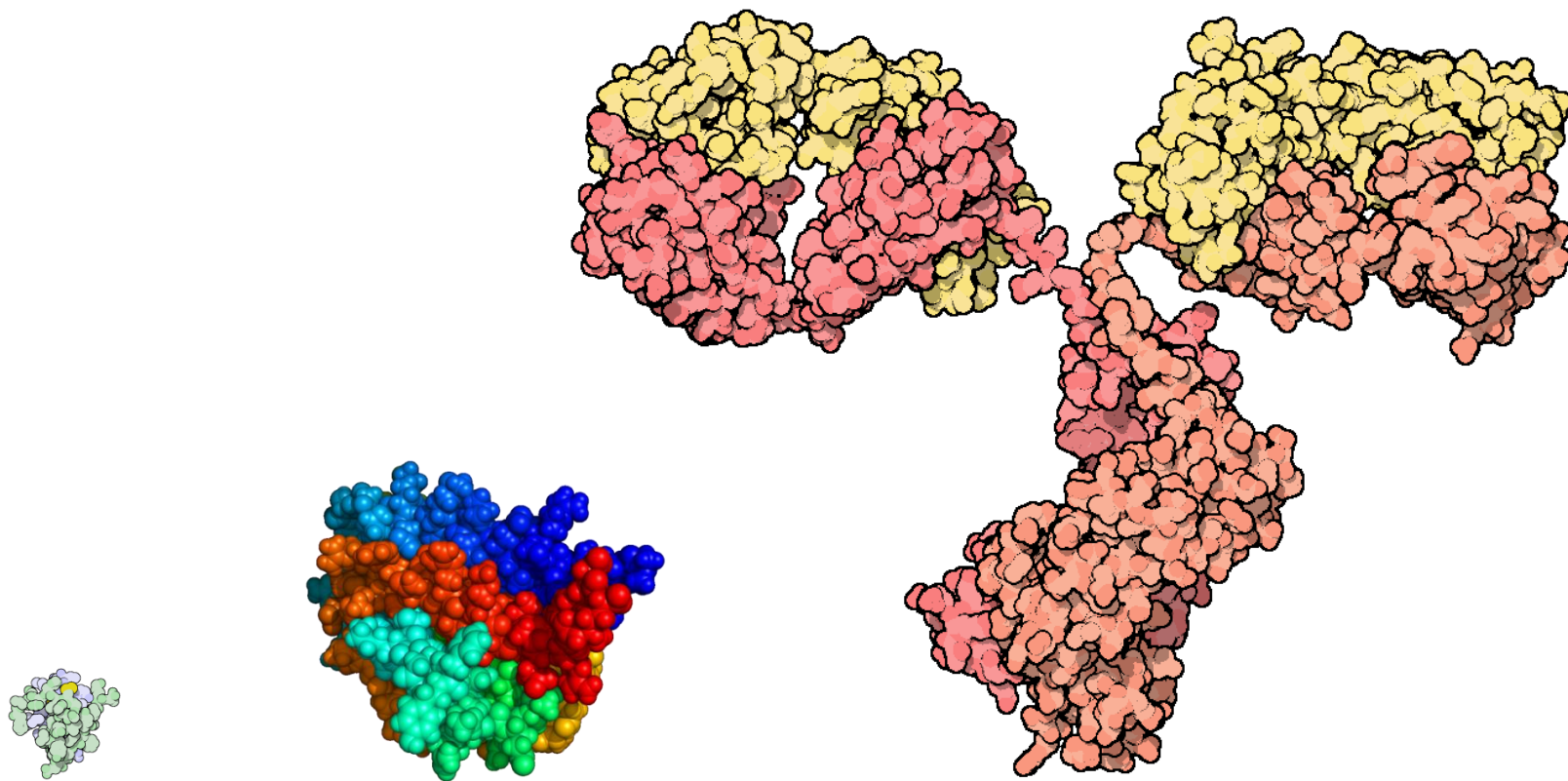
A pegiláció hatása	Mechanizmusa	Klinikai előny
<p>Nagyobb molekulaméret</p> <ul style="list-style-type: none"> • Az ethylen glycol egységek vízmolekulákat kötnek meg • A PEG vízburkot alakít ki • Csökken a glomerulus filtráció sebessége, nő a felezési idő 		<p>Hatékonyság: kisebb gyakoriságú adagolással érhető el ugyanolyan hatás</p> <p>Biztonságosság/tolerálhatóság: kisebb gyakoriságú adagolással összességében kevesebb a mellékhatás.</p>
<p>A molekula aktív helyeinek elfedése/védelme</p> <ul style="list-style-type: none"> • Védi a molekulát az immunrendszertől, ami neutralizálhatja/elpusztíthatja és védi a proteolízistól 		<p>Hatékonyság: kisebb gyógyszeradag elegendő a lassabb degradáció miatt.</p> <p>Biztonságosság/tolerálhatóság: kisebb az esélye az immunogenitásnak/toxicitásnak.</p>
<p>Stabilabb molekula</p> <ul style="list-style-type: none"> • Jobb kémiai stabilitás és oldhatóság, nagyobb potenciál • Hosszabb eltarthatóság 		<p>Hatékonyság: kevesebb gyógyszerrel is hosszabb az expozíciós idő. Jobb stabilitás.</p> <p>Biztonságosság/tolerálhatóság: kisebb gyakoriságú adagolással összességében kevesebb a mellékhatás</p>

Példák pegilált gyógyszerekre

Gyógyszer	Indikáció	A pegilált gyógyszer előnyei az eredeti gyógyszerhez képest				
		Felezési idő		Hatékonyság (összehasonlító vizsgálatok alapján)	Immunogenitás	Tolerálhatóság
Peginterferon alfa-2b	Krónikus hepatitis C (kombinációban)	hosszabb	hetente	jobb	nem ismert	hasonló
Peginterferon alfa-2a	Krónikus hepatitis B, krónikus hepatitis C (kombinációban)	hosszabb	hetente	jobb	nem ismert	hasonló
Pegfilgrastim	Klinikailag jelentős neutropenia kemoterápiás kezelés alatt	hosszabb	kezelésenként egyszer	hasonló	nem ismert	hasonló
Peginterferon beta-1a	Sclerosis multiplex	hosszabb	kéthetente	hasonló	nem ismert	hasonló

Kisebb adagolási gyakoriság → jobb tolerálhatóság és adherencia

Nem egyforma méretűek, komplexitásúak a biológiai gyógyszerek

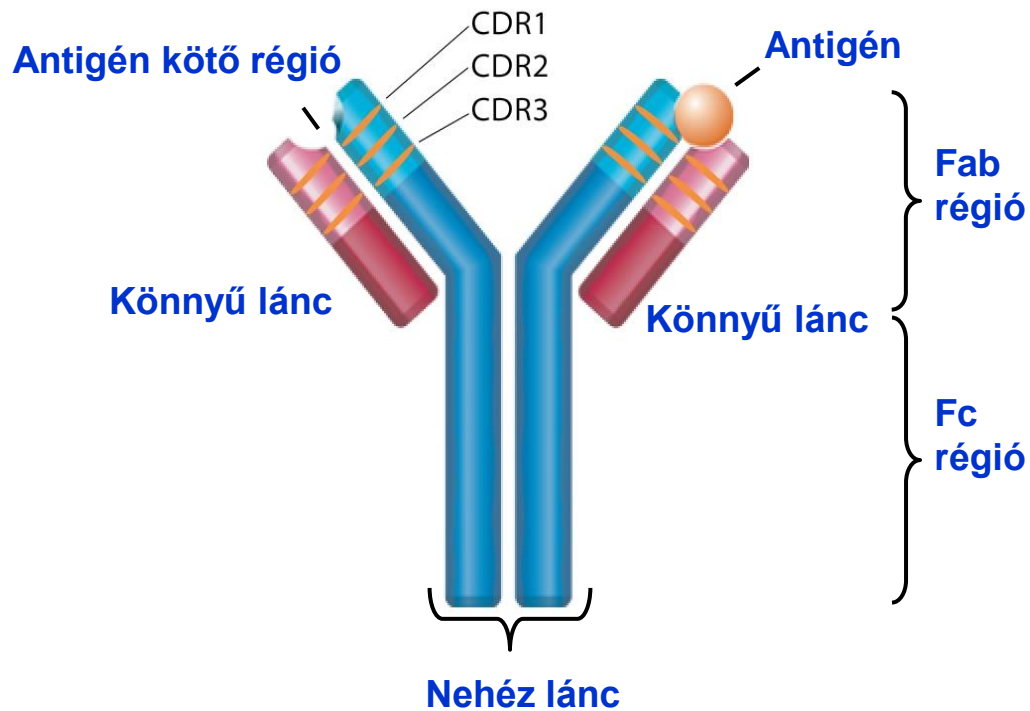


Insulin
(5 808)

Erythropoietin
(30 400)

Monoclonalis antitest
(150 000+)

Az antitestek szerkezete



Szelektív kötődés a
célmolekulához

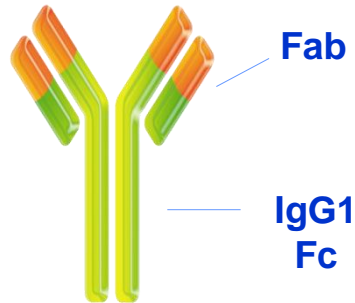
Effektor funkció (Fc γ R)

Citotoxikus hatás (ADCC, CDC)

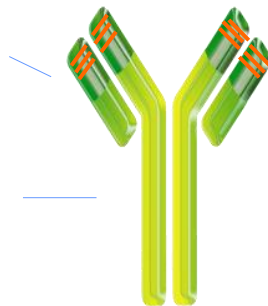
Hatástartam

Terápiás antitestek, fúziós fehérjék

Kiméra antitest („ximab”)
25% egér
75% humán



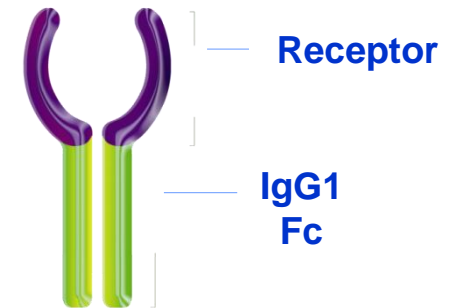
Humanizált antitest („zumab”)
95% humán



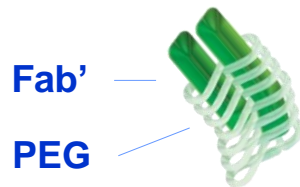
Humán antitest („mumab”)
100% humán



Rekombináns receptor/Fc fúziós fehérje („cept”)



Pegiált Fab' fragmens



A fehérjék ellen antitestek képződnek

HACA – kiméra antitestek elleni antitestek (~1-13%) – gyors

HAHA – humán antitest elleni antitestek (<1%) – lassú

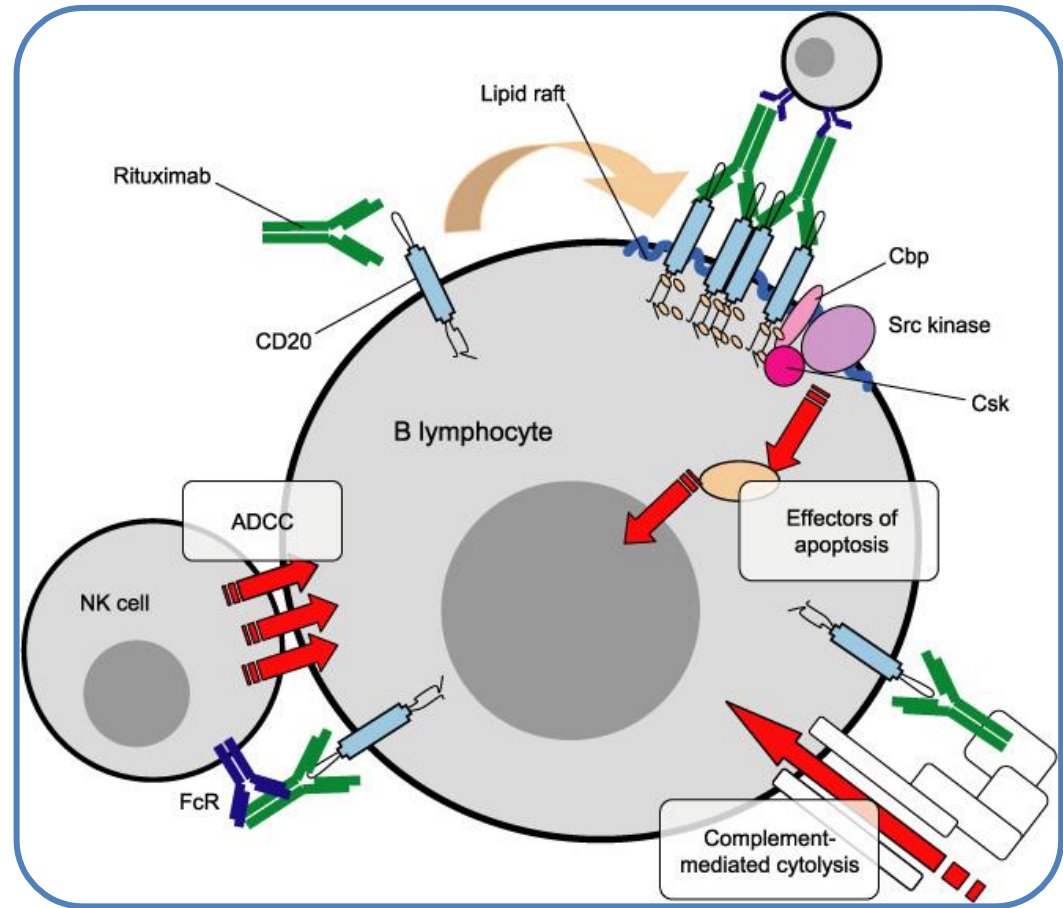
➤ kötődés sejtfelszíni receptorhoz (antigén)

A sejt elpusztítása

- ADCC – citotoxikus hatás
- komplement aktiváció
- a sejt lebontó folyamatának (apoptózis) indukálása

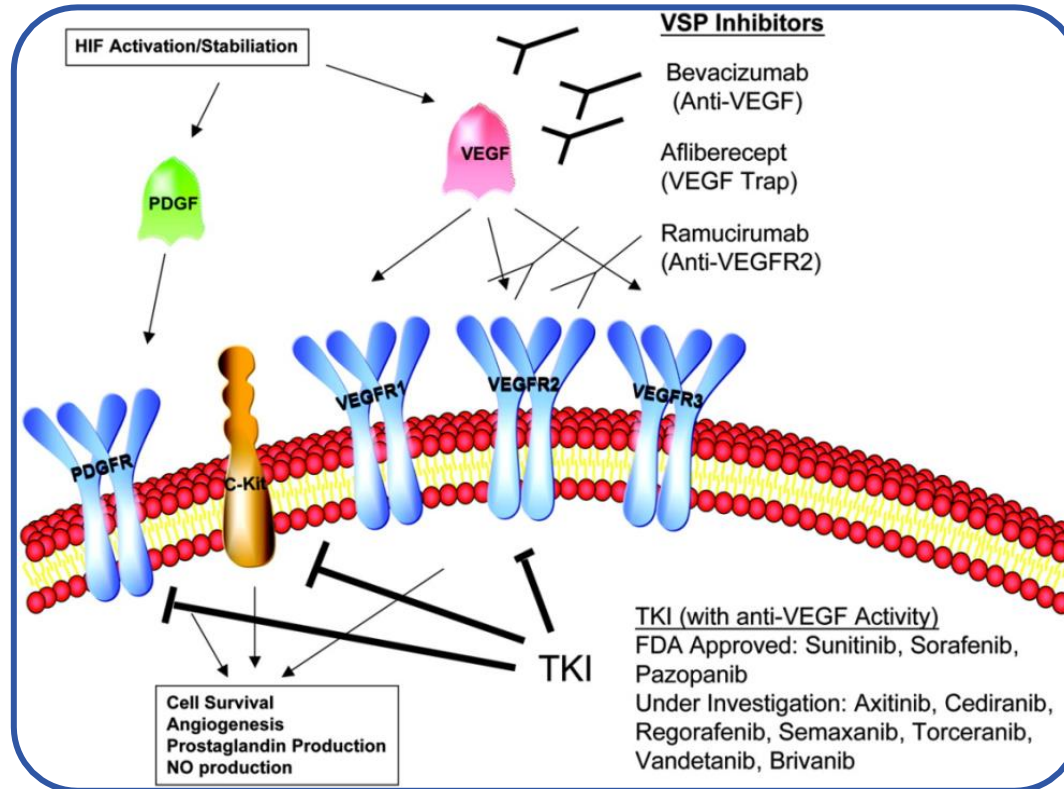
Célzott hatás

- az antitesthez citotoxikus kismolekulát, izotópot kapcsolhatnak



főleg daganatellenes szerek

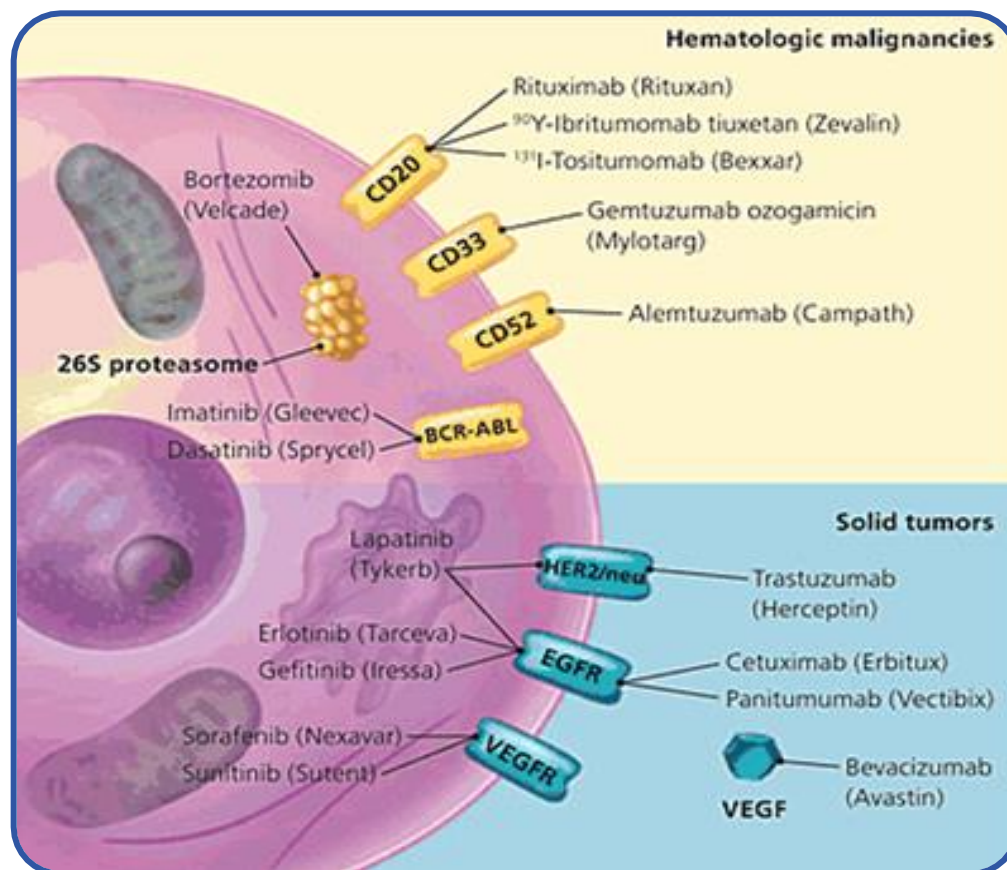
- kötődés növekedési faktor/citokin sejtfelszíni receptorhoz vagy magához a ligandumhoz – a jelátvitel gátlása



daganatellenes szerek, autoimmun gyulladásos betegségek kezelésére alkalmazott szerek, stb.

Daganat elleni terápiás antitestek

- tumor antigén elleni antitestek – célzott sejtpusztítás
 - rituximab (Rituxan, anti-CD20),*
 - alemtuzumab (MabCampath, CD52)*
 - ibritumomab tiuxetan (Zevalin, ⁹⁰Y-izotóppal kapcsolt anti-CD20)*
 - brentuximab vedotin (Adcetris,*
citotoxikus molekulával kapcsolt
anti-CD30)
- növekedési faktor receptor gátlása
 - trastuzumab (Herceptin, HER-2R)*
 - cetuximab (Erbitux, EGFR),*
 - panitumumab (Vectibix, EGFR)*
- növekedési faktor megkötése
 - bevacizumab (Avastin, VEGF)*
 - aflibercept (Zaltrap, VEGF)*



A malignus transzformáció útvonalának specifikus gátlása

a szelektivitás oka:

normál sejtek

– redundáns útvonalak

tumor sejtek

– irányító mutációtól függ

Csak a betegek egy részénél hatékony –

molekuláris diagnosztika szükséges!

Főleg citosztatikus hatás – tartós kezelés

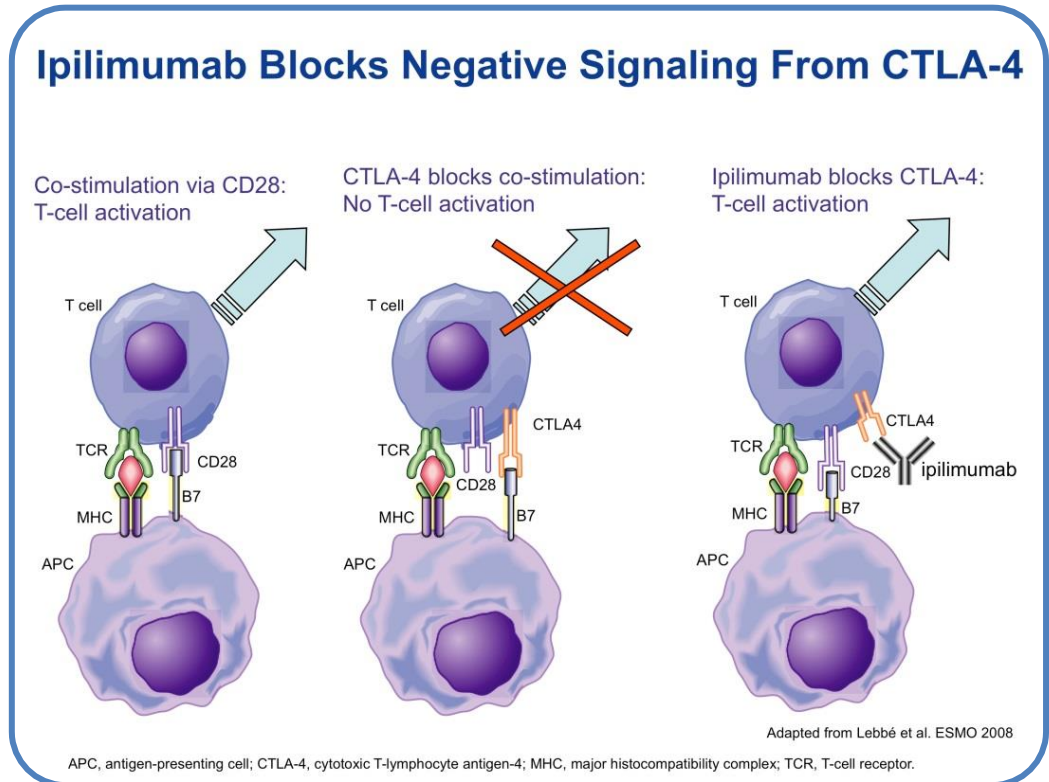
Daganat elleni terápiás antitestek – immun ellenőrzőpont gátlók

T-sejt aktiváció

➤ CTLA-4 blokkolók
ipilimumab (Yervoy)

➤ PD-1 blokkolók
pembrolizumab (Keytruda)
nivolumab (Opdivo)

előrehaladott melanoma,
NSCLC kezelése



2018. évi orvosi Nobel díj: James P. Allison és Hondzso Tazuku

Autoimmun gyulladásoos betegségek (RA, IBD, psoriasis, SM, stb.) – terápiás antitestek

gyulladásoos citokinek elleni antitestek

- TNF α -gátlók (RA, IBD, psoriasis, stb. kezelése)

infiximab (Remicade, Remsima, Inflectra)

adalimumab (Humira),

certolizumab pegol (Cimzia),

golimumab (Simponi),

etanercept (Enbrel)

- IL-6 gátló (RA kezelése)

tocilizumab (RoActemra)

- IL-12/23 gátló (psoriasis kezelése)

ustekinumab (Stelara)

- IL-17 gátló (psoriasis kezelése)

secukinumab (Cosentyx)

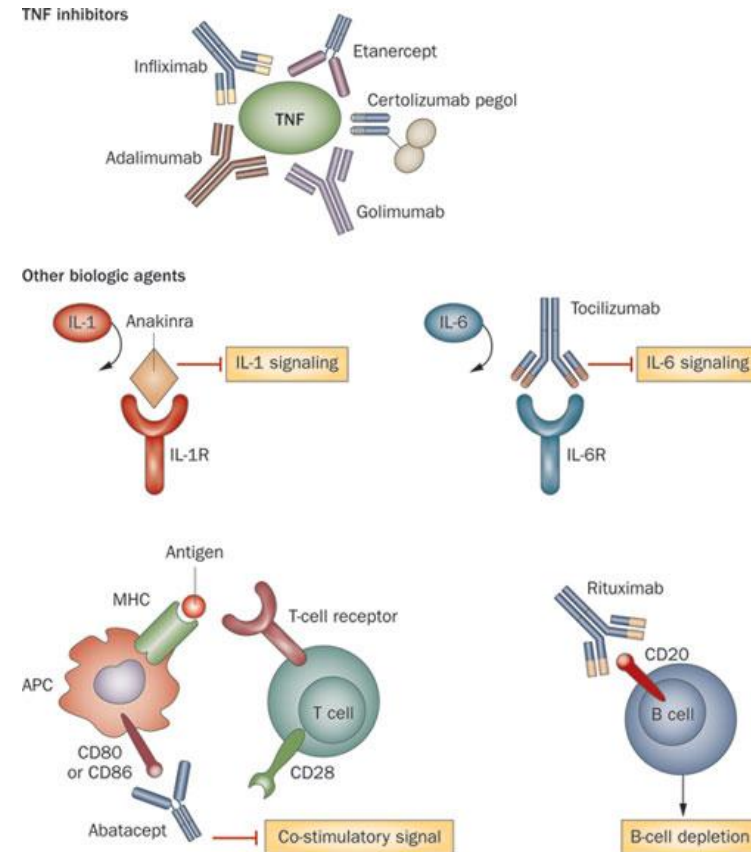
- adhéziós molekula blokkoló)

natalizumab (Tysabri, α 4-integrin) (sclerosis multiplex)

vedolizumab (Entyvio, α 4 β 7-integrin) (IBD)

- ko-stimuláció gátló (RA, arthritis psoriatica)

abatacept (Orencia, CD 80/86)



teriparatid

parathormon fragmens – kis peptid

lassítja a csontbontást és fokozza a csontképződést

javallat: fokozott törési kockázattal rendelkező

postmenopausában lévő nők, valamint férfiak osteoporosisának kezelése,
tartós glükokortikoid kezelés okozta osteoporosis kezelése

sc. injekció naponta

denosumab (Prolia)

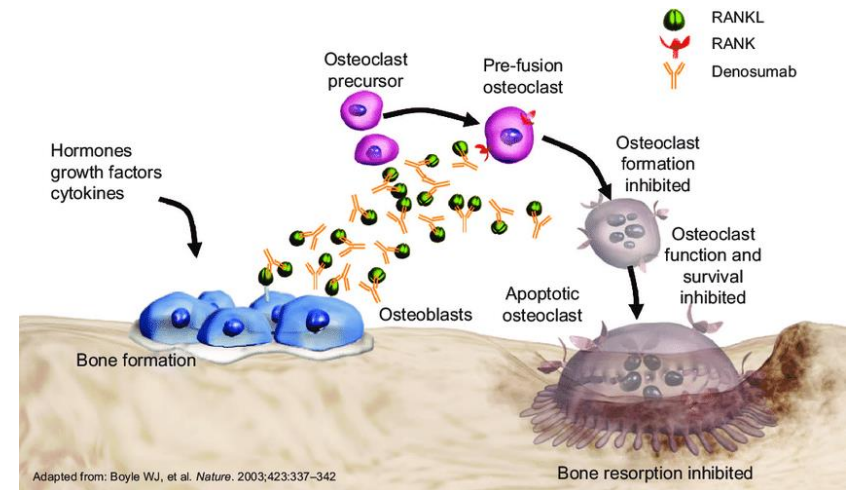
RANK ligandum elleni antitest

csökkenti a csontbontó folyamatokat

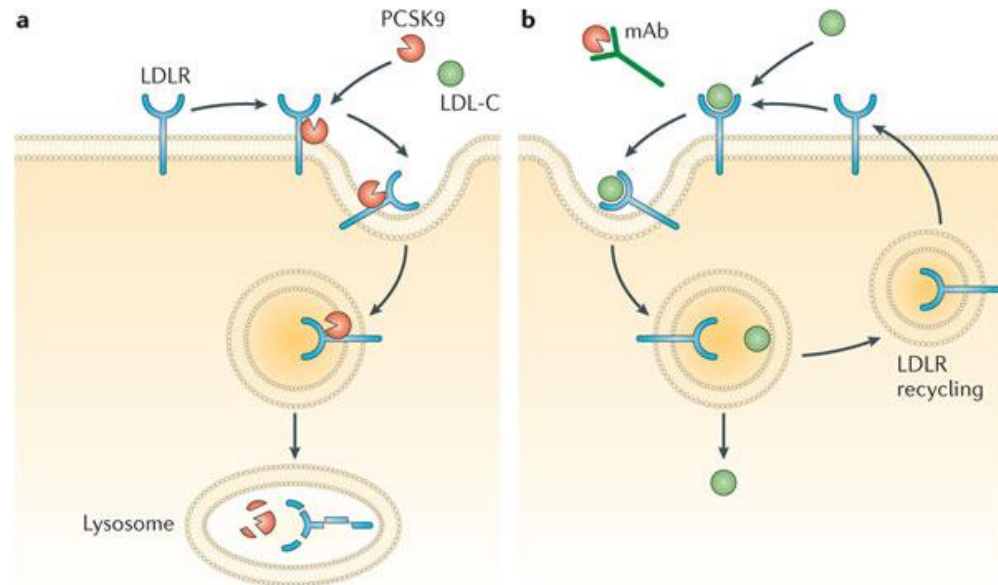
javallat: fokozott törési kockázattal rendelkező

postmenopausában lévő nők, valamint férfiak osteoporosisának kezelése,
tartós glükokortikoid kezelés okozta osteoporosis kezelése

sc. injekció félélévente



- szervtranszplantáció
basiliximab (Simulect, IL-2R)
- macula degeneráció
ranibizumab (Lucentis, VEGF)
aflibercept (Eylea, VEGF)
- asthma bronchiale
omalizumab (Xolair, IgE)
reslizumab (Cinqaero, IL-5)
mepolizumab (Nucala, IL-5)
- hypercholesterinemia
alirocumab (Praluent, PCSK9)
evolocumab (Repatha, PCSK9)



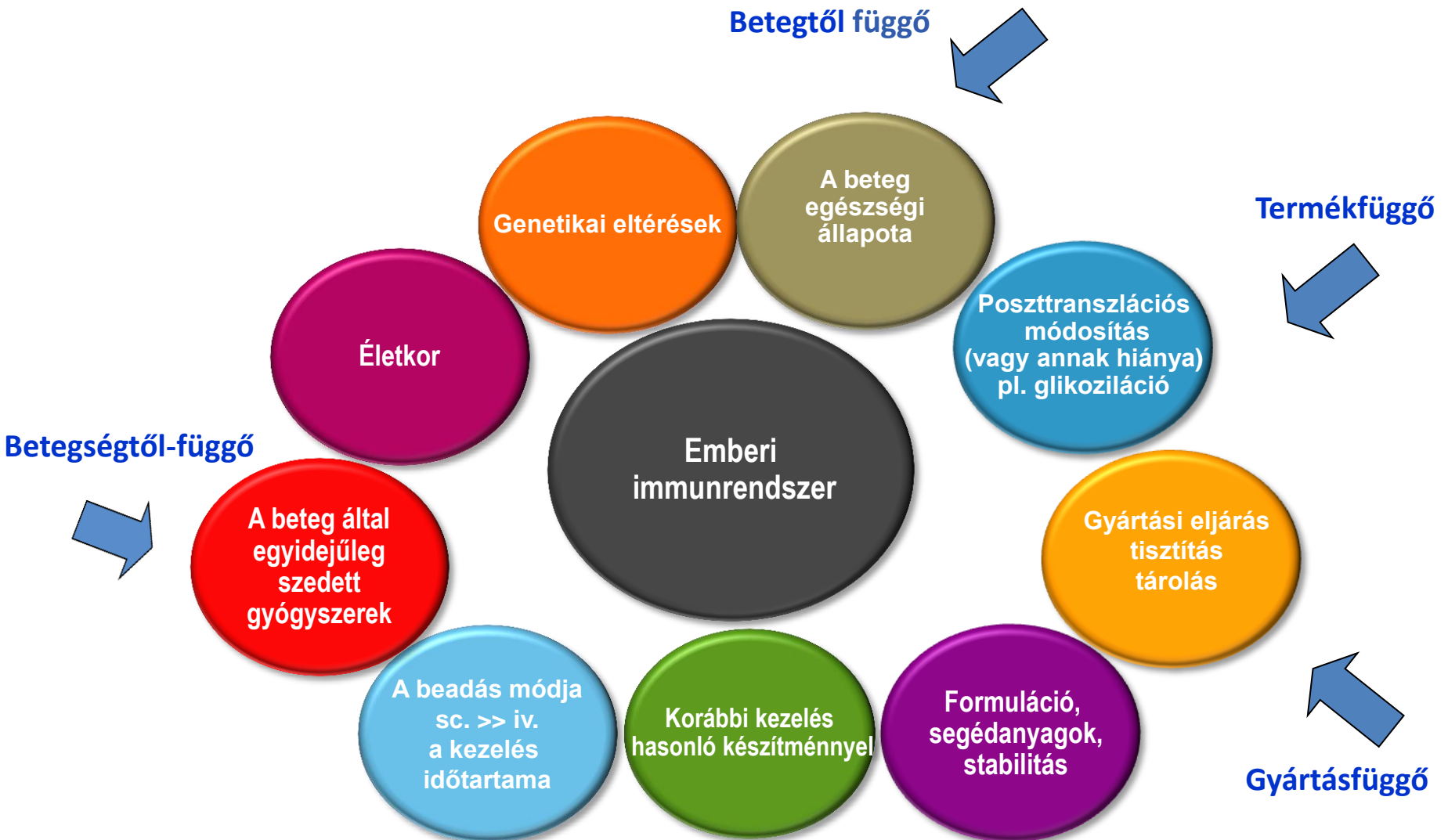
A terápiás antitest, fehérje gyógyszerek farmakokinetikai jellemzői

- ***iv.* vagy *sc.* adagolás**
nyirokrendszeren keresztül jutnak a keringésbe
- **a sejtek endocitózissal vagy receptor-mediált (pl. FcRn) módon veszik fel**
- **tipikusan szöveti proteázok bontják**
- **a peptid metabolitok a vesén keresztül ürülnek**

A terápiás fehérjék elleni antitestek kialakulásának lehetséges következményei

- a terápiás fehérje hatásának semlegesítése – a klinikai hatás csökken
- natív (endogén) fehérjék neutralizálása – funkciókárosodás
- megváltozik a termék szervezetből való távozásának üteme (clearance), ezzel megváltozhat a terápiás hatás és/vagy nemkívánatos eseményeket eredményezhet
- allergiás reakciót váltanak ki, anafilaxiát vagy sérumbetegséget idéznek elő (szennyeződés, aggregátum, denaturált fehérje)
- következmény nélküli

Az immunválaszt befolyásoló tényezők



A biológiai gyógyszerek követő molekulái

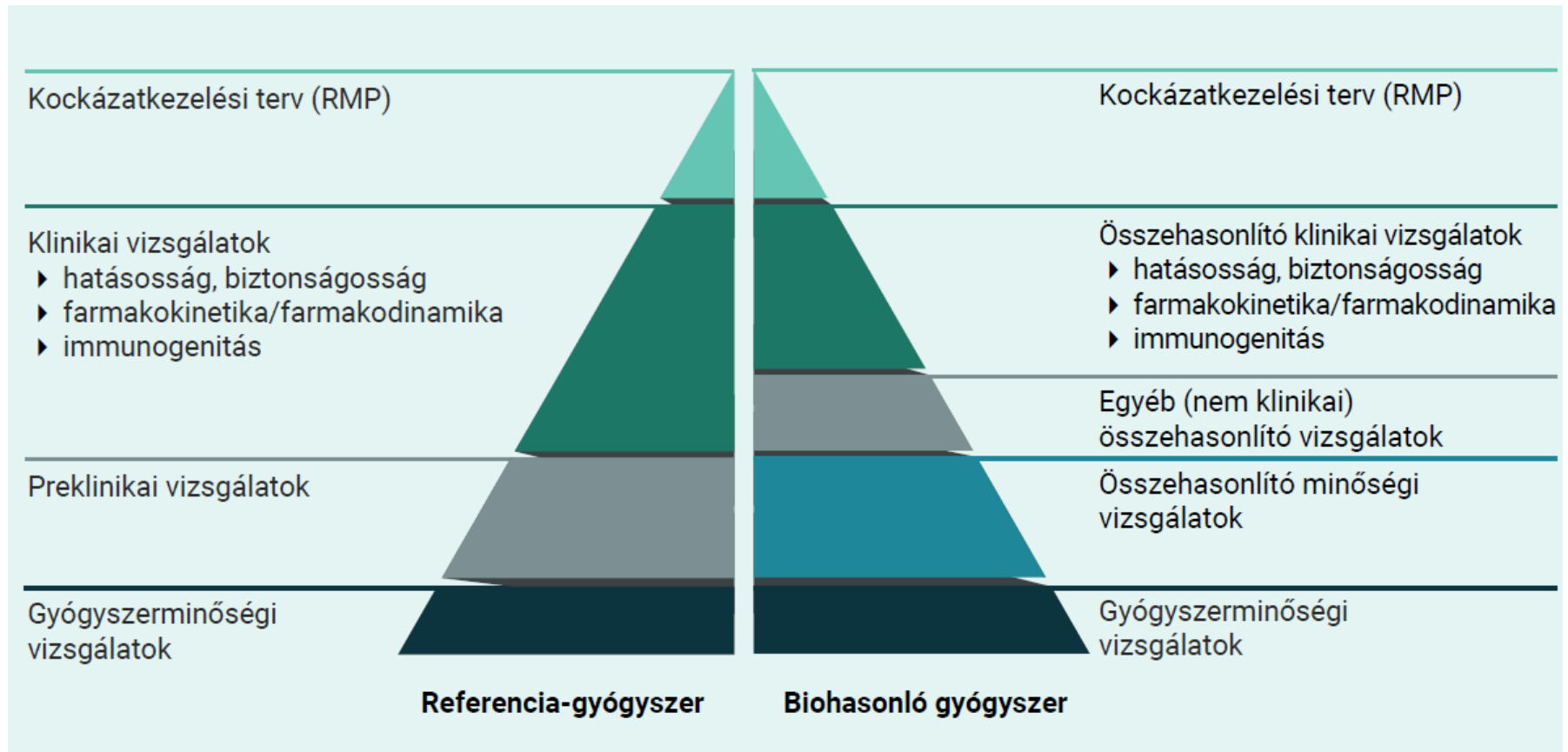
A biohasonló gyógyszer olyan készítmény, amely nagymértékben hasonló egy, az EU-ban már forgalomba hozatali engedéllyel rendelkező biológiai gyógyszerhez

A biológiai gyógyszerek hatóanyagai összetett, komplex szerkezetű molekulák, így a hasonlóságot átfogó fizikai, kémiai és biológiai vizsgálatokkal, valamint összehasonlító nem-klinikai és klinikai tesztekkel kell bizonyítani

Kisebbségi különbségek a biohasonló és a referencia készítmény között előfordulhatnak, ezek azonban a klinikai hatásosság és a biztonságosság szempontjából nem jelentősek



A referencia és biohasonló gyógyszerek engedélyezése



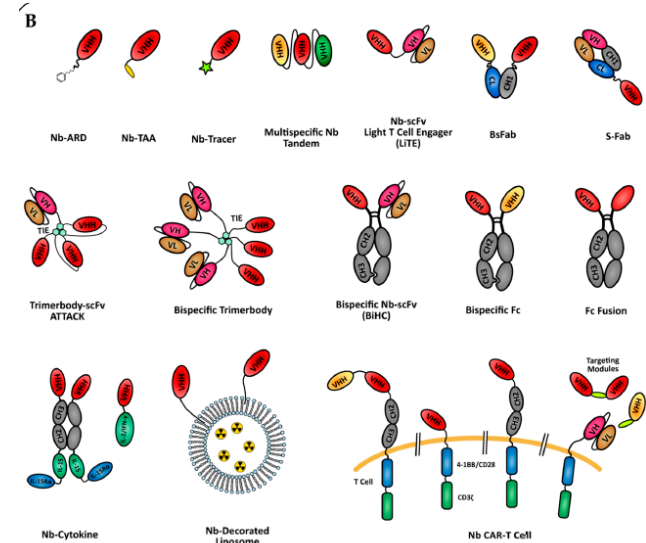
Összehasonlítás lépésről lépésre

Lehetőség az indikáció extrapolációra

Fab módosítás – bispecifikus antitestek

Fc módosítás – antigén-dependens citotoxicitás növelése

Módosított antitest struktúrák, nanotestek



CAR-T sejtek (kiméra antigén receptorral módosított saját T-sejtek)

