



NESTOR ANNIBALI



Definiciones

- ✓ Producto Farmacéutico: producto medicinal que incluye a los productos terapéuticos, profilácticos y de diagnóstico in vivo. De acuerdo a su estructura y método de producción se los divide en drogas de síntesis y biofarmacéuticos.
- ✓ **Medicamento biofarmacéutico: medicamento cuyo ingrediente farmacéutico activo consiste en proteínas obtenidas mediante procedimientos biotecnológicos, los cuales emplean líneas celulares y microorganismos vivos, modificados genéticamente por técnicas de ADN recombinante y/o técnicas de hibridomas.**
- ✓ Droga: producto farmacéutico de naturaleza química (no biológica), en cuya manufactura se utilizan métodos de síntesis química.



Proteínas Terapéuticas

- Son las macromoléculas mas diversas y dinámicas de nuestro organismo.

- Son esenciales en la catálisis de reacciones bioquímicas, formación de receptores y canales en membrana, dan soporte estructural a las células, transportan moléculas dentro y fuera de las células.

- Existen unas 130 proteínas o péptidos aprobados por la FDA para uso clínico y muchas mas están en desarrollo.



Clasificación de Productos Biológicos

New Drugs

- Productos Nuevos

Follow-on proteins products

- Productos Biosimilares

Second-generation protein products

- Biológicos de segunda generación

Major manufacturing changes

- Cambios mayores en el proceso de producción



Producto	Droga	Aprobación	MW (Da)
<i>Proteínas no glicosiladas</i>			
Forteo	Teriparatide	NDA	4.118
Byetta	Exenatide	NDA	4.187
Lantus	Insulina Glargina	NDA	6.063
Betaseron	Interferon β -1b	BLA	18.500
Genotropin	Somatotropin	NDA	22.500
<i>Proteínas Glicosiladas</i>			
Rebif	Interferon β -1a	BLA	22.500
Epogen/Procrit	Epoetin α	BLA	30.500
Enbrel	Etanercept	BLA	150.000
<i>Proteínas PEGiladas</i>			
PegIntron	PegInterferon α -2b	BLA	31.000
Neulasta	Pegfilgrastim	BLA	39.000
<i>Anticuerpos Monoclonales</i>			
Rituxan	Rituximab	BLA	145.000
Avastin	Bevacisumab	BLA	149.000
Erbix	Cetuximab	BLA	152.000



Usos Terapéuticos

- Proteína que reemplaza a otra que es deficiente o anormal (insulina, GH, Factor IX, Cerecyme, etc)
- Proteína que potencia una vía metabólica existente (Erythropoyetina, Filgrastim, FSH, Interferon β)
- Proteína que provee una nueva función o actividad (Hyaluronidase, Lepirudin)
- Proteína que interfiere con una molécula u organismo (Bevacizumab, Rituximab, Etanercept)



Características propias de los productos proteicos

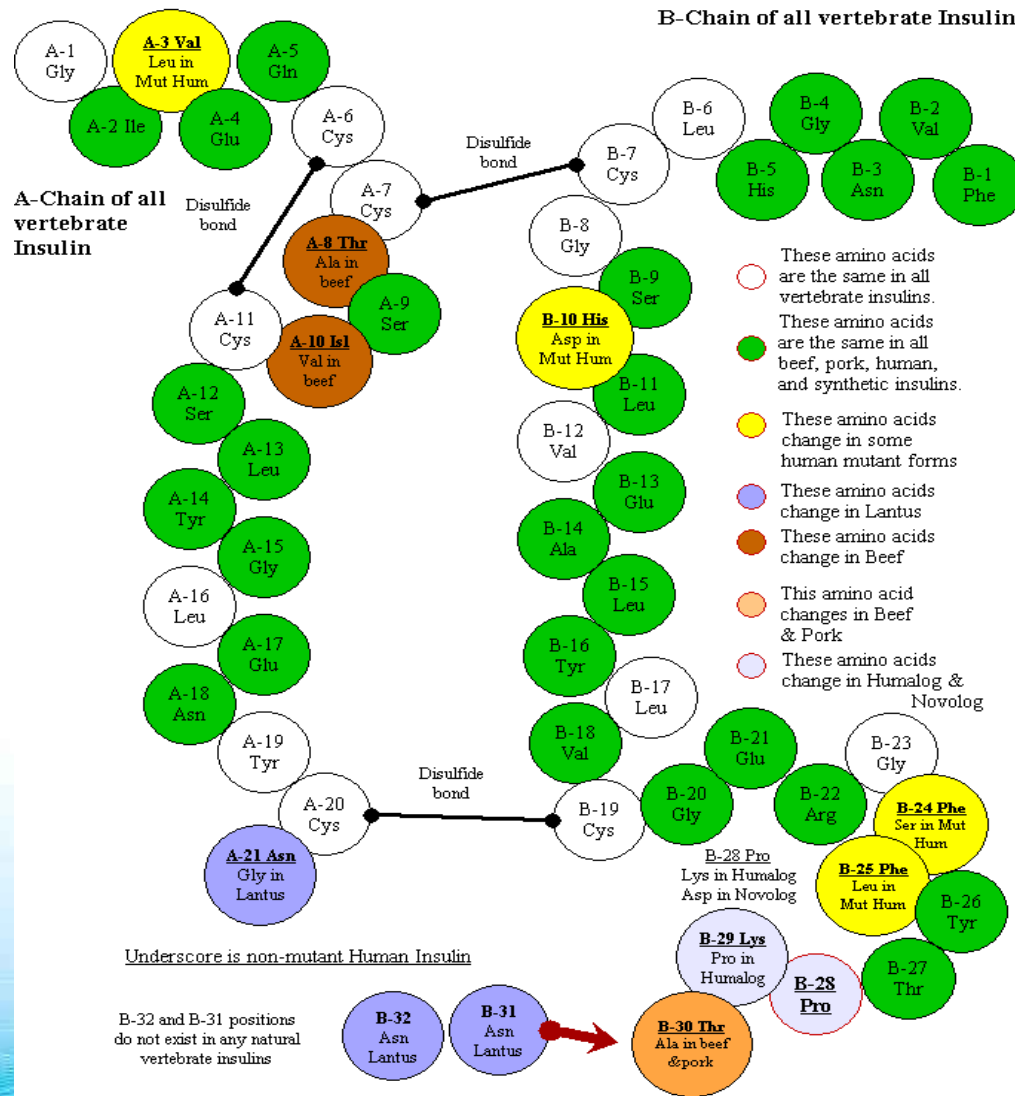
- ✓ Poseen estructuras mas complejas que los productos de síntesis
- ✓ Su caracterización requiere de la combinación de análisis fisicoquímicos y biológicos
- ✓ La calidad esta estrechamente relacionada con el proceso de producción (producto = proceso)

Regulatorio

- ✓ No se los puede considerar productos genéricos
- ✓ La similaridad entre productos incluye análisis fisicoquímicos y una serie de ensayos no clínicos y clínicos, específicos para cada producto.



Desarrollo de Productos BioFarmacéuticos



The Insulin Molecule for all vertebrates and synthetic insulins as of 11/2002.



Características del Producto que Condicionarán al Método de Producción

- Propiedades fisicoquímicas de la molécula
 - Peso molecular (alto PM, bajo PM)
 - Estructura (monómero, oligómeros, puentes disulfuro)
 - Glicosilación, acetilación, fosforilación
-
- Volumen de Producción



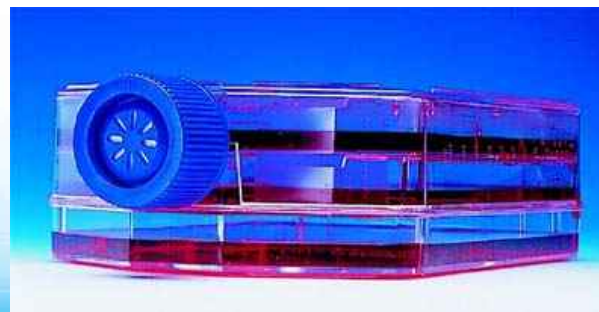
Caracterización del Sistema de Expresión

- Construcción genética y vector de expresión
- Método de transformación o transfección empleado
- Criterio de amplificación génica y sistema de selección de los clones o cepas productoras
 - Estabilidad
 - Número de copia



Características del Producto que Condicionarán al Método de Producción

- **Sistema de Expresión**
 - Bacterias
 - levaduras
 - cultivo de células





Banco Primario de Células Master Cell Bank

Conjunto de alícuotas homogéneas de un cultivo **microbiológicamente puro** que se almacena bajo condiciones que garanticen su estabilidad genética

Colección de viales con un contenido uniforme de células provenientes de un único clon celular que deben guardarse bajo condiciones especialmente definidas



Banco de Células de Trabajo(BCT) Working Cell Bank (WCB)

Banco Células Primario



Banco de Células de Trabajo 



Scaling up

Pilot Plant

R&D Laboratoty IBYME



50 ml Shake-flask culture



2.5 l Fermentor, with 1.5 l working volume



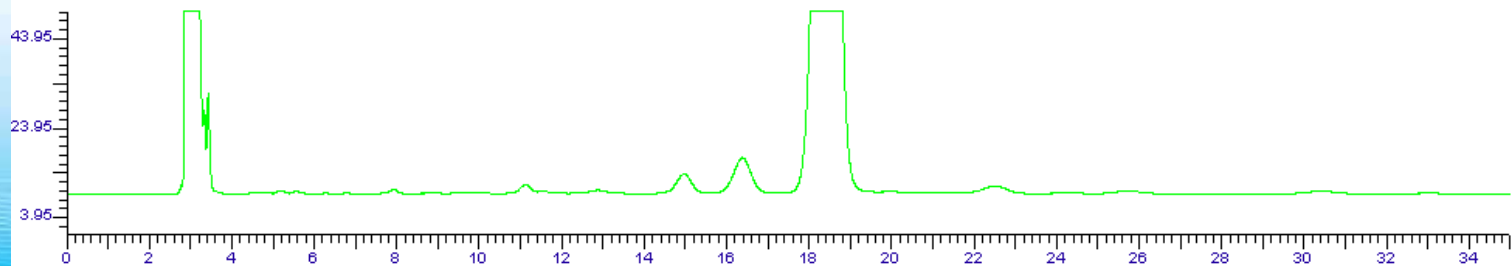
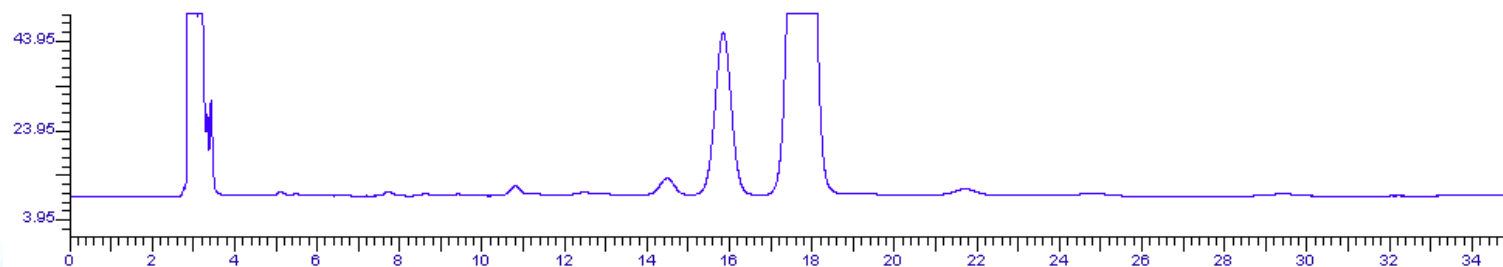
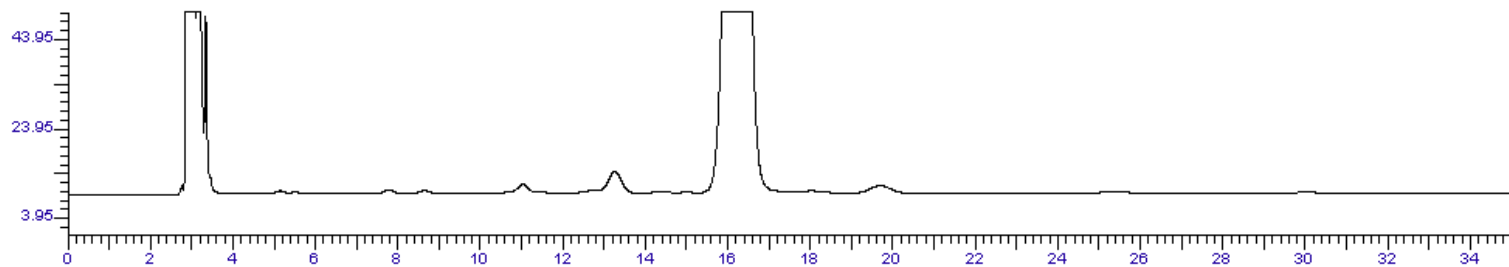
20 l Fermentor, with 15 l working volume



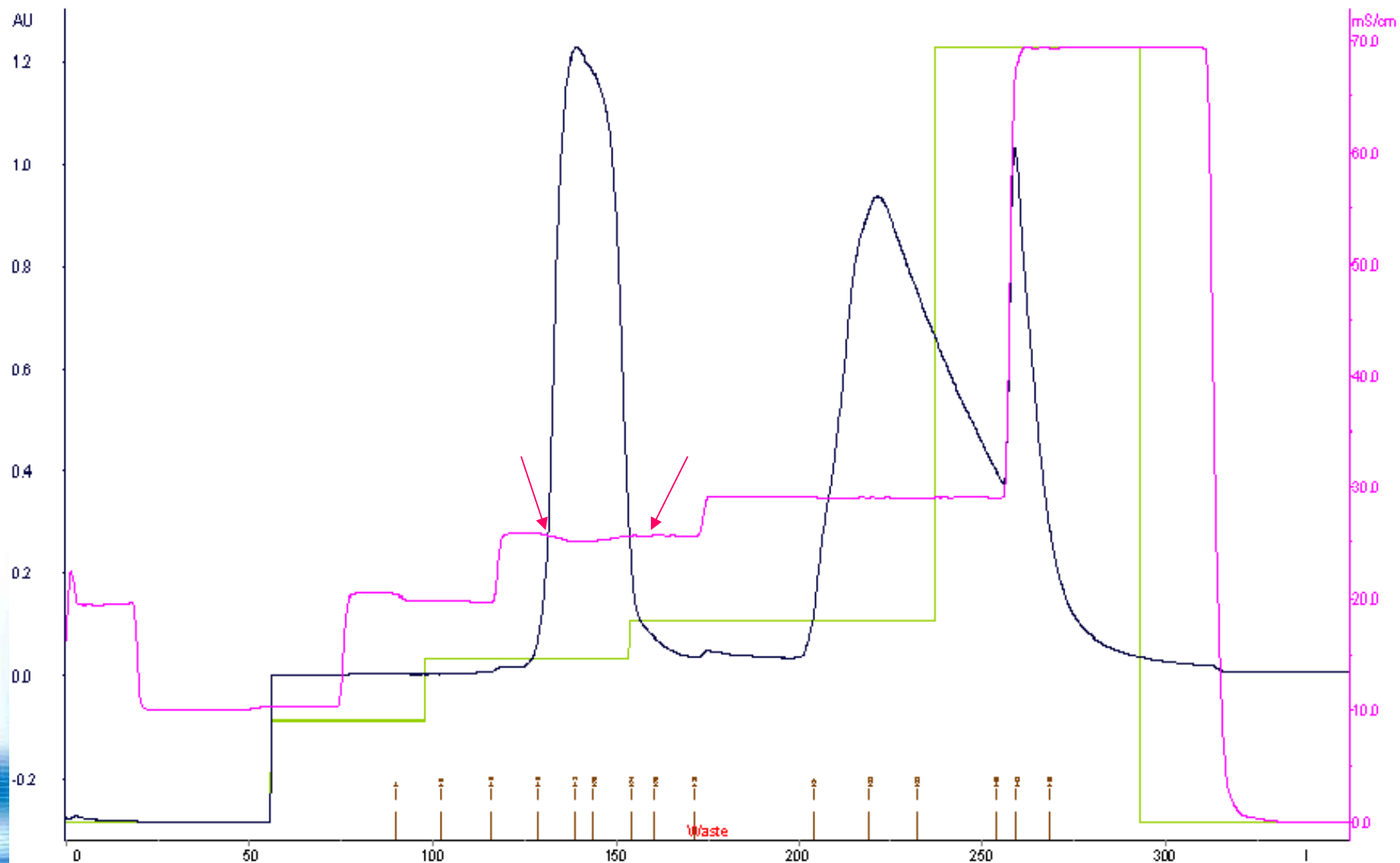
370 l Fermentor, with 300 l working volume

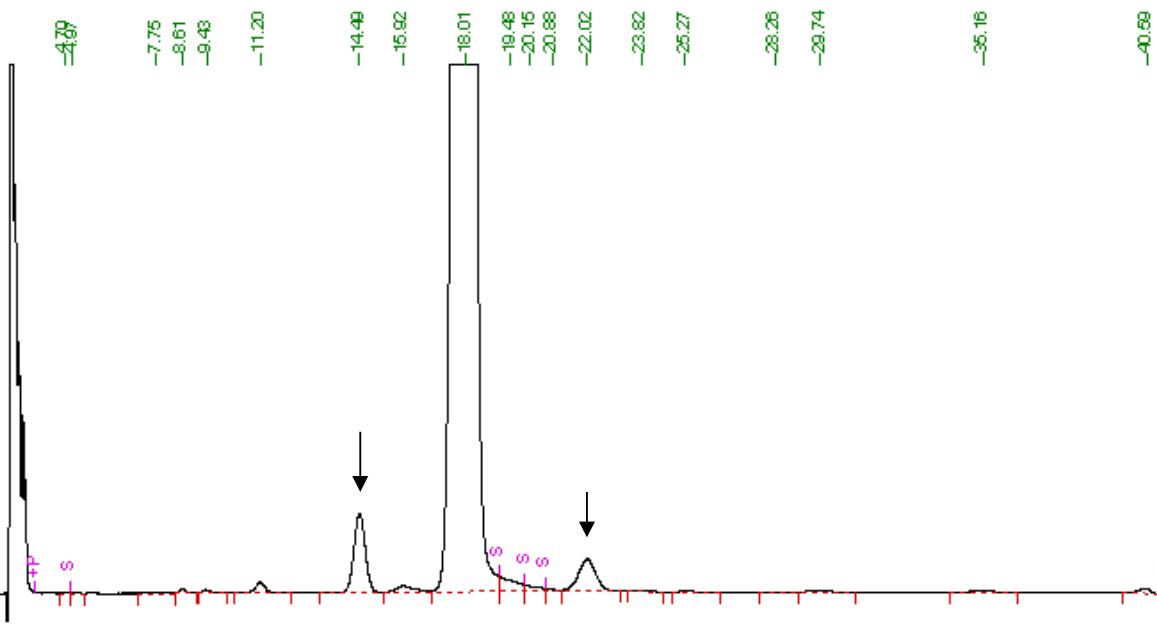


Control de Proceso



P Intern II ASP Step 13 21 26002:1_CIR102
P Intern II ASP Step 13 21 26002:1_Fractions
P Intern II ASP Step 13 21 26002:1_AIR131UV
P Intern II ASP Step 13 21 26002:1_Logbook
P Intern II ASP Step 13 21 26002:1_PrgConc





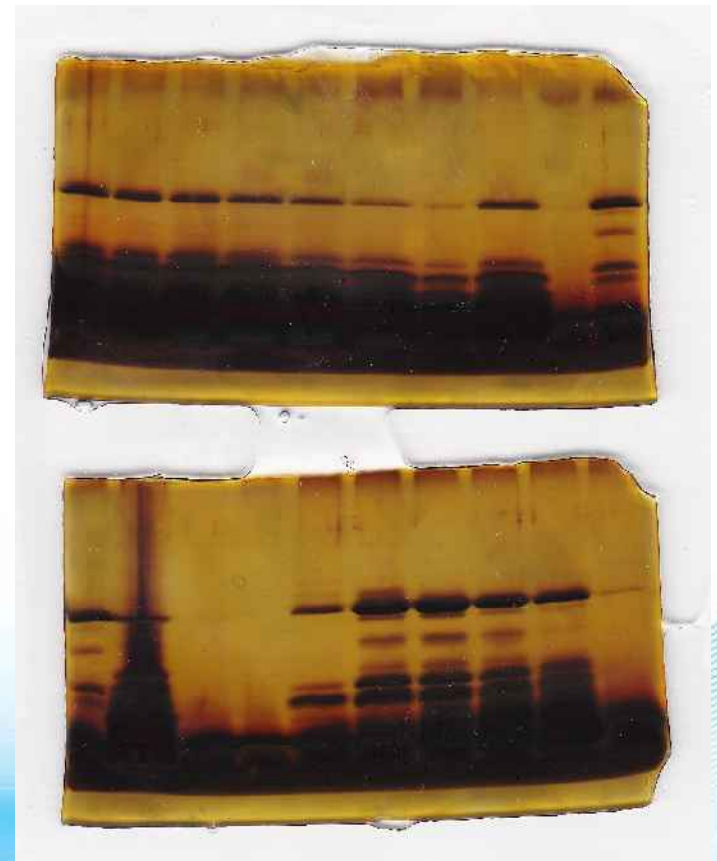
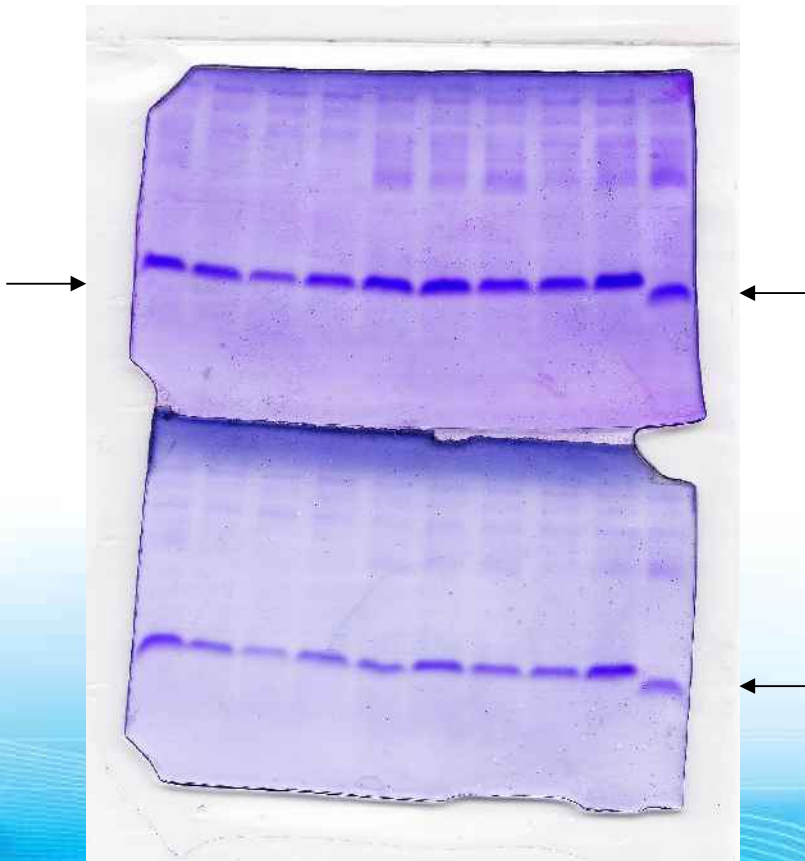


Caracterización Físicoquímica de Proteínas

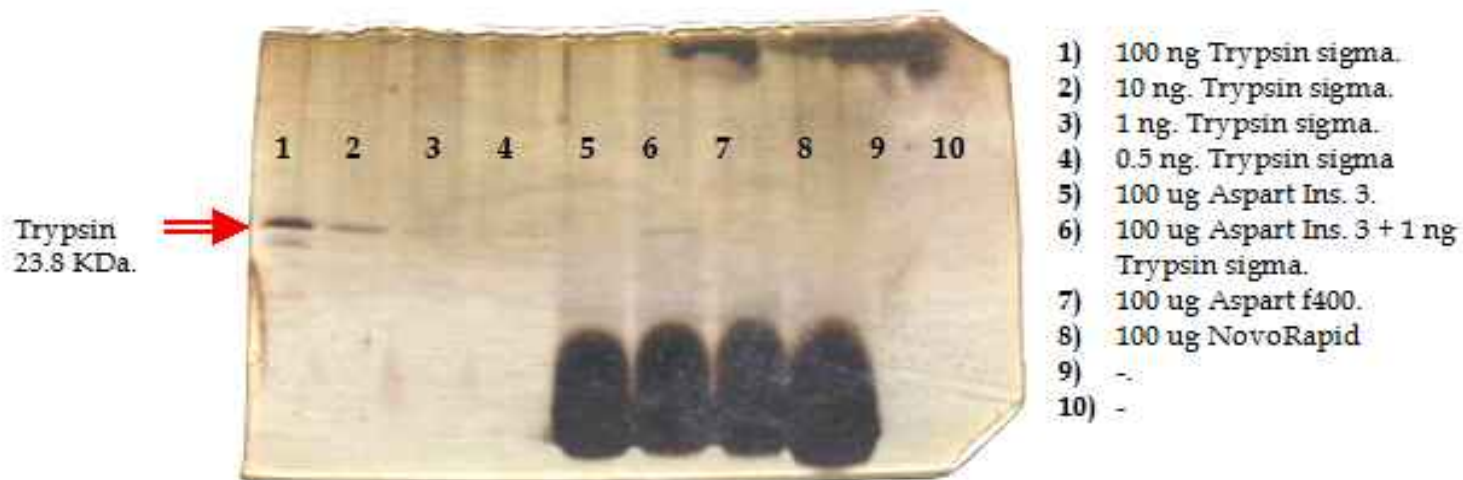
- Secuencia primaria (mapeo peptídico), IE, HPLC, gel electroforesis
- Potencia, bioensayos en células, ADCC, modelos animales
- Conformación, dicroísmo circular, espectroscopia, cristalografía
- Glicosilación, análisis de monosacáridos, perfil de oligosacáridos, CE, MALDI-TOF, MS/MS
- Fosforilación, mapeo peptídico con MS
- Truncado, gel electroforesis, SE-HPLC, mapeo peptídico-MS
- Glycación, mapeo peptídico-MS-HPLC
- Pegylación, HPLC, CE
- Agregación, SE-HPLC, el electroforesis
- Oxidación, desamidación,
- Proteínas del Huesped, ELISA, endotoxinas.
- Binding, ELISA, ensayos celulares, espectroscopía
- Actividad Biológica, ensayos celulares, modelos animales



Control de Calidad de Productos Biológicos- SDS-PAGE



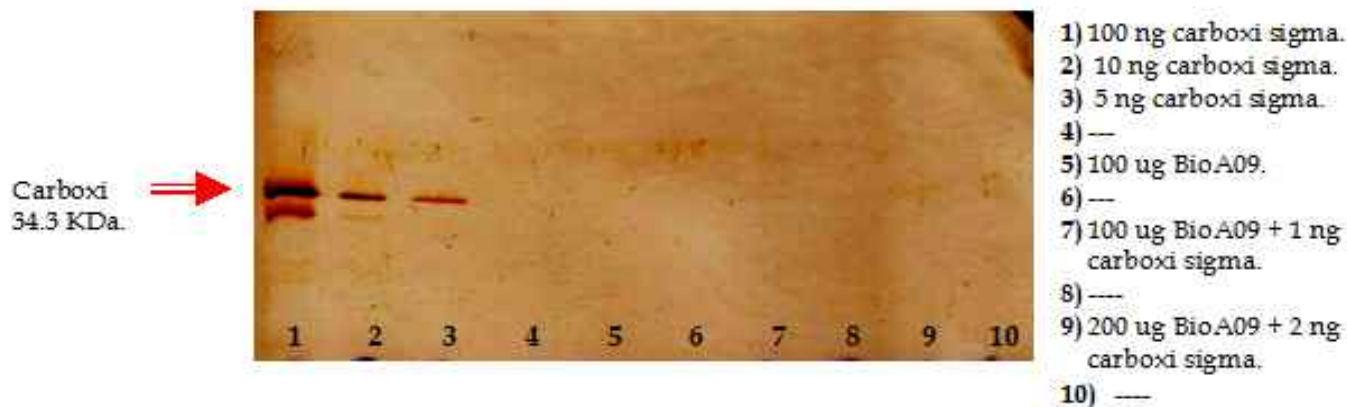
Detection of Trypsin in Aspart Insulin Crystals



Gel: Tris- Glicine 15%
Silver Stained
Method sensitivity : 10 ppm.



Carboxipeptidase Detection Assay in rh-Insulin



Gel: Tris- Glicine 15%
Western blot
Method sensitivity: 25 ppm.

Spinner Flask Supernatant



Street 1 and 2, no reducing conditions

1) Etanercept Beta

2) Etanercept (commercial) Streets 3 - 10, reducing conditions.

3) Comercial etanercept

4) Spernatant from culture flask (adherent cells).

5-10) Diferent samples from spinner flasck.

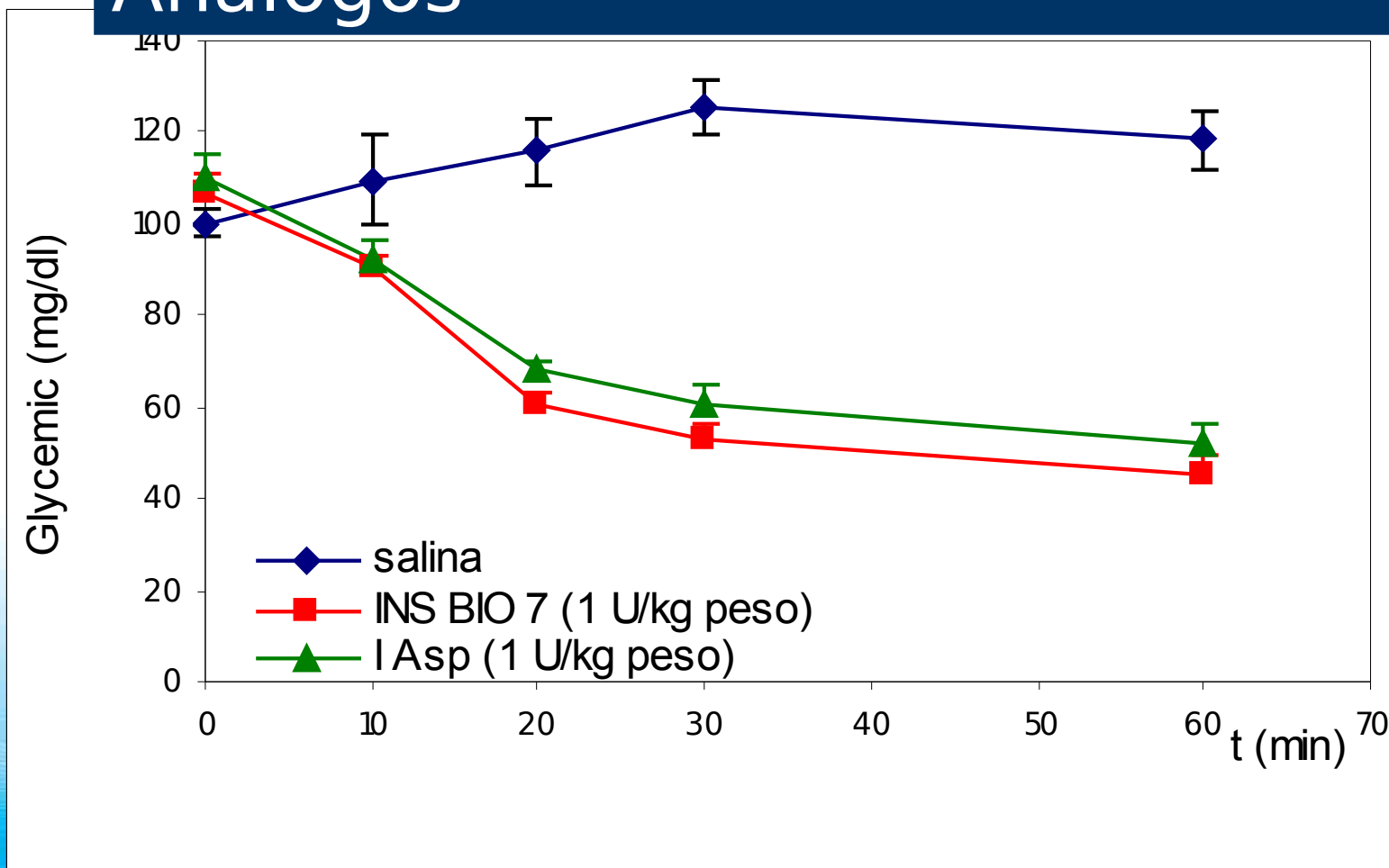


Bioensayos

- El desarrollo de ensayos biológicos, in-vitro e in-vivo, específicos para cada producto resulta de altísimo valor en la caracterización de productos biológicos.



Determinación de Glucosa en Ratonés Inyectados con Insulina y Análogos





Definiciones

- **Medicamento biosimilar: medicamento biotecnológico que demuestra similaridad en términos de calidad seguridad y eficacia con un medicamento biotecnológico innovador ya autorizado, el cual debe emplearse como producto de referencia en estudios de similaridad y comparabilidad.**
- Medicamento biotecnológico innovador: medicamento original, autorizado sobre la base de un expediente completo de registro, conteniendo los datos completos de calidad, eficacia y seguridad.



Biosimilares

- Se refiere a proteínas y péptidos producidos mediante procedimientos biotecnológicos. Son similares a productos que ya han sido aprobados, de los cuales se toman aquellos conocimientos científicos de seguridad y eficacia como datos confiables

- Dos productos serán considerados biosimilares si se demuestra que ambos tienen el mismo principio activo, misma forma farmacéutica y se demuestra que son terapéuticamente equivalentes



Aspectos Regulatorios

- En USA, las proteínas y los péptidos son aprobados por la FDA como NDA (New Drug Application, section 505) o como BLA (Biological Licence Application, section 351 PHA Public Health Service Act)



Guidance for Industry

Draft Guidance

- Quality Considerations in Demonstrating Biosimilarity to a Reference Protein Producta
 - Scientific Consideration in Demonstrating Biosimilarity to a Reference Product
-
- U.S Department of Health and Human Services
 - Food and Drug Administration
 - Center for Drug Evaluation and Research (CDER)
 - Center for Biologics Evaluation and Research (CBER)
 - February 2012



EMA Marco Regulatorio

- EMA (UE): Similar Biological Medicinal Products (SBMP).
- **Cada producto biosimilar es analizado a través de Guías específicas para Productos Biosimilares “caso por caso”**
- **Guidelines on “Similar Biological Medicinal Products”**
- **Guidelines on SBMP containing biotechnological-derived proteins as Active Substance**
 - **Quality issues**
 - **Non-Clinical and Clinical issues**
- **Annex to guideline on SBMP**
- **Adopción de ICH-Q5E como Guía de Comparabilidad**



EMEA Directivas

- La eficacia y seguridad de un producto biotecnológico debe ser demostrada mediante ensayos clínicos
- Esto se aplicará mediante una evaluación “caso por caso”
- La profundidad de los estudios requeridos dependerá del producto, uso terapéutico, marcadores subrogantes, experiencia clínica
- La inmunogenicidad podría analizarse en estudios de fase IV (evaluación pos marketing)



Guía para la Industria

- En 1999 la FDA difunde una guía 505(b)(2), aceptando aplicaciones presentadas a través de esta vía para productos cuyos ingredientes farmacéuticos activos derivan de fuentes naturales o tecnología de ADN recombinante.
- La FDA aprobó en 2006 una aplicación 505(b)(2) para una hormona de crecimiento recombinante.
- En Mayo de 2010 el BPCI Act. crea una vía de aprobación abreviada para productos biológicos que demuestren ser biosimilares o intercambiables con productos de referencia



Productos Biosimilares

- Omnitrope (somatropin): fue la primer hormona de crecimiento humana recombinante en ser aprobada como ANDA FDA 505(b)(2) tomando como producto de referencia o similar a “Genotropin” rh-GH, aprobado por FDA para la misma indicación.



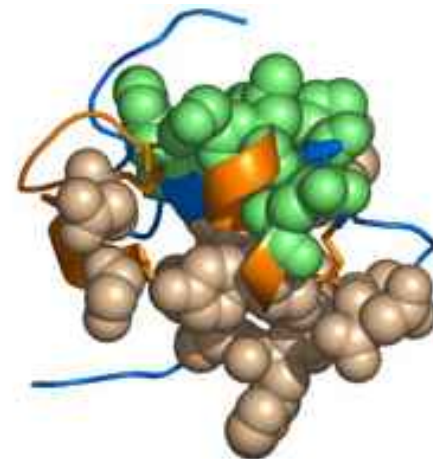
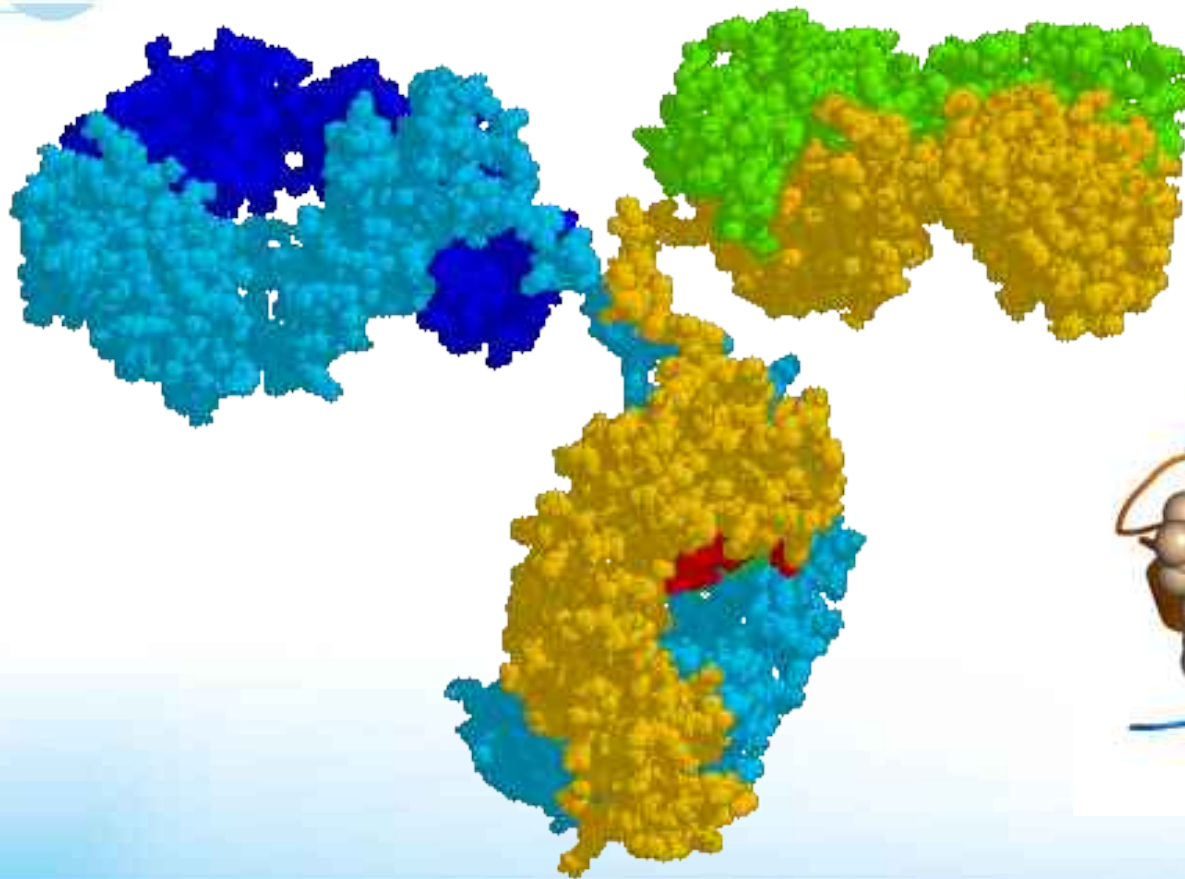
Proteínas Recombinantes Aprobadas como Similares

- Glucagon
- Fortical (calcitonina de salmón)
- Omnitrope (hormona de crecimiento)
- Eprex (eritropoyetina)
- Recombibax HB (vacuna hepatitis B)
- Ratiograstim (filgrastim, G-CSF)



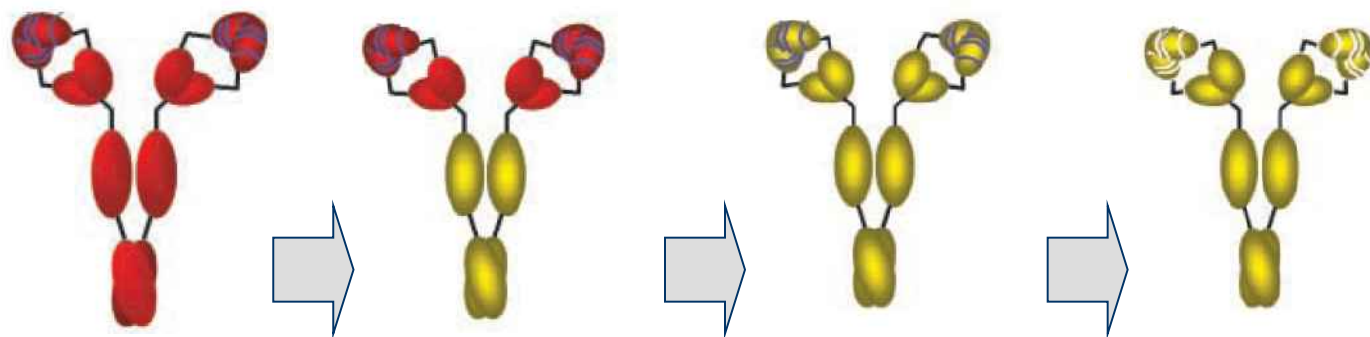
Top 5 Biotecnológicos

Marca	Ingrediente Activo	Indicación	Compañía	2011 ventas globales (US\$ billion)
Humira	adalimumab	Arthritis	Abbott	7.9
Enbrel	etanercept	Arthritis	Amgen	7.3
Remicade	infliximab	Arthritis	Johnson & Johnson	6.9
Lantus	insulin glargine	Diabetes	sanofi-aventis	5.9
MabThera	rituximab	Arthritis	Roche	5.5





Evolución de Anticuerpos Monoclonales Mabs



● Murino
● humano

Murine mAb

Arcitumomab
(CEA-Scan®)
(1996)

Chimaeric mAb

Infliximab
(Remicade®)
(1999)

Humanized mAb

Trastuzumab
(Herceptin®)
(2000)

Fully Human mAb

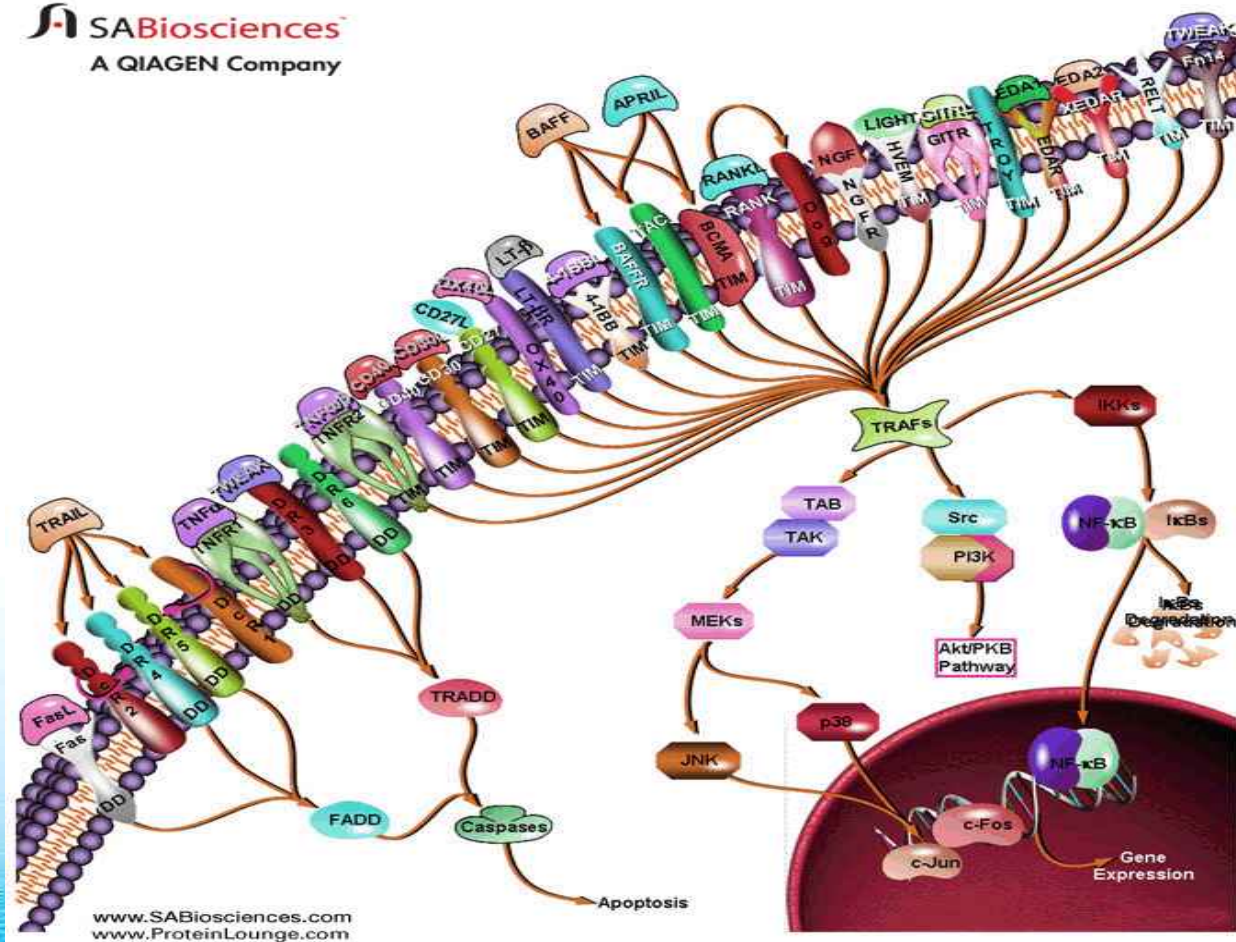
Adalimumab
(Humira®)
(2003)

Inmunogenicidad



Necrosis Factor (TNF) Ligand and Receptor

SABiosciences
A QIAGEN Company

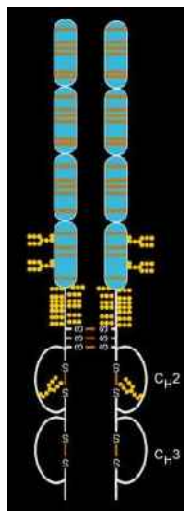




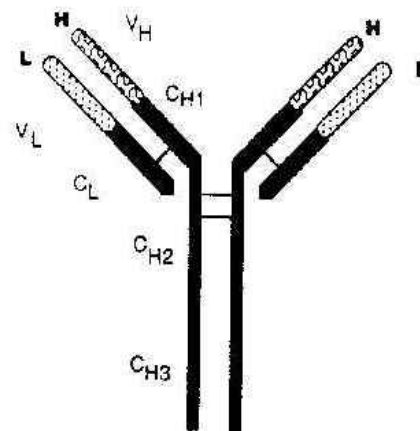
“Mab is more than Fab”

1) European Medicines Agency (EMA). European Public Assessment Report for Remicade, <http://www.emea.europa.eu/humandocs/Humans/EPAR/remicade/remicade.htm> (2007).

2) Sandborn, W.J. et al: Etanercept for active Crohn's disease: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Gastroenterology* 121(5):1088-94 (2001).



Enbrel®
Etanercept



Remicade®
Infliximab



• **Infliximab is efficacious in Crohn's disease1), but etanercept is not2)**



Biosimilars: what clinicians should know

blood

October 23, 2012;
doi:10.1182/blood-2012-04-
425744



Inquietudes Frecuentes sobre Biosimilares

- El termino “biosimilar pero no idéntico” provoca incertidumbre.
- Sin embargo este principio no es nuevo dado que distintos lotes de productos originales, aunque sean consecutivos, “nunca son idénticos” entre si

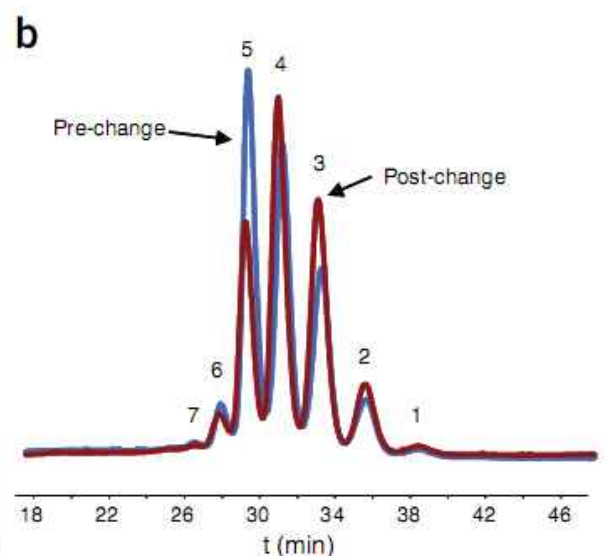
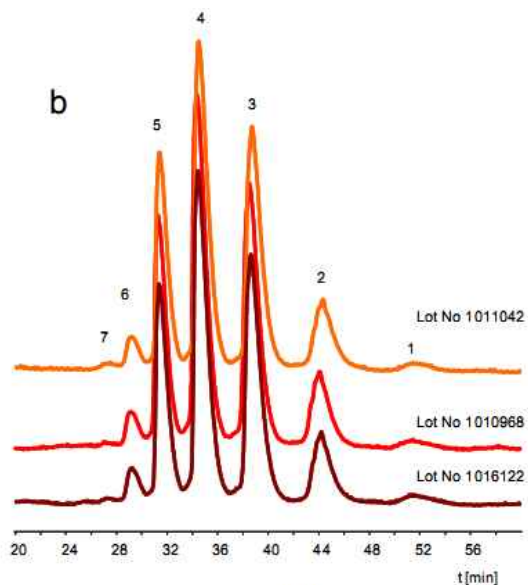
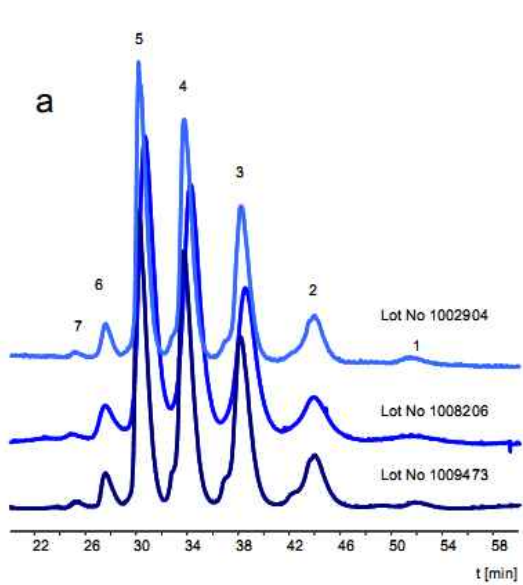


Acceptable changes in quality attributes of glycosylated Biopharmaceuticals

Nature Biotechnology
Vol. 29 N°4 April 2011

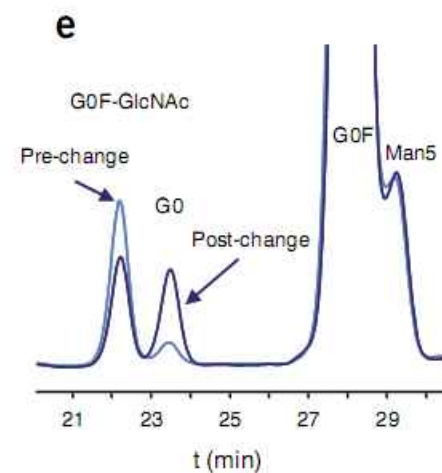
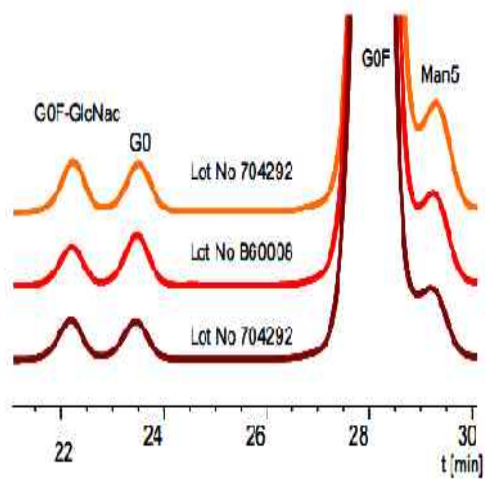
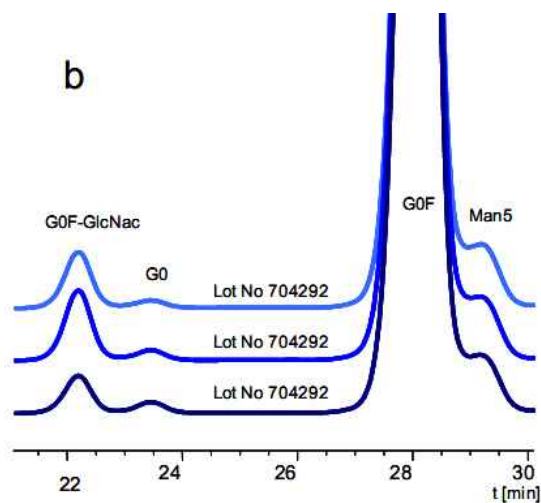


Aranesp™ (darbepoetina alfa)



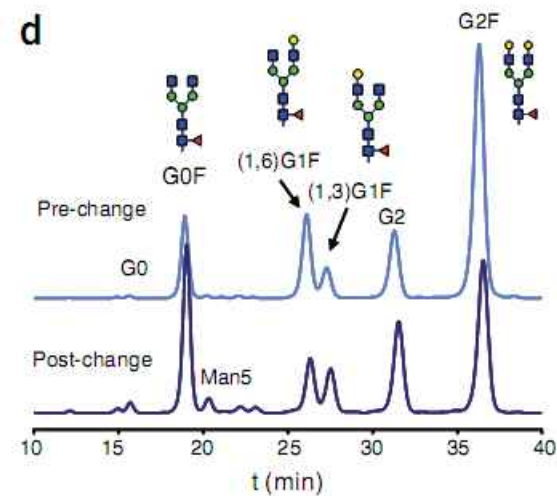
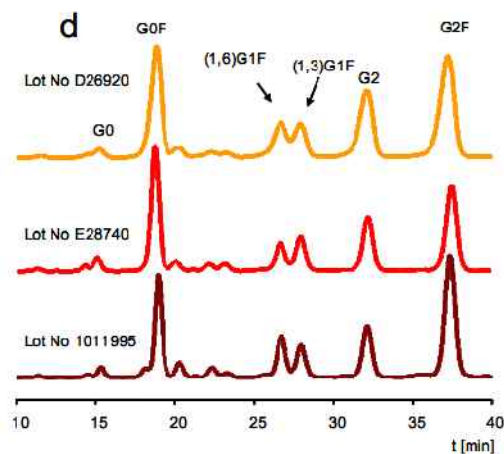
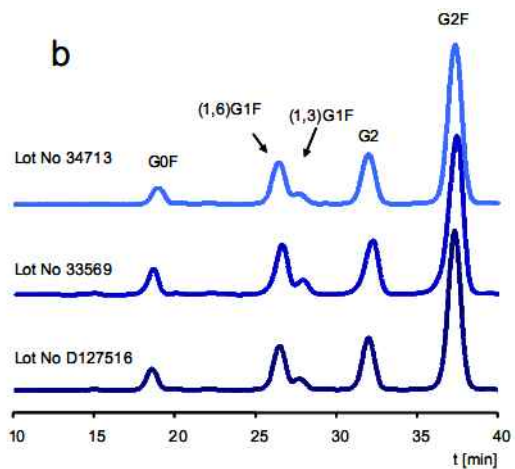


Rituxam™ / Mabthera™ (rituximab)





Etanercept





Cambio Mayor de Manufactura

- Avonex (*interferón $\beta 1a$*)
- El producto tomado como referencia fue el Bioferon.
- Avonex desarrolló su propio proceso de manufactura
- Se debió cambiar la Línea Celular
- Teniendo en cuenta datos fisicoquímicos y el resultado de múltiples bioensayos la FDA los consideró suficientemente comparables para tomar los datos de eficacia de Bioferon como soporte de la aprobación de Avonex



Inquietudes Frecuentes sobre Biosimilares

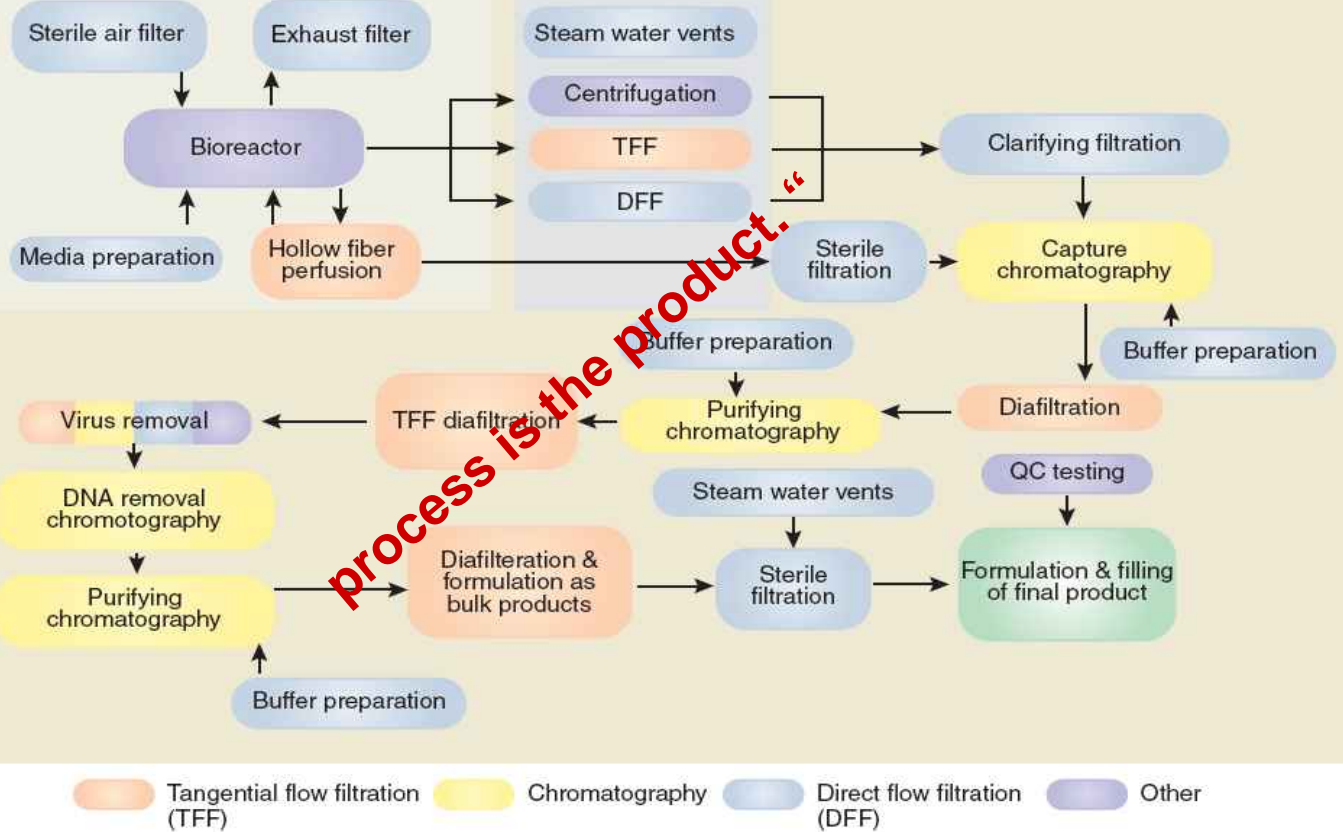
- El proceso de manufactura para un producto biosimilar debe cumplir con idénticos requerimientos de calidad que cualquier producto biológico innovador, debiendo demostrar consistencia y alta calidad en cada lote de producción.
- Presuponer que el producto biosimilar posee baja calidad carece de criterio científico y no se ajusta a los estándares de buenas prácticas de manufactura



Producción de Anticuerpos Monoclonales

Carson KL. Flexibility
– The guiding
principle for antibody
manufacturing.

Nature Biotechnol
23(9): 1054 (2005)





Inquietudes Frecuentes sobre Biosimilares

- Las dudas generadas sobre la calidad farmacéutica, seguridad, eficacia clínica, intercambiabilidad con el producto de referencia, deben ser discutidas sobre la base de los principios científicos que rigen a los biosimilares



Ensayos de Similaridad

- La similaridad con el producto de referencia debe estar claramente demostrada con la totalidad de datos del ejercicio de comparabilidad
- Una exhaustiva caracterización y comparación de las propiedades fisicoquímicas y la actividad biológica del biosimilar y el producto original es el concepto fundamental y el prerequisite para una reducción en la cantidad de datos no-clínicos y clínicos.



Inmunogenicidad

- La inmunogenicidad puede estar influenciada por el paciente, la enfermedad, o por factores relacionados al producto
- Los factores relacionados al paciente y a la enfermedad son bien conocidos por la experiencia ganada por el productor original, por lo cual no necesitan ser re-investigados
- El foco de atención debe estar puesto en factores que potencialmente pudiesen estar relacionados al producto tales como alteraciones estructurales o impurezas /contaminantes, muchos de los cuales son detectados por métodos analíticos actuales



Inmunogenicidad

- La inmunogenicidad es un problema potencial para todos los productos biológicos, originales y biosimilares
- Es de suma importancia contar con datos de inmunogenicidad comparativa entre el producto similar y el original en humanos que permitan descartar potenciales eventos adversos en este parámetro



Extrapolación de Datos Clínicos

- Si la similaridad clínica es demostrada para una indicación clave, es factible extrapolar datos de seguridad y eficacia para otra/s indicación/es del producto original, siempre que los mecanismos relevantes de la acción terapéutica y los receptores involucrados en la mencionada indicación/es sean los mismos.



Extrapolación de Datos Clínicos

- En caso de que el mecanismo de acción del producto, no sea bien conocido, se llevarán a cabo estudios farmacodinámicos comparativos .
- Ej. G-CSF además de evaluar la población de neutrófilos totales en sujetos sanos, se llevó a cabo el recuento de células CD34+ para asegurar la movilización de células madres desde la médula espinal.
- Basados en este principio de extrapolación de datos de seguridad y eficacia del producto de referencia, fueron aprobados para otras indicaciones productos biosimilares conteniendo eritropoyetina, somatotrofina y filgrastim.



Implicancias para pacientes y médicos

- Los biosimilares permiten mejorar el acceso de la población al segmento de productos bioterapéuticos, con costos reducidos
- El prolongado tiempo necesario para desarrollar un biosimilar así como los altos requerimientos regulatorios para asegurar su calidad, seguridad y eficacia hacen que la reducción en su precio no sea todo lo profunda como se ha logrado para drogas de síntesis
- ***Sin embargo, ha sido estimado que con un 20% de reducción en el precio de 5 biofarmacéuticos con patentes vencidas permitirán ahorrar más de 1.6 billones de euros/año en EU y de 9 a 12 millones de dólares/año al gobierno de US por los próximos 10 años***



EMA evalúa su primer anticuerpo monoclonal

- **Estaría en evaluación una nueva presentación ante el comité de productos médicos de la EMA de una versión Biosimilar del producto infliximab**

- Infliximab es un anticuerpo monoclonal, cuyo target es el factor de necrosis tumoral (tumour necrosis factor-alpha TNF- α).

- Infliximab actúa como droga anti-inflamatoria y es utilizada para el tratamiento de la espondilitis anquilosante, enfermedad de Crohn, artritis psoriásica, artritis reumatoidea, colitis ulcerosa.

- El producto se presenta como un biosimilar al blockbuster Remicade de Johnson and Johnson, el cual tuvo ventas de US\$ 8 billones en 2010.



Productos Biofarmacéuticos en Argentina

- Argentina ha marcado el liderazgo entre los países de Latinoamérica en el desarrollo y producción de productos biosimilares

- Desde hace mas de 10 años se comercializan productos tales como: eritropoyetina, interferón α y β , hormona de crecimiento, filgrastim, etc.

- Existen en curso proyectos para producir productos biosimilares tales como insulina, análogos de insulina, anticuerpos monoclonales, así como productos originales



Conclusiones

- Los principios que rigen los desarrollos de biosimilares son científicamente sólidos y están compartidos en US, EU y en otras regiones con elevados estándares regulatorios
- Los principios científicos para establecer “biosimilaridad” son los mismos que los empleados para demostrar “comparabilidad” después de un cambio en el proceso de manufactura de un producto biológico original



Conclusiones

- El foco del desarrollo de un biosimilar es demostrar convincentemente una alta similaridad al producto original como base para tomar parte de las experiencias de seguridad y eficacia logradas con el “producto de referencia”
- Los requerimientos de calidad farmacéutica de los biosimilares son los mismos que para los biológicos novedosos
- Los datos de Seguridad en Humanos (incluyendo inmunogenicidad) son indispensables para aprobar biosimilares



Conclusiones

- El tipo y magnitud de datos clínicos requeridos dependerá de la complejidad y grado de caracterización del principio activo, disponibilidad de marcadores subrogantes que evalúen eficacia y en la posibilidad de extrapolar datos de seguridad y eficacia para otras indicaciones del producto de referencia
- La “trazabilidad” es importante para todos los productos biológicos incluyendo a los biosimilares



Conclusiones

- La decisión que toma la autoridad regulatoria se basada en la “totalidad de la evidencia” provista por quien presenta el producto, como sustento de la biosimilaridad



Janet Woodcock
FDA Scientific and Regulatory Committee
Nature Reviews. June 2007 vol.6 nº6 437-442

- La posibilidad de predecir que dos productos son clínicamente comparables dependerá de nuestra capacidad para relacionar las características estructurales del producto con su función, del mismo modo se debe demostrar la similaridad estructural entre una proteína biosimilar y el producto de referencia
-
- “En la actualidad esto es factible para algunas proteínas no muy complejas”