



© Deutscher Apotheker Verlag

(Fast) wie ein rohes Ei

Besonderheiten im Umgang mit Proteinen als Arzneimittel

Von Franz Stadler und Thomas Wellenhofer | **Auf Proteinen basierende Arzneimittel sind weit verbreitet und gehören zur Gruppe der Biopharmazeutika, die mithilfe gentechnischer Produktionsprozesse hergestellt werden. Ihre Bedeutung, medizinisch, aber auch wirtschaftlich, und damit ihre Verbreitung wachsen ständig. Gerade für die Praktiker, Apotheker und Ärzte, ist es deshalb wichtig, die Besonderheiten dieser Arzneistoffgruppe zu kennen und die sich daraus ergebenden erhöhten Sorgfaltspflichten im täglichen Umgang möglichst einzuhalten.**

Schon die wirtschaftlichen Zahlen sprechen eine eindeutige Sprache: Weltweit wurden 2021 etwa 389 Mrd. US-Dollar mit Biopharmazeutika umgesetzt, davon allein 44% in Nordamerika. Bis 2030 rechnet die Branche je nach Datenquelle mit 720 bis 974 Mrd. US-Dollar Umsatz, was einem jährlichen Wachstum von über 7% entspricht [1].

In Deutschland ist der Marktanteil der Biopharmazeutika am Gesamtarzneimittelmarkt 2022 auf 32,9% gestiegen und betrug nach Angaben des Verbandes der forschenden Pharma-Unternehmen in Deutschland (vfa) 17,8 Mrd. Euro [2]. Doch nicht nur die wirtschaftlichen Daten sind eindrucksvoll: 59% aller neu zugelassenen Medikamente 2022 waren Biopharmazeutika (2021: 46%), so der vfa. Das unterstreicht die kontinuierlichen wissenschaftlichen Fortschritte in diesem Bereich und führt in der Folge zu einer Vielzahl neuer Behandlungsmöglichkeiten bei schweren und lebensbedrohlichen Erkrankungen, z.B. bei Krebs, Rheuma und multipler Sklerose. Biopharmazeutika, insbesondere Impfstoffe, Insuline, Enzyme, Wachstumshormone und andere Proteine, sind aus der modernen Medizin schlicht nicht mehr wegzudenken. Unter den proteinhaltigen Arzneimitteln wiederum sind monoklonale Antikörper (mAb) die dominante Untergruppe [3], die in der Praxis häufig verwendet werden und oft unter aseptischen Bedingungen in einem Reinraum zubereitet werden müssen.

Foto: frax/adobeStock

Kein Nachdruck, keine Veröffentlichung im Internet oder einem Intranet ohne Zustimmung des Verlags!

Besonderheiten

Arzneimittel können unter anderem grob in zwei Hauptwirkstoffgruppen eingeteilt werden: Biopharmazeutika und small molecules. Diese sind grundsätzlich verschieden. Deren zentrale Kriterien sind in der Tabelle zusammengefasst. Kleine Moleküle sind in aller Regel durch replizierbare chemische Synthesen hergestellt worden, deshalb gut definiert und hinsichtlich Qualität, Sicherheit und Wirksamkeit verhältnismäßig leicht zu analysieren [4]. Sie sind wesentlich kleiner (ca. 0,1 nm) als beispielsweise monoklonale Antikörper (ca. 9 nm), haben ein deutlich niedrigeres Molekulargewicht als Biopharmazeutika und bestehen meist aus weniger als 100 Atomen.

Tab.: **Hauptunterschiede zwischen Biopharmazeutika und small molecules** (nach [6])

Biopharmazeutika	small molecules
Herstellung in lebenden Organismen (Bakterien, Pilze, Zellkulturen)	Herstellung durch chemische Reaktionen verschiedener organischer und/oder anorganischer Verbindungen
hohes Molekulargewicht	niedriges Molekulargewicht
komplexe, heterogene Struktur	klar definierte Struktur
stark vom Herstellungsprozess abhängig	meist nicht prozessabhängig
nicht komplett charakterisierbar	komplett charakterisierbar
relativ instabil	stabil
hohe Immunogenität	niedrige Immunogenität

Dagegen führt der biologische Herstellungsprozess bei Biopharmazeutika zu komplexen Proteingemischen, die erst durch die im Zulassungsverfahren hinterlegten Produktspezifikationen als Wirkstoff charakterisiert werden. Selbst die Zusammensetzungen verschiedener Chargen des Originalproduktes schwanken leicht. Biosimilars müssen für ihre Zulassung ebenfalls die Produktspezifikationen des entsprechenden Referenzproduktes erfüllen – eine Tatsache, die für die Diskussion über eine mögliche Substituierbarkeit ein entscheidendes Argument ist [5].

Für die Praxis von besonderer Bedeutung im Umgang mit proteinhaltigen Arzneimitteln sind aber zwei Eigenschaften:

- geringe Stabilität und
- hohe Immunogenität.

Geringe Stabilität

Proteine bestehen überwiegend aus Aminosäureketten, deren räumliche Anordnung, Quartärstruktur, ihre Wirkung bestimmt. Die physikalisch-chemische Stabilität von Proteinen wird von vielen Faktoren bestimmt und bei

jedem Protein, jedem monoklonalen Antikörper, abhängig von der molekularen Zusammensetzung, räumlichen Struktur und dem Milieu (Hilfsstoffe, Verunreinigungen etc.). Im Folgenden soll nur die Vielzahl der möglichen Einflussfaktoren dargestellt und ansonsten auf die Arbeit von Le Basle et al. [7] verwiesen werden, die eine gute Übersicht über den aktuellen Stand (inklusive Sekundärliteratur) bietet. Einflussfaktoren können sein:

- Oxidationsprozesse (ausgelöst durch Licht, Metalle, Peroxide oder auch Autoxidation)
- Degenerationsvorgänge und chemische Modifikationen (Bildung/Abbau von Disulfidbrücken, Desaminierungen, Glykation, Fragmentierungen etc.)
- Instabilitäten durch Veränderung der Umgebungsbedingungen (pH-Wert, Ionenstärke, Temperatur etc.)
- Aggregation (Selbstassoziation [durch z.B. van der Waals-Kräfte] oder kovalente Aggregation durch z.B. Bildung von Disulfidbrücken)
- aktuelle Protein- und Hilfsstoffkonzentration
- Art und Reinheit der Hilfsstoffe
- Zahl und Art der vorhandenen Grenzflächen (Luft, Silikonöle, Oberflächen der Primärverpackungen, Infusionsschläuche, Filter etc.)
- mechanischer Stress (durch Schütteln oder Scherung, aber auch durch Schockereignisse)

Alle diese Faktoren können jeder für sich oder in Kombination zu Konformationsänderungen, Denaturierungen und Aggregation führen. Letztlich zeigen Proteine eine geringe Stabilität. Deshalb wird von den pharmazeutischen Unternehmen (in Zusammenarbeit mit den Zulassungsbehörden) ein erheblicher Aufwand betrieben, um relevante Einflussfaktoren auf die Stabilität zu identifizieren und in der Formulierung des Endproduktes zu beachten. Zur Stabilisierung von proteinhaltigen Arzneistoffen in den Fertigarzneimitteln bzw. Konzentraten werden z.B. die Vials mit Stickstoff oder Ähnlichem begast und Hilfsstoffe wie z.B. Polysorbate eingesetzt. Deklarierungspflichtige Hilfs- →

Wie Patienten proteinhaltige Arzneimittel (Antikörper) richtig lagern sollten

- Lagertemperatur: 2 bis 8 °C, am besten auf der Glasplatte über dem Gemüsfach im Kühlschrank, nicht zu nah an der Rückwand (Frostgefahr) und nicht unmittelbar in Nähe der Tür (zu warm)
- gekühlt transportieren: für den kurzfristigen Transport zwischen Apotheke und Praxis oder der Wohnung des Patienten reichen eine Styroporbox oder eine Thermotasche aus, die mit im Kühlschrank – nicht im Gefrierfach – gekühlten Aggregaten bestückt wird
- Schutz vor UV-Strahlung: Arzneimittel stets im Umkarton aufbewahren
- Schutz vor mechanischen Einflüssen: Nicht schütteln!

stoffe sind der jeweiligen Fachinformation zu entnehmen. Aber gerade im Regelbetrieb während der Zubereitung und danach bis zur Applikation am Patienten, also in verdünnten, applikationsfertigen Lösungen, kann je nach Handhabung vieles passieren. Einen guten Einblick dazu vermittelt die von der Stiftung für Arzneimittelsicherheit finanzierte Sondierungsstudie, die zwar bei den untersuchten monoklonalen Antikörpern unter den gewählten Bedingungen und Analysemethoden keine relevanten Gehaltsänderungen, aber ein dynamisches Geschehen hinsichtlich der Partikelzahlen zeigte [8].

Hohe Immunogenität

Die Eigenschaft der Immunogenität, also eine Immunantwort auslösen zu können, ist allen (körperfremden) Proteinen und anderen Biopharmazeutika intrinsisch – das Ausmaß und die klinische Relevanz können jedoch, auch patientenindividuell, stark variieren. Immunogenität kann zur Neutralisierung eines Proteins (z.B. eines monoklonalen Antikörpers) führen (Wirkverlust durch Anti Drug Antibodies, ADA), aber auch zu Kreuzreaktionen mit einem endogenen Gegenspieler, die eine IgE-vermittelte unmittelbare Überempfindlichkeit und Anaphylaxie auslösen können. Wiederholte Gaben können das Risiko einer Immunantwort oder einer Intoleranz erhöhen (Beispiel Erythropoietin aus [9]). Derartige Nebenwirkungen können manchmal erst nach Jahren auftreten. Dabei ist es nicht immer leicht, Ursache und Wirkung miteinander in Verbindung zu bringen. Viele dieser Vorgänge sind noch nicht bis ins letzte Detail geklärt und hängen wiederum von diversen Einflussfaktoren ab [10].

Ziemlich sicher ist hingegen, dass Aggregate im Vergleich zu Monomeren eine höhere Immunogenität zeigen [7]. Besonders immunogen sind Partikel zwischen 20 nm und 50 nm Größe [11], das heißt auch Nanopartikel sollten in die Betrachtungen miteinbezogen werden. Schon in vielen klinischen Zulassungsstudien sind erhebliche Immunogenitäten beobachtet worden [12], die aber teilweise wegen des hohen gesundheitlichen Nutzens der biologischen Arzneimittel toleriert wurden und werden (Nutzen-Risiko-Abwägung). Deshalb ist es evident, dass nur für wenige Patienten ihre Therapie über einen längeren Zeitraum wirksam bleibt – eben, weil alle anderen Immunogenitäten (vor allem Anti Drug Antibodies) gegen den verabreichten biologischen Wirkstoff entwickeln [12].

Vorsichtsmaßnahmen in der Praxis

Wegen dieser letztlich unvermeidlichen Immunogenitäten und den unvorhersehbaren Auswirkungen auf (einzelne) Patienten sind für die Handhabung in der Praxis, insbesondere bei der Herstellung applikationsfertiger Infusionslösungen, folgende Vorsichtsmaßnahmen zur Minimierung von zusätzlichen Instabilitäten und ihrer möglichen Folgen zu empfehlen:

- Strikte Einhaltung der Angaben der jeweiligen Fachinformationen. Stabilitätsstudien Dritter sind mit Vorsicht zu



Foto: F. Stadler

Abb.: **Luftbläschen** sind ein möglicher Störfaktor für die Sicherstellung der Qualität von Infusionszubereitungen mit monoklonalen Antikörpern und sollten daher vermieden werden.

genießen, falls sie nicht möglichst viele Aspekte der Proteinestabilität untersuchen. Nur eine Kenngröße zu bestimmen, ist für verlässliche Aussagen definitiv zu wenig. Zudem sind Schlussfolgerungen möglicherweise nicht auf jede Situation übertragbar, und das Risiko einer Instabilität der monoklonalen Antikörper besteht fort.

- Der Luftrest im Infusionsbeutel (Headspace, Abb.) sollte vor der Zugabe des Konzentrates der monoklonalen Antikörper entfernt werden (Grenzflächenreduzierung).
- Jede Form von unnötiger Energiezufuhr (Licht, Wärme, mechanischer Stress etc.) sollte vermieden werden. Dabei ist auch der Faktor Zeit zu berücksichtigen und zu minimieren.
- Zur Reduzierung einer durch Licht ausgelösten Proteindegradation sind LED-Lampen und die Anbringung von UV-Schutzfolien an den Fenstern der Reinnräume empfehlenswert.
- Der Eintrag von Partikeln, die als Keimzellen der Aggregatsbildung dienen könnten (Stopfenabriebe, Silikontröpfchen etc.), sollte bei der Zubereitung so gering wie möglich sein, das heißt möglichst wenige Manipulationen am Infusionsbeutel oder mit den Hilfsmitteln.
- Silikonhaltige Spritzen sind zu vermeiden oder gegebenenfalls einmal mit NaCl-Lösung vorzuspülen.
- Die Zeitspanne zwischen Zubereitung der Infusionen und deren Anwendung sollte so kurz wie möglich gehalten werden.

Es versteht sich von selbst, dass z.B. Transporte in Rohrpostanlagen [13] oder über lange Strecken mit energiereichen „Schockereignissen“ z.B. in Fahrzeugen bei Fahrbahnschäden, Bremsmanövern etc. nicht zu empfehlen sind. Selbstverständlich sind gegebenenfalls notwendige Herstellungsschritte unter mikrobiell einwandfreien Bedingungen auszuführen.

Bei künftigen Untersuchungen bzw. Stabilitätsstudien sollten der Einfluss verwendeter Hilfsmittel (Chemospike, Inlinefilter etc.) und auch kleinere Aggregate oder Partikel im Nanobereich vermehrt in den Fokus genommen werden, was bisher kaum der Fall ist. Auch hierzu lieferte die bereits

erwähnte Studie bemerkenswerte Daten [8]. Ferner sollten die Anforderungen der Arzneibücher, die sich bisher nur auf Partikelgrößen über 10 µm (!) beziehen, angepasst werden. Für Injektionen und Infusionen werden bisher nur Prüfungen auf sichtbare Partikel (z. B. Ph.Eur. 2.9.20.) oder nicht sichtbare Partikel (z. B. Ph.Eur. 2.9.19.) mit Grenzwerten im µm-Bereich (> 10 µm oder > 25 µm) vorgegeben. Angesichts der großen medizinischen Bedeutung proteinhaltiger Arzneimittel sind mehr Aufklärung für die Praxis als bisher und insgesamt eine Stärkung des Bewusstseins für die Notwendigkeit eines sorgfältigen und behutsamen Umganges ganz im Interesse der Arzneimittelsicherheit erforderlich. |

Literatur

- [1] Biopharmaceutical Market Share Analysis Report by Product Type (Monoclonal Antibodies, Recombinant Growth Factors, Purified Proteins, Recombinant Proteins, Recombinant Hormones, Vaccines), Therapeutic Application (Oncology, Inflammatory and Infectious Diseases, Autoimmune Disorders, Metabolic Disorders, Hormonal Disorders, Cardiovascular Diseases, Neurological Diseases) – Global Industry Demand Forecast to 2030. Informationen der Prescient & Strategic Intelligence, September 2022, www.psmarketresearch.com/market-analysis/biopharmaceuticals-market#
- [2] Mehr als die Hälfte der neu zugelassenen Medikamente sind Biopharmazeutika. Pressemitteilung 011/2023 des vfa. Die forschenden Pharma-Unternehmen vom 22. Mai 2023, www.vfa.de/de/presse/pressemitteilungen/pm-011-2023-mehr-als-die-haelfte-der-neu-zugelassenen-medikamente-sind-biopharmazeutika.html

Das vollständige Literaturverzeichnis finden Sie am Ende dieses Beitrages auf DAZ.online unter www.deutsche-apotheker-zeitung.de

Autoren

Dr. Franz Stadler ist Apotheker, leitete viele Jahre in Erding die Sterilherstellung der Sempt Apotheke. Er ist Autor des Buches „Medikamenten Monopoly“ und Mitgründer der Stiftung für Arzneimittelsicherheit, die die unter [8] zitierte Studie angestoßen und finanziert hat.



Dr. Thomas Wellenhofer, seit 1997 selbstständiger Apotheker, Inhaber der Bahnhof Apotheke in Freilassing, die über ein Reinraumlabor zur Zytostatikazubereitung verfügt. Mitbegründer der Arbeitsgemeinschaft für Parenterale Zubereitungen (ARGE PareZu). Autor von Publikationen zu Fragestellungen der patientenindividuellen Verblisterung, aber auch der Sterilherstellung.



autor@deutsche-apotheker-zeitung.de

- [3] Dingermann T. Monoklonale Antikörper dominieren die Biotech-Branche. PZ online vom 30. Juni 2021, www.pharmazeutische-zeitung.de/monoklonale-antikoeper-dominieren-die-biotech-branche-126615/#:~:text=Es%20wurden%20ums%20A4tze%20mit%20diesen,noch%20auf%202019%20C%20Prozent
- [4] A Brief Guide to Small-Molecule Compounds and FDA Regulations. 31. Oktober 2014, www.thefdagroup.com/blog/2014/10/small-molecule-compounds/
- [5] Stadler F. Automatische Biosimilar-Substitution in den Apotheken – Ja oder Nein? DAZ.online vom 25. Februar 2022, www.deutsche-apotheker-zeitung.de/news/artikel/2022/02/25/automatische-biosimilar-substitution-in-den-apotheken-ja-oder-kein/chapter:all
- [6] Makuvert FD. Biologicals vs. Small molecules: Drug costs and patient access. *Medicine in Drug Discovery* 2020, <http://dx.doi.org/10.1016/j.medd.2020.100075>
- [7] Le Basle Y, Chennell P, Tokhadze N, Astier A, Sautou V. Physicochemical Stability of Monoclonal Antibodies: A Review. *J Pharm Sci* 2020;109(1):169-190, doi: 10.1016/j.xphs.2019.08.009. Epub 26. August 2019, PMID: 31465737. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31465737/>
- [8] Abdel-Tawab M, Banerjee S, Kirchner R, Wellenhofer T, Hahn L, Meinel L, Holzgrabe U, Schubert-Zsilavecz M, Seidl A, Stadler F. An exploratory study on the effect of mechanical stress on particle formation in monoclonal antibody infusions. *Arch Pharm* 2023, e2300101, <http://doi.org/10.1002/ardp.202300101>
- [9] Guidance for Industry Immunogenicity Assessment for Therapeutic Protein Products. Food and Drug Administration (FDA) 2014, www.fda.gov/media/85017/download
- [10] Guideline on Immunogenicity assessment of therapeutic proteins, European Medicines Agency (EMA) 2017, www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-immunogenicity-assessment-therapeutic-proteins-revision-1_en.pdf
- [11] Nguyen B, Tolia NH. Protein-based antigen presentation platforms for nanoparticle vaccines. *npj Vaccines* 2021;6:70, <https://doi.org/10.1038/s41541-021-00330-7>
- [12] Lagassé HAD, McCormick Q, Sauna ZE. Secondary failure: immune responses to approved protein therapeutics. *Trends Mol Med* 2021;27(11):1074-1083, doi: 10.1016/j.molmed.2021.08.003, Epub 4. September 2021, PMID: 34493437, <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34493437/>
- [13] Linkuvienė V, Ross EL, Crawford L, Weiser SE, Man D, Kay S, Kolhe P, Carpenter JF. Effects of Transportation of IV Bags Containing Protein Formulations Via Hospital Pneumatic Tube System: Particle Characterization by Multiple Methods. *J Pharm Sci* 2022;111(4):1024-1039, doi: 10.1016/j.xphs.2022.01.016, Epub 31. Januar 2022, PMID: 350933368