

DIE NÄCHSTE KOGENATE® GENERATION: VORTEILE UND SICHERHEITSASPEKTE DES NEUEN PRODUKTIONSPROZESSES

G. BURTON

*Für die Produktion von KOGENATE®
Bayer wird weder im Reinigungsprozess noch in der
Formulierung Humanalbumin eingesetzt. Der neu
entwickelte Prozess erhält die Struktur und Aktivität
des FVIII-Moleküls unter Einsatz neuer Technologien
und rationalisierter Reinigungsschritte. Zusätzlich
wird die Virussicherheit durch den Einsatz der Sol-
vens/Detergens Methode erhöht. Die Saccharose-
formulierung des Endproduktes enthält keine Bestand-
teile humaner oder tierischer Herkunft.*

EINLEITUNG

Das humane FVIII-Molekül ist das größte und komplexeste Molekül, das bisher in der Biotechnologie entwickelt wurde. Das Molekulargewicht beträgt fast 300 Kilodalton und eine ungewöhnlich große Anzahl der Aminosäuren ist glykosiliert.

Allein die B-Domäne enthält 19 Glykosilierungsstellen. Auf Grund dieser Komplexität war die Entwicklung von KOGENATE® sehr zeit- und kostenaufwendig. Nach 10 Jahren Prozessentwicklung und klinischen Studien wurde KOGENATE® 1993 in den USA und 1994 in Europa zugelassen. Zu diesem Zeitpunkt begann bereits die Entwicklung der zweiten KOGENATE®-Generation, um den kontinuierlichen Weg fortzusetzen, fremde Proteine aus dem Produktionsprozess von FVIII auszuschließen.

MOTIVE FÜR DIE WEITERENTWICKLUNG VON KOGENATE®

Nach über 10 Jahren klinischer Erfahrung mit KOGENATE® wurde im Jahr 2000 KOGENATE® Bayer in den USA und in Europa eingeführt. Die Motivation zur Weiterentwicklung hatte zwei Ursachen. Zum einen kamen zu dem bekannten Thema der Virussicherheit nun noch weitere Bedenken bezüglich der Sicherheit von humanen Proteinen. So drohte die Diskussion über Prionen und der neue Freigabemodus für Humanalbumin zeitweise zu Engpässen bei der Versorgung zu führen. Zum anderen sollte KOGENATE® kompetitive Vorteile wahren. Folgende drei Möglichkeiten standen zur Wahl:

1. Es wird eine Formulierung ohne Zusatz von Human-Albumin entwickelt.
2. Weder im Reinigungsprozess, noch in der Formulierung wird Human-Albumin verwendet.
3. Im gesamten Produktionsprozess werden keine humanen Proteine mehr eingesetzt.

ENTWICKLUNGSKRITERIEN FÜR KOGENATE® BAYER

Die erste Alternative war zwar die am wenigsten zeitaufwendige, aber es ergab sich kein offensichtlicher Vorteil, da vor der Formulierung durchaus noch Humanalbumin zugesetzt würde und der Reinigungsprozess unverändert bliebe. Die zweite Alternative entspricht KOGENATE® Bayer und reduziert den Zusatz von Humanalbumin weit mehr. Außerdem eröffnete die Änderung des Reinigungsprozesses die Möglichkeit neue Technologien einzusetzen und den Grad der Reinigung und die Robustheit des Prozesses weiter zu verbessern. Die 1994 zur Verfügung stehenden Verbesserungen des Reinigungsprozesses wurden eingeführt. So ist die Produktion von KOGENATE® Bayer nun charakterisiert durch:

- einen vollkommenen Verzicht auf den Einsatz von Humanalbumin im Reinigungsprozess
- neue, ergänzende chromatographische Reinigungsschritte
- einen vollkommenen Verzicht auf den Einsatz von Humanalbumin in der Formulierung
- eine Viruseliminierungsstufe
- die bewährte Virusinaktivierung durch das Solvens/Detergens Verfahren

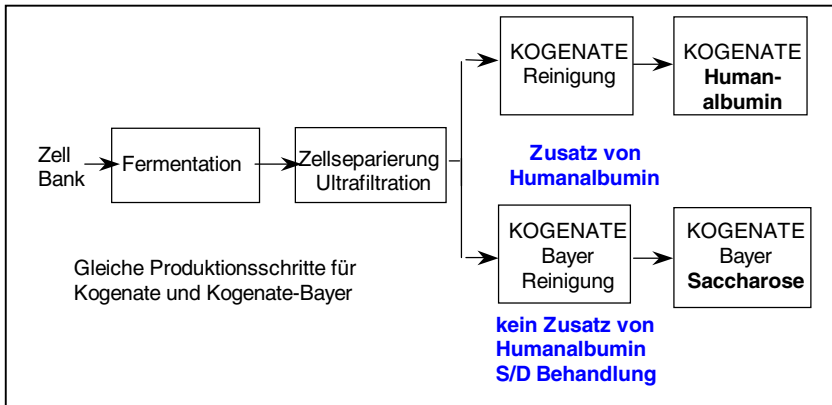


Abb. 1: Vergleich der Herstellungsprozesse

Die dritte Alternative zur Weiterentwicklung des FVIII-Konzentrats hätte den Vorteil, weitere Bedenken hinsichtlich der Virussicherheit bzw. Pathogensicherheit möglichst ausschließen zu können, da im gesamten Prozess keine humanen Proteine eingesetzt würden. Dem optimalen Sicherheitsprofil stehen jedoch weitere Jahre der Produktentwicklung gegenüber, in denen auch die Zell-Bänke und Kulturen und dadurch auch der Reinigungsprozess neu entwickelt werden müssten. Die technischen Voraussetzungen waren erst 1997 gegeben, als **KOGENATE® Bayer** bereits in der Entwicklung stand. So wurde zunächst **KOGENATE® Bayer** für die nähere Zukunft weiterentwickelt, aber gleichzeitig die proteinfreie Entwicklung als nächster Schritt ins Auge gefasst.

In der Zwischenzeit hatte Bayer weitere Maßnahmen ergriffen, um für den Hämophilie A Patienten die Produktsicherheit zu erhöhen. So werden inzwischen rekombinantes Insulin und synthetisches Glycerin in der Fermentation eingesetzt.

DER NEUE REINIGUNGSPROZESS

Humanalbumin hatte im Produktionsprozess von KOGENATE® die Funktion das FVIII-Molekül während der Reinigungsschritte zu stabilisieren. Um für KOGENATE® Bayer die optimale Stabilität des Moleküls in Abwesenheit von Humanalbumin zu erhalten, wurde die Verarbeitungszeit gekürzt, indem die Zahl der Reinigungsschritte verringert, Wiederholungsschritte vermieden und statt dessen neuerdings verfügbare effizientere chromatographische Technologien eingesetzt wurden (Abb. 2). Das Prinzip des Reinigungsprozesses blieb erhalten, es wurden aber ein zusätzlicher Virusinaktivierungsschritt und eine Metall-Chelat-Affinitätssäule hinzugefügt. Bei den bisherigen Schritten werden die gleichen Methoden verwandt wie für KOGENATE®, aber, soweit verfügbar, mit neuem, leistungsfähigerem Material.

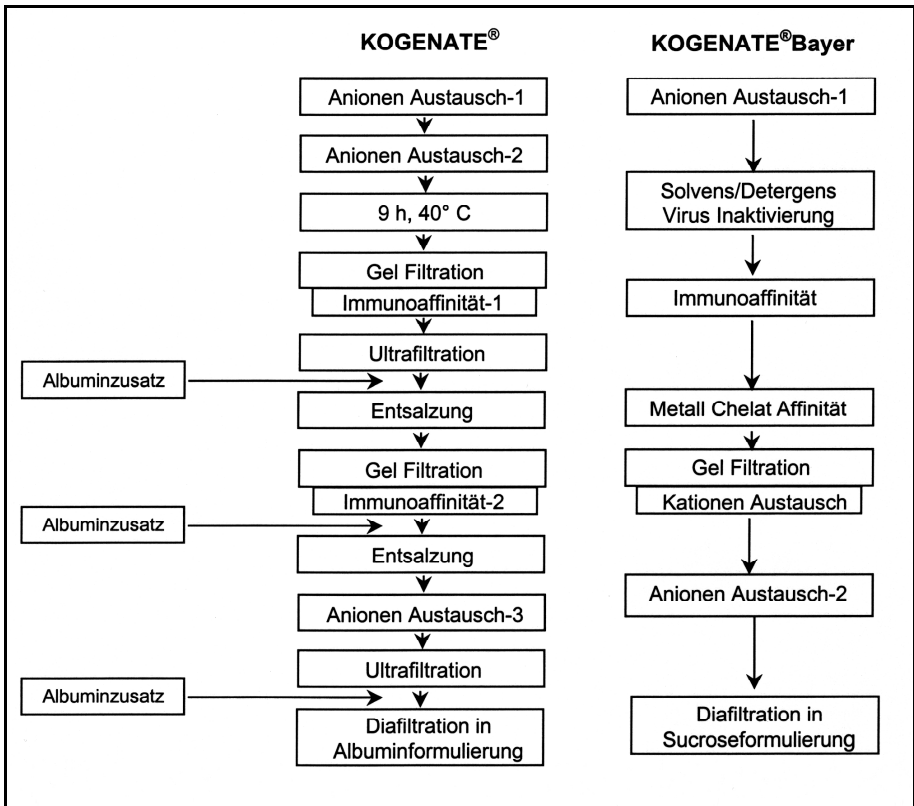


Abb. 2: Vergleich der Reinigungsprozesse für KOGENATE® und KOGENATE® Bayer

DIE NEUE FORMULIERUNG

Die Entwicklung der Formulierung begann mit der Analyse von 130 verschiedenen Kombinationen. Dreißig geeignete Formulierungen wurden als geeignete Stabilisatoren der FVIII-Aktivität identifiziert. Die entscheidenden Erfordernisse bei der Wahl der Endformulierung von KOGENATE® Bayer waren:

- Physiologisch nicht reaktive Bestandteile
- Iso-Osmolarität des Produktes
- Stabilität und Aussehen des lyophilisierten Endproduktes
- Kein Zusatz von Bestandteilen humaner oder tierischer Herkunft
- Gleiches Füllvolumen (2,5ml) für alle Dosierungsformen zur größeren Anwenderfreundlichkeit

Basierend auf der Stabilität der FVIII-Aktivität nach Lyophilisierung und Aufbewahrung unter Stressbedingungen (40°C) wurde die endgültige Formulierung gewählt. Zusätzlich werden auch neue Behälter und inerte synthetische Stopfen ohne Latexanteil verwendet, die speziell zur Lyophilisierung von Proteinen entwickelt wurden.