

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРЕДВАРИТЕЛЬНО НАПОЛНЕННЫХ ШПРИЦЕВ ДЛЯ БИОФАРМАЦЕВТИКИ – РАЗВИТИЕ И ПРОБЛЕМЫ



■ **Вильям Дерик**,
старший менеджер
по развитию технологий,
Terumo Европа

■ **Кишукэ Йошино**,
вице-президент, отдел
лекарства и группа устройств,
корпорация Terumo



В этой статье Вильям Дерик (William Dierick), старший менеджер по развитию технологий, Terumo Европа, и Кишукэ Йошино (Keisuke Yoshino), PhD, вице-президент, отдел лекарства и группа устройств, корпорация Terumo, описывают развитие преднаполненного шприца PLAJEX™ Terumo в системе, которая сочетает в себе особенности COP (Ceclo Olefin Polymer), шприц с собственной технологией i-coating™, не содержащий силиконового масла. Авторы также проводят обзор ряда исследований, показывающих, что PLAJEX™ преодолевает ряд трудностей и проблем, связанных с созданием первичной упаковки лекарств и парентеральной системы доставки для биотехнологических продуктов.

ВВЕДЕНИЕ

Прогресс геной инженерии повлѣк за собой изменения развития фармацевтики от низкомолекулярных к биофармацевтическим препаратам. В десятке продаж лекарств в мировом рейтинге, биотерапевтические лекарства, такие как Humira (adalimumab), Remicade (infliximab) и Rituxan (rituximab), продвинулись существенно, в отличие от низкомолекулярных блокбастеров, как Lipitor (atorvastatin calcium) или Plavix (clopidogrel), которые в основном существуют на рынке в последнее десятилетие [1].

Многие биотехнологические препараты находятся во флаконах в форме лиофилизатов из-за их низкой стабильности для парентерального введения. Тем не менее, развитие биовысоко-технологичной продукции жидких форм, повышение безопасности в использовании, удобство и простота применения для пациента способствуют быстрому росту применения преднаполненных шприцев. Другим важным аспектом является переход от лечения в больнице к уходу на дому и самостоятельным инъекциям пациента при многих хронических заболеваниях в конкретных терапевтических областях.

В данной статье рассматриваются технические подходы к разработке системы преднаполненного шприца в качестве подходящей упаковки парентеральных биофармацевтических препаратов.

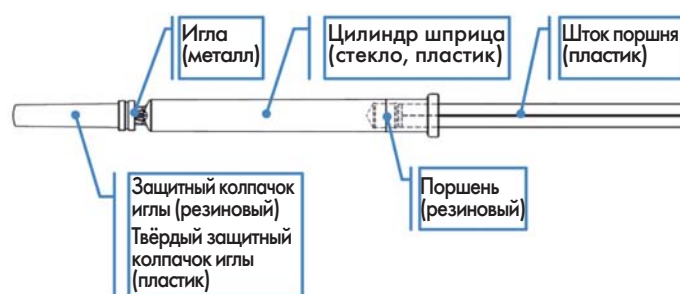


Рисунок 1: Компоненты стандартного преднаполненного шприца

ПРИМЕНЕНИЕ ПРЕДНАПОЛНЕННЫХ ШПРИЦЕВ ДЛЯ БИОФАРМАЦЕВТИКИ: ВОПРОСЫ И ПОЛОЖЕНИЯ

Преднаполненные системы шприцев должны соответствовать различным требованиям и быть функциональными, обеспечивать надёжную герметичность контейнера, термостойкость, ударную прочность, лёгкое и плавное скольжение поршня, утилизацию отходов и так далее. Преднаполненные шприцы состоят из различных компонентов и материалов, таких как стекло, полимеры и эластомеры, которые должны быть выбраны в соответствии с требованиями по их применению (рис. 1).

Таблица 1: Проблемы качества с биофармацевтикой [5-16]

Явление	Причинный фактор	Материалы по теме
Физические	Объединение силиконовым маслом	Независимо от материала
	Объединение вольфрамом	Стекло
	Взаимодействие с клеем	В зависимости от производства
	Чрезмерное встряхивание	Независимо от материала
Химические	Щелочное вымывание	Стекло
	Газопроницаемость	Полимер
	Остаточные радикалы	В зависимости от стерилизации
Другие	Повреждение контейнера	Стекло
	Расслаивание	Стекло
	Царапины на поверхности контейнера	Полимер
	Капли силиконового масла	Независимо от материала

При разработке системы преднаполненных шприцев вносятся различные оптимизации, например, дизайн продукта, контактные поверхности и материалы для удовлетворения требований к качеству инъекций. Биотерапевтические препараты часто очень чувствительны и не очень стабильны. В результате чего возможны агрегации белка и окисление. В нескольких публикациях рассмотрены конкретные вопросы качества биомолекул в системе преднаполненных шприцев. Агрегация терапевтических белков является одним из наиболее критических факторов риска, так как это может негативно повлиять на эффективность и безопасность из-за дезактивирования белка и иммунных реакций у пациентов. Например, было доказано, что стимуляция нейтрализованного антителами эпоэтина-альфа делает эндогенный эритропоэтин менее активным, что приводит к увеличению заболеваемости антитело-опосредованной чистой красной аплазией (PRCA).[2,3]. FDA США недавно опубликовало руководство для промышленности «Оценка иммуногенности терапевтических белковых продуктов», в котором рекомендуется свести к минимуму любые риски агрегации.[4]

Вопросы качества и безопасности могут быть очень разнообразны и связаны с материалом или с самой биомолекулой. Неполный обзор представлен в таблице 1.

Важным вопросом является применение силиконового масла, вызывающего агрегации. Силиконовое масло используется в качестве смазки для обеспечения функциональности - плавности скольжения поршня. Тем не менее, в контексте биомолекул, силиконовое масло стало серьезной проблемой, т.к. может вызвать агрегацию белка.[5-7] Кроме того, процесс производства преднаполненных шприцев считается потенциальным фактором риска. Например, штифты вольфрама используются для процесса формовки кончика стекла цилиндра шприца. В присутствии вольфрама наблюдалась агрегация белка [11-14].

PLAJEX™, в сочетании с гладким покрытием i-coating™ на поверхности пробки-поршня создаёт безопасное сохранение герметичности.

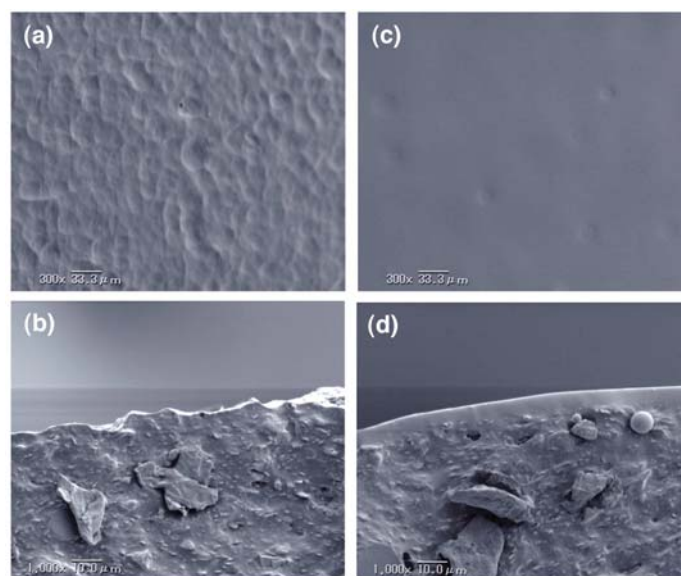


Рисунок 2: SEM микрофотографии поверхности и поперечного сечения пробки поршня.

(а) поверхность без покрытия пробки-поршня (x300),
 (b) поперечное сечение без покрытия пробки-поршня (X1000),
 (c) поверхность пробки-поршня с покрытием i-coating™ (X300), и
 (d) поперечное сечение с покрытием i-coating™ пробки-поршня (X1000)

Исторически сложилось так, что преднаполненные шприцы были разработаны для низкомолекулярных препаратов, поэтому многие вопросы качества появились только после введения терапевтических белков в системы преднаполненных шприцев. Согласно данным, представленным в таблице 1, следует, что три основных фактора должны быть рассмотрены при изготовлении предварительно наполненных шприцев с биофармацевтическими препаратами:

- (1) система без силиконового масла
- (2) шприцы на полимерной основе
- (3) концепции предотвращения окисления белков.

РАЗРАБОТКА НОВОГО ПРЕДВАРИТЕЛЬНО НАПОЛНЕННОГО ШПРИЦА СИСТЕМА БЕЗ СИЛИКОНОВОГО МАСЛА

Различные публикации, описанные выше, свидетельствуют об агрегации белка и взаимодействию суб-видимых частиц [15-18]. Поэтому возникла потребность в разработке системы шприцев предварительно наполнения без силиконового масла [18-22]. Поэтому компания Terumo разработала систему преднаполненных шприцев без силиконового масла, основанную на герметизации поршня в сочетании с технологией определенного покрытия. В 2005 году компания Terumo запустила MINOFIT - первый преднаполненный шприц без силиконового масла на полимерной основе.

Исходя из этого, Terumo продолжила развитие в промышленных масштабах, в результате чего в 2012 году был разработан способ покрытия с образованием прочного, гибкого и равномерного слоя силиконовой смолы посредством химического процесса, в том числе полимеризации слоя, названный «и-покрытие» i-coating™.

Изображения сканирующего электронного микроскопа (SEM) до и после процесса i-coating показаны на рисунке 2. По сравнению с непокрытыми пробками поршня (рис. 2а и 2в), пробки поршня с покрытием i-coating™ (рис. 2с и 2д) обеспечивают равномерный и гладкий поверхностный слой.



Рисунок 3: Компоненты пластикового преднаполненного шприца PLAJEX™

Анализ инфракрасной Фурье-спектроскопии (ИК) и рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии (XPS) показывает, что поверхностный слой материала i-coating™ на пробке поршня был идентифицирован как силиконовая смола с высокой степенью чистоты. В результате динамической силы трения от i-coating™ резиновая пластинка была примерно в десять раз меньше, чем резина без покрытия, со значением, аналогичным с листом политетрафторэтилена (ПТФЭ) (данные не показаны). Эти результаты обсуждаются в опубликованной статье [20].

ШПРИЦЫ НА ПОЛИМЕРНОЙ ОСНОВЕ

Стеклянные контейнеры широко используются и изначально были предложены для развития парентеральных препаратов. Тем не менее, при наличии биофармацевтических препаратов и биоподобий возникают нерешенные аспекты, связанные с применением стекла (таблица 1).

Кроме того, учитывая высокую стоимость биотехнологических продуктов, встает актуальный вопрос о потерях продукта вследствие поломки контейнера в процессе изготовления и транспортировки. [23]

Акцентируя внимание на биофармацевтических препаратах, компания Terumo разработала предварительно наполненный шприц на полимерной основе (PLAJEX™) в качестве альтернативы стеклянным преднаполненным шприцам для решения таких проблем, как агрегация белков или поломка.

PLAJEX™ выполнен из циклоолефинового полимера (COP), имеющего исключительные свойства, такие как ударная прочность, превосходная защита от влаги, термостойкость и отличная прозрачность.

Кроме того, для устранения рисков агрегации белка из-за взаимодействия с вольфрамом и клеем, игла вводится непосредственно в цилиндр шприца по технологии литья со вставкой.

В сочетании с нашей запатентованной технологией i-coating™, PLAJEX™ представляет собой систему шприцев без применения силиконового масла. Кроме того, Terumo применяет стерилизацию PLAJEX™ в автоклаве, что позволяет избежать окисления белка радикалами, образующимися на полимерном материале цилиндра шприца при стерилизации облучением.

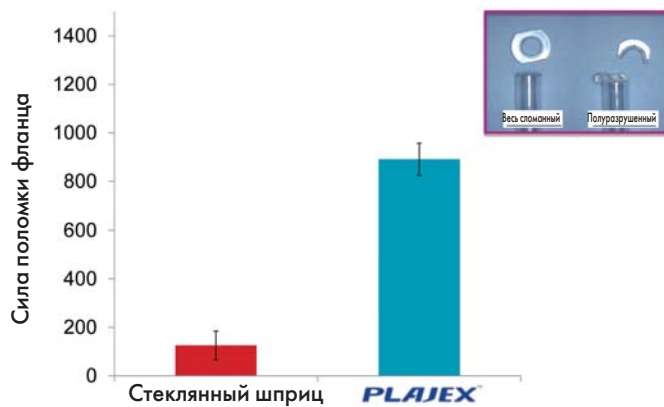


Рисунок 4: сила поломки фланца (весь фланец) измеряется на основе всеобщего растяжения при скорости хода 50 мм / мин. Данные представлены как средняя величина (M) ± среднее квадратическое отклонение (m) (n = 10)

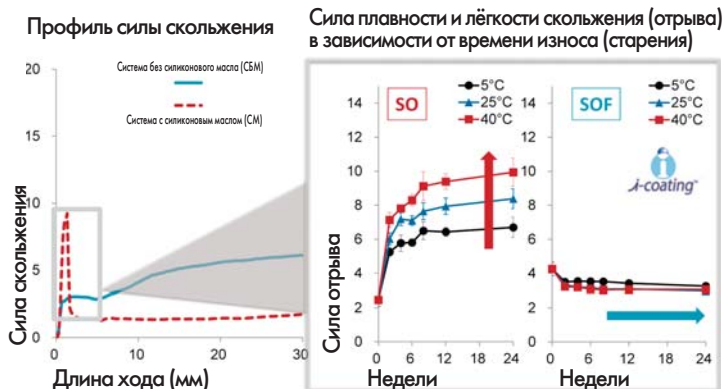


Рисунок 5: а) Профиль силы скольжения системы с силиконовым маслом (SO) и системы без силиконового масла (СФБ) хранили в течение 12 недель при 40 °С. Данные были получены при ударе 200 мм/мин. Силы скольжения были измерены с помощью универсального тензиометра.

б) Сила отрыва скольжения систем SO и SOF изменялась в зависимости от времени износа и температуры. Сила отрыва скольжения - это сила максимального скольжения на расстоянии между 0 и 5 мм. Данные представлены как средняя величина ± среднее квадратическое отклонение (n = 5).

Поэтому PLAJEX™ имеет выигрыш от такого комплексного подхода: значительную прозрачность, высокую прочность, плавное и контролируемое свойство скольжения поршня, а также сводятся к минимуму риски агрегации и окисления белков. Эти особенности приведены на рисунке 3, и рассмотрены далее.

МЕХАНИЧЕСКАЯ ПРОЧНОСТЬ

Сравнение механической прочности фланцев PLAJEX™ со стеклянными шприцами, измеренной на универсальной испытательной машине, показано на рисунке 4, что свидетельствует о том, что фланец PLAJEX™ в девять раз прочнее, чем у обычного стеклянного шприца. Это является важным аспектом в использовании автоматического шприца, как с точки зрения функциональности, атак и для обнаружения пользователем частиц или поломки внутри автоматического шприца.

ОСОБЕННОСТИ СКОЛЬЖЕНИЯ (ПЛАВНОГО ДВИЖЕНИЯ) ПОРШНЯ

Как обсуждалось ранее, важным признаком PLAJEX™ с технологией i-coating™ Terumo является то, что она представляет собой систему без силиконового масла. На рис. 5а показано сравнение свойств скольжения между покрытием традиционным силиконовым маслом и системой PLAJEX™. В случае использования систем с силиконовым маслом, слой силиконового масла между цилиндром шприца и поршнем-пробкой может изменяться в связи с изменениями в первоначальной силе скольжения (силе отрыва), а также увеличиваться во времени в результате износа. На рисунке 5б, напротив, показана система без силиконового масла - никаких изменений не наблюдалось после износа и при различных температурных условиях. Поверхностный слой пробки-поршня i-coating™ обработан не силиконовым маслом, а силиконовой смолой, которая присоединена непосредственно к пробке. Отсутствие пиков силы отрыва очень выгодно для последовательной и бесперебойной функциональности при применении автоматической инъекции.

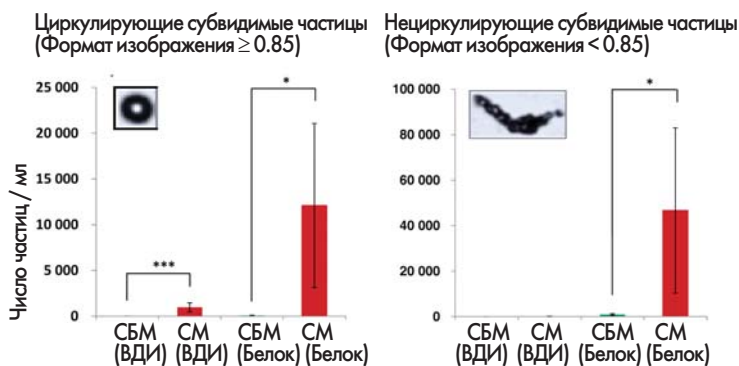
АГРЕГАЦИЯ БЕЛКОВ

Были проведены сравнительные исследования агрегации белка от взаимодействия с силиконовым маслом. В этом исследовании, L-аспарагиназа использовалась в качестве модели белка из-за её склонности к агрегации при взаимодействии с силиконовым маслом. После того как раствор белка и вода для инъекций (WFI = ВДИ) были заполнены в обеих системах – с силиконовым маслом и без силиконового масла, каждый шприц осторожно встряхивали.

Агрегация белков и субвидимые (невидимые) частицы были проанализированы с помощью томографии Микро Визуализации Струи (МВС). Рисунок 6а показывает количественное выражение циркулирующих субвидимых частиц силиконового масла и на рисунке 6б показано количественное выражение нециркулирующих субвидимых частиц агрегации белков. В случае инъекций, количество циркулирующих субвидимых частиц увеличивается в системе с силиконовым маслом. С другой стороны, это явление не наблюдалось с системой без силиконового масла, предполагается, что в системе с силиконовым маслом последнее мигрировало от стенки цилиндра шприца в инъекционный раствор и сформировало капли силиконового масла.

В шприцах, наполненных раствором белка, большое количество циркулирующих и не циркулирующих субвидимых частиц было обнаружено в системе с силиконовым маслом. В отличие от этого такой картины не наблюдалось в системе без силиконового масла.

На основании этих результатов можно сделать вывод, что в системе без силиконового масла (шприц PLAJEX™, благодаря технологии i-coating™ Terumo) может быть предложено решение для минимизации как агрегации белков, так и субвидимых частиц.



СМ – система с силиконовым маслом; СБМ – система без силиконового масла; ВДИ – вода для инъекций

Рисунок 6: сравнительное исследование между системой с силиконовым маслом (SO) и системой без силиконового масла (SOF) в терминах субвидимых частиц с использованием анализа МВС. (а) ECD ≥ 5µm, формат изображения более 0,85, (б) ECD < 5µm, формат изображения составляет менее 0,85. Данные представлены в виде средней величины ± среднее квадратическое отклонение (n = 10 для воды, n = 5 для образцов). *: p < 0,05, ***: p < 0,001.

А) Plajex™ Б) Plajex™ Положительный контроль

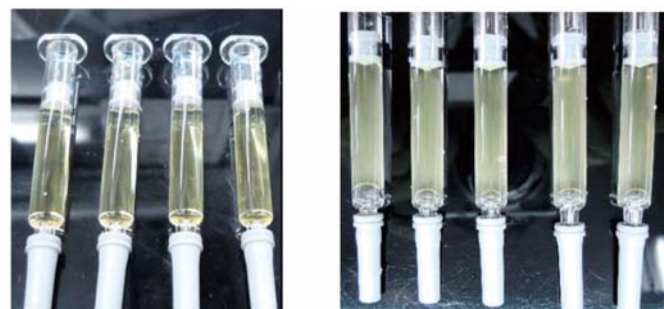


Рисунок 7: Исследование проникновения микроорганизмов. (а) система без силиконового масла (SOF), показывающая все четыре исследуемых шприца. Раствор внутри шприца оставался прозрачным, без визуального изменения. (б) положительный контроль (SOF шприцы с отверстием на цилиндре шприца) всех пяти исследованных шприцев. Раствор внутри шприца стал значительно мутным за счёт внедрения и роста микроорганизмов.

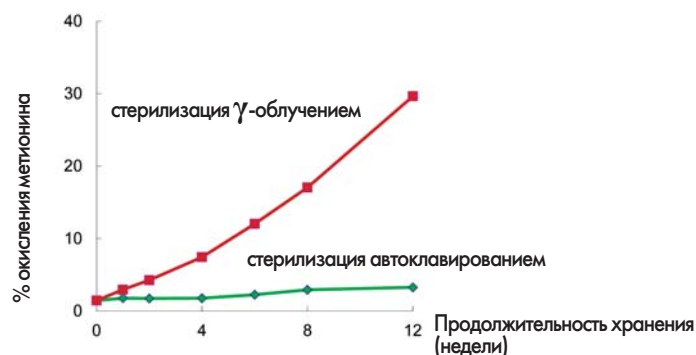


Рисунок 8: Профиль % окисления модели лекарственного препарата в период хранения при 25 °С. Измерение проводили ЖХВД [жидкостная хроматография высокого давления]. Данные представлены в виде средней величины ± среднее квадратическое отклонение (N = 3)

ОЦЕНКА КОНТЕЙНЕРА, А ТАКЖЕ НАДЁЖНОСТИ ГЕРМЕТИЗАЦИИ

Еще на стадии разработки дизайна предварительно наполненного шприца, он имеет первоочередное значение для обеспечения надёжности закрытия контейнера, что предотвращает утечку лекарства, микробную контаминацию и ухудшение качества лекарственной продукции.

PLAJEX™ благодаря плавному скольжению за счёт слоя I-coating™ на поверхности поршня-пробки, демонстрирует надёжную герметизацию, подтверждённую в том числе при тестировании утечки и микробной контаминации под высоким давлением [20].

В качестве примера на рис. 7 представлены результаты оценки проникновения микроорганизмов. Культуральную среду трипсиновый соевый бульон (ТСБ) помещали в шприцы PLAЈEX™ в асептических условиях и затем погружали в бактериальный бульон в течение заданного времени. После этого образцы инкубировали при температуре $31 \pm 1^\circ \text{C}$ в течение 14 дней. PLAЈEX™ не продемонстрировал никаких особых изменений при внешнем осмотре и культуральная среда внутри шприца оставалась прозрачной (рис. 7а). В отличие от этого, положительные контрольные образцы показали значительное изменение - среда становилась мутной (см. рис. 7б).

ПРИНЦИПЫ ПРЕДОТВРАЩЕНИЯ ОКИСЛЕНИЯ БЕЛКА

До сих пор мы объясняли наши технологии с позиции минимизации риска агрегации белка, сведения к минимуму субвидимых частиц и других аспектов качества, таких как повреждение контейнера. Далее мы будем рассматривать наши прикладные технологии, позволяющие свести к минимуму риск окисления белка.

ВЛИЯНИЕ МЕТОДА СТЕРИЛИЗАЦИИ

Конечная стерилизация паром применяется к предварительно наполненным шприцам, содержащим низкомолекулярные лекарственные препараты. Однако, поскольку биотерапевтические препараты подвержены тепловой денатурации, асептический розлив в предварительно простерилизованные преднаполненные шприцы является нормой. Рассмотрение метода стерилизации и ее потенциального воздействия на лекарственный препарат имеет первостепенное значение.

На рис. 8 сравнивается степень окисления метионина при хранении в полимерных предварительно наполненных шприцах, стерилизованных гамма-излучением и в шприцах PLAЈEX™, стерилизованных паром.

Полимерные преднаполненные шприцы, стерилизованные гамма излучением, и шприцы, стерилизованные паром, были наполнены водным раствором эритропозтина (ЕРО). Согласно рисунку 8, преднаполненные шприцы, стерилизованные гамма-облучением, показали более высокую степень окисления метионина в течение долгого времени. Для преднаполненных шприцев PLAЈEX™, стерилизованных в автоклаве, окисление метионина не наблюдалось.

Дезоксигенированная система упаковки

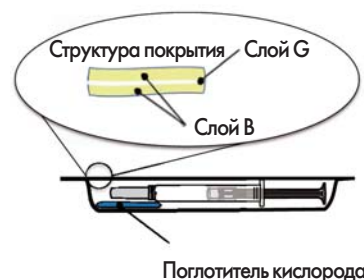


Рисунок 9: (а) Сочетание PLAЈEX™ с дезоксигенированной системой упаковки. (б) профиль снижения растворенного кислорода в заполненных водой предварительно наполненных шприцах. Растворенный кислород измеряли с помощью OXY-4 (PreSens). Данные представлены в виде средней величины \pm среднее квадратическое отклонение ($n = 3$).

Хотя более подробные исследования еще ведутся, мы предполагаем, что радикалы, генерируемые при гамма-излучении, остаются внутри преднаполненного шприца, вызывая при этом окисление биофармацевтических препаратов. [18, 24, 25]. Дальнейшие исследования этого явления продолжатся и будут описаны в следующих статьях. На основании этих результатов, мы считаем, что стерилизация паром является более подходящей для преднаполненных шприцев на полимерной основе, предназначенных для биофармацевтических препаратов.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ ОКИСЛЕНИЯ

Стеклянные шприцы, имеющие низкую газопроницаемость, часто рассматриваются как более совершенные по сравнению с шприцами на полимерной основе, т.к. предотвращают окисление лекарственного препарата. Как правило, для чувствительных белковых молекул контроль азота необходим на всех стадиях, таких, как приготовление раствора лекарств, наполнение и закупоривание. Этот процесс исключает любой риск поступления растворенного кислорода в заполненный стеклянный шприц.

Однако использование специфической проницаемости PLAЈEX™ дало возможность устранить растворенный кислород более простым и инновационным методом. Этот метод заключается в использовании поглотителя кислорода внутри вторичной упаковки вместе с заполненным PLAЈEX™. Этот эффект показан на рисунке 9б.

Использование поглотителя кислорода материалов в системе PLAЈEX™ способствует резкому падению концентрации растворенного кислорода сразу после упаковки и его дальнейшему постепенному уменьшению. После восьми недель концентрация растворенного кислорода была близка к нулю. Этот результат показывает, что сочетание PLAЈEX™ с дезоксигенированной системой упаковки и поглотителем кислорода может предотвратить окисление белка. [24]



ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В представленной статье описаны свойства и функциональные возможности полимерного предварительно наполненного шприца PLAJEX™ от компании Terumo. Эта система была разработана путем объединения особенностей, присущих шприцу COP, с нашей фирменной технологией I-coating™, что позволило реализовать систему шприца без силиконового масла. Несколько проблем, связанных с применением чувствительных биофармацевтических препаратов, могут быть решены. К тому же, полимерные системы преднаполненных шприцев обладают рядом преимуществ – последовательная и высокая степень воспроизводимости и точной обработки, гибкость в дизайне, что позволяет разработать индивидуальные варианты шприцев.

Мировой рынок биофармацевтической продукции быстро растет в связи с увеличением распространенности хронических заболеваний, увеличения продолжительности жизни населения и благодаря достижениям биомедицинской науки в создании более эффективных лекарств. С развитием PLAJEX™ с технологией i-coating™, деятельность Terumo направлена на обеспечение возможности вводить биофармацевтические препараты безопасно, надежно и без примесей, избегая ошибок в медицинской практике и сводя к минимуму травмы пациента и дискомфорт.

ЛИТЕРАТУРА

1. Pharmaceutical Industry Vision in 2013, PMDA
2. Casadevall N, et al, New Engl J Med, 2002, Vol 346(7), pp 469-475.
3. Gershon SK, et al, New Engl J Med, 2002, Vol 346(20), pp 1584-1586.
4. Guidance for Industry: "Immunogenicity Assessment for Therapeutic Protein Products", August 2014.
5. Jones NS, et al, J Pharm Sci, 2005, 94(4), pp 918-927.
6. Mahler HC, et al, J Pharm Sci, 2009, Vol 98(9), pp 2909-2934.
7. Wang W, et al, Int J Pharm, 2010, Vol 390(2), pp 89-99.
8. Wang W et al, "Aggregation of Therapeutic Proteins.
9. Christiaens P, PDA Workshop 2014, "Regulatory Requirements".
10. Ge Jiang, et al, PDA journal, 2013, Vol 67(4), pp 323-335.
11. Mensch C, et al, PDA J Pharm Sci Technol, 2012, Vol 66(1), pp 2-11.
12. Seidl A, et al, Pharm Res, 2012, Vol 29(6), pp 1454-1467.
13. Liu W et al, PDA J Pharm Sci Technol, 2010, Vol 64(1), pp 11-19.
14. Jiang Y, J Pharm Sci, 2009, Vol 98(12), pp 4695-4710.
15. Sing SK, et al, J Pharm Sci, 2010, Vol 99(8), pp 3302-3321.
16. Ripple DC, et al, J Pharm Sci, 2012, Vol 101(10), pp 3568-3579.
17. Bee JS, et al, J Pharm Sci, 2012, Vol 101(10), pp 3580-3585.
18. Forster R, PDA Annual Meeting 2013.
19. Majumdar S, J Pharm Sci, 2011, Vol 100(7), pp 2563-2573.
20. Yoshino K, et al, J Pharm Sci, 2014, Vol 103(5), pp 1520-1528.
21. Uchiyama S, et al, J Pharm Sci (in press).
22. Depaz AR, et al, J Pharm Sci, 2014, 103(5), pp 1384-1393.
23. Reynolds G, et al, BioProcess International, 2011, Vol 9(11), pp 52-57.
24. Nakamura K, et al, PDA J Pharm Sci Technol (in press).
25. Nakamura K, et al, Int J Pharm (submitted).