

SUBKUTANA DOSTAVA TERAPEVTSKIH PROTEINOV IN PEPTIDOV

SUBCUTANEOUS DELIVERY OF THERAPEUTIC PROTEINS AND PEPTIDES

AVTORICI / AUTHOS:

doc. dr. Mirjam Gosenca Matjaž, mag. farm.
izr. prof. dr. Pegi Ahlin Grabnar, mag. farm.

*Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo,
Katedra za farmacevtsko tehnologijo,
Aškerčeva 7, 1000 Ljubljana*

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:

E-mail: pegi.ahlingrabnar@ffa.uni-lj.si

1 UVOD

Začetki subkutane aplikacije segajo več kot 150 let nazaj, ko so jo sredi 19. stoletja uporabili za dostavo morfina z namenom lokalnega zdravljenja nevralgije. Kmalu so opazili sistemske učinke in tako se je njena uporaba še pred za-

POVZETEK

Intenziven razvoj na področju učinkovin biološkega izvora, za katere je značilna visoka specifičnost, izboljšana terapevtska učinkovitost ter manj neželenih učinkov, se odraža v hitro naraščajočem številu bioloških zdravil na trgu. V zadnjem obdobju je subkutana aplikacija bioloških zdravil postala dragocena alternativa intravenski aplikaciji pri številnih boleznih. Razlogi so večplastni in primarno vezani na številne prednosti tako za bolnika kot zdravstveni sistem, med njimi pa je ključna možnost samoinjiciranja v domačem okolju. V prispevku so predstavljena biološka zdravila s terapevtskimi peptidi in proteini z vidika subkutane aplikacije. Tako na področju terapevtskih peptidov razvoj poteka v smeri dostavnih sistemov za subkutano aplikacijo (polimerni mikrodenci, implantati ter polimerne raztopine in tekoči kristali, ki gelirajo *in situ*), ki omogočajo podaljšano sproščanje zdravilne učinkovine tudi do nekaj mesecev. Subkutano injiciranje visokih odmerkov monoklonskih protiteles pa je možno doseči s pomočjo visokokonzentriranih formulacij z ustrezno viskoznostjo ali z aplikacijo večjega volumna raztopine s pomočjo sodobnih vsebnikov/naprav. Vzporedno je bil velik napredek dosežen z uporabo rekombinantne človeške hialuronidaze, ki prehodno lokalno spremeni podkožje in s tem omogoči aplikacijo večjega volumna raztopine.

KLJUČNE BESEDE:

biološka zdravila, monoklonska protitelesa, peptidi, subkutana aplikacija

ABSTRACT

The intensive development in the field of biological active substances, which are characterized by high specificity, improved therapeutic efficiency and fewer adverse effects, is reflected in the rapidly growing number of biological medicinal products on the market. Recently, the subcutaneous application of biological medicines has become a valuable alternative to intravenous administration for many diseases. The reasons for this are manifold and are primarily related to the numerous benefits for both the patient and the healthcare system, with the possibility of self-injection in the home environment being one of the most important. The article pres-

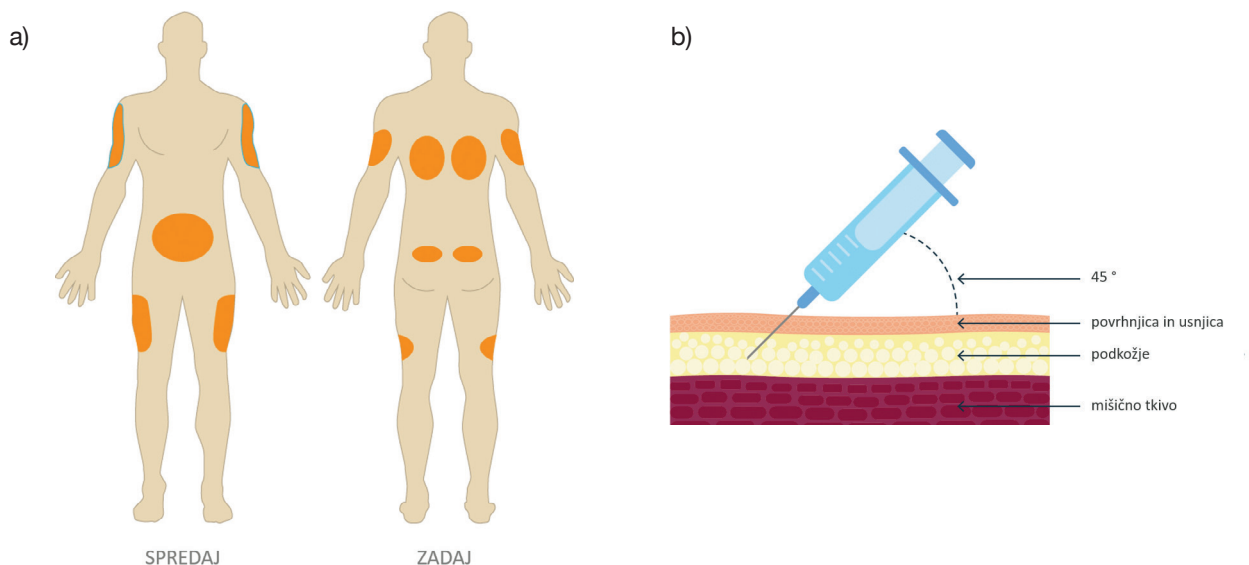
ents biological medicinal products with therapeutic peptides and proteins from the point of view of subcutaneous application. Thus, the development in the field of therapeutic peptides is moving towards delivery systems for subcutaneous application (polymeric microparticles, implants, and *in situ* gelling polymer solutions and liquid crystals), that allow sustained release for up to several months. Subcutaneous injection of high doses of monoclonal antibodies can be achieved by highly concentrated formulations with appropriate viscosity or by applying a larger volume of solution using modern containers/devices. In parallel, great progress has been made in the use of recombinant human hyaluronidase, which temporarily modifies the subcutaneous tissue so that a larger volume of solution can be applied.

KEY WORDS:

biological medicinal products, monoclonal antibodies, peptides, subcutaneous application

Dandanes je subkutana aplikacija uveljavljena pot vnosa zdravilnih učinkovin, tako sintezno pridobljenih kot molekul biološkega izvora, z namenom doseganja sistemskega delovanja, in je poleg intravenske ter intramuskularne aplikacije najpogostejše zastopana parenteralna pot dostave v klinični praksi. Pri subkutani aplikaciji zdravilo injiciramo v medcelični prostor podkožja (*subcutis*), ki leži pod povrhnjico in usnjico ter nad mišičnim tkivom, in ga tvori maščobno tkivo, prepleteno s krvnimi in limfnimi žilami ter ohlapnim vezivnim tkivom glikozaminoglikanov, kolagenskih in elastičnih vlaken. Debelina podkožnega tkiva se razlikuje glede na predel telesa, spol in starost in tudi sicer med posamezniki, kar lahko do določene mere upoštevamo pri aplikaciji, npr. z dolžino igle. Zdravila subkutano dajemo na zunanjem predelu nadlahti, trebuhu, sprednjem predelu stegen, zgornjem delu hrbta in zgornjem delu zadnjice (slika 1), navadno pod kotom 45° v kožno gubo za igle dolžine 8–12,7 mm, v primeru uporabe krajših igel dolžine 4–5 mm pa pod kotom 90°. Učinkovina se nato absorbira bodisi v krvne kapilare bodisi v limfni sistem, če njena molekulska masa presega 16 kDa. Medtem ko pri intravenski aplikaciji pride zelo hitro do terapevtskega učinka, po subkutani aplikaciji zdravilna učinkovina počasneje prehaja iz podkožja v krvni obtok, zato učinek navadno nastopi po 15 do 30 minutah. S subkutano aplikacijo formulacij za podaljšano sproščanje učinkovin pa lahko vzdržujemo te-

četkom 20. stoletja razširila na širok nabor učinkovin od morfina oz. opija, atropina, kloroforma, strihnina, kinina in celo olj (1).



Slika 1: Subkutana aplikacija: a) predeli telesa, primerni za subkutano aplikacijo (označeno z oranžno) in b) shematski prikaz injiciranja v podkožje; povzeto po (4, 5).

Figure 1: Subcutaneous application: a) body areas suitable for subcutaneous administration (indicated in orange) and b) schematic representation of injection into the subcutaneous tissue; adapted from (4, 5).

ALI STE VEDELI?

- Da je možnost samoinjiciranja ena izmed glavnih prednosti zdravil za subkutano aplikacijo tako za bolnika kot zdravstveni sistem.
- Da je okvirno 18 % zdravil z dovoljenjem za promet v Evropi namenjenih za subkutano aplikacijo, od tega glavnino predstavljajo biološka zdravila.
- Da je klinični uporabi terapevtskih peptidov na stežaj odprla vrata inzulin, ki je pred sto leti diagnozo sladkorne bolezni iz smrtne obsodbe spremenil v kronično bolezen. Leta 1982 je nato FDA odobrila uporabo inzulina, pridobljenega s tehnologijo rekombinantne DNA, in sicer kot zdravilo Humulin® (Eli Lilly in Company) za subkutano aplikacijo, ki je bilo pet let zatem odobreno tudi v Evropi.
- Da je leta 1986 FDA odobrila prvo zdravilo z mAb (Orthoclone OKT3®, Janssen-Cilag), ki je vsebovalo muromonab-CD3 in je bilo namenjeno preprečevanju zavrnitve ledvičnega presadka.
- Da je leta 2019 EMA odobrila prvo podobno biološko zdravilo z mAb za subkutano aplikacijo, to je zdravilo Remsima® (Celltrion), ki vsebuje infliksimab.

rapevtski učinek od nekaj dni do tednov. V primerjavi s spodaj ležečim mišičjem vsebuje podkožje manj krvnih žil, zato je perfuzija krvi manjša in absorpcija v primerjavi z intramuskularno aplikacijo počasnejša. Pregloboka aplikacija se tako lahko odraža v spremenjenem terapevtskem odzivu (npr. povečano nihanje glukoze v krvi in tveganje za hipoglikemijo pri intramuskularni napram subkutani dostavi inzulina) (1–3).

Pomen zdravil za subkutano aplikacijo je čedalje večji, predvsem zaradi številnih prednosti, ki jih ta način apliciranja ponuja tako za bolnika kot zdravstveni sistem. Raziskava iz leta 2022 podaja celovit pregled odobrenih zdravil za subkutano aplikacijo na evropskem trgu, v Kanadi in Združenih državah Amerike (ZDA); tako je v Evropi okvirno 18 % zdravil z dovoljenjem za promet namenjenih za subkutano aplikacijo, od tega glavnino predstavljajo biološka zdravila. Dobra tretjina bioloških zdravil za subkutano aplikacijo vsebuje eritropoetin, inzulin ali darbepoetin alfa. Delež odobrenih bioloških zdravil v obdobju zadnjih dvajsetih let bistveno presega klasična zdravila in ta trend se bo po pričakovanjih nadaljeval. Aktualnost subkutane aplikacije je tako neločljivo, čeprav ne izključno, povezana z biološkimi zdravili. Pri slednjih je parenteralna aplikacija pogojena z učinkovinami biološkega izvora, ki zaradi nestabilnosti v gastrointestinalnem traktu ter slabe permeabilnosti pogo-

sto niso primerne za peroralno aplikacijo. Za večino bioloških zdravil, namenjenih subkutani aplikaciji (66 %), je to edina odobrena pot aplikacije, preostali delež zdravil ima hkrati odobreno obliko za intravensko (34 %) ali intramuskularno aplikacijo (0,5 %) (1).

Ključna prednost subkutane aplikacije v primerjavi z intravensko ali intramuskularno je možnost samoinjiciranja, saj omogoča bolniku lažje usklajevanje protokola zdravljenja z vsakodnevnimi obveznostmi. V tej luči je tudi zdravstveno osebje oz. celoten zdravstveni sistem manj obremenjen, kar se kaže v administrativnih oz. ekonomskih koristih, vezanih na nižje stroške zdravljenja, saj v tem primeru ni potrebe po hospitalizaciji in bolnišnični oskrbi. Slednje prispeva tudi k manjšemu izpadu delovnih dni s strani bolnika. Določeni bolniki sicer težko premagajo strah pred iglami in/ali samoinjiciranjem ali se počutijo varnejše (sploh starejši), če zdravilo prejmejo s strani zdravstvenega osebja, prav tako je na mestu premislek glede samoinjiciranja pri bolnikih, ki se težje držijo postavljenega protokola zdravljenja. Če je vseeno potrebno posredovanje zdravstvenega osebja, je potreben čas značilno krajši. Prav tako s subkutanimi formulacijami, ki omogočajo podaljšano sproščanje učinkovine, dosežemo manj pogosto odmerjanje, kar predstavlja bolniku prijaznejše zdravljenje in njegovo izboljšano sodelovanje v procesu zdravljenja. Subkutana aplikacija kljub še vedno invazivni poti vnosa velja za relativno nebolečo, zlasti v primerjavi z intramuskularno, pa tudi intravensko dostavo (2, 3, 6). Glavna omejitev subkutane aplikacije je volumen injiciranja. Če je dolgo časa veljalo, da lahko s pomočjo injekcijskih peresnikov injiciramo največ 1 mL raztopine v manj kot 10–15 sekundah, zdravila registrirana v zadnjem obdobju dokazujejo uspešno dostavo do 2 mL raztopine, v razvoju pa so že injekcijski peresniki z volumnom 10 mL (7). Pri hitrem injiciranju večjih volumnov lahko nastopi neprijeten občutek ali celo bolečina na mestu injiciranja. Zaznava bolečine je pogojena tudi z značilnostmi injekcijske igle (premer in dolžina igle ter oblika konice igle), mesta injiciranja ter lastnostmi formulacije. Izmed slednjih na zaznavo bolečine vpliva tako sestava (vrsta vehikla, prisotnost konzervansa ipd.), osmolarnost, viskoznost, vrednost pH kot tudi temperatura ob injiciranju. Z namenom zmanjšanja upora med injiciranjem in s tem bolečine sta pogosto tako zunanja površina igel kot notranja stena injekcijskih brizg prevlečeni s silikonskim oljem, in zlasti premaz v notranjosti brizge je lahko problematičen zaradi indukcije agregacije bioloških učinkovin. Aplikacija v stegno velja za najbolj bolečo, v predel trebuha pa najmanj, pri manjših volumnih injiciranja (< 0,8 mL) pa je injiciranje na katerokoli mesto praviloma neboleče. Z vidika prijaznosti do bolnika

je predvsem pri dolgotrajnem zdravljenju (kroničnih) bolezni ugodno, da lahko zdravilo apliciramo izmenično na različnih predelih telesa. Neželeni učinki subkutane aplikacije so redki in lokalizirani na mesto injiciranja (npr. okužba, edem, eritem, bolečina ali ekhimoza na mestu injiciranja) (3).

V nadaljevanju prispevka so predstavljeni dostavni sistemi in formulacijski pristopi pri bioloških molekulah, in sicer peptidih (1–10 kDa) in monoklonskih protitelesih (mAb, *monoclonal antibodies*) (150 kDa) kot mejnima skupinama glede na molekulsko maso.

2 SUBKUTANA DOSTAVA PEPTIDOV

2.1 STANJE NA TRGU

Terapevtski peptidi so uveljavljena skupina učinkovin za širok nabor terapevtskih indikacij, kot so metabolne bolezni in endokrine motnje, onkološka obolenja, kardiovaskularne bolezni, vnetne črevesne bolezni, multipla skleroza, ter druge (okužba z virusom imunske pomanjkljivosti (HIV), kronična bolečina ...). Terapevtske peptide definiramo kot skupino učinkovin, sestavljenih iz zaporedja štirih do 100 aminokislinskih ostankov, ki s svojim delovanjem posnemajo endogene peptide, vpletene v številne fiziološke procese v telesu. Večina jih deluje kot agonisti signalnih poti in predstavljajo 5 % vseh registriranih zdravil. Odlikuje jih visoka selektivnost in učinkovitost z minimalnimi neželenimi učinki zaradi visoke vezavne afinitete do tarčnih receptorjev. Slednje jih povezuje z biološkimi makromolekulami, kot so mAb, istočasno pa z vidika raznovrstnih sinteznih možnosti in stroškov proizvodnje izkazujejo nekatere prednosti, sicer značilne za manjše sintezno pridobljene molekule (8–11). Kljub določenim razlikam v tržnih poročilih je vrednost svetovnega trga zdravil s terapevtskimi peptidi v letu 2023 ocenjena na 45,7 milijard USD, v obdobju do leta 2032 pa naj bi dosegla okrog 76,8 milijard USD s predvideno 5,9 % letno rastjo, pri čemer ocene temeljijo na predvideni povečani pogostosti presnovnih in rakavih obolenj (12). Največji delež ustvarjajo zdravila z inzulinom in njegovimi analogi (36 % v l. 2022) (12), tudi glavčina ostalih, ki se po deležu uvrščajo v sam vrh takoj za inzulinom, je namenjena zdravljenju sladkorne bolezni tipa 2 ali obvladovanju prekomerne telesne mase z agonisti receptorjev GLP-1 (glukagonu podobni peptid 1), kot so dulaglutid, liraglutid in semaglutid (13). Za ta zdravila je značilna subkutana dostava, je pa

semaglutid od l. 2020 na voljo tudi v obliki tablet za peroralno uporabo (14).

Če topnost peptidov ni problematična ali je rešljiva s klasičnimi kemijskimi modifikacijami, pa zaradi hidrofilnega značaja izkazujejo slabo permeabilnost, poleg tega pa so v velikem obsegu podvrženi encimski razgradnji (razpolovni čas endogenih peptidov je v območju minut), zaradi česar je njihova peroralna dostava problematična, kratek razpolovni čas pa zahteva pogostejšo aplikacijo in visoke odmerke za doseganje želenega terapevtskega učinka. Dandanes so na voljo številni sintezni pristopi, ki omogočajo kemijsko modifikacijo za izboljšanje stabilnosti peptidov, a vendar glavčina (65 %) registriranih zdravil s terapevtskimi peptidi apliciramo parenteralno. Sledi ji peroralna dostava, ki obsega zgolj 12 %, ostali načini so vezani na specifično lokalno dostavo (npr. nazalno, dermalno) (9). Podoben trend s še večjim poudarkom na parenteralni dostavi je značilen tudi za zdravila v fazi razvoja, kar se odraža v kar 81 % registriranih zdravil za parenteralno aplikacijo, upošteva pa zadnje razpoložljive podatke, in sicer za l. 2022 (9, 12). V sklopu zdravil za parenteralno aplikacijo je polovica le-teh na voljo v obliki intravenske infuzije ali injekcije (53 %), četrtnina kot subkutana in petina kot intramuskularna injekcija. Medtem ko za zdravila v razvoju intravenska aplikacija sicer ostaja primarna pot vnosa v primeru specifičnega akutnega zdravljenja (npr. v sklopu radioterapije), pa je zlasti v primeru peptidov za zdravljenje kroničnih bolezni očiten trend v smeri subkutane aplikacije (41 %) zaradi številnih prednosti, kot je možnost samoinjiciranja v domačem okolju in posledično nižji stroški zdravljenja (9).

Glavčina zdravil s terapevtskimi peptidi je bila najprej registrirana v ZDA, ki imajo tudi največji svetovni tržni delež (46 % glede na podatke za leto 2022), kar korelira s pojavnostjo sladkorne bolezni in debelosti. V obdobju od 2014 do 2019 je bilo zgolj eno zdravilo najprej registrirano v državah Evropske unije (EU). Implantat za subkutano aplikacijo vsebuje učinkovino afamelanotid in je bil kot zdravilo sirota odobren pod posebnimi pogoji (s strani Ameriškega vladnega urada za zdravila in prehrano (FDA, *U. S. Food and Drug Administration*) leta 2019) (9, 12, 14). V zadnjem petletnem obdobju je FDA odobrila 23 zdravil na osnovi terapevtskih peptidov, leta 2019 in 2020 po tri, leta 2021 kar osem in zadnji dve leti štiri oz. pet, od tega osem za subkutano aplikacijo (15–19). V enakem obdobju je v EU dobilo dovoljenje za promet z zdravilom pet zdravil s terapevtskimi peptidi za subkutano aplikacijo, in sicer vseh pet v obdobju zadnjih treh let, tj. od 2021 do 2023 (preglednica 1) (14).



Preglednica 1: Zdravila s terapevtskimi peptidi za subkutano aplikacijo, ki jih je EMA odobrila v zadnjih treh letih (14).
Table 1: Medicinal products with therapeutic peptides for subcutaneous administration approved by EMA in the last three years (14).

Peptid	Zdravilo	Terapevtska indikacija	Proizvajalec	Leto odobritve
Zilukoplan	Zilbrysq® (*, #)	kot dodatek standardnemu zdravljenju za zdravljenje generalizirane miastenije gravis pri odraslih bolnikih, ki so pozitivni na protitelesa proti acetilholinskemu receptorju	UCB Pharma S. A.	2023
Tirzepatid	Mounjaro®	za zdravljenje odraslih z nezadostno nadzorovano sladkorno boleznijo tipa 2 poleg priporočene diete in telesne aktivnosti	Eli Lilly Nederland B. V.	2022
Setmelanotid	Imcivree® (*, ##)	za zdravljenje debelosti in nadzor lakote, povezane z genetsko potrjenim bialelnim pomanjkanjem proopiomelanokortina z izgubo funkcije, vključno s PCSK1 ali z bialelnim pomanjkanjem receptorja za leptin pri odraslih in otrocih, starih šest let in več	Rhythm Pharmaceuticals Netherlands B. V.	2021
Vosoritid	Voxzogo® (*, ##)	za zdravljenje ahondroplazije pri bolnikih, starih 4 mesece in več, pri katerih epifize niso zaprte	BioMarin International Limited	2021
Pegcetakoplan	Aspaveli® (*, +)	za zdravljenje odraslih bolnikov s paroksizmalno nočno hemoglobinurijo, ki so po zdravljenju z zaviralcem C5 vsaj 3 mesece slabokrvni	Swedish Orphan Biovitrum AB (publ)	2021

* Za to zdravilo se izvaja dodatno spremljanje varnosti
Julija 2022 opredeljeno kot zdravilo sirota, umaknjen s seznama oktobra 2023 na zahtevo imetnika dovoljenja za promet z zdravilom ob izdaji dovoljenja za promet z zdravilom
Zdravilo sirota
+ Subkutana infuzija s sistemom infuzijske črpalke z brizgo, ki je na voljo na trgu in lahko dovede odmerke do 20 mL

2.2 DOSTAVNI SISTEMI ZA
PODALJŠANO SPROŠČANJE
TERAPEVTSKIH PEPTIDOV PO
SUBKUTANI APLIKACIJI

V primerjavi s peroralno aplikacijo so peptidi po subkutani aplikaciji manj izpostavljeni učinku peptidaz, pa vendar je zagotavljanje stabilnosti izziv, ki ga rešujemo tako s sintezniimi modifikacijskimi postopki (npr. ciklizacijo, konjugacijo in številnimi drugimi) kot tudi s formulacijskimi pristopi. In-terakcije peptidov z zunajceličnim ogrođjem vodijo v po-

časnejšo absorpcijo, zaradi agregacije manjših terapevtskih peptidov ali njihove vezave na intersticijski albumin pa lahko dosežemo prednostno absorpcijo v limfni sistem, kar je si-cer značilno za večje biološke molekule. V tem okviru lahko torej z načrtovanjem sinteze, npr. vezavo lipidne kompo-nente (kot v primeru liraglutida) ali aciliranjem (kot za inzulin degludek ali semaglutid) in tako induciranim samoasocira-njem ter vezavo na albumin in povečano odpornostjo proti peptidazam dosežemo podaljšan razpolovni čas terapevt-skega peptida (9, 10). Dostavni sistemi za subkutano aplikacijo, ki omogočajo podaljšano sproščanje peptidne učinkovine, vzdržujejo te-

rapevtsko plazemsko koncentracijo preko daljšega časovnega obdobja od nekaj tednov do nekaj mesecev. S tem se zmanjša pogostost aplikacije, dosežemo manjše nihanje plazemskih koncentracij, kar prispeva k manjši pojavnosti neželenih učinkov, in tako celokupno izboljšamo sodelovanje bolnikov in klinične izide zdravljenja. Kljub upravičenosti razvoja takih formulacij, ki se v končni fazi odražajo tudi v finančnih koristih za zdravstveni sistem, pa je zaradi višjih finančnih vložkov razvoj primarno večinoma usmerjen v formulacijo s takojšnjim sproščanjem. Navadno se šele po njeni uspešno zaključeni klinični fazi III oz. registraciji proizvajalec odloči za razvoj oblike s podaljšanim sproščanjem (npr. formulacija s podaljšanim sproščanjem eksekatida je bila odobrena sedem let kasneje kot formulacija s takojšnjim sproščanjem). Zdravila za subkutano injiciranje temeljijo na štirih **formulacijskih pristopih** za doseganje podaljšanega sproščanja vgrajenih peptidov, in sicer i) *polimernih mikrodeltic* (npr. eksenatid za enkrat tedensko aplikacijo za izboljšanje urejenosti glikemije v kombinaciji z drugimi zdravili za zniževanje koncentracije glukoze v krvi); ii) *implantatih* (npr. za aplikacijo posameznega implantata z afamelanotidom vsaka dva meseca pred in med pričakovano povečano izpostavljenostjo sončni svetlobi za preprečevanje fototoksičnosti pri odraslih bolnikih z eritropoetsko protoporfirijo ali implantata z goserelinom v napolnjeni injekcijski brizgi za injiciranje na vsakih 28 dni za zdravljenje raka prostate, dojke ter endometrioz med ostalimi indikacijami, ali na 12 tednov za zdravljenje raka prostate) iii) *polimernih raztopinah, ki gelirajo in situ* (npr. raztopina levprorelinijevega acetata, ki tvori depo zdravilne učinkovine in zagotavlja konstantno sproščanje za zdravljenje raka prostate v času enega, treh ali šestih mesecev); ter iv) *tekočih kristalov* (npr. formulacija z vgrajenim lanreotidom za zdravljenje ali lajšanje simptomov akromegalije ali nevroendokrinih tumorjev z začetno aplikacijo na vsakih 28 dni, ki pa se v primeru dobro nadzorovane bolezni lahko podaljša celo na 42 ali 56 dni) (9, 20).

Polimerni mikrodeltci in implantati so pogosto izdelani iz biorazgradljivih polimerov, največkrat kopolimera mlečne in glikolne kisline (PLGA, *poly (lactic-co-glycolic acid)*), sproščanje vgrajenega peptida pa je nadzorovano z razgradnjo polimernega ogrodja. Princip podaljšanega sproščanja je v osnovi podoben tako za polimerne raztopine kot tekoče kristale. Oboji po injiciranju nizkoviskozne raztopine v podkožje gelirajo *in situ*, nastali gel pa predstavlja depo za podaljšano sproščanje zdravilne učinkovine. Kot polimer lahko uporabimo PLGA, medtem ko v primeru tekočih kristalov injiciramo zmes lipidov in površinsko aktivnih snovi, ki v podkožju tvorijo visoko viskozen gel z značilno

mikrostrukturo heksagonalnih ali kubičnih tekočih kristalov (9, 21). Trenutno na področju tekočih kristalov veliko obeta tehnologija FluidCrystal® v lasti švedskega farmacevtskega in biotehnološkega podjetja Camurus. Kot prvo registrirano zdravilo, pri katerem so uporabili tehnologijo FluidCrystal®, je bilo v Evropi leta 2018 odobreno zdravilo s podaljšanim sproščanjem buprenorfina za zdravljenje kronične bolečine in odvisnosti od opioidov, to tehnološko platformo pa intenzivno vrednotijo tudi za podaljšano sproščanje peptidov (npr. oktreotida (v teku je klinična faza III za zdravljenje akromegalije) oz. setmelanotida (pridobili so prve rezultate klinične faze III)) (22).

3 SUBKUTANA DOSTAVA MONOKLONSKIH PROTITELES

3.1 STANJE NA TRGU

Monoklonska protitelesa so v primerjavi s klasičnimi zdravilnimi učinkovinami velike molekule z molekulsko maso okrog 150 kDa. Hitro naraščajoče število zdravil z mAb je odraz njihove visoke specifičnosti, izboljšane terapevtske učinkovitosti ter manj neželenih učinkov v primerjavi z majhnimi učinkovinami (23). Med najpogostejšimi indikacijami mAb so maligne in avtoimunske bolezni, kot so revmatoidni artritis, Crohnova bolezen, ulcerozni colitis, luskavica in multipla skleroza (24). Trenutno je približno 60 % zdravil z mAb v EU registriranih za intravensko aplikacijo, zelo hitro pa narašča delež zdravil za subkutano aplikacijo, ki dosega že 30 % (25). Prvo zdravilo z mAb za subkutano aplikacijo je Evropska agencija za zdravila (EMA, *European Medicines Agency*) odobrila leta 2003, in sicer zdravilo Humira® (adalimumab, AbbVie). V zadnjem petletnem obdobju od 2019 do 2023 pa je dovoljenje za promet z zdravilom v EU dobilo 19 originatorskih zdravil z mAb za subkutano aplikacijo (preglednica 2).

Farmacevtska podjetja navadno neposredno razvijajo zdravila z mAb za subkutano aplikacijo, le v določenih primerih pa razvijajo formulacijo za subkutano aplikacijo mAb šele po odobritvi zdravila z mAb za intravensko aplikacijo. Slednje je posledica kompleksnejšega in daljšega razvoja formulacij za subkutano aplikacijo, ki je posledica zahtevnejše izbire ustreznih pomožnih snovi in vsebnika/naprave za injiciranje. Zdravila z mAb, kot so rituksimab, trastuzumab, daratumumab, tocilizumab, infliximab, so bila najprej na trgu na voljo izključno v obliki formulacij za intravensko



Preglednica 2: Originatorska biološka zdravila z mAb za subkutano (SC) aplikacijo, ki jih je EMA odobrila v zadnjih petih letih (14).

Table 2: Original biological medicinal products with mAb for subcutaneous administration approved by EMA in the last five years (14).

mAb	Zdravilo	c _{mAb} (mg/mL)	V _{raztopine} (mL)	Vsebnik	Terapevtska indikacija	Proizvajalec	Leto odobritve SC oblike
Ravulizumab	Ultomiris®	70	3,5	OBDS	paroksizmalna nočna hemoglobinurija	Alexion	2023
Lebrikizumab	Ebglyss®	125	2	PFS	atopični dermatitis	Almirall	2023
Epkoritamab	Tepkinly®	60	0,8	viala	difuzni velikocelični limfom B	AbbVie	2023
Mirikizumab	OmvoH®	100	1	PFS, peresnik	ulcerozni kolitis	Eli Lilly	2023 2023*
Teclistamab	Tecvayi®	90	1,7	viala	diseminiran plazmocitom	Janssen-Cilag	2022
Tezepelumab	Tezspire®	110	1,91	PFS, peresnik	astma	AstraZeneca	2022
Bimekizumab	Bimzelx®	160	1	PFS, peresnik	psoriza	UCB Pharma	2021
Tralokinumab	Adtralza®	150	2	PFS, peresnik	atopični dermatitis	Leo Pharma	2021
Natalizumab	Tysabri®	150	1	2× PFS	multipla skleroza	Biogen	2021 2006*
Casirivimab + imdevimab	Ronapreve®	120	2 x 2,5	2× viala	covid-19	Roche	2021 2021*
Ofatumumab	Kesimpta®	50	0,4	PFS, peresnik	multipla skleroza	Novartis	2021
Satralizumab	Enspryng®	120	1	PFS	optični nevromielitis	Roche	2021
Pertuzumab, Trastuzumab, hialuronidaza	Phesgo®	120	15	viala	rak dojk	Roche	2020
Daratumumab, hialuronidaza	Darzalex®	120	15	viala	diseminiran plazmocitom	Janssen-Cilag	2020 2016*
Vedolizumab	Entyvio®	158,8	0,68	PFS, peresnik	ulcerozni kolitis, Crohnova bolezen	Takeda Pharma	2020 2014*
Fremanezumab	Ajovy®	150	1,5	PFS, peresnik	migrena	Teva	2019
Risankizumab	Skyrizi®	150	2,4	OBDS, PFS	psoriza, psoriatični artritis	AbbVie	2019 2022*
Romosozumab	Evenity®	90	1,17	PFS	osteoporoza	UCB Pharma	2019

* Leto izdaje dovoljenja za promet za intravensko obliko

Legenda: PFS – napolnjena injekcijska brizga (pre-filled syringe); OBDS – injektor, ki se pritrdi na telo (on-body delivery system)

aplikacijo, kasneje pa so razvili in odobrili tudi formulacije za subkutano aplikacijo.

Na področju zdravil z mAb za subkutano aplikacijo so na trgu tudi že podobna biološka zdravila, torej zdravila, ki so v smislu varnosti in učinkovitosti zelo podobna že odobrenim referenčnim (originatorskim) zdravilom v EU in sicer z učinkovinami, kot so adalimumab, etanercept, tocilizumab in infliksimab. Prvo podobno biološko zdravilo z mAb je bilo odobreno s strani EMA leta 2013, in sicer zdravilo Remsima[®] z učinkovino infliksimab proizvajalca Celltrion. Infliksimab uporabljamo za zdravljenje nekaterih revmatoloških, gastroenteroloških in dermatoloških bolezni (npr. revmatoidnega artritis, ankilozirajočega spondilitisa, Crohnove bolezni, ulceroznega kolitisa ter psoriaze oz. psoriatičnega artritis). Referenčno zdravilo Remicade[®] (Janssen) z dovoljenjem za promet od leta 1999, dajemo intravensko, zato je tudi biološko podobno zdravilo Remsima[®] prišlo na trg najprej v obliki za intravensko aplikacijo. Leta 2019 pa je bila odobrena še oblika za subkutano aplikacijo, proizvajalca biološko podobnega zdravila (Celltrion), kar je trenutno edini primer, da je proizvajalec podobnega biološkega zdravila prehitel originatorja s pripravo oblike za subkutano aplikacijo. Sprememba zdravila zaradi spremembe načina aplikacije namreč ne zahteva več dokazovanja podobnosti z osnovnim referenčnim zdravilom, temveč samo še z zdravilom za intravensko aplikacijo istega proizvajalca (26).

3.2 VISOKOKONCENTRIRANE FORMULACIJE Z USTREZNO VISKOZNOSTJO

Terapevtski odmerki mAb so zelo visoki (150 mg do 1,2 g) (27), hkrati pa subkutano aplikacijo pogojuje majhen volumen injiciranja (običajno do 2 mL). Posledično morajo biti formulacije visokokoncentrirane, tako da njihova koncentracija pogosto presega 100 mg/mL (28). Razvoj zdravil z mAb za subkutano aplikacijo je zato zelo zahteven. Dva glavna izziva pri razvoju visokokoncentriranih formulacij z mAb sta *visoka viskoznost in povečano nagnjenje k združevanju molekul mAb*, kar vodi v fizikalno-kemijske nestabilnosti raztopine mAb (28). Povečana viskoznost v prvi vrsti povzroča težave z vidika razvoja in proizvodnje takšnih formulacij, kot npr. odmerjanje raztopine, izvedba sterilizacije z membransko filtracijo, omejen pretok tekočine v proizvodni opremi in polnjenje v vsebnike. Nadalje je povečana viskoznost omejujoč dejavnik z vidika aplikacije zdravila, saj poveča upor tekočine in posledično sile, potrebne za injiciranje (29–31). S povečevanjem koncentracije

postanejo interakcije med molekulami mAb bolj izražene, kar vodi do eksponentno povišane viskoznosti, zato dodajamo *specifične pomožne snovi za zniževanje viskoznosti*, ki vplivajo na interakcije (predvsem ionske in hidrofobne) med molekulami mAb in na ta način preprečijo združevanje molekul in povišanje viskoznosti formulacije. Pogosto uporabljamo aminokisline, kot sta arginin in prolin, ali soli (natrijev klorid), hkrati pa na raziskovalnem nivoju poteka intenzivno iskanje novih še bolj učinkovitih spojin (31). V razvoju so še druge tehnologije za izdelavo visokokoncentriranih formulacij z ustrezno viskoznostjo, npr. tehnologija Xeriject[™] za izdelavo formulacije v obliki brezvodne suspenzije ali pa tehnologije Elektroject[™], Microglassification[™] in Crystalomics[®] za izdelavo formulacij v obliki mikrokrodelcev, mikrokroglic ali kristalov mAb za subkutano aplikacijo (32).

3.3 TEHNOLOGIJA, KI OMOGOČA APLIKACIJO VEČJEGA VOLUMNA RAZTOPINE

Subkutano apliciranje visokih terapevtskih odmerkov mAb je možno doseči tudi **s povečanjem volumna raztopine za injiciranje**. Velik napredek v smislu dajanja večjih volumnov raztopine so dosegli s pomočjo tehnologije, ki začasno spremeni podkožje na mestu aplikacije in s tem omogoča aplikacijo večjega volumna raztopine (32). Hialuronidaza je encim, ki katalizira razgradnjo hialuronske kisline. To je naravno prisotnen glikozaminoglikan v zunajceličnem ogrodju vezivnega tkiva podkožja. Če skupaj z mAb subkutano injiciramo **rekombinantno človeško hialuronidazo (rHuPH20)**, pride zaradi razgradnje hialuronske kisline na mestu injiciranja do začasne lokalno omejene spremembe podkožja (razrahljanje zunajceličnega ogrodja in povečanje kapacitete za sprejem tekočine), kar omogoči injiciranje večjih volumnov raztopine. Tehnologija Enhance[®] tako omogoča injiciranje večjih volumnov raztopine v obliki injekcij (5 do 15 mL) in infuzij (do 600 mL) za subkutano aplikacijo ter istočasno poveča biološko uporabnost mAb in zmanjša farmakokinetično variabilnost v kumulativni izpostavljenosti mAb. Na tehnologiji Enhance[®] temelji več zdravil, ki so odobrena v Evropi, ZDA in številnih drugih državah, in sicer z naslednjimi mAb: trastuzumab (Herceptin[®] SC (Roche), 5 mL), rituksimab (MabThera[®] SC (Roche), 11,7 ali 13,4 mL), daratumumab (Darzalex[®] SC (Janssen-Cilag), 15 mL) ter kombinacija pertuzumaba in trastuzumaba (Phesgo[™] (Roche), 15 mL). Poleg tega je trenutno veliko število zdravil v različnih kliničnih fazah preskušanja (32).



3.4 VSEBNIKI/NAPRAVE, KI OMOGOČAJO APLIKACIJO RAZTOPIN Z VISOKO VISKOZNOSTJO ALI VEČJIH VOLUMNOV RAZTOPINE

Velik napredek v smislu dajanja večjih volumnov raztopine so dosegli tudi s pomočjo naprav, ki omogočajo aplikacijo večjih volumnov raztopine (> 3 mL) kot tudi raztopin z večjo viskoznostjo (32). Tradicionalno za subkutano aplikacijo raztopin z nizko viskoznostjo uporabljamo injekcijske brizge in napolnjene injekcijske brizge, ki omogočajo injiciranje do 2 mL formulacije. Injiciranje visokokonzentriranih raztopin proteinov zaradi povečane viskoznosti zahteva uporabo večje sile pri injiciranju, kar je za ročno injiciranje nesprejemljivo. Podaljša se tudi čas injiciranja, sama aplikacija pa je lahko boleča. Za obvladovanje večje sile pri injiciranju raztopin z visoko viskoznostjo so na voljo **injekcijski peresniki**, ki dosegajo silo injiciranja z močnejšo linearno vzmetjo. Injekcijski peresnik YpsoMate® 2.25 Pro omogoča injiciranje raztopin z viskoznostjo do 50 cP. Z njim injiciramo zdravilo Ajoyv® (fremanezumab, Teva) za profilakso migrene (slika 2a). Za injiciranje raztopin z višjo viskoznostjo so primerni tudi injekcijski peresniki, ki uporabljajo torzijske vzmeti in regulatorje za nadzor sile s časom (Rotaject® – za raztopine z viskoznostjo do 100 cP), peresniki, ki uporabljajo utekočinjen plin (Vapoursoft®) in peresniki z elektromehanskimi motorji. Predstavnik slednjih je injekcijski peresnik AutoTouch™ za večkratno uporabo, s katerim injiciramo zdravilo Enbrel® (etanercept, Pfizer), ki

ga uporabljamo enkrat ali dvakrat tedensko za zdravljenje revmatoidnega artritisa.

Podjetja, ki se ukvarjajo z razvojem naprav za injiciranje, so razvila tudi več vrst **inovativnih modelov igel**, ki omogočajo injiciranje večjih volumnov ali bolj viskoznih raztopin. Primeri vključujejo krajše igle, igle s tankimi/ultratankimi stenami ali igle s posebno geometrijo (zoženje proti konici). Večje volumne raztopine lahko injiciramo tudi s počasno subkutano infuzijo ali z uporabo **avtomatskih odmernikov oz. nosljivih naprav za injiciranje**, ki se pritrdijo na bolnikovo kožo na področju trebuha, zgornjega dela stegna ali nadlakti (slika 2b). Mehanizem injiciranja je lahko mehanski (na osnovi vzmeti/napetosti) ali elektromehanski, po aktivaciji se v kožo samodejno vstavi igla, injiciranje pa poteka z vnaprej določeno/nastavljivo hitrostjo, kar zmanjša nelagodje bolnika. S takšnimi napravami lahko injiciramo od 3 do 10 mL raztopine (32). Zdravilo Repatha® (evolokumab, Amgen), ki ga uporabljamo za zdravljenje hiperholesterolemije in dislipidemije, lahko poleg z napolnjeno injekcijsko brizgo ali napolnjenim injekcijskim peresnikom injiciramo tudi s pomočjo avtomatskega odmernika (West SmartDose® 3,5) za enkratno uporabo, v katerega vstavimo vložek z raztopino za injiciranje. Na ta način lahko subkutano injiciramo 3,5 mL raztopine s koncentracijo 120 mg/mL. Zdravilo Ultomiris® (ravulizumab, Alexion), ki ga uporabljamo za zdravljenje paroksizmalne nočne hemoglobinurije in atipičnega hemolitičnega uremičnega sindroma, lahko tedensko injiciramo s pomočjo dveh avtomatskih odmernikov za enkratno uporabo, v katera vstavimo vložek z raztopino za injiciranje s koncentracijo 70 mg/mL.



Slika 2: Naprave/vsebniki, ki omogočajo aplikacijo raztopin mAb z visoko viskoznostjo oz. večjih volumnov raztopin mAb: a) napolnjen injekcijski peresnik oz. b) nosljiv injektor, ki se pritrdi na telo (33, 34).

Figure 2: Devices/containers that enable the application of mAb solutions with high viscosity or larger volumes of mAb solutions: a) pre-filled pen or b) on-body delivery system (33, 34).

4 SKLEP

Biološka zdravila s terapevtskimi peptidi in proteini, ki jih odlikuje visoke terapevtska učinkovitost, so na področju farmakoterapije prinesla novo upanje za številne bolnike s kroničnimi neozdravljivimi boleznimi, če izpostavimo zgolj presnovne, onkološke in avtoimunske bolezni, poleg številnih drugih, nenazadnje tudi redkih bolezni. V zadnjem obdobju zelo hitro narašča število bioloških zdravil, ki jih dajemo subkutano, saj je takšen način parenteralne aplikacije za bolnika najbolj prijazen ob istočasno manjši obremenitvi zdravstvenega sistema. Nadaljnji razvoj bioloških zdravil za subkutano aplikacijo bo predvidoma vzporedna pot razvoja strukturnih modifikacij bioloških učinkovin z namenom optimizacije njihovih biofizikalnih lastnosti, različnih tehnoloških pristopov, ki bodo omogočali ali podaljšano delovanje ali dostavo visokokonzentriranih formulacij ter inovativnih naprav za aplikacijo večjih volumnov raztopine. Končni cilj pa je skupen in vedno enak: k bolniku usmerjeno in učinkovito zdravljenje.

5 IZJAVA

Delo je nastalo v okviru raziskovalnega programa (P1-0189) in raziskovalnega projekta (L1-3160), ki ju je sofinancirala Javna agencija za znanstvenoraziskovalno in inovacijsko dejavnost Republike Slovenije.

6 LITERATURA

1. Dubbelboer IR, Sjörgen E. Overview of authorized drug products for subcutaneous administration: Pharmaceutical, therapeutic, and physicochemical properties. *Eur J Pharm Sci.* 2022 Jun 1;173:106181.
2. Bittner B, Richter W, Schmidt J. Subcutaneous Administration of Biotherapeutics: An Overview of Current Challenges and Opportunities. *BioDrugs* 2018 Oct;32(5):425-40.
3. Usach I, Martinez R, Festini T, Peris J-E. Subcutaneous Injection of Drugs: Literature Review of Factors Influencing Pain Sensation at the Injection Site. *Adv Ther.* 2019 Nov;36(11):2986-96.
4. Wikipedia [Internet]. Subcutaneous-injection-sites. [cited 2024 February 15]. Available from: <https://en.m.wikipedia.org/wiki/File:Subcutaneous-injection-sites-274x300.png>
5. Pollard D, Chaplin S. Subcutaneous injection: learning from experience in other specialties. *The Journal of Haemophilia Practice* 2018 May;5(1):35-41.
6. Ridyard CH, Dawoud DMM, Tuersley LV, Hughes DA. A Systematic Review of Patients' Perspectives on the Subcutaneous Route of Medication Administration. *Patient* 2016 Aug;9(4):281-92.
7. Schneider A, Jost R, Lange J. Autoinjectors for large-volume subcutaneous drug delivery: a review of current research and future directions. *Expert Opinion on Drug Delivery.* 2023 Jun;20(6):815-30.
8. Muttenthaler M, King GF, Adams DJ, Alewood PF. Trends in peptide drug discovery. *Nat Rev Drug Discov.* 2021 Apr;20(4):309-25.
9. Ganesh AN, Heusser C, Garad S, Sánchez-Félix V. Patient-centric design for peptide delivery: Trends in routes of administration and advancement in drug delivery technologies. *Medicine in drug discovery.* 2021 Mar;9:100079.
10. Klepach A, Tran H, Mohammed FA, ElSayed MEH. Characterization and impact of peptide physicochemical properties on oral and subcutaneous delivery. *Adv Drug Deliv Rev.* 2022 Jul;186:114322.
11. Fosgerau K, Hoffmann T. Peptide therapeutics: current status and future directions. *Drug Discov Today.* 2015 Jan;20(1):122-8.
12. Precedence research [Internet]. Peptide Therapeutics Market Size 2023 To 2032 [cited 2024 January 31]. Available from: <https://www.precedenceresearch.com/peptide-therapeutics-market>
13. Barman P, Joshi S, Preet S, Sharma S, Saini A. Strategic Approaches to Improve Peptide Drugs as Next Generation Therapeutics. *Int J Pept Res Ther.* 2023 May;29(4):61.
14. European Medicines Agency [Internet]. Download medicine data [cited 2024 February 16]. Available from: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/download-medicine-data#ema-inpage-item-38548>
15. Al Shaer D, Al Musaimi O, Albericio F, de la Torre BG. 2019 FDA TIDES (Peptides and Oligonucleotides) Harvest. *Pharmaceuticals (Basel).* 2020 Mar 5;13(3):40.
16. Al Musaimi O, Al Shaer D, Albericio F, de la Torre BG. 2020 FDA TIDES (Peptides and Oligonucleotides) Harvest. *Pharmaceuticals (Basel).* 2021 Feb 11;14(2):145.
17. Al Shaer D, Al Musaimi O, Albericio F, de la Torre BG. 2021 FDA TIDES (Peptides and Oligonucleotides) Harvest. *Pharmaceuticals (Basel)* 2022 Feb 13;15(2):222.
18. Al Musaimi O, Al Shaer D, Albericio F, de la Torre BG. 2022 FDA TIDES (Peptides and Oligonucleotides) Harvest. *Pharmaceuticals (Basel).* 2023 Feb 22;16(3):336.
19. Al Shaer D, Al Musaimi O, Albericio F, de la Torre BG. 2023 FDA TIDES (Peptides and Oligonucleotides) Harvest. *Pharmaceuticals.* 2024 Feb 13;17(2):243.
20. Mediatly [Internet; cited 2024 February]. Available at: <https://mediately.co/si>
21. Gonella A, Grizot S, Liu F, López Noriega A, Richard J. Long-acting injectable formulation technologies: challenges and opportunities for the delivery of fragile molecules. *Expert Opin Drug Deliv.* 2022 Aug;19(8):927-44.
22. Camurus [Internet]. Improving treatments for patients with severe and chronic diseases. Company Presentation May 2023 [cited 2024 February 10]. Available at:



- <https://www.camurus.com/files/Presentations/Camurus-Company-Presentation-May-2023-2.pdf>
23. Viola M, Sequeira J, Seíça R, Veiga F, Serra J, Santos AC, Ribeiro AJ. Subcutaneous delivery of monoclonal antibodies: How do we get there? *J Control Release* 2018 Sep 28;286:301-14.
 24. Wei Wang, Satish Singh, David L. Zeng, Kevin King, Sandeep Nema. Antibody structure, Instability, and Formulation. *J Pharm Sci.* 2007 Jan;96(1):1-26.
 25. Ahlin Grabnar P, Prašnikar M, Gašperlin M. Subkutano apliciranje monoklonskih protiteles: pregled sestavin zdravil. *Zdrav Vestn.* 2023 Dec; DOI: 10.6016/ZdravVestn.3437.
 26. European Medicines Agency [Internet]. Extension of indication variation assessment report. Remsima. International non-proprietary name: infliximab [cited 2024 April 10]. Available at: https://www.ema.europa.eu/en/documents/variation-report/remsimah-c-2576-x-0062-epar-assessment-report-variation_en.pdf
 27. Turner MR, Balu-Iyer SV. Challenges and Opportunities for the Subcutaneous Delivery of Therapeutic Proteins. *J Pharm Sci.* 2018 May;107(5):1247-60.
 28. Shire SJ, Shahrokh Z, Liu J. Challenges in the development of high protein concentration formulations. *J Pharm Sci.* 2004 Jun;93(6):1390-402.
 29. Garidel P, Kuhn AB, Schäfer LV, Karow-Zwick AR, Blech M. High-concentration protein formulations: How high is high? *Eur J PharmBiopharm.* 2017 Oct;119:353-60.
 30. Jezek J, Rides M, Derham B, Moore J, Cerasoli E, Simler R, Perez-Ramirez B. Viscosity of concentrated therapeutic protein compositions. *Adv Drug Deliv Rev.* 2011 Oct;63(13):1107-17.
 31. Li J, Cheng Y, Chen X, Zheng S. Impact of electroviscous effect on viscosity in developing highly concentrated protein formulations: Lessons from non-protein charged colloids. *Int J Pharm X.* 2018 Dec 24;1:100002.
 32. Badkar AV, Gandhi RB, Davis SP, LaBarre MJ. Subcutaneous Delivery of High-Dose/Volume Biologics: Current Status and Prospect for Future Advancements. *Drug Des Devel Ther.* 2021 Jan 13;15:159-70.
 33. YPSOMED [Internet]. Teva launches AJOVY for the treatment of migraine with the YpsoMate autoinjector from Ypsomed [cited 2024 January 23]. Available from: <https://www.ypsomed.com/en/media/details/teva-launches-ajovy-for-the-treatment-of-migraine-with-the-ypsomate-autoinjector-from-ypsomed.html>
 34. MPR [Internet]. REPATHA PUSHTRONEX [cited 2024 January 23]. Available from: <https://www.empr.com/drug/repatha-pushtronex/>