

# Stabilitätsstudien von Biopharmazeutika

Stefan Künzig, BIOPHARM GmbH, Heidelberg

**Ohne bestandene Stabilitätsstudie kein zugelassenes Produkt. Hierin unterscheiden sich die Biopharmazeutika nicht von den klassischen Arzneimitteln. Es gibt aber gewisse Unterschiede und Punkte, die bei Stabilitätsstudien von Biopharmazeutika, also biotechnologischen Produkten aus der lebenden Zelle, zu beachten sind. Hierzu zählen die besondere Empfindlichkeit der Biopharmazeutika gegenüber erhöhten Temperaturen, Licht, Oxidationsmitteln, Scherkräften sowie die Komplexität der oft sehr großen Moleküle.**

Die Ziele von Stabilitätsstudien sind bei klassischen und biotechnologisch hergestellten Pharmazeutika die gleichen. Sie dienen dazu, Aussagen zur Haltbarkeit unter bestimmten Lagerungsbedingungen und in definierten Verpackungen treffen zu können. Innerhalb einer Stabilitätsstudie wird also die mögliche zeitabhängige Veränderung der Qualität von Wirkstoffen und Arzneimitteln unter dem Einfluss von Umgebungsbedingungen festgestellt. Dazu wird ein jederzeit nachvollziehbares Testprogramm festgelegt, abgearbeitet und dessen Ergebnisse dokumentiert. Die erhaltenen Daten dienen zur Festlegung geeigneter Formulierungen, Lagerungsbedingungen, Wiederholungsprüfintervallen (wie etwa von Referenzsubstanzen) und schließlich eines Verfallsdatums.

Die folgenden ICH (International Conference on Harmonisation)-Richtlinien sind

für Stabilitätsstudien mit Biopharmazeutika relevant:

- Q1A (R2): Stability Testing of New Drug Substances and Products
- Q5C: Quality of Biotechnological Products: Stability Testing of Biotechnological/ Biological Products

Die Lagerung und die Analysen während einer Stabilitätsstudie für eine (internationale) Zulassung erfolgen gemäß GMP (Good Manufacturing Practice). Dies bedeutet, die Lagerung muss in qualifizierten und permanent überwachten Geräten oder Räumen bei genau definierten Temperatur- und Feuchtebedingungen stattfinden. Für die Analysen kommen validierte, stabilitätsindizierende Methoden zum Einsatz, die die physikalischen, chemischen, mikrobiologischen und biologischen Eigenschaften der Produkte untersuchen. Die ICH-Richtlinie Q6B: „Spe-

cifications : Test Procedures and Acceptance Criteria for Biotechnological/ Biological Products“ gibt Hinweise zur Festlegung einer Spezifikation.

Während einer Produktentwicklung fallen verschiedene Stabilitätsstudien an. Mit dem Wirkstoff werden Stressprüfungen, beschleunigte Prüfungen und Tests zur Langzeitstabilität durchgeführt. Weitere Stabilitätsstudien erfolgen mit ausgewählten Formulierungen, mit GMP-Chargen (beschleunigt und zur Langzeitstabilität) sowie mit Marktchargen.

## Lagerungsbedingungen

Biopharmazeutika unterscheiden sich bei den Lagerungsbedingungen oft von den klassischen Pharmazeutika. Wirkstoffe werden zum Beispiel meist bei Temperaturen von -70 °C bis -80 °C gelagert, die Langzeitlagertemperatur von Endprodukten überschreitet selten Kühschrankbedingungen von +5 °C.

Die minimalen Studiendauern betragen bei den intermediate und accelerated Studien sechs Monate und bei den anderen Studien 12 Monate. Bei intermediate-Bedingungen gelagerte Proben werden zum Beispiel zusätzlich untersucht, wenn sich beim Stresstest (accelerated) signifikante Veränderungen gezeigt haben.

## Prüfmethode

Die Prüfmethode für Stabilitätsstudien mit Biopharmazeutika müssen stabilitätsindizierend sein, das heißt, sie müssen Änderungen bei den folgenden Parametern detektieren und quantifizieren können: Identität, Eigenschaften, Reinheit, Gehalt, Aktivität und mikrobiologische Eigenschaften. Um die Eignung der analytischen Prüfmethode zur Erkennung von Veränderungen der Proben während einer Stabilitätsstudie festzustellen, werden vorab Stresstests mit einzelnen Chargen durchgeführt. Dazu werden die Muster im Falle von Biopharmazeutika meist durch höhere Temperaturen (z. B. 60 °C) sowie durch das Einwirken von Oxidationsmitteln und eventuell Säuren oder Laugen belastet. Hierdurch lassen sich Abbau- und Zersetzungsprodukte erzeugen und gegebenenfalls für eine Identifikation isolieren. Die analytischen Methoden müssen in der Lage sein, diese qualitativen Änderungen zu detektieren.

## Stabilitätsprotokoll

Vor Beginn einer Stabilitätsstudie wird diese in einem Protokoll festgelegt. Das Protokoll beinhaltet die Chargenauswahl (zum Beispiel drei repräsentative GMP-Chargen bei einer Langzeitstudie) inklusive der Mustermengen,

Tab. 1: Lagerungsbedingungen für Stabilitätsstudien

Stabilitätsstudie			Lagerungsbedingungen
Allgemein Klimazone I und II	Long term	Langzeitstudie	25 °C ± 2 °C/ 60 % r.F. ± 5 % r.F.
	Intermediate	Zwischenstudie	30 °C ± 2 °C/ 65 % r.F. ± 5 % r.F.
	Accelerated	beschleunigt	40 °C ± 2 °C/ 75 % r.F. ± 5 % r.F.
Kühlschrank	Long term	Langzeitstudie	5 °C ± 3 °C
	Accelerated	beschleunigt	25 °C ± 2 °C/ 60 % r.F. ± 5 % r.F.
Gefrierschrank	Long term	Langzeitstudie	-20 °C ± 5 °C
Lagerung unter -20 °C	Long term	Langzeitstudie	Produktabhängige Festlegung

Tab. 2: Ausgewählte Prüfmethode für Stabilitätsstudien

Prüfparameter	Prüfmethode und Funktion
Identität	Veränderung der Eigenschaften und damit Identität durch chemische Modifikationen (IEF, Peptide Mapping)
Eigenschaften	Chemische Änderungen z. B. am Protein führen zu unterschiedlichen Eigenschaften (Trübung, Farbe)
Reinheit	Aggregation und Fragmentbildung verursachen Nebenprodukte mit unterschiedlichen Molekulargewichten (SDS-PAGE, SEC) Oxidation und Deamidierung führt zu veränderten hydrophoben Eigenschaften an der Proteinoberfläche (RP-HPLC)
Gehalt	Im ELISA kann Degradation und damit verbundene Konformationsänderung detektiert werden.
Aktivität	Im Bioassay wird die Wirksamkeit gezeigt.
mikrobiologische Eigenschaften	Eine Sterilitätsprüfung wird durchgeführt, um die Eignung der Verpackung für die Lagerungsbedingung zu zeigen.

Tab. 3: Beispiel für einen Stabilitätsplan eines biotechnologischen Wirkstoffs

Prüfparameter	Prüfmethode	Start	3 M	6 M	9 M	12 M	18 M	24 M	36 M
Identität	IEF	X	X	X	X	X	X	X	X
	Pep Map	X	X	X	X	X	X	X	X
Eigenschaften	Farbe, Trübung	X	X	X	X	X	X	X	X
	pH	X	X	X	X	X	X	X	X
Reinheit	SDS-PAGE	X	X	X	X	X	X	X	X
	SEC	X	X	X	X	X	X	X	X
	RP-HPLC	X	X	X	X	X	X	X	X
Gehalt	ELISA	X	X	X	X	X	X	X	X
Aktivität	Bioassay	X	X	X	X	X	X	X	X
Mikrobiolog. Eigenschaften	Sterilität	X				X		X	X

die Lagerungsbedingungen, den Startzeitpunkt, alle weiteren Prüfzeitpunkte, die Prüfmethode und die Stabilitätsspezifikation.

Zur Verringerung des Proben- und Prüfungsaufkommens gibt es die Möglichkeit des Bracketing und Matrixing. Allerdings kommt Bracketing bei Biopharmazeutika eher seltener zum Tragen, da nicht mehrere Dosierungen oder Verpackungsgrößen eines Biopharmazeutikums existieren, von denen dann nur die höchste/größte und die niedrigste/kleinste geprüft werden. Durch Matrixing lässt sich jedoch unter Umständen eine Einsparung erzielen. Möglichkeiten dazu sind in der ICH-Richtlinie Q1D: „Bracketing and Matrixing Designs for Stability Testing of New Drug Substances and Products“ beschrieben.

## Fazit

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass Stabilitätsstudien mit Biopharmazeutika meist ein noch vielschichtigeres Thema sind als die mit klassischen Pharmazeutika. Dies hängt mit den hochkomplexen Wirkstoffen zusammen, deren Qualität oder mögliche Veränderung der Qualität während der Lagerung mit aufwendigen Methoden erfasst werden muss. Aus diesem Grunde ist es sehr wichtig, für entsprechende Stabilitätsstudien ein Labor zu haben, das auf diesem Gebiet über umfassende Erfahrungen verfügt.

## Kontakt

BIOPHARM GmbH  
 Stefan Künzig  
 D-69115 Heidelberg  
 Tel.: +49-(0)6221-5383-0  
 services@biopharm.de  
 www.biopharm.de