



Ospedale Niguarda

Sistema Socio Sanitario



Regione
Lombardia

Lo sviluppo dei farmaci biologici e biosimilari e l'innovazione nei processi produttivi biotecnologici

Francesco Scaglione, MD, PhD

Department of Oncology and Hemato-oncology

**Postgraduate School of clinical pharmacology
University of Milan**

**Head of Clinical Pharmacology Unit
Niguarda Ca' Granda- Hospital
Milan, Italy**

Disclosures

- Alcon (C,S)
- Amgen (C,S)
- Astellas Pharma (C,S)
- Astra-zeneca (C,S)
- Bayer (C, S)
- GlaxoSmithKline(C,S)
- Hospira (S)
- Janssen.(C,S)
- Johnson & Johnson (C)
- Merck (C,S)
- Novartis (S)
- Pfizer (R,C,S)
- Pharmafin (C)
- Pierre Fabre (C,R)
- Roche (S)
- Sanofi-Aventis (R,S)
- Teva (S)

C = Consultation/Advisory;
S = Speaker;
R = Research
Contract/Grant.

Come si produce un farmaco biotecnologico?

E' un processo complesso che avviene attraverso una sequenza di fasi comuni:

- - Definizione e sviluppo di una cellula ospite
- - Creazione di una banca cellulare
- - Fermentazione
- - Purificazione della proteina
- - Analisi qualitativa
- - Formulazione del prodotto
- - Conservazione



Caratteristiche dei farmaci biotecnologici

- Le autorità regolatorie richiedono ai produttori di dimostrare:
 - **Controllo** sul processo di produzione
 - **Capacità** di produrre **lotti consistenti** tra loro
 - **Capacità** di riprodurre lotti che rispondano **alle specifiche del prodotto stabilite attraverso una dettagliata caratterizzazione.**
 - **Qualsiasi cambio nel processo di produzione deve essere notificato e bisogna dimostrare l'identità del prodotto**



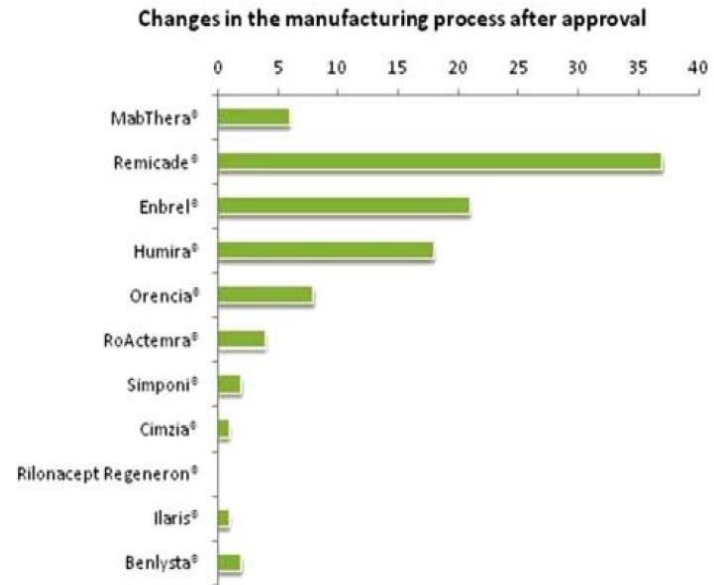
Comparability assessment for biologics

- La variabilità da lotto a lotto è intrinseca per i prodotti biologici, nessun lotto è completamente identico a un altro
- Il processo di produzione cambia con la possibilità di migliorare il profilo di qualità
- La versione precedente e successiva al cambiamento del medicinale deve essere dimostrata comparabile attraverso un esercizio di comparabilità in linea con le raccomandazioni fornite nella linea guida EMA
- I produttori e i regolatori devono valutare l'impatto dei cambiamenti di processo - anche nel caso di biologici complessi

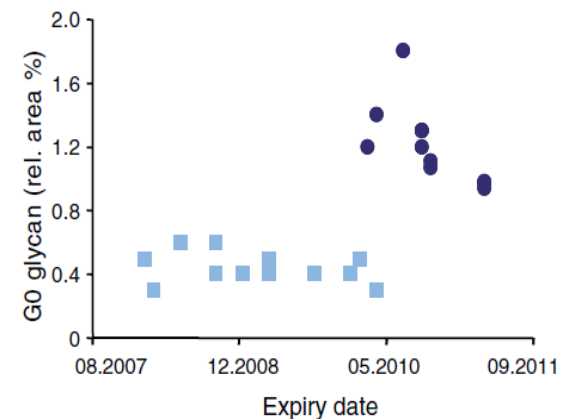
Manufacturing process changes are common for all biologics

| Application number | Scope | Opinion/ Notification ¹ issued on |
|--------------------|---|--|
| II/0111 | B.I.a.1.e - Change in the manufacturer of AS or of a starting material/reagent/intermediate for AS - The change relates to a biological AS or a starting material [-] used in the manufacture of a biological/immunological product | 23/06/2016 |
| IB/0120 | B.II.b.3.z - Change in the manufacturing process of the finished or intermediate product - Other variation | 22/06/2016 |
| IB/0119/G | This was an application for a group of variations. B.I.b.1.c - Change in the specification parameters and/or limits of an AS, starting material/intermediate/reagent - Addition of a new specification parameter to the specification with its corresponding test method B.I.b.2.e - Change in test procedure for AS or starting material/reagent/intermediate - Other changes to a test procedure (including replacement or addition) for the AS or a starting material/intermediate | 21/06/2016 |

Rituximab assessment history available at EMA website



Schneider C., Ann Rheum Dis March 2013
Vol 72 No 3



Schiestl M. et al, Nat Biotech,
April 2011

“One process, one product”

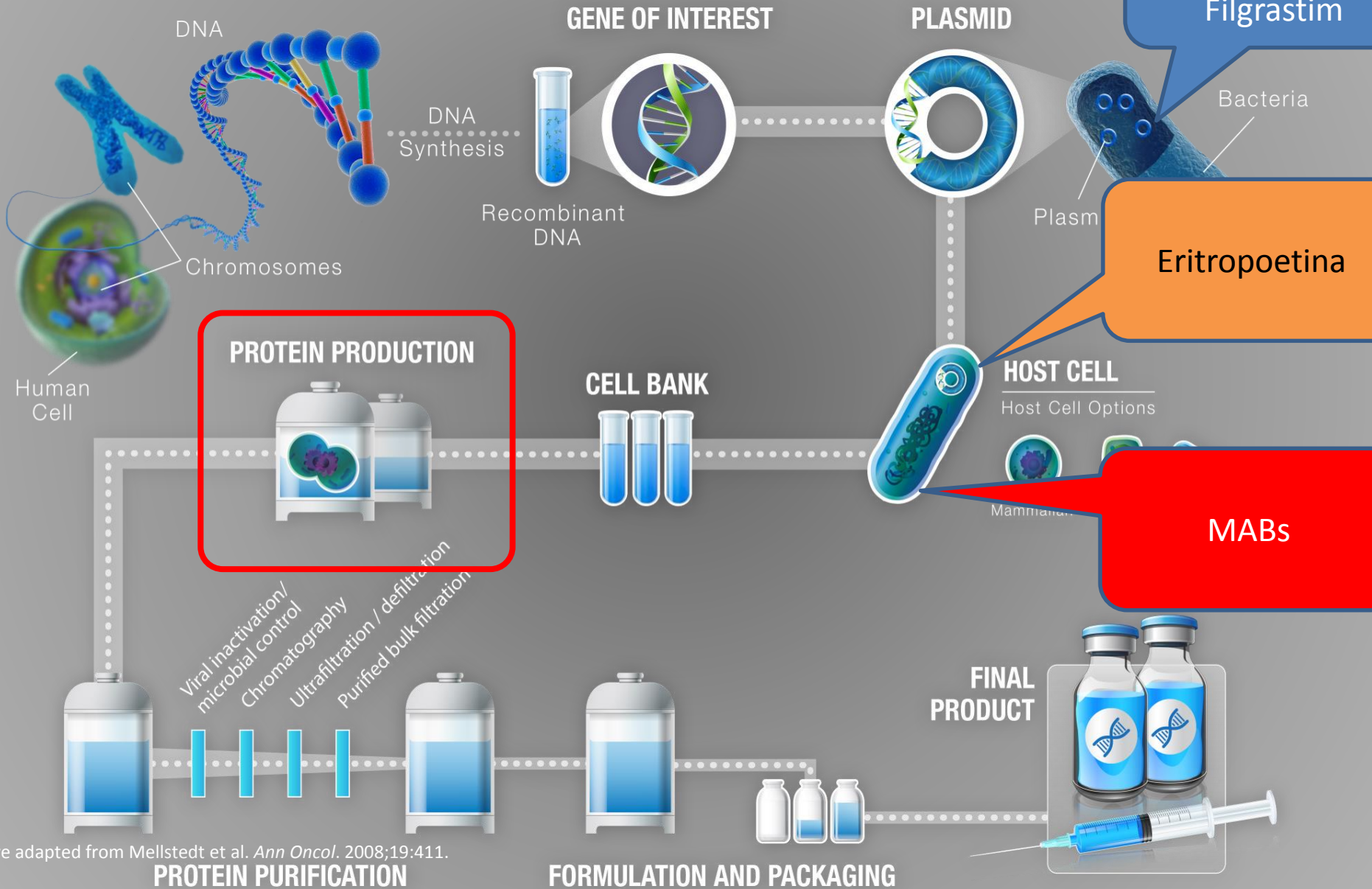


Figure adapted from Mellstedt et al. *Ann Oncol.* 2008;19:411.

Cellule di Ovaio di Hamster Cinese transfettate con il gene Umano

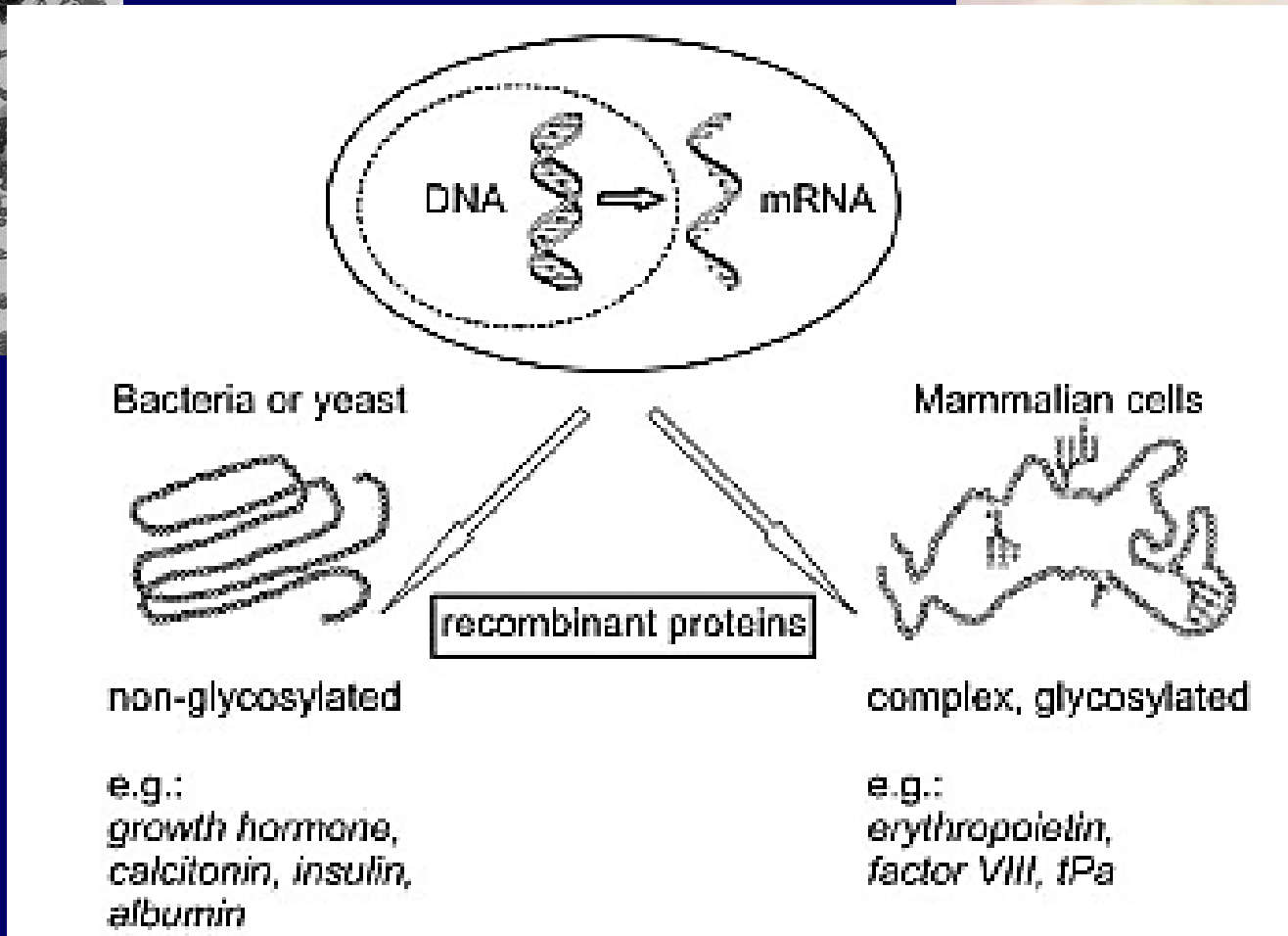
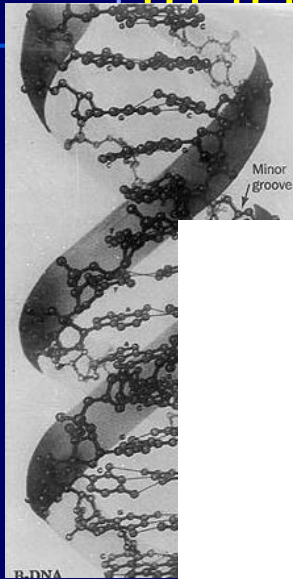
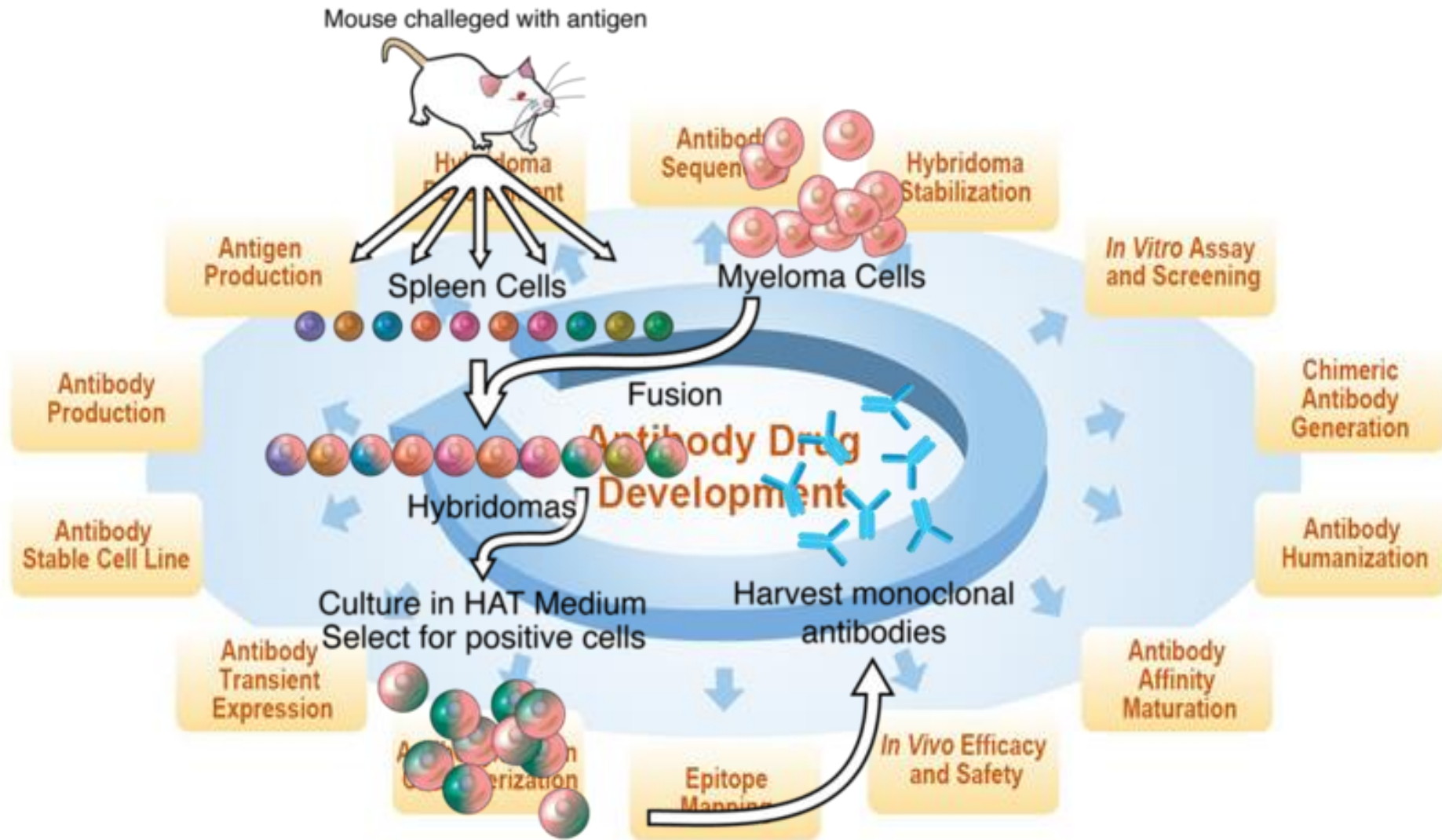


Fig. 1. Host cell suitability for production of non-glycosylated

MAB: Processo multicellulare



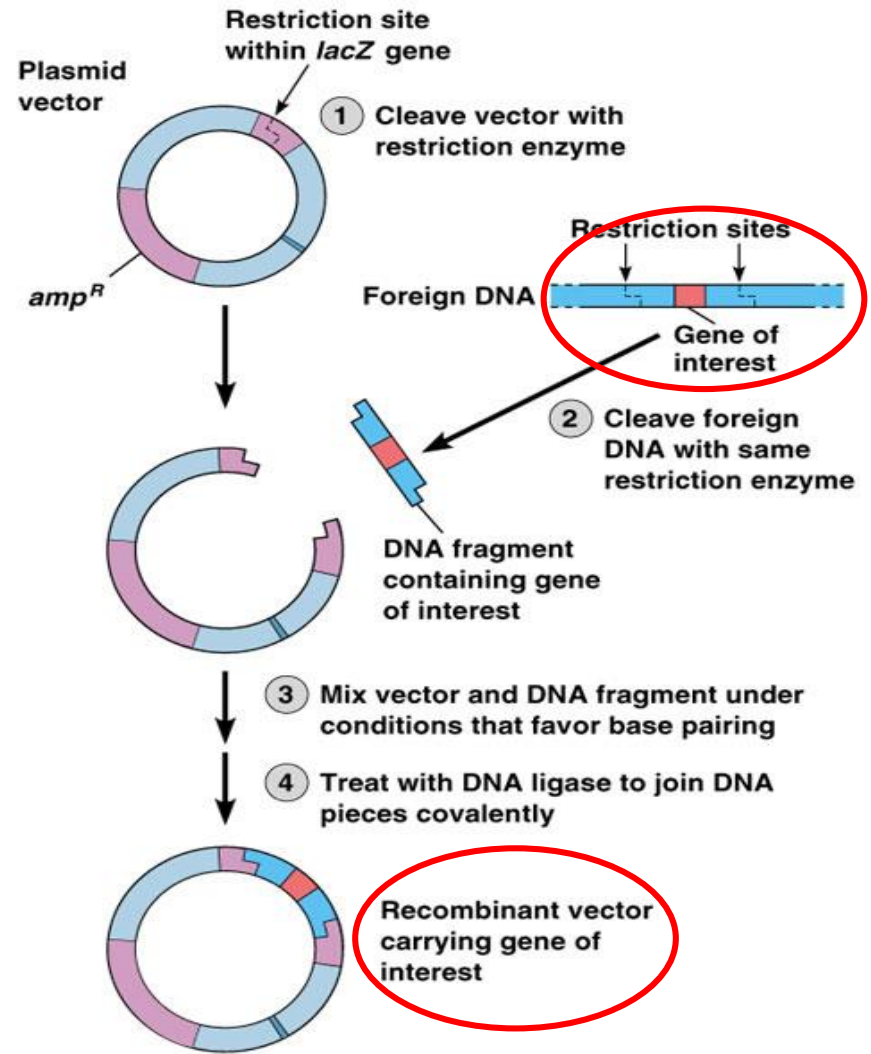
Sviluppo di una cellula ospite

- La capacità di produrre e selezionare una linea cellulare animale ad elevata produzione è la chiave per iniziare lo sviluppo di un bioprocesso.
- Le cellule di ovaio di criceto cinese (CHO) sono diventate le cellule di mammifero standard impiegate nella produzione di proteine ricombinanti.
- Vantaggi delle CHO:
 - Ben caratterizzate
 - Facilmente transfettabili
 - Possibilità di selezionare cloni ad elevata produzione
 - Crescita rapida
 - Elevata produzione proteica
 - Stabilità dell'espressione genica a lungo termine



Sviluppo di una cellula ospite

- Identificazione della sequenza di DNA umano codificante per la proteina desiderata
- Isolamento della sequenza di DNA e clonaggio in un vettore (plasmide) selezionato
- Inserimento del vettore contenente il gene di interesse (trasfezione) nella cellula ospite che produrrà la proteina (una cellula batterica o eucariotica idonea)
- L'esatta sequenza di DNA e il tipo di cellula ospite utilizzati influiranno sulle caratteristiche del prodotto



(b) Preparation of recombinant plasmid vector

©Addison Wesley Longman, Inc.

Components of the Manufacturing Process

- Expression vector (plasmid)
- Cell banking system
 - Master Cell Bank (MCB)
 - Working Cell Bank (WCB)
 - End of Production Cells (EOP)
- Drug substance manufacturing and release
- Drug product formulation and release

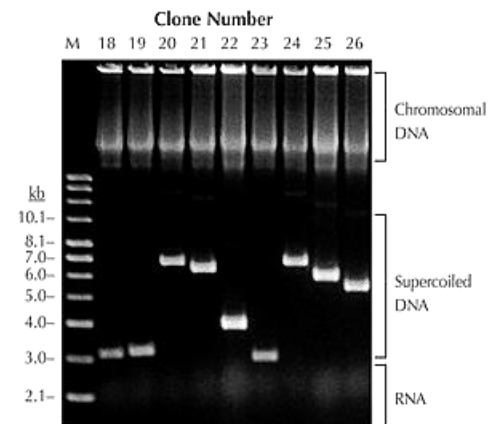
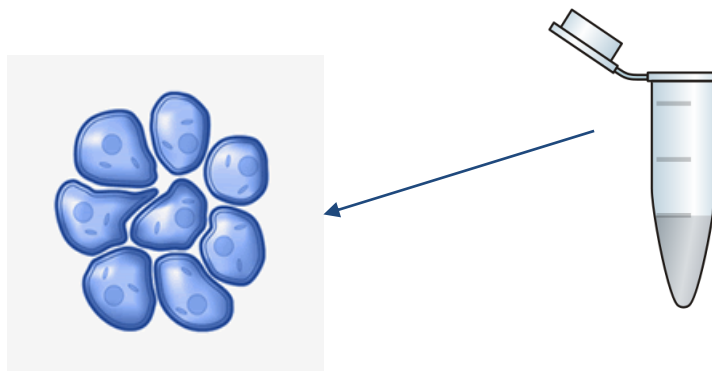
Master Cell Bank (MCB)

Linea cellulare ricombinante nella quale il gene che codifica per la proteina da isolare è stato stabilmente introdotto nel genoma delle cellule

La stabilità e l'integrità del gene costituiscono fattori critici (Polymerase Chain Reaction, sequenziamento, etc.)

La MCB viene conservata congelata a -70°C (singolo vial) per preservarla da proliferazione incontrollata, mutazione o morte.

Ogni vial costituisce l'inoculo iniziale per produrre la Working Cell Bank (WCB).

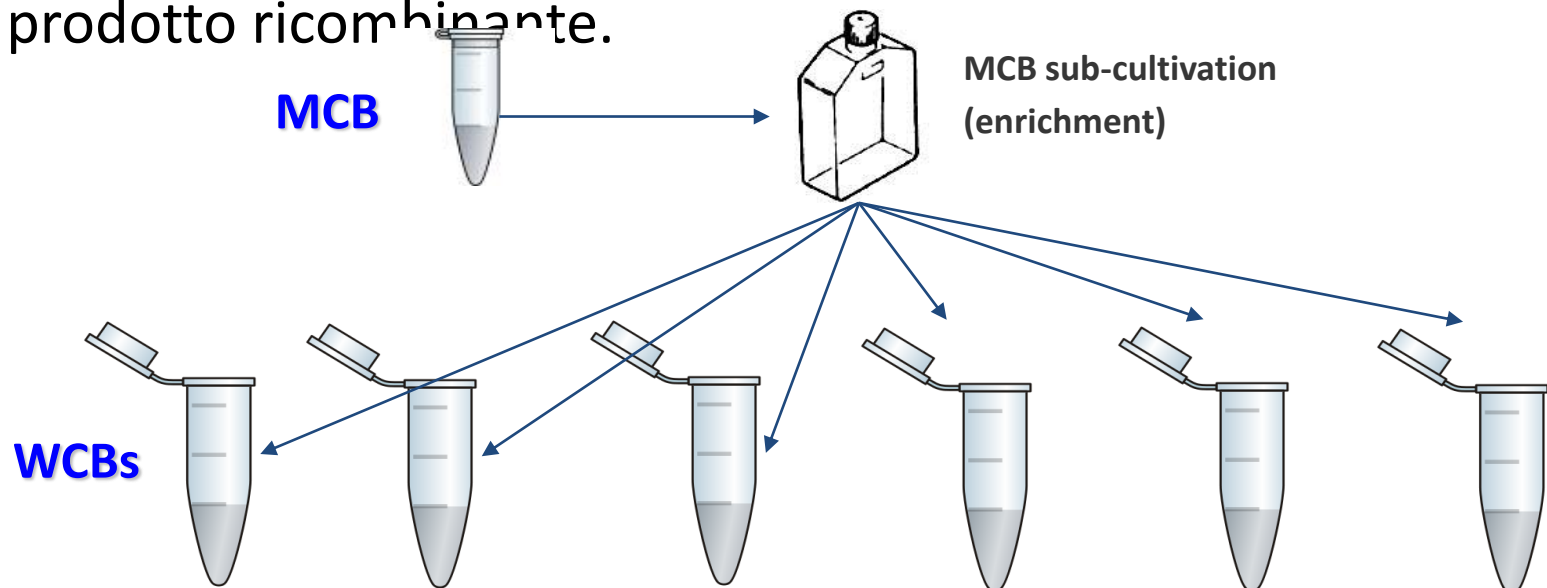


Working Cell Bank (WCB)

La Working Cell Bank costituisce una sottocoltura estratta da una MCB comune

Da un vial di MCB possono essere ottenute diverse colture di WCB che vengono quindi congelate a -70°C

Ogni vial di WCB viene utilizzato per produrre un lotto di prodotto ricombinante.



Modalità di coltura e fermentazione

Le colture di cellule animali crescono normalmente in bioreattori formati da recipienti in acciaio inossidabile provvisti di mescolatore. La capacità dei bioreattori è cresciuta progressivamente negli ultimi 20 anni con capacità che arrivano oggi a 20000L.



Characterization of Cell Banks (cont.)

| Test | MCB | WCB | EPC |
|--|-----|-----|-----|
| Sterility (bacterial & fungal cont) | X | X | X |
| Mycoplasma (<i>cultivable/noncultivable</i>) | X | X | X |
| Adventitious virus | X | | X |
| Species-Specific | X | | |
| Retrovirus | X | | X |

Downstream Processing

Upstream cell culture & fermentation

Isolation/Capture of protein



Purification



Drug substance



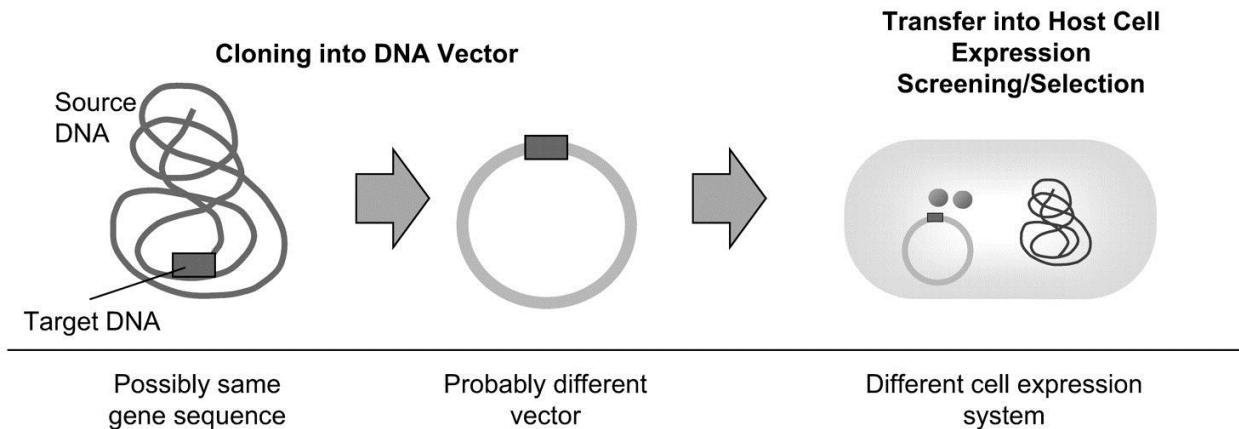
Formulation



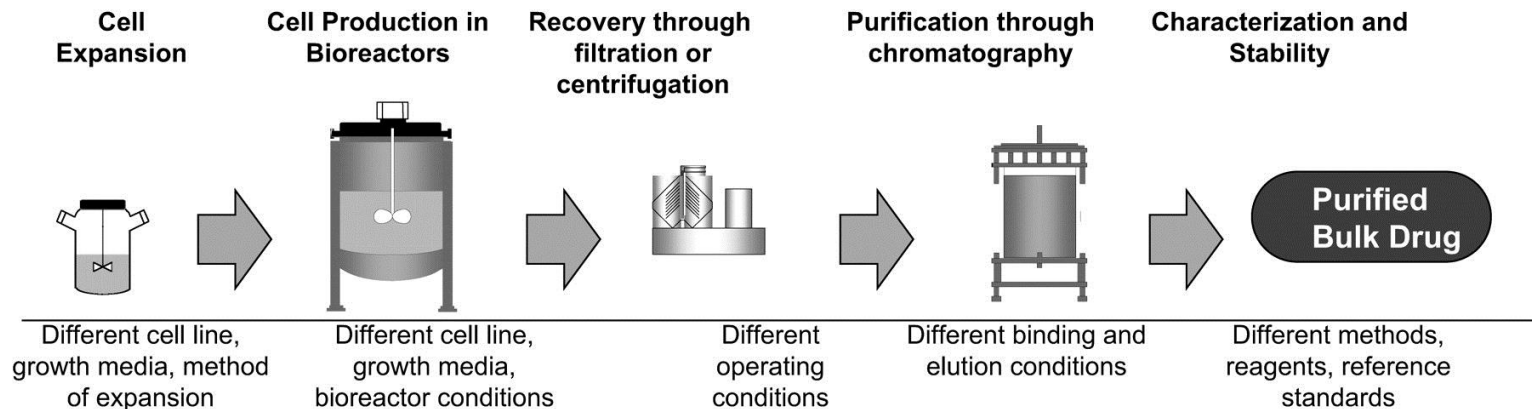
Drug Product

Schema riassuntivo del processo produttivo

Cloning and Protein Expression



Protein Production, Purification and Validation



Caratterizzazione Del Prodotto

Sicurezza

- Il prodotto medicinale per iniezione finale deve essere sterile
- Entro i limiti specificati per endotossine
- L'immunogenicità deve essere controllata e monitorata
- **Purezza e caratterizzazione**
- Le impurità correlate al prodotto e al processo e le sostanze correlate al prodotto devono essere entro i limiti specificati
- **Identità**
- Unico per proteine di interesse, particolarmente rilevante per proteine strettamente correlate prodotte nella stessa struttura

Fingerprinting mAbs: orthogonal analytical/biologic methods to assess structure/function relationships

Primary structure e.g.:

LC-MS intact mass
LC-MS subunits
Peptide mapping

Impurities e.g.:

CEX, cIEF acidic and basic variants
LC glycation
Peptide mapping deamidation, oxidation, mutation, glycation
SEC/FFF/AUC aggregation

Biological activity e.g.:

Binding assay
ADCC assay
CDC assay



Higher order structure e.g.:

NMR
CD spectroscopy
FT-IR

PTMs e.g.:

NP-HPLC-(MS) N-glycans
AEX N-glycans
MALDI-TOF N-glycans
HPAEC-PAD N-glycans
MALDI-TOF O-glycans
HPAEC-PAD sialic acids
RP-HPLC sialic acids

A comprehensive set and combination of orthogonal analytical methods revealing structure-function relationships, delivering in depth comparability information and allowing extrapolation towards non-measured attributes

Fonti di sostanze rilasciabili nel prodotto

- Siringhe / siringhe preriempite, ampolle, fiale, flaconi
- Sacche IV
- Borse di stoccaggio per prodotti intermedi
- Chiusure (tappi a vite, tappi di gomma)
- Liner per container (ad es. Rivestimenti per tubi)
- Attrezzatura per il trattamento:
- serbatoi / bioreattori in acciaio inossidabile
- tubi
- guarnizioni, valvole, anelli
- filtri
- resine di purificazione



What is a biosimilar? - Regulatory perspective

Biosimilars evolve from generics

Previous Generic Definition - NOT sufficient

- * “The provisions of Article 10(1)(a)(iii) [i.e. for generic medicinal products] may not be sufficient in the case of biological medicinal products. If the information required in the case of essentially similar products (generics) does not permit the demonstration of the similar nature of two biological medicinal products, additional data, in particular, **the toxicological and clinical profile shall be provided.**”

* Section 4, Part II, Annex 1 (Dir. 2001/83/EC)

What Is a Biosimilar?

Un biosimilare è una "copia" di un biofarmaco disponibile in commercio (prodotto di riferimento) che non è più protetto da un brevetto che ha:

- Sottoposto a rigorosa valutazione analitica e clinica, rispetto al suo prodotto di riferimento
- E
- Approvato da un'agenzia regolatoria in base a un percorso specifico per la valutazione biosimilare

Un biosimilare è "molto simile" al suo prodotto di riferimento nelle caratteristiche fisico-chimiche, nell'efficacia e nella sicurezza.

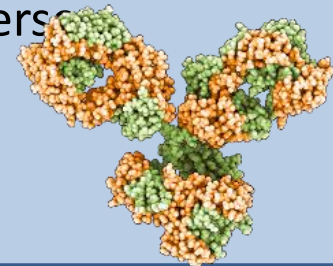
Biosimilars Are Not...

Seconda-Generazione (o Biobetter)

- Strutturalmente diverso dal biofarmaco con licenza originale
- Destinato a migliorare le prestazioni preservando il meccanismo di azione
- Esempi
Infliximab e adalimumab
Filgrastim e pegfilgrastim
- Non considerato come biosimilare

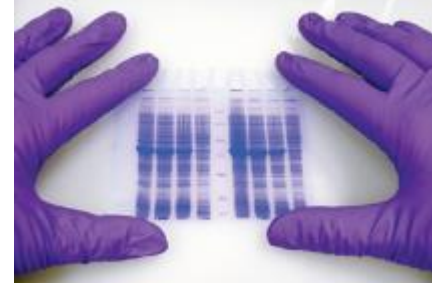
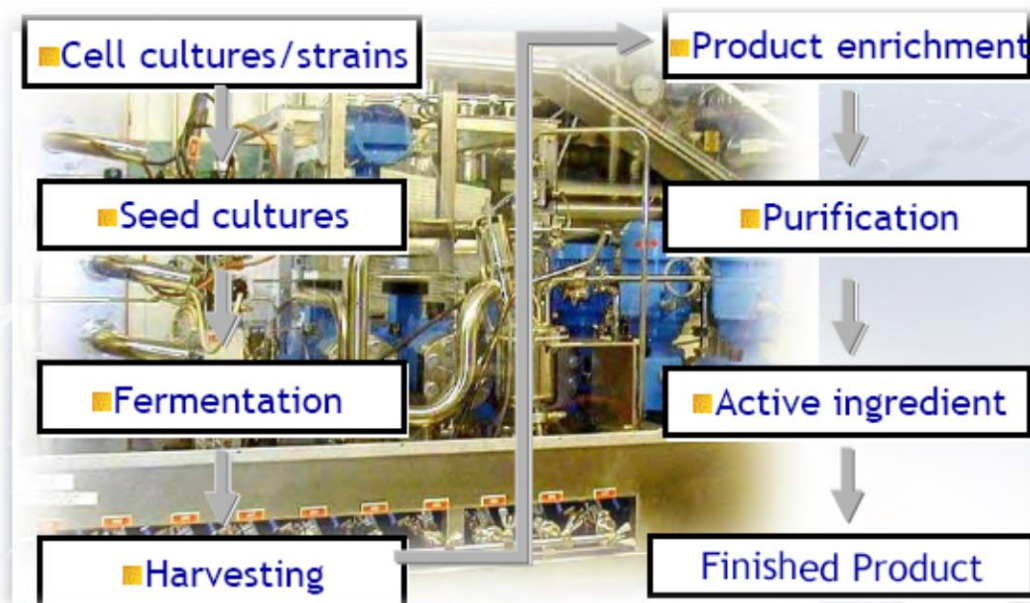
Farmaci Generici

- Farmaci a piccole molecole, meno complessi dei biosimilari
- Il processo di produzione è di diversi ordini di grandezza meno complesso
- Regolamentato in base a normative diverse

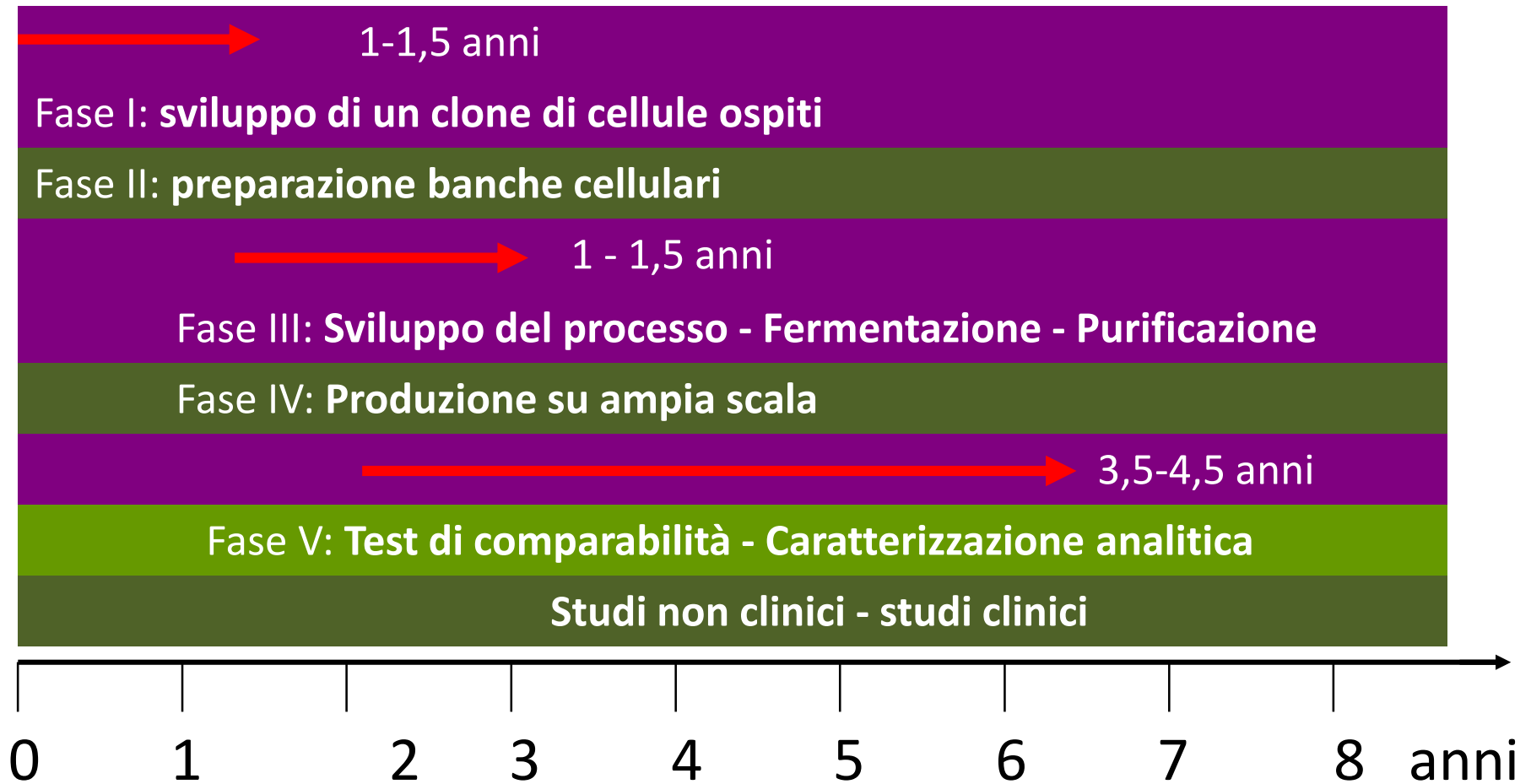


Produzione dei biosimilari

- Processo complesso di produzione basato sulle **stesse procedure produttive dei biologici originator**
- Stessi **standard di qualità**

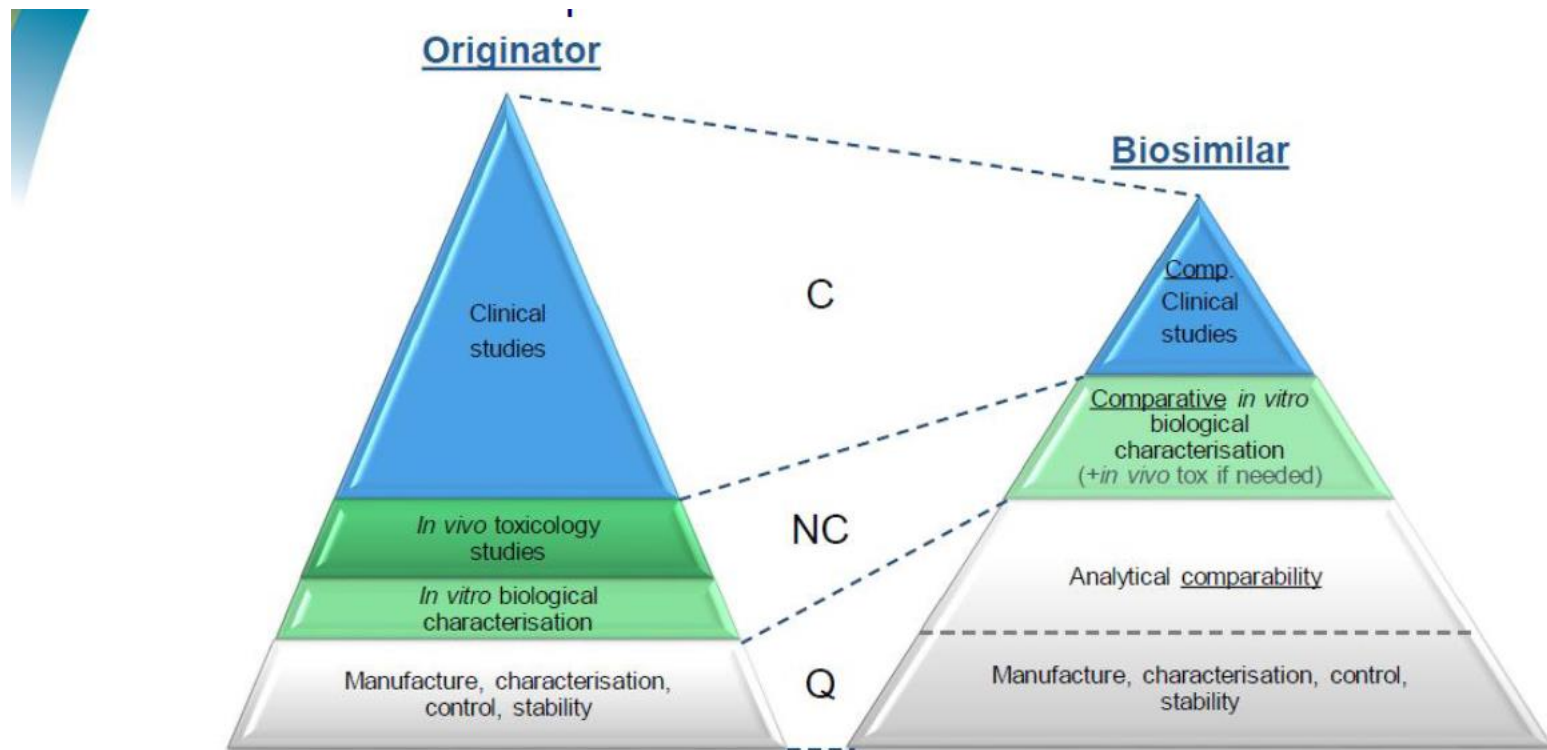


Tempistica dello sviluppo di un farmaco biosimilare



Lo sviluppo di un biosimilare

Molto sforzo nella caratterizzazione della qualità,



Tratto da: **Niklas Ekman**, Finnish Medicine Agency (FIMEA), "Biosimilars from the perspective of an EU regulator" - 17 March 2016



Workshop 1

- Linee guida EMA
 - Studi Preclinici
- **Studi clinici farmacocinetica e farmacodinamica**
- Studi clinici di non inferiorità

5.1. Pharmacokinetics (PK) = step 1

The comparison of the pharmacokinetic properties of the biosimilar product and the reference medicinal product forms normally the first step of a biosimilar mAb development.

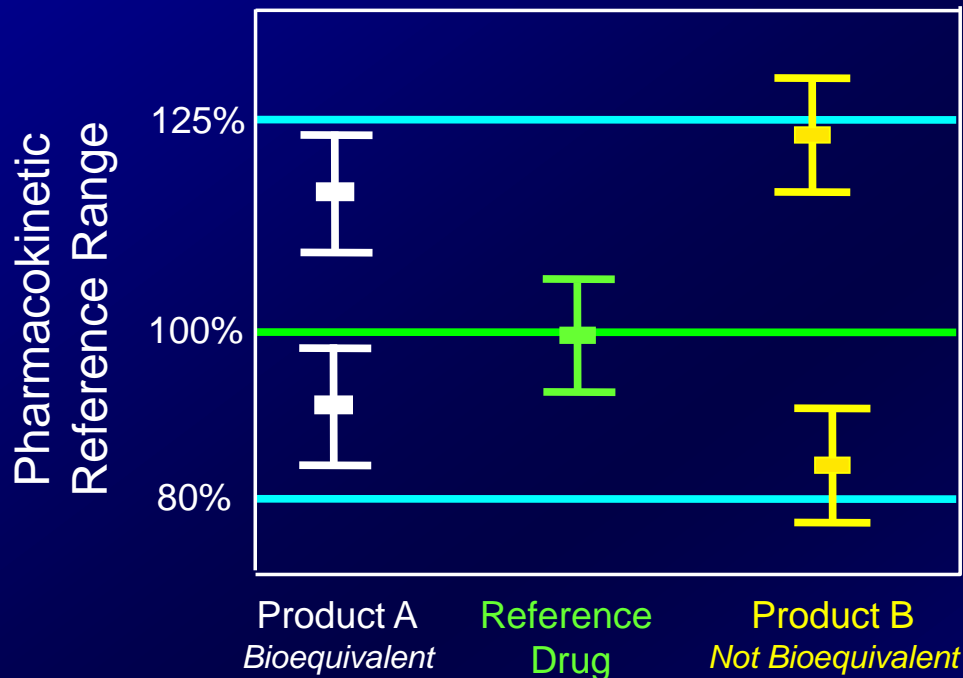
5.1.1. Study design

The primary objective of the pharmacokinetic studies performed to support a MAA for a biosimilar is to show comparability in pharmacokinetics of the biosimilar with the reference medicinal product in a sufficiently sensitive and homogeneous population.

.....
Healthy volunteers are likely to have less variability in PK as target-mediated clearance may be less important than in patients. Hence, if feasible, a single dose study in healthy volunteers is recommended, which could provide important information on biosimilarity.

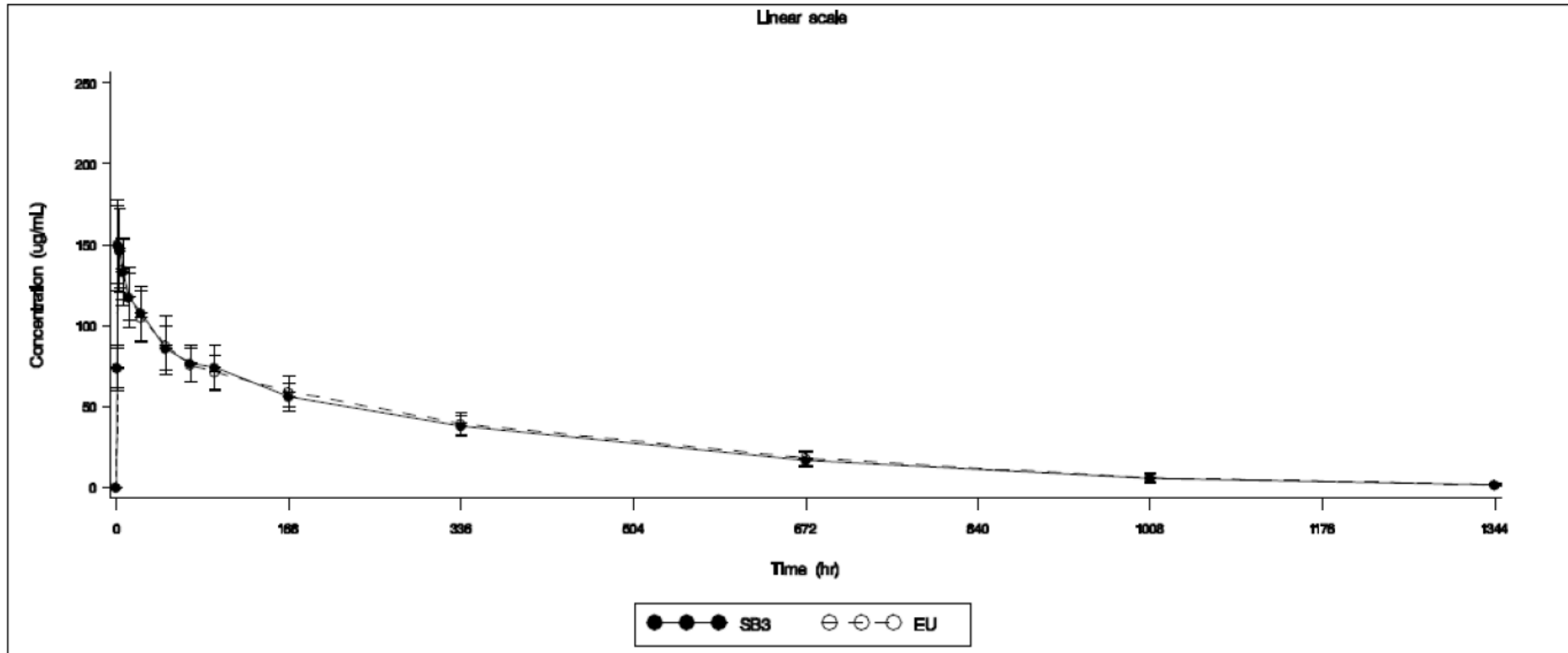
From a pharmacokinetic perspective, a single dose cross-over study with full characterisation of the PK profile, including the late elimination phase, is preferable. A parallel group design may be necessary due to the long half-life of mAbs and the potential influence of immunogenicity.

FDA and EMA Requirements for Bioequivalence



- Product A is bioequivalent to the reference drug; its 90% confidence interval of the AUC falls within 80% to 125% of the reference drug
- Product B is not bioequivalent to the reference drug; its 90% confidence interval of the AUC falls outside of 80% to 125% of the reference drug

Pharmacokinetics in humans of SB-3 compared to Herceptin



Summary statistics of PK parameters

Tabella 1. Statistiche riassuntive dei parametri farmacocinetici*.

| Statistica | SB3 (n=36) | UE-trastuzumab (n=36) | USA-trastuzumab (n=36) |
|---------------------------------------|-------------------|-----------------------|------------------------|
| AUC _{0-∞} , µg · h/mL | 34.783 (5614) | 35.890 (5761) | 37.370 (5620) |
| AUC _{0-last} , µg · h/mL | 34.321 (5349) | 35.368 (5524) | 36.690 (5342) |
| C _{max} , µg/mL | 154 (28) | 153 (25) | 156 (26) |
| T _{max} , mediana (range), h | 1,58 (1,52-95,95) | 1,61 (1,53-48,07) | 1,57 (1,53-24,03) |
| t _{1/2} , h | 196 (45) | 198 (42) | 215 (53) |
| CL, mL/h | 13,83 (2,10) | 13,52 (2,43) | 12,82 (2,24) |
| C _{day21} , µg/mL† | 23,4 (4,6) | 25 (5,7) | 25 (6,4) |

*I dati sono espressi come media (SD) salvo diversa indicazione.

†Stimato utilizzando un modello a 2 compartimenti.

Legenda: C_{day21}= concentrazione al giorno 21; UE-trastuzumab= trastuzumab originato nell'Unione Europea; USA-trastuzumab= trastuzumab originato negli Stati Uniti.

Modificato da: Pivot et al.⁶.

No subjects had positive results for ADAs at any time point after single intravenous infusion of SB3, EU trastuzumab, or US trastuzumab

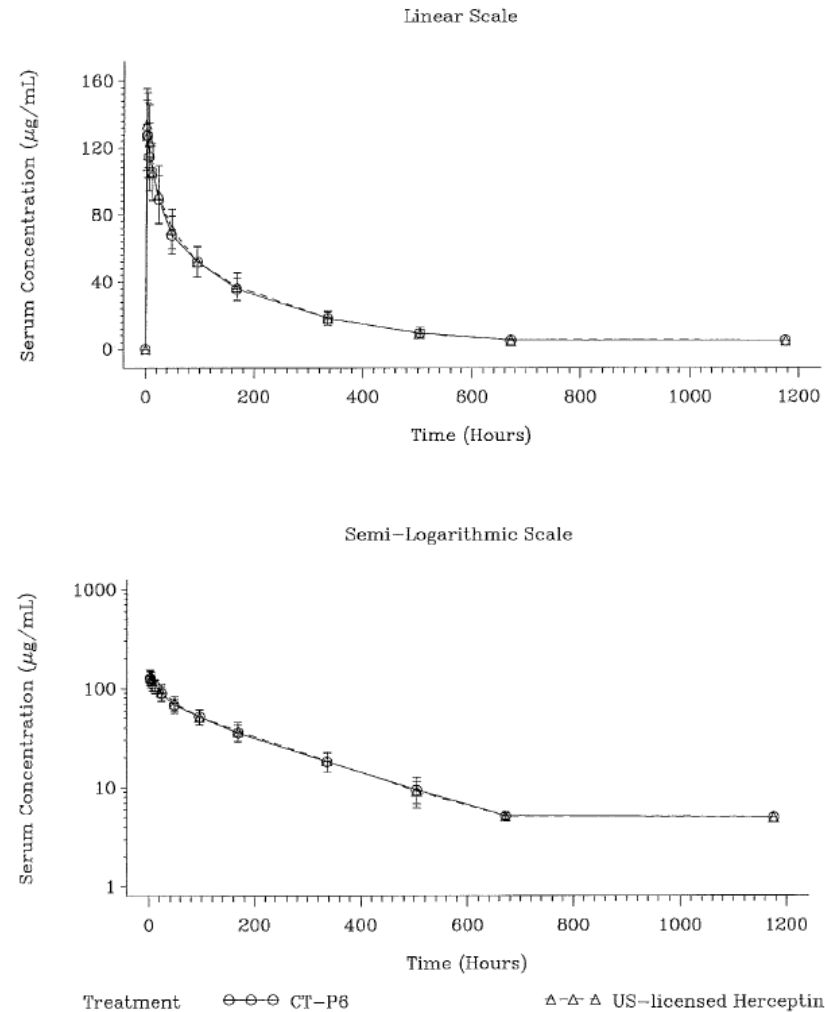
Statistical Comparison of Secondary PK Parameters

| PK Parameter | Treatment | N | Geo-LSMean or Median |
|----------------------------|---------------|----|-------------------------|
| T_{max} (h) | SB3 | 36 | 1.58 |
| | EU Herceptin® | 36 | 1.61 |
| | US Herceptin® | 36 | 1.57 |
| V_z (mL) | SB3 | 36 | 3772.2 |
| | EU Herceptin® | 36 | 3724.2 |
| | US Herceptin® | 36 | 3795.1 |
| λ_z (1/h) | SB3 | 36 | 0.00361 |
| | EU Herceptin® | 36 | 0.00358 |
| | US Herceptin® | 36 | 0.00332 |
| $t_{1/2}$ (h) | SB3 | 36 | 181.4 |
| | EU Herceptin® | 36 | 190.8 |
| | US Herceptin® | 36 | 207.0 |
| CL (mL/h) | SB3 | 36 | 13.678 |
| | EU Herceptin® | 36 | 13.318 |
| | US Herceptin® | 36 | 12.632 |
| %AUC _{extrap} (%) | SB3 | 36 | 0.939 |
| | EU Herceptin® | 36 | 1.074 |
| | US Herceptin® | 36 | 1.235 |

Impact of Anti-drug antibodies (ADA) on PK parameters

- In the study SB3-G31-BC, within the PK population, one subject in the SB3 treatment group and no subject in the Herceptin treatment group were reported to have an ADA positive result up to Cycle 9.
- One subject had a positive result of ADA at Cycle 5 pre-dose and negative results at other time points. The serum trough concentration at Cycle 5 was relatively low at 15.46 µg/mL but within the range of 14.71 to 102.79 µg/mL of the cycle.
- The trough concentrations (46.35 and 56.08 µg/mL for Cycle 7 and Cycle 8, respectively) in the later cycles were similar to other subjects (ranging from 22.98 to 175.02 µg/mL and from 19.00 to 189.70 µg/mL for Cycle 7 and Cycle 8, respectively).
- Due to the low incidence of positive ADA results, the impact of the presence of ADA up to Cycle 9 on the PK cannot be compared.

Mean (\pm SD) serum concentrations of CT-P6 and US-licensed Herceptin versus time (hours)



Abbreviation: SD, standard deviation.

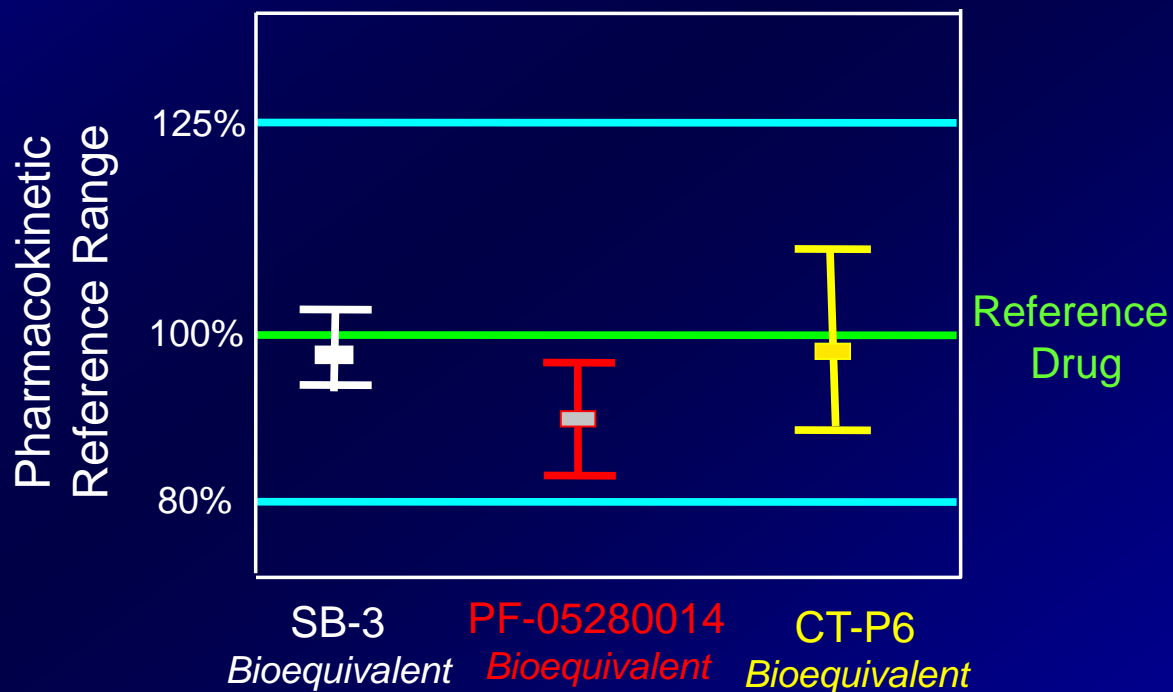
Note: As serum concentration values of all samples are below the lower limit of quantification since Day 50, the figure does not present results of Day 71.

Analysis of AUC0-last different biosimilar and Herceptin

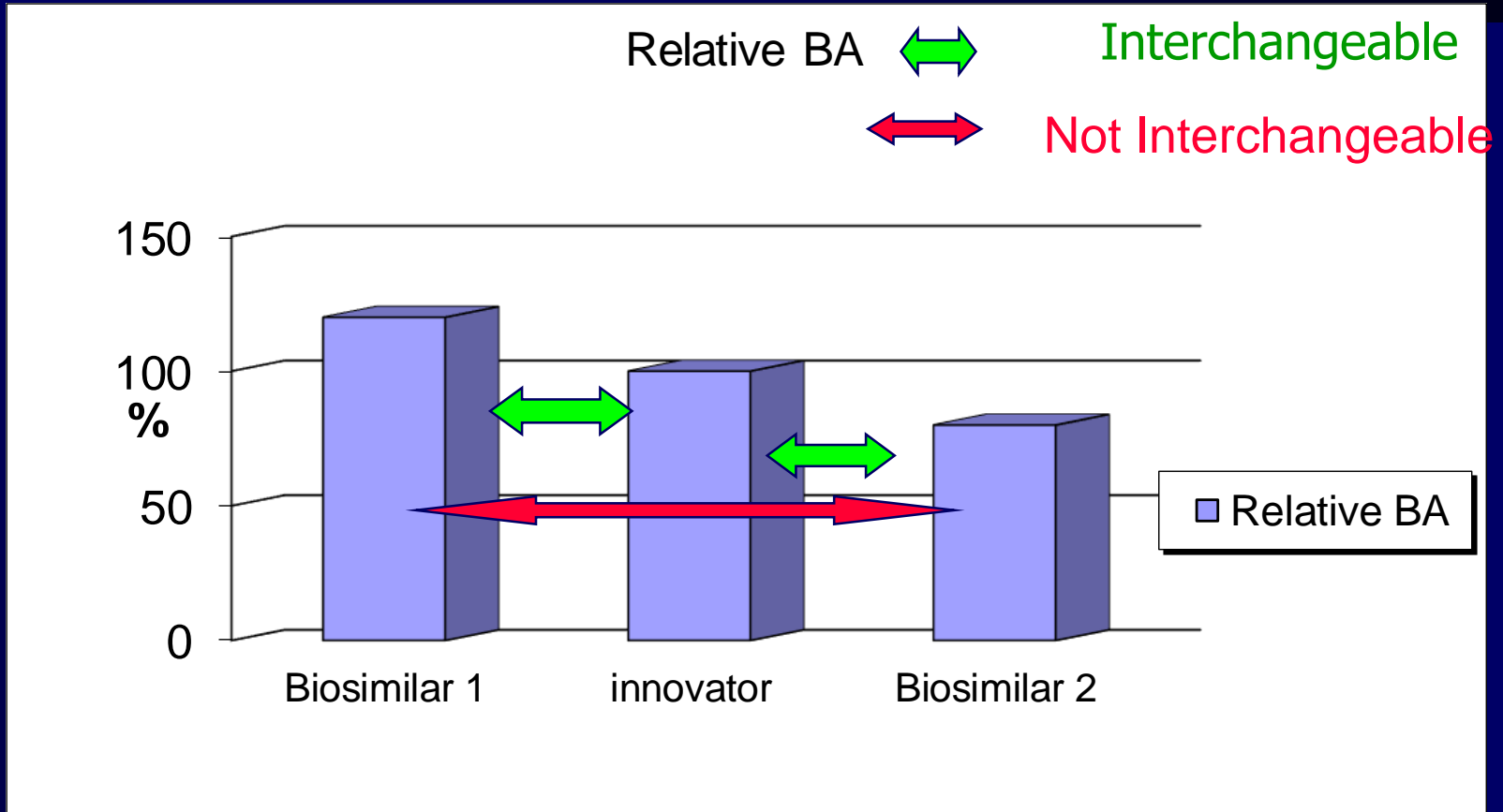
| | RATIO | 90% CI of ratio |
|--------------------------|--------------|------------------------|
| SB3/EU Herceptin | 0.971 | 0.971;1.034 |
| PF-05280014/EU-Herceptin | 92.15 | 86.03;98.69 |
| CT-P6/Herceptin | 99.30 | 93.00;106.51 |

EMA assessment report of Ontruzant, Trazimera, Herzuma

| | RATIO | 90% CI of ratio |
|--|-------|-----------------|
| SB3/EU Herceptin – AUC _{last} | 0.971 | 0.971;1.034 |
| PF-05280014/EU-Herceptin | 92.15 | 86.03;98.69 |
| CT-P6/Herceptin | 99.30 | 93.00;106.51 |



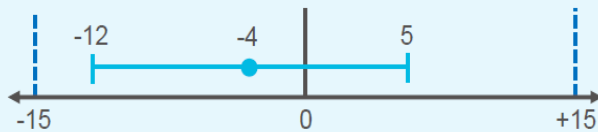
„Bio-Creep“



Summary: results of equivalence analyses of biosimilar vs trastuzumab RP in studies of HER2+ EBC

CT-P6¹
(N=504)*

Co-primary analysis: RD (95% CI) for tpCR

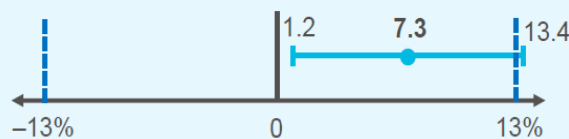


Co-primary analysis: RR (95% CI) for tpCR

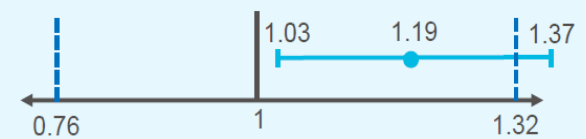


ABP 980²
(N=696)†

Co-primary analysis: RD (90% CI) for tpCR

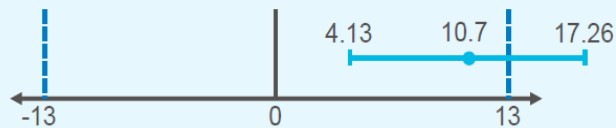


Co-primary analysis: RR (90% CI) for tpCR

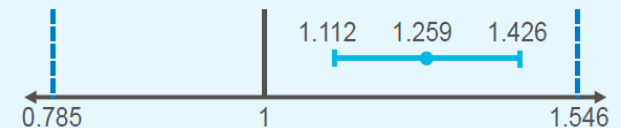


SB3³
(N=800)*

Co-primary analysis: RD (95% CI) for bpCR



Co-primary analysis: RR (90% CI) for bpCR



← Favours RP Favours biosimilar →

← Favours RP Favours biosimilar →

NOTE: results cannot be directly compared due to differences in study design. *In per-protocol population. †In tpCR evaluable population.

1. Stebbing J, et al. Lancet Oncol 2017;18:917-928; 2. von Minckwitz G et al. ESMO 2017, Poster 151PD; 3. Pivot XB, et al. ASCO 2017; Abstract 509 and poster

