



Estabilidad de productos biológicos y su regulación

P. Núñez Fernández-Quero

Manager CMC Biologics en Pharmalex Spain, S.L.U.

La inherente complejidad de los productos biológicos como biomoléculas de gran tamaño, así como el enfoque analítico ortogonal necesario para su adecuado control durante su período de vida útil, implica una regulación más estricta que para las entidades químicas tradicionales en lo que al estudio de su estabilidad se refiere.

PALABRAS CLAVE: Actividad biológica/potencia; CMC; Condiciones reales de almacenamiento; Enfoque analítico ortogonal; Perfil indicativo de estabilidad.

The inherent complexity of biological products as large biomolecules, as well as the orthogonal analytical approach necessary for their adequate control during their shelf life, implies a stricter regulation than for traditional chemical entities regarding the study of their stability.

KEYWORDS: Biological activity/potency; CMC; long-term conditions; Orthogonal analytical approach; Profile indicative of stability.

INTRODUCCIÓN

El notable desarrollo y posterior comercialización de medicamentos de uso humano de naturaleza biotecnológica desde las décadas de los 80/90 hasta la actualidad exige un marco regulatorio específico para este tipo de productos en lo que a su fabricación y control se refiere. La diversidad de productos biotecnológicos/biológicos (a partir de ahora referenciado como "productos biológicos") disponibles actualmente en el mercado es realmente amplia y compleja, incluyendo desde pequeños péptidos como la insulina, pasando por factores y hormonas de crecimiento, así como grandes polipéptidos (estructural y funcionalmente complejos) como son los anticuerpos monoclonales y bifuncionales, hasta medicamentos de terapia avanzada (ATMPs) y vacunas.

En el contexto del presente artículo, y teniendo en cuenta la gran heterogeneidad de productos biológicos existente, centraremos nuestra atención en el aspecto regulatorio y científico desde el punto de vista de calidad (CMC) que debe abordarse para presentar un expediente de autorización de comercialización en lo que al control de la estabilidad de biológicos de naturaleza peptídica (proteínas) se refiere. Este tipo de biológico representa actualmente el grupo mayoritario a nivel global en el mercado. Si bien es cierto que algunos de estos biológicos son susceptibles de ser aislados directamente a partir de tejidos o cultivos celulares, también pueden ser producidos mediante tecnología de DNA recombinante. De hecho, la mayoría de las proteínas terapéuticas aprobadas hoy en día en Europa son de este segundo tipo.

La información contenida en la guía EMA/CPMP/ICH/138/95, "ICH Q5C Guideline on quality of biotechnological products: stability testing of biotechnological/biological products" (a partir de ahora referenciada como "ICH Q5C") representa el referente en lo que a la configuración de los estudios de estabilidad de este tipo de productos se refiere [1]. Además, esta guía nos proporcionará implícitamente una visión global de las princi-

pales diferencias en lo que a la estabilidad de estos productos biológicos se refiere frente a aquella correspondiente a las entidades químicas tradicionales, cuyos principios están recogidos en la guía EMA/CPMP/ICH/2736/99, "ICH Q1A(R2) Guideline on stability testing of new drug substances and products" (a partir de ahora referenciada como "ICH Q1A(R2)") [2].

MATERIALES Y MÉTODOS

Este artículo técnico trata principalmente las consideraciones generales que deben contemplarse desde el punto de vista regulatorio CMC a la hora de preparar la documentación científico-técnica relativa a la estabilidad de productos biológicos de naturaleza proteica necesaria para la solicitud de autorización de comercialización en Europa. Los productos biológicos aplicables a los principios descritos en este artículo comprenden principalmente citoquinas, eritropoyetinas, factores plasmáticos, hormonas y/o factores de crecimiento, insulinas, anticuerpos monoclonales y vacunas fabricadas a partir de péptidos o polipéptidos bien caracterizados.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

BREVE CONTEXTO REGULATORIO DE LOS PRODUCTOS BIOLÓGICOS DE NATURALEZA PEPTÍDICA EN EUROPA

En Europa, la regulación de los productos biológicos de naturaleza peptídica se basa en la Directiva 2001/83/CE sobre medicamentos de uso humano, así como en el Reglamento (CE) 726/2004 por el cual se establecen los procedimientos comunitarios para la autorización y control de este tipo de medicamentos de uso humano y creación de la Agencia Europea del Medicamento (EMA) [3, 4]. La Directiva 2001/83/CE sienta las bases en lo que a la autorización, fabricación y comercialización de este tipo de medicamentos biológicos de uso humano se refiere [3]. Por otro lado, el Reglamento (CE) 726/2004 establece los requisitos específicos para la evaluación de este tipo de medicamentos de elevado va-

lor tecnológico (particularmente para aquellos derivados de biotecnología o tecnología de DNA recombinante), donde se pone de manifiesto la obligatoriedad de un proceso de evaluación comunitario europeo centralizado para este tipo de medicamentos [4].

INTRODUCCIÓN DE LOS PRODUCTOS BIOLÓGICOS DE NATURALEZA PEPTÍDICA

Desde los años 80 diversos péptidos, polipéptidos y glicoproteínas han sido desarrollados (mediante tecnología del DNA recombinante) y autorizados como medicamentos de uso humano tanto en Estados Unidos a través de la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) como en Europa a través de la EMA.

El primer medicamento biotecnológico de uso humano fue aprobado en octubre de 1982 en Estados Unidos por la FDA. Se trataba de una pequeña proteína recombinante de bajo peso molecular expresada en células procariontas (*E. coli*) para el control del nivel glucémico en sangre de personas con diabetes. Dicha proteína (insulina recombinante) suponía la primera proteína recombinante del mercado. A partir de mediados de la década de los 80 y principios de los 90 comienza el desarrollo y comercialización de los primeros anticuerpos monoclonales. Este tipo de producto biotecnológico implicaba una complejidad técnica adicional puesto que no sólo se trataba de macromoléculas de mayor peso molecular, sino que también traía consigo implicaciones respecto a sus perfiles de seguridad y eficacia; la inmunogenicidad procedente de las formas glicosiladas de este tipo de glicoproteínas. Actualmente el mercado de los anticuerpos monoclonales representa el más importante y extenso dentro del grupo de productos biológicos, con especial relevancia en el tratamiento oncológico, así como de diversas enfermedades inmunes, infecciosas, hematopoyéticas y del sistema nervioso [5]. Este mercado se encuentra en la actualidad dominando tanto la generación de beneficios para las compañías biofarmacéuticas impli-

cadadas en su comercialización como el impacto clínico de dichos productos en los pacientes [6]. En el marco europeo, la estabilidad de dichos productos biológicos deberá ser evaluada conforme a las recomendaciones descritas en las guías:

- "ICH Q1A(R2)": Necesaria básicamente para entender el contexto general del tipo de datos y estudios que deben presentarse durante la solicitud de autorización de comercialización (aplicable a entidades químicas tradicionales, así como a biológicos) [2].
- "ICH Q5C": Teniendo la guía anterior en mente en cuanto a la configuración general se refiere, esta guía ICH Q5C se trata verdaderamente de la guía específica para este tipo de productos biológicos. Por ello, se tendrán que seguir especialmente las recomendaciones y particularidades descritas en ella [1].

CONSIDERACIONES GENERALES DE LOS PRODUCTOS BIOLÓGICOS DE NATURALEZA PEPTÍDICA DESDE EL PUNTO DE VISTA CMC

Para poder determinar un portfolio de métodos analíticos adecuado que permita una evaluación precisa y exhaustiva de los cambios que este tipo de productos biológicos pueden experimentar durante su periodo de vida útil almacenados en su respectivo material de acondicionamiento (definición de estabilidad), resulta necesario describir brevemente los diversos atributos críticos de calidad (CQAs) que definirán el perfil de calidad del producto, así como garantizarán que la integridad del producto no se verá afectada indirectamente desde un punto de vista de seguridad y eficacia.

En términos generales, antes de seleccionar el grupo de métodos analíticos que deberán usarse para evaluar los cambios en su estabilidad, se deberán tener en consideración los principales CQAs. Aunque bien puede haber diferencias dependiendo de la naturaleza y función biológica específicas de cada producto, los principales CQAs

que conviene destacar a modo general para las sustancias activas (DS) de este tipo de productos son los siguientes:

- **Actividad biológica/potencia:** la actividad biológica determinará la capacidad específica del producto a la hora de producir un determinado efecto biológico buscado. Por otra parte, la potencia se define como la medida cuantitativa de dicha actividad biológica, normalmente establecida en unidades de potencia. La actividad biológica se trata en la mayoría de los casos del CQA más relevante para un producto biológico.

- **Pureza e impurezas:** se trata de la pureza del principio activo en sí, así como la determinación de las distintas variantes de este (especies de elevado/bajo peso molecular, variantes cargadas, productos de degradación como variantes oxidadas/desaminadas, etc). Este CQA deberá determinarse por medio de distintos métodos analíticos que permitan la evaluación del perfil de impurezas tan heterogéneo y complejo de este tipo de productos. Generalmente, distintos métodos analíticos suelen ser empleados para la determinación de la pureza e impurezas de cualquier producto biológico. Esto recibe comúnmente el nombre de enfoque analítico ortogonal y permite obtener un conocimiento superior y más preciso del perfil de impurezas del producto biológico.

- **Identidad y estructura (propiedades fisicoquímicas):** determinará la composición fisicoquímica del producto (composición de aminoácidos o estructura primaria, entre otros) para permitir su correcta identificación.

- **Contenido:** evaluará la cantidad de proteína presente en el producto. La cantidad de proteína se expresa en unidades de masa y típicamente se determina mediante espectrofotometría ultravioleta. La posible correlación entre este CQA y la respectiva actividad biológica del producto deberá ser debidamente evaluada.

Aparte de estos CQAs anteriormente señalados, una descripción cualitativa

del estado físico del producto (sólido, líquido, etc), características de su fisicoquímica (pH, osmolaridad, etc), así como otros posibles contaminantes (pureza microbiológica, por ejemplo) también deberán ser evaluados durante la estabilidad del producto.

La Tabla 1 resume los CQAs más relevantes que suelen formar parte de las especificaciones de la estabilidad del DS para este tipo de productos biológicos, así como algunos ejemplos representativos de los posibles métodos analíticos comúnmente utilizados para su evaluación.

ICH Q5C: FUNDAMENTOS SOBRE LA ESTABILIDAD DE LOS PRODUCTOS BIOLÓGICOS DE NATURALEZA PEPTÍDICA EN EL CONTEXTO DE UN DOSIER DE AUTORIZACIÓN EN EUROPA

INTRODUCCIÓN A LA GUÍA ICH Q5C Y CONCEPTO DEL PERFIL INDICATIVO DE ESTABILIDAD

La guía ICH Q5C establece los fundamentos básicos para la evaluación de la estabilidad de los productos biológicos de naturaleza peptídica [1]. Este tipo de productos suele ser extremadamente sensible a diversos factores medioambientales como pueden ser la temperatura, luz, humedad, procesos oxidativos e incluso procesos mecánicos provocados por la propia manipulación del producto durante su fabricación, posterior almacenamiento y/o transporte. Por este motivo, las condiciones reales de almacenamiento (también llamadas "long-term conditions" en inglés) para estos productos biológicos suelen ser más estrictas que las habituales para medicamentos químicos tradicionales.

En la Tabla 1 se han resumido brevemente algunos de los CQAs y respectivos métodos analíticos que típicamente suelen utilizarse para la evaluación de la estabilidad de los DS de este tipo de productos biológicos de naturaleza proteica. Dicha tabla introduce además el concepto de perfil indicativo de estabilidad, imprescindible en todo estudio de estabilidad de un biológico. Dicho término se trata en esencia de la selección de aquellos CQAs y respectivos métodos analíticos adecuados para

su control, que deberá garantizar que cualquier cambio producido durante el almacenamiento de dicho producto biológico en su material de acondicionamiento será debidamente detectado.

SELECCIÓN DE LOTES A INTRODUCIR EN ESTABILIDAD Y FRECUENCIA DE ANÁLISIS

La documentación necesaria para el estudio de estabilidad de un producto biológico en el contexto de un dossier de registro en Europa debe contemplar, entre otros, una serie de consideraciones en lo que a la selección de los lotes de estudio se refiere. Para ello, datos de estabilidad de al menos 3 lotes distintos, tanto de DS (en el caso de que se trate de un paso intermedio previo a la formulación final y/o etapa final de la fabricación del medicamento) como de producto terminado (DP), deberán estar disponibles en el momento de la solicitud de autorización a la EMA. Además, en función del periodo de vida útil que vaya a solicitarse en el registro, se deberá presentar un mínimo de datos disponibles de estabilidad en condiciones reales de almacenamiento tanto para el DS como DP de acuerdo con la guía ICH Q5C [1]:

- Entre 1 y 6 meses (periodo de vida útil inferior a los 6 meses): se recomienda la consulta previa con la Agencia. Presentar mayor o menor número de datos en el tiempo en este caso será dependiente del tipo de producto biológico y sus particularidades (ver Figura 1).

- ≥ 6 meses (periodo de vida útil igual o superior a los 6 meses): se recomienda presentar al menos datos de estabilidad que cubran los primeros 6 meses. En este escenario, se podrían presentar 2 casos (ver Figura 1):

- 6 – 12 meses de periodo de vida útil: se recomienda evaluar la estabilidad en condiciones reales de almacenamiento al menos mensualmente durante los primeros 3 meses y después en intervalos de 3 meses consecutivamente.

- > 12 meses de periodo de vida útil: se recomienda evaluar la estabilidad en



Producción biofarmacéutica

Le ofrecemos las soluciones más innovadoras y los más altos estándares de calidad en el desarrollo y la producción Biofarmacéutica.

¿Busca un producto para upstream, downstream o formulación?
Encontraremos la solución adecuada para su proceso.



Descubra cómo podemos ayudarle
a desarrollar BioSolutions.

[brenntag.com](https://www.brenntag.com)

TABLA 1.

RESUMEN DE LOS PRINCIPALES CQAs DE UN PRODUCTO BIOLÓGICO (DS) DE NATURALEZA PROTEICA A ANALIZAR DURANTE SU ESTABILIDAD Y EJEMPLOS DE MÉTODOS ANALÍTICOS COMÚNMENTE UTILIZADOS PARA SU DETERMINACIÓN

| Categoría de CQA | Descripción de CQA | Método analítico para su análisis |
|------------------------------|---|---|
| Test generales | Estado físico (aparición) | Inspección visual |
| | Grado de opalescencia (aparición) | Inspección visual (método de Ph. Eur.) |
| | Grado de coloración (aparición) | Inspección visual (método de Ph. Eur.) |
| | pH | Potenciometría (método de Ph. Eur.) |
| | Osmolaridad | Determinación del punto de congelación (método de Ph. Eur.) |
| | Concentración excipientes | Cromatografía líquida |
| Identidad y estructura | Estructura primaria (secuencia de aminoácidos) | Cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas (mapa peptídico) |
| Pureza e impurezas | Pureza y sustancias relacionadas/impurezas: - Pico principal - Suma de agregados (HMWs) | Cromatografía de exclusión molecular |
| | Pureza y sustancias relacionadas/impurezas: - Pico principal - Suma de fragmentos (LMWs) | Electroforesis capilar (condiciones reductoras y no reductoras) |
| | Especies cargadas: - Pico principal - Suma de especies ácidas - Suma de especies básicas | Cromatografía de intercambio iónico |
| Contenido | Determinación de la concentración de proteína | Espectrofotometría UV ₂₈₀ |
| Actividad biológica/Potencia | Unión competitiva mediante ELISA | Inmunoensayo enzimático de adsorción (ELISA) |
| | Análisis de potencia mediante ensayo celular | Luminiscencia |
| Contaminantes | Pureza microbiológica (determinación de TAMC & TYMC) | Método de Ph. Eur. |
| | Endotoxinas bacterianas | Método de Ph. Eur. |

Abreviaturas: CQA: Atributo Crítico de Calidad (del inglés, Critical Quality Attribute); Ph. Eur.: Farmacopea Europea (del inglés, European Pharmacopeia); HMWs: Especies de Elevado Peso Molecular (del inglés, High Molecular Weight Species); LMWs: Especies de Bajo Peso Molecular (del inglés, Low Molecular Weight Species); UV280: Espectrofotometría Ultravioleta a 280 Nanómetros (del inglés, Ultraviolet Spectrophotometry at 280 nm Wavelength); ELISA: Inmunoensayo Enzimático de Adsorción (del inglés, Enzyme-Linked Immunosorbent Assay); TAMC: Recuento Total de Microorganismos Aeróbicos (del inglés, Total Aerobic Microbial Count); TYMC: Recuento Total de Levaduras y Mohos (del inglés, Total Yeast and Mould Count)

condiciones reales de almacenamiento al menos en intervalos de 3 meses durante el primer año, cada 6 meses durante el segundo año y anualmente a partir de entonces.

En cuanto a la naturaleza de los lotes a elegir para los estudios de estabilidad:

- No es estrictamente necesario que se trate de los lotes comerciales fabricados a escala industrial en el momento de la solicitud de registro. Datos de estabilidad de lotes fabricados a una menor escala (lotes de ingeniería o lotes técnicos) que mantengan los mismos pasos/etapas que se usarán en el futuro para fabricar los lotes comerciales, suelen ser también aceptados en el mo-

mento de la solicitud de registro (previa demostración de comparabilidad entre lotes/procesos). En este escenario, se deberá confirmar el compromiso firme de introducir en estabilidad (dentro del contexto del programa de estabilidad en condiciones reales de almacenamiento) al menos, los primeros 3 lotes fabricados a escala industrial.

- Aquellos lotes técnicos a menor escala introducidos en el programa de estabilidad deberán ser representativos desde el punto de vista de calidad del material y/o lote(s) empleado(s) tanto en los estudios previos de preclínica como clínica.

- Además, dichos lotes técnicos deberán ser también representativos del

proceso de fabricación que se empleará a escala comercial, siendo sus condiciones de conservación representativas o equivalentes a las usadas en los futuros lotes comerciales en lo que al material de acondicionamiento se refiere.

PROTOCOLO DE ESTABILIDAD Y CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

El dossier de solicitud de autorización deberá incluir un protocolo detallado del estudio de estabilidad donde aparezcan las condiciones de almacenamiento evaluadas (temperatura y condiciones de humedad si procede, material de acondicionamiento, etc), lotes del producto usados, así como el periodo de vida útil del producto a eva-



**GRIFOLS
ENGINEERING**
WE
KNOW
HOW

INSPIRED BY NATURE, DRIVEN BY INNOVATION

ENGINEERING
MACHINERY
CONSULTANCY

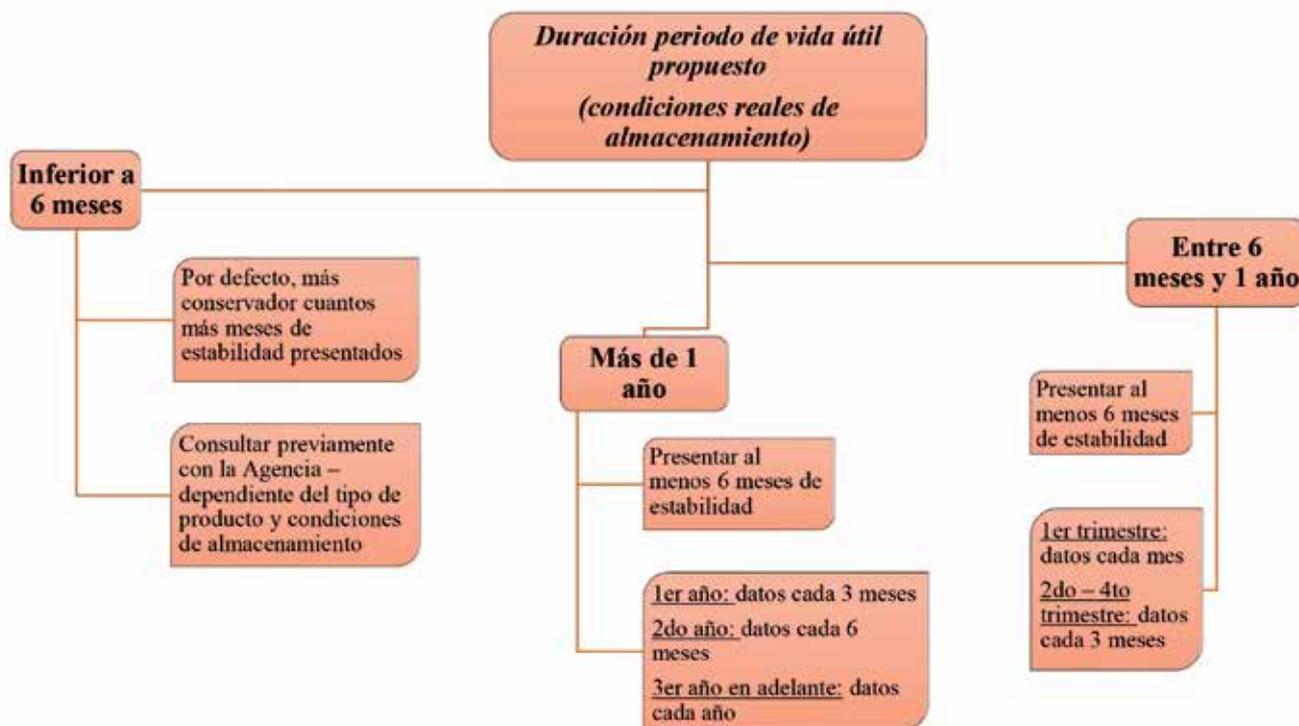
A network diagram consisting of numerous white nodes connected by thin white lines, set against a dark blue background with a bokeh effect of light blue circles.

GRIFOLS

Grifols Engineering, S.A.
C/Palou 6, 08150 Parets del Vallès - Barcelona - SPAIN - Tel. [34] 93 571 00 42

Grifols Engineering USA
2410 Lillyvale Avenue, Los Angeles - California 90032 - USA
8368-US Hwy 70 West, Clayton- North Carolina 27520 - USA - Tel.+1(919)359-7842
info.ge@grifols.com - www.grifolsengineering.com

FIGURA 1. Mínimo de datos a presentar y frecuencia de análisis recomendados para el estudio de estabilidad de un producto biológico en función del periodo de vida útil a solicitar en el dossier de registro



luar durante el estudio. Adicionalmente, el protocolo deberá recoger aquella información que demuestre que el producto es estable durante el periodo de vida útil propuesto. Para ello, tanto las respectivas especificaciones del producto, así como los intervalos de tiempo en los que se realizarán los análisis deberán quedar debidamente reflejados en el protocolo.

En la Tabla 2 se muestra un ejemplo de lo que podría representar un resumen de las condiciones y puntos de análisis dentro del contexto de un protocolo de estabilidad del DS de un producto biológico almacenado en nevera ($5 \pm 3^\circ\text{C}$). Por tanto, en dicho protocolo se deberá reflejar la estabilidad del producto tanto a condiciones reales de almacenamiento ($5 \pm 3^\circ\text{C}$) como a condiciones aceleradas ($25 \pm 2^\circ\text{C}/60 \pm 5\% \text{ HR}$ – correspondientes a las zonas climáticas I (templada) y II (subtropical), comúnmente aceptadas en las regiones ICH (Europa, Estados Unidos y Japón)), según lo establecido en la guía ICH Q1A(R2) [2]. En dicho ejemplo, donde en concreto se reflejará la estabilidad de un DS, se tendrán además

en cuenta tanto los CQAs como los respectivos métodos de análisis anteriormente señalados en la Tabla 1 para una mayor contextualización del perfil indicativo de estabilidad del producto.

Además de la estabilidad en condiciones reales de almacenamiento ($5 \pm 3^\circ\text{C}$ en el ejemplo de la Tabla 2), que será realmente la información que nos ayude a establecer/solicitar en el dossier de registro la vida útil de nuestro producto, la guía ICH Q5C también recomienda encarecidamente que los respectivos datos de estabilidad en condiciones aceleradas ($25 \pm 2^\circ\text{C}/60 \pm 5\% \text{ HR}$ en el ejemplo de la Tabla 2), así como estudios adicionales en condiciones de estrés se lleven a cabo dentro del contexto del protocolo de estabilidad del producto biológico por diversos motivos [1]:

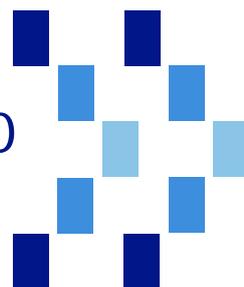
- Condiciones aceleradas: Los resultados obtenidos a partir de estos estudios suelen proporcionar información muy valiosa para poder “estimar” el periodo de vida útil del producto. Aunque el periodo de vida útil a solicitar en el registro de un biológico debe-

rá estar basado principalmente en los datos obtenidos en condiciones reales de almacenamiento, presentar datos adicionales en condiciones aceleradas podría abrir la puerta a una posible extensión en la solicitud del periodo de vida útil obtenido en condiciones reales de acuerdo con los principios establecidos en la guía ICH Q1A(R2) [2]. Además, dicha información a menudo permite evaluar cómo posibles cambios futuros en la formulación y/o proceso de fabricación del producto podrían impactar en la estabilidad de este, dando pistas sobre el perfil de degradación del producto.

- Condiciones de estrés: La información obtenida a partir de estudios fuera de lo estrictamente planeado en el contexto de las condiciones reales de almacenamiento y condiciones aceleradas del programa de estabilidad, como la exposición durante varias horas e incluso días a luz extremadamente intensa, pH extremos y ambientes altamente oxidativos, entre otros, permite evaluar cómo posibles escenarios (a priori “no contemplados”) podrían afectar a la estabilidad del producto.

Albian Group

Clean environments
knowledge



"Proyectos llave en mano"

ESPECIALISTAS EN
AMBIENTES CONTROLADOS



SOLUCIONES GLOBALES

EN SALAS LIMPIAS

Fabricantes de
Cerramientos y Equipos

| TABLA 2. | | | | | | | | | | |
|---|--|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|------|--|-----------------|-----|
| TEST E INTERVALOS DE ESTUDIO DEL PROTOCOLO DE ESTABILIDAD PARA UN PRODUCTO BIOLÓGICO (DS) EN CONDICIONES REALES DE ALMACENAMIENTO ($5 \pm 3^{\circ}\text{C}$) Y EN CONDICIONES ACELERADAS ($25 \pm 2^{\circ}\text{C}/60 \pm 5\% \text{HR}$) | | | | | | | | | | |
| CQA / método analítico | Condiciones de almacenamiento del protocolo de estabilidad del producto biológico (DS) | | | | | | | | | |
| | Condiciones reales ($5 \pm 3^{\circ}\text{C}$) | | | | | | | Condiciones aceleradas ($25 \pm 2^{\circ}\text{C}/60 \pm 5\% \text{HR}$) | | |
| | Tiempo de análisis (meses) | | | | | | | Tiempo de análisis (meses) | | |
| | T0 | T=3 | T=6 | T=9 | T=12 | T=18 | T=24 | T0 | T=3 | T=6 |
| Estado físico (apariciencia) / Inspección visual | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| Grado de opalescencia (apariciencia) / Inspección visual | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| Grado de coloración (apariciencia) / Inspección visual | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| pH / Potenciometría | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| Osmolaridad / Determinación del punto de congelación | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| Concentración excipiente / Cromatografía líquida | X | NT ¹ | X | NT ¹ | X | NT ¹ | X | X | NT ¹ | X |
| Estructura primaria (secuencia de aminoácidos) / Cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas (mapa peptídico) | X | NT ¹ | X | X | NT ¹ | X |
| Pureza del pico principal / Cromatografía de exclusión molecular | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| Suma de agregados (HMWs) / Cromatografía de exclusión molecular | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| Pureza del pico principal / Electroforesis capilar (condiciones reductoras y no reductoras) | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| Suma de fragmentos (LMWs) / Electroforesis capilar (condiciones reductoras y no reductoras) | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| Especies cargadas: Pico principal / Cromatografía de intercambio iónico | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| Suma de especies ácidas / Cromatografía de intercambio iónico | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| Suma de especies básicas / Cromatografía de intercambio iónico | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| Determinación de la concentración de proteína / Espectrofotometría UV ₂₈₀ | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| Actividad biológica/Potencia: Unión competitiva mediante ELISA / Inmunoensayo enzimático de adsorción (ELISA) | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| Análisis de potencia mediante ensayo celular / Luminiscencia | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| Pureza microbiológica (determinación de TAMC & TYMC) | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| Endotoxinas bacterianas ² | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA |

Abreviaturas: CQA: Atributo Crítico de Calidad (del inglés, Critical Quality Attribute); T: Tiempo de Análisis; NT: No analizado (del inglés, Not Tested); HMWs: Especies de Elevado Peso Molecular (del inglés, High Molecular Weight Species); LMWs: Especies de Bajo Peso Molecular (del inglés, Low Molecular Weight Species); UV280: Espectrofotometría Ultravioleta a 280 Nanómetros (del inglés, Ultraviolet Spectrophotometry at 280 nm Wavelength); ELISA: Inmunoensayo Enzimático de Adsorción (del inglés, Enzyme-Linked Immunosorbent Assay); TAMC: Recuento Total de Microorganismos Aeróbicos (del inglés, Total Aerobic Microbial Count); TYMC: Recuento Total de Levaduras y Mohos (del inglés, Total Yeast and Mould Count); NA: No aplica.

¹ Punto de análisis no analizado de acuerdo con el protocolo de estabilidad (no estrictamente requerido su análisis en todos los puntos de la estabilidad del producto (DS) – debidamente demostrado/justificado durante el desarrollo farmacéutico del producto).

² A pesar de que este tipo de CQA, que claramente no es indicativo de estabilidad, no se suele añadir en esta tabla, aquí se ha dejado indicada esta fila para enfatizar que aquellos CQAs que no sean susceptibles de cambiar en el tiempo durante la estabilidad del producto estarán exentos de formar parte del perfil indicativo de estabilidad y, por tanto, del protocolo y programa de estabilidad del producto. Un buen ejemplo de este tipo de CQA sería las endotoxinas bacterianas, puesto que estas impurezas/contaminantes sólo pueden proceder de la célula hospedadora donde se produzca la proteína recombinante en cuestión de nuestro producto (durante la etapa de cultivo del proceso de fabricación). Por lo tanto, esta cantidad de impureza/contaminante se tendrá que analizar necesariamente bien durante el proceso de producción y/o a la liberación del lote del DS en cuestión, pero no será necesario evaluar su contenido durante la estabilidad del producto.

De este modo, esta información adicional proporcionará pistas sobre el perfil de degradación del producto, así como permitirá la selección/determinación de posibles nuevos métodos analíticos susceptibles de ser usados como parte del perfil indicativo de estabilidad del producto.

OTROS ESTUDIOS DE ESTABILIDAD PARA TENER EN CUENTA PARA PRODUCTOS BIOLÓGICOS

Debido a la inherente complejidad, naturaleza termolábil, así como susceptibilidad incluso a degradación mecánica que pueden experimentar algunos de estos productos biológicos, también resulta relevante tener presente una serie de estudios de estabilidad adicionales que van a proporcionar información muy valiosa del producto biológico con relación a estos aspectos. Algunos ejemplos de estos estudios complementarios de estabilidad son los siguientes:

- Estudios del número de ciclos de congelación/descongelación (del inglés, Freeze/Thaw cycles): Puesto que temperaturas inferiores a condiciones refrigeradas (por ejemplo, $-20 \pm 5^\circ\text{C}$ o $-80 \pm 10^\circ\text{C}$) suelen ser utilizadas para la conservación de DS de este tipo de productos, es importante evaluar que durante el proceso de congelación/descongelación necesario para la posterior fabricación del DP, el principio activo (proteína de interés) no experimente rutas de degradación que afecten a su perfil de calidad, seguridad y eficacia.

- Estudios de agitación/estrés mecánico: Debido a la naturaleza susceptible a la rotura mecánica de estas grandes biomoléculas, resulta interesante llevar a cabo estudios que evalúen el impacto del estrés mecánico sobre este tipo de productos (ejemplo, mediante agitación al vórtex o magnética durante varias horas).

- Estudios de transporte (del inglés, shipment): En ocasiones, el DS del producto biológico se almacena en bolsas de plástico o botellas de vidrio que han de ser transportadas de un centro de fabricación a otro donde se realiza el

Abreviaturas

ATMPs: Medicamentos Biológicos de Terapia Avanzada (del inglés, Advanced Therapy Medicinal Products)

CMC: Química, Fabricación y Controles (del inglés, Chemistry, Manufacturing and Controls)

DNA: Ácido Desoxirribonucleico (del inglés, Deoxyribonucleic acid)

EMA: Agencia Europea de Medicamentos (del inglés, European Medicine Agency)

CPMP: Comité de Medicamentos de Marca (del inglés, Committee for Proprietary Medicinal Products) – conocido desde junio de 2004 como CHMP: Comité de

Medicamentos de Uso Humano (del inglés, Committee for Medicinal Products for Human Use)

ICH: Conferencia Internacional sobre armonización de requisitos técnicos para el registro de productos farmacéuticos para uso humano (del inglés, International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use)

CE: Comisión Europea (del francés, Commission Européenne)

FDA: Administración de Alimentos y Medicamentos (del inglés, Food and Drug Administration)

CQAs: Atributos Críticos de Calidad (del inglés, Critical Quality Attributes)

DS: Sustancia Activa (del inglés, Drug Substance)

DP: Producto Terminado (del inglés, Drug Product)

HR: Humedad Relativa (del inglés, Relative Humidity)

proceso final de la fabricación del DP. En estos casos, resulta imprescindible la elaboración de un estudio de estabilidad que valide estas condiciones de almacenamiento durante, al menos, el periodo de transporte contemplado para trasladar el DS de un centro de fabricación hasta el otro.

CONCLUSIONES

A modo general, cabe señalar que la complejidad de los productos biológicos de naturaleza peptídica ha llevado al desarrollo de un marco regulatorio europeo bien definido para establecer los procedimientos comunitarios para la aprobación, autorización y control de este tipo de medicamentos de uso humano. Además, la elevada complejidad y diversidad en cuanto a CQAs y posibles metodologías analíticas a la hora de determinar el perfil indicativo de estabilidad, unido al hecho de la notable sensibilidad de este tipo de productos frente a diversos factores ambientales hacen necesaria la regulación de los fundamentos básicos para

la evaluación de la estabilidad de este tipo de producto a través de las guías ICH Q1A(R2) [2] y, específicamente, la guía ICH Q5C [1].

Bibliografía

[1] EMA/CPMP/ICH/138/95, "ICH Q5C Guideline on quality of biotechnological products: stability testing of biotechnological/biological products".

[2] EMA/CPMP/ICH/2736/99, "ICH Q1A(R2) Guideline on stability testing of new drug substances and products".

[3] Directiva 2001/83/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 6 de noviembre de 2001, por la que se establece un código comunitario sobre medicamentos para uso humano.

[4] Reglamento (CE) n° 726/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo de 31 de marzo de 2004 por el que se establecen procedimientos comunitarios para la autorización y el control de los medicamentos de uso humano y veterinario y por el que se crea la Agencia Europea de Medicamentos.

[5] Wang, Zeng., Wang, Guoqing., Huaqing, Lu., Li, Hongjian., Tang, Mei., Tong, Aiping., 2022. "Development of therapeutic antibodies for the treatment of diseases". Mol. Biomed., Vol. 3, Article number: 35, doi: <https://doi.org/10.1186/s43556-022-00100-4>.

[6] S. Kinch, Michael., Kraft, Zachary., Schwartz, Tyler., 2023. "Monoclonal antibodies: Trends in therapeutic success and commercial focus". Drug Discov. Today, Vol. 28, Issue 1, doi: <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2022.103415>. 