

Arh.farm. 2015;65: 237 – 255

Stručni rad/Professional paper

Farmaceutski oblici bioloških i drugih lekova u terapiji multiple skleroze

Snežana Savić^{1*}, Ivana Pantelić¹, Miroslav Savić²

¹ Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet, Katedra za farmaceutsku tehnologiju i kozmetologiju, Vojvode Stepe 450, 11 221 Beograd, Srbija

² Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet, Katedra za farmakologiju, Vojvode Stepe 450, 11 221 Beograd, Srbija

* Autor za korespondenciju: Prof. dr Snežana Savić
e-mail: snexs@pharmacy.bg.ac.rs

Kratak sadržaj

Terapija multiple skleroze obuhvata nekoliko bioloških i veći broj ne-bioloških lekova. Iako su tri rekombinantna preparata interferona-beta (IFN- β) okosnica terapije koja modifikuje prirodni tok bolesti, uvođenje pegilovane forme IFN- β -1a omogućilo bi manje frekventnu primenu leka. Za sada, natalizumab je jedino monoklonsko antitelo odobreno za terapiju relapsno-remitentne forme bolesti u našoj zemlji. Iako je terapija biološkim lekovima ograničena na parenteralni put primene, simptomatska terapija, sa ciljem ublažavanja ili eliminisanja simptoma bolesti koji smanjuju funkcionalnost i remete kvalitet života obolelih, pruža mogućnost primene različitih farmaceutskih oblika za peroralnu (tablete, film tablete), sublingvalnu (oralni liofilizat) ili nazalnu (sprej za nos) primenu.

Zbog velike *in vitro* i *in vivo* nestabilnosti, formulacija farmaceutskih oblika bioloških lekova primarno je orijentisana na očuvanje njihove fizičko-hemijske stabilnosti, te je izbor ekscipijenasa obično vezan za podešavanje pH i modifikovanje rastvorljivosti i anti-adsorpciono/anti-agregaciono ponašanje proteina. Kod liofilizovanih oblika (praškova) fokus je na krio/lioprotektantima, modifikatorima temperaturnog kolapsa i prihvatljivim puniocima. Uz to, velika pažnja posvećuje se izboru adekvatnog postupka sterilizacije, pa se poslednjih godina razvijaju sistemi za aseptičnu proizvodnju sa jednokratnom upotrebom (engl. *single use systems* – *SUS* tehnologije). Od farmaceuta se očekuje poznavanje optimalnih uslova za čuvanje i rukovanje ovim lekovima, pre, tokom i nakon rekonstitucije, kao i tokom njihove primene.

Ključne reči: interferon-beta, glatiramer acetat, ne-biološki kompleksni lekovi

Uvod

Multipla skleroza (MS) je složeno hronično inflamatorno i degenerativno oboljenje centralnog nervnog sistema koje uzrokuje netraumatsku neurološku onesposobljenost mladih odraslih osoba. Iako se još uvek radi o neizlečivom oboljenju, dostupan je određeni broj lekova koji uspevaju povoljno da modifikuju prirodni tok ove bolesti, tj. smanje učestalost i težinu napada, kao i da odlože razvoj onesposobljenosti (1,2). Promene ličnog, profesionalnog i društvenog života pacijenata obolelih od MS uslovljene smanjenjem sposobnosti imaju značajan uticaj na kvalitet života obolelih, uz skraćenje dužine života u proseku za jednu dekadu (3,4). S obzirom da značajan deo svog života pacijenti mogu provesti sa teškim oblikom onesposobljenosti, rana prevencija ostaje osnovni terapijski izazov i prioritet istraživača (3).

Iako potpuno razumevanje uzroka i patogeneze MS još uvek izostaje, značajan napredak načinjen je tokom proteklih 20 godina. Dostupan je veći broj visoko efikasnih lekova koji mogu redukovati učestalost relapsa i ozbiljnost inflamatornih lezija. Nažalost, nema dostupne terapije koja bi sprečila progresivnu formu MS ili koja bi poboljšala kvalitet života pacijenata u poslednjim stadijumima bolesti (5). Ipak, izbor terapije za svakog pacijenta je izuzetno složen, te je cilj ovog rada da pruži sumarni prikaz svih dostupnih lekova koji pacijentima obolelim od MS mogu poboljšati kvalitet života, uz poseban osvrt na klasifikaciju lekova na biološke i ne-biološke, njihove farmaceutsko-tehnološke specifičnosti i ispravno rukovanje prilikom pripreme (rekonstitucije) i primene.

Biološki vs. ne-biološki lekovi

U poređenju sa konvencionalnim lekovima koji imaju dobro definisanu, a relativno jednostavnu strukturu i fizičko-hemijske karakteristike, biološki lekovi su složeni makromolekuli sa sofisticiranom trodimenzionalnom strukturom, kojima je teže definisati fizičko-hemijske karakteristike, a uz to su osetljivi i na toplotu i mehanički stres (6). Zakon o lekovima i medicinskim sredstvima Srbije iz 2010. godine definiše biološki lek kao lek čiju aktivnu supstancu čini biološka supstanca pod kojom se podrazumeva supstanca proizvedena ili ekstrahovana iz biološkog izvora za čiju su kategorizaciju i kontrolu kvaliteta neophodna fizička, hemijska i biološka ispitivanja, kao i opis proizvodnog procesa i njegova kontrola (7). Zapravo, biološki lekovi/biofarmaceutici su lekovi proizvedeni korišćenjem nekog biotehnološkog procesa, poput rekombinantne DNK (rDNK) tehnologije, kontrolisane ekspresije gena koji kodiraju biološki aktivne proteine u prokariotama i eukariotama (uključujući i transformisane ćelije sisara), ili metoda za dobijanje monoklonskih antitela (mAt) (8). Banka ćelija i uslovi u kulturi ćelija iz koje se ovi lekovi dobijaju su jedinstveni, a procesi prečišćavanja veoma kompleksni i imaju veliki uticaj na sastav leka (6,9). Ova kategorija lekova uključuje proteine (enzime, mAt, citokine, hormone, hematopoetske

faktore rasta), peptide i nukleinske kiseline (gene, oligonukleotide, male interferirajuće RNK). Među biofarmaceuticima svakako treba spomenuti i ćelije, koje nalaze primenu u oblastima poput transplantacije matičnih ćelija i inženjeringa tkiva (10).

U regulatornim telima sve češće se ističe podela na dve grupe kompleksih lekova: biološki lekovi kao kompleksni lekovi koje proizvode živi organizmi, i ne-biološki kompleksni lekovi (NBKL; engl. *non-biological complex drugs*), kao kompleksni lekovi koji se dobijaju određenim sintetskim procesom. Osnovne karakteristike NBKL su:

1. sastoje se od većeg broja strukturno sličnih komponenti
2. ceo kompleks predstavlja lekovitu supstancu
3. osobine ne mogu biti u potpunosti okarakterisane dostupnim metodama fizičko-hemijske karakterizacije
4. neophodan je strogo kontrolisan, robustan proizvodni proces.

U NBKL se ubrajaju glatiramoidi za supkutanu (s.c.) primenu, kompleksi gvožđa i ugljenih hidrata za intravensku (i.v.) primenu, liposomi, polimerne micele, kompleksi citostatika sa albuminom i dr. U širem smislu, pod NBKL neki autori ubrajaju i derivate heparina male molekulske mase. Ipak, treba naglasiti da vodeća regulatorna tela, EMA i FDA, još uvek zvanično ne koriste termin ne-biološki kompleksni lek (9).

Važan aspekt bioloških lekova je da se uglavnom primenjuju pomoću igle i šprica, uprkos naporima da se aktivni sastojci isporuče i nekim neparenteralnim putem. Sa izuzetkom kratkih peptida, biofarmaceutici su uglavnom molekuli velikih molekulskih masa (>5000 daltona), koji su podložni nestabilnostima, kako tokom proizvodnje i čuvanja, tako i prilikom manipulacije i primene. Navedene karakteristike čine primenu ovih lekova neparenteralnim putevima problematičnim, ili čak i nemogućim. Uspešna „isporuka” proteinskih i peptidnih lekova podrazumeva dva važna aspekta: a) održavanje stabilnosti leka tokom čuvanja i b) optimizaciju *in vivo* efikasnosti (10).

Formulacioni pristupi kod bioloških lekova

Biološki lekovi se od konvencionalnih pre svega razlikuju po načinu proizvodnje i problemima koji se mogu javiti tokom formulacije. Prilikom rada sa biološkim lekovima, mora se dobro poznavati kako aktivni sastojak leka tako i izabrani farmaceutski oblik, tj. nosač. Proteinski lekovi su veoma potentni te se obično koriste u veoma malim koncentracijama/dozama. Prema tome, najveći udeo u svakom biološkom leku čine pomoćne supstance/materije. Pored vehikuluma i pufera, često je neophodno inkorporirati i različite stabilizatore. U tu svrhu mogu se dodati surfaktanti, aminokiseline, polihidroksilni alkoholi, masne kiseline, proteini, antioksidansi, redukujući agensi i joni metala. Kontrola pH vrednosti jedan je od ključnih faktora

tokom razvoja stabilnog biološkog proizvoda. Optimalan opseg pH vrednosti za određeni proizvod može se postići izborom odgovarajućeg fiziološkog pufera (npr. fosfatni pufer). Koriste se obično puferi koncentracije od 0,01 do 0,1 M, s obzirom da povećanje koncentracije pufera uslovljava veći bol prilikom injektovanja. Helirajući agensi se mogu dodati u cilju vezivanja tragova metala poput bakra, gvožđa, kalcijuma i mangana. Sa tim ciljem, EDTA se uobičajeno dodaje u koncentracijama od 0,01 do 0,05%. Takođe, često postoji potreba za prisustvom određenog antioksidansa, s obzirom da je oksidacija jedan od najčešćih uzroka degradacije proteina. Askorbinska kiselina, natrijum-disulfid, monotioglicerol, i alfa-tokoferol, u koncentracijama od 0,05 do 0,1%, spadaju u najčešće primenjivane antioksidanse. Ukoliko je potreban dodatak konzervansa, u formulaciju biološkog leka se mogu uključiti fenol (0,3-0,5%), hlorobutanol (0,3-0,5%) ili benzil alkohol (1-3%). Polioli su dobri stabilizatori koji često nalaze primenu u koncentraciji od 1 do 10%. Sredstva za podešavanje toničnosti obično uključuju natrijum-hlorid i/ili dekstrozu u koncentracijama potrebnim da se postigne izotoničnost sa 0,9% rastvorom natrijum-hlorida, (odnosno oko 290 mOsm/l) (11).

Posebno se mora obratiti pažnja prilikom odabira pomoćnih materija za proteinske formulacije budući da u kontaktu sa redukujućim šećerima može doći do glikozilacije proteina. Sa stanovišta fizičke nestabilnosti, proteini su podložni denaturaciji (promeni nativne sekundarne ili tercijerne strukture) prilikom izlaganja povišenim temperaturama, ekstremnim pH vrednostima ili organskim rastvaračima. Jedan od najvećih izazova povezan sa formulacijom proteinskih lekova leži u prevenciji agregacije proteina u rastvoru. Iako je veliki napor istraživača uložen u pokušaj oralne primene peptidnih lekova, svega dva takva leka mogu se naći na tržištu: ciklosporin i dezmozpresin. U pitanju su ciklični peptidi, s obzirom da je pokazano da ciklizacija čini peptide manje podložnim peptidazama gastrointestinalnog trakta. Sledeći izazov isporuke terapijskih proteina je njihova imunogenost. Ukoliko primena proteina uslovljava generisanje neutrališućih anti-lek antitela (engl. *anti-drug antibodies*; ADA), naredne doze takvog proteinskog leka neće biti efikasne. Prema tome, formulacija bioloških lekova tipa proteina i peptida mora obuhvatiti prevenciju hemijske degradacije uz poboljšanje *in vivo* aktivnosti. Kako bi se sprečila degradacija, preporučuju se niže pH vrednosti (pH = 3-6) koje ograničavaju reaktivnost nukleofila. Dalje, sušenje, a posebno sušenje zamrzavanjem – liofilizacija (engl. *freeze-drying*) može stabilizovati proteine od različitih degradacionih uticaja. U tom slučaju, u formulaciju se uključuju lioprotektanti poput trehaloze i saharoze, kako bi sa proteinima ostvarili vodonične veze koje se gube prilikom uklanjanja vode. S druge strane, agregacija proteina se može sprečiti dodatkom različitih šećera (npr. trehaloza je lioprotektant koji ujedno sprečava i agregaciju), glicerola, arginina i uree. Iako mehanizam kojim ovi ekscipijensi doprinose stabilizaciji još uvek nije jasan, čini se da

sprečavaju interakcije hidrofobnih regija proteina. Dobar primer multifunkcionalnog ekscipijensa je polisorbitat 20, koji sprečava interakciju proteina sa kontaktnim površinama, razmotavanje proteinskih lanaca i agregaciju (10).

Nakon i.v. primene, terapijski proteini se obično brzo eliminišu iz krvi. Jedan od načina za produžavanje njihovog vremena cirkulacije u krvi je primena poli(etilen glikol) (PEG) konjugacije. PEG je visoko hidratisan fleksibilan polimerni lanac koji je netoksičan i neimunogen. Vezivanje ovih nerastvornih polimera za terapijske proteine maskira mesta osetljiva na degradaciju, čime se stvara svojevrsna zaštita koja, iako u određenoj meri redukuje aktivnost datog proteina, značajno produžava njegovo poluvreme eliminacije, a time i dužinu delovanja, što omogućava manje frekventno doziranje. Pokazano je da PEG povećava molekulski volumen proteina iznad praga glomerularne filtracije od oko 122 nm³ ili 40 kDa. PEG konjugacija takođe smanjuje imunogenost terapijskih proteina, što je upravo dokazano na primeru interferona beta-1b (IFN-β-1b) (10). Određen broj PEG konjugata već se nalazi na tržištu (PEG-asparaginaza, PEG-Intron[®] (IFN-α-2b), Pegasys[®] (IFN-α-2a)) (11).

Osnovno pravilo prilikom formulacije biotehnoških lekova jeste da se proizvodne procedure učine što jednostavnijim. Kao i kod drugih lekova za parenteralnu primenu, mora se obezbediti njihova sterilnost, imajući u vidu i činjenicu da većina ne sadrži konzervans. Upotreba filtera prilikom pripreme bioloških lekova može rezultovati izvesnim gubitkom leka. Filteri za koje je pokazano da najmanje dovode do adsorpcije proteina jesu oni izrađeni od poliviniliden difluorida, polikarbonata, polisulfona i derivata celuloze. Adsorpcija proteina na ambalažu takođe može usloviti određeni gubitak leka. Ovo se može umanjiti dodatkom albumina u formulaciju (oko 0,1%) ili silikonizacijom kontaktnih površina (11). Poslednjih godina velika pažnja posvećuje se izboru adekvantog postupka sterilizacije, što je dovelo do razvoja sistema za aseptičnu proizvodnju sa jednokratnom upotrebom (engl. *single use systems* – SUS tehnologije) (12).

Lekovi koji nalaze primenu u terapiji multiple skleroze

Uprkos činjenici da je interindividualna heterogenost bolesti jedna od osnovnih karakteristika MS, dostupni lekovi usmereni su primarno na rane, zajedničke inflamatorne promene koje bolest uslovljava. U slučaju akutnog relapsa jedina terapijska opcija su kortikosteroidi (metilprednizolon i.v.) (13), čijom primenom se ne postiže dugoročna korist (14). Iako postoje određena odstupanja od zemlje do zemlje (Tabela I), lekovi koji modifikuju prirodni tok bolesti time što smanjuju učestalost relapsa i inhibiraju razvoj onesposobljenosti (engl. *disease-modifying therapy*, DMT) odobreni za tretman MS uključuju interferone-beta (IFN-β-1a, IFN-β-1b), glatiramer acetat (GA), mAt (natalizumab), i novije peroralne lekove (fingolimod, teriflunomid i dimetil fumarat). Svi navedeni lekovi predviđeni su za primenu kod pacijenata sa

relapsno-remitentnom MS (RRMS), s obzirom da do danas nema dovoljno dokaza koji ukazuju na efikasnost ovih lekova kod progresivnih oblika bolesti (3,15). Injekcioni oblici IFN i GA uvedeni su na tržište još sredinom 1990-ih godina. Nekoliko lekova uvedeno je 2010. godine, nakon čega su uvedene nove aktivne supstance za oralnu primenu, nove formulacije lekova (postignuto modifikovano oslobađanje) i novi biološki sistemi, što je značajno proširilo dostupne terapijske pristupe. Mnogi novouvedeni lekovi omogućavaju pogodniju primenu, fleksibilnije doziranje i efikasnije smanjuju pojavu relapsa (16).

Tabela I Pregled bioloških lekova koji su dobili dozvolu (registrovani) u R. Srbiji za terapiju MS (18,19,21,35).

Table I An overview of biologics registered in Republic of Serbia for MS therapy (18,19,21,35).

Ime leka	INN	Farmaceutski oblik	Pomoćne supstance	Napomene
Avonex [®] Biogen Idec Denmark Manufacturing APS	interferon beta-1a	prašak i rastvarač za rastvor za injekciju (BIO SET) rastvor za injekciju u napunjenom injekcionom špricu rastvor za injekciju u penu sa uloškom	natrijum-acetat, trihidrat; sirćetna kiselina, glacijalna; arginin- hidrohlorid; polisorbit 20; voda za injekcije	
Betaferon [®] Bayer Pharma AG	interferon beta-1b	prašak i rastvarač za rastvor za injekciju	Bočica (koja sadrži prašak za injekciju): humani albumin; manitol; hlorovodonična kiselina; natrijum- hidroksid Rastvarač (rastvor natrijum hlorida 5.4 mg/mL (0.54%)): natrijum- hlorid; voda za injekcije	proizveden genetskim inženjeringom iz sojeva <i>Escherichia coli</i>
Rebif [®] Merck Serono S.p.A.	interferon beta-1a	rastvor za injekciju u napunjenom injekcionom špricu rastvor za injekciju u ulošku	manitol; poloksamer 188; L-metionin; benzilalkohol; natrijum- acetat; sirćetna kiselina; natrijum-hidroksid; voda za injekcije	proizveden u ovarijalnim ćelijama kineskog hrčka (CHO-K1) rekombinantnom DNK tehnologijom
Tysabri [®] Biogen Idec Denmark Manufacturing APS	natalizumab	koncentrat za rastvor za infuziju	natrijum- dihidrogenfosfat, monohidrat; dinatrijum- fosfat, heptahidrat; natrijum-hlorid; polisorbit 80; voda za injekcije	rekombinantno humanizovano antitelo, proizvedeno u mišjim ćelijskim linijama tehnologijom rekombinantne DNK

IFN- β i GA smatraju se prvom terapijskom linijom za tretman RRMS (17).

IFN- β -1b je tip I interferon produkovan od strane *E. coli* primenom rDNK tehnologije uz supstituciju serina cisteinom na poziciji 17. Ova manipulacija poboljšava stabilnost leka uz očuvanje specifične aktivnosti prirodnog IFN- β -1b (11). IFN- β je prvi lek odobren za terapiju RRMS koji je i danas u upotrebi (8). Liofilizirani IFN- β -1b 0,3 mg (9,6 miliona i.j.) se rekonstituiše dodatkom 1,2 ml rastvarača (natrijum-hlorid 0,54%) direktno u bočicu, primenom sterilnog šprica i igle. Rastvarač se mora dodati niz zid bočice, a potom se bočica blago zavrti između palca i kažiprsta, bez mućkanja, do potpunog rastvaranja leka. Nakon rekonstitucije, dobija se rastvor koncentracije 0,25 mg (8,0 miliona i.j.)/ml. Ova formulacija, između ostalog, sadrži manitol i albumin (često korišćeni ekscipijensi kod rekombinantnih proteina za sprečavanje adsorpcije leka na zidove bočice ili šprica). Rekonstituisani rastvor (1 ml) se sterilnim špicem i iglom izvlači iz bočice, a lek se primenjuje supkutano (s.c.). S obzirom da ne sadrži konzervanse, pogodan je samo za jednu primenu. Pre i nakon rekonstitucije, lek se mora čuvati u frižideru, ali treba imati u vidu da ne sme da protekne više od 3 h između rekonstituisanja i primene leka (11,18).

Prema Internacionalnom standardu za interferon Svetske zdravstvene organizacije, 30 μ g leka Avonex[®] (IFN- β -1a) sadrži 6 miliona i.j. antivirusne aktivnosti. Aktivnost u poređenju sa drugim potencijalnim standardima nije poznata. Liofilizirani prašak za injekciju rekonstituiše se primenom sterilnog šprica kako bi se injektovalo 1,1 ml datog rastvarača i nežno se okreće dok se lek ne rastvori. Pripremljeni rastvor (1 ml) se izvlači iz bočice sterilnim špicem i iglom pogodnom za intramuskularnu (i.m.) primenu. Avonex[®] je dostupan i u obliku rastvora za injekciju u napunjenom injektionom špicu ili u penu sa uloškom, kao komfornijim rešenjem za samoprimeru leka, ali i za potrebe sprovođenja titracije doze (11,19). Budući da nije konzervisan, sadržaj bočice/pena može se koristiti samo za jednokratnu upotrebu. Pre i nakon rekonstitucije lek treba čuvati u frižideru, a primeniti najkasnije 3 h od rekonstitucije. Lek se ne sme zamrzavati. Alternativno, može se čuvati na temperaturi od 25°C, ali nikako duže od 6 dana. Jednom izvađen iz frižidera, lek treba ostaviti da se zagreje do temperature od 25°C oko 30 minuta (19,20). Rebif[®] je IFN- β -1a namenjen za s.c. primenu, dostupan u obliku rastvora za injekciju u napunjenom injektionom špicu ili u ulošku u dozama od 22 i 44 μ g/0,5 ml. S obzirom da se primenjuje tri puta nedeljno, ukoliko je moguće lek treba primenjivati uvek u isto vreme, poželjno kasno popodne ili uveče, istim danima u nedelji (npr. ponedeljak/sreda/petak), uz najmanje 48 h pauze između doziranja. Kako lek sadrži konzervans (benzilalkohol), rok upotrebe posle prvog otvaranja je 28 dana, ukoliko se čuva zaštićeno od svetlosti, na temperaturi 2–8°C, u originalnom pakovanju. U slučaju da ne postoji mogućnost čuvanja u frižideru, lek se može čuvati na temperaturi do 25°C najviše 14 dana. Ne sme se zamrzavati (11,21). Koliko je značajno dobro informisati pacijenta o ispravnom čuvanju i primeni leka

govori i činjenica da je za neke preparate IFN- β dostupan i video trening koji demonstrira preporučeni način rekonstitucije i primene leka. Pacijenti koji sami primenjuju ove lekove moraju se obučiti kako da ispravno pripreme i daju sebi injekciju, uz obaveznu promenu mesta injektovanja (11).

Ispitivanja su pokazala da tri prethodno predstavljene formulacije IFN- β dovode do stvaranja različitih količina neutrališućih ADA. Generalno, dva leka IFN- β -1a, Avonex[®] i Rebif[®], manje su imunogena od preparata IFN- β -1b (Betaferon[®]). Tokom kliničkih studija, Avonex[®] je dovodio do pojave ADA u procentu od 2–22%, a nakon odgovarajućih formulacionih promena i proizvodnih postupaka incidencija je smanjena na 2-8% (3,22). U slučaju lekova Rebif[®] i Betaferon[®], zabeležena je pojava At u opsegu 5–28%, odnosno 38–47%. Ipak, čini se da tip primenjenog IFN- β nema većeg uticaja tokom dugoročne primene. Postoji nekoliko tumačenja relativnog povećanja imunogenosti od IFN- β -1a ka IFN- β -1b. IFN- β -1b nema identičnu sekvencu aminokiselina endogenom humanom IFN- β , a nije ni glikoziliran, što može povećati njegovu sposobnost da obrazuje agregate *in vivo*. Farmaceutska stabilnost je takođe pominjana u kontekstu doprinosa relativnoj imunogenosti ovih formulacija. Pored formulacije lekova, na stvaranje ADA može uticati i primenjena doza, učestalost doziranja, kao i put primene (i.m. put primene dovodi do stvaranja manje At u poređenju sa s.c. putem). Pacijentima sa visokim titrima ADA savetuje se prekid terapije i prelazak na alternativnu, a s obzirom na primećenu unakrsnu reaktivnost ADA sa različitim formulacijama IFN- β , alternativna terapija mora biti neki lek koji ne pripada grupi interferona (3).

U poslednjih deset godina, veći broj formulacija biosimilara IFN- β -1a odobreno je za primenu u tretmanu RRMS, iako nijedan još uvek nije odobren kao DMT u EU ili SAD. Biosimilari IFN- β -1a razlikuju se po svojim referentnim proteinima prema tipu primenjenog ekspresionog sistema (ćelijske kulture), kao i po završnim fazama prečišćavanja. Imajući u vidu kompleksnost bioloških lekova, varijacije u proizvodnom postupku mogu dovesti do malih varijacija na proteinu što će se značajno odraziti na kliničku efikasnost. Primera radi, biosimilar IFN- β -1a generisan u ćelijama ovarijuma kineskog hrčka (Biferonex) odbijen je od strane EMA usled razlika u aktivnim molekulima datog i referentnog leka. Ocenjeno je da su upravo ove razlike odgovorne za manju biološku aktivnost biosimilara, a koja je dalje povezana i sa prisustvom agregata IFN- β -1a velike molekulske mase. U skladu s navedenim, poređenjem formulacije IFN- β -1a za i.m. primenu Avonex[®] (Biogen, Cambridge, MA, SAD) sa biosimilarom Jumtab[®] (Probiomed, Miguel Hidalgo, Meksiko), pokazana je manja imunogenost dobijenog biosimilara, ali na račun smanjenja biološke raspoloživosti leka. Dodatno, prijavljena je značajna varijabilnost u hemijskom sastavu serija istog biosimilara IFN- β tokom vremena, koja takođe može doprineti uočenim razlikama u kliničkoj efikasnosti (22).

U svakom slučaju, prednost IFN- β je što se dugo primenjuje pa ima dosta podataka o bezbednosti primene, a ozbiljna neželjena dejstva se retko javljaju. Osnovni nedostatak ostaje činjenica da samo određeni broj pacijenata odgovori na datu terapiju (kod oko 49% pacijenata na IFN- β efekat izostane već u ranoj fazi terapije). Ostale formulacije IFN- β i režimi doziranja pokazuju sličnu efikasnost. Poboljšanje efikasnosti IFN- β će se možda povećati uvođenjem pegilovanog oblika, peginterferon- β -1a, koji će omogućiti primenu svake druge nedelje (3,15). Pegilovani IFN- β -1a (pegIFN- β -1a) odobren je od strane FDA za tretman RRMS u avgustu 2014. godine u dozi od 125 mg koja se primenjuje s.c. svake druge nedelje (Plegridy[®], Biogen Idec, SAD). PegIFN- β -1a zadržava sličnu farmakodinamsku aktivnost kao i IFN- β -1a, ali zbog pegilovanja poseduje drugačije farmakokinetičke osobine. PegIFN- β -1a predstavlja IFN- β -1a kovalentno vezan preko α -amino grupe N terminusa za PEG, što uslovljava smanjenje klirensa, povećanje poluvremena eliminacije i sporiju degradaciju leka. S obzirom da su dostupne formulacije IFN- β -1a ili ograničene čestim režimom doziranja (3 puta nedeljno u slučaju s.c. IFN- β -1a) ili smanjenjem efikasnosti (karakteristično za i.m. primenu IFN- β -1a), kovalentno vezivanje PEG poboljšava farmakokinetičke karakteristike leka (pegIFN- β -1a primenjen s.c. pokazao je devetostruko povećanje površine ispod krive (PIK, engl. AUC) u poređenju sa IFN- β -1a primenjenim i.m.) (16).

Za razliku od IFN- β koji je endogeni citokin i biološki lek, GA je acetatna so sintetičkih polipeptida koja sadrži četiri prirodne aminokiseline (L-glutaminsku kiselinu, L-alanin, L-tirozin i L-lizin) definisanog molarnog udela koji je identičan onom kod osnovnog proteina mijelina (15). GA, koji je odobren za s.c. primenu u dozi od 20 mg jednom dnevno još od 1996. godine, sada je u nekim zemljama dostupan i u novom farmaceutskom obliku sa višom dozom koja se primenjuje više puta nedeljno (23,24). Ovaj novi farmaceutski oblik odobren je od strane FDA u januaru 2014. godine (16). U našoj zemlji registrovan je u obliku rastvora za injekciju u napunjenom injekcionom špricu (Tabela II). Jedan ml rastvora za injekciju sadrži 20 mg glatiramer acetata, što je ekvivalentno 18 mg glatiramer baze po napunjenom špricu. Iako su od ekscipijenasa u formulaciju uključeni samo manitol i voda za injekcije, GA se ne sme mešati sa drugim lekovima, a čuva se u originalnom pakovanju radi zaštite od svetlosti, u frižideru, na temperaturi 2-8°C (ne zamrzavati!). Na temperaturi do 25°C može se čuvati najduže mesec dana. Lek je predviđen samo za jednokratnu upotrebu, te se neiskorišćeni deo mora baciti (25).

Tabela II Pregled ne-bioloških lekova koji su dobili dozvolu (registrovani) u R. Srbiji, a mogu naći primenu u terapiji multiple skleroze (25,28,31,35).

Table II An overview of non-biological drugs registered in Republic of Serbia which could be indicated in MS therapy (25,28,31,35).

Ime leka	INN	Farmaceutski oblik	Pomoćne supstance	Napomene
Aubagio® Sanofi Winthrop Industrie	teriflunomid	film tableta	<u>Jezgro tablete:</u> laktoza, monohidrat; skrob, kukuruzni; celuloza, mikrokristalna; natrijum skrob glikolat (tip A) hidroksipropilceluloza; magnezijum-stearat <u>Film omotač:</u> hipromeloza; titanijum dioksid; talk; makrogol 8000; boja E132	
Copaxone® Teva Pharmaceutical Industries LTD	glatiramer acetat	rastvor za injekciju u napunjenom injekcionom špricu	manitol; voda za injekcije	Acetatna so sintetičkih polipeptida koja sadrži četiri prirodne aminokiseline: L-glutaminsku kiselinu, L-alanin, L-tirozin i L-lizin
Gilenya® Novartis Pharma Stein AG	fingolimod	kapsula, tvrda	<u>Sadržaj kapsule:</u> magnezijum-stearat; manitol <u>Sadržaj kapice i tela kapsule:</u> gvožđe(III)-oksid, žuti; titan-dioksid; želatin	
Mitoxantron "EBEWE" EBEWE Pharma, Ges.m.b.H. Nfg. KG	mitoksantron	koncentrat za rastvor za infuziju	natrijum-hlorid; natrijum-acetat; glacijalna sirćetna kiselina; natrijum-sulfat; hlorovodonična kiselina; voda za injekcije	
Myderison Meditop Gyogyszeripari KFT;	tolperison	film tableta	<u>Jezgro tablete:</u> talk; stearinska kiselina; krospovidon; betain-hidrohlorid; manitol; celuloza, mikrokristalna <u>Film omotač:</u> titan-dioksid; makrogol 4000; hipromeloza; laktoza, monohidrat	

Ime leka	INN	Farmaceutski oblik	Pomoćne supstance	Napomene
Mydocalm [®] Gedeon Richter Plc	tolperison	film tableta	<p><u>Jezgro tablete:</u> limunska kiselina, monohidrat; silicijum-dioksid, koloidni, bezvodni; stearinska kiselina; talk; celuloza, mikrokristalna; skrob, kukuruzni; laktoza, monohidrat</p> <p><u>Film omotač:</u> silicijum-dioksid, koloidni, bezvodni; titan-dioksid; laktoza, monohidrat; makrogol 6000; hipromeloza</p>	
Minirin Melt Ferring GmbH	dezmopresin	oralni liofilizat	želatin (ribljeg porekla); manitol; limunska kiselina, bezvodna	Oralni liofilizat je lako lomljiv i ne može se izbaciti iz blistera pritiskom, već se prvo uklanja aluminijumska folija.
Minirin [®] Ferring International Center SA		sprej za nos, rastvor	natrijum-hlorid; limunska kiselina, monohidrat; dinatrijum-fosfat, dihidrat; benzalkonijum-hlorid, rastvor 50%; voda, prečišćena	Kod pacijenata kod kojih primena oralnog farmaceutskog oblika dezmopresina nije moguća.
Minirin [®] Ferring International Center SA		tableta	laktoza, monohidrat; skrob, krompirov; povidon; magnezijum-stearat	Iako tableta ima podeonu crtu, ona nije namenjena podeli tablete na jednake delove u svrhu doziranja.

Kao što je prethodno pomenuto, glatiramoidi predstavljaju školski primer NBKL, s obzirom da se sastoje iz kompleksne smeše kopolimera četiri aminokiseline, koji se među sobom razlikuju u sekvenci i veličini, a dobijaju se polimerizacijom koja je praćena parcijalnom hidrolizom. Iz tog razloga, nije u potpunosti moguće sprovesti kvalitativnu i kvantitativnu analizu sastava leka primenom postojećih analitičkih metoda (9) i pitanje procene kvaliteta tih proizvoda može se smatrati veoma zahtevnim zadatkom.

Poslednjih godina uvedeno je nekoliko novih peroralnih DMT za tretman MS, koji su komparirani sa IFN- β , kao važećim standardom (26). U slučaju prelaska sa IFN- β na neki peroralni lek, iako oko 80% pacijenata prijavi neki novi neželjeni efekat, njih oko 97% se izjašnjava da je zadovoljno novom terapijom. Osnovni razlog koji stoji iza ovakve statistike svakako je u daleko komfornijem putu primene leka. Dalje, terapija je utoliko lakša i što peroralni farmaceutski oblici, za razliku od parenteralnih, nisu vezani

za poštovanje hladnog lanca (27). Iako uvođenje oralnih lekova za MS pruža pacijentima veću lakoću primene, odluka da se kao prva terapija primeni neki od peroralnih lekova mora biti doneta nakon razmatranja više faktora (rizik od potencijalnih neželjenih efekata, očekivana efikasnost, dostupnost, cena) (15).

Fingolimod je bio prvi peroralni lek koji je odobren od strane FDA za tretman RRMS (septembar 2010. godine), nakon čega se našao i na tržištu EU (2011. godine) (24). Dostupan je u obliku kapsule, tvrde, koja sadrži 0,5 mg fingolimoda u obliku fingolimod-hidrohlorida, magnezijum-stearat i manitol (17,28).

Teriflunomid je oralni DMT lek za tretman RRMS odobren od strane FDA u septembru 2012, a od strane EMA 2013. godine (29). U pitanju je aktivni metabolit leflunomida, koji se od 1998. godine primenjuje u terapiji reumatoidnog artritisa. Iako mehanizam dejstva u terapiji MS još uvek nije rasvetljen, imajući u vidu selektivnost njegovih efekata na imunski sistem, teriflunomid predstavlja značajnu dopunu terapijskih mogućnosti za MS. Kao takav, teriflunomid u obliku film tablete sa doziranjem jednom dnevno ima određene prednosti u poređenju sa prvom linijom DMT koji se primenjuju injekciono i obogaćuje terapijski arsenal usmeren ka relapsnim formama bolesti (30,31). Teriflunomid ima dugačko poluvreme eliminacije od oko 19 dana, te u slučaju planiranja trudnoće lek mora biti brzo eliminisan iz organizma holestiraminom ili aktivnim ugljem (poseduje teratogeni potencijal zbog sposobnosti da inhibira sintezu nukleinskih kiselina). S obzirom da je u pitanju noviji lek, dugoročna bezbednost teriflunomida je manje pouzdana nego u slučaju injekcionih DMT, iako je bezbednost leflunomida (proleka teriflunomida) uveliko poznata (29).

Dimetil fumarat je noviji oralni agens za tretman RRMS najpre odobren od strane FDA (mart 2013. godine), a godinu dana kasnije i od strane EMA (16). S obzirom na trenutni bezbednosni profil i dostupnost, dimetil fumarat (ranije poznat pod šifrom BG-12) se u SAD koristi češće u poređenju sa drugim peroralnim lekovima (15). Ipak, u dozi održavanja od 240 mg dva puta dnevno, dimetil fumarat nije pokazao veću efikasnost od IFN- β ili GA (29). Dostupan je u obliku gastrorezistentne kapsule, tvrde, te je pacijentima neophodno skrenuti pažnju da kapsulu progutaju odjednom, bez otvaranja ili žvakanja, s obzirom da je tvrda želatinska kapsula punjena obloženim mikrotabletama (32).

U poslednjih deset godina, novi imunomodulatori iz grupe mAt prihvaćeni su kao pogodna alternativa kada je IFN- β nedovoljno efikasan. Ipak, podaci o dugotrajnoj primeni ovih lekova i dalje izostaju (33). Kao DMT drugog izbora izdvojio se natalizumab (Tysabri[®]), humanizovano mAt koje se vezuje za $\alpha 4$ lanac $\alpha 4\beta 1$ i $\alpha 4\beta 7$ integrina. Osnovni nedostatak primene ovog mAt je povezanost sa razvojem progresivne multifokalne leukoencefalopatije (PML). Iako je natalizumab po pojedinim procenama i najefikasniji lek trenutno dostupan za tretman RRMS, njegova primena je generalno ograničena na pacijente sa veoma aktivnom bolešću i visokim rizikom od

rane progresije onesposobljenosti (15,17). Studija koja je ispitivala kombinovanu terapiju natalizumabom i IFN- β -1a i.m., pokazala je veću efikasnost u poređenju sa monoterapijom IFN- β (24). Dostupan je u vidu koncentrata za rastvor za infuziju 20 mg/ml, a kada se razblaži, rastvor za infuziju sadrži 2,6 mg/ml natalizumaba. Važno je naglasiti da lek Tysabri[®] sadrži 2,3 mmol (ili 52 mg) natrijuma po bočici. Kada se razblaži u 100 ml 0,9%-tnog (9 mg/ml) natrijum-hlorida, lek sadrži 17,7 mmol (ili 406 mg) natrijuma, što se mora uzeti u obzir kod pacijenata koji su na dijeti sa kontrolisanim unosom natrijuma (34).

Mitoksantron takođe može naći primenu u tretmanu primarno progresivne (PPMS) i sekundarno progresivne MS (SPMS) (17). Obično se primenjuje i.v. u dozi od 12-14 mg/m² svaka 3 meseca tokom osam infuzija (ukupna kumulativna doza od 96 mg/m²), sa trajanjem terapije od 2 godine ili manje. Ponekad se kombinuje sa metilprednizolonom, a mogući su različiti pristupi mesečnoj indukciji i tromesečnoj dozi održavanja (24). Međutim, mitoksantron ne dovodi do potpune remisije kod većeg broja pacijenata, a povezan je i sa neželjenim efektima koji nisu uvek prihvatljivi (17).

S obzirom na kompleksnost kliničke slike obolelih od MS, za olakšavanje simptoma (palijativna terapija) koristi se veliki broj lekova. Tolperison se propisuje u svrhu suzbijanja spasticiteta, koji prati više organskih neuroloških poremećaja. Dostupan je u obliku film tablete koja se uzima posle obroka, sa čašom vode. Dezmpresin se na tržištu može naći u nekoliko farmaceutskih oblika. Svakako najinteresantniji je oralni liofilizat koji može sadržati 60, 120 ili 240 μ g dezmpresina u obliku dezmpresin acetata, a uzima se stavljanjem ispod jezika, gde se rastvara bez potrebe za unosom vode. Dostupan je i u obliku tablete i spreja za nos (rastvor), a koristi se radi simptomatske terapije nokturije (35). I oralni imunosupresivi, poput azatioprina, nalaze široku primenu u tretmanu MS. Uprkos potencijalnoj prednosti koja se ogleda u ceni, azatioprin i srodni lekovi nisu ispitani za ovu namenu u velikim, placebo-kontrolisanim studijama, a njihova relativna korist u poređenju sa novijim lekovima je nejasna (15).

Rituksimab (MabThera, Roche) je anti-CD20 mAt koje se takođe mora primeniti sa oprezom zbog rizika od neželjenih efekata (potencijalni razvoj PML). Iako još uvek nije odobren za primenu u tretmanu MS, rituksimab se često sreće kao *off-label* opcija kod pacijenata kod kojih je poboljšanje kliničke slike izostalo nakon primene više lekova (15). Dostupan je u vidu koncentrata za rastvor za infuziju i rastvora za s.c. injekciju (36).

Alemtuzumab (Lemtrada, Genzyme Therapeutics) je humanizovano anti-CD52 mAt koje se primenjuje kao jedan i.v. tretman (dostupan je u obliku koncentrata za rastvor za infuziju), s obzirom da dovodi do opšte imunosupresije koja perzistira i do godinu dana. Stoga, pacijenti obično prime jednu godišnju dozu, dve godine uzastopno, pri čemu se pažljivo prate narednih nekoliko godina zbog neželjenih efekata. Odobren

je za primenu kod MS u Evropi, Kanadi i SAD (15). Alemtuzumab se skoro potpuno eliminiše iz organizma za 30 dana, a odlikuje ga poluvreme eliminacije od oko 2 nedelje. Uobičajena doza je 12 mg dnevno tokom 5 dana, koja se nakon 12 meseci ponovo daje tokom 3 uzastopna dana. Bezbednosni profil alemtuzumaba uslovio je nešto sporije dobijanje odobrenja od strane regulatornih tela. Alemtuzumab je pokazao visoku efikasnost u tretmanu MS u poređenju sa IFN- β -1a primenjenim s.c. Ipak, ovo mAt nosi sa sobom i značajne rizike, posebno sa aspekta autoimunosti. Priprema i primena infuzije zahteva angažovanje bolničkog osoblja, a reakcije u vidu blagog povratka prethodnih simptoma MS i inflamatornih odgovora su skoro univerzalne, ali mogu biti poboljšane predtretmanom kortikosteroidima, antihistaminicima i antipireticima. Takođe, antiviralna profilaksa aciklovirom 200 mg dva puta dnevno često se praktikuje tokom tretmana i barem 2 meseca nakon završetka terapije (16,29). Hemijska i fizička *in-use* stabilnost pripremljenog rastvora (posle razblaženja) zadovoljavajuća je u periodu od 8 sati, ukoliko se čuva na temperaturi 2-8°C. Ipak, sa stanovišta mikrobiološke ispravnosti, preporučuje se primena leka odmah nakon pripreme (37).

U ovom momentu više lekova nalazi se u različitim fazama kliničkih studija. Lakvinimod, koji ima strukturu dihidrohinolon-3-karboksamida, trenutno se nalazi u fazi III kliničkih studija. Za sada je, na modelu eksperimentalnog autoimunskog encefalomijelitisa (EAE), pokazano da ublažava simptome bolesti, smanjuje sintezu i sekreciju proinflamatornih citokina (29). Uprkos činjenici da je maja 2014. godine CHMP (*Committee for Medicinal Products for Human Use*) ukazao na moguće neželjene efekte leka tokom njegove duže primene, kompanije Active Biotech i Teva Pharmaceutical Industries nastavljaju udruženo da rade na razvoju ovog peroralnog leka.

Daklizumab je humanizovano mAt za CD25 (alfa lanac receptora za interleukin 2), koje za sada pokazuje dobru podnošljivost kod MS. U prilog tome govore i višegodišnji podaci o bezbednosti primene daklizumaba u transplantaciji (29).

Tri anti-CD20 mAt intenzivno se ispituju za primenu u RRMS: rituksimab (himerno antitelo), okrelizumab (humanizovano antitelo) i ofatumumab (humano antitelo). Podaci faze II objavljeni su za dva od ova tri agensa, a faza III je u toku za okrelizumab (rezultati studija OPERA I i II se očekuju do kraja 2015. godine). U slučaju RRMS, za rituksimab i okrelizumab predviđena je primena infuzijom u intervalima od 6 meseci (29).

Od skora, primena matičnih ćelija u tretmanu MS, a posebno transplantacija mezenhimskih matičnih ćelija (MMĆ) u fokusu je pojedinih istraživača. Nekoliko studija pokazalo je da MMĆ poseduju imunomodulatorne i antiinflamatorne efekte u različitim tkivima, što je potvrđeno i u tretmanu EAE koji se smatra pogodnim životinjskim modelom za MS (17,29,38).

Interesantno je napomenuti da su u Nemačkom kodeksu o lekovima (DAC/NRF 2013) oficinalne monografije *Dronabinol kapsula 2,5 mg/5 mg/10 mg* i *Dronabinol uljanih kapi 25 mg/ml*, koje farmaceuti mogu izraditi za potrebe pacijenata sa MS. Iako i sam dronabinol prelazi u tečno stanje prilikom zagrevanja, ove oralne kapi se izrađuju uz zagrevanje palmitoilaskorbinske kiseline i triglicerida srednje dužine lanca na temperaturi od 70°C. Dronabinol se koristi kao centralni miorelaksans kod pacijenata obolelih od MS (39).

Pri primeni prethodno izloženih terapijskih opcija za tretman MS, primećeno je da više od polovine pacijenata prekida sa prvobitnom terapijom u roku od 2 godine usled neodgovarajuće efikasnosti i/ili loše podnošljivosti. Petina pacijenata promeni terapiju više puta. Prelazak sa jedne na drugu terapiju nekim injekcionim DMT lekom smatra se bezbednom praksom, i generalno rezultuje poboljšanjem kontrole bolesti (5). S obzirom da je pokazano da MS pogađa žene i do tri puta češće nego muškarce, noviji podaci ukazuju na izvesnu ulogu steroidnih hormona, naročito estrogena, u ublažavanju simptoma povezanih sa MS. Štaviše, dokazi dobijeni kliničkim studijama nagoveštavaju da niski nivoi estrogena, poput onih karakterističnih za postpartalni period i menopauzu, mogu dovesti do egzacerbacije (faza pogoršanja) simptoma MS. S druge strane, trudnoća je prepoznata kao stanje kada zapravo može doći i do poboljšanja simptoma MS, što se vezuje sa višim nivoima estrogena. Potencijalna terapijska korist od estrogena i derivata progesterona za prevenciju relapsa u postpartalnom periodu predmet je istraživanja POPART'MUS studije (*Prevention of Post-Partum Relapses with Progestin and Estradiol in Multiple Sclerosis*). Ukoliko prethodni navodi budu potvrđeni, davanje steroidnih hormona tokom perioda snižavanja njihovog nivoa moglo bi da umanjí učestalost pojave i/ili ozbiljnost simptoma (40).

Oralni statini se takođe navode kao interesantna opcija za tretman MS s obzirom da poseduju imunomodulatorni i antiinflamatorni efekat, uz zadovoljavajući bezbednosni profil i dobru komplijansu. Imunomodulatorni, antiinflamatorni i neuroprotektivni efekti statina zapaženi *in vitro* i primenom EAE modela, bili su povod za nekoliko kliničkih studija. Ipak, dosadašnji rezultati ukazuju da je monoterapija statinima samo delimično efikasna u tretmanu RRMS. Njihova kombinovana primena sa IFN-β mora biti predmet većih kliničkih studija kako bi se utvrdilo da li pružaju aditivni ili sinergistički efekat (41). Postoje indicije da je MS povezana sa metaboličkim komorbiditetima kao što su gojaznost, dijabetes tipa 2 i dislipidemije. To otvara mogućnost primene lekova koji snižavaju nivo lipida (42).

Iz prethodno navedenog, jasno je da je MS oboljenje koje u različitim fazama zahteva različite terapijske pristupe. Budući pristupi terapiji mogli bi se zasnivati na činjenici da nazalna mukoza predstavlja dobar put ka moždanim strukturama, a kojima se zaobilazi krvno-moždana barijera. Jedna studija pokazala je da intranazalna primena

GA već prvog dana, kliničkog ispoljavanja simptoma, poboljšava parametre u EAE modelu više nego s.c. primena (43).

Zaključak

Skorašnje proširenje opcija za terapiju pacijenata sa MS nesumnjivo nudi veću efikasnost i nadu za razvoj individualizovanih medicinskih pristupa koji će omogućiti podešavanje tretmana prema stadijumu i ozbiljnosti bolesti. Imajući to u vidu, može se reći da je terapija pacijenata obolelih od MS primer buduće željene personalizovane medicine. Broj registrovanih lekova za tretman MS se brzo uvećava. Od 2010. godine, odobreno je više peroralnih lekova koji su, iako efikasni, povezani i sa određenim pitanjima bezbednosti primene. Očekivano uvođenje biosimilara dodatno će usloviti porast broja bioloških lekova na tržištu i smanjenje troškova lečenja.

Poređenjem definicija bioloških i ne-bioloških složenih lekova mogu se uočiti bitne sličnosti, ali i očigledne razlike. Radi se o složenim lekovima koje je teško okarakterisati, te je strogo kontrolisan proces proizvodnje od presudnog značaja za dobijanje reproducibilnih osobina leka i željenog terapijskog efekta. U svakom slučaju, biotehnoški proizvodi će nastaviti da imaju izražen uticaj na farmaceutsku praksu. Istraživanja će voditi do novih lekova koji zahtevaju individualno doziranje za svakog pacijenta i stručnost farmaceuta prilikom manipulacije ovim osetljivim proizvodima.

Literatura:

1. Freedman M, Comi G, De Stefano N, Barkhof F, Polmand C, Uitdehaag B et al. Moving toward earlier treatment of multiple sclerosis: Findings from a decade of clinical trials and implications for clinical practice. *Mult Scler Relat Disord.* 2014;3:147–55.
2. Nacionalni vodič dobre kliničke prakse za dijagnostikovanje i lečenje multiple skleroze. Beograd: Ministarstvo zdravlja Republike Srbije; 2013.
3. Carlson RJ, Doucette JR, Knox K, Nazarali AJ. Pharmacogenomics of interferon- β in multiple sclerosis: What has been accomplished and how can we ensure future progress? *Cytokine Growth Factor Rev.* 2015;26:249–61.
4. Mitolo M, Venneri A, Wilkinson ID, Sharrack B. Cognitive rehabilitation in multiple sclerosis: A systematic review. *J Neurol Sci.* 2015;354:1–9.
5. Broadley SA, Barnett MH, Boggild M, Brewie BJ, Butzkueven H, Heard R, et al. Therapeutic approaches to disease modifying therapy for multiple sclerosis in adults: An Australian and New Zealand perspective Part 3. Treatment practicalities and recommendations. *J Clin Neurosci.* 2014;21:1857–65.
6. Brzaković B. Regulatorni aspekti bioloških lekova. *Arh farm.* 2012;62(4):364-73.
7. Zakon o lekovima i medicinskim sredstvima. Službeni glasnik RS 30/2010.

8. Savić S. Biološki lekovi/biofarmaceutici: farmaceutsko-tehnološke specifičnosti (specijalistički rad). Beograd: Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet; 2013.
9. Crommelin D, Shah VP, Klebovich I, McNeil SE, Weinstein V, Flühmann B, et al. The similarity question for biologicals and non-biological complex drugs. *Eur J Pharm Sci.* 2015;76:10–17.
10. Uchegbu IF, Schätzlein AG. Delivery of biopharmaceuticals. In: Aulton ME, Taylor KMG. (eds) *Aulton's Pharmaceutics: The Design and Manufacture of Medicines*, 4th ed. Edinburgh: Churchill Livingstone; 2013. p. 797-810.
11. Allen LV, Ansel HC. *Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*, 10th ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins; 2014.
12. Whitford WG. Single-Use Systems as principal components in bioproduction. *BioProcess Technical* 2010:34-44.
13. Pfender N, Martin R. Daclizumab (anti-CD25) in multiple sclerosis. *Exp Neurol.* 2014;262:44–51.
14. Schmitz K, Barthelmes J, Stolz L, Beyer S, Odiehl O, Tegeder I. “Disease modifying nutraceuticals” for multiple sclerosis. *Pharmacol Ther.* 2015;148:85–113.
15. Carrithers M. Update on Disease-Modifying Treatments for Multiple Sclerosis. *Clin Ther.* 2014;36(12):1938-45.
16. English C, Aloji J. New FDA-Approved Disease-Modifying Therapies for Multiple Sclerosis. *Clin Ther.* 2015;37(4):691-715.
17. Gharibi T, Ahmadi M, Seyfizadeh N, Jadidi-Niaragh F, Yousefi M. Immunomodulatory characteristics of mesenchymal stem cells and their role in the treatment of Multiple Sclerosis. *Cell Immunol.* 2015;293:113–21.
18. Betaferon[®] SmPC [cited 2015 Oct 1]. Available from:
<http://www.alims.gov.rs/ciril/lekovi/pretrazivanje-humanih-lekova/?id=346344>.
19. Avonex[®] SmPC [cited 2015 Oct 1]. Available from:
<http://www.alims.gov.rs/ciril/lekovi/pretrazivanje-humanih-lekova/?id=349566>.
20. Savić S, Milić J. Biološki lekovi – farmaceutsko-tehnološke specifičnosti. *Arh farm.* 2012;62(4):374-91.
21. Rebif[®] SmPC [cited 2015 Oct 1]. Available from:
<http://www.alims.gov.rs/ciril/lekovi/pretrazivanje-humanih-lekova/?id=339676>.
22. Cuevas C, Deisenhammer F, You X, Scolnik M, Buffels R, Sperling B, et al. Low immunogenicity but reduced bioavailability of an interferon beta-1a biosimilar compared with its biological parent: results of MaTriX, a cross-sectional, multicenter phase 4 study. *Biosimilars* 2015;5:75–81.
23. Ben-Nun A, Kaushansky N, Kawakami N, Krishnamoorthy G, Berer K, Liblau R, et al. From classic to spontaneous and humanized models of multiple sclerosis: Impact on understanding pathogenesis and drug development. *J Autoimmunity* 2014;54:33-50.
24. Broadley SA, Barnett MH, Boggild M, Brewie BJ, Butzkueven H, Heard R, et al. Therapeutic approaches to disease modifying therapy for multiple sclerosis in adults: An Australian and New Zealand perspective Part 1. Historical and established therapies. *J Clin Neurosci.* 2014;21:1835–46.

25. Copaxone[®] SmPC [cited 2015 Oct 1]. Available from:
<http://www.alims.gov.rs/ciril/lekovi/pretrazivanje-humanih-lekova/?id=307079>.
26. Zakaria M. Smoke and mirrors: Limited value of relative risk reductions for assessing the benefits of disease-modifying therapies for multiple sclerosis. *Mult Scler Relat Disord*. 2015;4:187–91.
27. Michiels Y, Voirin M. Les nouvelles formes médicamenteuses orales dans la sclérose en plaques. *Actualités pharmaceutiques* 2015;547:41-5.
28. Gilenya[®] SPC [cited 2015 Oct 1]. Available from:
<https://www.pharma.us.novartis.com/products/pi/pdf/gilenya>.
29. Broadley SA, Barnett MH, Boggild M, Brewie BJ, Butzkueven H, Heard R, et al. Therapeutic approaches to disease modifying therapy for multiple sclerosis in adults: An Australian and New Zealand perspective Part 2. New and emerging therapies and their efficacy. *J Clin Neurosci*. 2014;21:1847–56.
30. Bar-Or A. Teriflunomide (Aubagio[®]) for the treatment of multiple sclerosis. *Exp Neurol*. 2014;262:57–65.
31. Aubagio[®] SPC [cited 2015 Oct 1]. Available from:
<https://www.medicines.org.uk/emc/medicine/28533>.
32. Tecfidera[®] SPC [cited 2015 Oct 1]. Available from:
<https://www.medicines.org.uk/emc/medicine/28593>.
33. Kulakowska A, Drozdowski W. Does interferon beta therapy affect survival of multiple sclerosis patients? *Neurologia Neurochirurgia Polska* 2014;48:436-41.
34. Tysabri[®] SPC [cited 2015 Oct 1]. Available from:
<https://www.medicines.org.uk/emc/medicine/18447>.
35. Nacionalni registar lekova 2015. Beograd: Agencija za lekove i medicinska sredstva Srbije; 2015.
36. Mabthera 100 mg and 500 mg concentrate for solution for infusion SPC. [cited 2015 Oct 1]. Available from: <https://www.medicines.org.uk/emc/medicine/2570>.
37. Lemtrada 12 mg concentrate for solution for infusion SPC. [cited 2015 Oct 1]. Available from: <https://www.medicines.org.uk/emc/medicine/28917>.
38. DerMarderosian AH, Li Z. Biotechnology and Drugs. In: Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 22nd ed. London: Pharmaceutical Press; 2012. p. 1017-32.
39. Deutscher Arzneimittel-Codex, Neues Rezeptur-Formularium. Stuttgart: Govi-Verlag Pharmazeutischer Verlag GmbH, Eschborn Deutscher Apotheker-Verlag; 2013.
40. Christianson MS, Mensah VA, Shen W. Multiple sclerosis at menopause: Potential neuroprotective effects of estrogen. *Maturitas* 2015;80:133–9.
41. Ciurleo R, Bramanti P, Marino S. Role of statins in the treatment of multiple sclerosis. *Pharmacol Res*. 2014;87:133–43.
42. Tettey P, Simpson Jr. S, Taylor BV, van der Mei IAF. Vascular comorbidities in the onset and progression of multiple sclerosis. *J Neurol Sci*. 2014;347:23–33.
43. Russi AE, Brown MA. The meninges: new therapeutic targets for multiple sclerosis. *Transl Res*. 2015;165:255–69.

Pharmaceutical dosage forms of biological and other drugs used in the treatment of multiple sclerosis

Snežana Savić^{1*}, Ivana Pantelić¹, Miroslav Savić²

¹ University of Belgrade – Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Technology and Cosmetology, Vojvode Stepe 450, 11221 Belgrade, Serbia

² University of Belgrade – Faculty of Pharmacy, Department of Pharmacology, Vojvode Stepe 450, 11221 Belgrade, Serbia

Summary

Multiple sclerosis (MS) treatment options include several biologic and numerous non-biologic drugs. Although three recombinant preparations of interferon-beta (IFN- β) represent the cornerstone of the disease-modifying therapy, the introduction of pegylated IFN- β -1a should ensure a less frequent drug administration. At the moment, natalizumab is the sole monoclonal antibody registered for relapsing-remitting MS in our country. Even though the biologics are primarily limited to parenteral routes of administration, symptomatic therapy, which aims to alleviate or eliminate the accompanying symptoms that deteriorate quality of life, encompasses diverse dosage forms for oral (tablets, film-coated tablets), sublingual (oral lyophilisate) or nasal (nasal spray) administration.

Due to considerable *in vitro* and *in vivo* instability, formulation of delivery systems for biologics is primarily focused on preserving their physicochemical stability. The selection of excipients is commonly related to pH value adjustment, solubility modification and anti-adsorption/anti-aggregation behaviour of proteins. As for the lyophilised forms, the focus is on cryo/lyoprotectants, collapse temperature modifiers and appropriate fillers. The selection of suitable sterilization procedure is of the utmost importance, and has resulted in the development of single use systems (SUS) technologies. Therefore, pharmacists should be familiar with optimal storage and handling conditions for these drugs, before, during and after reconstitution, as well as upon their administration.

Keywords: interferon-beta, glatiramer acetate, non-biologic complex drugs
