

- 12 Hung CC, Tai JJ, Lin CJ, et al. Complex haplotypic effects of the ABCB1 gene on epilepsy treatment response. *Pharmacogenomics*. 2005;6(4):411-7.
- 13 Handoko KB, Zwart-van Rijkom JE, Visee HF, et al. Drug treatment-related factors of inadequate seizure control. *Epilepsy Behav*. 2008;13(3):545-8.
- 14 Potschka H, Loscher W. In vivo evidence for P-glycoprotein-mediated transport of phenytoin at the blood-brain barrier of rats. *Epilepsia*. 2001;42:1231-40.
- 15 Sills GJ, Kwan P, Butler E, et al. P-glycoprotein-mediated efflux of antiepileptic drugs: preliminary studies in mdria knockout mice. *Epilepsy Behav*. 2002;3:427-32.
- 16 Potschka H, Fedrowitz M, Loscher W. P-glycoprotein-mediated efflux of phenobarbital, lamotrigine, and felbamate at the blood-brain barrier: evidence from microdialysis experiments in rats. *Neurosci Lett*. 2002;327:173-6.
- 17 Summers MA, Moore JL, McAuley JW. Use of verapamil as a potential P-glycoprotein inhibitor in a patient with refractory epilepsy. *Ann Pharmacother*. 2004;38:1631-4.
- 18 Macphee GJ, McInnes GT, Thompson GG, et al. Verapamil potentiates carbamazepine neurotoxicity: a clinically important inhibitory interaction. *Lancet*. 1986;1:700-3.
- 19 Potschka H, Baltes S, Loscher W. Inhibition of multidrug transporters by verapamil or probenecid does not alter blood-brain barrier penetration of levetiracetam in rats. *Epilepsy Res*. 2004;58:85-91.
- 20 Schiller Y, Najjar Y. Quantifying the response to antiepileptic drugs: effect of past treatment history. *Neurology*. 2008;70:54-65.
- 21 van Vliet EA, Redeke S, Aronica E, et al. Expression of multidrug transporters MRP1, MRP2, and BCRP shortly after status epilepticus, during the latent period, and in chronic epileptic rats. *Epilepsia*. 2005;46:1569-80.
- 22 Remy S, Beck H. Molecular and cellular mechanisms of pharmacoresistance in epilepsy. *Brain*. 2006;129:18-35.

NEDERLANDS FARMACEUTISCH ONDERZOEK IN DE INTERNATIONALE LITERATUUR

GMP-productie van een DNA-vaccin voor klinisch onderzoek

Jos Kosterink

Van een groot aantal aandoeningen verschuift de behandeling steeds meer naar de toepassing van kleine peptiden: monoklonale antilichamen, vaccins en mondjesmaat ook gentherapeutica. Voor een *proof of principle* zijn in eerste instantie kleine hoeveelheden van het geneesmiddel in *clinical grade* nodig. Er is behoefte aan flexibele productie-eenheden die deze producten kunnen maken conform *good manufacturing practice* (GMP) tegen acceptabele kosten. Het hier beschreven onderzoek is daar een uitstekend voorbeeld van. Voor de behandeling van melanoom bieden DNA-vaccins een veelbelovende therapeutische benadering. In dit onderzoek is een plasmide ontwikkeld dat codeert voor de melanoom-geassocieerde epitoot (MART-1) en voor een immunostimulerende sequentie (tetanustoxinefragment-c). Dit plasmide, pDERMATT genoemd, zal in een fase-I-onderzoek intradermaal toegepast worden om de toxiciteit en de inductie van de tumorspecifieke T-cel-immuniteit vast te stellen. Hiervoor zijn een GMP-conforme plasmideproductie en een geschikte doseervorm ontwikkeld. Het onderzoek c.q. het ontwikkelingsproces resulteerde in productiebatches van circa 200 mg plasmide-DNA met een hoge zuiverheid: >90% *supercoiled* DNA, A260:280-ratio 1,80:1,95 en niet-aantoonbare of extreem lage residuen van endotoxinen, *Escherichia coli*-gastheer-eiwit, RNA en DNA. In het gehele productieproces zijn geen enzymen van dierlijke oorsprong gebruikt (zoals RNase) of potentieel schadelijke organische oplosmiddelen. Na steriele filtratie was de plasmide-concentratie circa 1,1 mg/ml.

Voor de daadwerkelijke intradermale toepassing is een concentratie noodzakelijk van circa 5 mg/ml. Deze is gerealiseerd door vries-drogen in een oplossing van 20 mg/ml sacharose. Het lyofilisaat is steriel, met >90% *supercoiled* DNA, A260:280-ratio 1,80:1,95, gehalte 90-110% van de declaratie en <2% (w/w) residu water. Het plasmide voldoet tevens aan het gedefinieerde profiel na restrictie-enzymanalyse en is sterk immunogeen, wat bevestigd is in een in-vivo-muis-model. Tevens is het product stabiel gedurende zes maanden bij 5°C. Kortom, er is niet alleen een reproduceerbaar proces ontwikkeld voor de productie van een aan de farmaceutische eisen voldoende plasmide-DNA, maar ook een stabiele doseervorm die toegepast kan worden in klinisch geneesmiddelenonderzoek.

Quaak SG, van den Berg JH, Toebes M, Schumacher TN, Haanen JB, Beijnen JH, Nuijen B. GMP production of pDERMATT for vaccination against melanoma in a phase I clinical trial. *Eur J Pharm Biopharm*. 17 mei 2008; epub ahead of print.