

# Biotehnologija u farmaceutskoj industriji

## *Biotechnology in the Pharmaceutical Industry*

**Radovan Valinger**

PLIVA - Istraživanje i razvoj d.o.o.

10000 Zagreb, Prilaz baruna Filipovića 29

Prema definiciji UN-a, biotehnologija je bilo koja tehnološka primjena koja se koristi biološkim sistemima, živim organizmima ili njihovim dijelovima prilikom pripreme ili modifikacije proizvoda ili procesa za specifičnu primjenu.

Biotehnologiju možemo podijeliti na tradicionalnu ili klasičnu biotehnologiju i novu ili modernu biotehnologiju koja se koristi tehnologijom rekombinantne DNK (rDNK) i tehnologijom hibridoma.

Znanstveni i ekonomski uspjesi nove biotehnologije daju jedan od najboljih suvremenih primjera uspješne suradnje temeljnog i primijenjenog istraživanja. Farmaceutska je industrija najbolji primjer takve suradnje i dokaz izvanrednih mogućnosti nove biotehnologije.

### *Klasična biotehnologija*

Proizvodnja alkoholnih pića kao što su pivo i vino, zatim priprema sira i kruha, procesi u kojima sudjeluju mikroorganizmi poznati su već tisućama godina. U tom smislu biotehnologija je vrlo stara. Međutim, tek u drugoj polovici 19. stoljeća proces fermentacije počeo se razumijevati sa znanstvenog aspekta. Ključni korak je otkriće Louisa Pasteura 1863. godine da su živi mikrobi aktivni agensi fermentacije.

Veliki zamah u biotehnologiji nastao je nakon što je Alexander Fleming otkrio penicilin 1928. godine. Otkriće penicilina ubraja se u najveća dostignuća medicinske znanosti za dobrobit čovječanstva.

Za proizvodnju penicilina trebalo je savladati mnoge probleme kao što su povećanje prinosa penicilina, aseptični uzgoj s proizvodnim mikroorganizmom plijesni *Penicillium chrysogenum* u dovoljnim količinama i u prikladnim uvjetima te izolacija i pročišćavanje penicilina iz podloge za uzgoj (1). Iskustva dobivena proizvodnjom penicilina primijenjena su na mnogim drugim sistemima kao što su aseptični uzgoj životinjskih i biljnih stanica. Farmaceutska industrija je naučila uz pomoć bioloških sistema proizvesti osim antibiotika vitamine, virusne vakcine i steroidne hormone (1).

### *Nova biotehnologija*

Uvođenje tehnologije rDNK sredinom 70-ih godina i njezina industrijska primjena početkom 80-ih godina prošlog stoljeća otvara eru nove ili moderne biotehnologije. Daljnji ključni čimbenici razvoja nove biotehnologije jesu otkriće tehnologije hibridoma i unapređenje procesne tehnologije (2).

Kao multidisciplinarno područje nova biotehnologija zasniva se na brojnim znanstvenim disciplinama kao što su molekularna biologija, mikrobiologija, biokemija, biokemijsko inženjerstvo, stanična biologija, kemija i informatika. Najveći pojedinačni doprinos razvoju nove biotehnologije dala je tehnologija rDNK ili genetičko inženjerstvo (2). Otkriće i karakterizacija restrikcijskih endonukleaza, enzima koji cijepaju DNK na specifičnim mjestima omogućili su sredinom 70-ih godina prošlog stoljeća razvoj DNK kloniranja i rDNK tehnologije. DNK molekule iz različitih izvora mogu se cijepati i ponovno spajati tako da daju nove kombinacije genskog materijala pa odatle i naziv genetičko inženjerstvo.

Izolacija gena i ubacivanje u druge tipove stanica omogućuju dobivanje mnogih proizvoda kao što su humani inzulin ili eritropoetin.

Tehnologija hibridoma koja je također razvijena 1970-ih godina koristi se činjenicom da je moguće spojiti različite tipove životinjskih stanica. Hibridom se stvori spajanjem određene stanične linije tumora koja se može neograničeno uzgajati *in vitro* sa stanicama imunskog sistema koje se ne mogu uzgajati *in vitro*. Iz procesa fuzije mogu se selekcionirati stanice koje kombiniraju mogućnost stvaranja specifičnih protutijela s dugotrajnim uzgojem kulture. Na taj se način mogu proizvesti neograničene količine bilo kojeg protutijela. Izdvojeni tip stanica hibridoma sintetizira samo jedan tip antitijela i odatle izraz monoklonska protutijela.

Znatna su poboljšanja napravljena i u automatici te kontroli procesa omogućenih razvojem informacijske tehnologije. Veće je značenje dano razvoju matematičkih modela procesa biosinteze s parametrima koji su važni u kontroli metaboličkih putova. Tako je kontinuirano praćenje procesa uz kompjutorski vođene bioreaktore postalo realnost.

Procesi izolacije i pročišćavanja prilagođavaju se pojedinačnom proteinu i zahtijevaju specifične individualne procedure. U procese izolacije stalno se uvode novi i sve bolji materijali.

## Terapeutski proteini (bioterapeutici)

Pojavom tehnologije rDNK područje terapeutskih proteina postalo je najzujbudljivije i najbrže rastuće područje farmaceutske industrije. Zbog sve većeg značenja biotehnoške proizvodnje za farmaceutsku industriju to područje biotehnologije sve se češće naziva medicinska biotehnologija.

Terapeutski proteini upotrebljavali su se i prije pojave tehnologije rDNK. To su bili proteini životinjskog podrijetla kao što su goveđi i svinjski inzulin ili humani proteini kao što su humani hormon rasta i faktor VIII, koji su izolirani iz humanog tkiva ili seruma.

Prednosti proizvodnje rekombinantnih proteina su:

- proizvodnja proteina koji se ne mogu proizvoditi klasičnim metodama – na primjer eritropoetin;
- proizvodnja dovoljnih količina terapeutskih proteina koji su bili dostupni u limitiranim količinama – na primjer inzulin i hormon rasta;
- proizvodnja sigurnih lijekova bez prisutnosti patogenih virusa.

Danas rabimo gotovo isključivo terapeutske proteine proizvedene tehnologijom rDNK i tehnologijom hibridoma (tablica 1).

Tablica 1. *Terapeutski proteini razvrstani prema funkcionalnim karakteristikama*

Protein	Indikacija
Eritropoetini	Anemija
Faktori stimulacije kolonija	Neutropenija
Inzulini	Dijabetes
Interferoni	Virusne infekcije, multipla skleroza, maligni tumori
Hormoni rasta	Poremećaji rasta
Interleukini	Maligni tumori, imunologija
Faktori zgrušavanja krvi	Hemofilija
Aktivatori plazminogena	Poremećaji u zgrušavanju krvi
Faktori rasta	Cijeljenje rana, imunologija
Monoklonska protutijela*	Maligni tumori, različito
Ostali terapeutski proteini	

\* *Monoklonska protutijela zbog svoje specifičnosti zaslužuju poseban osvrt i nisu ovdje dalje razmatrana. Iz tablice su izostavljene terapeutske vakcine te imunoglobulini i albumini jer spadaju u tržište različito od terapeutskih proteina.*

Navedeni terapeutski proteini su već postojeći prirodni proteini, koji su proizvedeni u velikim količinama primjenom tehnika nove biotehnologije. Kao domaćini za proizvodnju terapeutskih proteina (osim monoklonskih protutijela i vakcina) zasad su od regulatornih agencija odobreni bakterija *Escherichia coli*, kvasac *Saccharomyces cerevisiae* i od animalnih stanica stanice jajnika kineskog hrčka (CHO) i stanice bubrega hrčka (BHK). Nova biotehnologija u farmaceutskoj industriji obuhvaća i medicinsku dijagnostiku i gensku terapiju, područja koja nisu ovdje obrađena.

Kod proizvodnje terapeutskih proteina najvažnije su njihova sigurnost, efikasnost i kvaliteta. Zbog toga se u proizvodnji primjenjuju opsežni procesi izolacije koji osiguravaju visoki stupanj čistoće proteina iz smjese svih ostalih proteina.

Prvi rekombinantni protein koji se pojavio na tržištu kao terapeutik bio je humani inzulin proizveden u bakteriji *Escherichia coli* i odobren 1982. od FDA (Food and Drug Administration – Američko regulatorno tijelo). Slijede humani hormon rasta, interferon alfa i drugi proteini.

Prva generacija terapeutskih proteina su proteini identični onima koji su prisutni u ljudskom tijelu. Danas se na tržištu pojavljuje druga generacija terapeutskih proteina koji su dobiveni proteinskim inženjerstvom. Njihova se struktura razlikuje u odnosu na protein prisutan u organizmu. Tako je na primjer hiperglikozilirani darbepoetin dobiven uvođenjem dodatnih dvaju mjesta za glikozilaciju u gen za eritropoetin. Na interferon alfa i filgrastim vezan je polimer polietilenglikol pa su dobiveni pegilirani proteini. Ti proteini za razliku od proteina prve generacije imaju produženo vrijeme poluživota u organizmu i zbog toga se trebaju mnogo rjeđe primjenjivati.

## Zaključak

Velika većina terapeutskih supstancija koje je proizvodila farmaceutska industrija bile su kemijske supstancije, a jedini terapeutski proteini donedavno bili su proteini izolirani iz krvi ili životinjskih tkiva. Tehnologije rekombinantne DNK i hibridoma omogućile su neograničenu proizvodnju terapeutskih važnih proteina koji su se proizvodili u ograničenim količinama ili uopće nisu bili dostupni. Uz više od 100 terapeutskih proteina koji su danas na tržištu, u raznim fazama kliničkih ispitivanja nalazi se više od 300 novih terapeutskih proteina (3, 4) pa možemo reći da je nova biotehnologija dala novi život farmaceutskoj industriji.

## Literatura

1. VALINGER R. Oplemenjivanje vrste *Penicillium chrysogenum* proizvođača penicilina. *Kem Ind* 1984; 33:549-56.
2. VALINGER R. Nova biotehnologija. *Prehrambeno-Tehnol-Biotechnol Rev* 1993; 31:103-05.
3. Datamonitor. Therapeutic proteins – Strategic market analysis and forecast to 2010, Datamonitor Europe, London NW3 5JJ, UK. 2002.
4. PhRMA. Biotechnology medicines in development Survey. Washington USA. 2004.