

# Cykl życia leku; lek od projektu do wdrożenia

czyli elementy farmacji przemysłowej

**prof. dr hab. Jadwiga Turło**

**Katedra Technologii Leków i Biotechnologii Farmaceutycznej**

# Farmacja przemysłowa – czym jest?

Co wchodzi w zakres zainteresowania farmacji przemysłowej?

## 1. Metodologia poszukiwań nowych leków

Farmaceutyczna Substancja Czynna – API

Lek syntetyczny

Lek biotechnologiczny

## 2. Badania leków w fazie przedklinicznej i klinicznej, farmakokinetyka i badania kliniczne

Farmaceutyczny system jakości: rozwój produktu

## 3. Wytwarzanie i ocena jakości produktów leczniczych, kontrola jakości produktów leczniczych

Farmaceutyczny system jakości: wytwarzanie produktu

Elementy inżynierii farmaceutycznej

## 4. Ochrona własności intelektualnej i dopuszczanie leku do obrotu

## 5. Funkcjonowanie firmy w warunkach rynkowych – organizacja i zarządzanie w przedsiębiorstwach, rynek farmaceutyczny, firma farmaceutyczna

# Metody syntetyczne i biotechnologiczne w otrzymywaniu substancji leczniczych

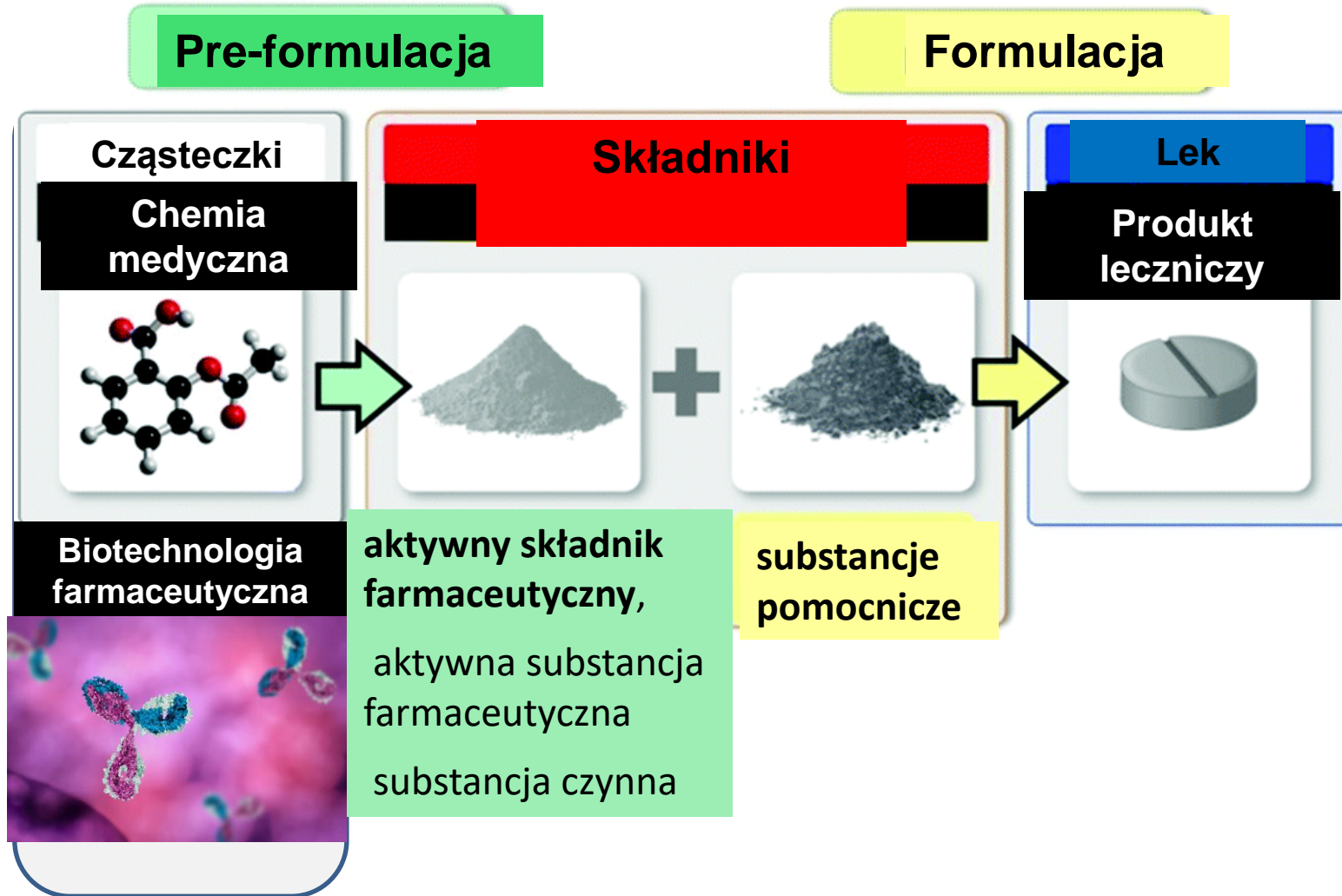
**API** (active pharmaceutical ingredient) – **aktywne składniki farmaceutyczne**,  
aktywne substancje farmaceutyczne = substancje czynne



Postać leku: (tabletki, kapsułki, maść, krople itd. itd.)

**Produkt leczniczy** to substancja lub mieszanina substancji, która posiada właściwości zapobiegania lub leczenia chorób występujących u ludzi lub zwierząt lub podawana w celu postawienia diagnozy lub w celu przywrócenia, poprawienia lub modyfikacji fizjologicznych funkcji organizmu poprzez działanie farmakologiczne, immunologiczne lub metaboliczne (Prawo Farmaceutyczne) = **lek**

# Co to jest lek??



# Metody pozyskiwania substancji leczniczych (API)

Lek naturalny

**Izolacja** z surowców naturalnych – jak np. rośliny, tkanki zwierzęce

**Biosynteza** z wykorzystaniem mikroorganizmów, hodowli komórkowych, hybryd

Lek biotechnologiczny

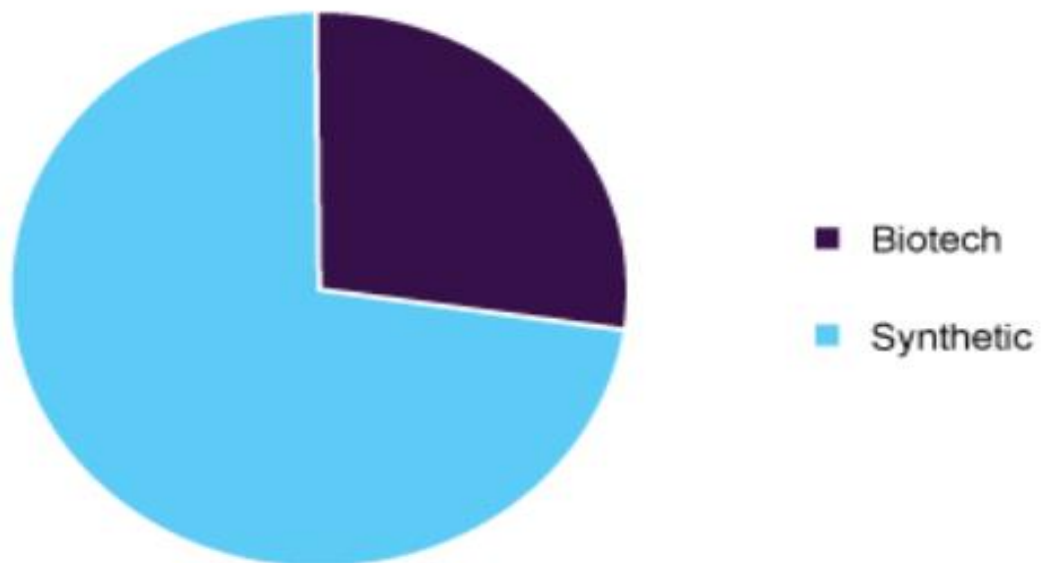
**Biotransformacja** - enzymatyczna transformacja ksenobiotyku do farmakologicznie czynnego produktu

Lek syntetyczny

**Modyfikacja chemiczna** substancji uzyskanej na drodze biosyntezy

**Synteza totalna**

## Global active pharmaceutical ingredients market share, by type of synthesis, 2020 (%)



Source: [www.grandviewresearch.com](http://www.grandviewresearch.com)

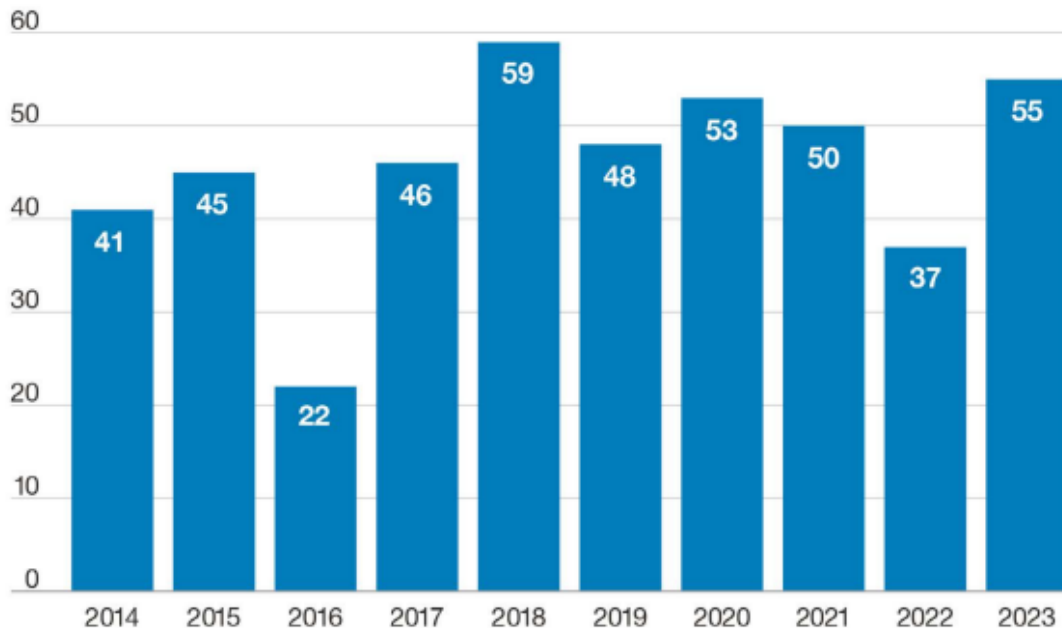
# FDA – nowe produkty lecznicze 2023

- First-in-Class Drugs CDER identified **20** of the 55 novel drugs approved (36%) in 2023 as first-in-class. These drugs have mechanisms of action different from those of existing therapies.
- Drugs for Rare Diseases In 2023, **28** of CDER's 55 novel drug approvals (51%) received orphan drug designation because they target rare diseases (diseases that affect fewer than 200,000 people in the U.S.). Patients with rare diseases often have few or no drugs available to treat their conditions

## CDER's Annual Novel Drug Approvals: 2014–2023

The 10-year graph below shows that from 2014 through 2023, CDER has averaged about 46 novel drug approvals per year.

CDER's Novel Drug Approvals By Year



# EMA nowe produkty lecznicze 2023

## AUTHORISATION OF NEW MEDICINES

Key figures<sup>1</sup> on the European Medicines Agency's (EMA) recommendations for the authorisation of new medicines in 2023:



**77**

POSITIVE  
OPINIONS



**3**

NEGATIVE  
OPINIONS



**19**

WITHDRAWN  
APPLICATIONS<sup>4</sup>

### Among these:

**39** New active substances

**3** PRIME

**17** Orphan medicines<sup>2,3</sup>

**1** Advanced therapy medicinal product (ATMP)

**8** Biosimilars

**14** Generics

**3** Accelerated assessments

**8** Conditional marketing authorisations

**1** Approval under exceptional circumstances



# Synteza – stosowane metodyki



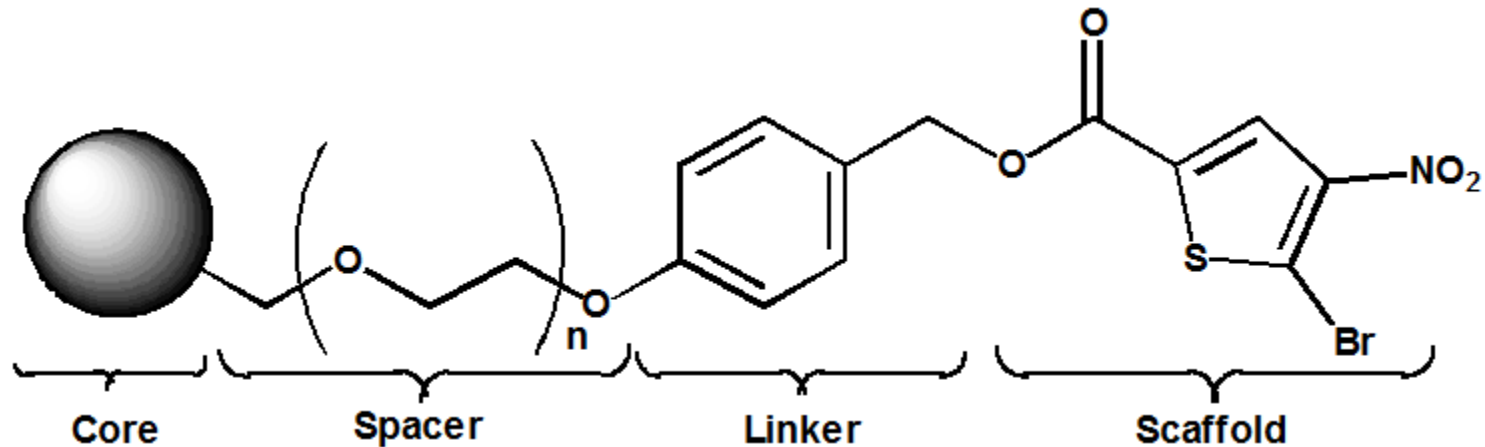
## □ Synteza w roztworach

## □ Synteza na nośnikach (kulki żywicy)

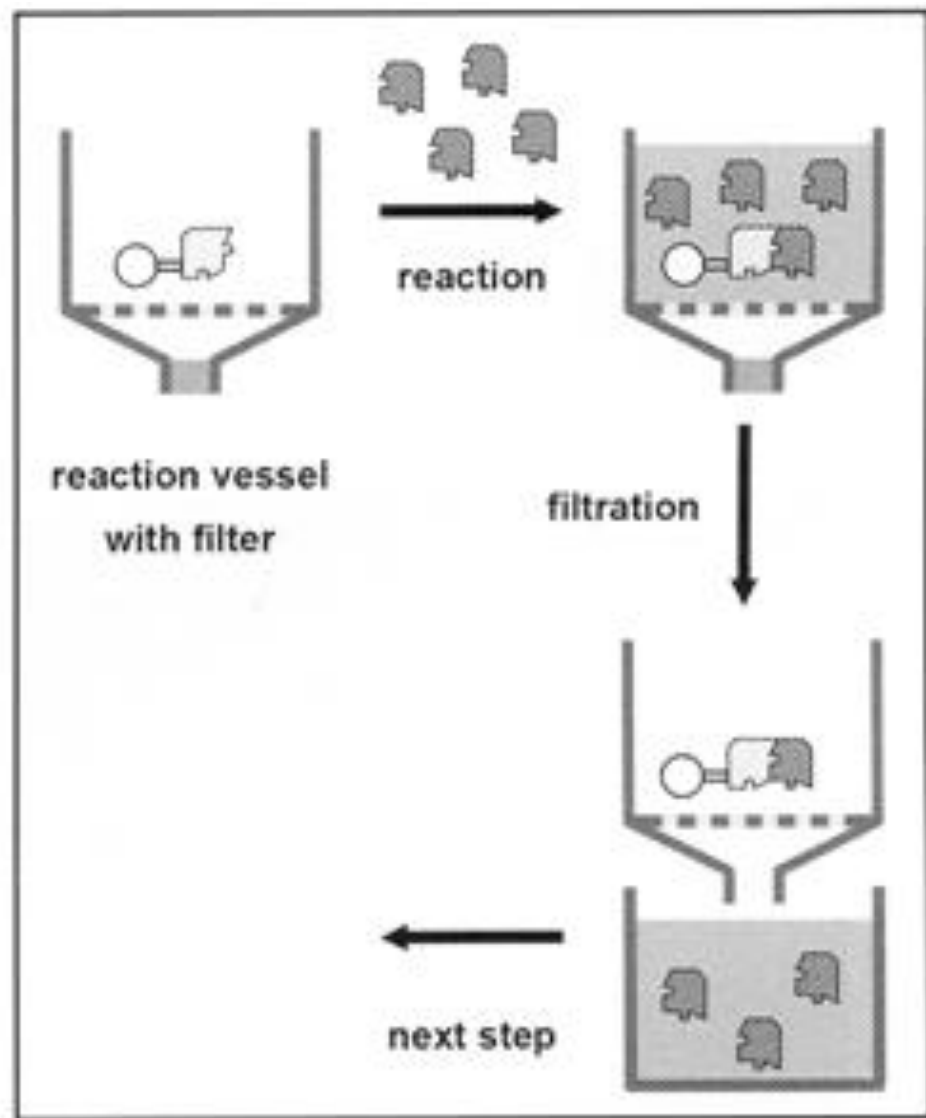
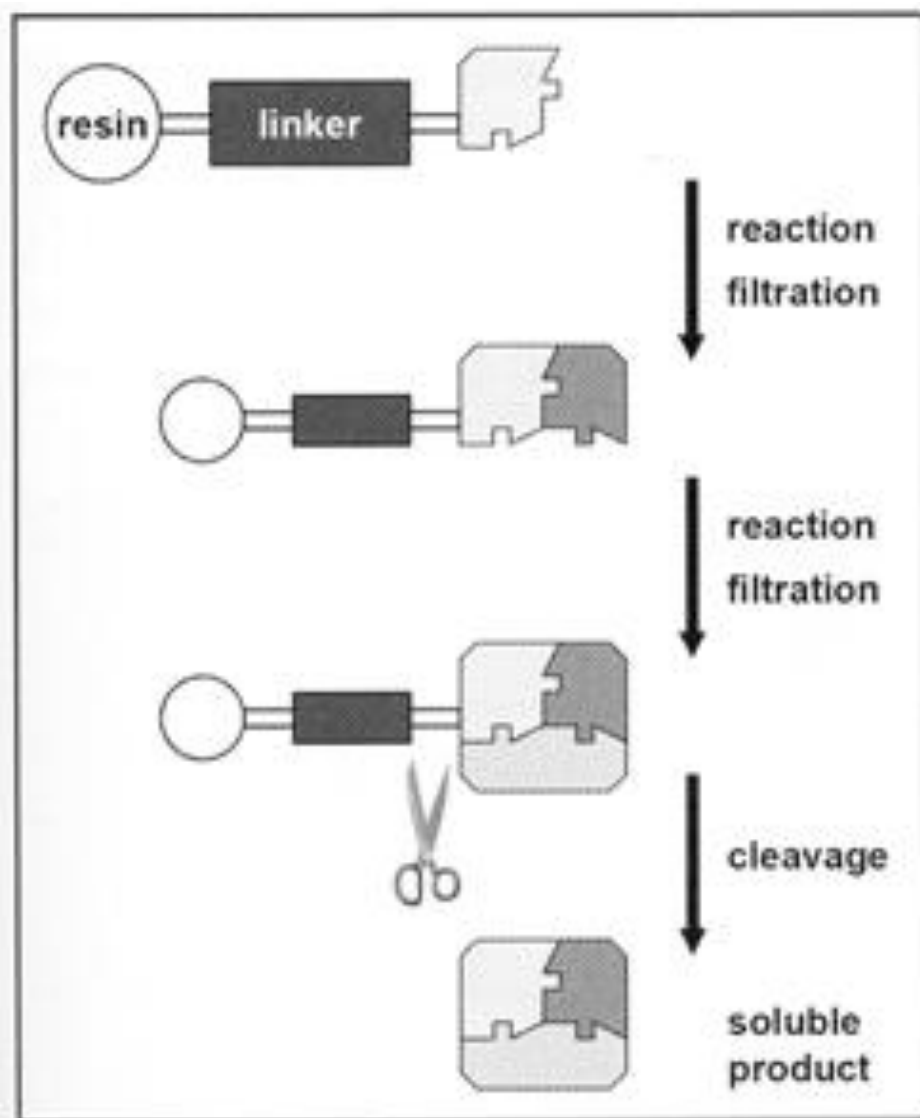
Wprowadził *Bruce Merrifield laureat Nagrody Nobla z dziedziny chemii w 1984 for*

### Idea syntezy na nośniku stałym:

- Substrat jest przyłączany do chemicznie obojętnych, mikroskopijnych kulek nośnika stałego – żywicy.
- Po każdym etapie syntezy nie przereagowane reagenty są odmywane, produkty pozostają zakotwiczone do nośnika.
- Po zakończeniu syntezy produkt jest uwalniany od nośnika.

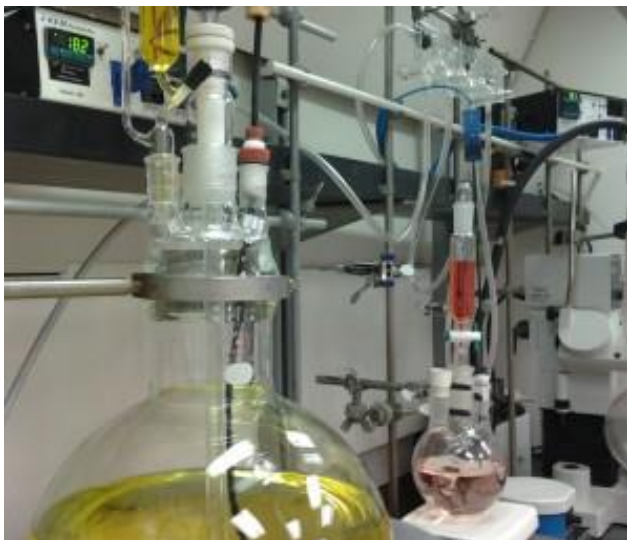


- ❑ Core – rdzeń –kulka polistyrenowa
- ❑ Spacer – odstępnik – nie zawsze obecny; np. glikol polietylenowy
- ❑ Linker – łącznik – nie zawsze obecny; ułatwia uwolnienie zsyntetyzowanej substancji
- ❑ Scaffold – szkielet–syntetyzowana substancja, uwalniana po syntezie



# Synteza leku

Skala laboratoryjna/  
podwyższona laboratoryjna



Skala produkcyjna



Skala pilotowa





# Metody biotechnologiczne

## Definicja biotechnologii:

Interdyscyplinarna dziedzina nauki i techniki zajmująca się zmianą materii żywej i nieożywionej poprzez wykorzystanie organizmów żywych, ich części, bądź pochodzących od nich produktów, a także modeli procesów biologicznych **w celu tworzenia wiedzy, dóbr i usług (MNiSW)**.

A więc biotechnologia  $\neq$  inżynieria genetyczna czy technologia genowa

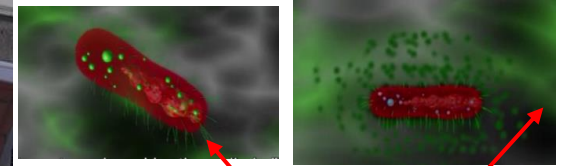
Podłoże hodowlane (pożywka)

Kultura komórkowa/ biokatalizator

Bioreaktor (fermentor) z zapewnionym mieszaniem, napowietrzaniem, ogrzewaniem, stabilizacją pH



IZOLACJA PRODUKTU (!!)



Produkt pozostaje wewnątrz komórki lub wydzielany jest poza komórkę



Skala  
laboratoryjna



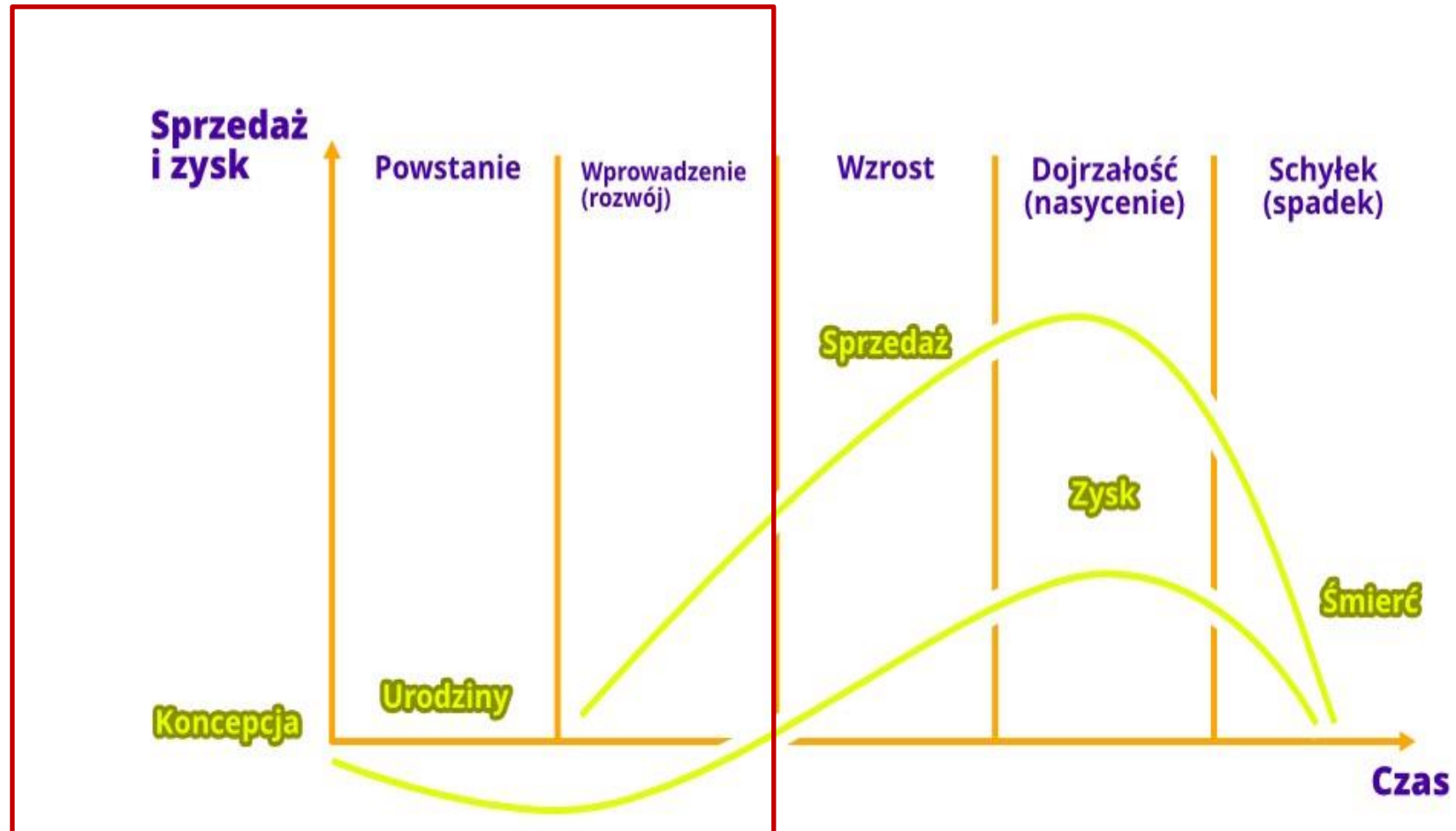
Skala  
ćwierćtechniczna



Skala produkcyjna

<http://biotechnologia.pl/produkty/aparatura/bioreaktory-laboratoryjne-i-w-skali-pilotazowej-kontrola-biotechnologicznych-i-innych-procesow-przemyslowych>  
<http://www.frings.com/PROREACT-B-Large-Scale.181+M5973b220f5b.0.html>

# Cykl życia produktu



# LEK SYNTETYCZNY

## – OD POMYSŁU DO WDROŻENIA

- Wybór jednostki chorobowej
- Określenie miejsca działania leku (cel molekularny)
- Określenie testu biologicznego (testy receptorowe itp.)

- Znalezienie struktury wiodącej
- Określenie zależności między budową a działaniem biologicznym (SAR)
- Identyfikacja grupy farmakoforowej
- Poprawienie oddziaływania między strukturą a miejscem działania
- Poprawienie własności farmakokinetycznych

### Patentowanie

Badanie metabolizmu

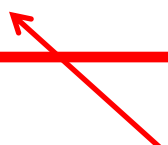
Badanie toksyczności (ADME Tox)

Opracowanie procesu technologicznego (w tym opracowanie postaci leku)

Badania kliniczne (faza I, faza II, faza III, faza IV)

Wprowadzenie do obrotu (procedury rejestracyjne)

Zadania dla syntetyka, zakres zainteresowań chemii medycznej

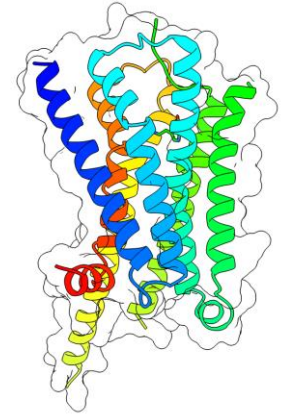




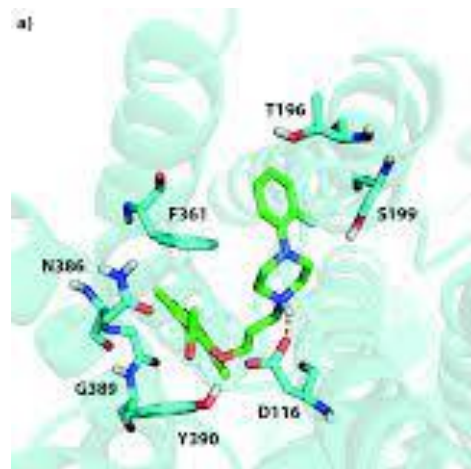
# JAK TO WYGLĄDA W PRAKTYCE (PRZYKŁAD)?

❑ **Decyzja – cel badawczy:** chcemy znaleźć **innowacyjny lek przeciwdepresyjny**, lepszy niż obecnie stosowane

❑ **Miejsce działania:** zakładamy na podstawie danych literaturowych, że powinien wiązać się z receptorami **5HT<sub>1A</sub>**

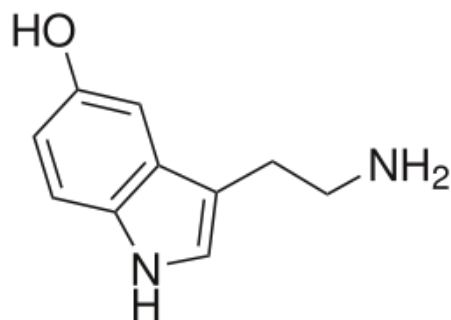


❑ **Test biologiczny:** zakładamy screeningowe badania **wiązalności z receptorem 5HT<sub>1A</sub>**



# JAK TO WYGLĄDA W PRAKTYCE (PRZYKŁAD)?

- ❑ Zakładamy, że będzie to struktura podobna do naturalnego liganda receptora serotoninowego (to będzie **struktura wiodąca**)



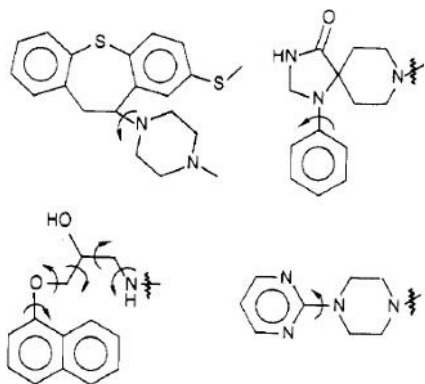
- ❑ Określenie zależności między budową a działaniem biologicznym (**SAR**):

**Synteżujemy lub projektujemy *in silico* setki struktur** i testujemy ich wiązalność z receptorem a następnie poszukujemy elementów cząsteczki **poprawiających** (lub pogarszających) oddziaływania z receptorem

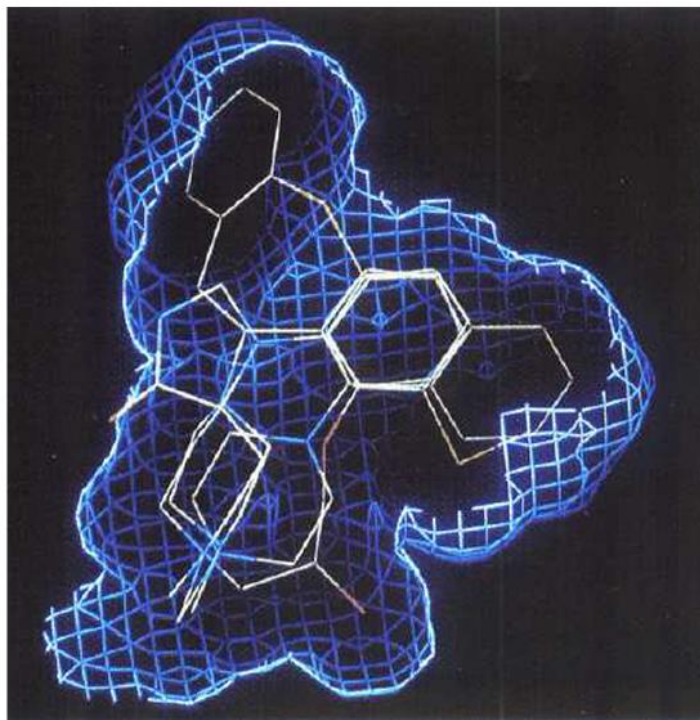
## □ Identyfikacja **grupy farmakoforowej**:

**Farmakofor** – zbiór cech sterycznych i elektronowych, które są niezbędne dla optymalnego oddziaływania z celem molekularnym. Farmakofor nie jest rzeczywistą cząsteczką a czysto abstrakcyjnym tworem.

Nakładanie związków z uwzględnieniem swobody konformacyjnej

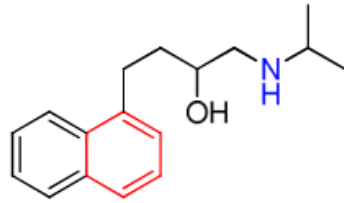
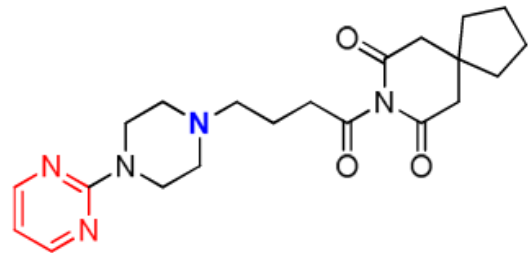
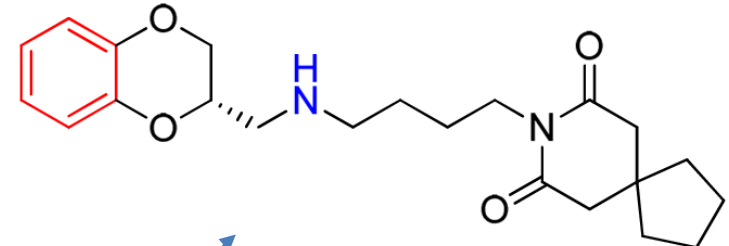
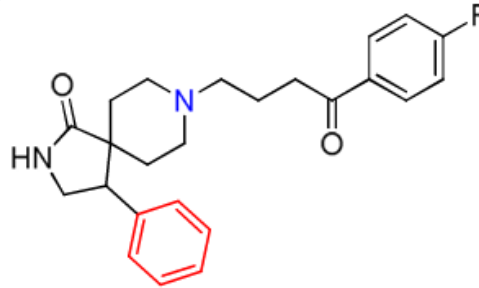
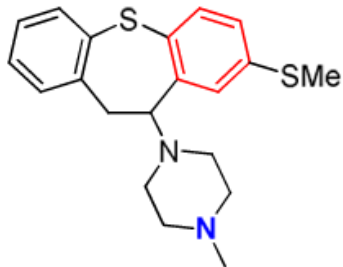
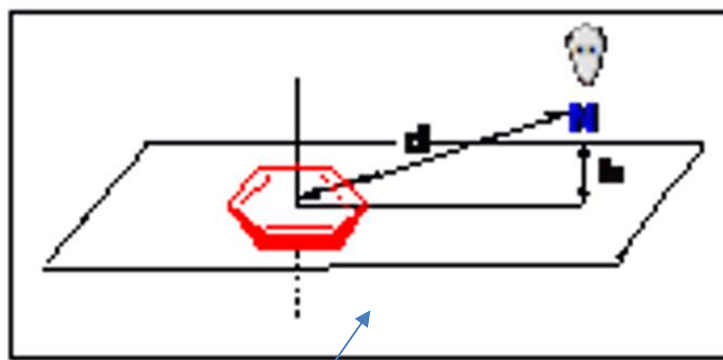


[Podstawy projektowania leków](#)  
wykład 11 - Bioorganiczny  
<http://bioorganic.ch.pwr.wroc.pl>



- Poprawienie oddziaływania między strukturą a miejscem działania
- Poprawienie własności farmakokinetycznych

## Farmakofor

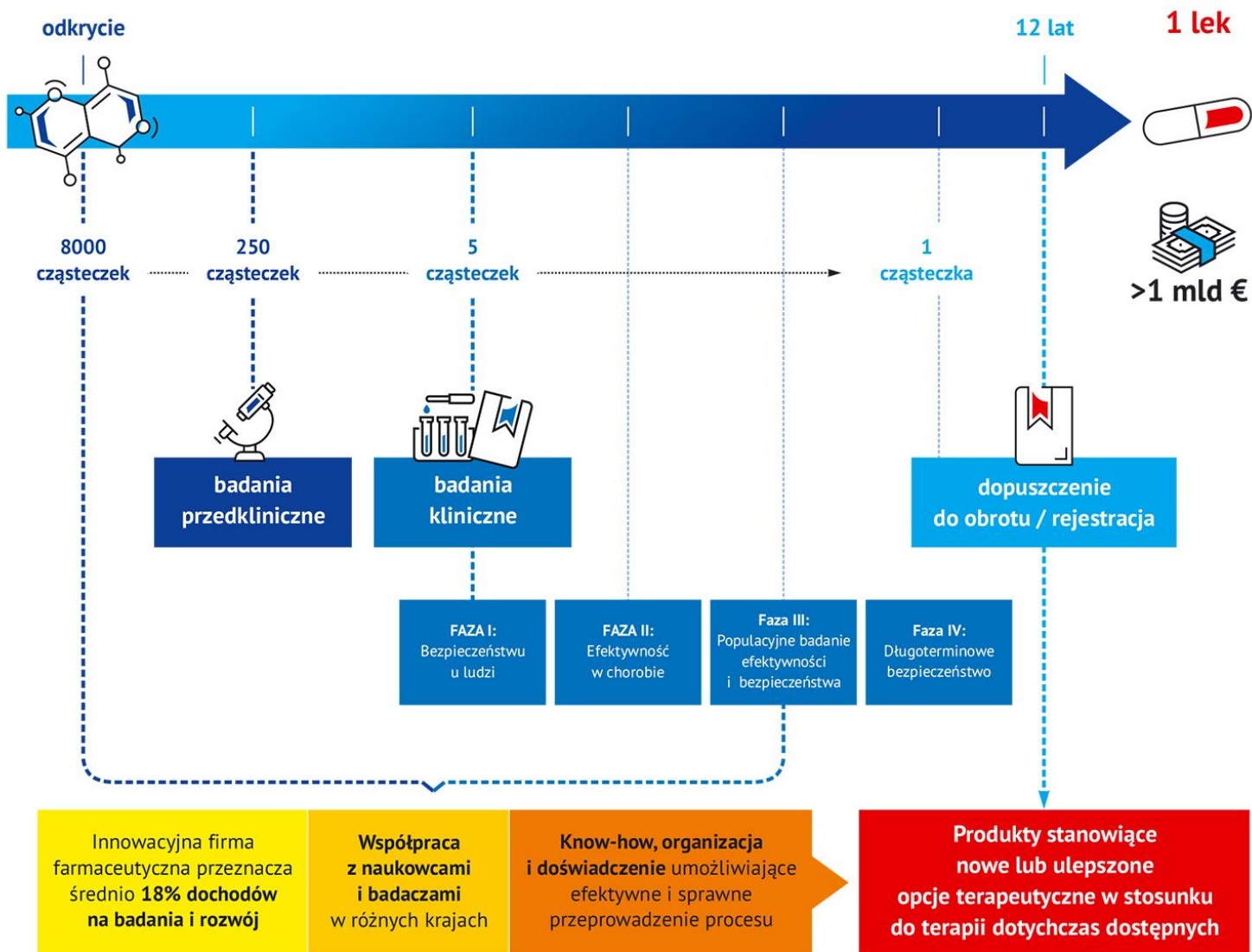


[Podstawy projektowania leków wykład 11 - Bioorganic](#)  
<http://bioorganic.ch.pwr.wroc.pl>

Zaprojektowanie nowych związków. Otrzymany związek jest ponad 25 razy bardziej aktywny

Co dalej? Badania przedkliniczne in vitro i in vivo (ADME Tox), opracowanie postaci leku, opracowanie technologii otrzymywania, badania kliniczne ..... Może sukces?

# PROCES OPRACOWYWANIA NOWEGO INNOWACYJNEGO LEKU



Lek biotechnologiczny  
– poszukiwania nowych leków

# Kluczowe pojęcie: biokatalizator

- **biokatalizatory** substancje, które katalizują reakcje chemiczne zachodzące w organizmach żywych (witaminy, enzymy i hormony), wpływające na ich przyspieszenie bądź zwolnienie, a także decydujące o rodzaju przemian, jakim może ulec substancja wyjściowa
- W procesach biotechnologicznych funkcje biokatalizatorów pełnią najczęściej **komórki zdolne do ich wytwarzania** lub **izolowane enzymy**

# Typowe biokatalizatory będące komórkami

- Mikroorganizmy (bakterie, grzyby), w tym modyfikowane genetycznie (transformowane)

*Stosunkowo łatwa hodowla w dużej skali bioreaktorów*

- Grzyby strzępkowe i grzyby wyższe

*Stosunkowo łatwa hodowla w dużej skali bioreaktorów, wolniejszy wzrost*

- Komórki roślinne

*Większe kłopoty z hodowlą*

- Komórki zwierzęce

*Bardzo wymagające co do warunków i podłoży, niemożliwa hodowla w typowych przemysłowych bioreaktorach.*

*Wyjątek – komórki nowotworowe*

- Hybrydy

*Możliwa hodowla w warunkach podobnych jak mikroorganizmy*



# Wykorzystanie kultur komórkowych – biokatalizatorem jest mieszanina enzymów

Podłoże  
hodowlane  
(pożywka)

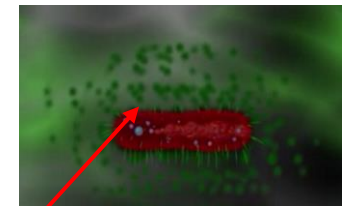
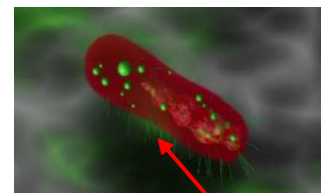


Kultura  
komórkowa

Bioreaktor (fermentor)  
z zapewnionym mieszaniem,  
napowietrzaniem,  
ogrzewaniem, stabilizacją pH



IZOLACJA  
PRODUKTU (!!)



Produkt pozostaje wewnątrz komórki lub  
wydzielany jest poza komórkę

# 1. POZYSKIWANIE SZCZEPÓW

ZE ŚRODOWISKA

Z KOLEKCJI

CZYSTA KULTURA

TAKSONOMIA

## 2. SKRINING WSTĘPNY (I)

HODOWLA

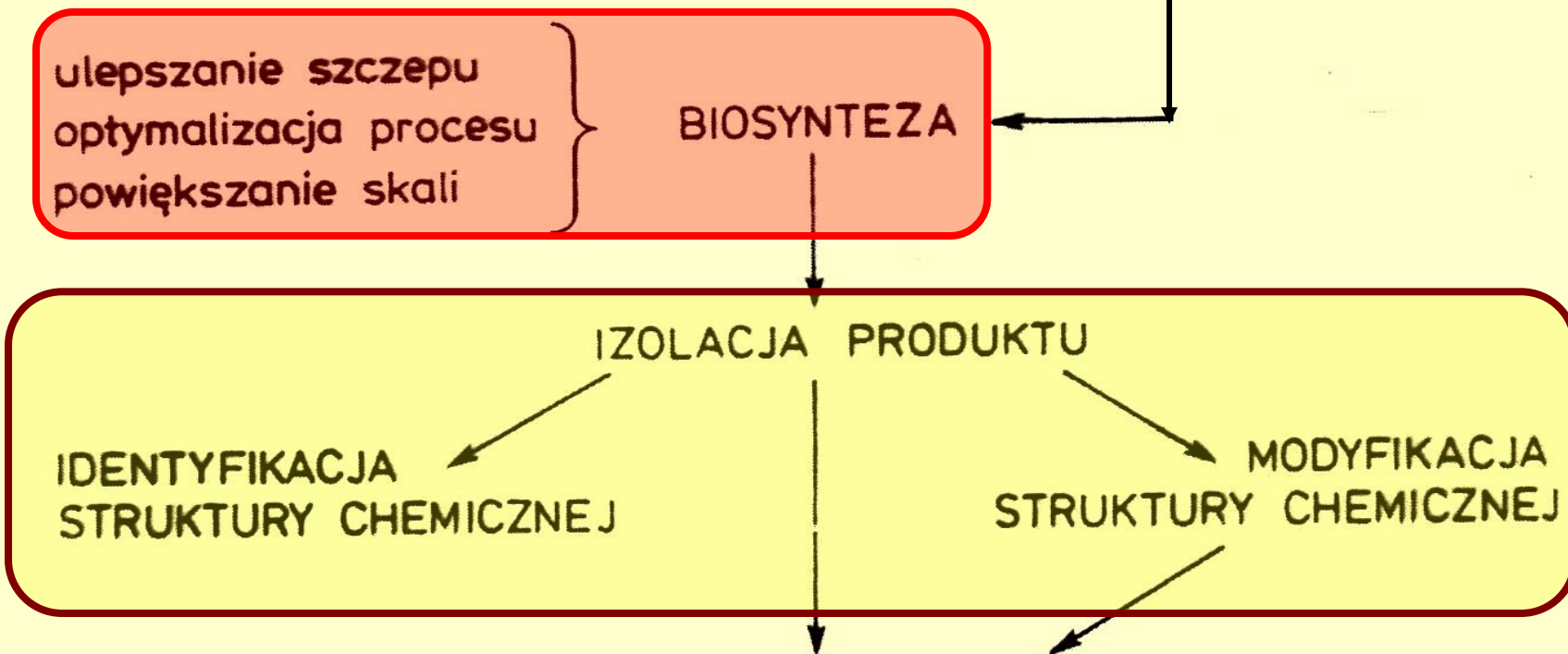
EKSTRAKCYJA, TLC,  
WSTĘPNA  
IDENTYFIKACJA

TESTY *IN VITRO*

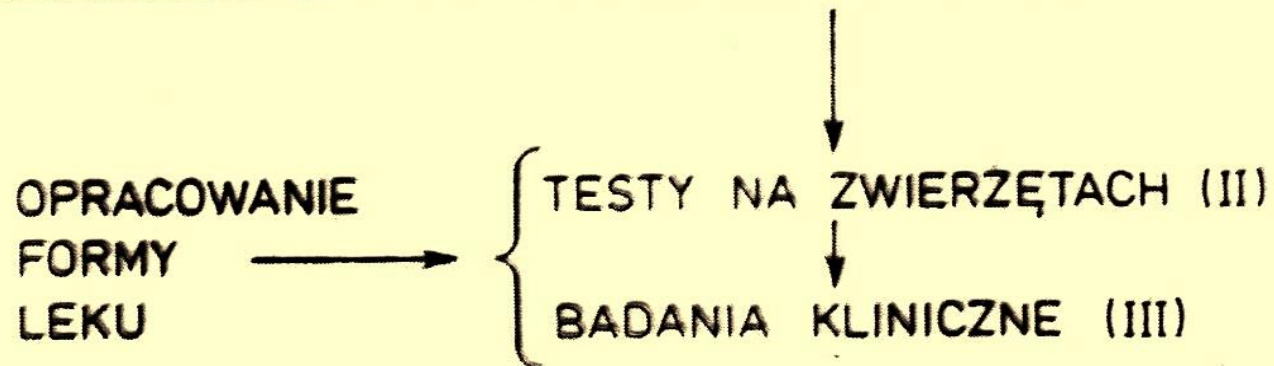
NIE

TAK

### 3. OTRZYMYWANIE CZYSTEGO PRODUKTU



### 4. BADANIE AKTYWNOŚCI BIOLOGICZNEJ PRODUKTU



# Można biokatalizator zaprojektować i otrzymać metodami tzw. inżynierii genetycznej

## DNA klonowany:

- izolacja z genomu dawcy,
- resynteza na matrycy mRNA,
- synteza chemiczna

## WEKTOR:

- plazmidowy
- fagowy
- kosmid

DNA  
ZREKOMBINOWANY

transformacja  
transfekcja  
transdukcja

KOMÓRKA  
BIORCY

klonowanie

ekspresja nowej informacji  
genetycznej

BIAŁKO

# Cykl życia produktu biotechnologicznego:

- Wybór jednostki chorobowej
- Określenie miejsca/mechanizmu działania leku
- Określenie testu biologicznego

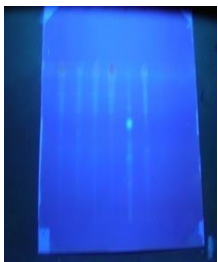
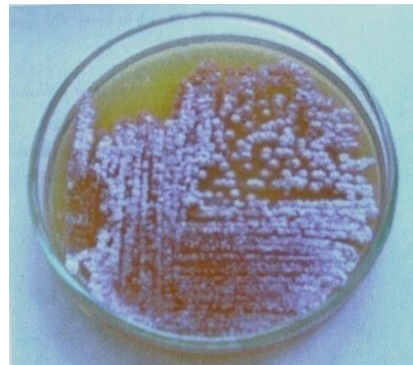
- Znalezienie/opracowanie właściwego biokatalizatora
- Optymalizacja biokatalizatora (metody inżynierii genetycznej, fuzja protoplastów, mutageneza itp.)
- Optymalizacja procesu biotechnologicznego (podłoże hodowlane, warunki fizykochemiczne itp.)
- Opracowanie warunków modyfikacji struktury

- Patentowanie

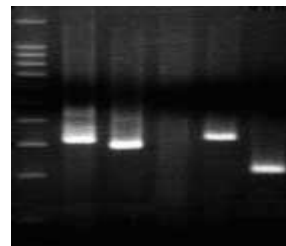
- Badania przedkliniczne:
- Badanie toksyczności (ADME Tox)
- Opracowanie procesu technologicznego (podnoszenie skali procesu, opracowanie postaci leku)

- Badania kliniczne (faza I, faza II, faza III, faza IV)
- Wprowadzenie do obrotu (procedury rejestracyjne)





Pełna analiza struktury  
i screening aktywności





## ❑ **Znalezienie/opracowanie właściwego biokatalizatora**

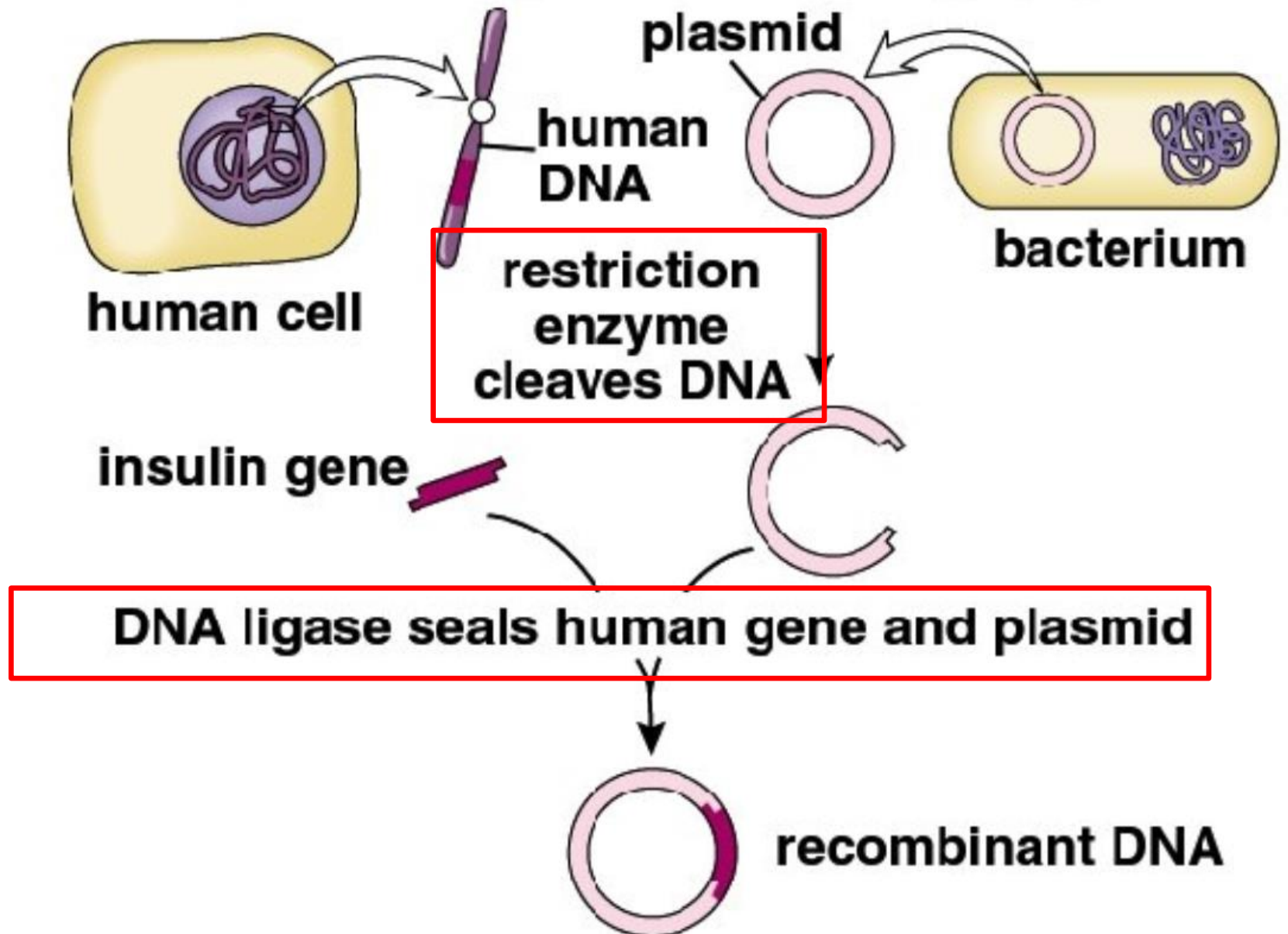
**Techniki inżynierii** genetycznej – przeniesienie całego procesu biosyntezyz komórki zwierzęcej do lepiej przystosowanego heterologicznego organizmu produkcyjnego.

## ❑ **Optymalizacja procesu biotechnologicznego (podłoże hodowlane, warunki fizykochemiczne itp.)**

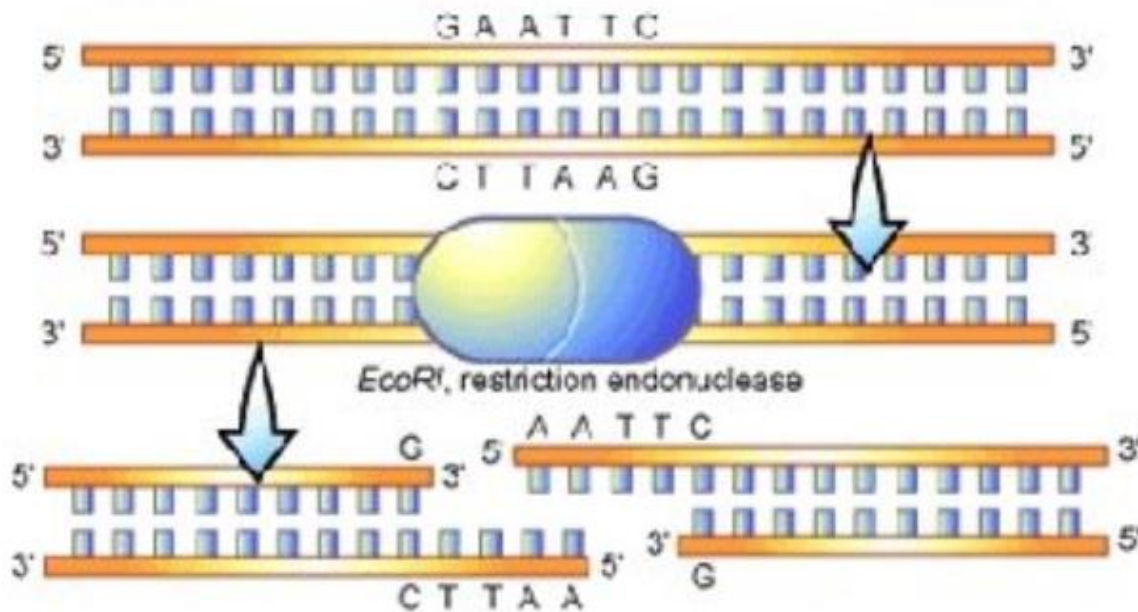
## ❑ **Opracowanie warunków modyfikacji struktury ?????**



## Kluczowe enzymy: endonukleazy i ligazy



**Enzymy restrykcyjne, restryktazy** – endonukleazy przecinają nić DNA w miejscu wyznaczanym przez specyficzną sekwencję DNA. Enzymy restrykcyjne naturalnie występują u bakterii



**lepkie końce DNA,**

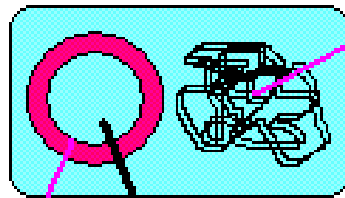
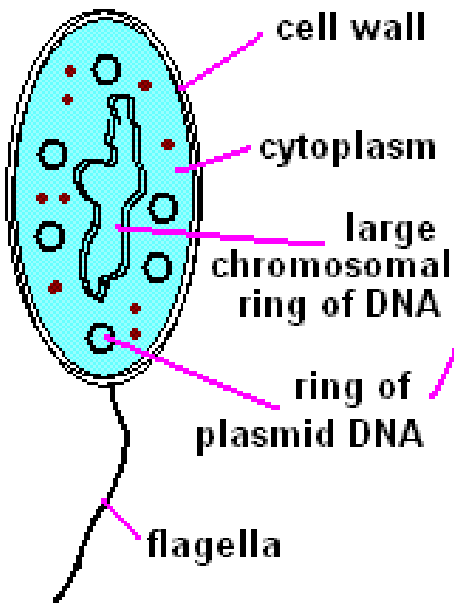
*-jednoniciowe zakończenia „wystające” z dwuniciowych liniowych cząsteczek DNA;*

*-mogą tworzyć wiązania wodorowe z innymi lepкими końcami DNA*

*o sekwencji komplementarnej*  
*- połączenie kowalencyjne może następnie zostać utworzone przez **ligazę**;*

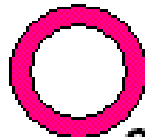
# Insulin production - example of GENETIC ENGINEERING

Starter bacterial cell 1.

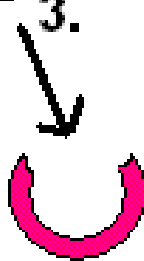


rest of bacterial DNA

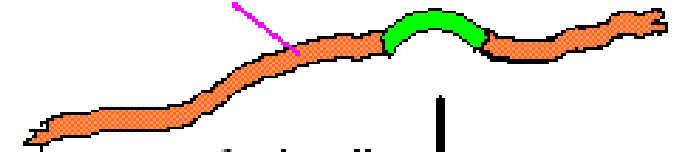
2. plasmids extracted



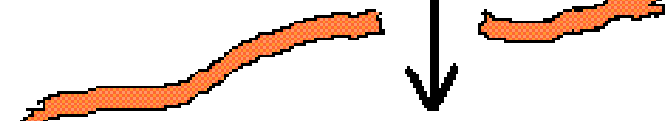
3. section of DNA cut by enzymes



part of human DNA genome

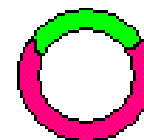


4. gene for insulin production cut out with enzymes



5.

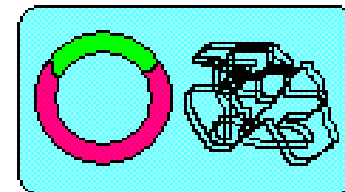
5. gene for insulin inserted into plasmid ring of DNA



6. modified plasmids put back into the bacterial cells

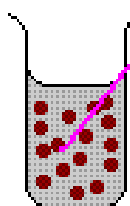
7.

7. bacteria multiply producing insulin



8.

8. insulin extracted from bacteria

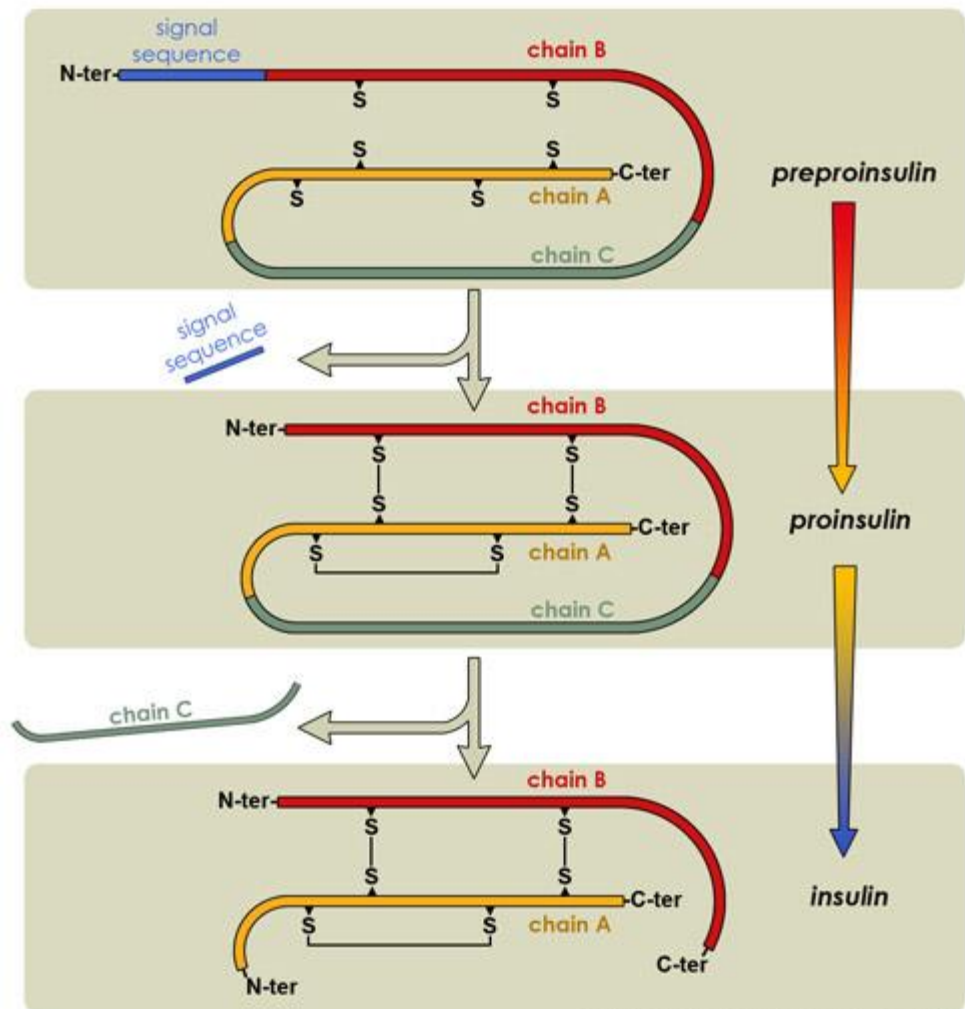


© doc brown

# Preparaty insulinowe wytwarzane metodami technologii genowej

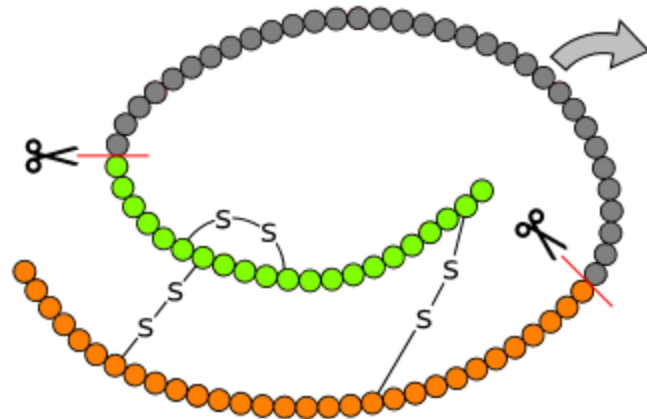
Stosowane procesy:

1. Ekspresja genów obu łańcuchów (A i B) w dwóch szczepach *E. coli* i przetwarzanie chemiczne
2. Wytwarzanie metodami technologii genowej
  - w *E. coli* ( Berlin-Chemie, Hoechst, Lilly)
  - w *S. cerevisiae* (Nowo Nordisk) poprzez proinsulinę– *mini-proinsulin*



©2004 Beta Cell Biology Consortium

Z pierwotnego pre-prołańcucha insuliny odcinana jest sekwencja sygnałowa, a następnie peptydu (łańcucha) C, by powstała insulina



## proces fermentacyjny

bank komórek zamrożonych  
(zasób kultur bakteryjnych)

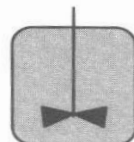
fermentor wstępny 200 l



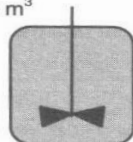
fermentor wstępny 2 m<sup>3</sup>



fermentor główny 40 m<sup>3</sup>



zbiornik plonu 40 m<sup>3</sup>



mechaniczne otwarcie komórek oraz  
ekstrakcja prekursora insuliny

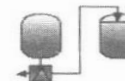
enzymatyczna obróbka prekursora  
insuliny do dalszego przetwarzania

## chemiczny proces technologiczny

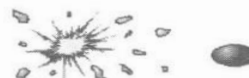
izolowanie komórek

komórka *E. coli*

ciało inkluzyjne

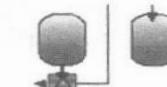


destrukcja komórek w homogenizatorze



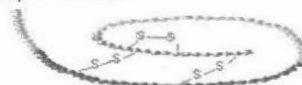
izolowanie i oczyszczanie białka fuzyjnego

białko fuzyjne

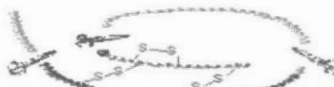


fałdowanie

preproinsulina



rozszczerpienie enzymatyczne



oczyszczanie i zateżanie

insulina glargin

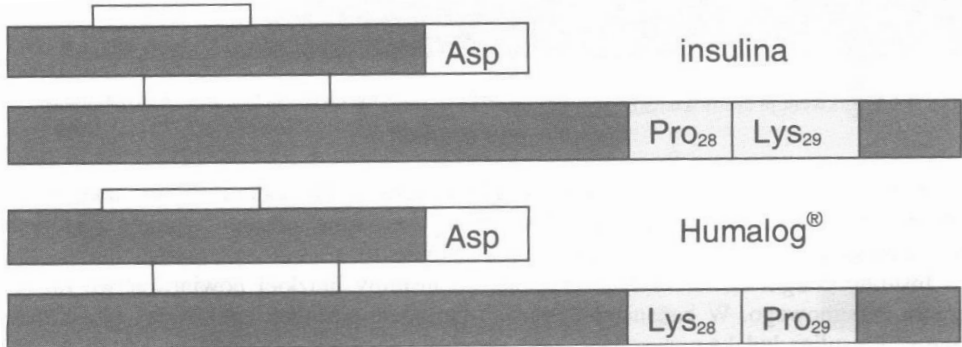


krystalizacja i konfekcjonowanie

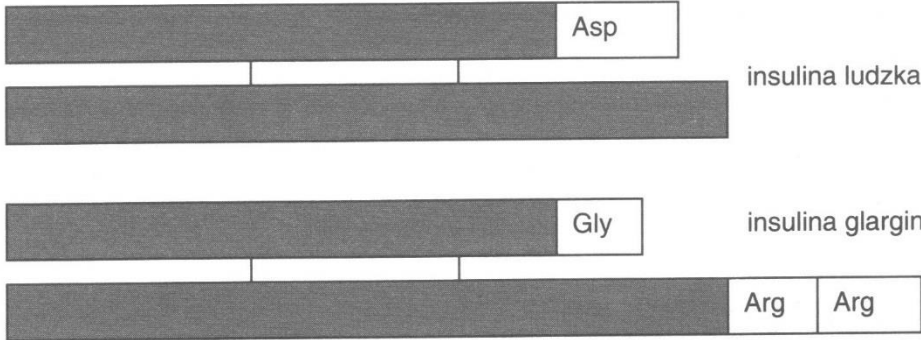
insulina glargin



# Muteiny – modyfikacje w łańcuchach A i B




Sekwencja aminokwasów insuliny lispro (Humalog<sup>®</sup>), wariantu insuliny krótko działającej



Sekwencja aminokwasów insuliny glargin (Lantus<sup>®</sup>), wariantu insuliny o przedłużonym działaniu (*protracted effect*)

# Cykl życia produktu biotechnologicznego:

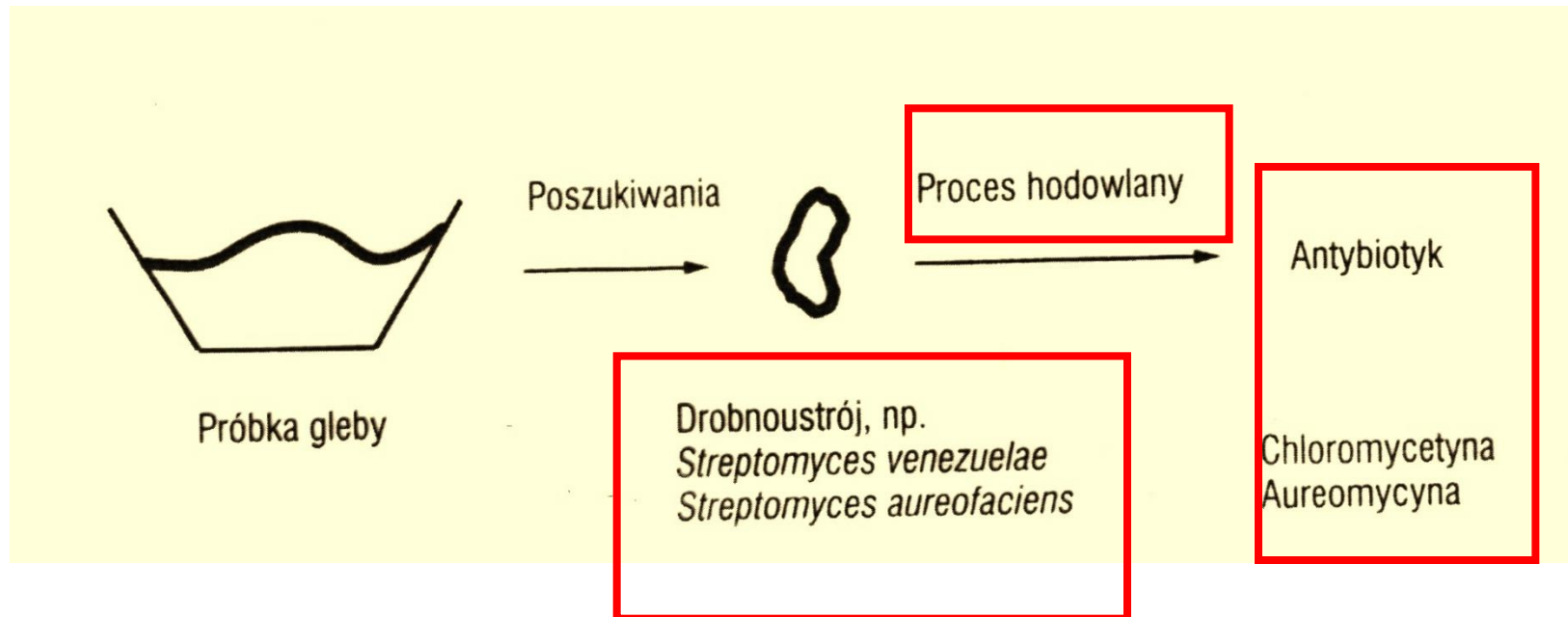
- Wybór jednostki chorobowej
- Określenie miejsca/mechanizmu działania leku
- Określenie testu biologicznego
- Znalezienie/opracowanie właściwego biokatalizatora
- Optymalizacja biokatalizatora (metody inżynierii genetycznej, fuzja protoplastów, mutageneza itp.)
- Optymalizacja procesu biotechnologicznego (podłoże hodowlane, warunki fizykochemiczne itp.)
- Opracowanie warunków modyfikacji struktury
- Patentowanie 
- Badania przedkliniczne:
- Badanie toksyczności (ADME Tox)
- Opracowanie procesu technologicznego (podnoszenie skali procesu, opracowanie postaci leku)
- Badania kliniczne (faza I, faza II, faza III, faza IV)
- Wprowadzenie do obrotu (procedury rejestracyjne)



# Patent – i co po nim?

- Opatentować można (1) innowacyjną (nową) **cząsteczkę**, (2) **sposób jej wytwarzania** lub (3) **nowe zastosowanie terapeutyczne znanej substancji**.
- Ochrona – **20 lat**
- Istnieje możliwość przedłużenia okresu wyłączności poprzez tzw. **dodatkowe świadectwo ochronne (SPC  $\leq$  5 lat)**.

# Patentowanie w biotechnologii



# Co po końcu ochrony patentowej?

- Lek generyczny

*Lek oryginalny i generyczny może różnić się nazwą, producentem oraz ceną. Substancja czynna, postać, dawka, ilość będzie zawsze taka sama (badania biorównoważności oraz biodostępności)*

- Lek biopodobny

*lek, który został opracowany w taki sposób, aby być wysoce podobnym do już istniejącego leku biologicznego (referencyjnego), jest zasadniczo identyczny, choć dopuszczalne są niewielkie różnice pod względem substancji czynnych i aktywności.*