

Summary. *This paper studied the effect of these substances, substituted 1,2,4-triazole, the level of glucose in the blood glucose tolerance test. A number of compounds with hypoglycemic action. Some regularities between chemical structure and pharmacological effect.*

Keywords: *1,2,4-triazole derivatives, hypoglycemic effect, hyperglycemia.*

УДК 577.175.722:577.122.5+577.21

ТЕНДЕНЦІЇ РОЗВИТКУ ТА ОСОБЛИВОСТІ БІОТЕХНОЛОГІЙ ВИРОБНИЦТВА ГЕННО-ІНЖЕНЕРНОГО ІНСУЛІНУ ЛЮДИНИ

О.П. Шукасва

*Одеський медичний інститут Міжнародного гуманітарного
університету*

Резюме. *Досліджено тенденції розвитку ринку генно-інженерного інсуліну людини та особливості біотехнологій виробництва. Досліджено стадії технологічного процесу отримання рекомбінантних білків, як одних з найбільш життєво важливих і практично незамінних лікарських засобів при лікуванні багатьох тяжких захворюваннях. Показники свідчать про зростання об'єму продажів лікарських засобів на основі рекомбінантних білків на фармацевтичному ринку України, що відображає аналогічні світові тенденції. Це обумовлено властивостями біологічних лікарських засобів – їх безпекою, органотропністю, вибіркоvim впливом на патологічний процес, високою якістю та практичною відсутністю побічної дії.*

Ключові слова: *генно-інженерний інсулін людини, технологічний процес, особливості біотехнологічного виробництва.*

Вступ. Стрімкий розвиток з середини ХХ століття генної інженерії, технології отримання рекомбінантних ДНК, значно змінив характер досліджень, що проводяться в області генетики, біології розвитку та еволюції. Розробка методів клонування ДНК і проведення полімеразної ланцюгової реакції дозволяють отримувати в достатній кількості необхідний генетичний матеріал, включаючи рекомбінантні, тобто гібридні ДНК. Ці методи використовуються для отримання таких продуктів як - поліпептиди. Вводячи в клітини рекомбінантну ДНК, вдалося отримати штами бактерій, здатні синтезувати важливі для медицини білки, наприклад людський інсулін, гормон росту людини і багато інших з'єднань [4].

На сьогоднішній день, біофармацевтична промисловість стала однією з найважливіших і швидкозростаючих індустрій. Інсулін, не випадково є лідером у списку препаратів з найбільшим попитом серед рекомбінантних терапевтичних білків і моноклональних антитіл, поступаючись лише

еритропоетину [6]. Разом з тим, рекомбінантні цитокіни і рекомбінантні антитіла стають також незамінним знаряддям в арсеналі практичного лікаря, а рівні їх продажів досягають мільярдних позначок.

Метою дослідження є вивчення тенденції розвитку ринку генно-інженерних інсулінів людини та особливості їх біотехнологій виробництва.

Матеріали і методи дослідження. Об'єктами дослідження обрано аналітичні матеріали щодо розвитку сучасного фармацевтичного ринку та генно-інженерних інсулінів, технологічні стадії виробництва.

Аналіз світового фармацевтичного ринку та тенденцій розвитку ринку генно-інженерних інсулінів проводили з використанням методів системного аналізу, узагальнення, порівняння і моделювання.

Результати та їх обговорення. За останні 30 років одержано та охарактеризовано значну кількість ендогенних пептидів. Наприклад встановлено, що сон викликає «пептид сну» – нонапептид Trp-Ala-Gly-Gly-Asp-Ala-Ser-Gly-Glu. Велика кількість гормонів, які виробляються залозами внутрішньої секреції, також мають пептидну будову, впливаючи на органи і тканини, вони синхронізують і координують їх різноманітні функції.

Російськими вченими було створено новий клас лікарських засобів – пептидні регулятори. Це речовини, що здатні відновлювати метаболізм у клітинах тих тканин, з яких вони одержані. Важлива відмінність цих засобів від інших ліків полягає у тому, що вони саме регулюють функцію клітин. При пригніченні функцій клітини вони стимулюють її, а при підвищеній функції – знижують до оптимального рівня. Зазначені речовини є лужними поліпептидами з молекулярною масою від 1 тис. до 10 тис. Да. Їх одержують з різних тканин за допомогою метода кислотної екстракції. Прикладом пептидних препаратів є: імуномодулятор тималін, епіталамін (біорегулятор нейроендокринної системи), сампрост, (препарат для лікування хвороб передміхурової залози), кортексин (препарат для лікування неврологічних хвороб) та ін. [3].

Одним з найважливіших гормонів пептидної природи є інсулін. Нестача інсуліну в організмі викликає цукровий діабет – порушення вуглеводного обміну з підвищеним рівнем глюкози в крові. Захворювання характеризується хронічним перебігом і порушенням всіх видів обміну речовин: вуглеводного, жирового, білкового, мінерального та водно-сольового. На даний час кількість хворих на цукровий діабет у світі складає більше 200 млн. чоловік, в тому числі, в Україні нараховується більше 1 млн. [2].

Представляло інтерес прослідкувати динаміку розвитку і тенденції інноваційної фармацевтичної компанії, на прикладі ВАТ «Національні біотехнології» («Герофарм-Біо»). Підприємство розвивалось дуже динамічно 1996 - 2000 роки - створений генно-інженерний штаб і технологія отримання

субстанції генно-інженерного інсуліну. 2000-2006 роки - проведені клінічні дослідження, які підтвердили ефективність і безпеку російської вітчизняної субстанції інсуліну. 2006 рік - зареєстровані готові лікарські форми рінсулін Р 100 МЕ / мл - короткої дії та рінсулін НПХ 100 МЕ / мл - середньої тривалості дії. 2009 рік - три незалежні європейські лабораторії - Proteome Factory AG Berlin, Prolytic GmbH Frankfurt am Main, Labor L + SA - підтвердили відповідність випущеної субстанції інсуліну американській, британській та європейській фармакопеям. У цей період ВАТ «Національні біотехнології» стає стратегічним партнером компанії «Герофарм», яка починає здійснювати дистрибуцію препаратів рінсулін. Препарати проходять апробації в провідних ЛПУ Росії. 2011 рік - в рамках федеральної стратегії «ФАРМА-2020» на базі підприємства ВАТ «Національні біотехнології» в Серпуховському районі Московської області (с. Оболенск) почалася реалізація проекту з будівництва сучасного виробничого комплексу, повністю відповідного міжнародним стандартам GMP. У 2012 році для формування єдиної концепції стратегічного розвитку, компанія «Національні біотехнології» входить до групи компаній «Герофарм» як підприємство, що займається розробкою і виробництвом біотехнологічних препаратів, і отримує назву «Герофарм-Біо». 2013 рік - завершення робіт з будівництва сучасного виробничого комплексу, повністю відповідного міжнародним стандартам GMP. Проект був виконаний за короткий термін - 2 роки. Обсяг інвестицій у проект склав більше 1,5 млрд. рублів. Загальна площа території заводу - 2,5 га. Площа виробничих приміщень - більш 10000 кв. м. Більшу частину технологічних операцій на заводі виконують автоматизовані виробничі системи, аналогів яких сьогодні немає в Росії. Технологічне проектування виконано із залученням провідних європейських організацій. запланований обсяг виробництва становитиме біля 25 млн. флаконів і 5 млн. картриджів на рік. Сьогодні «Герофарм-Біо» виробляє готові лікарські форми генно-інженерного інсуліну людини короткої тривалості дії під торговою маркою рінсулін Р (розчин) та середньої тривалості дії рінсулін НПХ (суспензія), які випускаються за власною запатентованою технологією.

Препарати пройшли реєстрацію в Україні (Реєстраційне Свідоцтво рінсулін Р № UA/11041/01/01, рінсулін НПХ №UA/11041/01/01 від 21.09.2010р) та Киргизії (серія Р-2013-89 КР-№10177 від 13.03.2013р). Йде реєстрація в Казахстані та В'єтнамі. До кінця поточного року компанія планує пройти три міжнародних GMP аудиту, що дозволить значно розширити напрямок і обсяги експорту рінсулінів.

Виходячи з маркетингових даних, за цей час в Україні було реалізовано 14700 флаконів. В Російській Федерації було реалізовано 286650 флаконів. Всього було реалізовано за період з 28.07.2006 р. по 20.06.2014 р 301350 флаконів [1].

На рисунку 1 представлено схему принципового технологічного процесу виробництва генно-інженерного інсуліну людини на підприємстві «Герофарм-Біо».

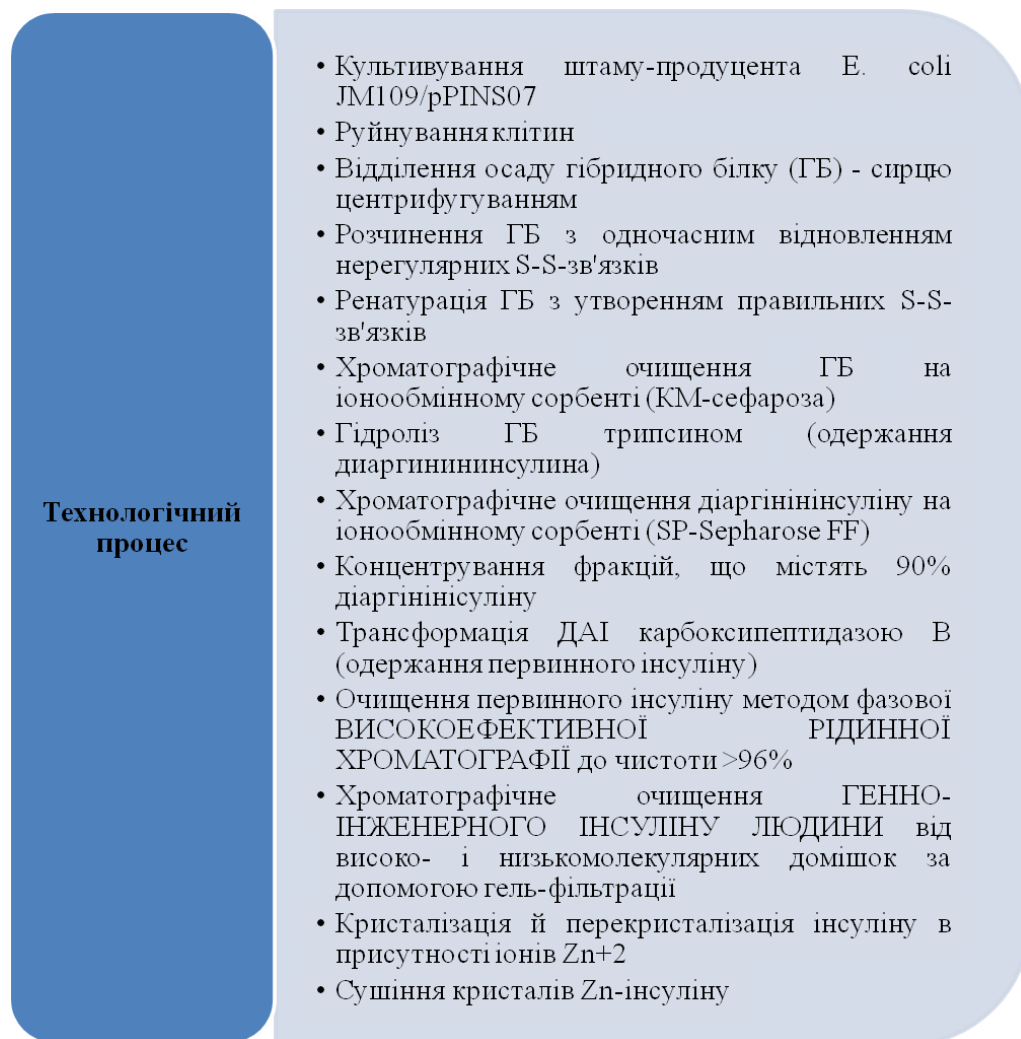


Рис. 1. Технологічна схема виробництва генно-інженерного інсуліну людини

Метод генно-інженерного інсуліну людини заснований на технології так названого «роздільного гідролізу», при якому гібридний білок піддається спочатку розщепленню трипсином з одержанням основного продукту - діаргінінінсуліну (ДАІ), а потім ДАІ піддається хроматографічному очищенню, концентруванню й трансформації в первинний інсулін із чистотою не менше 92-96%.

При такій послідовності проведення технологічного процесу порівняно нескладно очистити ДАІ від домішки дезтреонінінсуліну (інсуліну, у якому відсутній треонін у положенні В30), однієї з найбільш важких для видалення домішок інсуліну.

Для збільшення об'єму інсуліну, що випускається, і зменшення собівартості кінцевого продукту на підприємстві було вирішено розробити й

запустити у виробництво схему одержання генно-інженерного інсуліну людини методом спільного гідролізу. Даний метод заснований на одержанні первинного інсуліну в одну стадію шляхом одночасного впливу трипсину й карбоксипептидази В на гібридний білок. При більш високій технологічності основна проблема спільного гідролізу полягає в пошуку оптимальних умов, при яких утвориться мінімальна кількість дезтреонінінсуліну. Визначення кількості цієї домішки в гідролізаті є важким (за одними даним він невіддільний від інсуліну, а за іншими - від дезамідоінсуліну). Однак завдяки великій економії часу й реактивів метод спільного гідролізу в цей час є найпоширенішим і використовується для виробництва генно-інженерного інсуліну людини як у Росії (ИБХ РАН), так і за кордоном (Eli Lilly, США, Biobras, Бразилія) [8].

В останні роки рекомбінантні білки, традиційно отримують з плазми крові, тим часом активно стали завойовувати позиції на світовому ринку медичної біотехнології. Револьюційне просування рекомбінантних білків людини на фармацевтичний ринок пов'язано в більшості випадків з неможливістю їх отримання з людського матеріалу в достатній кількості, а заміна їх тваринними аналогами, які застосовували раніше, в багатьох випадках призводила до небажаних імунних реакцій і побічних ефектів [7]. Крім того, виникли в останні роки обмеження на використання препаратів крові донорів, пов'язані з проблемами вірусних і пріонових контамінацій [5, 9]. Перше особливо стосується препаратів крові. Розробка і застосування тест-систем для детекції гепатитів та ВІЛ робить дорожчими ці відносно дешеві препарати і робить їх вже однаковими за вартістю з білками, виробленими за допомогою технологій рекомбінантних ДНК. При цьому необхідно відзначити, що деякі генно-інженерні білкові препарати є практично незамінними при тяжких захворюваннях, наприклад в онкології та при лікуванні аутоімунних процесів. В першу чергу це стосується антитіл, цитокінів, поверхневих пухлинним антигенів, молекул адгезії. Сучасні схеми лікування ревматоїдного артриту, раку грудей і шийки матки неможливо уявити без застосування таких препаратів як, наприклад, ремікейд і герцептин [10, 11].

Висновки

Аналіз тенденцій розвитку світового фармацевтичного ринку інсулінів стало збільшення сегменту біологічних лікарських засобів отриманих методом рекомбінантних ДНК технологій

Показники приросту продажів свідчать про успішне застосування генно-інженерного інсуліну людини, отриманого сучасними методами біотехнологій на світовому і вітчизняному ринку. Це обумовлено незамінністю при лікуванні тяжких захворювань та перевагами цієї групи препаратів, які виявляють високою терапевтичну активністю, мають високу якість та безпеку.

Література

1. www.geropharm.ru
2. <http://lektsiopedia.org/ukr/lek-3683.html>
3. <http://ru.osvita.ua/vnz/reports/biolog/23236/>
4. Баирамашвили Д. И. Генноинженерный инсулин человека: успехи и перспективы // Рос. хим. журнал. - 2005. - XLIX(1). - С. 34-45.
5. Исаева И. В., Ковалева С. В., Пешая Т. В. Инсулин, его аналоги и лекарственные средства // Ведомости научного центра экспертизы государственного контроля лекарственных средств. - 2001. - № 2. - С.39-47.
6. Овчинников Ю. А. Биоорганическая химия. - М.: Просвещение. - 1987.- С. 247-249.
7. Марри Р., Греннер Д., Мейес П., Родуэлл В. Биохимия человека. М.: Мир, 1993.- т. 2. - С. 247-263.
8. Теоретический и научно-практический журнал «Биотехнология» - М., 2006. - № 4. -С 56-63.
9. Brange J. Galenics of Insulin. Springer-Verlag. Berlin-Heidelberg. -1987. - P. 1 - 99.
10. Derewenda U., Derewenda Z., Dodson E.J. e.a. Phenol stabilizes more helix in a new symmetrical zinc insulin hexamer // Nature. -1989. Vol. 338. - P. 594-596.
11. Mirmira R. J., Tager H. S. Role of the Phenylalanine B24 Side Chain in Directing Insulin Interaction with its Receptor. // J. of Biological Chemistry. 1989. - Vol. 264. - P. 6349-6354.

Резюме. *Исследованы тенденции развития рынка генно-инженерного инсулина человека и особенности биотехнологий производства. Исследованы стадии технологического процесса получения рекомбинантных белков, как одних из жизненно важных и практически незаменимых лекарственных средств при лечении большого количества тяжелых заболеваний. Показатели свидетельствуют о росте объема продаж лекарственных средств на основе рекомбинантных белков на фармацевтическом рынке Украины, что отражает аналогичные мировые тенденции. Это обусловлено свойствами инсулинов, как биологических лекарственных средств - их безопасностью, органотропность, выборочным воздействием на патологический процесс, высоким качеством и практическим отсутствием побочных эффектов .*

Ключевые слова: *генно-инженерный инсулин человека, технологический процесс, особенности биотехнологического производства.*

Summary. *Trends in the market of genetically engineered human insulin and specialty of biotechnological production were investigated. Stages of the process of producing recombinant proteins, as one of the essential and almost indispensable drugs in the treatment of a large number of serious diseases were investigated. Indicators show an increase in sales of drugs based on recombinant proteins in the pharmaceutical market of Ukraine, which reflects similar global trends. This is due to the properties of insulin as biological medicinal products - their safety, organotropy, selective effects on the disease process, high quality and practical absence of side effects.*

Keywords: *genetically engineered human insulin, technological process, specialty of biotechnological production.*