

# Biologická terapeutika – bioléčiva

prof. RNDr. Luděk Beneš, DrSc.

**Biologická terapeutika (bioléčiva) jsou léčiva nebo potenciální léčiva získaná jinou, než klasickou cestou syntetické chemie nebo izolací látek, chemických entit, z rostlinného (biologického) materiálu.**

**Biologická terapeutika jsou léčiva získaná většinou rekombinantní technikou: terapeutické monoklonální protilátky, vakcíny nového typu, terapeutické proteiny nebo i léčiva kombinovaná, obvykle tvořená složkou řídící, terapeutickou a nosičem různého typu. Bioléčiva jsou někdy definována jako léčiva, která nejsou malými molekulami (small molecules), nazývanými převážně jako chemická léčiva.**

**Klíčová slova: bioléčiva, terapeutické monoklonální protilátky, proteiny, enzymy, vakcíny.**

## BIOLOGICAL THERAPEUTICS – BIOTHERAPEUTICS

**Biological therapeutics (biotherapeutics) are drugs or potential drugs obtained by other methods than chemical synthesis or isolation of substances, i. e. of chemical entities, from plant (biological) material. Biological therapeutics are mostly obtained by recombinant technology: therapeutic monoclonal antibodies, new type vaccines, therapeutic proteins as well as combined drugs, usually consisting of a controlling component, therapeutic component, and various drug carriers. Biotherapeutics are sometimes defined as drugs that are not small molecules mostly referred to as chemical therapeutics.**

**Key words: biotherapeutics, therapeutic monoclonal antibodies, proteins, enzymes, vaccines.**

### Úvod

Výsledky výzkumů molekulární biologie, biochemie, genetiky, chemie a dalších oborů, spolu s rozvojem počítačové techniky a programového vybavení, výrazně posunují zdroj léčiv, strukturálně chemicky definovaných, do oblasti léčiv charakterizovaných velkou molekulovou hmotností a často strukturálně ne zcela definovaných. Jedná se o tzv. biologická terapeutika (biofarmaceutika, bioléčiva), převážně připravená rekombinantní technikou. K nim se postupně přidávají i dříve známá léčiva původu převážně biologického, u kterých se pouhou záměnou jedné nebo více stavebních složek, zvláště aminokyselin, dosáhlo specifičtějšího účinku, s menším zastoupením nežádoucích účinků nebo dokonce s odlišným účinkem než původní mateřská látka. Rychle se měnící poměr mezi klasickými chemickými léčivy, plně strukturálně charakterizovanými a bioléčivy, jejichž chemická struktura není v řadě případů známa a už vůbec ne plně charakterizována, si vyžádal rozdělení léčiv na farmaceutika a biofarmaceutika (v angl.

Pharmaceutics, Biopharmaceutics) nověji nazývaná též biologická terapeutika (Biological Therapeutics).

### Rozdělení biologických terapeutik

Biologická terapeutika představují léčiva, jejichž příprava má základ v rekombinantní technologii, jsou původu genetického nebo se jedná o vakcíny nového typu, tvořené např. i štěpy membrán, léčiva typu monoklonálních protilátek, ale i klasická léčiva navázaná na polymery nebo léčiva navázaná na polymery a monoklonální protilátky, léčiva peptidického původu, léčiva, která mají složku pro aktivní transport do cílového místa účinku (receptor mediated targeting) a zřejmě i mnohé další kombinace, jejichž vývoj již probíhá a jsou v různých fázích klinického studia.

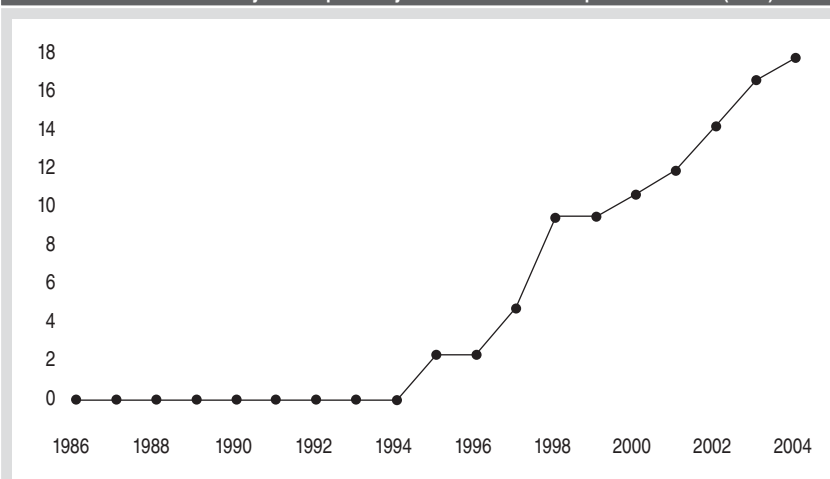
Je pravděpodobné, že biofarmaceutika a farmaceutika by asi bylo nejsnazší rozdělit podle způsobu výroby. Například látky vyrobené na principu rekombinantní techniky patří jednoznačně do skupiny biofarmaceutik. Jedná se většinou o rozdělení na bázi

nových biotechnologií, které nepochybně již sehrávají významnou roli na trhu léčiv a budou v nejbližších letech silně zastoupeny. Již dnes naznačené rozdělení pokulhává za skutečností, neboť jsou v různých fázích klinického studia jednak „biofarmaceutické konjugáty“, kde se jedná o biotechnologicky vyvinuté preparáty, ale též léčiva, která představují až „trojkombinaci“, dokonce často hraničící se specializovanou oblastí technologie lékové formy. Příkladem může být monoklonální protilátka, navázaná (i kovalentně) na biologický nebo nebiologický makromolekulární nosič, případně na nanočástici, obsahující malou molekulu některého léčiva, připraveného „klasickou“ syntetickou chemií. Z těchto důvodů by pravděpodobně bylo výhodné rozdělení z hlediska molekulové hmotnosti i když toto rozdělení též není optimální. Problémy s příslušným zařazením bioléčiv, včetně legislativního, se někdy obcházejí z opačné strany, a to označením „klasických“, strukturálně jasně charakterizovaných léčiv nepolymerických a nebiologických, názvem malé molekuly (small molecules), ostatně stále velmi žádaných a tvořících převážnou složku léčiv, používaných v terapii. Složení léčiv a jejich původ vytvořily paradoxně určité vakuum, vyplývající z přechodu výzkumu léčiv na měnící se podmínky vývoje, výroby, legislativy, finančních nároků na realizaci, apod.

Rychlý nárůst do praxe zaváděných bioléčiv prozatím nedoprovází odpovídající legislativa, standardizace podle příslušných (lékopisných) norem. Ze strukturálního hlediska jsou pochopitelně obtížné s jejich zařazením a definováním.

Na základě určitých shodných forem původu jednotlivých biofarmaceutik je možné navrhnout rozdělení na: terapeutické monoklonální protilátky (MnP), vakcíny nového typu, terapeutické proteiny, včetně peptidických hormonů, enzymy jako léčiva a kombinace bioléčiv s jinými látkami a v příslušné technologické úpravě, včetně úprav geneticky modifikovaných a dalších. Navrhované rozdělení pochopitelně není a nemůže být definitivní. Je pouze snahou autora článku o určitou prvostupňovou systematiku, za níž by mělo nastoupit rozdělení farmakoterapeutické, jehož doplnění probíhá rychlostí, jakou se mění současná skladba vyvíjených a do praxe zaváděných bioléčiv. Do r. 2005 bylo zavedeno do praxe asi 150 bioléčiv. Do tohoto počtu nejsou však započítány dříve zavedené peptidické hormony, které jsou dnes

**Obrázek 1. Počet schválených terapeutických monoklonálních protilátek FDA (USA)**

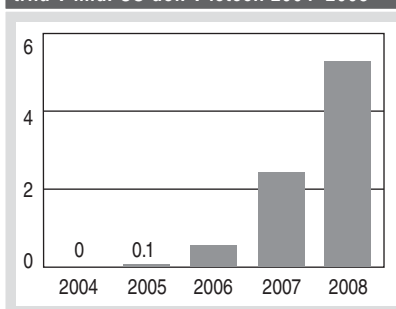


často připravovány rekombinantní technikou a strukturálně měněny, například inzulin, růstový hormon a další proteiny. Trend zavádění nových terapeutických MnP schválených FDA (Food and Drug Administration) k použití v praxi je znázorněn na obrázku 1.

Seznam bioléciv na trhu je naproti tomu již dnes nesmírně obsáhlý. Jedná se však jen o výrobky s jinými chráněnými názvy a od

různých firem, zvláště po skončení patentové ochrany původních bioléciv nebo nepříliš velké strukturální změny dlouho známých a používaných látek. I tento počet bioléciv je závislý na použité definici, uznávanou zejména v USA (látky připravené rekombinantní technikou). Z tohoto pohledu je zajímavější obrázek 2, který ukazuje předpokládaný vývoj na trhu biofarmaceutik v nejbližších letech (1).

**Obrázek 2. Předpokládaný vývoj světového trhu v mld. US dol. v letech 2004–2008**



V roce 2004 byl vedoucím preparátem erythropoietin firmy Amgen /J&J/ a Sankyo (Epoetin  $\alpha$ ), s prodejem za 6,2 mil. \$., následovaný inzulinem firmy Novo Nordisk s 2,4 mil. \$, interferonem  $\alpha$  (Intron A<sup>®</sup>, Schering-Plough) s 1,17 mil. \$ a filgrastimem (Neupogen<sup>®</sup>, Amgen), s přibližně stejným prodejem (1,175 mil. \$). Biofarmaceutický průmysl dosahuje v USA každoročního nárůstu asi 19%, přičemž příjem vzrůstá o 21,4%. Celkový obrát na trhu s biofarmaceutiky je více než 9 mld. \$, z toho Genentech, první firma, která začala v r. 1982 vyvíjet biofarmaceutika, 1 mld. \$. Není pochyb,

že koncem devadesátých let zveřejněné předpoklady nárůstu biofarmaceutik v prvních deseti letech tohoto tisíciletí a jejich asi dvacetipěti-procentní zastoupení mezi léčivy je reálné.

### Nomenklatura biologických a biotechnologických substancí

Nomenklatura bioléciv je uvedena v International Nonproprietary Names (INN) for Biological and Biotechnological Substances (5), kde je kromě klasifikace biologických a biotechnologických substancí, obecné zařazení krevních produktů, produktů genové terapie, glykosylovaných sloučenin, imunoglobulinů, monoklonálních protilátek, ne-glykosylovaných sloučenin, transgenních produktů, vakcín a jednotlivých skupin biologických a biotechnologických substancí podle účinků a příslušného zařazení (antibakteriální, antitrombogenní, antisens oligonukleotidy, inhibitory koagulační kaskády krve, enzymy, peptidy, hormony různého typu, receptorové molekuly, toxiny, antagonisté tumor necrosis faktoru a další). Kromě nomenklatury monoklonálních protilátek uvedených níže jsou definovány koncovky pro antisens oligonukleotidy –*rsen*, pro inhibitory koagulační kaskády –*cogin*, pro enzymy –*ase*, (brinase, streptokinase), pro růstové faktory –*ermin* (nepidermin), pro krevní faktory erythropoietinového typu –*poietin*, interleukinové substance –*kin*, receptorové molekuly –*cept*, antagonisty TNF –*nercept*, polypeptidy antimikrobiální –*ganan*, colony stimulující faktory –*stim* (filgrastim, lenograstim), makrofágy stimulující faktor –*mostim* (cilmostin), hirudinové deriváty –*irudin* (bivalirudin, desirudin), heparinové deriváty –*parin* (ardeparin, dalteparin). Inzulínové deriváty jsou nomenklaturně uvedeny podle aminokyseliny reprezentující modifikaci např. *inzulin aspart*, *inzulin glargin*, *inzulin argin*. Peptidy a glykopeptidy mají kromě speciálních skupin –*actide*, –*pressin*, –*relin*, –*tocin* koncovku –*tide*. Nomenklaturní principy jsou naznačeny jen stručně, seznam je uveden na třiceti stranách v uvedeném review (5). Podle Úředního věstníku EU (23. 2. 2007) jsou uvedena bioléciva v seznamu (terapeutické monoklonální protilátky, vakcíny nového typu, terapeutické peptidy), s možností provádění klinických studií s uvedeným označením.

### Terapeutické monoklonální protilátky

Monoklonální protilátky (MnP) představují vcelku dobře konstituovanou skupinu

biofarmaceutik. Jsou do jisté míry realizací myšlenek Paula Ehrliche, geniálního chemika, zakladatele chemoterapie (salvarsan, první léčivo syfilisu) a též imunologie, který kromě definice místa zásahu-receptoru léčivem a jeho formulaci jako klíče a zámku (1905), snil o „kouzelné střeře“, mířící přímo do patogenních mikrobů nebo do nádorových buněk.

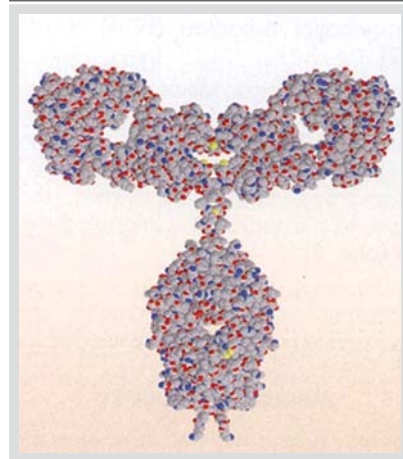
Terapeutické MnP jsou potenciální léčiva anebo léčiva již v praxi používaná, známá pod různými, našemu jazyku nepřiliš vyhovujícími názvy, s koncovkou *mab*. V této skupině je však již zaveden poměrně dobrý nomenklaturní systém, který ve zkrácené podobě je následující:

- koncovka –**mab** je používaná pro monoklonální protilátky a jejich fragmenty
- označení a identifikace monoklonálních protilátek podle původu je zabezpečena vsunutím příslušného písmene:
- o... myší (**omab**)
- a... potkaní (**amab**)
- e... křeččí (**emab**)
- i... z primátů (**imab**)
- u... humánní (**umab**)
- xi... chimerní (**ximab**)

Další vsuvky jsou do konečného názvu vkládány podle místa zásahu: –*vir* – virální, –*bac* – bakteriální, –*lim* – imunitní, –*les* – infekční leze, –*cir* – kardiovaskulární. Upřesnění podle místa zásahu je rozpracováno dále u nádorů: –*col*... kolonu, –*mel*... melanomu, –*mar*... prsní mléčné žlázy, –*got*... testes, –*gov*... ovarií, –*pr(o)*... prostaty, –*tum*... u různých nádorů. Příkladem vytvoření názvu je ab-cir-xi-mab (abciximab), lim-zu-mab (daclizumab). Uvedená nomenklatura je pouze informačním nástrojem zpracovaným dle (5).

Terapeutické MnP zvyšují progresivně podíl na celkové skladbě léčiv. Nejdůležitější je, že mezi těmito terapeutiky se stále více objevují ta, která jsou schopna více či méně úspěšně zasahovat do léčby řady onemocnění, jejichž léčba není dosud příliš úspěšná. Na druhé straně se však objevuje neočekávaný jev, který nenaplnuje předcházející úvahy o jejich vysoké specifitě vztahu ke konkrétní chorobě, např. ke konkrétnímu nádoru. Bylo již zaznamenáno, že MnP, původně vyvinutá na léčbu nádoru, se vzhledem k účinku a též snahy po navrácení vynaložených nákladů na její vývoj, zkoumá dále v jiných, někdy velmi vzdálených oblastech, například na léčbu revmatoidních onemocnění nebo i léčbu kardiovaskulárního systému.

Obrázek 3. Molekula adalimumabu, biofarmaceutika, používaného v praxi při léčbě revmatoidní artritidy



K těmto skutečnostem přispívá zřejmě nedořešená legislativa v oblasti předklinických, zvláště farmakologických a toxikologických studií i studií klinických. Chybějící doporučení a široký farmakologický screening není ani v této oblasti nahraditelný. Jsou zaznamenány případy, že při (úspěšné) léčbě nádorového onemocnění terapeutickou MnP jsou destručovány B i T lymfocyty a vážně poškozen imunitní systém.

Do praxe bylo zavedeno do dnešního dne několik desítek MnP, v práci je uveden jen jejich určitý reprezentativní výčet, v několika případech registrovaných i v ČR:

– *adalimumab* (Humira®) – lidská MnP proti TNF- $\alpha$ , pro léčbu revmatoidní artritidy (obrázek 3).

– *bevacizumab* (Avastin®) – humanizovaná MnP proti receptorům cévního endoteliálního růstového faktoru (VEGFR-1 a VEGFR-2), klíčového faktoru pro novotvorbu cév. Snížená angiogeneze zpomaluje růst nádorů (rekta, kolonu) a metastazování. Zejména se používá v kombinaci s 5-fluorouracilem u metastazujících nádorů, nádorů prostaty, prsu. Bevacizumab byl vyvinut ze skupiny asi 100 látek, které jsou (od r. 2005) ve vývoji protinádorových léčiv (4).

Podobně účinkuje *cetuximab*, rekombinantní humanizovaná chimerní MnP inhibující progresi buněčného cyklu, především antiangiogenním efektem, neúspěšněji u kolidárních nádorů a nádorů slinivky břišní.

– *catumaxomab* (Removab®) chimerní MnP s předpokladem indukce lýzy nádorových buněk,

– *ertumaxomab* (Rexomun®), třífunkční MnP zkoumaná jako léčivo metastazujících nádorů prsu,

– *ifliximab* – MnP TNF- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ ) používaná při poškozeních srdce,

– *libivirumab/exbivirumab* – dvě humanizované MnP určené pro léčbu hepatitidy B, a humánní MnP pro léčbu hepatitidy C, označené prozatím Ab65 a Ab68,

– *natalizumab* (Tysabri®) humanizovaná monoklonální protilátka určená pro léčbu sklerózy multiplex, a to mechanismem závislým na inhibici adheze molekul na povrch imunitních buněk. Působí preventivně před migrací těchto buněk z krevního řečiště do mozku,

– *ranibizumab* (Rituxan®) – MnP zkoušená na léčbu makulární degenerace, Valortim® (MDX-1303) humánní MnP vyvíjená jako antraxový protektivní antigen, i jako protilátka pro případné teroristické útoky (bioterrorismus).

MnP TRX-4 je zkoumána jako léčivo diabetu typu 1 v případech, kdy dochází k sníženému vylučování inzulínu při ztrátě funkce  $\beta$ -buněk pankreatu.

– *aviximab* Tarvacin® – chimerní MnP váže se na fosfolipidický fosfatidylserin buněk infikovaných viry. Původně byla vyvinuta na léčbu hemoragických nemocí, rezultujících při Ebole, Marburgově viróze. Je účinná proti cytomegaloviru, viru hepatitidy B a C, chřipce a SARS. Váže se též na cévy nádorů a inhibuje jejich růst.

Dnes jsou komerčně dostupné monoklonální protilátky pro protinádorovou léčbu:

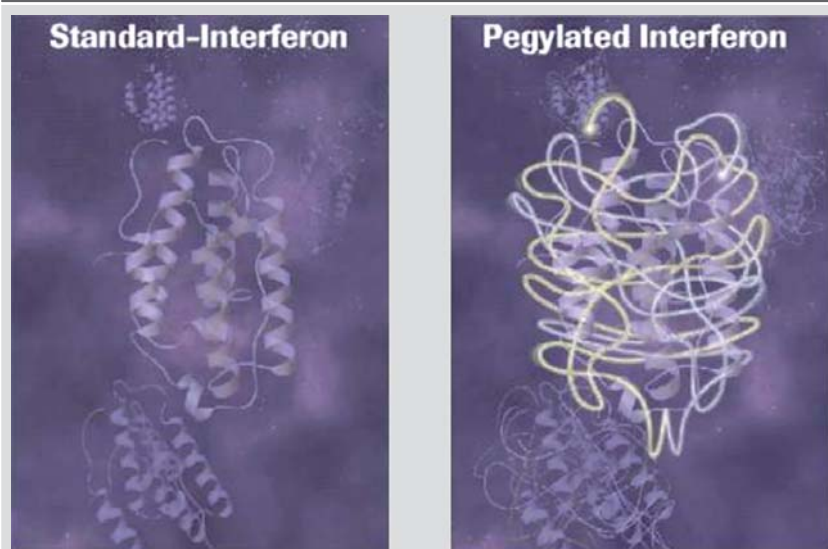
– *adecatumumab* (Canvaxin®), *alemtuzumab* (Campath®), *ibritumomab* (Zevalin®) *gemtuzumab* (Mylotarg®), *rituximab* (Rituxan®), v kombinaci s talabostatem určeným k léčbě chronické lymfocytární leukemie, *trastuzumab* (Herceptin®), s pozitivními výsledky u nádorů prsu. Pochopitelně, že zde není výčet všech monoklonálních protilátek, které jsou v různém stadiu klinického výzkumu a nebo již zavedeny do praxe. Rychlost s jakou se objevují nové MnP je v současnosti velmi vysoká.

## Vakcíny

Vakcíny nového typu se značně odlišují od původních, které nebyvalým způsobem zasáhly do zdravotního stavu obyvatelstva země a v řadě případů téměř eliminovaly některé nebezpečné choroby-očkování proti pravým neštovicím (1798), proti vzteklině (1885), proti tetanu (1927), proti spalničkám (1964), dále proti obrně a řadě dalších, život a zdraví obyvatelstva planety ohrožujících nemocí. Jednalo se většinou o buněčné vakcíny s usmrčenými nebo oslabenými patogeny (bakterií, virů). Dnes jsou vyvíjeny vakcíny poněkud jiného typu:

- nebuněčné a podjednotkové vakcíny (např. samotné antigenní struktury mem-

Obrázek 4. Standardní interferon a jeho pegylovaná forma



brán, proteinů, prázdných virových částic bez DNA, RNA apod.),

- rekombinantní vakcíny-antigen vytvořen ve velkém množství v tzv. GRAS (Generally Recognized As Safe) organizmech, např. proti hepatitidě B,
- syntetické sacharidové vakcíny (glykoproteiny a polysacharidy),
- DNA vakcíny (expresi zprostředkuje buňka organismu a vyrábí si sama vakcínu po vpravení DNA prostřednictvím lipozomů nebo virů tj. vakcíny založené na plasmidové DNA technologii).

Ani tento výčet není kompletní. Nebylo to též účelem tohoto sdělení. Všechny vakcíny a tedy i nové, jsou kategorizovány a uváděny pod příslušným kódem.

Novým trendem v problematice vakcín jsou tzv. terapeutické vakcíny: patří sem například takové, které zpomalují průběh chorob, stimulují odpověď imunitního systému proti sobě samému. Imunitní systém je vyzbrojován pro boj s již propuknutou nemocí. Jsou též konstruované vakcíny na základě celých rakovinných buněk, například Melacine®, lyofilizovaný lysát z dvou melanomových linií buněk. Dále sem patří vakcíny vytvořené na základě dendritických buněk antigenů z nádorových buněk nebo proteiny tepelného šoku (HSP-heat shock proteins) m.h. 70 a 90, patřící mezi tzv. intracelulární chaperony, jako peptidy s širokým antigenním repertoárem, indukující antitumorovou imunitu při stresových situacích. Vakcínou může být i komplex proteinů tepelného šoku GP96 (HSPPC-96, Oncophage®), který je vyvíjen jako léčivo různých nádorů, včetně melanomu, plicního, kolorektálního, renálního, pankreatického

nádoru i nádorů ne-Hodgkinového lymfomu. K nejnovějším směrům výzkumu na tomto poli patří návrhy a studium imunizace konstrukcí transgenních organismů s možností imunizace obyvatelstva pouhou konzumací plodin nebo živočišných produktů.

Je nepochybné, že i vakcíny patří zařazením mezi biofarmaceutika i když o jejich chemické struktuře nejsou většinou kompletní informace, snad jen s výjimkou molekulové hmotnosti. O jejich specifikaci, nomenklatuře, pravidlech zařazení se prozatím diskutuje na odborných fórech, legislativa je již v USA zabezpečena cestou FDA.

## Proteiny, včetně peptidických hormonů

Do této skupiny je možné zařadit prakticky všechny dosud známé peptidické hormony a jejich obdoby, získané v posledních asi deseti letech většinou rekombinantní technologií.

Jednou z látek s největším zastoupením na trhu léčiv je pochopitelně inzulín, v dnešní podobě většinou jako rekombinantní lidský inzulín (např. Humulin®), ale i jeho obměny: *inzulín detemir* – neutrální inzulín vázaný na kyselinu myristovou vazbou na lysinu v řetězci B, v poloze 29, nahrazující v pozici B30 threonin. Tento inzulín má prodloužený účinek, *inzulín glargin* – rekombinantní inzulín s přidáním řetězce se dvěma molekulami argininu v terminální poloze, *inzulín glulisin* – rekombinantní inzulín se zaměněním lysinem v B26–B30 za kyselinu glutamovou.

Do této skupiny, ve které jsou opět zařazena jen některá léčiva, která jsou biofarmaceutiky, náleží i nové peptidy, například adrenomedullin – vasodilatační peptid s anti-oxidačním účinkem, protektivně působící





proti vysokému krevnímu tlaku, ischemiím i stárnutí a dalším stavům, kde oxidační stres sehrává důležitou roli a s předpokládaným mechanismem účinku na inhibici produkce reaktivních forem kyslíku a dusíku.

Silně jsou zastoupeny analogy somatostatinu, například pasireotid (SOM-230), u kterého se předpokládá využití při nádorové léčbě s proliferací endoteliálních buněk a vysokými hladinami somatostatinových receptorů.

Dalšími peptidy ve stadiu vývoje jsou např. antidiabetické peptidy, které jsou schopny zastavit autoimunní destrukci pankreatických  $\beta$ -buněk u diabetes mellitus typu 1. Látka s těmito účinky je prozatím označena NBI-6024. Jedná se o peptid s 15 aminokyselinami v molekule, nebo MBP-8298 se 17 aminokyselinami, který je ve 3. fázi klinického studia jako potenciální léčivo mnohočetné sklerózy. Pochopitelně, že těchto, zvláště kratších peptidů, je v různých stádiích klinického výzkumu celá řada.

Mycograb® je kombinovaný přípravek s docetaxelem určený pro léčbu metastazujících a opakujících se nádorů prsu. Je monoklonální protilátkou, navázanou na HSP-90 (protein tepelného šoku). Je také potenciálním léčivem invazivních kandidóz.

Mezi peptidové faktory GIT tzv. inkretiny patří *liraglutid* acylovaný derivát fragmentu GLP-1 (glukagon-like peptides) stimulující sekreci inzulinu nebo *exenatid* strukturálně podobný GLP-1, izolovaný z ještěrky *Heloderma suspectum*, *nesiritid* – rekombinantní lidský natriuretický peptid typu B, uplatňující se v regulaci kardiiovaskulární homeostázy u stavů s tlakovým a objemovým přetížením srdce. Bioléčivý jsou i různé antikoagulační látky, přímé deriváty heparinu (mukopolysacharidy), syntetické polysacharidy: *idraparin* nepřímý selektivní inhibitor faktoru Xa, antitrombotická látka, používaná preventivně při cévních tromboembolických příhodách a dále *fondaparinux* anebo hiru-din, polypeptid a jeho deriváty, které ovlivňují na určitých místech koagulační kaskádu.

Mezi proteiny, potenciální léčiva většinou ze skupiny inhibitorů NS3 a NS5 serinových proteas, je možné zařadit látky působící proti replikaci viru hepatitidy C (HCV). Těchto peptidů je dnes ve stadiu pokročilých vývojových fází několik desítek, dosud pod označením firmy a čísla např. SCH-6 (Schering-Plough) (3), modifikovaný nízkomolekulární peptid, inhibující výše zmíněnou NS3 serinovou proteázu a zvláště thymalfasin (Zadaxin®) peptid složený z 28 aminokyselin, který v kombinaci

Tabulka 1. Srovnání generik a „biosimilars“

| Generika                                                                                              | Biosimilar*                                                                                                                     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| chemicky a terapeuticky ekvivalentní, a to i v případě, že jsou vyráběna dle již expirovaných patentů | biologický produkt je srovnatelný, nikoliv totožný – identický s již existujícím biolécivem, u něhož patentová ochrana vypršela |

s ribavirinem a pegylovaným interferonem  $\alpha$  je používán na léčbu hepatitidy C.

### Enzymy jako léčiva

I když bychom měli zařadit enzymy do skupiny proteinů, je pravděpodobně přehlednější je ve skupině bioléciv uvádět samostatně. Mohou být rozděleny na enzymy „metabolické“ určené pro tzv. „enzyme replacement therapy“, kde jde o náhradu enzymů, chybějících z důvodů dědičné metabolické poruchy, například srážecí faktory pro léčbu hemofilie a enzymy s akutním terapeutickým použitím jako jsou přípravky snižující krevní srážlivost při akutním infarktu myokardu a další, se specifickými funkcemi v organismu, jakými mohou být antioxidační enzymy (super-oxidodismutasa, katalasa, glutathionreduktasa a další), které byly již jako samostatná léčiva terapeuticky využívány nebo enzymy, na jejichž využití se zvláště v modifikované formě čeká. Zřetelné snahy o zavedení do praxe jsou patrné u enzymů ovlivňujících vývoj diabetu a produkci inzulinu. Celá řada enzymů se stala pro léčbu infarktu myokardu a dalších vážných cévních onemocnění jedním z nejdůležitějších a život zachraňujících léčiv. Patří k nim: *alteplasa* – rekombinantní technikou připravený lidský aktivátor tkáňového plazminogenu, *tenekteplasa* – upravená molekula lidského tkáňového aktivátoru plazminogenu (*alteplasy*), produkovaná rekombinantní technologií se specifickým účinkem: aktivace plazminogenu při trombolytické léčbě infarktu myokardu, *saruplasy* – varianta urokinasy, *stafylokinasy* – rekombinantní aktivátor plazminogenu ze *Staphylococcus aureus*. Mezi další příklady enzymů náleží *streptokinasy*, *reteplasy*, *anistreplasy*, *urokinasy* a dále *agalsidasas*, enzym pro terapii Fabryovy nemoci, *alglukosidasas* (Myozyme®) při léčbě Pompeovy nemoci a další jako *amediplasy*, hybrid plazminogenního aktivátoru, používaná při léčbě infarktu myokardu s nízkou imunogenitou, zvláště srovnáním se streptokinázou, urokinázou a dalšími preparáty, které mají nízkou fibrinovou specifitu.

### Kombinace biofarmaceutik s jinými látkami a technologickými úpravami

Do praxe jsou rychle zaváděna léčiva jak peptidického charakteru (např. interferony),

tak i jiná léčiva, s výhodnější dostupností a s prodlouženými dávkovými intervaly. Jednu skupinu tvoří léčiva, kde účinná látka je navázána na polymer, např. polyetylen glykol.

Patří sem pegylované interferony: INF 2a, 2b (léčiva Pegasys®, Peginteron®), zavedená do praxe v r. 2004–2005 a určená pro léčbu hepatitidy C v kombinaci s ribavirinem nebo jeho prolécivem a dnes již nepoužívaným viremadinem a nověji studovaná kombinace i pro léčbu hepatitidy B s lamivudinem. V praxi je již i pegylovaný lysozomální doxorubicin (Caelyx®), léčivo ovarálního karcinomu, zkoušené dále u nádorů prsu a v řadě jiných indikací (3). Vyvíjeny jsou i jiné kombinace například albumin-INF- $\alpha$  v kombinaci s ribavirinem pro léčbu hepatitidy C a jiná léčiva, dříve používaná v různých indikacích, dnes navrhovaná v pegylované formě.

Kombinace monoklonálních protilátek s „klasickými“ nízkomolekulárními léčivými nebo toxiny je již poměrně staršího data. Experimenty probíhají více jak 20 let, s cílem dosažení cílového místa účinku použitého léčiva. Nověji jsou uváděny pokusy o vytvoření konjugátů monoklonální protilátky s nízkomolekulárními toxiny, s cíleným zásahem u nemocí ohrožujících život. Patří sem např. Mylotarg® *gemtuzumab*, imunotoxin vázající se na CD33 antigen a konjugovaný s antibiotikem calicheamicinem a nebo s pilokarpinem, určený pro léčbu myeloidní leukemie nebo Bexxa®, *tositumomab* a <sup>131</sup>I, kombinace pro léčbu ne-Hodgkinova lymfomu s minimálním ohrožením sousedních buněk při ozařování.

Do této skupiny je možné zařadit léčiva tvořená opět „klasickými“ nízkomolekulárními léčivem, navázanými na polymerní nosič nebo „trojkombinací“, kde je léčivo navázáno na polymerní nosič a monoklonální protilátku. Příkladem mohou být přípravky, u kterých je např. doxorubicin navázán na hydroxypropyl metakrylát a na odpovídající MnP (7, 6). Dále je možné sem zařadit kombinace s fotosenzitizátory diagnostickými, kromě jiného, přesně cílové místo zásahu a koncentraci léčiva v určité subbuněčné části, buňce nebo tkáni. V některých případech buňku označí, v některých umožní přímou reakci v místě zásahu. Dnes je též známých asi 400 signálních molekul, které mohou specifikovat některé komunikační

cesty mezi buňkami a v kombinaci s MnP nebo cytokiny zabezpečit mnohem účinnější terapii, zejména nádorů.

Poslední skupinou s možným zařazením mezi bioléciva, která se do jisté míry předchozímu rozdělení vymykají, jsou návrhy léčiv složených ze sekvencí DNA, např. Gendicin, rekombinantní humánní adenovir, který obsahuje DNA sekvence antionkogenu p53, geneticky zabezpečující vzestup proteinu p53 a vedoucí ke zpomalení nádorového růstu a k apoptóze. Bioléciva budou i přípravky tvořené nanočásticemi, nasměrovanými do nádoru, ve kterém koncentrují například blízké IČ záření a teplem poškozují cíleně rakovinné buňky resp. je usmrčují.

### Problematika „biosimilars“

Konec platnosti některých patentů na výrobu biologických léčiv tj. 15–20 let po přihlášce patentu (v jednotlivých zemích časově rozdílné), dochází k výrobě bioléciv, v Evropě nazývaných biosimilars, v USA „follow-on protein drugs“, jakýchsi biologických generik, obdoby generik chemických léčiv typu malých molekul. V současnosti však nejde zajistit, aby dva výrobci produkovali identická bioléciva. V nejlepším případě mohou být podobná neboli bioekvivalentní tj. se stejným kvalitativním a kvantitativním složením, s obsahem „stejně“ aktivní látky. V EU je odpovídajícím legislativním orgánem EMEA (European Agency for the Evaluation of Medicinal Products), v USA FDA (Food and Drug Administration). V EU je kladen důraz na preklinické a klinické testování nových bioléciv, v USA je dosud problematika nejasná a to zejména z důvodů vyhlášek starého data a chybějících inovací vyhlášek, dotýkajících se bioléciv.

Postup zavádění bioléciv se tím rozšířil o nové a zcela specifické problémy, které vyplývají již ze složité struktury biologických terapeutik, zejména velké molekulové hmotnosti a dalších skutečností, které u malých molekul-klasických, chemicky definovaných léčiv nebyly.

Z analytických hledisek jsou bioléciva 10–100 násobně méně charakterizovatelná než tzv. malé molekuly. Prozatím nelze prediktivně určovat jejich biologickou účinnost ani obvyklými fyzikálně-chemickými metodami, přičemž i malé strukturální změny mají velký vliv na biologickou aktivitu. Výroba bioléciv je vysoce citlivá i na nepatrné změny výrobních podmínek. Vzhledem k obtížnosti kompletní charakterizace těchto velkých molekul analytickými metodami, je obtížné i deklarovat jejich stejné složení a strukturu. Mezi nejzávažnější problémy patří nežádoucí imunogenita bioléciv resp. jejich imunogenní potenciál. Změny nemusí vyplývat jen z výrobních podmínek a z přítomnosti nových epitopů např. micel. Může docházet k agregaci proteinů, jejich denaturaci a nebo k obsahu cizích proteinů. Tím se zejména odlišují bioléciva od klasických chemických léčiv – malých molekul a je potřebné zvážit, zda a kdy jejich léčebná hodnota převyšuje rizika.

Na rozdíl od podobných generik malých molekul, s nízkou molekulární hmotností, definovaných chemických látek, se strukturou přesně specifikovanou a analyticky detekovatelnou, se v případě biosimilars jedná o kopie látek, nikoliv vždy identických s originálním produktem a při terapii je nutné s těmito riziky počítat. Odlišný přístup k přípravě, heterogenita proteinů, rozdíly v predikci klinického účinku a v dalších vlastnostech bioléciv vycházejí ze zcela odlišného způsobu přípravy a jsou určitým následkem nestejně identity a vlastností biosimilars.

Rozdíly klasických malých molekul a bioléciv jsou uvedeny v následující tabulce 1.

Z uvedených důvodů je potřebné zvážit, zda léčebná hodnota převyšuje potenciální riziko.

### Závěr

Biologická terapeutika jsou již důležitou součástí farmakoterapie a nepochybně jejich počet, jako léčiv zaváděných do praxe, bude nadále rychle narůstat. Svědčí o tom nejen ekonomická stránka této oblasti, ale i určité úspěchy při léčbě nemocí, které jsou dodnes považovány za obtížné zvládnutelné nebo dosud neléčitelné. Biologická terapeutika – bioléciva se stanou v příštích 20–30 letech reprezentativní a významnou skupinou biologicky aktivních látek, které svou nekonečnou variabilitou umožní specifikovat místo zásahu v organismu i procesy, které se na určitém místě nebo v celém organismu odehrávají. Z hlediska bezpečnosti a účinnosti však představují určitá rizika a to zvláště u tzv. „biogenerik“ (biosimilars), u kterých identita s původními biolécivy není pravděpodobně zcela totožná, navíc většina biofarmaceutik má imunogenní potenciál. Přes tyto změny ve skladbě léčiv prozatím nejsou a ještě dlouho nebudou plnohodnotnou náhradou dosud používaných „klasických“ syntetických léčiv – farmaceutik (malých molekul), které budou, vzhledem ke své většinou nenáročné přípravě a někdy i vysoké specifitě, v terapii nepostradatelné.

prof. RNDr. Luděk Beneš, DrSc.

Ústav chemických léčiv,  
Farmaceutická fakulta VFU  
Palackého 1/3, 612 42 Brno  
e-mail: benesl@vfu.cz

### Literatura

1. Ainsworth S. Chem. Eng. News 2005; 6: 21.
2. Bogen SL, et al. Abstr. MEDI-175, 230th ACS Meet., Aug 28–Sept 1, Washington 2005.
3. Hroudová M. Bioprospect 2004; 14: 14–16.
4. <http://www.dailydrugnews.com> (Staženo srpen, září 2005.)
5. INN Working Document, (General English Only) 2007; 5: 179.
6. Kopeček J. Mol. Pharmac. 2005; 1: 174.
7. Říhová B. Mezinárodní seminář Biofarmacie a její možnosti v České republice po vstupu do Evropské unie, 21. 4. 2005, Praha.

