PQI-2555 Processos Biotecnológicos

Módulo: Produção de Proteínas Recombinantes - PPR

Aula 01 - Introdução

Agosto de 2023

Sumário da Aula

- **Introdução: Proteínas Recombinantes como Biofármacos**
  - Um Breve Histórico
  - Proteínas Recombinantes no Mercado Farmacêutico
  - Exemplos de Empresas Produtoras de Biofármacos e Estrutura Organizacional
  - Panorama Atual da Produção de rProteínas no Brasil
  - Novos Biofármacos e Biossimilares

Introdução: Tecnologia do DNA Recombinante e a Produção de Biofármacos

Uma Breve História...

1953 – Watson e Crick e a estrutura do DNA

1962 – Endonucleases clivam DNA não protegido

1968 – Purificação da primeira endonuclease de restrição (*Hind*II)

1970´s – Desenvolvimento das primeiras técnicas de manipulação do DNA

1975 – Conferência de Asilomar

1982 – Primeira proteína recombinante no mercado (insulina humana)

1983 – Kary Mullis e o PCR

1986 – Primeira rProteína comercial produzida em células de mamífero (ativador do plasminogênio tecidual - tPA) e primeiro anticorpo monoclonal aprovado.

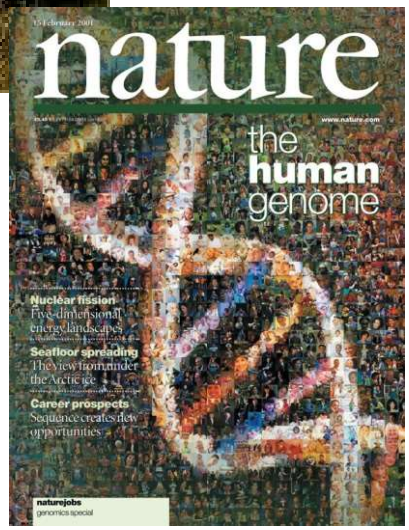
1990´s – Primeiros estudos de terapia genética

1990´s – Primeiras plantas transgênicas

1996 – Primeiro mamífero clonado

1999 – Protocolo de Cartagena

2000 – Sequenciamentos do genoma humano
e do primeiro fitopatógeno, a *Xylella fastidiosa*



2004 – Primeiro medicamento no mercado voltado à terapia gênica (Gendicine, Sunway, China)

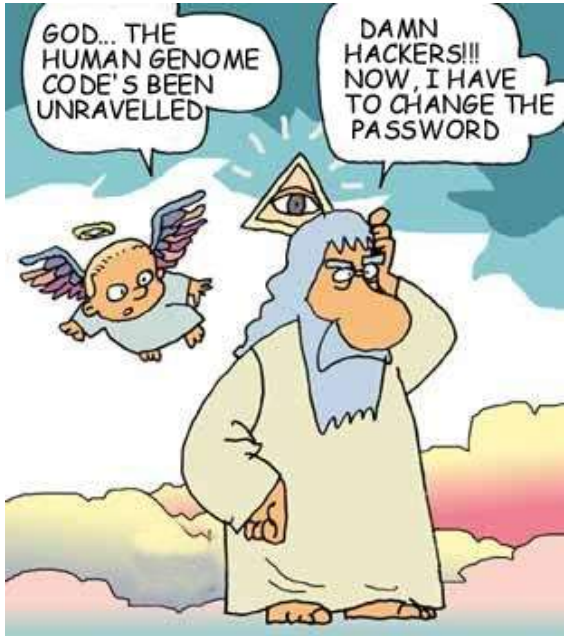
2012 – Primeiro medicamento voltado à terapia gênica aprovado no ocidente (Glybera, UniQure, EMA)

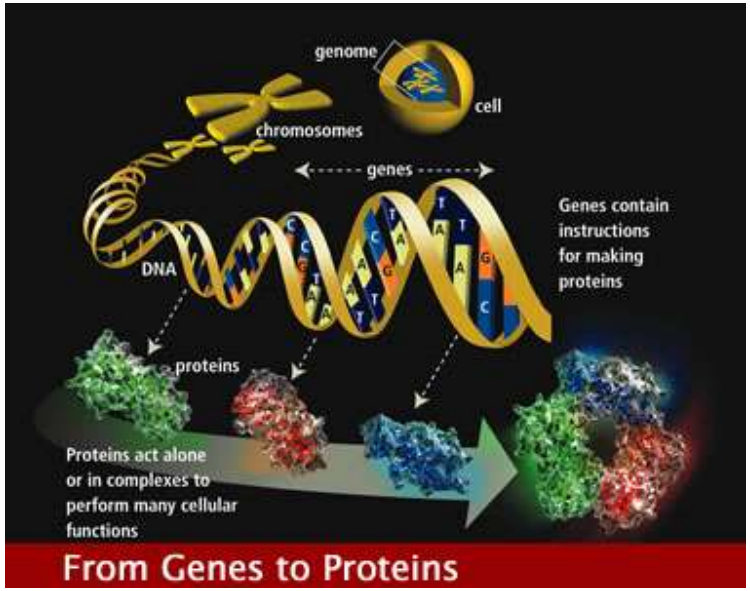
2017 – FDA aprova os primeiros medicamentos de imunoterapia usando CAR-T cells (“chimeric antigen receptor T cells”) contra leucemia linfoblástica e linfoma.

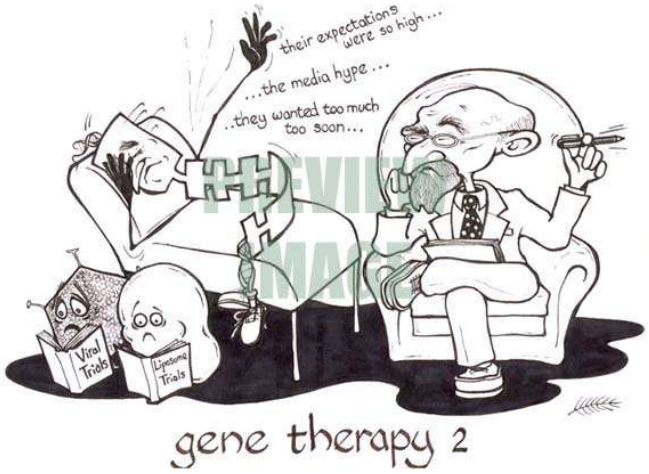
2000´s – até hoje – Avanço dos programas de sequenciamento de genomas

Cada célula humana contém:

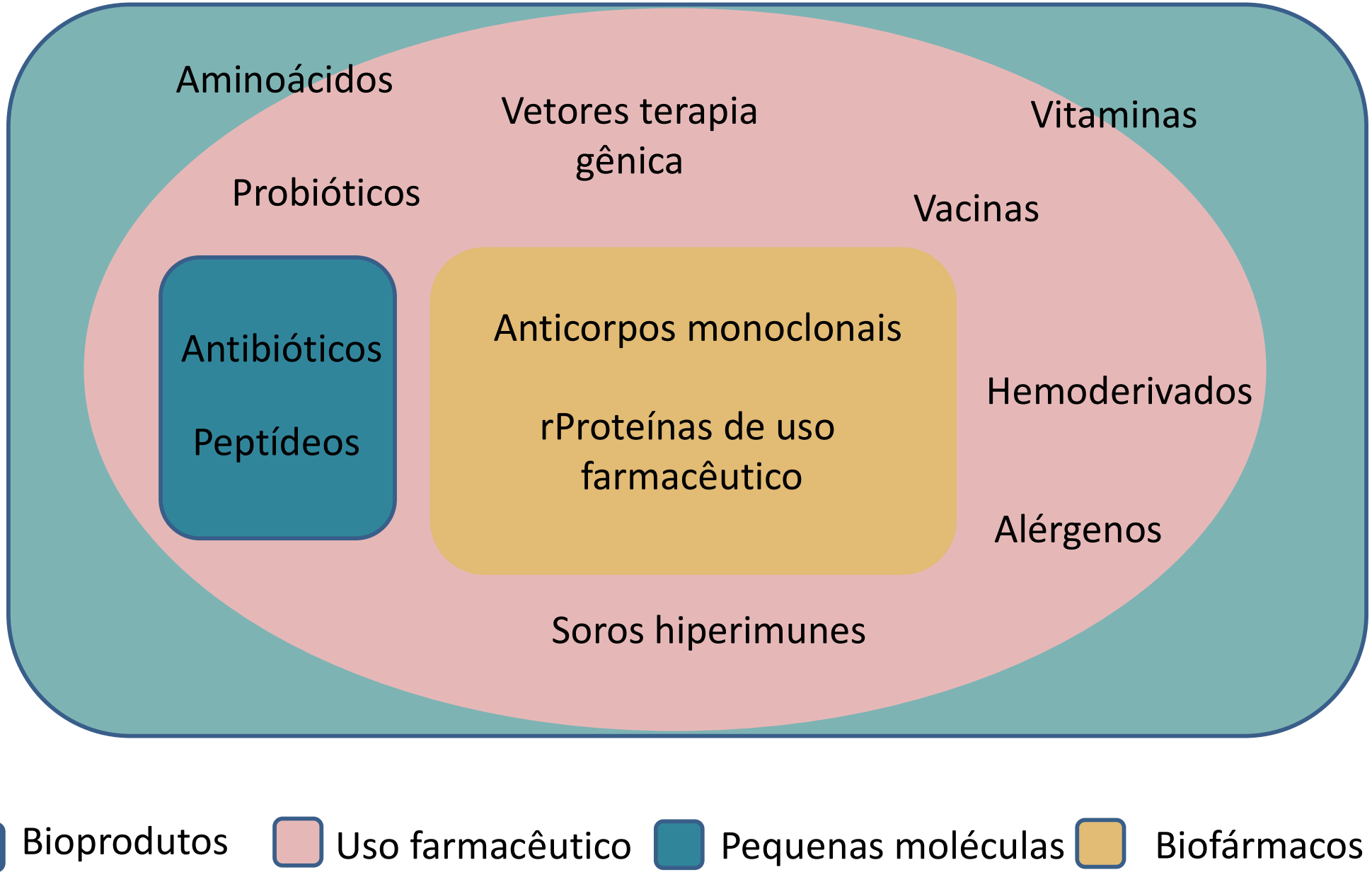
- 46 cromossomos
- 2 metros de DNA
- 3 bilhões de pares de bases (pb)
- 30000 (?) genes que codificam para proteínas







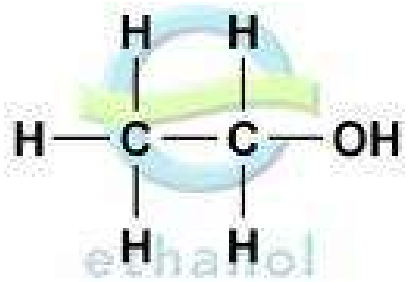
Classificação e Nomenclatura: Produtos Biotecnológicos



Proteínas Recombinantes

Proteínas derivadas de DNA modificado com uso de técnicas de manipulação genética.

Principais Aplicações:

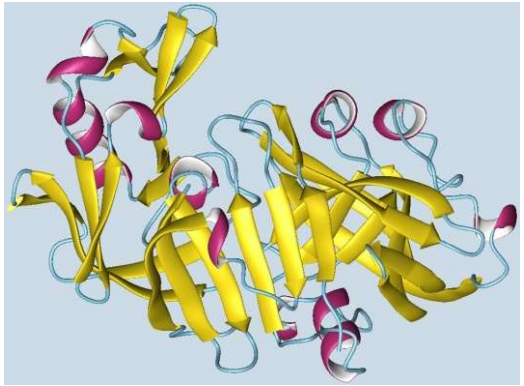


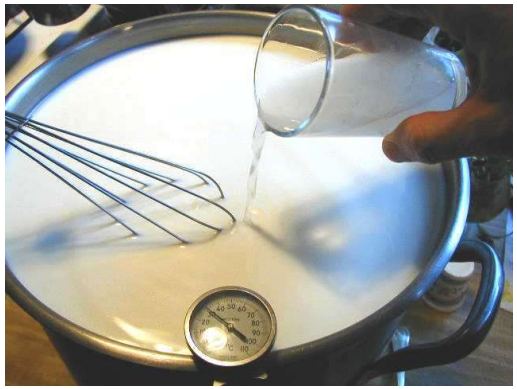
- Pesquisa básica

- Processos da indústria química

- Indústria de alimentos

- **Terapêuticas, vacinas, kits de diagnóstico**





Principais Proteínas Recombinantes no Mercado Farmacêutico

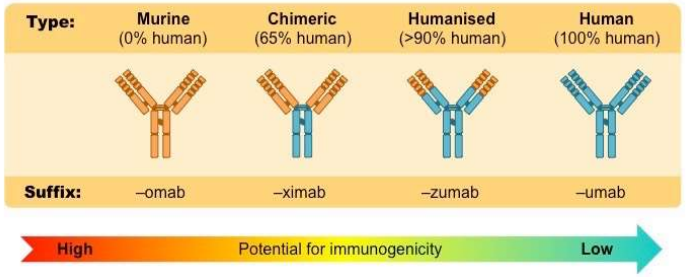
Substitutas de fonte humana ou animal

- Insulina humana (Eli Lilly e Novo Nordisk, entre outros)
- Hormônio de crescimento humano (rhGH) (Eli Lilly)
- Hormônio estimulante de folículo (FSH) (Serono)
- Fator VIII (Bayer)

Produzidas apenas na forma recombinante

- Eritropoietina (EPO) (Amgen)
- Interferon (IF) Interferon-β-1a (Biogen Idec); Interferon-β-1b (Schering)
- Fator estimulante de colônia granulócitos (G-CSF) (Amgen e Genzyme)
- α-L-iduronidase (rhIDU) (BioMarin Pharmaceutical e Genzyme)
- N-acetilgalactosamina-sulfatase (rhASB) (BioMarin Pharmaceutical)
- Dornase α (DNase) (Genentech)
- Glicocerebrosidase (Genzyme)
- Ativador de plasminogênio de tecido (TPA) (Genentech)
- Proteína de envelope do vírus da hepatite B (SmithKline Beecham)

Anticorpos Monoclonais (recombinantes ou não)



Biofármacos no Mercado Mundial

Table 3 The 20 top-selling biopharmaceutical products in 2017

Rank	Product	Sales, 2017 ($ billions)[a]	Cumulative sales, 2014–2017 ($ billions)	Year first approved	Company	Patent expiry[b]	Biosimilar version(s) approved
1	Humira (adalimumab; anti-TNF)	18.94	62.6	2002	AbbVie, Eisai	2016 (US) 2018 (EU)	Halimatoz/Hefiya/Hyrimoz, Amgevita/Amjevita/Solymbic, Cyltezo, Imraldi
2	Enbrel (etanercept; anti-TNF)	8.34	35.4	1998	Amgen, Pfizer, Takeda Pharmaceuticals	2015 (EU) 2028 (US)	Erelzi, Benepali
3	Rituxan/MabThera (rituximab; anti-CD20)	7.78	29.1	1997	Roche, Biogen Idec	2013 (EU) 2016 (US)	Blitzima/Truxima, Ritemvia, Rituzena, Rixathon/Riximyo
4	Remicade (infliximab; anti-TNF)	7.77	35.6	1998	Johnson & Johnson, Merck, Mitsubishi Tanabe Pharma	2015 (EU) 2018 (US)	Zessly, Ixifi, Renflexis/Flixabi, Inflectra/ Remsima
5	Herceptin (trastu-zumab; anti-HER2)	7.39	27.1	1998	Roche	2014 (EU) 2019 (US)	Herzuma, Kanjinti, Trazimera, Ogivri, Ontruzant
6	Avastin (bevaci-zumab; anti-VEGF)	7.04	27.0	2004	Roche	2017 (US) 2019 (EU)	Mvasi
7	Lantus (insulin glargine)	6.72	27.4	2000	Sanofi	2014 (EU & US)	Semglee, Lusduna, Abasaglar/Basaglar
8	Eylea (aflibercept; anti-VEGF)	5.93	18.0	2011	Regeneron, Bayer	2020 (EU) 2021 (US)	
9	Opdivo (nivolumab; anti-PD-1 receptor)	5.79	11.4	2014	Bristol-Myers Squibb, Ono Pharmaceutical	2027 (US) 2026 (EU)	
10	Neulasta (pegfilgrastim)	4.53	20.1	2002	Amgen, Kyowa Hakko Kirin	2014 (US) 2015 (EU)	Fulphila
11	Stelara (ustekinumab; anti-IL-12 & IL-23)	4.01	12.2	2009	Janssen Cilag (Johnson & Johnson)	2023 (US) 2024 (EU)	
12	Keytruda (pembroli-zumab, anti-PD-1)	3.81	5.7	2014	Merck	2036 (US) 2028 (EU)	
13	Prolia/Xgeva (deno-sumab, anti-RANKL)	3.54	11.6	2010	Amgen	2025 (US) 2022 (EU)	
14	Lucentis (ranibi-zumab; anti-VEGF)	3.38	14.3	2006	Roche, Novartis	2016 (EU & US)	
15	Novolog/Novorapid (insulin aspart)	3.31	11.7	1999	Novo Nordisk	2015 (EU & US)	
16	Soliris (eculizumab; anti–C5 complement protein)	3.14	10.7	2007	Alexion Pharmaceuticals	2021 (US) 2020 (EU)	
17	Simponi (golimumab; anti-TNF)	2.94	9.7	2009	Merck, Janssen, Mitsubishi Tanabe	2024 (EU & US)	
18	Humalog mix 50:50 (insulin lispro)	2.86	11.3	1996	Eli Lilly	2014 (US) 2015 (EU)	Insulin lispro Sanofi
19	Xolair (omalizumab) anti-IgE	2.75	8.7	2003	Roche, Novartis	2017 (EU & US)	
20	Aranesp/Nesp (darbe-poetin alfa)	2.62	10	2001	Amgen, Kyowa Hakko Kirin	2016 (EU) 2024 (US)	

[a]Financial data from La Merie Business intelligence. [b]Patent data from various sources, including http://www.gabionline.net/Biosimilars/General/Biologicals-patent-expiries.
HER2, human epidermal growth factor receptor 2; IgE, immunoglobulin E; IL, interleukin; PD-1, programmed cell death receptor 1; RANKL, receptor activator of nuclear factor-κB ligand; VEGF, vascular endothelial growth factor.

Faturamento total estimado em US$ 200 bi (2017)

Fonte: Walsh G., 2018

Caixa de entrada (9.708) - ad | Universidade de São Paulo - | Meu Drive - Google Drive | Cópia de Proposta Disciplina | humira preço - Google Shop

google.com/search?q=humira+preço&source=lnms&tbm=shop&sa=X&ved=2ahUKEwiQn4Tkrc_9AhWMCbkGHRkwDtoQ_AUoAXoECAEQAw&biw=1366&bi...

Adsorption of albu... | Various methods of... | Requerimento de p... | Development of Su... | e-Aulas da USP :: B... | 2.1 - Como utilizar... | Orientação sobre u... | edisciplinas Univers...

Google

humira preço

Eli Lilly
Sandoz
Pfizer

Frete e devoluções
Devolução gratuita

Vendedor
Drogaria São Paulo
Vip Farma

Humira Ac 40mg Com 2 Blister De 0,4ml + Lenço Umedecido ...

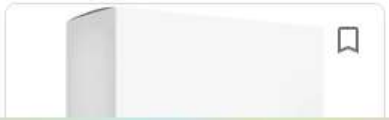
Para que Humira AC é indicado? Este medicamento é destinado ao tratamento de Artrite Reumatoide, Artrite Psoriásica, Espondiloartrite Axial, Doença de Crohn, Colite Ulcerativa ...

Toalheta · Artrite · Psoríase

Ver detalhes do produto

R$ 13.757,05

Vip Farma
Entrega de R$ 25,00
4,6/5 ★ (64)



Pesquisar

100% | 27°C Chuva fraca | 14:21 09/03/2023

Importância dos biofármacos e o lançamento de novas moléculas

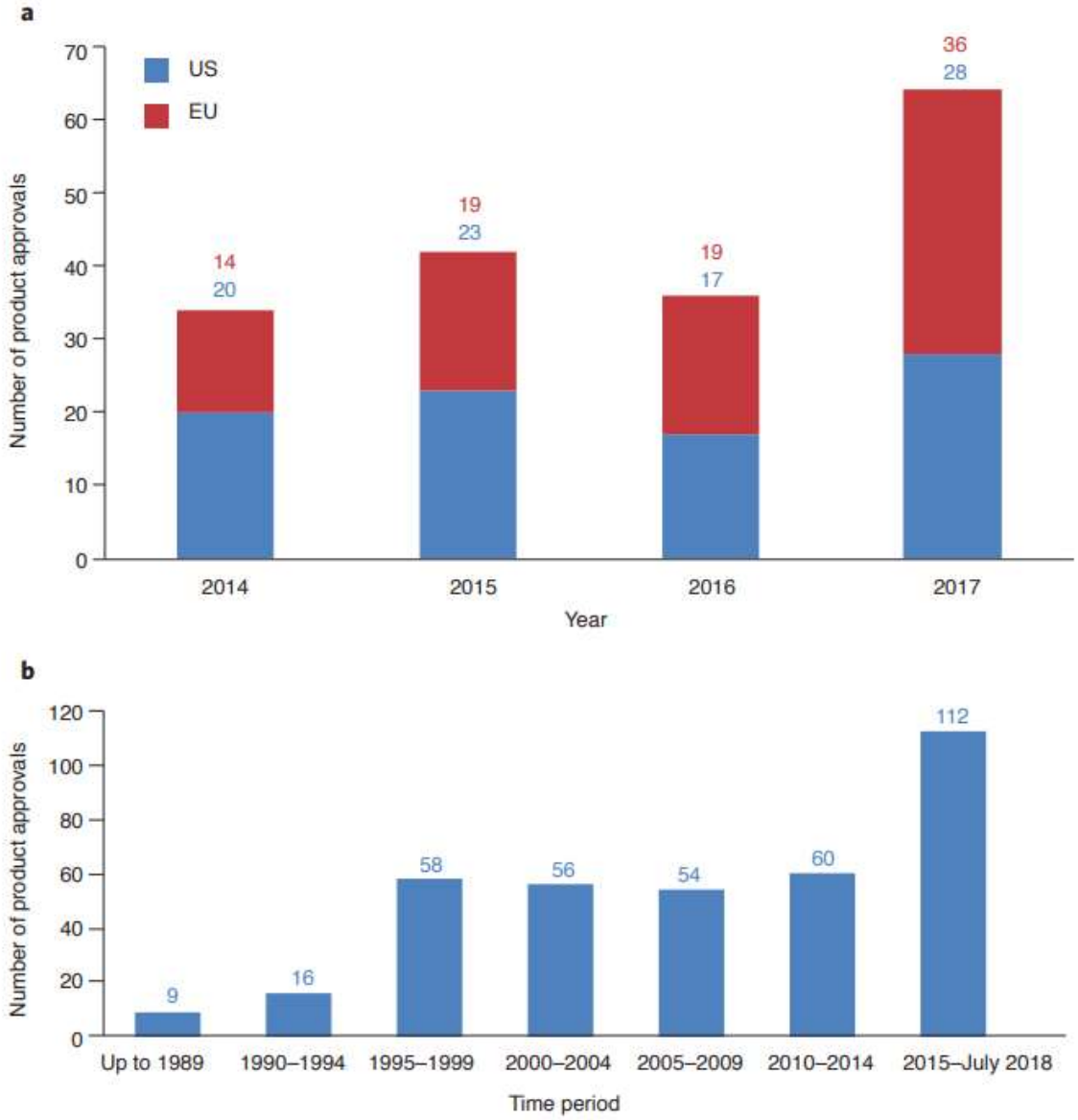


Figure 1 Product approvals profile. (**a**) Annual product approval numbers (by product trade name) by individual region. (**b**) Number of product approvals in one or both regions over the indicated periods.

Fonte: Walsh G., 2018

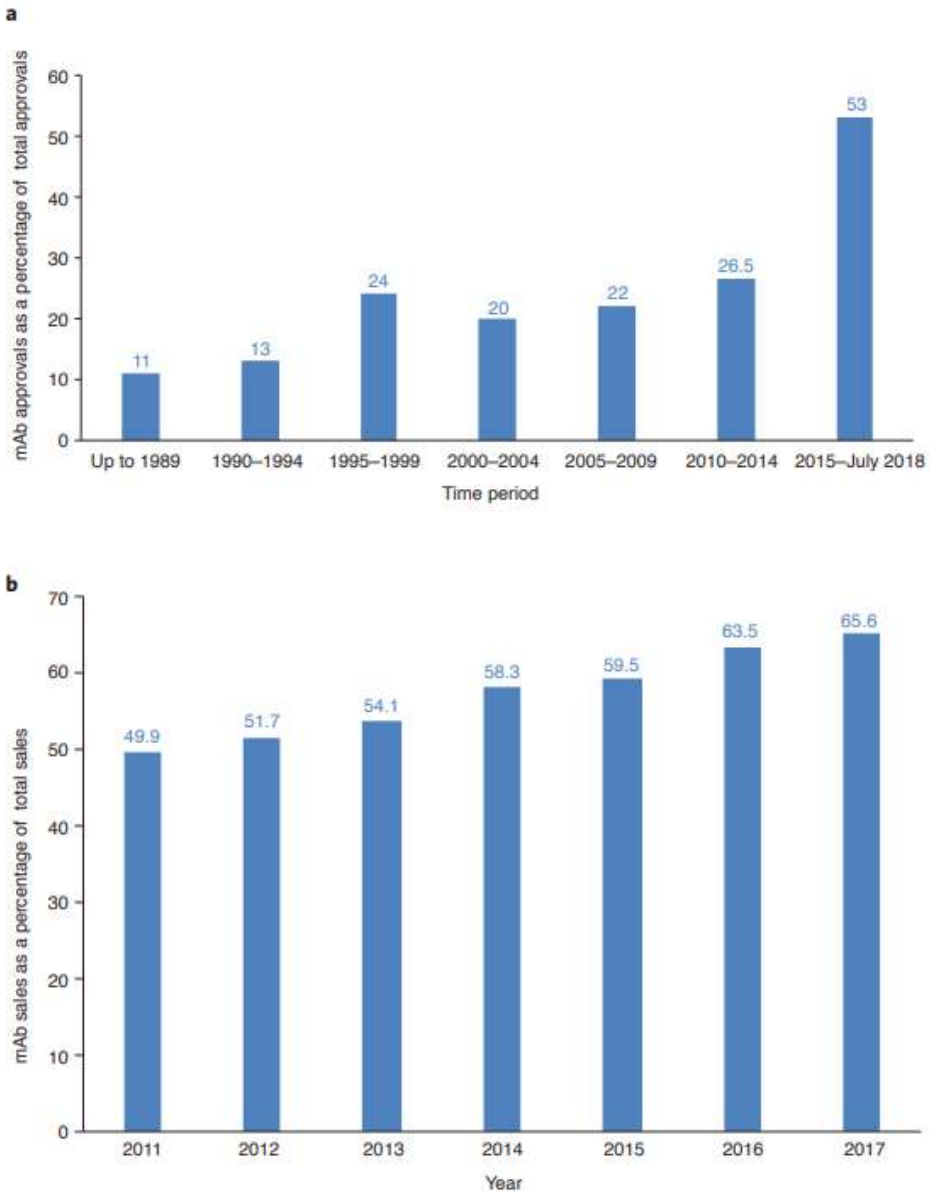


Figure 2 Overview of mAb approvals. (**a**) mAbs approved for the first time in the indicated periods, expressed as a percentage of total biopharmaceuticals approved for the first time in the same time period. (**b**) mAbs global annual sales value expressed as a percentage of total biopharmaceutical global sales for the indicated years. Financial data from La Merie Business Intelligence.

Fonte: Walsh G., 2018

Novo produto:
Em média 10 anos de desenvolvimento
e US$ 800 mi em investimento

Empresas de Biofármacos e Estrutura Organizacional

Principais Características

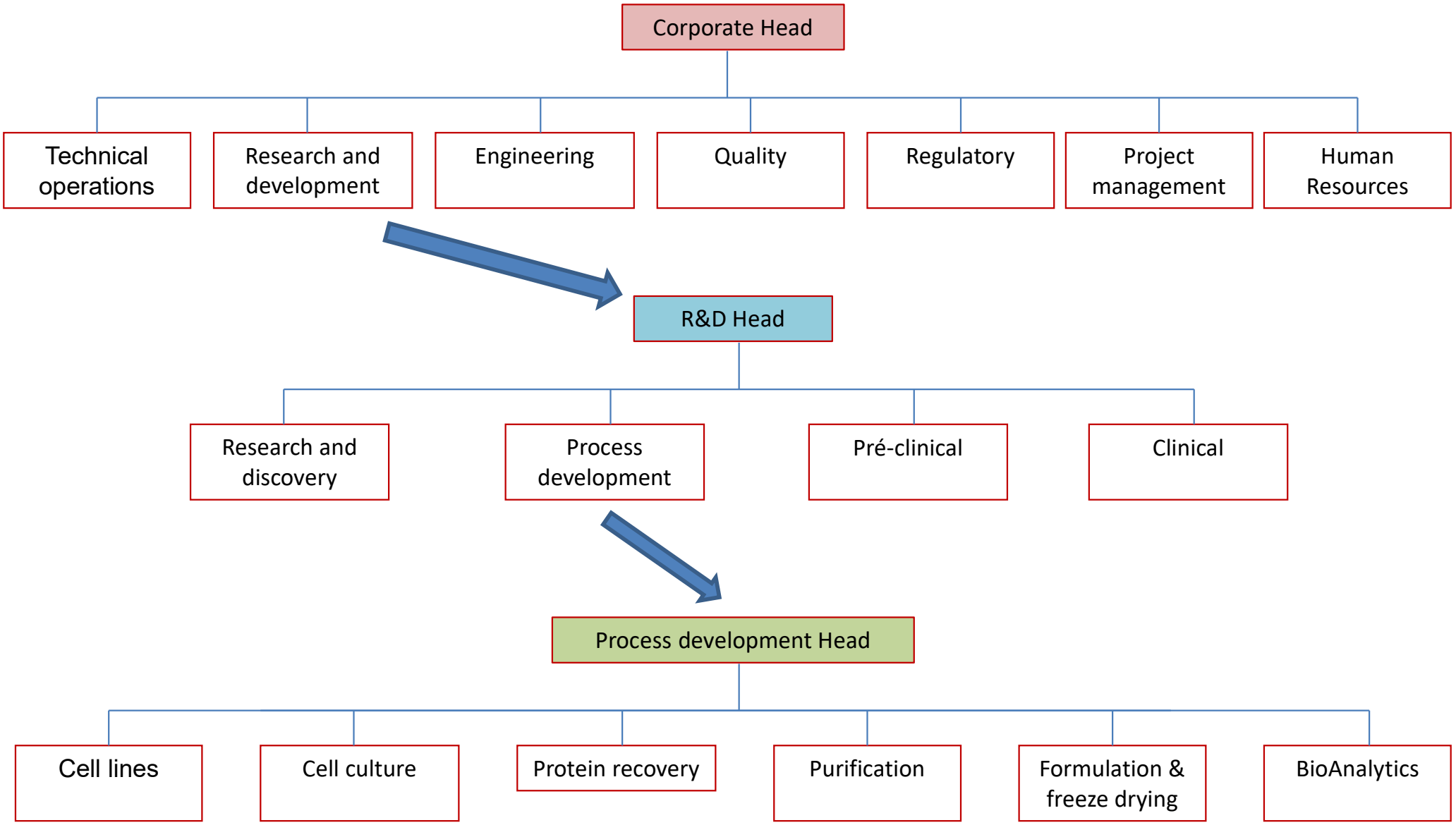
- Alta tecnologia e interdisciplinaridade
- Muitas vezes nascem como “spin-offs” de universidades
- Elevado aporte de capital
- Altos custos de pesquisa e desenvolvimento
- Mão de obra altamente especializada (competição por profissionais qualificados)
- Poucos produtos e longo tempo de desenvolvimento de novos produtos
- Associações com grandes companhias farmacêuticas tradicionais (eventualmente, fusões)

genzyme
A SANOFI COMPANY

Exemplo: Genzyme

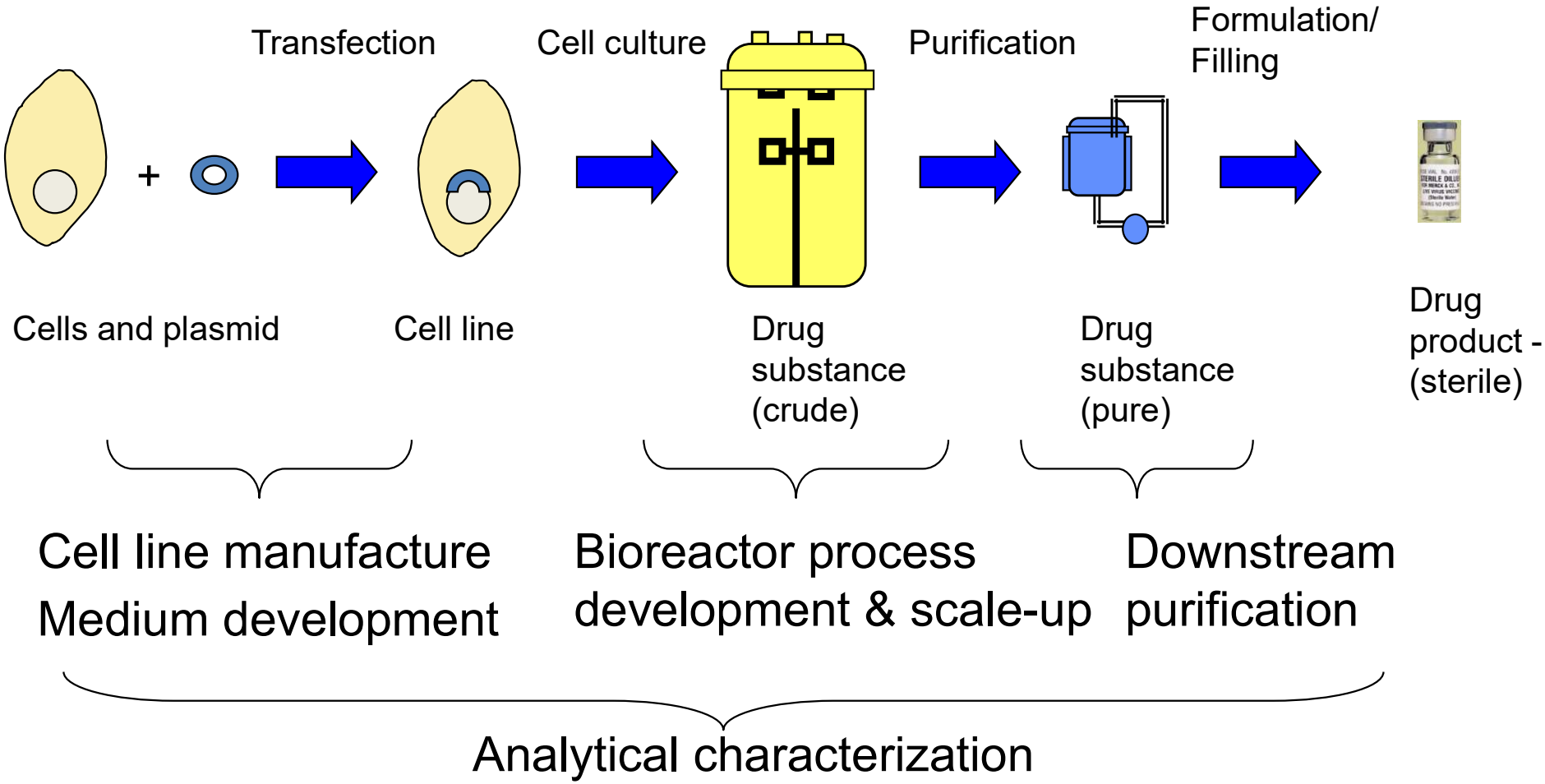
- Mais de 11.000 empregados no mundo
- Vendas em aproximadamente 100 países
- Dezessete sítios de manufatura
- Dezesseis produtos principais
- Faturamento de US$ 4,5 bilhões em 2009
- Quatrocentos pesquisadores dedicados à P&D
- 20% da receita destinada à P&D

Exemplo de Estrutura Organizacional de uma Empresa da Área



Fonte: Dr. K. Konstantinov, Genzyme (2008)

Exemplo de Desenvolvimento de Bioprocesso na Área de Biofármacos



Produção de Biofármacos no Brasil

Overview da situação atual

- Produção de rProteínas em instituições públicas voltadas à produção de imunobiológicos (Fiocruz, Butantan, Funed, etc).
- Desenvolvimentos em empresas pequenas, geralmente fruto de "spin-offs" de universidades. Alguns exemplos são a Biomm, a Nanocore, a BioBreyer, etc.
- Apoio governamental para o estabelecimento de empresas de biotecnologia no país (Fapesp, Finep, BNDES, CNPq). Considerada área estratégica pelo governo federal.
- Mais recentemente, grandes farmacêuticas nacionais interessaram-se pelos biofármacos e estão investindo em novas plantas através de **Parcerias para o Desenvolvimento Produtivo (PDPs)** com laboratórios públicos.

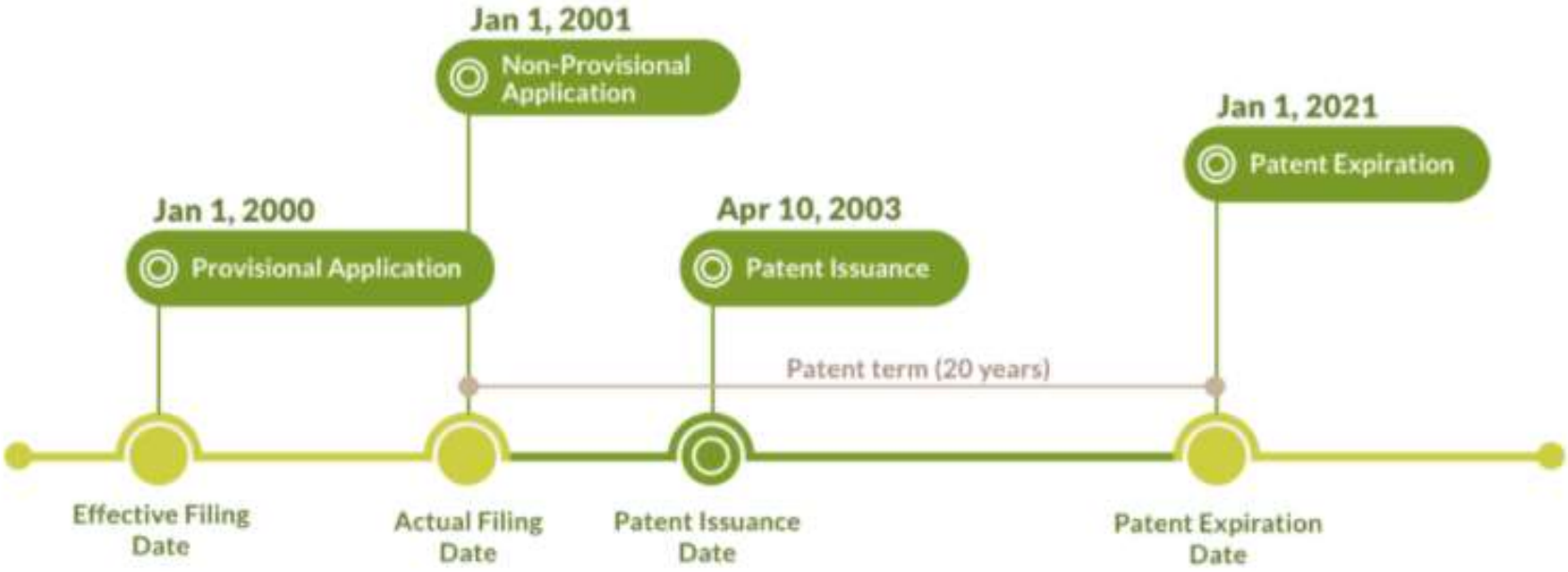
"No ano passado, o Ministério da Saúde gastou R$ 3 bilhões com biofármacos, que representam apenas 10% da quantidade de medicamentos adquiridos para o Sistema Único de Saúde (SUS), mas consomem 60% da verba destinada às compras." (Valor Econômico, 27/11/2017)

A questão dos “biosimilars”, “interchangebles”, “follow-on proteins” , “later generation proteins”…

Compilação de alguns biofármacos com patente vencida

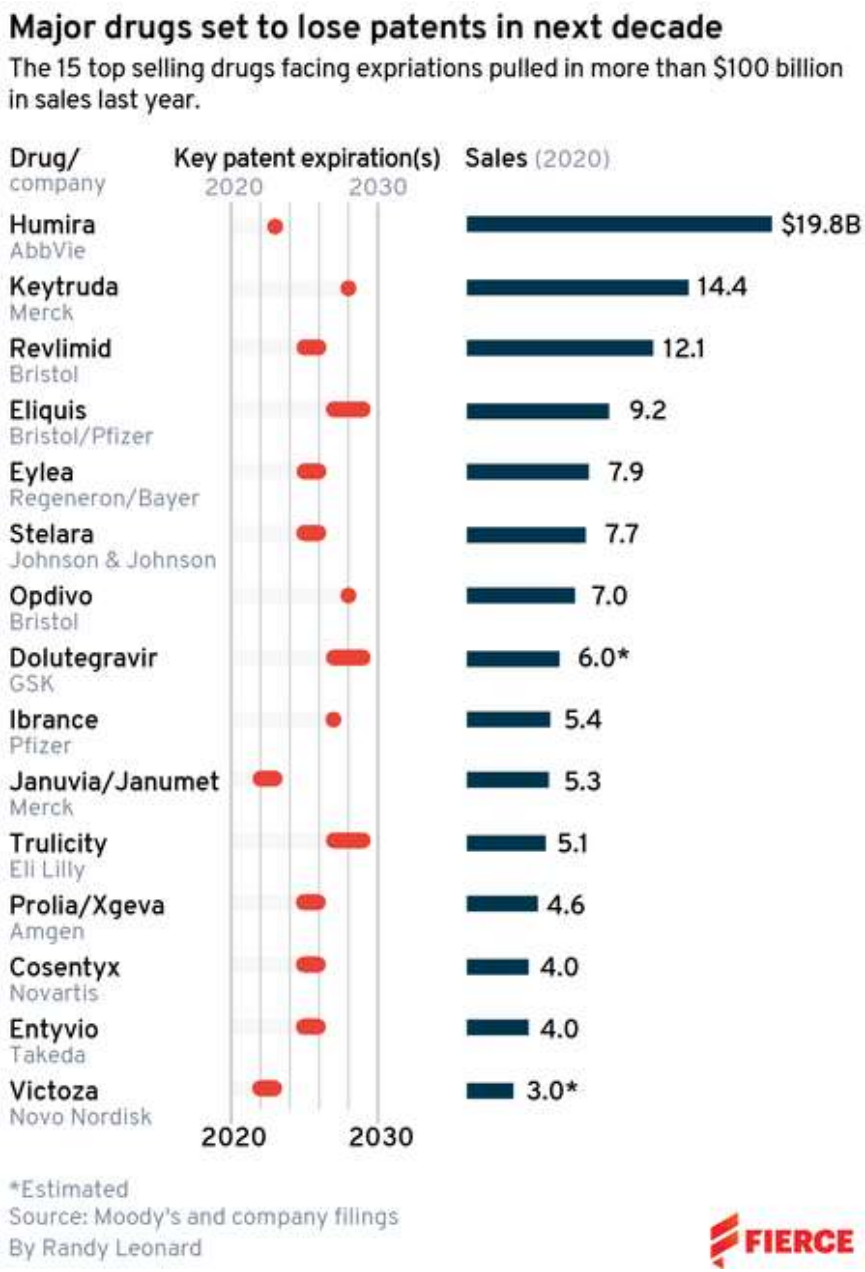
Nome comercial	Produtor	Nome comum ou descrição	Vencimento da patente
Humulin	Eli Lilly	insulina humana recombinante	2001
Ceredase	Genzyme	alglicerase	2001
Intron-A	Schering	interferon alfa-2b	2002
Humatrope	Eli Lilly	somatrofina (hGH)	2003
Nutropin	Genentech	somatrofina (hGH)	2003
Activase	Genentech	alteplase	2005
Protropin	Genentech	somatrofina (hGH)	2005
Rebif	EMD Serono/Pfizer	interferon beta-1a	2005
Epogen,Procrit	Amgen/Ortho Biotech	epoetina-alfa (eritropoetina sintética)	2006
Neupogen	Amgen	filgrastima	2006
Avonex	Biogen	interferon beta-1a	2006
Cerezyme	Genzyme	imiglicerase	2006
Enbrel	Immugene/Wyeth-Ayerst	etanercepte	2006
Betaseron	Bayer	interferon beta-1b	2007

Patentes…



The basic timeline for a U.S. utility patent after the Uruguay Round Agreements.

Fonte: https://www.inquartik.com/inq-patent-expiration-date/

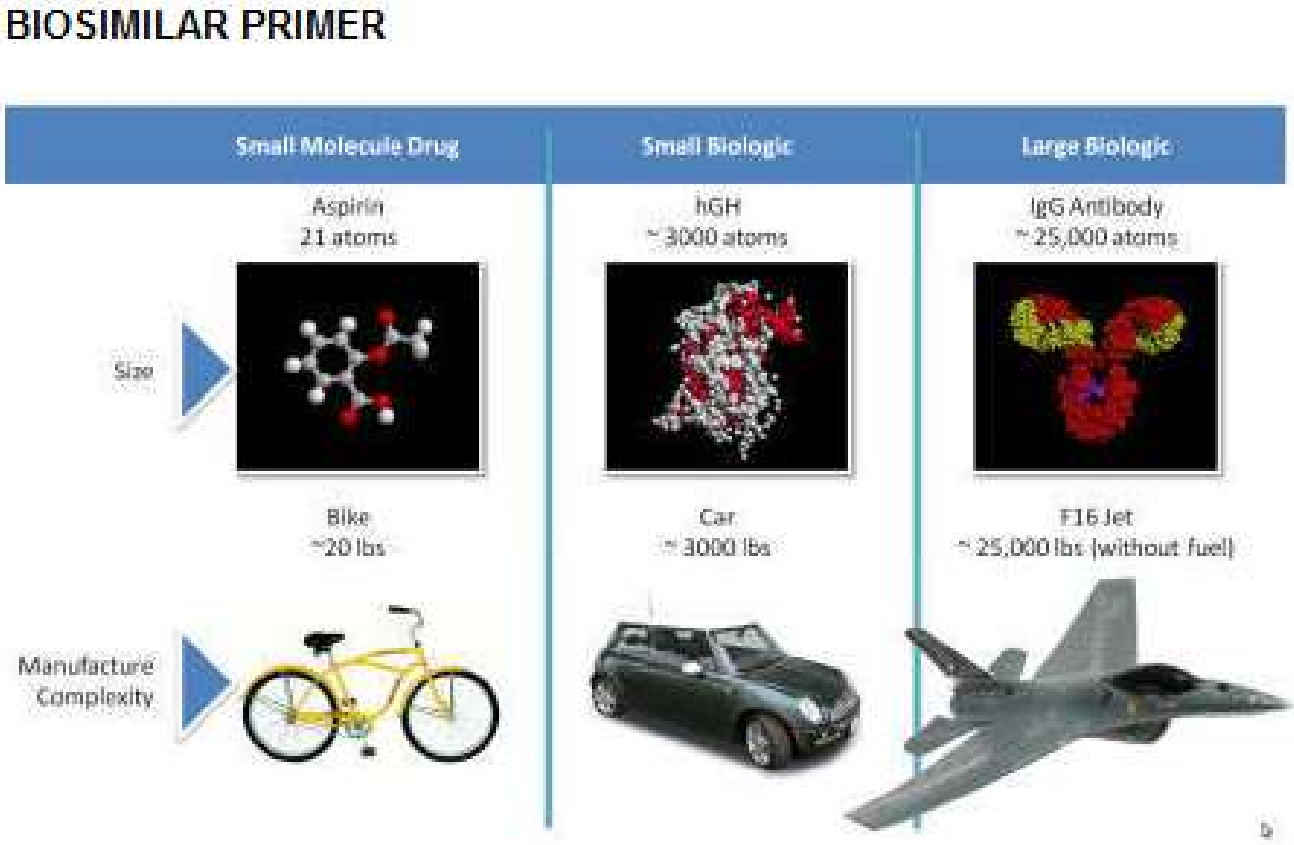


Fonte: https://www.fiercepharma.com/special-report/top-15-blockbuster-patent-expirations-coming-decade

NOVAS PDPs

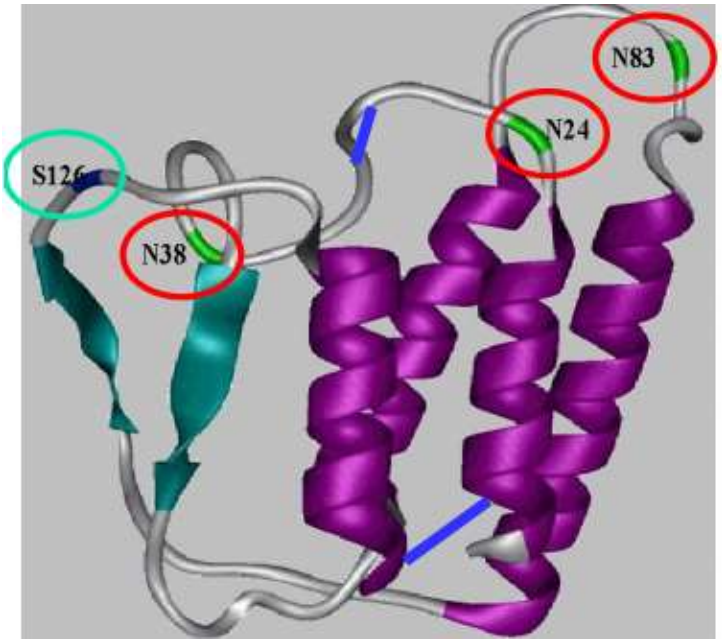
Indicação	Produto	Parceiros Públicos	Parceiros Privados
Oncológico	Trastuzumabe	Bahiafarma Biomanguinhos IVB	Libbs, Mabxience Orygen,Alteogen PharmaPraxis
	Cetuximabe	IVB,Biomanguinhos Butantan	Bionovis Libbs, Mabxience
	L-asparaginase	Fiocruz	NT Pharma United Biotec
	Filgrastima	Biomanguinhos	Eurofarma
Oncológico/Artrite Reumatóide	Rituximabe	IVB, Biomanguinhos Butantan	Bionovis Libbs, Mabxience
Artrite Reumatóide	Adalimumabe	Biomanguinhos IVB Bahiafarma	Orygen,Alteogen PharmaPraxis Libbs, Mabxience
	Certolizumabe	Biomanguinhos	UCB Pharma, Meizler
	Etanercepte	IVB, Biomanguinhos Butantan Bahiafarma	Bionovis Libbs, Mabxience Orygen,Alteogen
	Infliximabe	IVB, Biomanguinhos	Bionovis
Diabetes	Insulina	Farmanguinhos Farmanguinhos	Biomm Indar
Hormônio do Crescimento	Somatropina	Biomanguinhos Funed	Cristália Pfizer
ONCOLÓGICO/Degeneração Macular Relacionada à Idade	Bevacizumabe	Tecpar Butantan Biomanguinhos IVB	Biocad Libbs, Mabxience Orygen,Alteogen Bionovis
Cicatrizante	Cola fibrina	Hemobrás, IBMP	Cristália
Imunoterapia	Vacina Alergênica	Bahiafarma	Biocen, Salundinvest
TOTAL		**8**	**17**

Obs: Verificar página do Ministério da Saúde para parcerias atualizadas



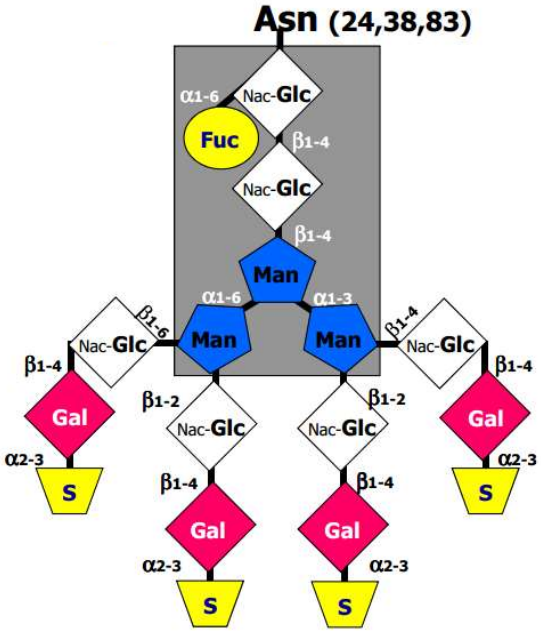
Fonte: http://biosimilarsource.com/biosimilars.htm

Exemplo: Eritropoetina (EPO)

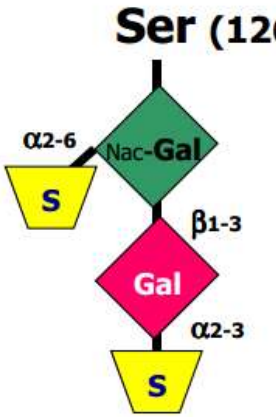


Fonte: Kratje (2004), modificado por Castilho, (2009).

Glicosilação em N:



Glicosilação em O:



Fucose

Sialic Acid

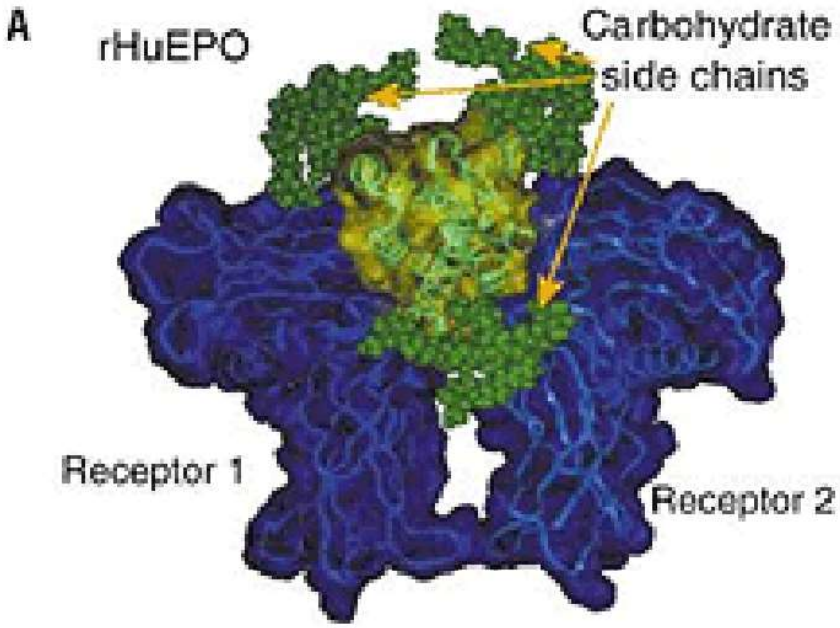
Galactose

Mannose

GalNAc

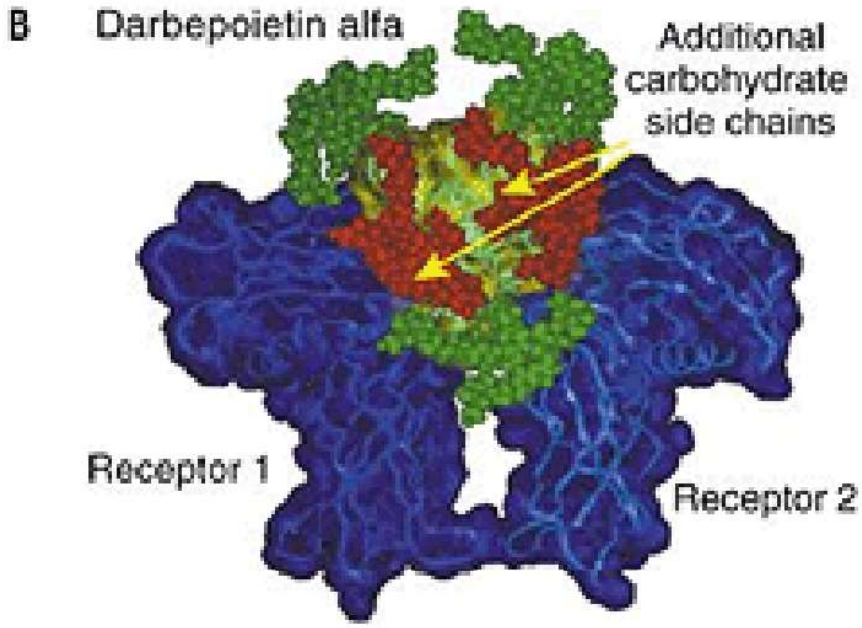
GlcNAc

Exemplo de “later generation protein”



Eritropoetina de 1ª Geração

Meia vida: 8,5 h



Aranesp, Amgen (2 sítios de N-glicosilação extras)

Meia vida: 25 h

Fonte: Elliott et al., 2003

Biossimilares: oportunidades e desafios…

- Genéricos e biosimilares: mesmo tratamento pelas autoridades reguladoras?

- Ganhos? Redução de preços totalizando US$ 350 bi para os próximos 20 anos, apenas nos EUA.

- Existem riscos no licenciamento simplificado de biosimilares?

- “O processo é o produto”?

- A RDC Nº 55 da ANVISA (DEZ 2010)

O processo é o produto?

Exemplo 1: processo de produção em larga escala de rHSA (albumina humana recombinante) em leveduras

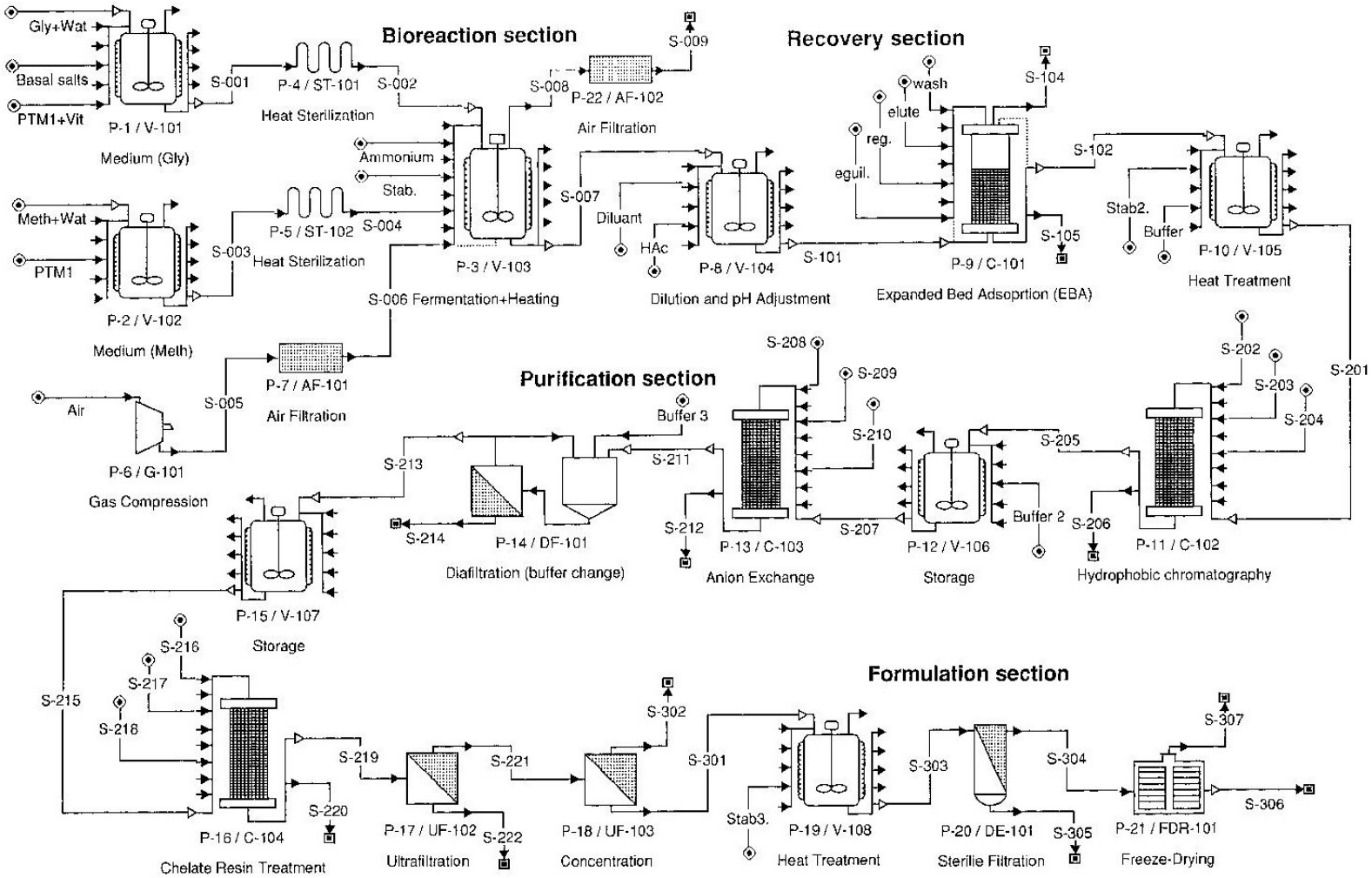
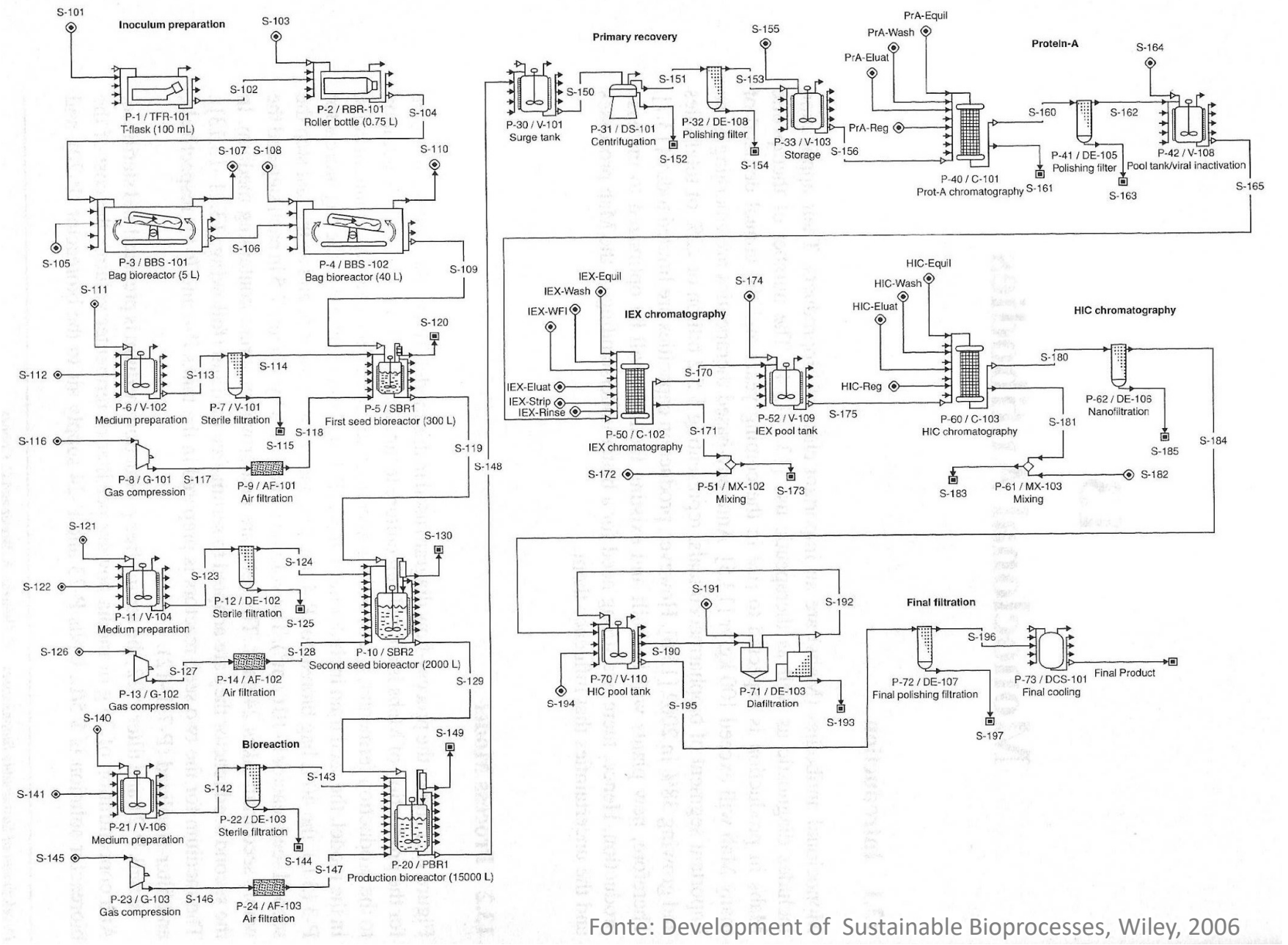


Figure 11.1 *Process flow diagram of the production and purification of rHSA using expanded-bed adsorption (EBA)*

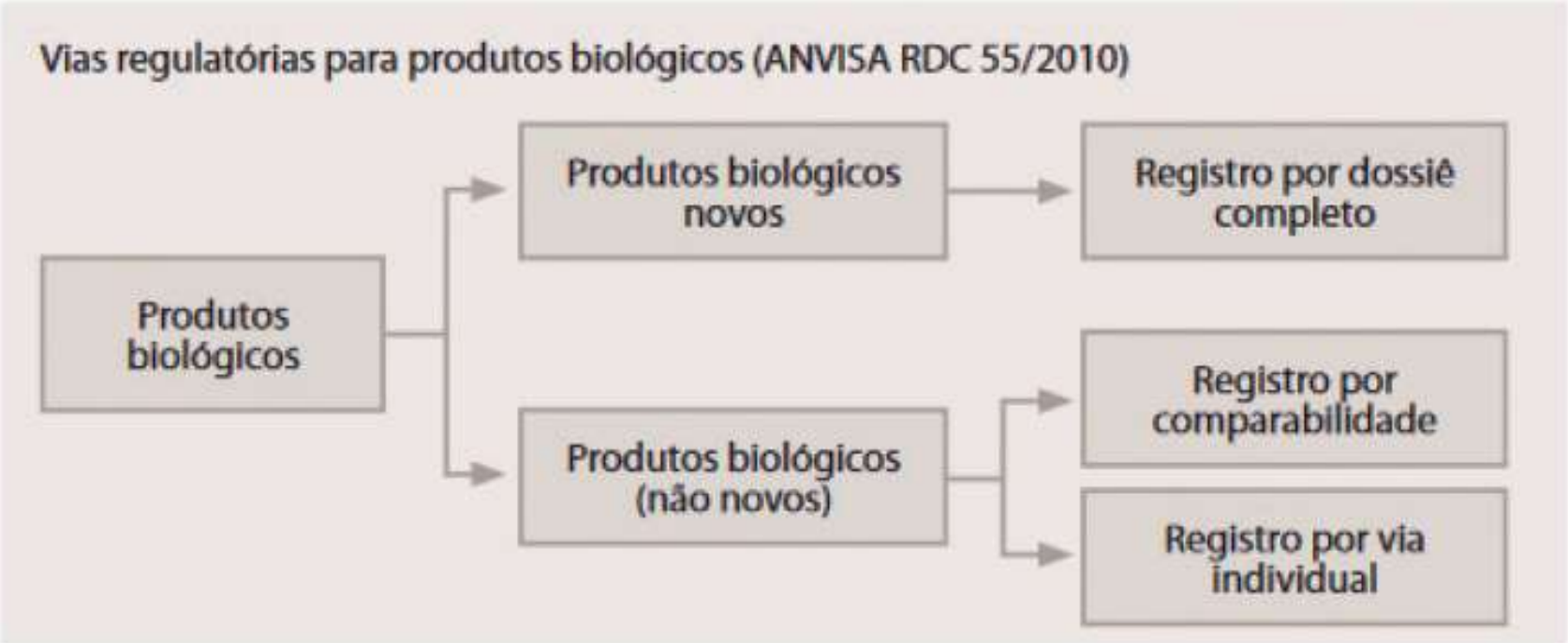
Fonte: Development of Sustainable Bioprocesses, Wiley, 2006

Exemplo 2: processo de produção de anticorpos monoclonais em células de mamífero



Fonte: Development of Sustainable Bioprocesses, Wiley, 2006

Regulamentação no Brasil



Fonte: Salerno, Matsumoto e Ferraz (2018), modificado de Interfarma (2017).

Segundo Salerno, Matsumoto e Ferraz (2018), "biossimilares são definidos como produtos biológicos registrados pela via de desenvolvimento por comparabilidade, que é a via regulatória utilizada por um produto biológico para obtenção de registro na qual foi utilizado o exercício de comparabilidade em termos de qualidade, eficácia e segurança, entre o produto desenvolvido para ser comparável e o produto biológico comparador."

Regulamentação: RDC N° 55/2010.

Vídeo – Material suplementar:

https://www.youtube.com/watch?v=DrJnbGe8kdE&ab_channel=Amgen