

УДК 62.01.13

Д.А. ПОТЕРЯЕВ\*, Р.А. ХАМИТОВ

ООО «Международный биотехнологический центр «Генериум»», Владимирская область, Петушинский район, пос. Вольгинский, 601125

e-mail: poteryaev@ibcgenerium.ru

## Юбилейная научно-практическая конференция Международного биотехнологического центра «Генериум»

Конференция ученых Международного биотехнологического центра «Генериум» «Практические аспекты фармацевтической разработки терапевтических рекомбинантных белков» была приурочена к пятилетней годовщине со дня основания компании. «Генериум» является крупнейшей частной биофармацевтической компанией в РФ и признанным лидером в разработке препаратов для терапии ряда наследственных заболеваний, таких как гемофилия, муковисцидоз, болезни лизосомного накопления и ряда других, имеющих орфанный статус. Весомую долю в портфолио «Генериум» имеют противораковые биопрепараты. Биотехнологический центр сфокусирован на воспроизведении рекомбинантных терапевтических белков (так называемые биосимиляры), а также на разработке собственных инновационных препаратов (следующие в классе и первые в классе). Ниже приводится краткий обзор сделанных на конференции докладов.

*Ключевые слова:* биоаналоги, биомедицина, биофармацевтическая технология, гемостаз, доклинические испытания, иммунотерапия рака, моноклональные антитела.

doi: 10.1016/0234-2758-2016-32-4-56-59

10 июня 2016 г. на территории биотехнопарка «Генериум» в поселке Вольгинском Владимирской области прошла конференция ученых Международного биотехнологического центра «Генериум» «Практические аспекты фармацевтической разработки терапевтических рекомбинантных белков». Конференция была приурочена к пятилетней годовщине со дня основания компании.

МБЦ «Генериум» является крупнейшей частной биофармацевтической компанией в РФ и признанным лидером в разработке препаратов для терапии ряда наследственных заболеваний, таких как гемофилия, муковисцидоз, болезнь лизосомного накопления и ряда других, имеющих орфан-

ный статус. Весомую долю в портфолио «Генериум» имеют противораковые биопрепараты на основе моноклональных антител, а также белковые терапевтические препараты для лечения аутоиммунных заболеваний.

Компания разработала и разрабатывает также ряд препаратов в области терапии нейродегенеративных и инфекционных заболеваний.

С самого начала своей работы «Генериум» сфокусирован не только на воспроизведении рекомбинантных терапевтических белков, так называемых биосимиляров, но и на разработке собственных инновационных препаратов (следующие в классе и первые в классе). Если в первом случае

Потеряев Дмитрий Александрович, к.б.н., начальник отдела молекулярной и клеточной биологии ООО «МБЦ «Генериум», Хамитов Равиль Авгатович, д.м.н., проф., генеральный директор ООО «МБЦ «Генериум».

\* Автор для переписки.

можно говорить об импортозамещении препаратов более доступными отечественными биоаналогами, то во втором — о стратегическом развитии российской биофармацевтики и выведении ее на мировой уровень.

Конференция была структурирована по трем секциям: «Исследования и разработка биофармацевтических препаратов», «Доклинические испытания и модели», и «USP & DSP» (технологии биосинтеза и очистки белковых препаратов)». Ниже мы приводим краткий обзор сделанных докладов.

### Исследования и разработка биофармацевтических препаратов

*Александр Пискунов, начальник лаборатории клеточной биологии и функционального скрининга*, рассказал о доклинической разработке антитела — антагониста хемокинового рецептора CXCR4 — для иммунотерапии рака. Гены хемокинового рецептора CXCR4 и его лиганда SDF-1 экспрессируются во многих типах раковых клеток. CXCR4 на опухолевых клетках направляет метастазирование к местам высокой экспрессии SDF-1. CXCR4/SDF-1 также действуют локально, паракринно и аутокринно, усиливая рост опухоли и воспалительную нагрузку. SDF-1, секретируемый опухолью и ее микроокружением, увеличивает выживаемость опухоли и модулирует трафик иммунных клеток в окружении опухоли. В связи с вышесказанным CXCR4 является привлекательной мишенью для иммунотерапии рака с помощью антител.

«Генериум» ведет разработку и доклинические исследования антитела 9N10 — антагониста CXCR4. Показано, что это антитело является высокоселективным ингибитором CXCR4, вытесняет его лиганд и блокирует его внутриклеточный сигнальный каскад. *In vitro* 9N10 подавляет миграцию (хемотаксис) нескольких видов раковых клеток, при этом не вызывая апоптоз CXCR4+-клеток. В мышинных сингенных раковых моделях монотерапия антителом 9N10 уменьшает количество легочных метастазов CXCR+-меланомы *B16* и увеличивает количество цитотоксических лимфоцитов, инфильтрирующих опухоль молочной железы *4T1*. Было показано, что антитело 9N10 является перспективным кандидатом для дальнейших доклинических и возможных клинических испытаний в области иммунотерапии солидных опухолей. Ингибирование сигнального каскада CXCR4 с помощью 9N10 может иметь наибольший терапевтический эффект в комбинации с ингибитора-

ми иммунного чекпойнта, поскольку блокирование CXCR4 усиливает проникновение цитотоксических Т-лимфоцитов в опухоль.

*Вероника Бадэ, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии и биохимии*, сделала доклад о разработке и применении рекомбинантного С1-ингибитора для предотвращения цитокинового шторма и коагулопатии при шоковых состояниях. Объектом разработки является рекомбинантный белок — С1-ингибитор эстеразы (С1INH), относящийся к семейству серпинов (ингибиторы сериновых протеаз). Подавляя фактор XII и С1-комплекс, С1INH играет ключевую роль в регуляции системы комплемента. С1INH также ингибирует калликреин и плазминоген в кровотоке, тем самым предотвращая активацию последнего, что эффективно уменьшает фибринолиз. Ингибирование калликреина снижает количество брадикинина (вазоактивного пептида, стимулирующего повышение проницаемости капилляров и экстравазацию плазмы); действуя на калликреин, С1INH уменьшает отеки, что положительно сказывается как на общем состоянии пациента, так и на профиле побочных эффектов.

Была разработана лабораторно-промышленная методика производства С1-ингибитора эстеразы, а также методы оценки качества и количества полученного С1INH. В технологическом процессе не используются компоненты животного происхождения, что соответствует международным требованиям по безопасности. В доклинических исследованиях в МБЦ «Генериум» достоверно продемонстрировано, что разрабатываемый препарат С1INH может быть использован для лечения острой кровопотери. Применение данного медикамента станет возможно при экстренной терапии острой кровопотери, реперфузии, а также при лечении коагулопатии типа ДВС-синдрома. Ожидается, что рекомбинантный С1INH будет обладать гемостатическими свойствами при минимальных побочных эффектах.

*Владимир Симонов, научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии и биохимии*, сообщил о применении современных методов изучения белок-белковых взаимодействий — плазмонного резонанса и биослойной интерферометрии.

### Доклинические испытания и модели

*Армен Овсепян, старший научный сотрудник Центра доклинических исследований*, сделал обзорный доклад о хирургическом моделировании патологических состояний и болезней у ла-

бораторных животных, применяемом в Центре доклинических исследований МБЦ «Генериум». Описывались основные подходы к таким патологическим состояниям, как септический и геморрагический шок, злокачественные опухоли, отечные состояния и др. Отдельно освещалось достигнутое соответствие требованиям Международной ассоциации оценки и аккредитации организаций, содержащих лабораторных животных (AAALACI), а также принципам надлежащей лабораторной практики (GLP).

**В докладе Елены Беяниной, научного сотрудника Центра доклинических исследований**, содержалась информация о разработке нового малоинвазивного способа измерения артериального давления в хвостовой артерии у крыс. Была показана более высокая сходимость результатов и большая степень стандартизации данного метода по сравнению с более трудоемкими и инвазивными. Практическая значимость этой разработки была отмечена производителем используемого прибора для измерения артериального давления. В настоящее время ведется совместная работа по принятию данной методики в качестве нового лабораторного стандарта.

Заслуживает интереса доклад **Екатерины Анисимовой, младшего научного сотрудника Центра доклинических исследований**. В нем подробно описана разработка ортотопической модели почечно-клеточной карциномы RENCA. Данная модель достаточно близка к метастатической почечно-клеточной карциноме человека и характеризуется такой же высокой агрессивностью и устойчивостью к стандартной терапии. Команда ученых МБЦ «Генериум» совместно с компанией «Селлтера Фарм», находящейся в том же биотехнопарке, ведет работы по иммунотерапии нескольких типов рака, опираясь, в частности, на модели RENCA. Достигнутые результаты свидетельствуют о высокой релевантности данной модели и могут быть использованы в клинических испытаниях.

Одним из первых успешных проектов «Генериума» стал «Диаскинтест» — препарат для диагностики туберкулеза, который позволяет исключить ложноположительные результаты распространенной реакции Манту. Успех и востребованность препарата в РФ, а также его инновационность, определили амбиции «Генериума» вывести Диаскинтест на международный рынок. Разработке аналитических методик контроля качества и стабильности препарата, соответствующих жестким требованиям Европейского медицинского агентства, был посвящен доклад научного сотрудника лаборатории физико-химических методов

**Сергея Тарана «Диаскинтест®. Особенности белка и вопросы контроля качества»**. Рассказывалось о разработанном спектрофотометрическом методе количественного определения белка CFP10-ESAT6 в концентрате препарата, а также методе ОФ-ВЭЖХ для его детекции в готовой форме. Методами масс-спектрометрии и ВЭЖХ-анализа установлены примесные формы белка и найдены пределы их допустимого содержания.

**Светлана Аббасова, руководитель лаборатории биологических методов**, рассказала о применении проточной цитометрии при тестировании специфической активности фармакологических препаратов. Указанный метод может применяться для определения константы связывания фармацевтической субстанции с целевым мембранным белком, синтезируемым как клеточной линией, так и гетерогенной клеточной популяцией (например моноклеарной фракцией лейкоцитов периферической крови). Проточная цитометрия эффективна при изучении интернализации мембранных рецепторов, изменения их синтеза при различных воздействиях на клетки, определении апоптоза, пролиферации и фазы клеточного цикла. Было рассмотрено несколько примеров использования метода; в частности, при создании моноклонального антитела для лечения тяжелой бронхиальной астмы проточная цитометрия была успешно применена в ходе разработки тест-системы для выявления активации базофилов.

#### **USP & DSP (разработка лабораторных и промышленных регламентов производства белковых терапевтических препаратов)**

**Доклад руководителя отдела разработки процессов Антона Морозова** был посвящен высокопроизводительным перфузионным процессам культивирования клеток млекопитающих, которые служат субстратом для получения биофармацевтиков. Преимуществами перфузионных процессов являются высокая производительность, высокое качество (особенно лабильных) продуктов, гибкость и полная автоматизация производства, сниженная потребность в производственных площадях, а также возможность создания одноразового процесса. Были описаны ключевые этапы разработки перфузионного культивирования клеток *CHO*: подбор оптимального состава питательной среды, оптимизация режимных параметров процесса (рН, уровень растворенного кислорода, температура), оптимизация этапа накопления биомассы и определение оптимальной скорости промежуточного сброса био-

массы, а также оценка устойчивости и воспроизводимости разработанного процесса.

**Дмитрий Тюпа, младший научный сотрудник лаборатории разработки процессов культивации**, доложил об опыте получения биоаналогов на примере технологии производства дорназы-альфа (препарата для терапии наследственного заболевания муковисцидоза). Был описан пример успешного применения метаболического инжиниринга для контроля уровня гликозилирования целевого белка и, как следствие, контроля качества активного фармацевтического ингредиента.

Оба последних доклада отражают успешные примеры осуществления стратегии «качество, заложенное в дизайне».

**Артем Исерканов, младший научный сотрудник лаборатории хроматографических методов**, посвятил свое сообщение современным подходам к очистке моноклональных антител на примере одного из разрабатываемых «Генериумом» препаратов. Были обсуждены как стандартные схемы — «захват» антитела методом аффинной хроматографии и дальнейшая очистка от остаточных примесей, включающая комбинации мультимодальной, ионообменной и гидрофобной хроматографии, так и проблемные моменты, возникающие при масштабировании процесса как результат его переноса из лаборатории на производство, и пути их решения.

**Доклад Дарьи Чащиновой, младшего научного сотрудника отдела внедрения и масштабирования технологии** освещал новые подходы к очистке рекомбинантного человеческого тканевого активатора плазминогена, клинические испытания которого по показаниям инфаркт и инсульт заканчивает компания. Несмотря на имеющуюся технологию, вошедшую в регистрационное досье препарата «Ревелиза», существует запрос на снижение себестоимости производства за счет использования нового аффинного хроматографического сорбента. Данная работа была выполнена в сотрудничестве с одним из мировых лидеров производства оборудования и материалов для биотехнологического производства — GE Healthcare.

**Стажер «Генериума» Дмитрий Данилов** представил работу, посвященную изучению сорбентов на основе белка А, используемых для очистки моноклональных антител. Проведенные исследования продемонстрировали, что несмотря на схожий принцип работы рассматриваемых сорбентов такие параметры, как материал матрицы, длина спейсера, плотность сшивки и т.д., могут оказывать значительное влияние на критические показатели процесса очистки. На примере двух мо-

дельных моноклональных антител было показано, что чистота получаемого продукта, емкость по целевому белку и общий выход процесса зависят от параметров используемого сорбента.

Биотехнопарк «Генериум» планирует в будущем году расширить формат конференции и пригласить к участию как другие биофармацевтические компании, так и представителей академической науки, работающих в области биотехнологии и биомедицины.

Далее в данном издании помещены статьи, содержащие материалы трех сообщений, прозвучавших на юбилейной научно-практической конференции МБЦ «Генериум».

Получено 28.06.16

D.A. POTERYAYEV\*, and R.A. KHAMITOV

The International Biotechnology Center *Generium* LLC, 601125, Volginsky settl., Petushinskii region, Vladimirskaya oblast Russia

e-mail: poteryaev@ibcgenerium.ru

#### A Jubilee Scientific-Practical Conference of International Biotechnological Center *Generium*

The Conference “Practical aspects of pharmaceutical design of therapeutic recombinant proteins” with the researchers of the International Biotechnology Center *Generium* as participants was timed to the fifth anniversary of the company. *Generium* is the largest private biopharmaceutical company in RF that has been recognized a national leader in the design of preparations for the therapy of a series of hereditary diseases with the orphan status, like hemophilia, cystic fibrosis, lysosomal storage diseases and others. Anticancer drugs comprise a significant share in the *Generium* portfolio. The Biotechnology Center is focused on the reproduction of recombinant therapeutic proteins (so-called *biosimilars*) and also on the design of its own innovation products (next in the class, and first in the class). A short review of the reports that were represented at the Conference is given below.

*Key words:* biomedicine, biopharmaceutical technology, biosimilars, cancer immunotherapy, monoclonal antibodies, hemostasis, pre-clinical studies.

*Biotechnologiya (Biotechnology)*, 2016, V. 32, N 4, P. 56—59.

\* Author for correspondence.