

VÝVOJ NOVÉHO LÉČIVA – SILDENAFIL (VIAGRA)

Making the Love Drug (Jak se dělá lék lásky)

Podle: E. Palmer, *Chemistry in Britain*, **35**, (1), 24-26, (1999); doplněno o údaje z článku J. Klinga, From hypertension to angina to Viagra, *Modern Drug Discovery*, **1**, (2), 31-38, (1998), o údaje o přípravku Revatio, informace o padělání léčiv z řady různých aktuálních zdrojů a ze souhrnu práce M.M.Mitschke a kol., Increased cGMP promotes healthy expansion and browning of white adipose tissue, *J. Fed. Am. Soc. Exp. Biol. (FASEB)*, Online: <http://www.fasebj.org/content/early/2013/01/08/fj.12-221580.full.pdf+html>.

Další informace: *Science* **258**, 1861,(1992) a <http://www.viagra.com>

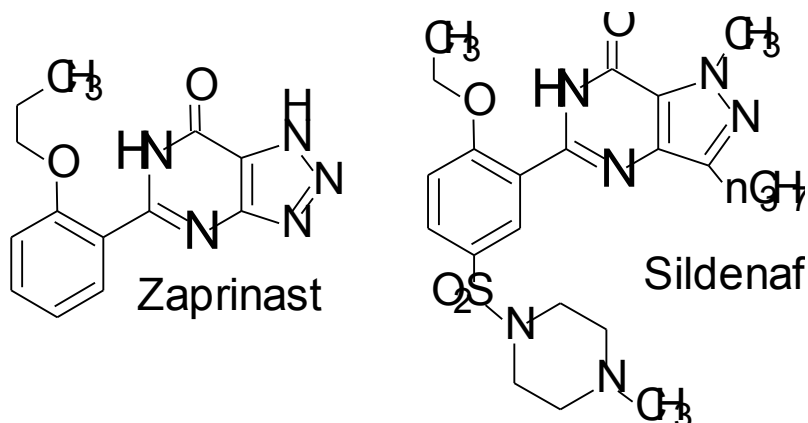
27. 3. 1998 americká FDA schválila nový lék, který od té doby úspěšně proniknul do dalších zemí, dosáhl rekordních tržeb, stal se předmětem mimořádného zájmu médií a léčivem a jeho název zná dnes téměř každý ve všech koutech světa. Je to Viagra, přípravek obsahující sildenafil citrát, který je určený k léčení mužské erektilní dysfunkce (MED). Přes humbuk v médiích vyplynul úspěch přípravku z jeho obrovského tržního potenciálu. MED postihuje údajně 10% všech mužů, přičemž u starších pánů mezi 40 a 70 se počet postižených má šplhat až na neuvěřitelných 52%. Viagra je prvním orálním přípravkem proti impotenci a patří mezi nejčastěji padělané přípravky.

Historie Viagry je zajímavá a v mnohém poučná. Lék zahájil svoji existenci jako potenciální přípravek k léčení hypertenze a poté anginy pectoris. Co přimělo tým výzkumníků fy Pfizer k odbočce na jejímž konci stál nesmírně úspěšný lék pro tak odlišnou indikaci?

Výzkumný projekt byl nastartován v r. 1983, kdy dva chemici fy Pfizer Simon Campbell a David Roberts předložili námět na zkoumání nové skupiny antihypertenziv. "Horkou molekulou" byl v té době atriální natriuretický peptid (ANP). ANP je přirozeným diuretikem, které zvyšuje odchod moči a množství sodných iontů, které se v ledvinách do moči dostávají. Může také způsobit relaxaci hladkého svalstva cévních stěn a tím zvyšovat průtok krve a snižovat krevní tlak. Tým fy Pfizer proto předpokládal, že látka, která by zvýšila účinnost ANP bude účinným antihypertenzivem. Místo toho, aby se zabývali ANP nebo jeho analogy, navrhli Campbell a Roberts hledat látku, která by ovlivnila způsob přenosu signálu od ANP. ANP působí tak, že se váže na receptor na povrchu buněk a tím spouští kaskádu biochemických reakcí uvnitř buňky. Vazbou ANP na receptor je aktivován enzym guanylát cyklasa, která štěpí guanosin-5'-trifosfát za vzniku cyklického guanosin-3',5'-monofosfátu (cGMP). Buňka reaguje na vznik cGMP tím, že se sníží množství Ca^{2+} iontů v buňce. Fyziologický důsledek snížení koncentrace Ca^{2+} iontů závisí pak na lokalizaci buňky v tkáních a její funkci. V ledvinách dochází k relaxaci buněk hladkého svalstva a uvolňování Na^{+} iontů, v krevních destičkách k deaktivaci mechanismu tvorby krevních sraženin. V jiných orgánech relaxují buňky hladkého svalstva cévních stěn, zvyšuje se průtok krve a snižuje krevní tlak.

Hladinu cGMP v buňce udržuje v rovnováze enzym fosfodiesterasa (PDE), který cGMP štěpí. Tým fy Pfizer proto chtěl hledat nové antihypertensivum mezi látkami, které inhibují PDE - "ucpávají odtok", kterým je cGMP odstraňován a tím zvyšují hladinu cGMP. V r. 1986 se do projektu zapojil chemik Nick Terrett jako vedoucí čtyřčlenné skupinky výzkumníků, která začala typickým způsobem: Důkladným studiem literatury. Hledali sloučeniny, které by zvyšovaly hladinu cGMP inhibicí PDE. Jedou z mála tehdy popsanych látek byl Zaprinast vyvinutý jako antialergikum firmou May a Baker (nyní součást koncernu Rhône-Poulenc Rorer), ale nikdy nevyráběný. Zaprinast inhibuje PDE, je však málo účinný a selektivní - působí i jinými mechanismy. Tým fy Pfizer začal modifikovat strukturu Zaprinastu s cílem připravit účinnější, selektivnější a především patentově volný přípravek.

Nejprve byl nahrazen triazolový kruh za pyrazolový, pak byla zvýšena afinita k PDE zavedením alkylových skupin do kruhu in a nakonec byla přidána sulfonamidová funkce, aby se zvýšila rozpustnost. Vznikla sloučenina, která se stala populární jako Viagra, ale v r. 1989 ji tým nazýval UK 92480 resp. sildenafil.



Při hledání vhodné sloučeniny syntetizoval malý chemický tým výzkumníků fy Pfizer během 4 let na 1600 sloučenin, což je na dobu před zavedením metod kombinatoriální chemie a vysokokapacitního screeningu úctyhodný výkon.

Podle Nicka Terretta a člena týmu Gilla Samuelse byla příprava takového množství sloučenin reakcí na to, že ve firmě Pfizer se příliš nevěřilo, že se týmu podaří připravit skutečně dobrý inhibitor.

Představy týmu však byly příliš zjednodušené. V té době bylo známo 5 různých isoenzymů PDE (nyní je jich známo již 9) a ne všechny působí specificky na cGMP. PDE 4 např. štěpí jinou molekulu účastnící se vnitrobuněčné signalizace, cyklický adenosin-3',5'-monofosfát. Bylo zřejmé, že úspěch projektu závisí na tom, zda hledaný přípravek bude inhibovat správný isoenzym PDE, a to dostatečně selektivně. Bylo také známo, že v různých tkáních se vyskytují různé isoenzymy PDE. Terrettův tým brzdil nedostatek metod pro testování inhibitorů. Zkoušky s tkáňovými řezy neposkytovaly zcela spolehlivé a reprodukovatelné výsledky. Projekt se téměř o rok zpozdil a rozběhl se znovu, až biolog Frank Burslem izoloval PDE z krysích ledvin a krevních destiček králíka

V r. 1988 závisel úspěch projektu na chemících. Terrett vzpomíná, že měli v rukou skutečně účinné inhibitory PDE 5. Ředitel pro biologický výzkum fy Pfizer tehdy přišel s názorem, že nový lék bude vhodný pro léčení anginy pectoris, protože isoenzym PTE 5 je obsažen zejména v hladkém svalstvu cévních stěn a také v krevních destičkách. Proto předpokládal, že způsobí rozšíření cév a současně omezí srážení krve. Současně se ukázalo, že v lidských ledvinách PDE 5 prakticky chybí, takže původní představu o antihypertenzivní zvyšující účinek ANP bylo třeba opustit. Pozornost týmu byla proto zaměřena na léčbu anginy. Při hledání látky, která by selektivně inhibovala PDE 5, ale nepůsobila na PDE 1 a 3 se do popředí dostala UK 92480, sildenafil. Avšak výsledky jeho klinického zkoušení zprvu vypadaly na to, že půjde o "výbuch".

V červenci 1991 začala fáze I klinického zkoušení sildenafilu u zdravých dobrovolníků, tj. u těch, kteří neměli žádné kardiovaskulární problémy. Dobrovolníci dostávali zvyšující se dávky léčiva, aby se zjistilo, jak bude tolerováno a jaké jsou vedlejší účinky. Vše bylo v pořádku a tak v následujícím roce sildenafil postoupil do fáze II klinického zkoušení u omezeného počtu pacientů, kteří trpěli anginou pectoris. Měření změn tlaku krve, tepu, průtoku krve a další účinky nesplnily očekávání. Nový lék měl podstatně horší účinnost než klinické dávky

klasického nitroglycerinu. Současně však pokračovala fáze I etapou, při níž mělo být po 10 dnech podávání velkých dávek dobrovolníkům z welšského města Merthyr Tydfil zjištěno, jak velké množství léčiva lze podávat, aniž by docházelo k nežádoucím vedlejším účinkům. Dobrovolníci museli uvést, co po podání sildenafilu pociťovali a v jejich záznamech se objevovaly údaje o bolení hlavy, špatném trávení, poruchách vidění, bolestech svalů - a o erekci.

Tento vedlejší účinek byl pro tým výzkumníků velmi zajímavý, nikdo však v té chvíli ještě nevolal "heuréka", bylo však zřejmé, že jde o velmi zajímavé pozorování. Otázkou zůstávalo, zda ke stejným projevům dojde i po jednotlivých dávkách sildenafilu a zda se tento efekt zjištěný u zdravých dobrovolníků projeví i u mužů trpících MED, mužskou erektilní dysfunkcí. Bylo třeba mnoho úvah a porad, řada problémů zůstávala otevřených. Rozhodování trvalo celé dva roky. Negativně ovlivňovalo rozhodování i to, že marketingoví specialisté fy Pfizer podcenili tržní potenciál přípravku, protože předpokládali, že poruchami erekce trpí poměrně málo mužů. Nakonec však přece jen bylo rozhodnuto o zahájení klinického zkoušení sildenafilu jako léčiva MED.

K pozitivnímu rozhodnutí přispělo, že vedení firmy riskovalo a vsadilo spíše na aktuální výsledky biochemie a medicíny než na marketing. V r. 1992 byly publikovány nové poznatky o NO a tato jednoduchá látka byla prohlášena časopisem Science za molekulu roku. Důležité bylo i to, že lékaři přestali považovat poruchy erekce za otázku psychickou, ale za organickou poruchu a začaly se objevovat injekční přípravky pro podporu erekce. Průlomem byl známý experiment amerického sexuologa Gilese Brindley, který na konferenci amerických urologů oznámil, že 20 minut před svojí přednáškou si injikoval přímo do penisu alprostandil (inhibitor PDE 1) a během přednášky dostal erekci. Tu pak na důkaz auditoriu po spuštění kalhot předvedl. Sildenafil měl šanci, že bude účinkovat podobně, a to dokonce po orálním podání.

Publikované poznatky o úloze NO měly význam i pro pochopení účinku sildenafilu. Informace se skládaly do mozaiky, z níž vyplynul předpokládaný mechanismus působení na erekci (viz text v rámečku).

V r. 1994 začaly orientační klinické zkoušky sildenafilu u 12 mužů trpících MED. Výsledek vzbudil rozruch - u 10 mužů se erekce upravila. Bylo organizováno další zkoušení, které probíhalo od srpna 1994 do února 1995, a to v domácím prostředí. Protože předtím podobné zkoušky nikdy neprobíhaly, musel tým vývojových pracovníků vypracovat novou metodiku posuzování výsledků. Byl zaveden "Mezinárodní index erektilní funkce" - dotazník o sexuálních aktivitách, který pacienti denně vyplňovali, aby byl získán přehled o stupni MED a přínosech léčiva. I když šlo o choulostivou záležitost, odezva byla výborná. Pak již nastal čas na zahájení "otevřeně" studie, při níž pacienti věděli, jaký lék je jim podáván. Ta proběhla v 36 centrech - většinou urologických klinikách nemocnic v Anglii, Francii a Švédsku na souboru 225 pacientů po dobu 32 týdnů. Na konci studie udávalo 88% pacientů, že sildenafil zlepšil jejich erekci a 90% si přálo pokračovat. Pouze 4% mužů udávalo, že žádné zlepšení nepociťovali a u 4% byly příčinou ukončení vedlejší účinky - bolesti hlavy a nechutenství. Zkouška ukázala, že účinné jsou i jednotlivé dávky a že účinek závisel na dávce - ke zlepšení erekce došlo v případě tablety 25 mg u 65% pacientů, 50 mg u 79% a 88% mužů, jimž byla podána 100 mg tableta. Na podání placebo pozitivně reagovalo 39% pacientů.

Člen vývojového týmu Samuels říká, že je poučné se podívat zpět. Ne vždy měli výzkumníci jasno, jak dál. "U milníků vývoje nikdy nestojí ukazatel říkající to je ta správná cesta k nalezení báječné účinnosti". Tým často dospěl na rozcestí a tam zvolil směr, který byl největší výzvou. Proto dosáhl nejlepších výsledků.

Viagra již pomohla mnoha milionům mužů celého světa překonat impotenci, která snižuje kvalitu života mužů i jejich životních partnerek. Vývojový tým fy Pfizer však nespí na vavřínech. Terrett říká: "Nyní velmi dobře víme, jak lék účinkuje a musíme se zaměřit na jeho

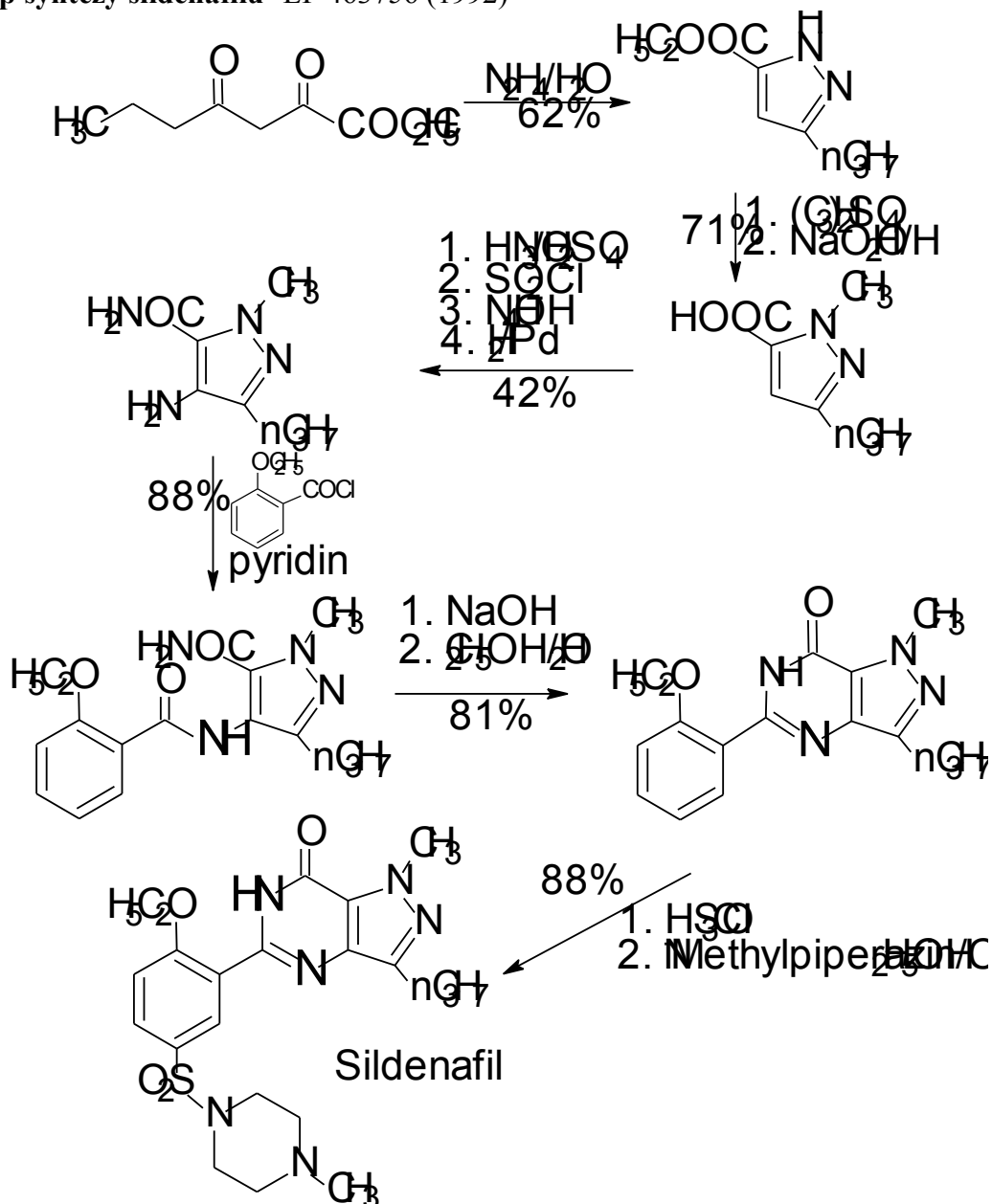
zlepšování. Dostali jsme tucty dopisů od mužů, kterým Viagra pomohla a právě proto má naše úsilí smysl”

Mechanismus působení Viagry

Sexuální stimulace vede k uvolnění NO z nervových zakončení a endoteliálních buněk, NO aktivuje guanosin cyklastu, ta přemění GTP na cGMP, který uvolní hladké svalstvo cév v *corpus cavernosum*, houbovitě erektilní tkáni penisu a přitékající krev způsobí ztopoření. Muži s erektilní dysfunkcí obvykle neuvolní dostatek NO, což má za následek, že PDE odbourává vznikající cGMP stejně rychle, jak tato látka vzniká. Inhibice PDE proto zajistí dostatek cGMP potřebný pro erekci.

Firma Pfizer vyrábí sildenafil citrát v množstvích 1-2 tun v Irsku asi 1,4 t ročně. Výroba jedné šarže má trvat 21 dní. Níže je schéma původního patentovaného postupu syntézy, v současnosti používaný přísně tajený výrobní postup má však být odlišný.

Postup syntézy sildenafilu -EP 463756 (1992)



Léková forma se vyrábí ve Francii, Portoriku a USA. Substance se mísí s mikrokrytalickou celulosou, sodnou solí zesítěné karboxymethylcelulose, laktosou, bezvodým CaHPO_4 , TiO_2 , hydroxypropylmethylcelulosou, Mg stearátem a triacetinem, modrým barvivem a lisuje do 25, 50 a 100 mg tablet charakteristického tvaru.

Prodeje Viagry kulminovaly v r. 2008, mezitím ale byly na trh uvedeny konkurenční přípravky se stejnou indikací – tadalafil (Cialis) a vardenafil (Levitra), které vedly ke snížení prodeje. Kromě toho se na trhu v posledních letech začala objevovat generická analoga (Sildenafil Sandoz, Sildenafil Teva) a stále také padělky. Ty ovšem nejsou žádnou novinkou, první padělky byly zachyceny již rok a půl po povolení prodeje Viagry. Viagra a podobné přípravky se staly léčivy, která jsou padělána nejčastěji. Nemohou být prodávány v lékárnách, takže doménou padělků se stal internetový trh. Padělky imitují tvar a zbarvení tablet Viagry a jsou v nejlepším případě nepovolenými generiky od indických a dalších výrobců. Většinou obsahují nelékopisný sildenafil citrát, často s větším obsahem nečistot, než předepisují lékopisy, Množství účinné látky bývá nižší, než je deklarováno, odhaleny byly i některé imitace Viagry, které vůbec neobsahovaly účinnou látku.

V r. 2005 byl sildenafil citrát ve formě 20 mg tablet nabízenými pod jiným názvem (Revatio, Pfizer) povolen lékovými agenturami jako lék pro vzácná onemocnění (orphan drug), který zlepšuje fyzickou kondici pacientů s plicní arteriální hypertenzí. Tableta přípravku Revatio má kulatý tvar a je bílá, aby mohla být odlišena od modrých oválných tablet Viagry. Nedávno bylo zjištěno, že sildenafil může pomáhat horolezcům v překonávání „výškové nemoci“ spojené s edémem plic, pro tuto indikaci ale zatím nebyl schválen. Nejnověji odhalili němečtí vědci při studiu buněčné signalizace zprostředkované cyklickým guanosin-3',5'-fosfátem, že sildenafil může napomáhat konverzi bílých tukových buněk na hnědé, které tuky „spalují“ a tím může pomáhat léčit obezitu – pokud bude lidský organismus reagovat podobně jako obézní pokusné myši.