

# OTKRIVANJE I RAZVOJ LIJEKOVA



# POVIJEST

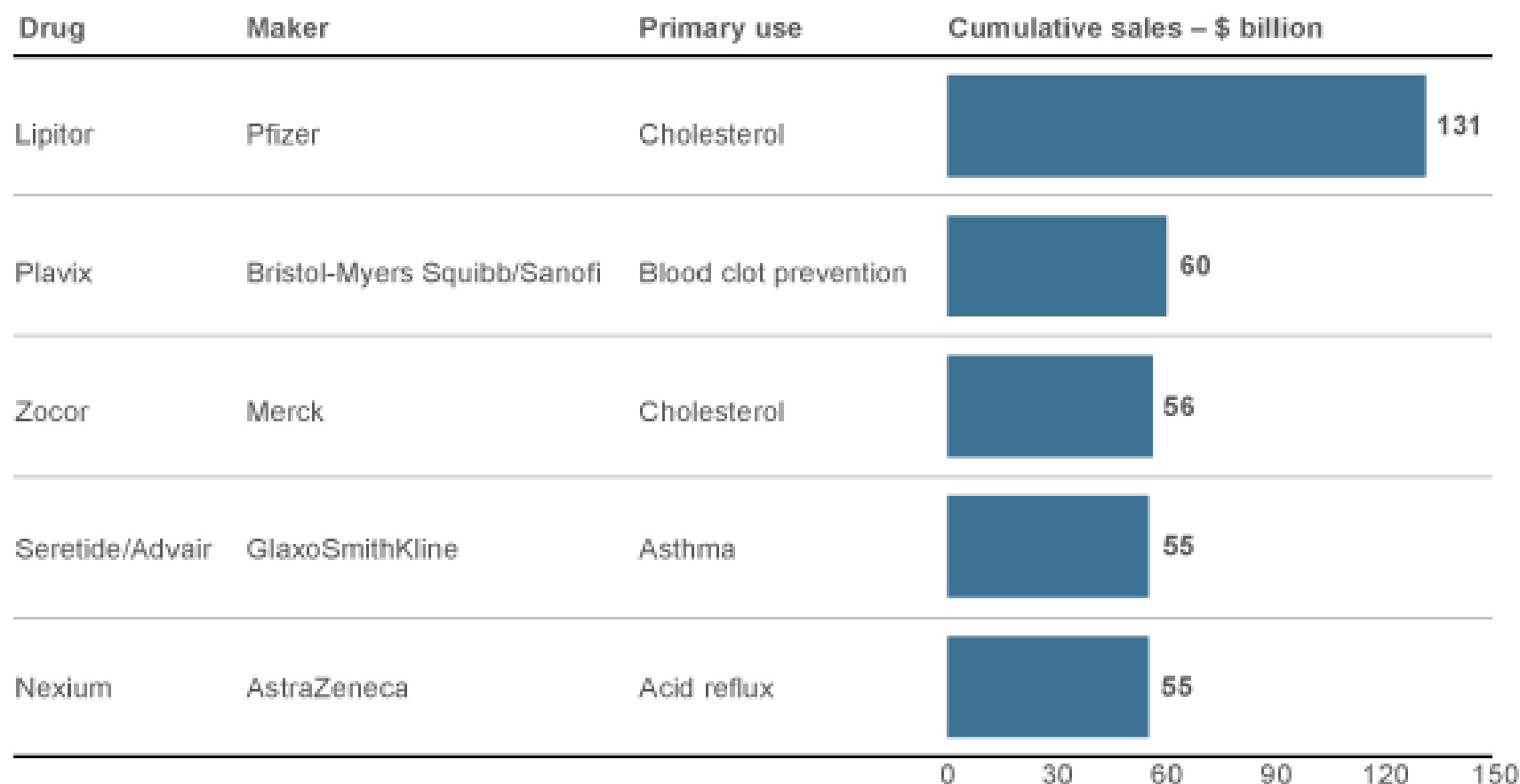
- ▶ Pisani dokumenati iz Indije, Kine, Egipta
- ▶ Wirchovljeva stanična teorija
- ▶ Pasteurov dokaz da su bakterije uzročnici bolesti
- ▶ Prvi farmakološki zavod za istraživanje lijekova osnovao je Buckheim 1847. godine u Estoniji
- ▶ Farmacija, biologija, fiziologija i farmakologija
- ▶ Velike farmaceutske kompanije, istraživački zavodi, fakulteti i klinike

# Problemi u razvoju novih lijekova

- ▶ Izuzetno veliki novčani izdatci (2010. – 1,7 milijardi \$)
- ▶ Dugotrajan proces - prosjek od otkrića novog lijeka do puštanja u promet 8-12 godina
- ▶ Samo 1 od 12 spojeva koji uđu u razvojni proces dođe na tržište
- ▶ Samo 20% novih lijekova vrati uložena sredstva
- ▶ „Blockbuster” – 2010. Lipitor (atorvastatin) - približno 12 milijardi \$)

# Top 5 drugs by global cumulative sales

The top-selling prescription medicines of all time.



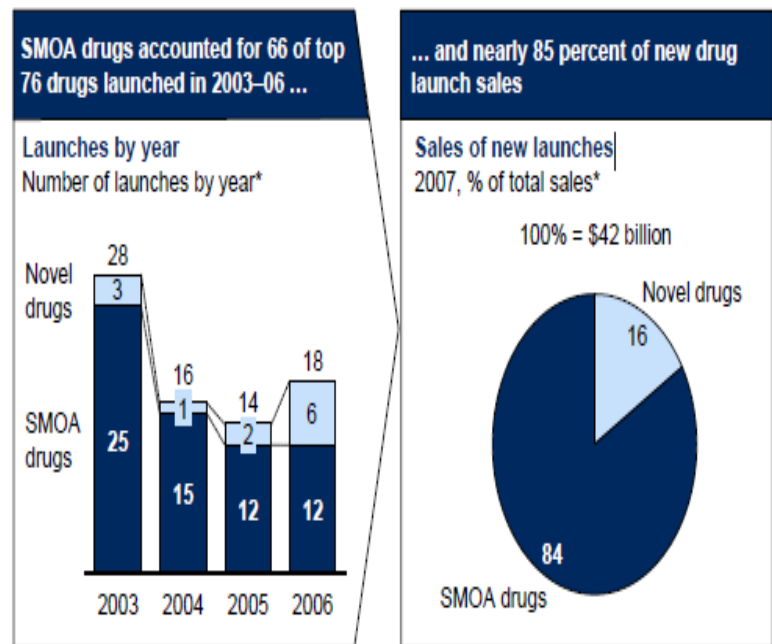
Source: IMS Health



# Problemi u razvoju novih lijekova

- ▶ „Me too drugs” – nove molekule koje su kemijskom strukturom, mehanizmom djelovanja i kliničkim obilježjima vrlo slične već postojećim lijekovima na tržištu
- ▶ Npr. inhibitori HMG-CoA reduktaze – simvastatin, rovastatin, cerivastatin, atorvastatin, fluvastatin, rozuvastatin
- ▶ Najveći dio tržišta posljednjih 10 godina

Majority of new drug launches had similar mechanism of action (SMOA) to preexisting drugs



\* Includes all drugs launched between 2003 and 2006 that achieved \$100 million in US sales by 2007.

Source: IMS Health; McKinsey Global Institute analysis

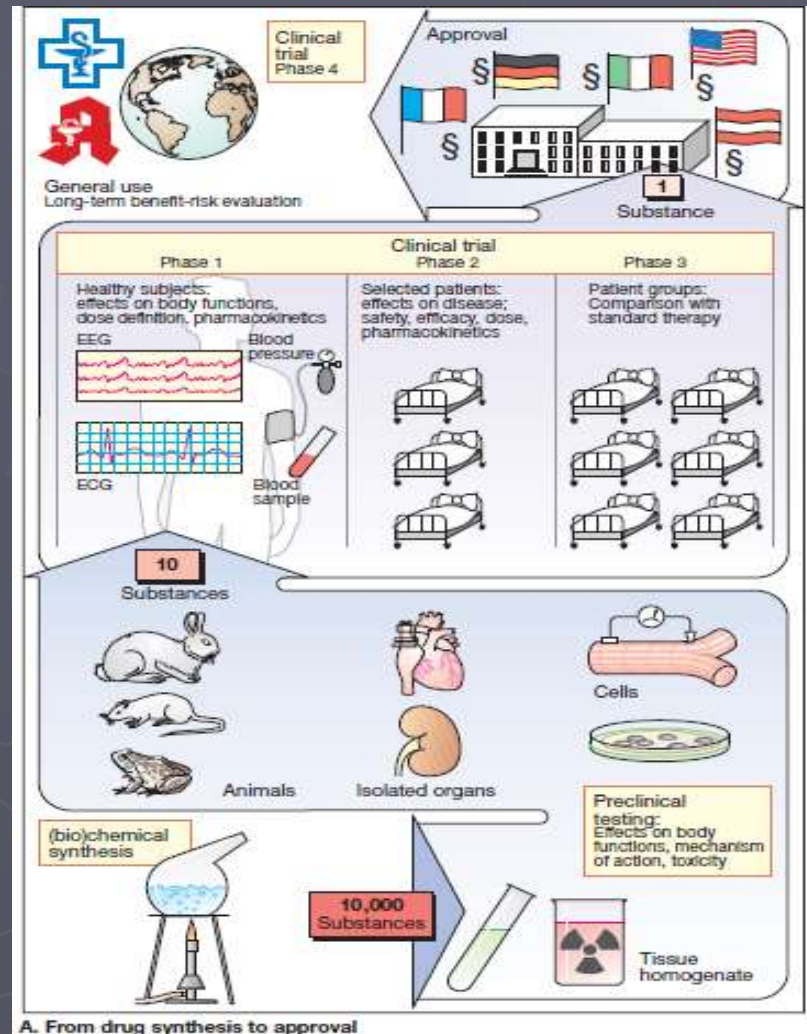
# Problemi u razvoju novih lijekova

- ▶ **Orphan drugs** – lijekovi „siročići“
- ▶ Problem – teško istraživanje (malo oboljelih – kliničke faze razvoja upitne), neisplativost (rijetke bolesti = 1:2000 stanovnika)



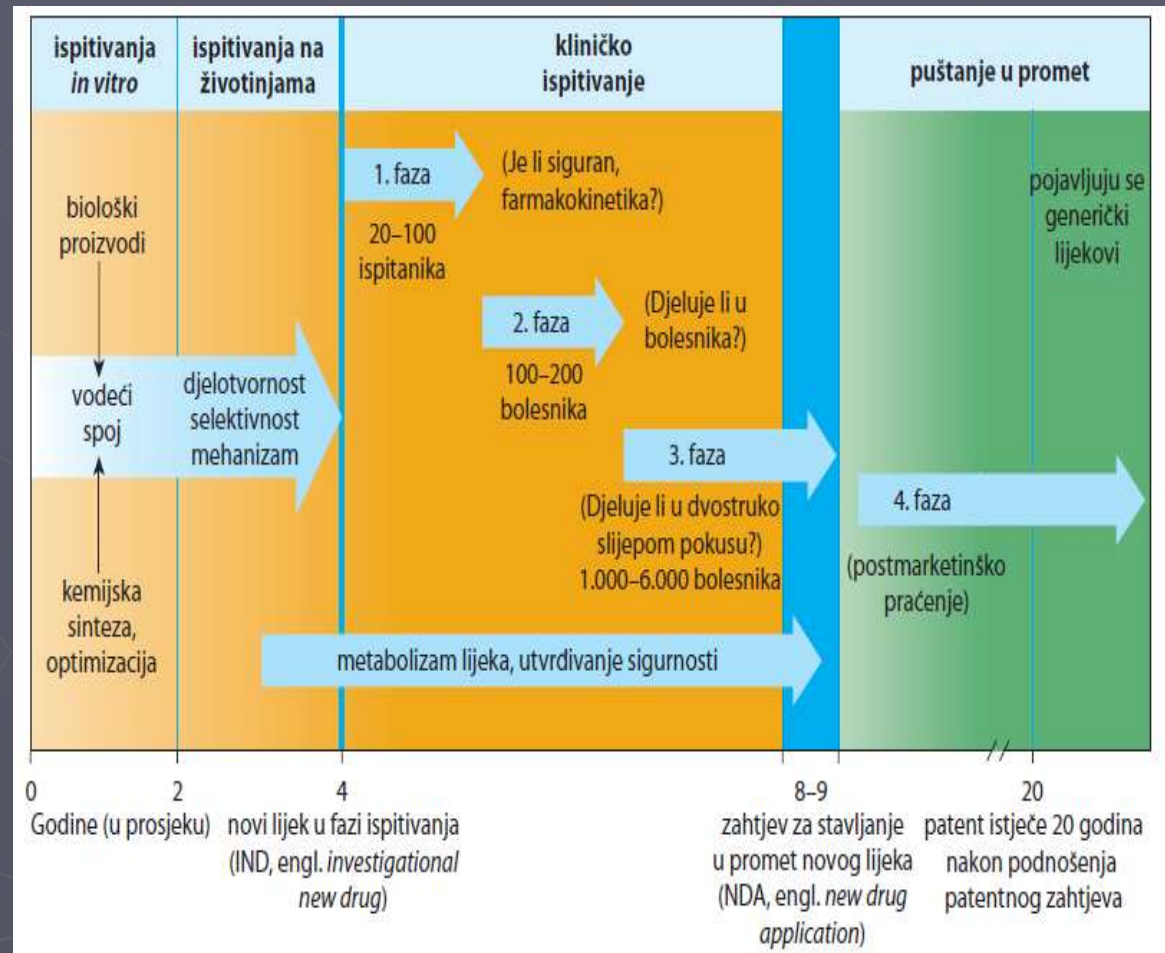
# Faze u istraživanju novih lijekova

1. **Otkriće lijeka** – izbor ciljne molekule i pronalazak potencijalnog kandidata
2. **Preklinička** (“neklinička”) faza – in vitro i in vivo na životinjskim modelima
3. **Kliničke faze** – I, II, III, IV faza



# Faze istraživanja lijekova

- Proces otkrivanja i razvoj novih lijekova dijeli se u **pretkliničku** i **kliničku** fazu





# Preklinička faza



# Preklinička faza

- ▶ obuhvaća **probir** brojnih tvari koje bi u budućnosti mogle postati lijekom
- ▶ **10 000 tvari** za dobivanje **jednog lijeka**
- ▶ istražuju se **farmakodinamičke, farmakokinetičke i toksikološke osobitosti tvari u *in vitro* uvjetima i na eksperimentalnim životinjama**

# Otkrivanje molekule novog lijeka

- ▶ Suvremeni pristup otkriću molekule novog lijeka je identificirati i definirati ciljne molekule za lijek
- ▶ Razvoj metoda kojom će se mjeriti aktivnost ciljnog proteina
- ▶ Potraga za potencijalnim kandidatima za lijekove
- ▶ Kemijska modifikacija poznate molekule lijeka, probiranje unutar velikog broja biološki aktivnih prirodnih produkata, peptida, nukleinskih kiselina ili drugih organskih molekula te racionalno oblikovanje molekule potencijalnog lijeka

# Preklinička faza

- ▶ pretkliničko toksikološko/farmakološko ispitivanje - najbolje reguliran i pažljivo praćen program razvoja novog lijeka
- ▶ pretklinička istraživanja obavezno prethode kliničkim istraživanja
- ▶ **ne slijede nužno jedan za drugim**, već se djelomično preklapaju

# Probiranje svojstava potencijalnog lijeka i utvrđivanje farmakološkog profila

- ▶ Kandidati za potencijalne lijekove ulaze dalje u niz pokusa, poznatih pod nazivom – probiranje svojstava lijeka (od engl. *drug screening*)
- ▶ cilj je različitim biološkim metodama na molekularnom i staničnom nivou, te na nivou organa i cijelog organizma životinja **definirati aktivnost i selektivnost potencijalnog lijeka**

# Farmakološki profil

**Tablica 4.1** Neki od testova koji se provode za određivanje farmakološkog profila potencijalnoga blokatora  $\alpha$ -receptora\*

Ciljna mjesta ispitivanja	Vrste tkiva ili životinje	Način primjene	Mjerenja
<b>Molekularna razina:</b> vezanje za receptore (npr. $\beta$ -adrenoreceptori)	stanične membrane iz tkiva; stanične kulture; klonirani receptori	<i>in vitro</i>	afinitet i selektivnost za receptore
aktivnost enzima (npr. tirozin-hidrolaza, monoamino-oksidaza)	simpatički živci nadbubrežne žlijezde, pročišćeni enzim	<i>in vitro</i>	inhibicija enzima i selektivnost
citokrom P-450	jetra	<i>in vitro</i>	inhibicija enzima; učinci na metabolizam lijeka
<b>Stanična razina:</b> funkcija stanice	stanične kulture	<i>in vitro</i>	dokazi za aktivnost receptora (agonizam ili antagonizam)
izolirano tkivo	krvne žile srca, pluća, ileuma (štakor ili zamorac)	<i>in vitro</i>	učinci na kontrakciju i relaksaciju krvnih žila; selektivnost za vaskularne receptore
sistemni učinci/modeli bolesti krvni tlak	pas, mačka (anestezija) hipertenzivni štakor (budnost)	parenteralna oralna	promjene sistoličkog i dijastoličkog tlaka antihipertenzivni učinci
učinci na srce	pas (budnost) pas (anestezija)	oralna parenteralna	elektrokardiogram inotropni, kronotropni učinci, minutni volumen, ukupni periferni otpor
periferni autonomni živčani sustav	pas (anestezija)	parenteralna	učinci na odgovor poznatih lijekova, električka stimulacija središnjega i perifernoga živčanog sustava
učinci na respiratorni sustav	pas, zamorac	parenteralna	učinci na frekvenciju disanja, tonus dišnih putova
diuretička aktivnost	pas	oralna, parenteralna	natriureza, kaliureza, diureza, protok krvi kroz bubrege, veličina glomerularne filtracije
učinci na probavni sustav	štakor	oralna	tonus probavnoga sustava, sekrecija
učinci na cirkulirajuće hormone, kolesterol, glukozu u krvi	štakor, pas	parenteralna, oralna	koncentracije u serumu
koagulacija krvi	kunić	oralna	vrijeme zgrušavanja krvi, retrakcija ugruška, protrombinsko vrijeme
središnji živčani sustav	miš, štakor	parenteralna, oralna	stupanj sedacije, mišićna relaksacija, lokomotorna aktivnost, stimulacija

# ISPITIVANJA SIGURNOSTI I PODNOŠLJIVOSTI POTENCIJALNOG LIJEKA

- Kandidat za lijek, koji je zadovoljio kriterije početnog odabira i kojemu je definiran farmakološki profil, ulazi u detaljni pretklinički razvoj, koji obuhvaća **ispitivanja sigurnosti i podnošljivosti, te farmakokinetičkih svojstava**

**Tablica 5-1. Neklinički testovi toksičnosti i sigurnosti lijeka**

Vrsta testa	Pristup i ciljevi
akutna toksičnost	Obično dvije životinjske vrste, dva puta primjene. Utvrđivanje doze koja nema učinka i maksimalne podnošljive doze. U nekim slučajevima, utvrđivanje akutne doze letalne u oko 50% životinja.
subakutna ili supkronična toksičnost	Tri doze, dvije životinjske vrste, ispitivanje u trajanju 2 tjedna do 3 mjeseca; prije početka kliničkog ispitivanja. Što je duže trajanje očekivane kliničke primjene, dulje je i trajanje subakutnog ispitivanja. Utvrđivanje biokemijskih, fizioloških učinaka.
kronična toksičnost	Glodavci i drugi sisavci u trajanju duljem od 6 mjeseci. Nužno kada je lijek namijenjen za dugotrajnu primjenu u čovjeka. Obično se zbivaju istodobno s kliničkim ispitivanjima. Ciljevi kao i u subakutnom ispitivanju.
učinak na reprodukciju	Dvije životinjske vrste, obično glodavci i kunići. Ispituje se učinak na parenje, reprodukciju, okot, potomstvo, prirodene anomalije, postnatalni razvoj.
karcinogeni potencijal	Dvije godine, dvije životinjske vrste. Nužno kada je lijek namijenjen za dugotrajnu primjenu u čovjeka. Utvrđivanje makroskopske i mikroskopske patologije.
mutageni i genotoksični potencijal	Testiranje učinaka na genetsku stabilnost i mutacije u bakterija (Ames test) ili na kulturi stanica sisavaca; oštećenje ili lom kromosoma u miševa (klastogeni učinak); dominantni letalni test u miševa.
mehanizmi toksičnosti	Utvrđivanje slijeda i mehanizama toksičnih učinaka (važnih gena, proteina i biokemijskih procesa). Razvoj novih metoda za procjenu toksičnosti; uporaba modeliranja s pomoću računala.



# Pokusi akutne toksičnosti

- ▶ Učinci jednokratnih doza moraju se provesti na **dvije vrste sisavaca**
- ▶ **maksimalna doza** pri kojoj se još ne javljaju toksični učinci
- ▶ **minimalna letalna dozu** (najmanja doza koja ubija životinju)
- ▶ **srednju letalnu dozu (LD50)** (doza koja ubija približno 50% životinja u jednom pokusu)
- ▶ promatraju tijekom najmanje **14 dana** nakon primjene jedne doze



# Pokusi višekratne toksičnosti

**Tablica 4.3** Klasifikacija kemijskih tvari s obzirom na podatke o akutnoj peroralnoj toksičnosti

Doza	Učinak	Klasifikacija/djelovanje
5 mg/kg	preživljavanje < 90%	vrlo toksično
	preživljavanje >90%, znakovi toksičnosti	toksično
	preživljavanje >90%, nema toksičnosti	testiranje s 50 mg/kg
50 mg/kg	preživljavanje < 90%	toksično ili vrlo toksično (ponoviti test s 5 mg/kg)
	preživljavanje >90%, znakovi toksičnosti	štetno
	preživljavanje >90%, nema toksičnosti	testiranje s 500 mg/kg
500 mg/kg	preživljavanje < 90%	toksično ili štetno (ponoviti test s 50 mg/kg)
	preživljavanje >90%, znakovi toksičnosti	vjerojatno nema značajnije toksičnosti
	preživljavanje >90%, nema toksičnosti	testiranje s 2.000 mg/kg
2.000 mg/kg	preživljavanje < 90%	ponoviti test s 500 mg/kg
	preživljavanje >90%, sa znakovima toksičnosti ili bez njih	nema značajnije toksičnosti

Prilagođeno prema J. Timbrell, Introduction to Toxicology, Taylor&Frances, 2002.

# Pokusi opetovane (kronične) toksičnosti

Trajanje kliničkih pokusa	Ciljevi kliničkih pokusa	Minimalno trajanje pokusa opetovane toksičnosti	
		Glodavci	Ne-glodavci
primjena jedne doze do dva tjedna	FK, FK-FD FK-FD, višekratne doze FK-FD, Faza II: Dokaz učinkovitosti i podnošljivosti; pokusi ADME*; interakcije lijekova, FK u specijalnim populacijama Faza III	dva do četiri tjedna <sup>b</sup> dva do četiri tjedna jedan mjesec	dva tjedna dva tjedna jedan mjesec
do jedan mjesec	FK-FD, višekratne doze FK-FD, Faza II: Dokaz učinkovitosti; pokusi ADME*; interakcije lijekova, FK u specijalnim populacijama Faza III	jedan mjesec tri mjeseca	jedan mjesec tri mjeseca
do tri mjeseca	FK-FD, višekratne doze FK-FD Faza II: Dokaz učinkovitosti; sigurnost, pokusi ADME*; interakcije lijekova, FK u specijalnim populacijama Faza III	tri mjeseca šest mjeseci	tri mjeseca tri mjeseca
do šest mjeseci, uključivo fazu III	svi klinički pokusi uključivo fazu III	šest mjeseci	šest do dvanaest mjeseci <sup>d</sup>
dulje od 6 mjeseci (uključivo fazu III)	svi klinički pokusi uključivo fazu III	šest mjeseci	šest do dvanaest mjeseci

# Ispitivanja genotoksičnosti

- ▶ određuju da li je ispitivana tvar sposobna izazvati genetsko oštećenje i mutaciju spolnih-germinativnih odnosno somatskih stanica
- ▶ In vitro i in vivo
- ▶ potencijal induciranja karcinoma
  - *Ames test*
  - *In vitro esej kromosomskih aberacija*
  - *In vivo mikronuklearni esej*

# Pokusi kancerogenosti

- ▶ Ciljevi pokusa kancerogenosti su dokazati potencijal lijeka prema razvoju malignih tumora u životinja i odrediti koliko je taj nalaz relevantan za čovjeka

# Testovi reproduktivne toksičnosti

- ▶ procjenjuju neželjene učinke kemijskih tvari na razvoj organizma različitih životinjskih vrsta, od reproduktivnih stanica do odrasle dobi

# Testovi iritacije i lokalne osjetljivosti

- ▶ Testovi koji se obično provode za industrijske kemikalije i pesticide
- ▶ Testovi iritacije se obično provode na koži ili sluznici očiju kunića
- ▶ Testovi kožne preosjetljivosti se najčešće provode na svinjama, a pozitivni rezultati ukazuju da tvar posjeduje potencijal za razvoj kontaktnog dermatitisa

# Kliničko ispitivanje lijekova



# KLINIČKO ISPITIVANJE LIJEKOVA

## ► Osnovni razlozi za provođenje:

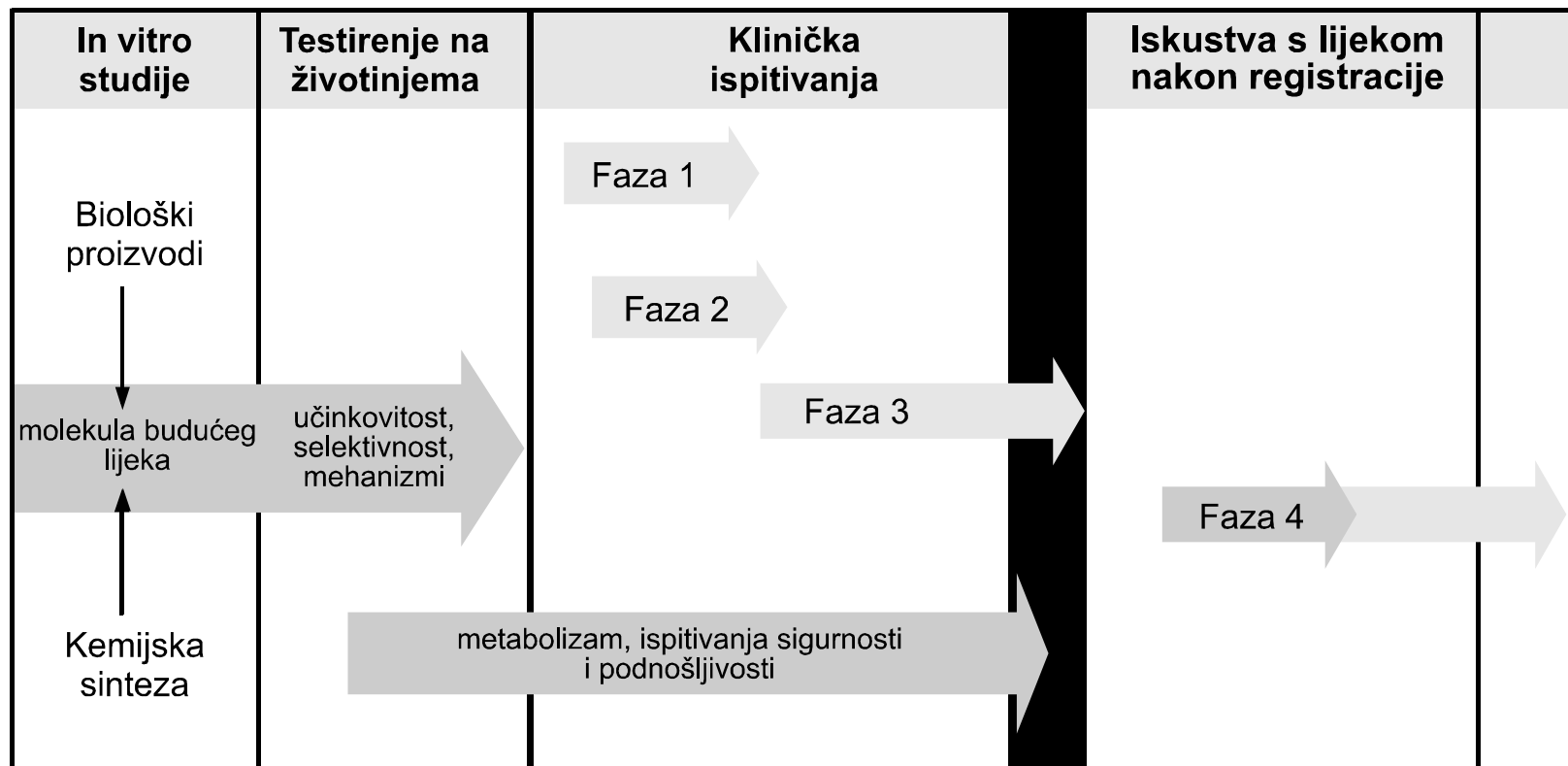
- značajne **razlike u djelovanju lijekova na životinje** (i učinak na pojedine životinjske vrste je različit) i **čovjeka**
- različita apsorpcija, distribucija, metabolizam i izlučivanje lijekova u životinje i čovjeka
- **niz bolesti ne pojavljuje se u životinja** te se učinak lijekova namijenjenih tim bolestima mora i može ispitati tek na čovjeku



# VRSTE KLINIČKIH ISPITIVANJA

- ▶ prospektivna i retrospektivna
- ▶ ispitivanje koje se provodi na jednoj grupi bolesnika
- ▶ ispitivanja u kojima se uspoređuju dvije grupe bolesnika
- ▶ longitudinalno ispitivanje
- ▶ paralelnog tipa kliničkog ispitivanja
- ▶ križani (unakrsni) tip ispitivanja
- ▶ **RANDOMIZACIJA**

# Faze kliničkog istraživanja lijekova



Postupci odabira novog lijeka  
0 2  
Godine (prosječno trajenje)

Ispitivanje novog lijeka

4

8-9

Registracija novog lijeka

20

Zaštita patenta

Prestanak zaštite patenta

# Faza I kliničkih ispitivanja

- ▶ Ispitivanja faze I provode na **zdravim dobrovoljcima**
- ▶ **Izuzetak** predstavljaju lijekovi čije su očekivane nuspojave odviše opasne da bi se riziku izlagali zdravi dobrovoljci – **antitumorski lijekovi**
- ▶ **Farmakokinetika, određuje podnošljivost te metabolički i farmakološki učinci zabilježeni u ispitivanjima na životinjama**

# Faza I kliničkih ispitivanja

- ▶ Karakteristika ispitivanja faze I je razmjerno **malen broj ispitanika**
- ▶ U fazi I kliničkih ispitivanja sudjeluje **20-60 ispitanika**
- ▶ Provode se u **specijaliziranim kliničko-farmakološkim odjelima**

# Faza I kliničkih ispitivanja

- ▶ Radi se o **prvoj primjeni lijeka čovjeku** pa je potrebno znanje i dar za opažanje i registriranje nepoznatog i neočekivanog
- ▶ Istraživači u fazi I u pravilu su **klinički farmakolozi**
- ▶ **Parametar** praćenja potpuno je **objektivan** – koncentracija u **krvi, urinu** ili nekoj drugoj tjelesnoj tekućini

# Faza II kliničkih ispitivanja

- ▶ ispitivani lijek **prvi puta** se primjenjuje u bolesnika
- ▶ cilj je **utvrditi** mogući **terapijski učinak** ispitivanog lijeka
- ▶ nastavlja se s istraživanjem podnošljivosti i određuje relativna podnošljivost

# Faza IIa kliničkih ispitivanja

- ▶ Faza IIa ima za prvenstveni cilj utvrditi prve znakove **djelotvornosti**, odrediti **dozu** lijeka, relativnu podnošljivost u bolesnika sa određenom bolesti – indikacijom
- ▶ Provodi se u **2 ili 3 grupe** bolesnika, obično na **2 ili 3** različita ispitivačka **mjesta**
- ▶ uglavnom se provodi u **kliničko farmakološkim odjelima**, no može se provoditi i u **specijaliziranim kliničkim odjelima**

# Faza IIb kliničkih ispitivanja

- ▶ uključuje **veći broj bolesnika (200-300)**
- ▶ cilj je te faze ustanoviti definitivni učinak lijeka, odrediti **djelotvornu dozu** i **režim** primjene lijeka, utvrditi spektar **nuspojava**, utjecaj **hrane** na apsorpciju lijeka, utjecaj bolesti na kinetiku lijeka, režim doziranja, nuspojave, **interakcije**
- ▶ U fazi II kliničkih ispitivanja često se primjenjuje **jednostruko slijepa tehnika** - kao kontrola koristi se placebo ili lijek (aktivna kontrola)



# Faza III kliničkih ispitivanja

- ▶ ispitivanje djelotvornosti na **većem broju bolesnika**
- ▶ ispitivanja faze III osim **multicentrična** često i **internacionalna**
- ▶ **prethodi registraciji** lijeka pa se očekuje da daju odgovore na sva značajna pitanja kao što su:  
**primarna indikacija, doza i režim doziranja, nuspojave, interakcije sa drugim lijekovima, interakcija sa hranom**

# Faza III kliničkih ispitivanja

- ▶ U fazi III kliničkih ispitivanja koristi se uglavnom kontrolna skupina, jednostruka ili **dvostruka slijepa tehnika**
- ▶ Trajanje faze III kliničkih ispitivanja **ovisi o vrsti lijeka i bolesti** kojoj je lijek namijenjen
- ▶ Ukoliko se radi **o rijetkoj bolesti** biti će **potrebno vrijeme** da se prikupi dovoljan broj bolesnika

# Faza III kliničkih ispitivanja

- ▶ Faza III kliničkih ispitivanja dijeli se u **Fazu IIIa i IIIb**.
- ▶ **Faza IIIa** kliničkih ispitivanja prethodi podnošenju zahtjeva za registraciju lijeka
- ▶ faza IIIb podrazumijeva kliničko ispitivanje lijeka za koji je već podnesen zahtjev za registraciju
- ▶ Predmet **faze IIIb** kliničkih ispitivanja uglavnom je **dopuna podataka iz faze IIIa** kao što je npr. ispitivanje u bolesnika sa zatajenjem funkcije jetre ili bubrega, utjecaj na QT interval i sl.

# Faza IV kliničkih ispitivanja

- ▶ **Klinička ispitivanja** određenog lijeka ne završavaju činom registracije lijeka
- ▶ Sva klinička ispitivanja koja se provode za već **registrirani lijek** u odobrenoj indikaciji svrstavaju se u **fazu IV kliničkih ispitivanja**
- ▶ Ispitivanjima faze IV žele se utvrditi podaci o djelotvornosti i podnošljivosti lijeka, a koji se nisu mogli ispitati u fazi III kliničkih ispitivanja iz vrlo različitih razloga (**ograničen broj bolesnika, strogi kriteriji uključivanja, odsustvo drugih bolesti**)

# Faza IV kliničkih ispitivanja

- ▶ Važan aspekt ispitivanja **faze IV** su **nuspojave lijeka**
- ▶ U fazi IV moguće je uključiti znatno veći broj bolesnika nego u fazi III, pa je veća vjerojatnost otkrivanja nuspojava koje imaju nisku učestalost ( $<1\text{‰}$ ) pa ih nije moguće otkriti ukoliko se ne promatra više od 3000 bolesnika
- ▶ U fazi IV kliničkih ispitivanja može se utvrditi **interakcija novog lijeka s hranom i lijekovima** koji su u prethodnim fazama kliničkog ispitivanja strogo kontrolirani