

FARMACODINAMICA

- Interazione del farmaco con il suo bersaglio biologico al sito d'azione (o biofase)
- L'interazione con il biopolimero bersaglio è di solito specifica e reversibile
- L'interazione modifica (stimola o inibisce) i processi biochimici nei quali è coinvolto il bersaglio
- Le modifiche comportano effetti molecolari, cellulari, tissutali e sistemici

Bersagli dei farmaci

➤ Proteine

- enzimi
- recettori
- canali ionici
- proteine di trasporto
- proteine strutturali

➤ Acidi nucleici

- DNA
- RNA

Farmaci che non agiscono su una macromolecola biologica

- Antiacidi
- Chelanti dei metalli pesanti
- Diuretici e purganti osmotici

Agiscono extracellularmente su componenti non cellulari dell'organismo

Bersagli dei farmaci

➤ Proteine

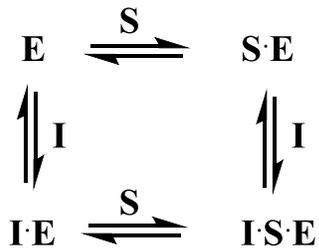
- enzimi
- recettori
- canali ionici
- proteine di trasporto
- proteine strutturali

➤ Acidi nucleici

- DNA
- RNA

Enzimi

Numerosi farmaci agiscono su sistemi enzimatici, attivandoli o, più spesso, inibendoli. Frequentemente il farmaco si comporta da analogo del substrato enzimatico ed agisce come inibitore competitivo, o reversibilmente o irreversibilmente.



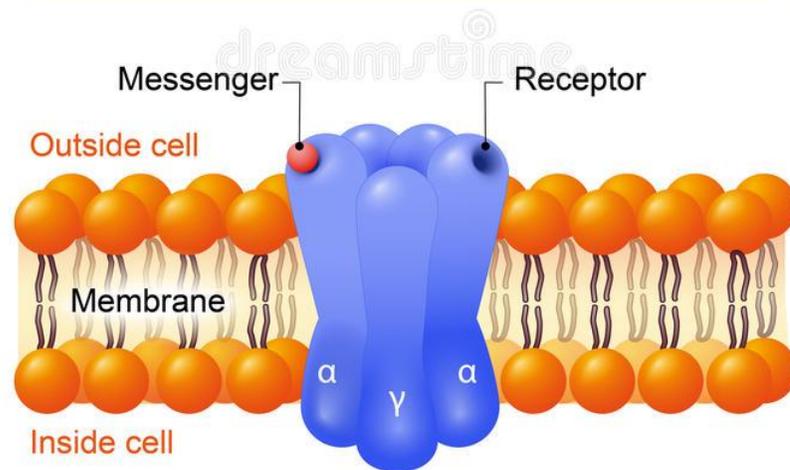
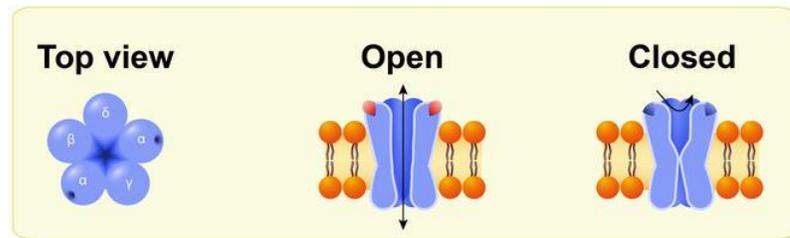
Gli schemi cinetici relativi alle interazioni substrato-enzima ed inibitore-enzima sono i seguenti:

- un enzima E si combina con il substrato S per dare il complesso reversibile S·E il quale può evolvere nel prodotto P, rigenerando l'enzima libero;
- nel caso di un inibitore reversibile e competitivo (cioè in grado di competere con il substrato per il sito attivo dell'enzima) si ha la formazione di un complesso non produttivo I·E;
- se l'inibizione è non competitiva (se cioè l'inibitore si lega ad un sito enzimatico diverso da quello del substrato) si ha la formazione dei complessi inattivi I·E e I·S·E, poiché I è in grado di legarsi sia all'enzima libero che al complesso S·E;
- un inibitore che si lega soltanto al complesso S·E è un inibitore acompetitivo (o incompetitivo);
- nel caso, infine, di inibizione irreversibile di tipo competitivo, alla formazione del complesso I·E fa seguito generalmente quella di un addotto covalente tra enzima ed inibitore.

Enzima bersaglio	Impiego clinico
Anidrasi carbonica	Glaucoma
DNA polimerasi virale	Herpes
3C proteasi del Rhinovirus	Raffreddore
Xantina ossidasi	Gotta
Trombina	Malattie cardiovascolari
Cicloossigenasi	Infiammazione
PBP	Infezioni batteriche
ACE	Ipertensione
Dopa decarbossilasi	Morbo di Parkinson
β-lattamasi	Resistenza batterica
Na ⁺ /K ⁺ ATPasi	Malattie cardiovascolari
Trascrittasi inversa dell' HIV	AIDS
Testosterone 5α-reduttasi	Iperplasia prostatica
Timidilato sintasi	Cancro
HMG-CoA reduttasi	Ipercolesterolemia
Diidrofolato reduttasi	Cancro, infezioni batteriche
DNA girasi	Infezioni batteriche
H ⁺ /K ⁺ ATPasi	Ulcera

Canali ionici

ION CHANNEL



Alcuni tipi di canali ionici sono collegati ad un recettore e si aprono solo quando viene attivato il recettore.

Altri tipi invece possono essere bersagli diretti di farmaci.

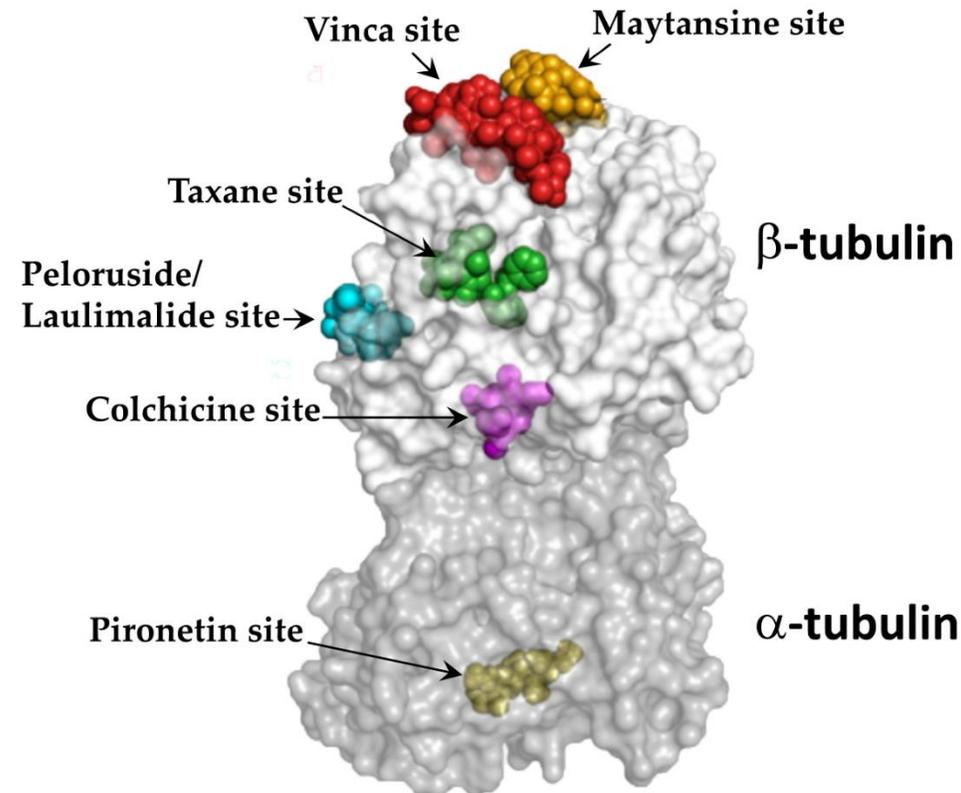
Sistemi trasportatori

Esempi di molecole carriers e di loro inibitori sono:

Carrier	Inibitore
Sistema di ricaptazione 1 della noradrenalina	Antidepressivi triciclici, Cocaina
Cotrasportatore di $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{2Cl}^-$	Diuretici dell'ansa
Na^+/K^+ ATPasi	Glicosidi cardiaci

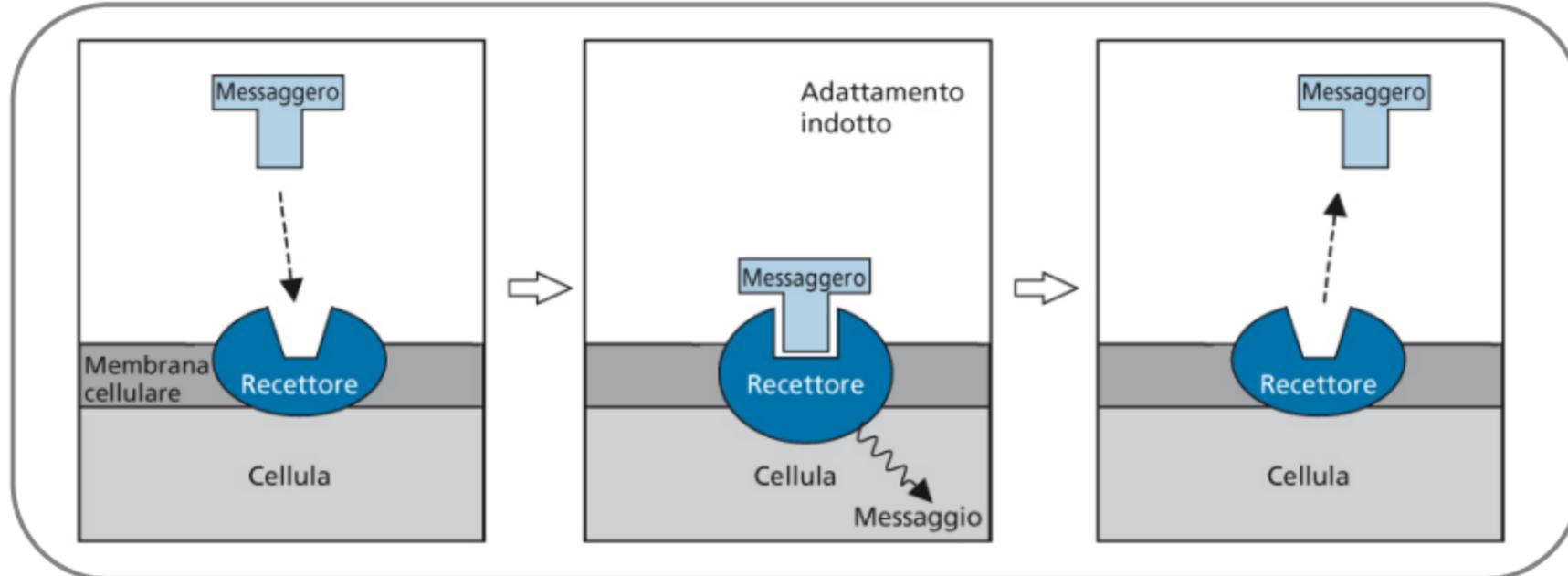
Proteine strutturali

Un esempio importante è la tubulina, proteina tubulare dimerica, costituente dei microtubuli, in particolare del fuso mitotico, con cui interagiscono gli Alcaloidi della Vinca ed i Taxani.



Recettori

- Proteine localizzate all'interno della cellula o sulla membrana cellulare
- Attivano le funzioni biochimiche cellulari attraverso l'interazione con mediatori endogeni o esogeni (farmaci)
- **Recettori orfani** sono recettori di farmaci per i quali non è ancora noto il ligando endogeno



I recettori sono elementi sensoriali di natura proteica, localizzati sulla membrana cellulare o all'interno della cellula, facenti parte del sistema di comunicazione che coordina le funzioni di tutte le differenti cellule dell'organismo. I messaggeri chimici che assicurano le comunicazioni tra le cellule sono ormoni, neurotrasmettitori, fattori di crescita, citochine. Alcuni di essi attraversano la membrana cellulare e portano il messaggio direttamente all'interno della cellula, interagendo con recettori intracellulari; altri invece interagiscono con recettori localizzati sulla membrana cellulare ed il segnale che essi contengono viene trasferito all'interno della cellula mediante vari meccanismi.

I recettori sono **proteine** in grado di attivare determinate funzioni biochimiche all'interno di una cellula a seguito dell'interazione con molecole endogene di varia natura con funzione di messaggeri chimici (mediatori fisiologici) ed, eventualmente, con farmaci (mediatori esogeni); il termine **ligando recettoriale** viene impiegato per indicare sia i mediatori endogeni che quelli esogeni. Quasi tutti i farmaci agiscono su recettori per i quali sono noti i ligandi endogeni (ad esempio i recettori dell'acetilcolina, della noradrenalina, dell'istamina, della serotonina, della dopamina, dell'insulina, degli ormoni steroidici). Vi sono però anche esempi di recettori per farmaci per i quali non sono stati ancora identificati i mediatori endogeni (recettori orfani).

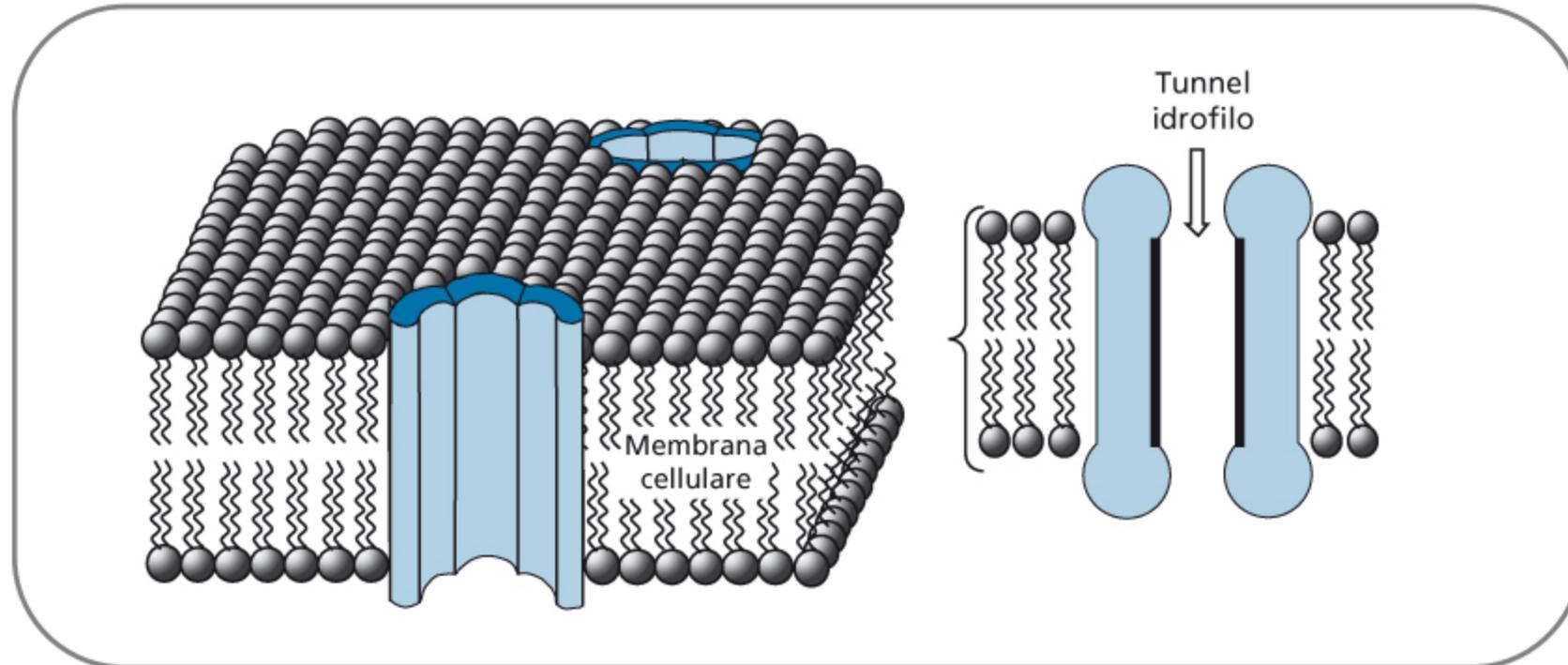
Famiglie di recettori

- *Recettori accoppiati ad un canale ionico (ionotropi)*
- *Recettori accoppiati alle proteine G (metabotropi)*
- *Recettori associati ad una chinasi*

- *Recettori intracellulari (attivatori della trascrizione)*

Recettori accoppiati ad un canale ionico (ionotropi)

- Canali ionici regolati da ligandi
- Canali ionici regolati da differenze di potenziale

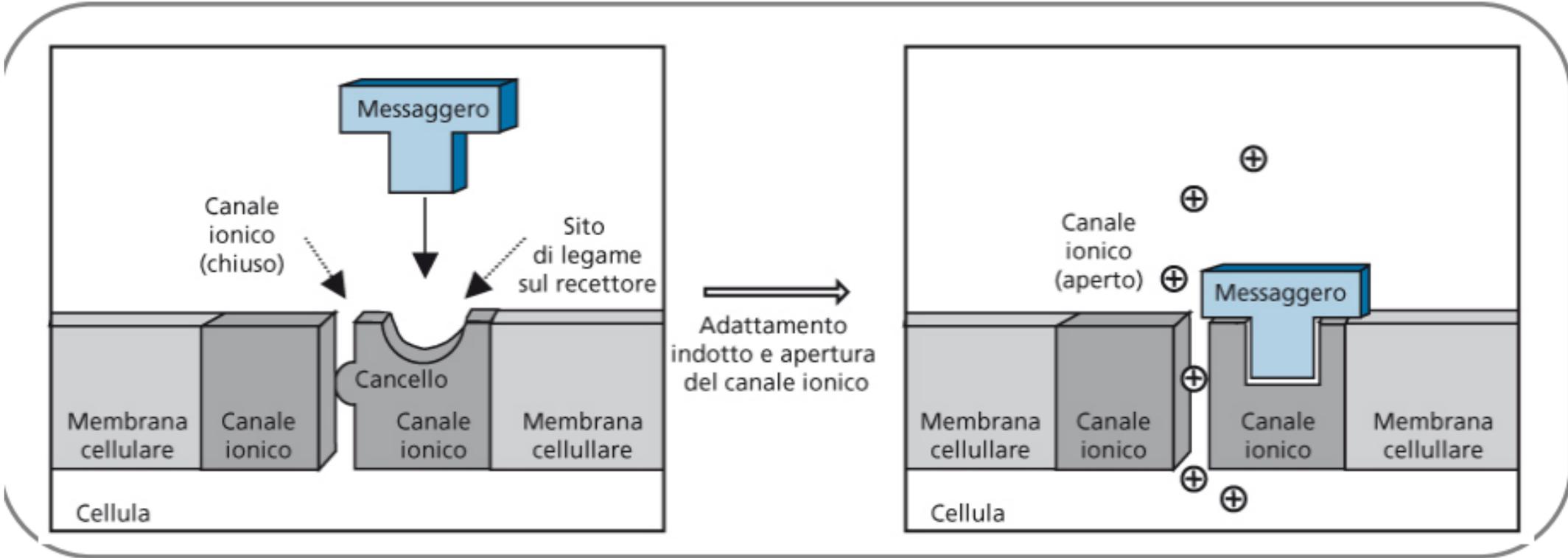


I recettori accoppiati ad un canale ionico rappresentano i recettori di diversi neurotrasmettitori (recettori nicotinici dell'acetilcolina, di aminoacidi eccitatori come aspartato e glutamato e di aminoacidi inibitori come il γ -aminobutirrato e la glicina). Il sito di legame del ligando ed il canale ionico fanno parte di uno stesso complesso proteico e l'apertura del canale avviene come risposta diretta al legame ligando-recettore. L'azione del neurotrasmettitore si svolge in una frazione di millisecondi e decade entro pochi millisecondi.

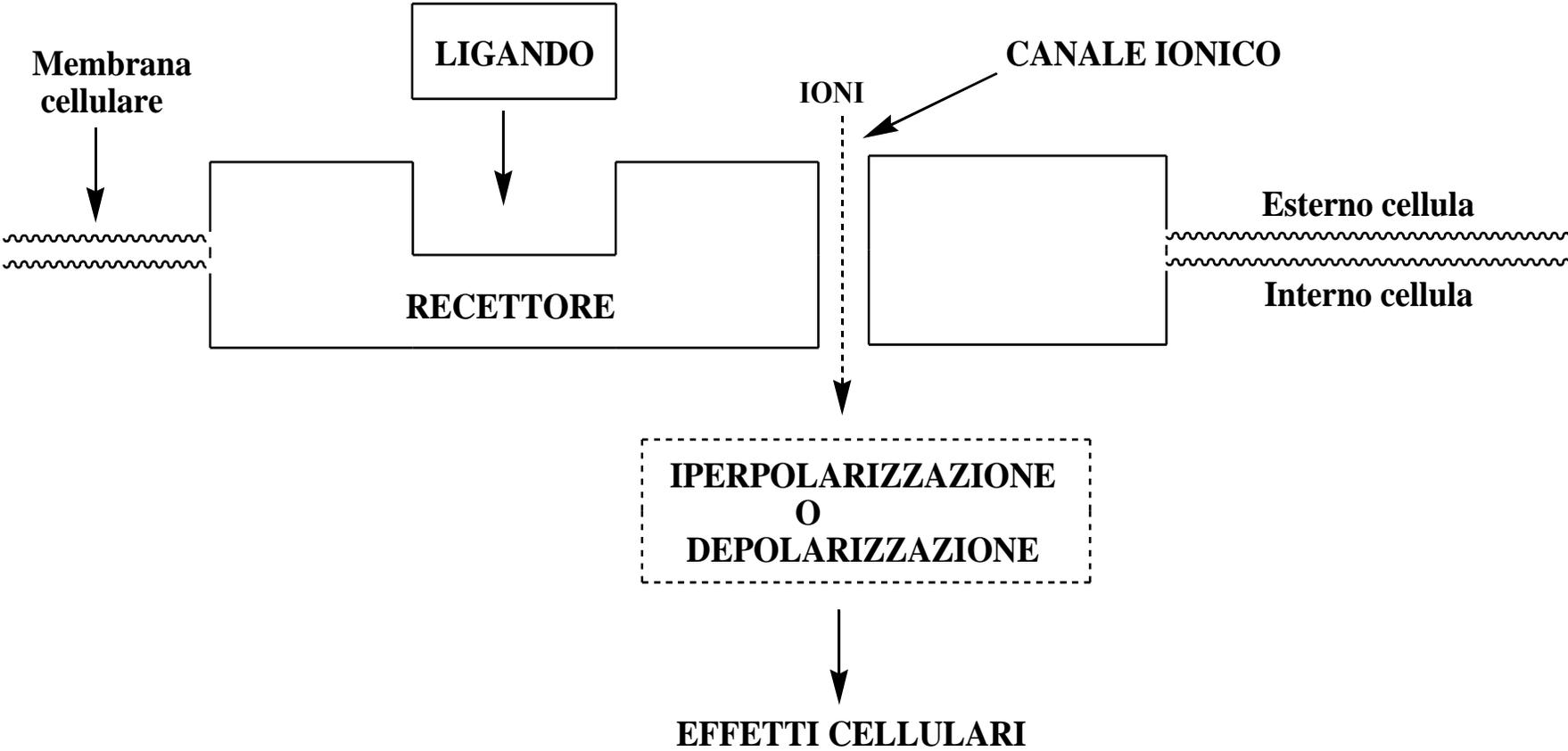
I neurotrasmettitori eccitatori come l'acetilcolina inducono l'apertura di canali cationici, in particolare del sodio o del calcio. Il risultato immediato è l'afflusso, per esempio, di ioni Na^+ nella cellula con conseguente depolarizzazione e generazione di un potenziale d'azione. L'attivazione dei recettori di neurotrasmettitori inibitori invece induce l'apertura di canali anionici (Cl^-) con iperpolarizzazione della cellula.

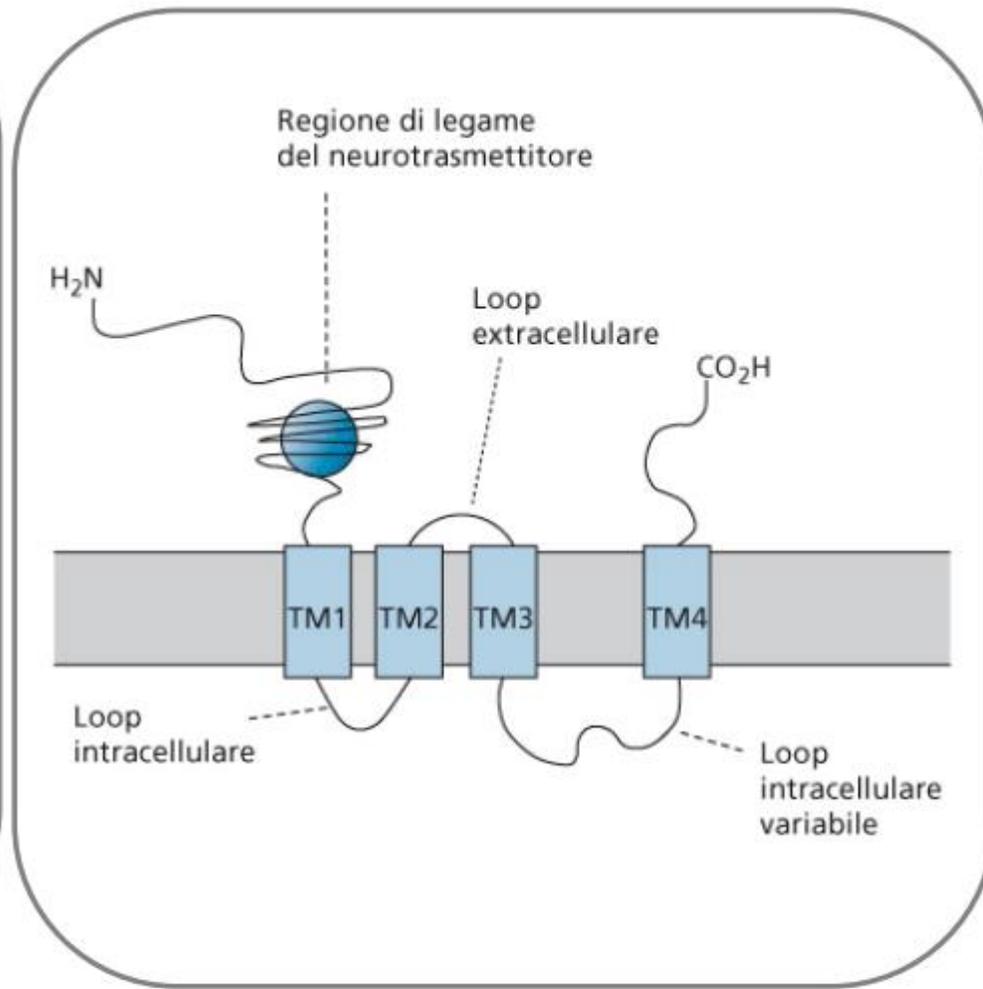
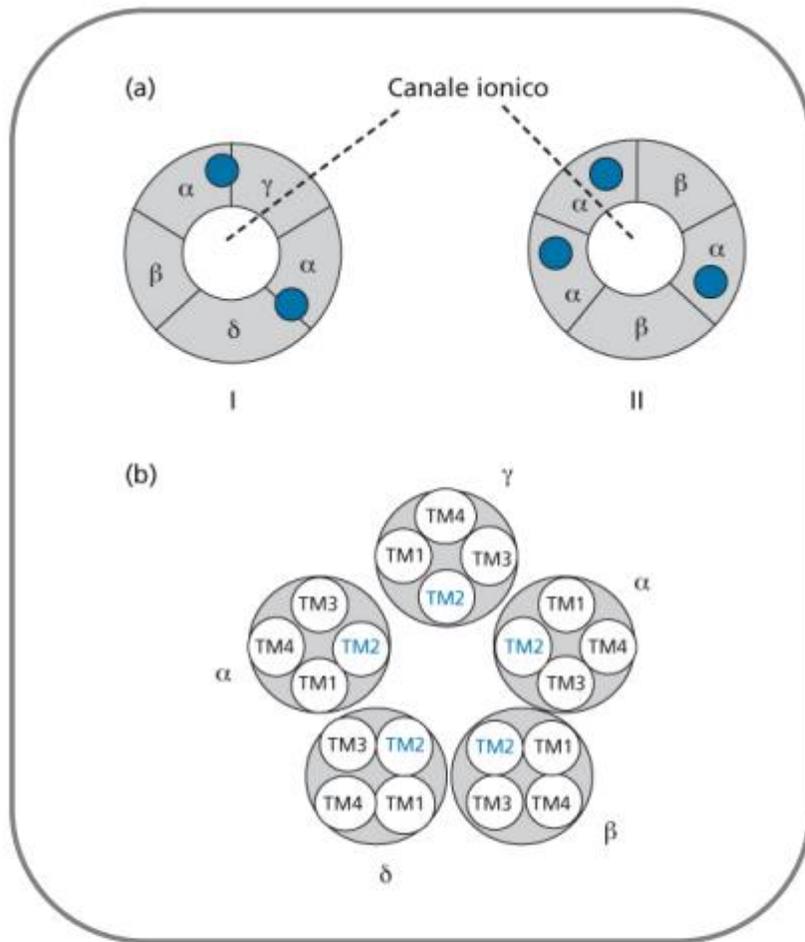
I canali ionici collegati direttamente (come nel caso appena esaminato) oppure indirettamente (come nel caso di certi tipi di recettori accoppiati alle proteine G) ad un recettore e che si aprono solo in presenza di un ligando sono indicati come canali ionici regolati da un **ligando** (*ligand-gated ion channels*). Altri canali ionici sono invece regolati da **differenze di potenziale** (*voltage-gated ion channels*). Il più semplice tipo di interazione di questi canali con i farmaci consiste nel blocco fisico del canale (ad esempio, nel caso degli anestetici locali).

Canali ionici regolati da ligandi



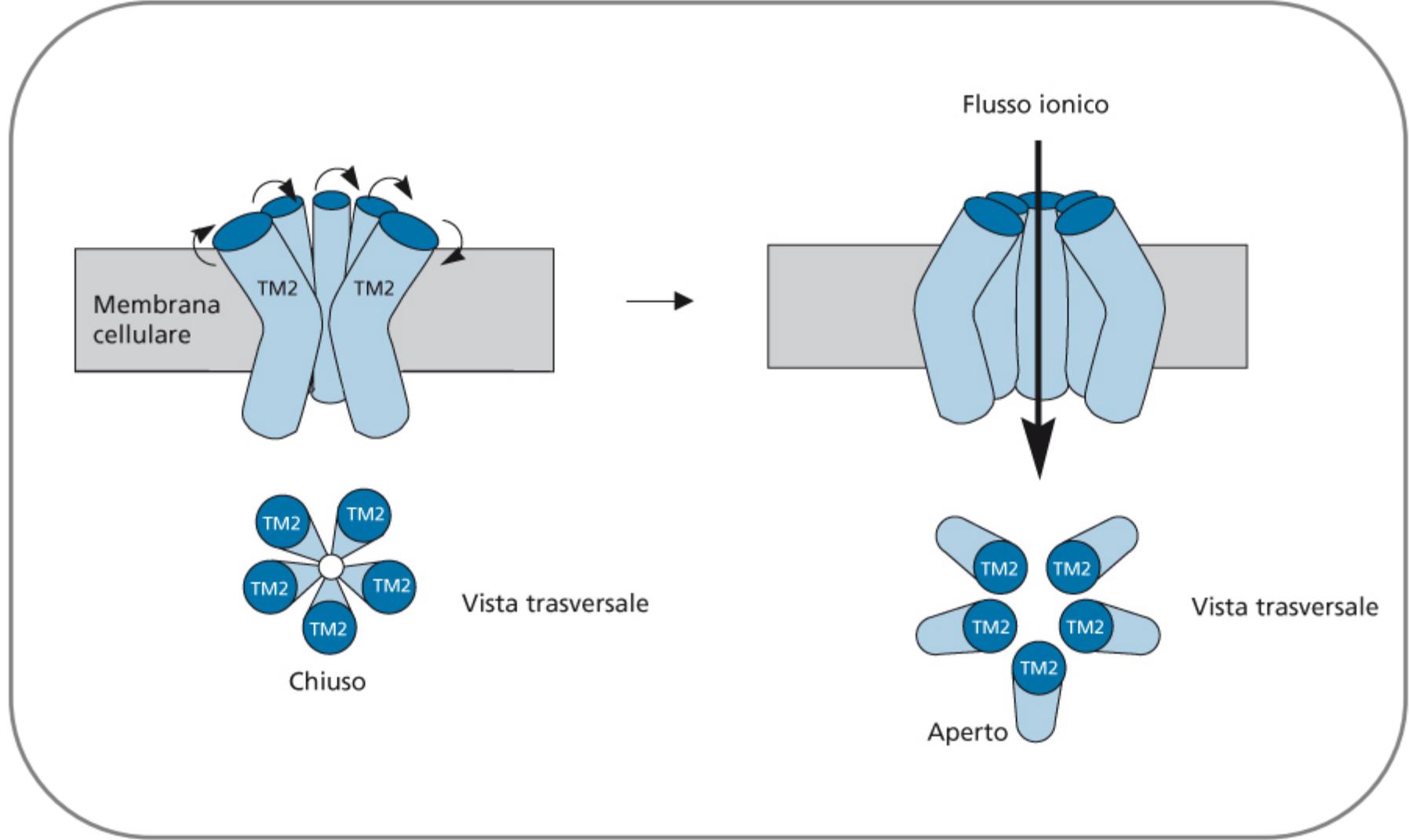
RECETTORI ACCOPPIATI AD UN CANALE IONICO (IONOTROPI)





- (a) Vista trasversale di : **I** canale ionico controllato da un recettore colinergico nicotinico; **II** canale ionico controllato da un recettore della glicina
- (b) Vista trasversale di **I** con regioni di transmembrana

Struttura di una subunità recettoriale

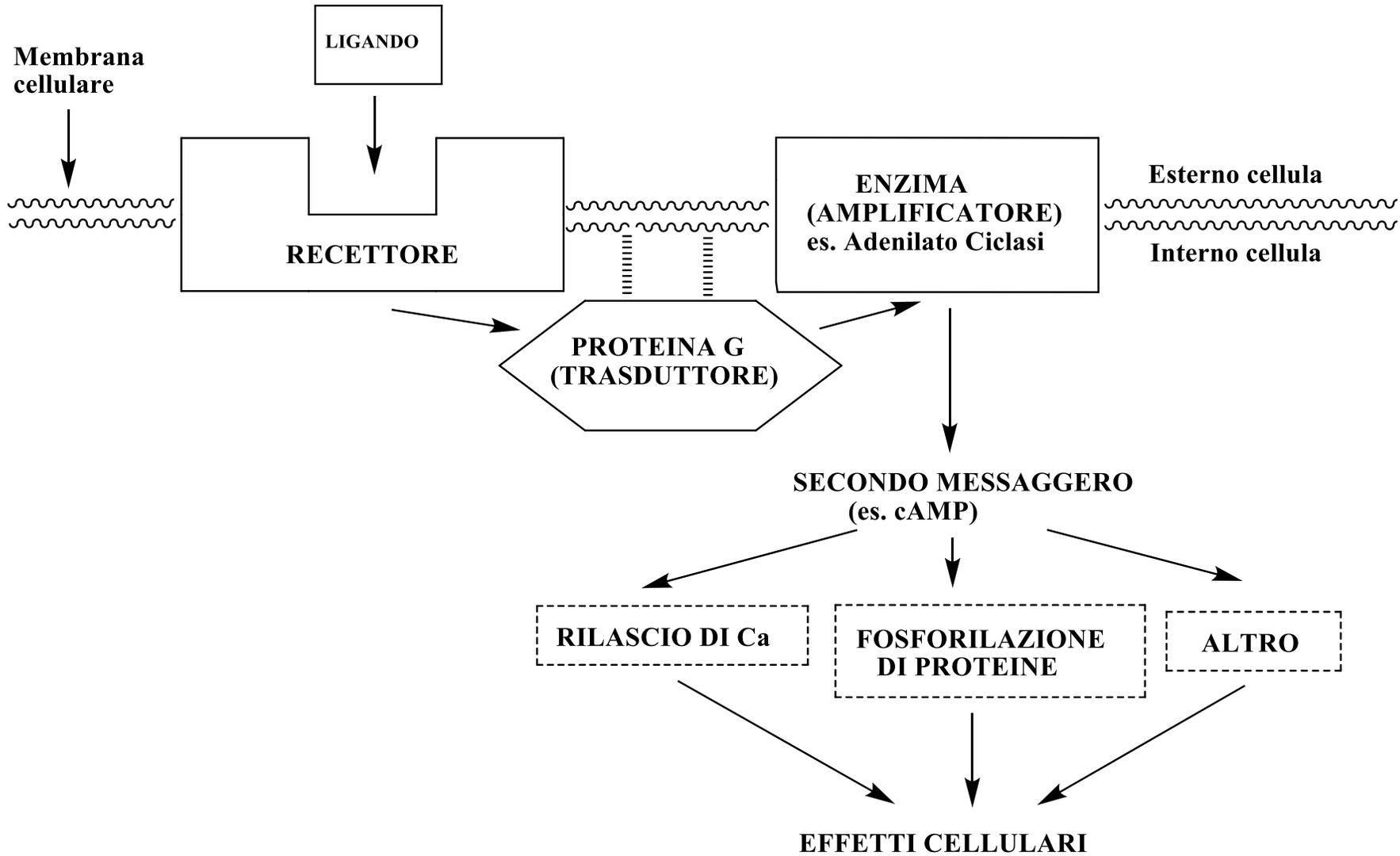


Recettori Accoppiati alle Proteine G (Metabotropi)

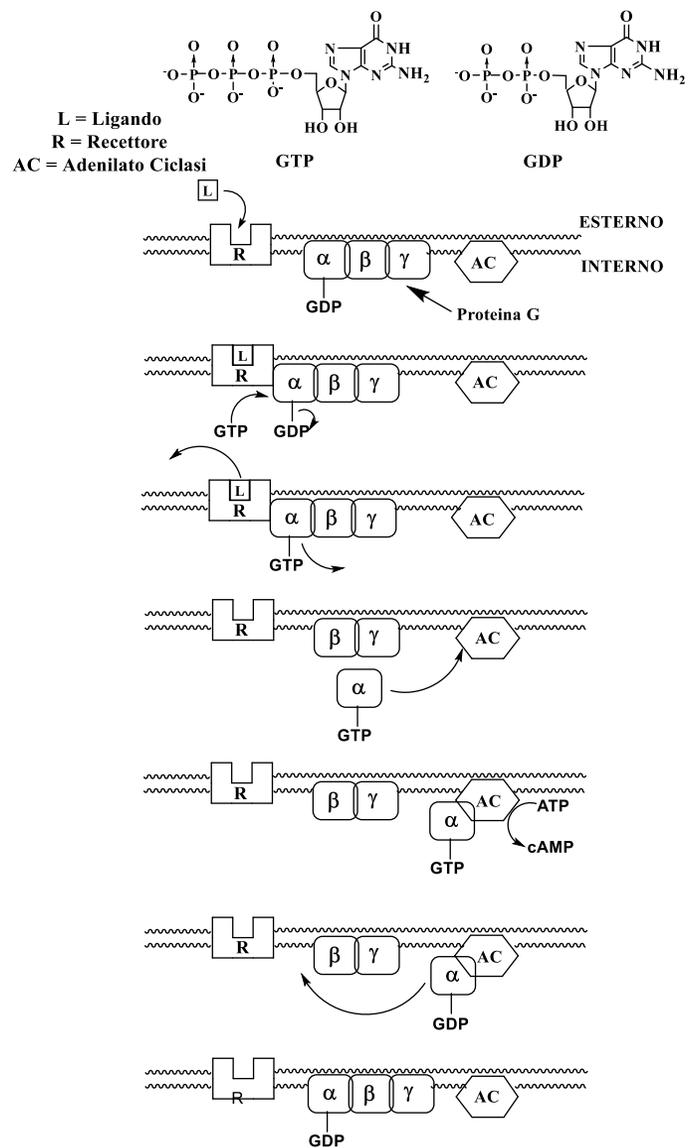
Questa famiglia di recettori comprende recettori di vari ormoni e trasmettitori lenti quali i recettori muscarinici dell'acetilcolina, i recettori adrenergici, dopaminergici ed oppiacei.

L'attivazione del recettore da parte di un ligando produce la attivazione di un **'trasduttore'** il quale, a sua volta, provoca l'attivazione (o l'inattivazione) di un enzima (oppure l'apertura, o la chiusura, di un canale ionico). L'attivazione dell'enzima si concretizza nella produzione di un **'secondo messaggero'** (il primo messaggero è il ligando recettoriale) il quale interviene nella regolazione di specifiche funzioni cellulari. La scala dei tempi è dell'ordine dei secondi. Meccanismi di questo genere danno luogo ad una amplificazione del segnale iniziale, poiché un singolo complesso ligando-recettore può attivare numerose molecole di trasduttore, ognuna delle quali, a sua volta, può rimanere associata all'enzima abbastanza a lungo da provocare la produzione di numerosissime molecole di secondo messaggero.

RECETTORI ACCOPPIATI ALLE PROTEINE G (METABOTROPI)

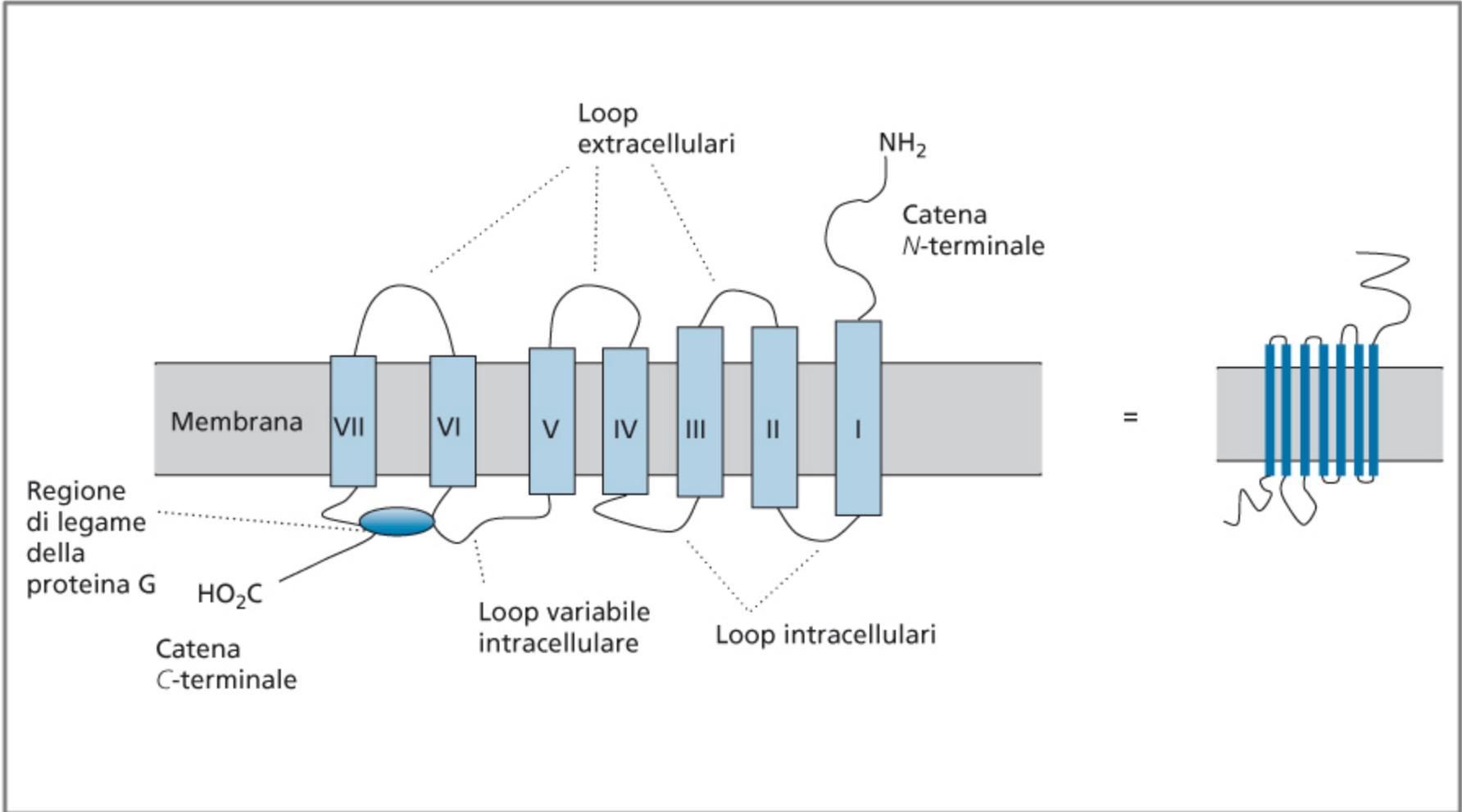


Il trasduttore è comunemente rappresentato dalle proteine G. Le proteine G (così chiamate per la loro interazione con i nucleotidi guaninici GTP e GDP) consistono di tre subunità ancorate alla membrana plasmatica, α , β e γ . I nucleotidi guaninici sono legati alla subunità α .

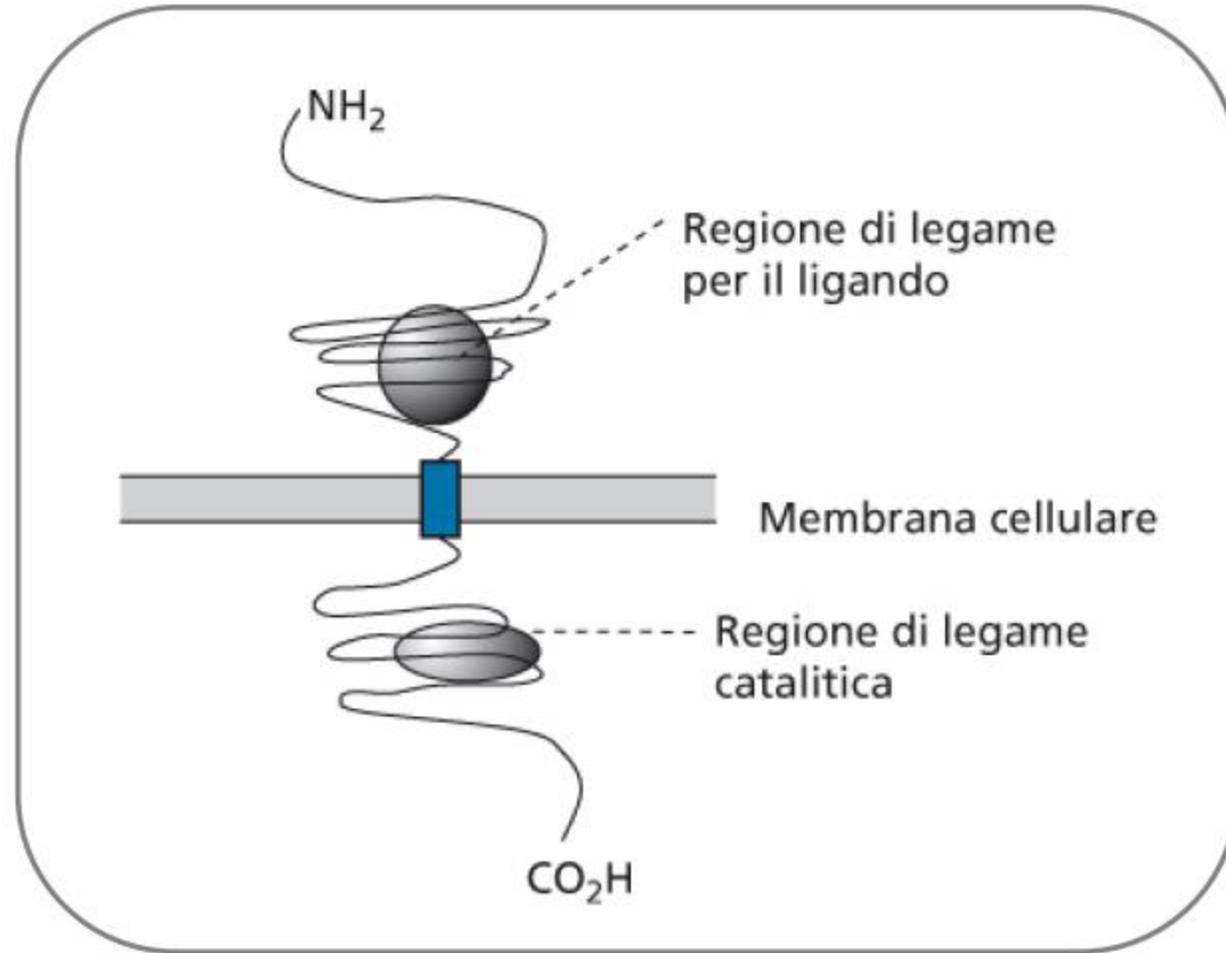


Nello stato a riposo, la proteina G esiste come trimero indissociato con GDP che occupa il sito sulla subunità α . Quando il recettore viene attivato da un ligando, avviene un cambiamento conformazionale nel recettore che lo porta ad associarsi alla proteina G. L'associazione recettore-proteina G provoca la sostituzione di GDP con GTP che, a sua volta, induce la dissociazione del trimero con rilascio delle subunità α -GTP e β,γ . La subunità α (ma anche il dimero β,γ) può diffondere lungo la membrana ed associarsi con vari enzimi, ad es. adenilato ciclasi, ma anche canali ionici, causandone la attivazione o la inattivazione (o la apertura o la chiusura). Si conoscono proteine G stimolatrici e proteine G inibitrici. L'attivazione dell'adenilato ciclasi stimola la formazione di AMP ciclico. Il processo termina con l'idrolisi del GTP a GDP ad opera della subunità α dotata di attività GTPasica. La risultante subunità α -GDP si dissocia dall'enzima bersaglio e si riunisce al dimero β,γ , ripristinando il trimero e completando così il ciclo.

Oltre al sistema adenilato ciclasi/cAMP, altri effettori accoppiati alle proteine G sono il sistema fosfolipasi C/inositolo fosfato e certi canali ionici (in quest'ultimo caso non sono coinvolti secondi messaggeri e la proteina G interagisce direttamente con il canale).

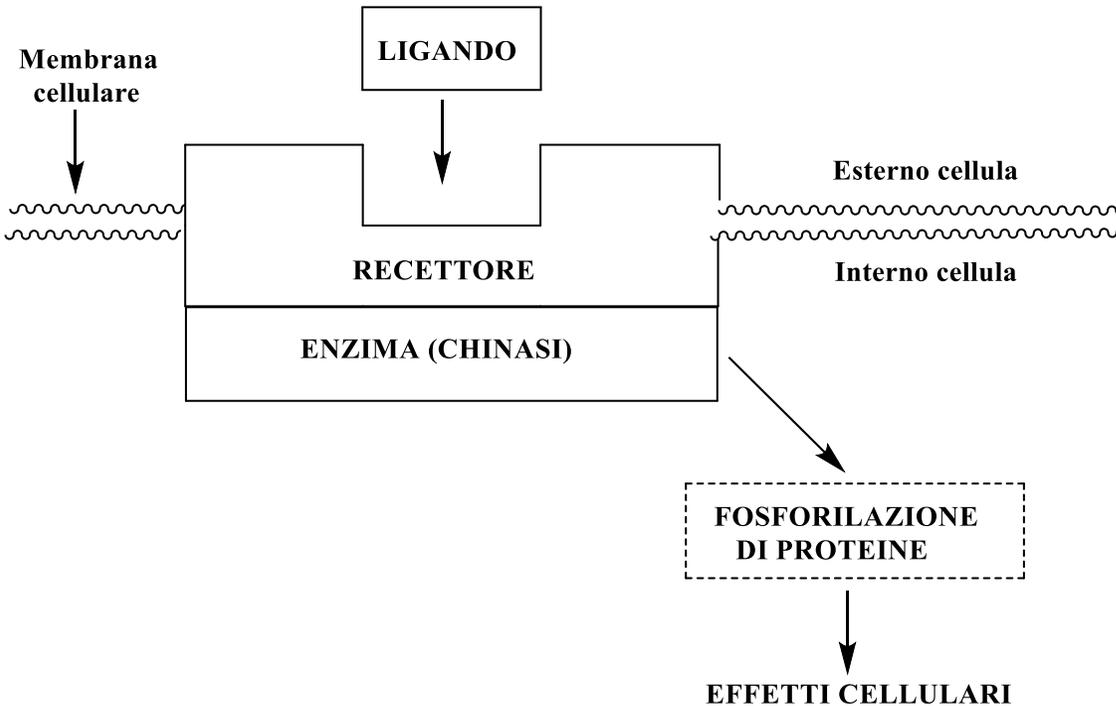


Recettori associati ad una chinasi



- **attività enzimatica intrinseca: dominio intracellulare con attività di proteina chinasi**
- **legano una chinasi del citoplasma**

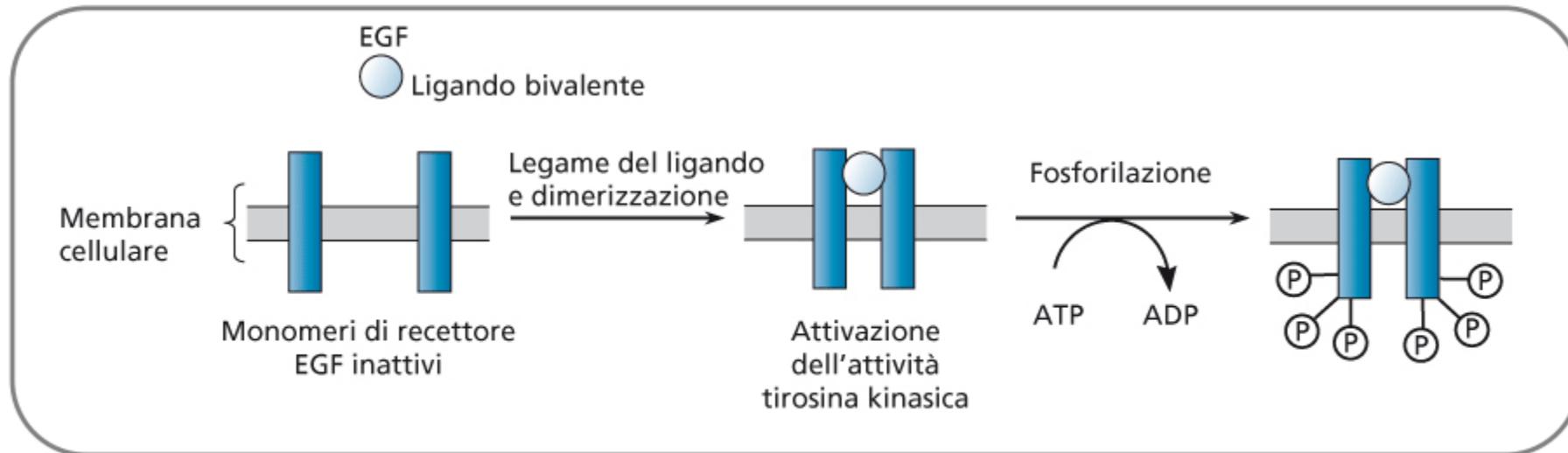
RECETTORI ACCOPPIATI AD UNA CHINASI



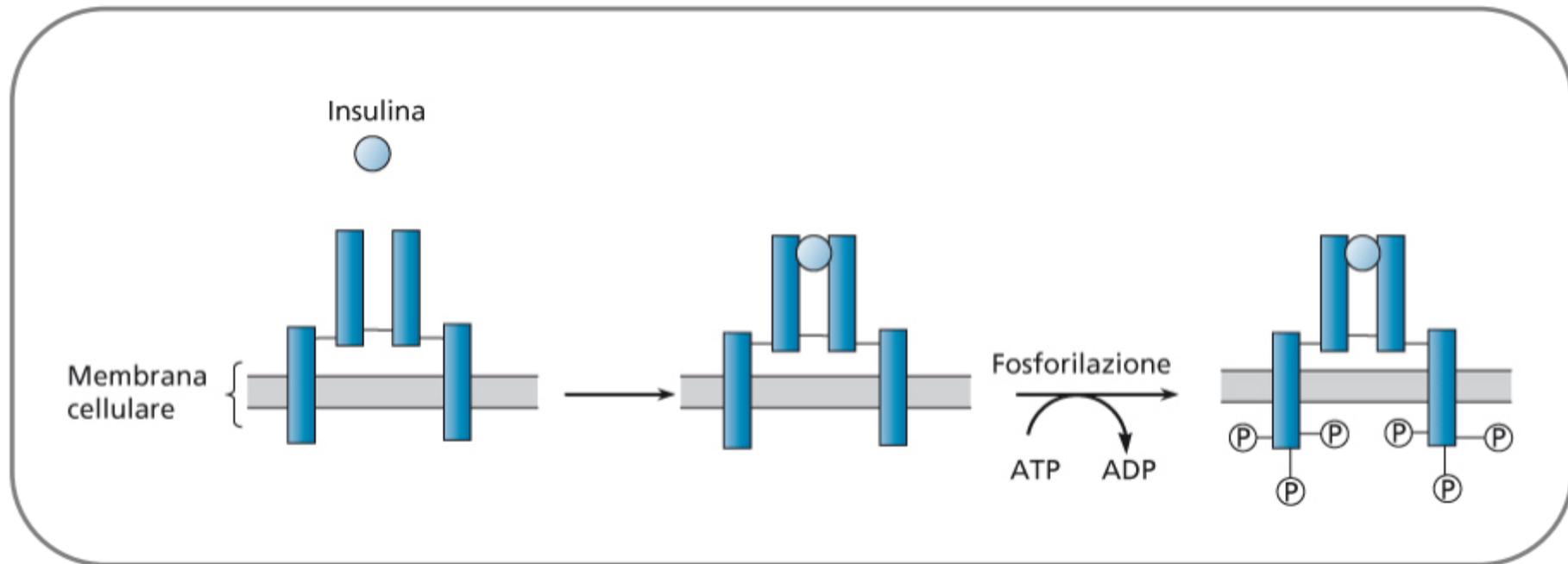
I recettori con attività enzimatica intrinseca incorporano un dominio intracellulare con attività di proteina chinasi (in genere una tirosina chinasi). Comprendono i recettori dell'insulina e di varie citochine e fattori di crescita. Sono coinvolti principalmente in eventi di controllo della crescita e della differenziazione cellulari ed, indirettamente, di regolazione della trascrizione genica.

Esempi di recettori tirosina chinasi:

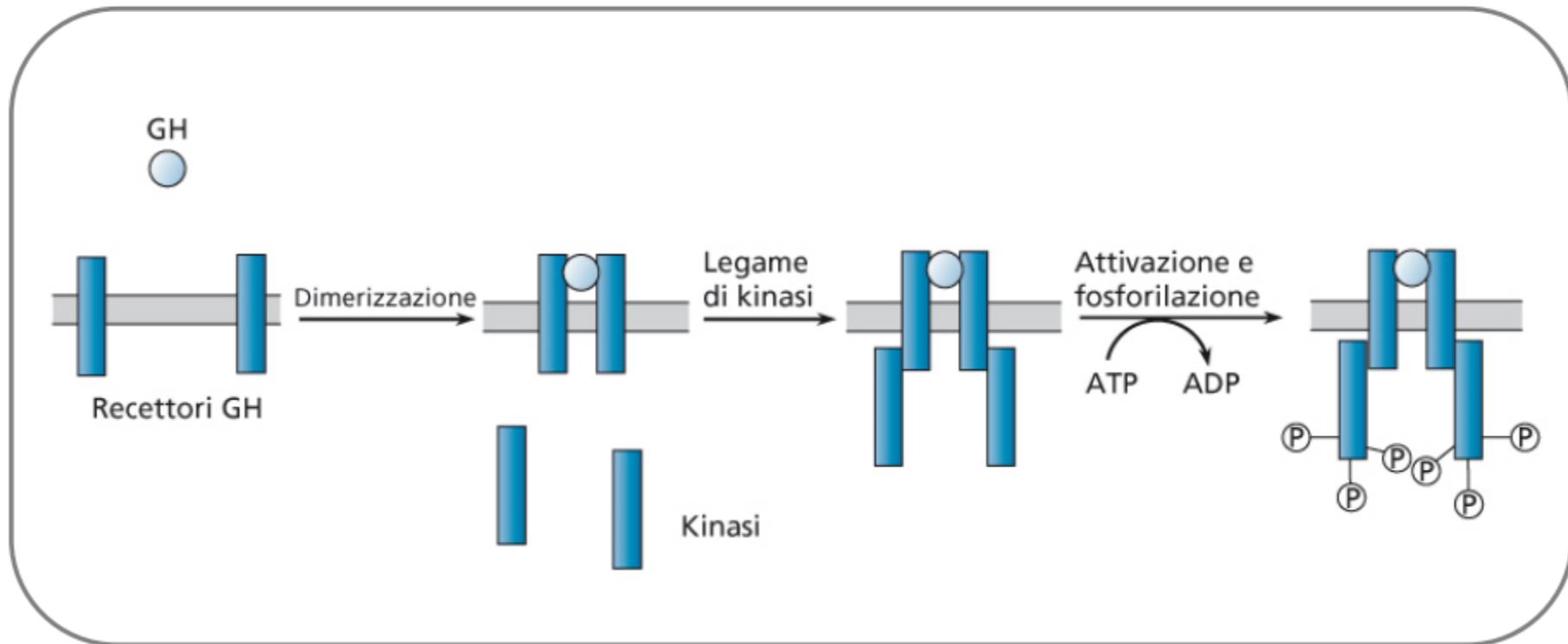
- *Recettore per il fattore di crescita epidermico (EGF)*



• *Recettore dell'insulina*



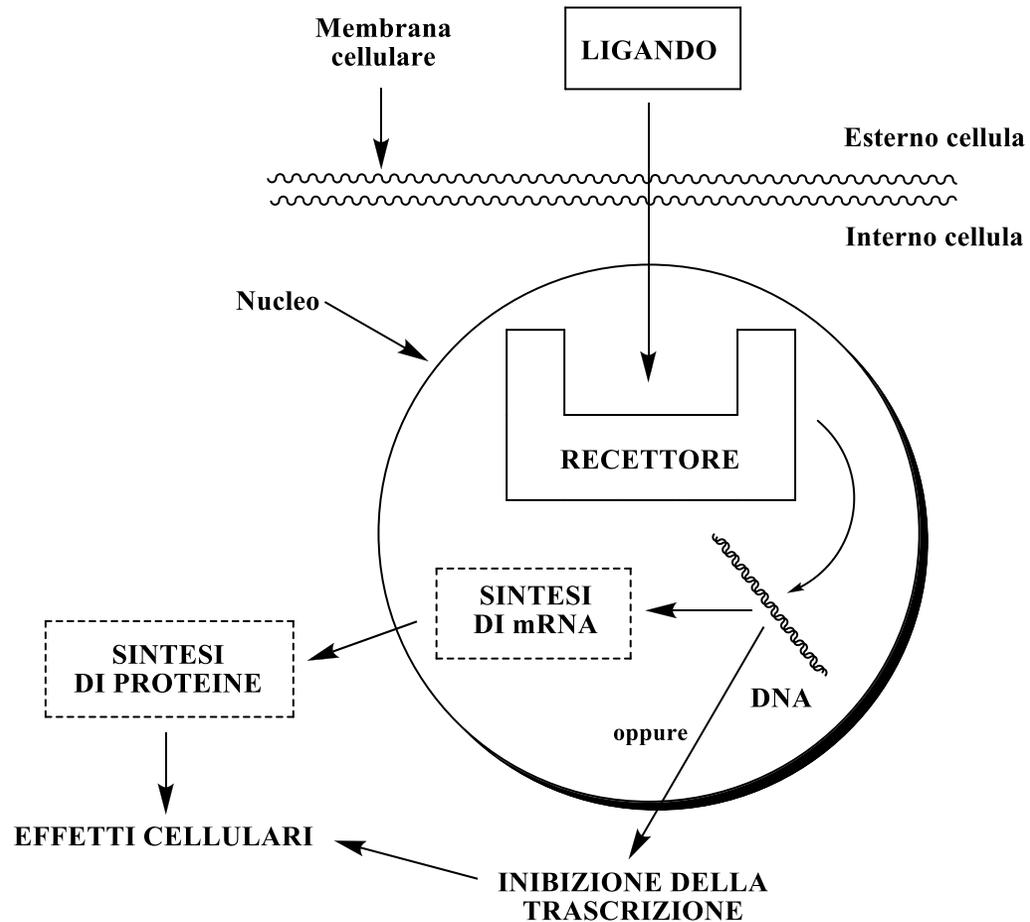
• *Recettore dell'ormone della crescita (GH)*



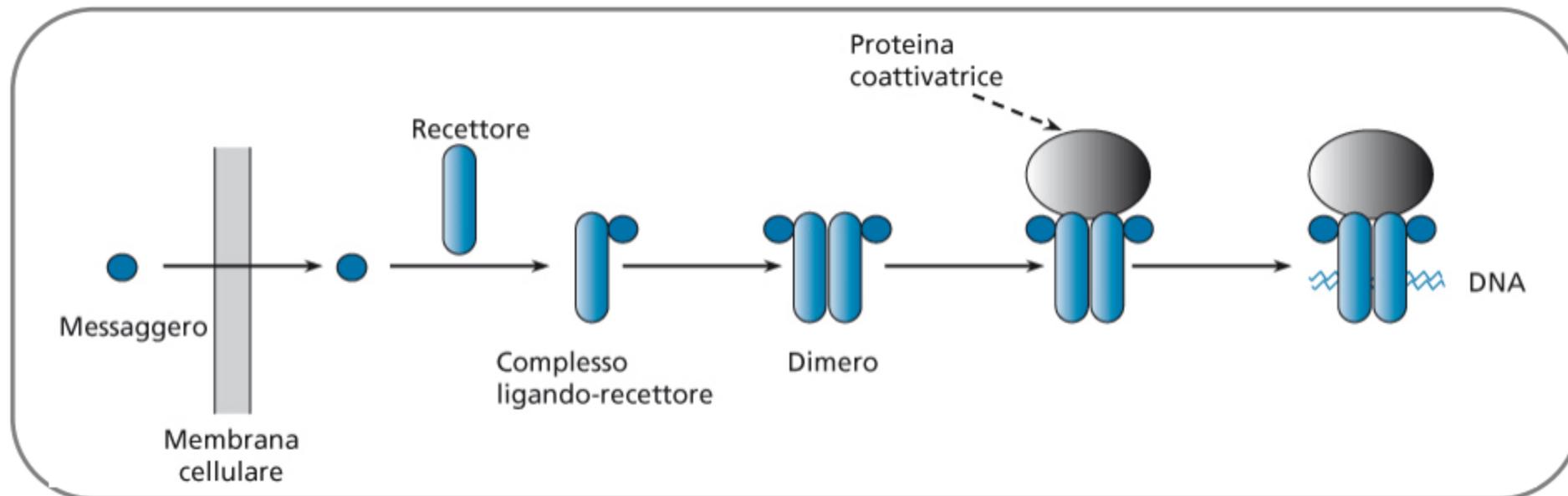
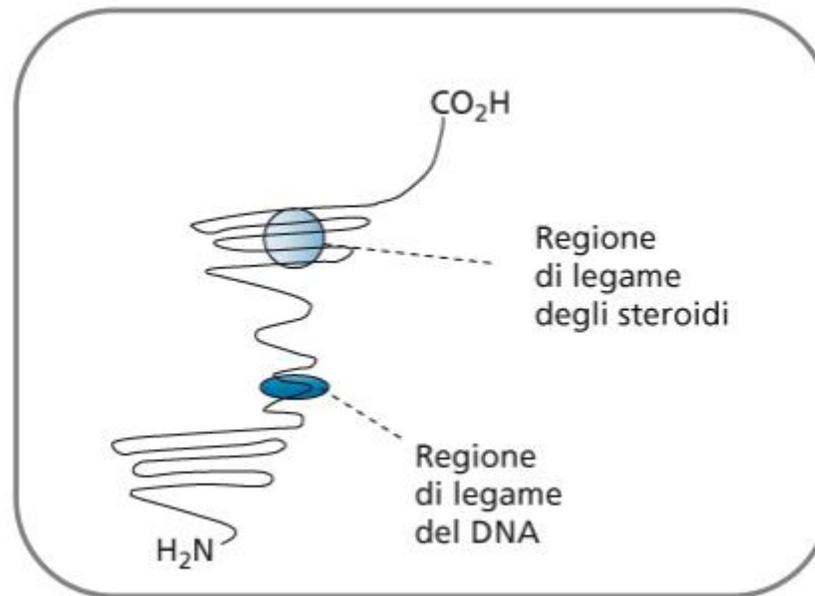
Recettori intracellulari (attivatori della trascrizione)

- Localizzati nel nucleo o nel citoplasma
- Importanti nel regolare la trascrizione genica
- I messaggeri chimici includono: ormoni steroidei, ormoni tiroidei e retinoidi
- Il messaggero deve essere di natura idrofobica per raggiungere il recettore
- Tempo di risposta di questi recettori di ore o giorni

RECETTORI INTRACELLULARI MODULATORI DELLA TRASCRIZIONE



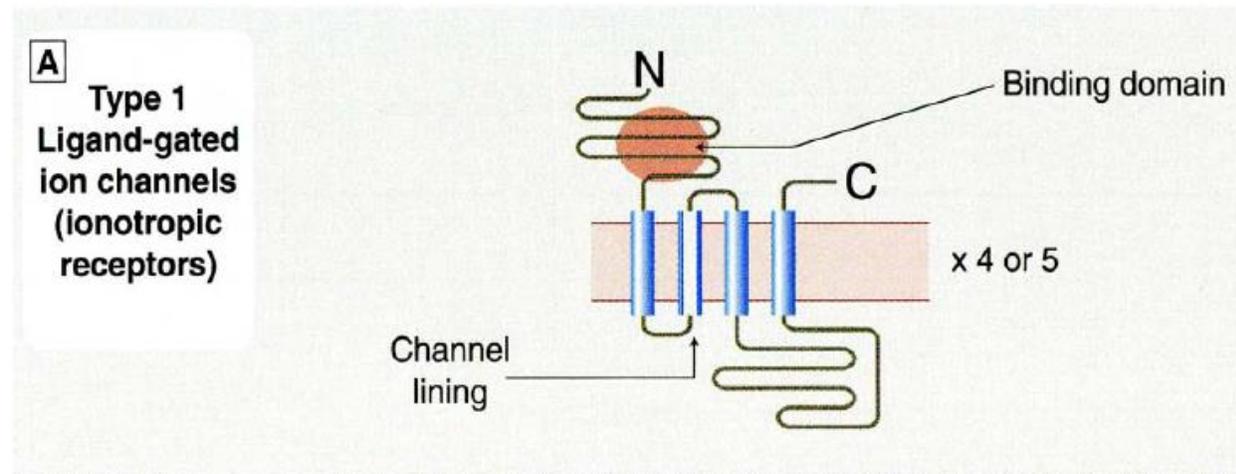
La regolazione recettore-mediata della trascrizione del DNA è caratteristica degli ormoni steroidei e tiroidei. Alcuni di tali recettori sono localizzati nel citoplasma, altri nel nucleo ed i loro ligandi sono tutti composti lipofili in grado di attraversare facilmente la membrana cellulare. A seguito del legame, ad esempio di una molecola di steroide, il recettore dimerizza e si lega a sequenze specifiche del DNA note come elementi di risposta all'ormone (HRE, hormone-responsive elements) che sono localizzate circa 200 coppie di basi a monte dei geni la cui espressione viene regolata dall'ormone. Affinchè l'azione regolatrice abbia luogo, è necessario inoltre che i recettori si leghino anche a proteine coattivatori o corepressori. A seconda del complesso coinvolto, il legame con il DNA attiva o inibisce il processo di trascrizione. Altre molecole che agiscono in maniera simile sono la vitamina D e l'acido retinoico.

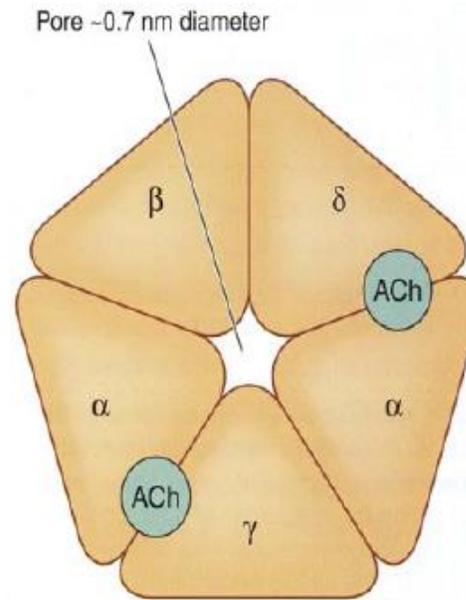
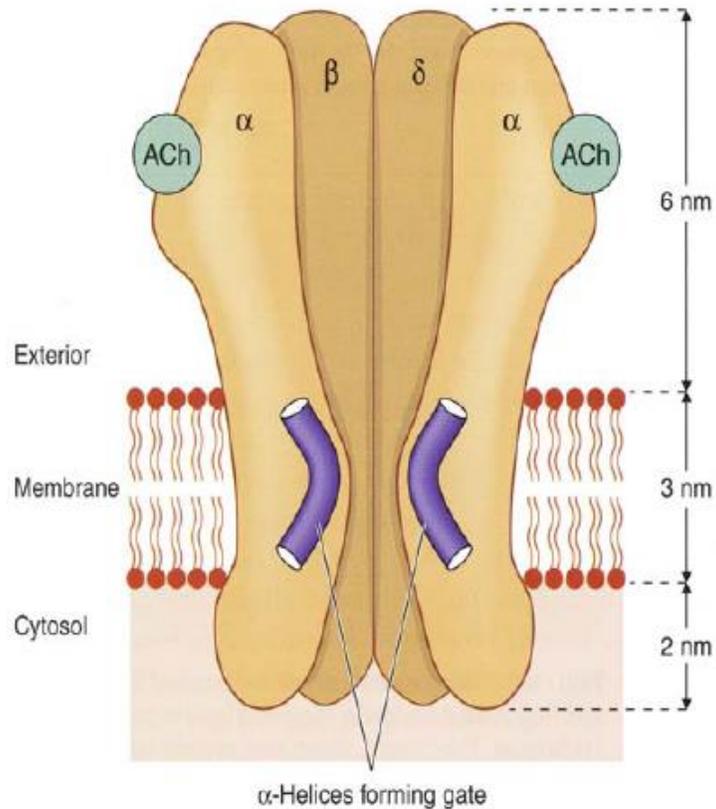


Struttura Generale delle Quattro Superfamiglie Recettoriali

I segmenti rettangolari delle figure rappresentano le regioni idrofobiche ad α -elica della proteina che formano i domini transmembrana dei recettori (domini = regioni compatte di una proteina unite tra loro da segmenti polipeptidici).

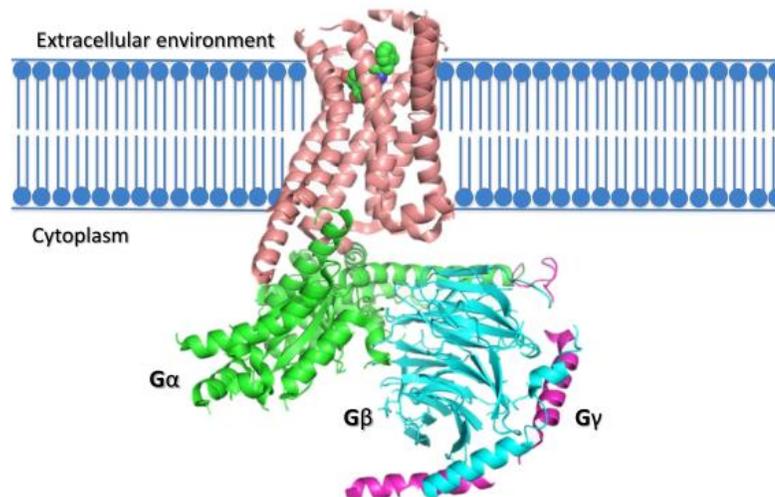
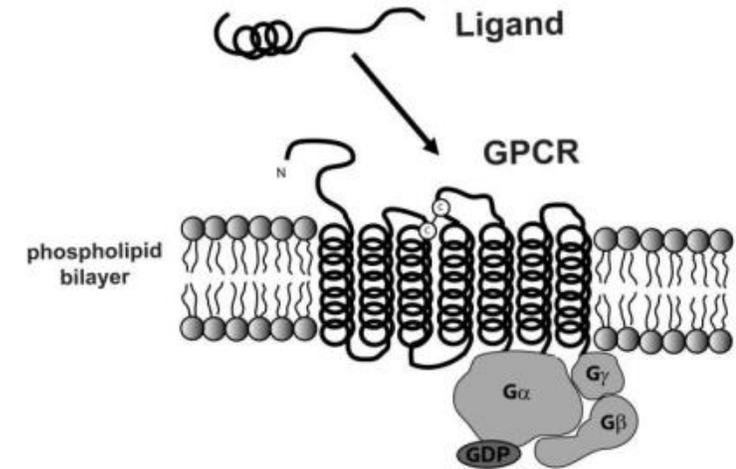
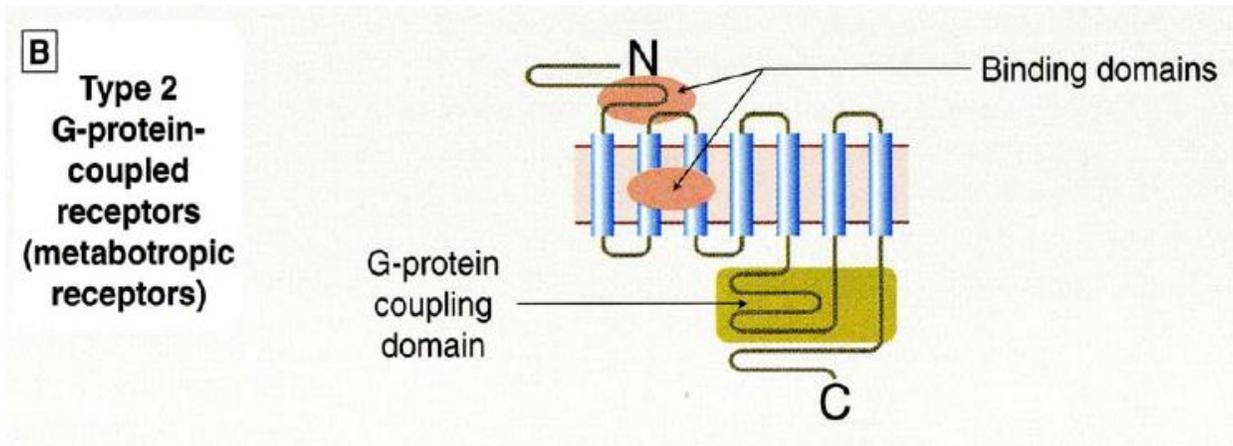
I recettori accoppiati ad un canale ionico (recettori ionotropi) comprendono 4-5 subunità e quindi l'intero complesso proteico contiene 16-20 segmenti transmembrana che circondano un canale ionico centrale.



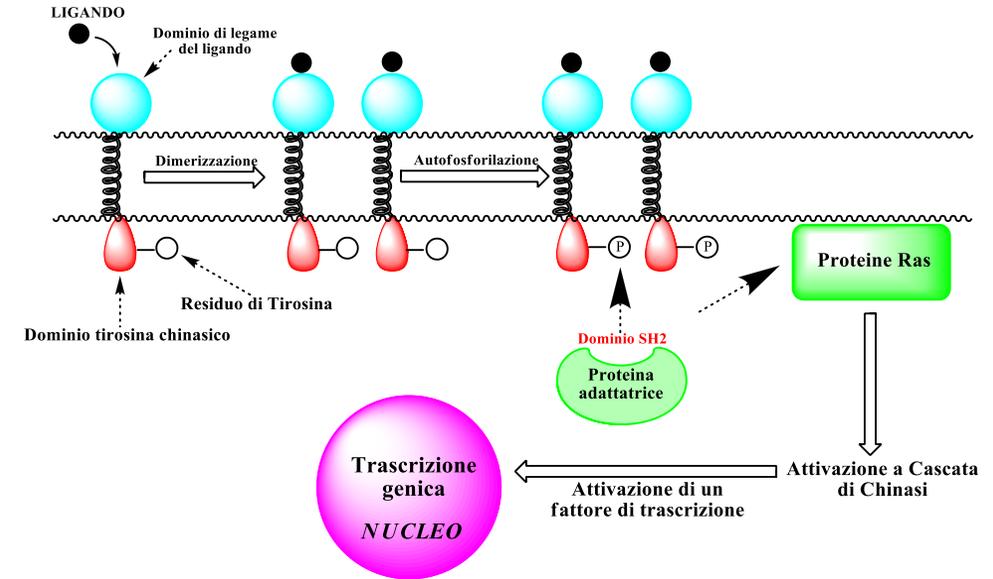
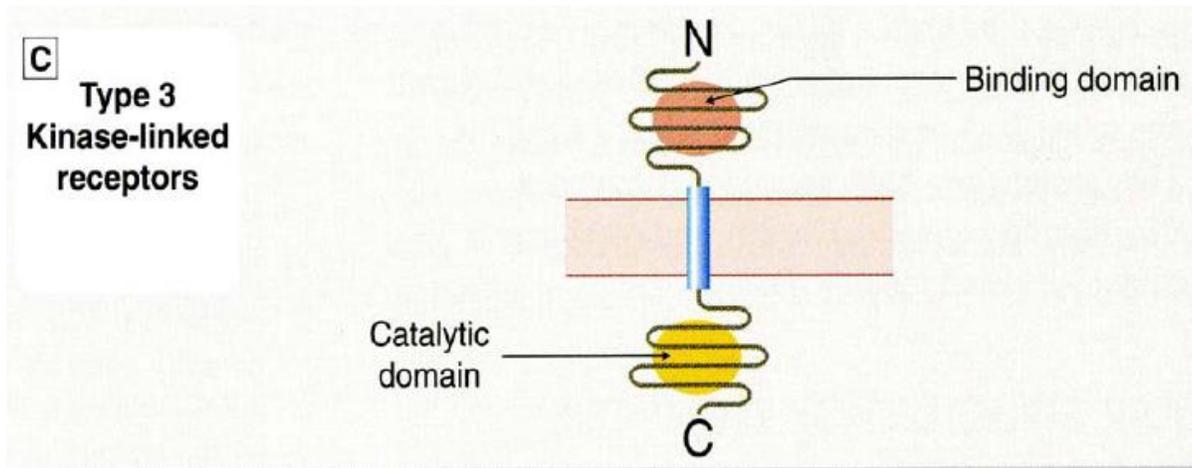


E' mostrata longitudinalmente e trasversalmente la struttura molecolare del recettore nicotino dell'acetilcolina che è tipico di questa superfamiglia di recettori. Il recettore nicotino consiste di 4 differenti tipi di subunità: α , β , γ , δ . Le pareti del canale sono formate dai secondi domini transmembrana (M2) di ciascuna subunità.

Tutti i recettori metabotropici possiedono 7 domini transmembrana. La terza lunga ansa citoplasmatica costituisce la regione recettoriale che accoppia con le proteine G. La regione di legame per piccoli ligandi come l'adrenalina è incassata in una cavità tra il secondo ed il terzo dominio transmembrana, mentre è più superficiale per ligandi di grandi dimensioni.

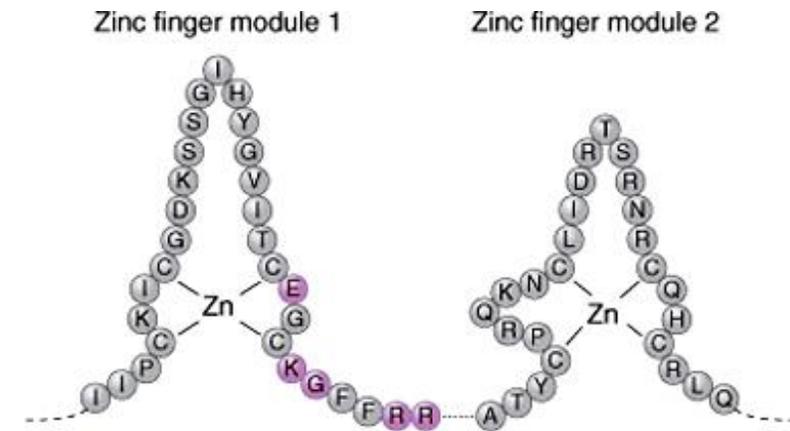
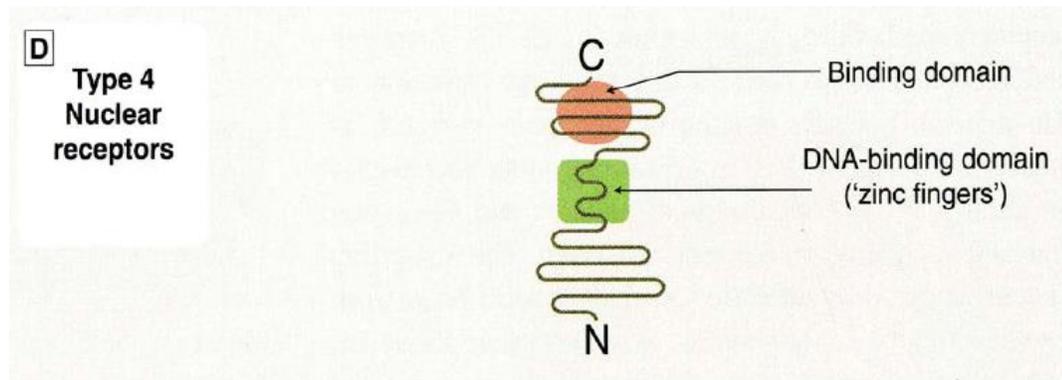


I recettori accoppiati ad una chinasi hanno domini sia extra- che intracellulari molto grandi



Il legame del ligando produce generalmente la dimerizzazione di una coppia di recettori. L'associazione dei due domini intracellulari con attività enzimatica consente l'autofosforilazione dei due residui tirosinici che agiscono così da siti ad alta affinità per altre proteine intracellulari

La maggior parte dei recettori della quarta superfamiglia (recettori intracellulari modulatori della trascrizione genica) è localizzata nel nucleo. Sono grandi proteine monomeriche contenenti una regione centrale con due anse di circa 15 residui aminoacidici ognuna, mantenute in una conformazione particolare da 4 residui di cisteina della sequenza che circondano un atomo di zinco (zinc fingers, dita di zinco). Tale regione costituisce il dominio di legame con il DNA. A seguito del legame con il ligando (ad esempio uno steroide), il recettore dimerizza ed il dimero si lega a sequenze specifiche del DNA note come elementi di risposta dell'ormone (HRE) che si trovano circa 200 basi a monte dei geni che vengono espressi.



Recettori come bersagli di farmaci

Agonisti ed antagonisti

➤ **Agonista** recettoriale è un farmaco che si lega ad un recettore inducendo una risposta biologica

Si suddividono in:

- **Agonisti pieni**
- **Agonisti parziali**

➤ **Antagonista** recettoriale è un farmaco che occupa il recettore senza attivarlo ed impedisce al messaggero naturale di attivarlo

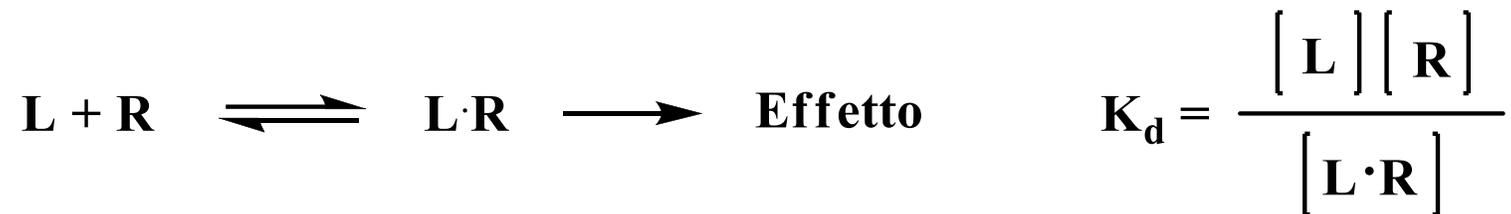
Si suddividono in:

- **Antagonisti competitivi**
- **Antagonisti non competitivi**
- **Antagonisti reversibili**
- **Antagonisti irreversibili**

Un agonista recettoriale è un ligando in grado di attivare un recettore inducendo una risposta biologica intrinseca. Un farmaco che si comporta da agonista simula l'azione del mediatore naturale (ligando endogeno, agonista fisiologico) e ne riproduce gli effetti.

Un antagonista recettoriale è invece un ligando che si lega ad un recettore senza attivarlo. Quindi un antagonista può bloccare la capacità di un agonista di indurre una risposta.

L'interazione di un ligando L con esso può essere descritta dalla relazione seguente:



Alla formazione reversibile di un complesso ligando-recettore fa seguito, nel caso di un agonista, l'attivazione di un meccanismo di trasduzione (apertura di un canale ionico, formazione di un secondo messaggero, eccetera) che si traduce in una risposta biologica. Nel caso di un antagonista, i meccanismi di trasduzione non si attivano e l'effetto osservato è la conseguenza del blocco recettoriale.

Tre proprietà quantificano le interazioni farmaco-recettore:

- a) **l'affinità** per un recettore definisce quanto fortemente il farmaco si lega al recettore ed è misurata dalla costante di dissociazione K_d del complesso $L \cdot R$;
- b) **l'efficacia** è una misura dell'effetto massimo che il farmaco può produrre;
- c) **La potenza** è la concentrazione di farmaco richiesta per ottenere un determinato effetto (precisamente è la concentrazione che produce il 50% dell'effetto massimo).

Complesso farmaco-recettore



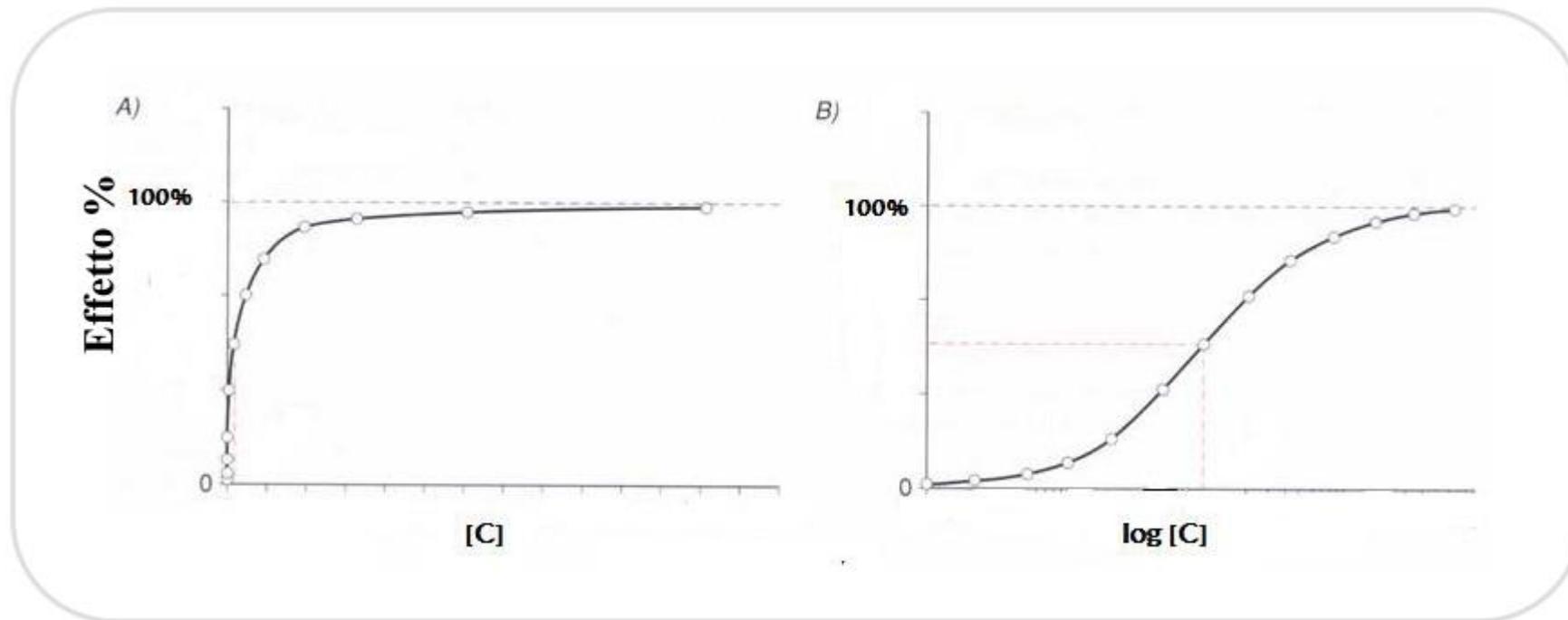
$$K_d = \frac{[F] \cdot [R]}{[F \cdots R]}$$

Minore è il valore della K_d maggiore è l'**affinità** del farmaco per il recettore

Un **agonista** è dotato di affinità e anche di efficacia

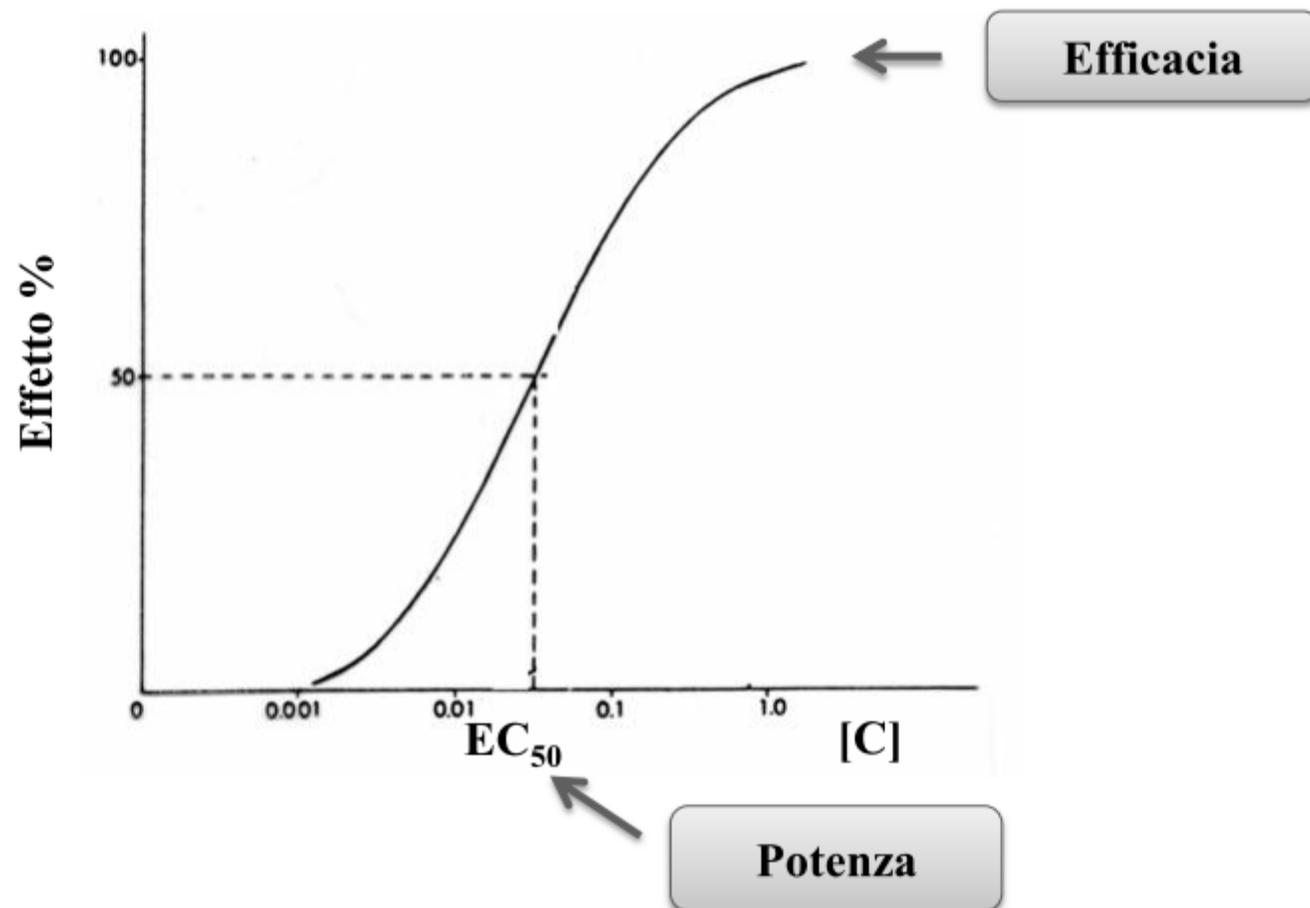
Un **antagonista** è dotato di affinità ma non ha efficacia

L'efficacia e la potenza possono essere opportunamente visualizzate mediante le curve dose-risposta. Se l'effetto di un agonista, espresso come percentuale della risposta massima (E/E_{\max}), viene riportato in funzione della sua concentrazione C , la curva assume la forma di una sigmoide su scala semilogaritmica (EC_{50} rappresenta la concentrazione che produce il 50% dell'effetto massimo).



L'**efficacia** è una misura dell'effetto massimo che il farmaco può produrre

La **potenza** è la concentrazione di farmaco richiesta per produrre un determinato effetto (**EC₅₀** = concentrazione di farmaco che produce il 50% dell'effetto massimo)



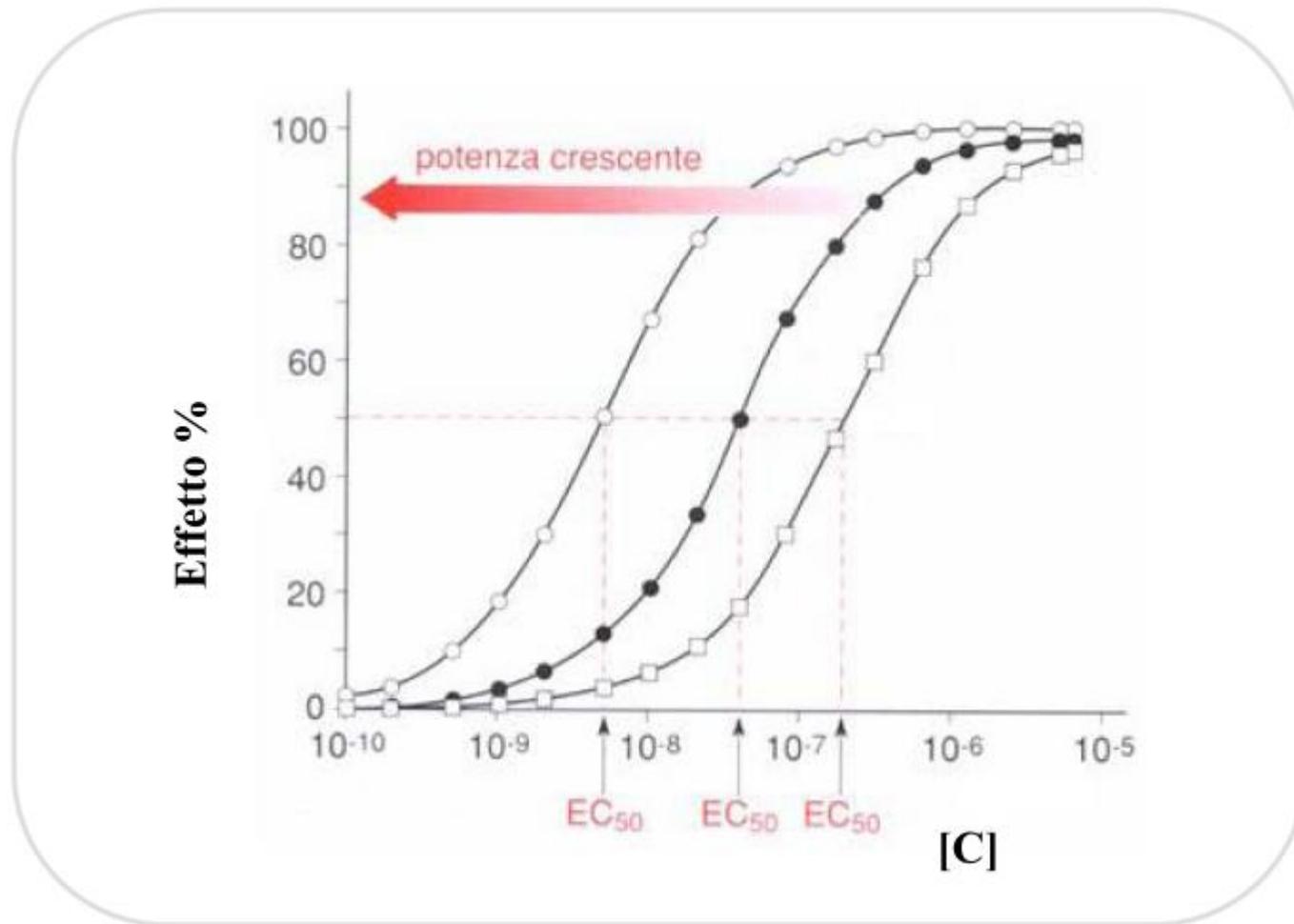
Farmaci agonisti

Gli **agonisti** sono farmaci che si legano ad un recettore inducendo una risposta biologica
Generalmente riproducono gli effetti del mediatore endogeno

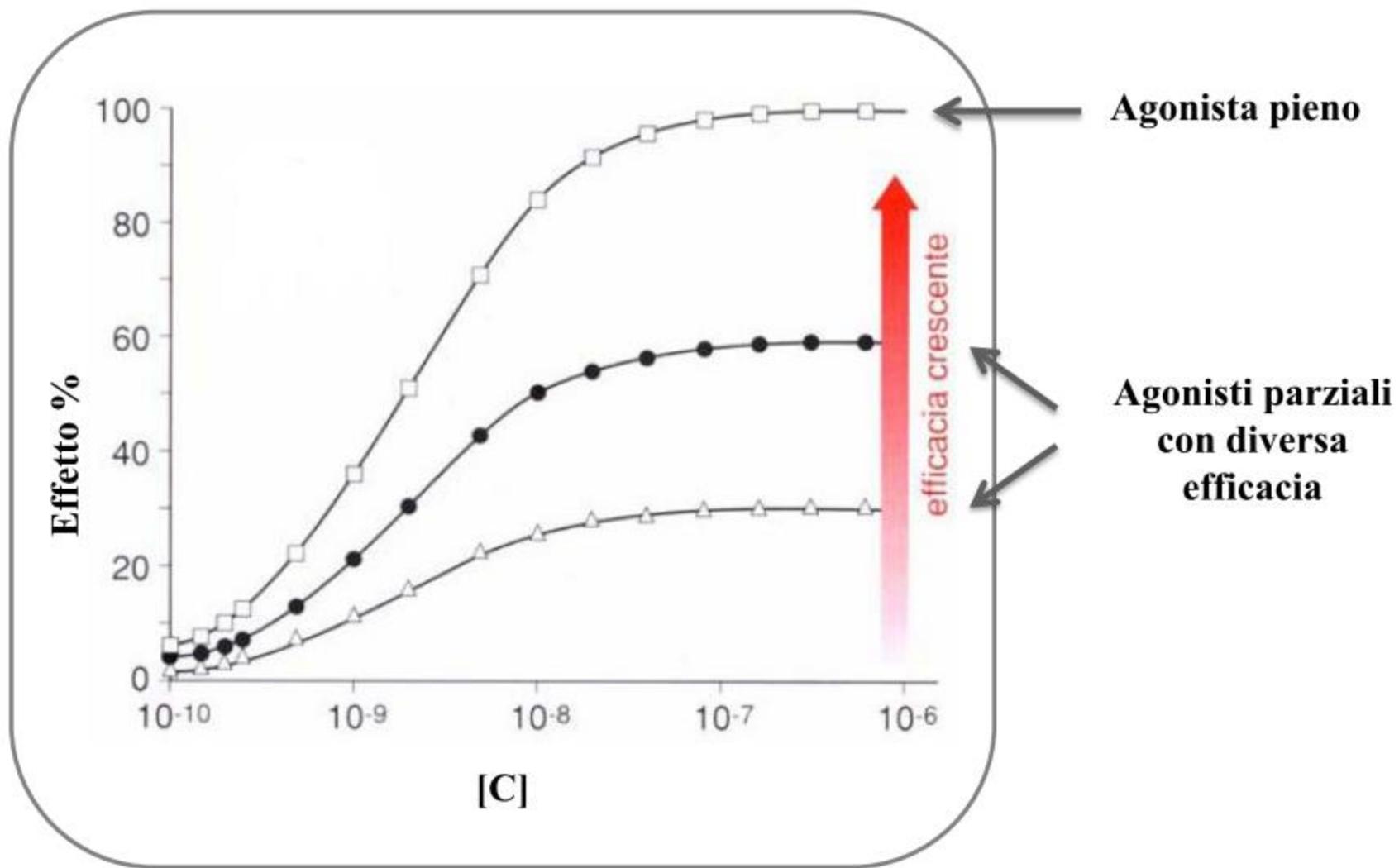
Si suddividono in:

- **Agonisti pieni**
- **Agonisti parziali**

Agonisti pieni con stessa efficacia e diversa potenza

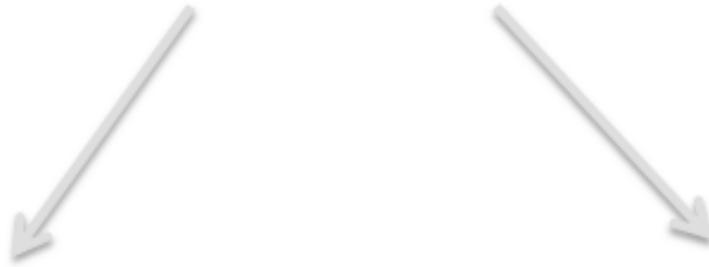


Agonista pieno e agonisti parziali



Farmaci antagonisti

Gli **antagonisti** sono farmaci che occupano il recettore senza attivarlo ed impediscono al messaggero naturale di attivarlo



- **competitivi**
- **non competitivi**

- **reversibili**
- **irreversibili**

IC_{50} rappresenta la concentrazione di antagonista che determina l'inibizione del 50% dell'effetto massimo.

Gli antagonisti possono essere classificati in base alle loro **cinetiche** di interazione con il recettore in antagonisti **reversibili** ed **irreversibili**. L'antagonismo irreversibile si verifica non solo con antagonisti che formano legami covalenti con il recettore (evento piuttosto occasionale nelle interazioni farmaco-recettore, mentre è più frequente in quelle farmaco-enzima e farmaco-DNA) ma anche con antagonisti che formano legami non covalenti, ma che si dissociano molto lentamente dal recettore.

In base invece al **sito di legame**, gli antagonisti si suddividono in antagonisti **competitivi** e **non competitivi**. I primi interagiscono con lo stesso sito di legame dell'agonista e competono con esso nel processo di interazione. I secondi interagiscono con un sito distinto da quello di legame dell'agonista, ma attraverso determinati meccanismi prevengono egualmente l'attivazione del recettore da parte dell'agonista.

- **Antagonisti competitivi**

Interagiscono con lo stesso sito di legame dell'agonista e competono con esso

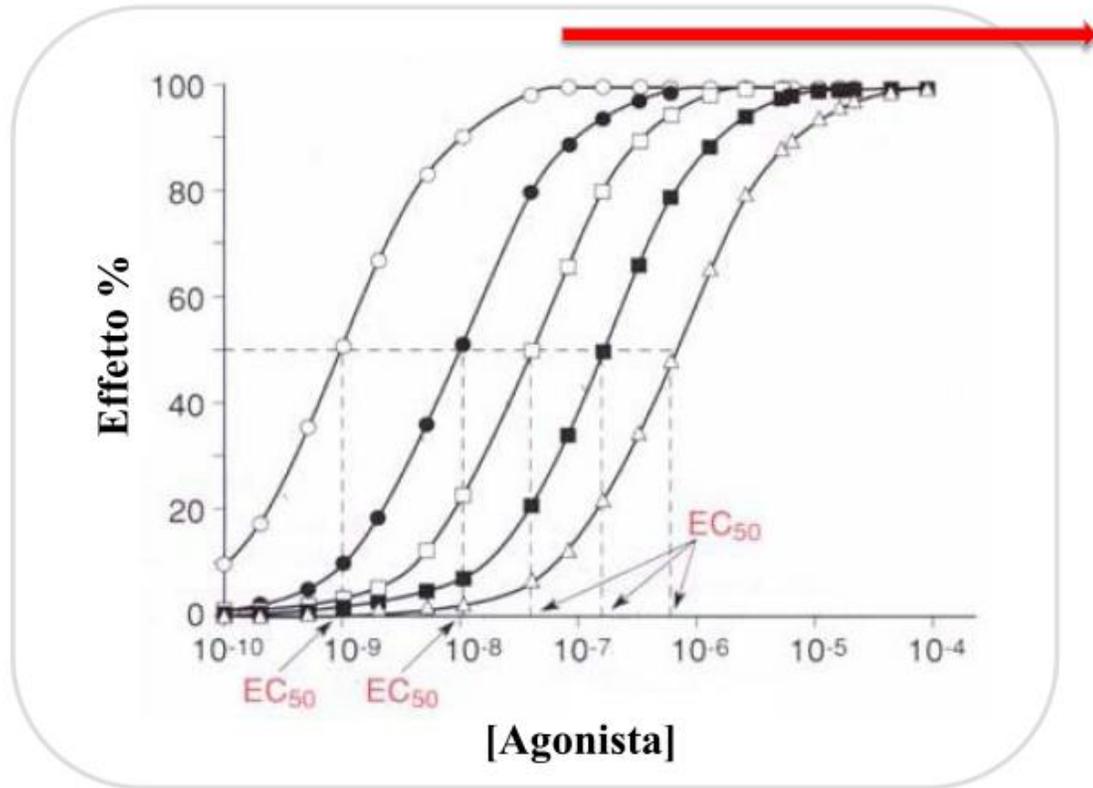
- **Antagonisti non competitivi**

Prevencono l'attivazione del recettore da parte dell'agonista con due diversi meccanismi:

- ✓ si legano ad un sito diverso da quello dell'agonista (meccanismo allosterico)
- ✓ interagiscono in modo irreversibile con lo stesso sito di legame dell'agonista

Antagonisti competitivi

La presenza di un antagonista competitivo provoca lo spostamento parallelo verso destra delle curve dose-risposta dell'agonista



Concentrazioni
crescenti di
antagonista
competitivo

Compete con l'agonista per l'occupazione del recettore mediante interazione con lo stesso sito: **interazione ortosterica.**

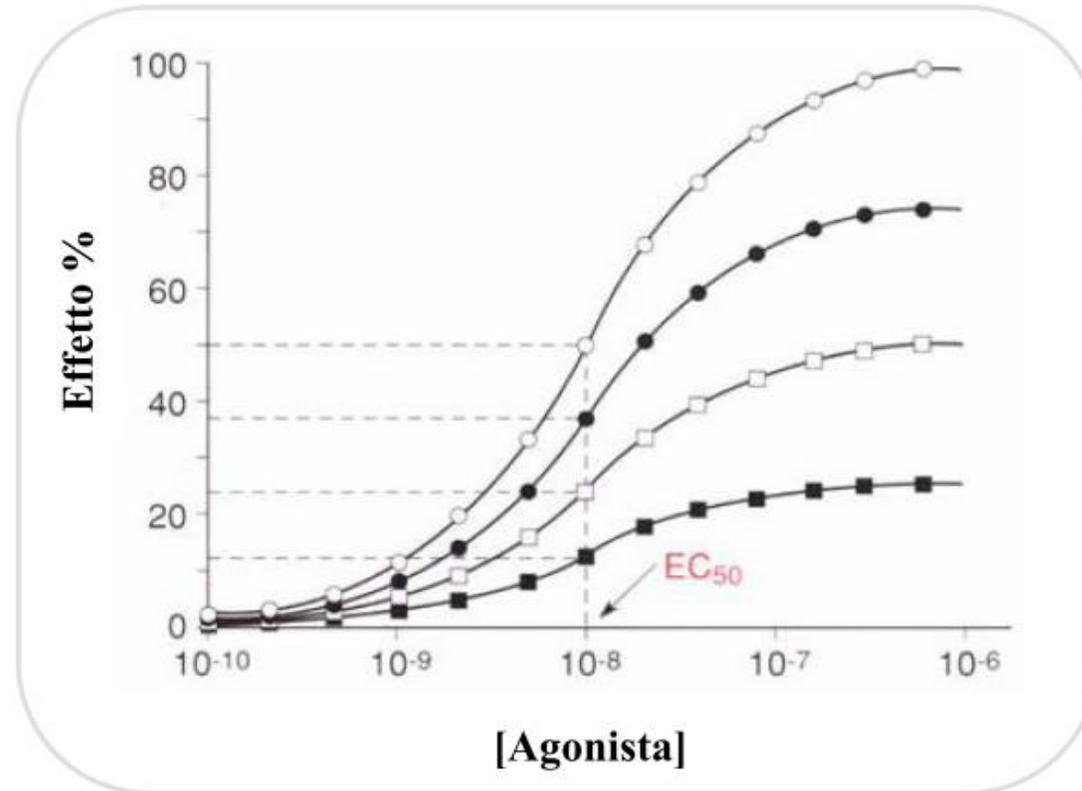
Spostamento della curva verso destra.

Agisce sullo stesso sito dell'agonista e grazie alla sua elevata affinità e alla contemporanea mancanza di attività intrinseca, spiazza l'agonista, determinando lo spostamento parallelo verso destra delle curve concentrazione-risposta dell'agonista.

Il grado di antagonismo dipende dalle concentrazioni dell'agonista e dell'antagonista, con l'assunzione che entrambi interagiscono con lo stesso sito.

Antagonisti non competitivi

La presenza di un antagonista non competitivo provoca una diminuzione della risposta massima anche ad alte dosi di agonista



Concentrazioni
crescenti di
antagonista non
competitivo

L'antagonismo è indipendente dalla concentrazione dell'agonista presente e si assume che agonista e Antagonista interagiscono su siti diversi e non connessi fra loro

Antagonisti non competitivi

Competono per lo stesso recettore ma non per lo stesso sito.

I due siti sono dipendenti in modo unidirezionale, cioè l'interazione dell'antagonista causa una variazione conformazionale al sito dell'agonista, mentre l'agonista non influenza il sito dell'antagonista.

Esistono due equilibri diversi e l'inibizione provocata dall'antagonista non è influenzata dall'agonista, neanche ad alte concentrazioni. La curva concentrazione-risposta non si sposta parallelamente, ma si ha uno spostamento con contemporaneo abbassamento della risposta massima ottenibile.

Antagonisti allosterici

Si definisce allosterico quando interagisce con un sito diverso (**INTERAZIONE ALLOSTERICA**), ma interdipendente dal sito dell'agonista. Interagendo con il suo sito, determina una modificazione conformazionale del recettore e ostacola così l'interazione, variando l'affinità dell'agonista con il suo sito. Una competizione allosterica ha luogo nel caso di una completa mutua esclusione, quando l'antagonista viene escluso dal suo sito per interazione dell'agonista con il proprio sito e viceversa. Sposta la curva verso destra, ma lo spostamento non è proporzionale alla concentrazione. Questo antagonismo è una sorta di modulazione negativa dell'azione dell'agonista attraverso l'interazione con un sito diverso da quello ortosterico.

Agonisti inversi

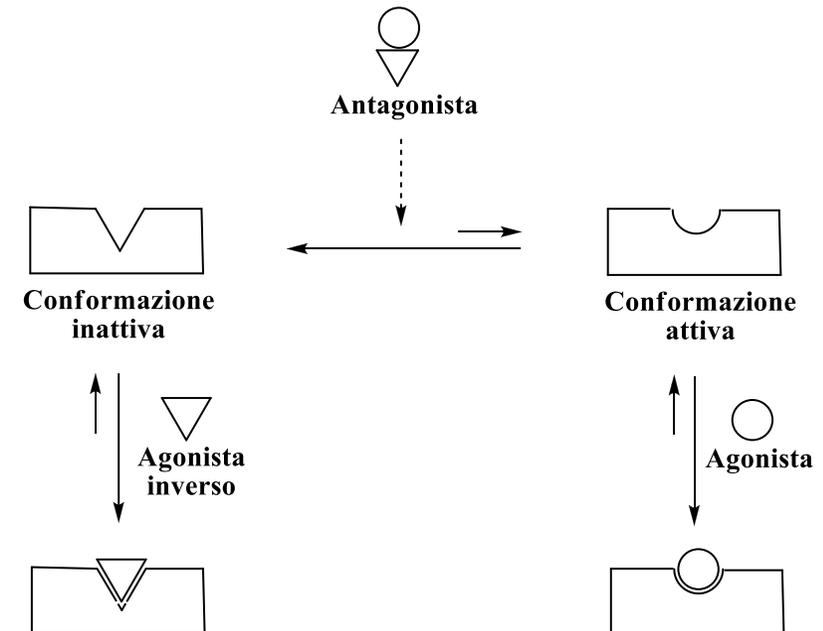
La scoperta che alcuni recettori hanno una attività intrinseca anche in assenza di ligando ha suggerito che essi esistano in due stati in equilibrio tra loro, quello attivo e quello inattivo.

In assenza di ligando prevale grandemente la conformazione inattiva.

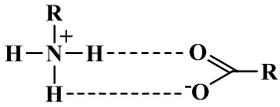
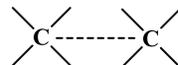
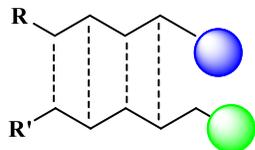
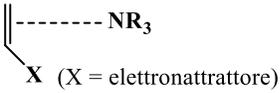
Un agonista si lega preferenzialmente alla conformazione attiva, stabilizzandola, e sposta di conseguenza l'equilibrio verso di essa; un antagonista si lega egualmente bene ad entrambe le conformazioni e quindi non si ha spostamento dell'equilibrio iniziale né variazione dell'attività biologica rispetto alla situazione in assenza di ligando.

Un agonista inverso infine ha preferenza per la conformazione inattiva, sposta l'equilibrio iniziale ancora di più verso essa, con una caduta dell'attività intrinseca.

Modello di Recettore a Due Stati



Legami Farmaco-Macromolecole bersaglio

Tipo di legame	Energia di interazione (kcal/mole)	Esempio
legame covalente	40-110	$R-OR'$
legame ionico	5	$R_4N^+ I^-$
legame ionico rinforzato	10	
legame ione-dipolo	1-7	$R_4N^+ \cdots NR_3$
legame dipolo-dipolo	1-7	
legame idrogeno	1-7	$-OH \cdots O=$
legame di van der Waals	0.5-1	
legame idrofobico	1	
trasferimento di carica	1-7	

La natura del legame che si stabilisce tra un farmaco ed il suo bersaglio macromolecolare e le implicazioni stereochimiche relative influenzano fortemente il carattere e l'entità dell'interazione ed in ultima analisi la risposta finale. I legami coinvolti nell'interazione farmaco-bersaglio biologico sono gli stessi operanti per qualsiasi molecola organica e cioè legami covalenti, ione-ione, ione-dipolo, dipolo-dipolo, idrogeno, dipolo-dipolo indotto, dipolo indotto-dipolo indotto (forze di van der Waals), idrofobico ed a trasferimento di carica.

Legami Covalenti

I legami covalenti derivano dalla compartecipazione di elettroni tra due atomi e si realizzano attraverso la sovrapposizione di orbitali atomici. Sono meno frequenti in chimica farmaceutica di quelli non covalenti; riguardano in massima parte enzimi ed acidi nucleici, mentre sono presenti raramente nelle interazioni con i recettori; la loro formazione comporta modificazioni permanenti nella macromolecola bersaglio che non sempre sono auspicabili. In generale, è preferibile l'uso di farmaci che producono interazioni non covalenti poiché i loro effetti possono essere efficacemente controllati sospendendone la somministrazione. Un settore in cui la formazione di legami covalenti può essere desiderabile è la chemioterapia, laddove il bersaglio biologico appartiene all'organismo invasore o alla cellula neoplastica (ovviamente presupponendo una selettività d'azione).

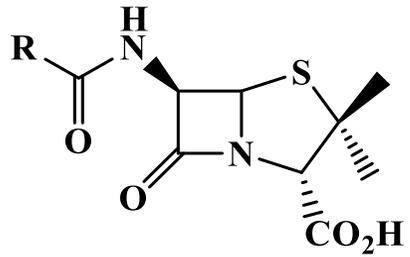
Alcuni esempi importanti di legami covalenti sono i seguenti:

Acilazione;

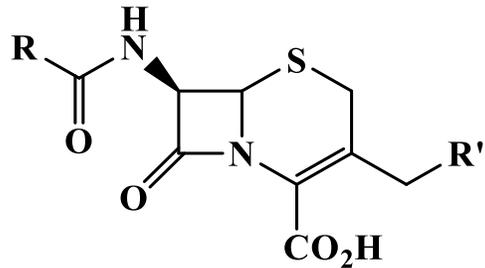
Alchilazione;

Fosforilazione.

Acilazione



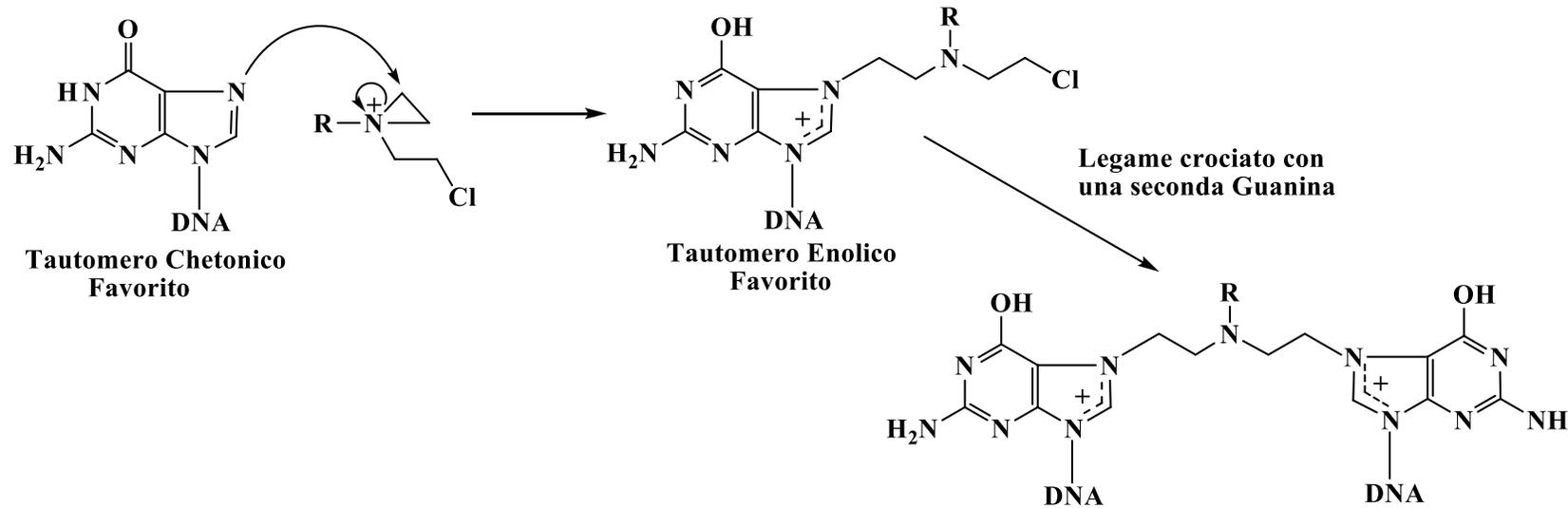
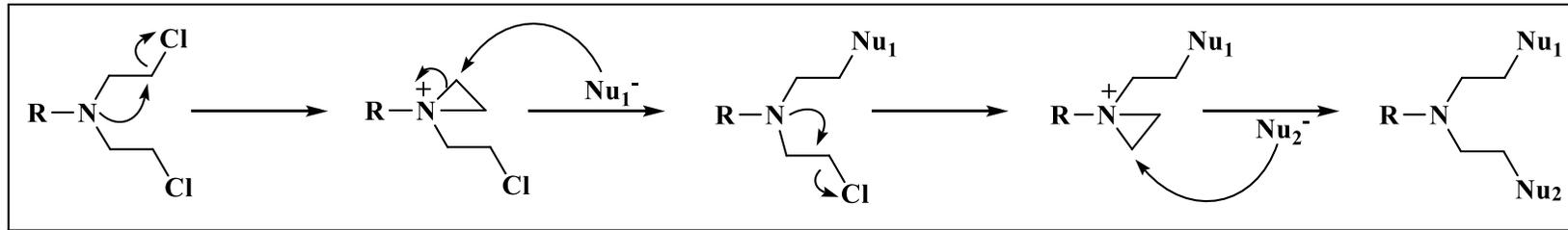
Penicillina



Cefalosporina

Gli antibiotici β -lattamici (penicilline, cefalosporine) si comportano da acilanti particolarmente efficaci nei confronti di una famiglia di enzimi batterici, le proteine leganti le penicilline (PBP), in particolare delle classi implicate in uno stadio chiave della biosintesi del peptidoglicano, costituente basilare e caratteristico della parete cellulare batterica.

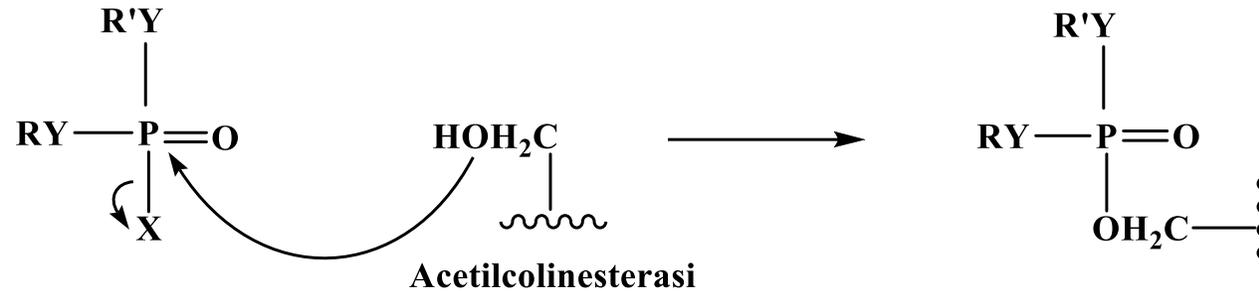
Alchilazione



Meccanismo d' Azione Agenti Alchilanti del Tipo Mostarde Azotate

Tipici agenti alchilanti sono le mostarde azotate $RN(CH_2CH_2Cl)_2$, impiegate come antitumorali, che agiscono alchilando le basi azotate del DNA, in particolare l'azoto in posizione 7 della guanina. Le conseguenze del processo di alchilazione sono varie. L'evento responsabile della letalità cellulare è la formazione di legami crociati tra due residui guaninici presenti sui due filamenti appaiati del DNA.

Fosforilazione

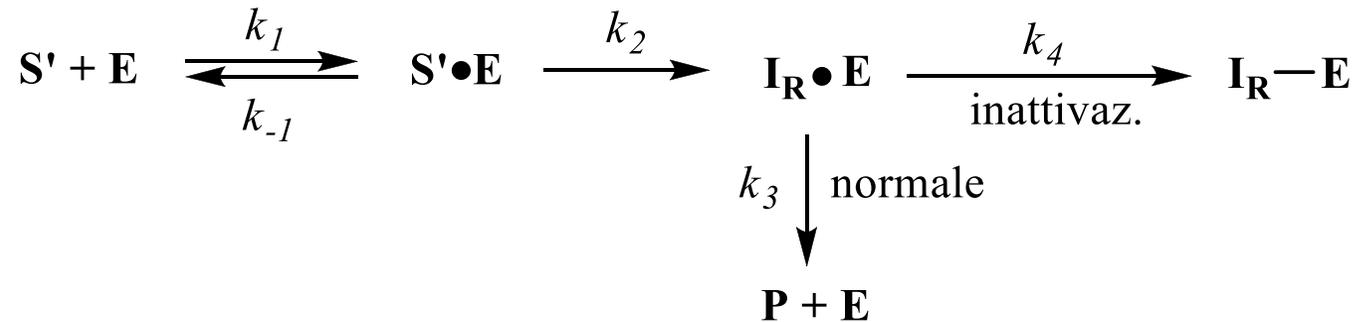


R, R' = Alchile o Arile
Y, Y' = O, talvolta S
X = Gruppo uscente

I composti organofosforici (utilizzati come insetticidi e, in passato, nel trattamento del glaucoma) sono inibitori dell'acetilcolinesterasi, dell'enzima deputato alla idrolisi e quindi all'inattivazione dell' acetilcolina. Gli esempi riportati si riferiscono a farmaci le cui azioni farmacologiche sono dovute alla loro capacità di inibire irreversibilmente un enzima, modificando covalentemente un gruppo funzionale enzimatico essenziale per la sua attività catalitica. Inibitori irreversibili di questo tipo sono indicati con il termine di **marcatori per affinità** (affinity labels). Un marcatore per affinità è quindi un reagente diretto al sito attivo dell'enzima e che possiede un gruppo chimico reattivo di natura elettrofila in grado di formare un addotto irreversibile con l'enzima bersaglio. Lo schema cinetico è quello già visto per una inibizione irreversibile competitiva.



Un meccanismo inibitorio diverso dal precedente, anche se di tipo irreversibile anch'esso, è **l'inibizione basata sul meccanismo o inibizione suicida**. Un inibitore suicida è una sostanza che non possiede inizialmente le caratteristiche di inibitore, viene trattata dall'enzima come un substrato e, una volta legata al sito attivo dell'enzima, viene trasformata dall'enzima stesso in un suo inibitore. Si tratta comunemente di una specie reattiva (I_R) che si lega fortemente all'enzima prima del rilascio dal sito attivo. L'enzima quindi produce il proprio inibitore a partire da un composto inattivo e commette con ciò suicidio. I tipi di inibizione che si possono verificare sono di vario tipo. La varietà 'classica' e più frequente di inibitori suicidi comprende intermedi reattivi con proprietà elettrofile che si combinano covalentemente con l'enzima e producono una inibizione irreversibile. Lo schema cinetico di tali inibitori è il seguente, dove S' = pseudosubstrato, I_R = intermedio reattivo e P = prodotto della reazione enzimatica.



Mentre i marcatori per affinità possono, a causa della loro reattività intrinseca reagire con enzimi (o altre biomolecole) diversi da quello bersaglio, gli inibitori suicidi sono in linea di principio attivati solamente dall'enzima bersaglio, con il conseguente vantaggio di minori effetti indesiderati.

Sebbene vi siano attualmente in uso solo pochi farmaci progettati razionalmente come inibitori suicidi, ne esistono diversi che sono stati riconosciuti agire come tali a posteriori.

Tranilcipromina

(antidepressivo)

Pargilina (antiipertensivo)

L-Deprenil (antiparkinson)

5-Fluorouracile

(antitumorale)

Trifluridina (antivirale)

Allopurinolo

(antiiperuricemico)

Acido clavulanico

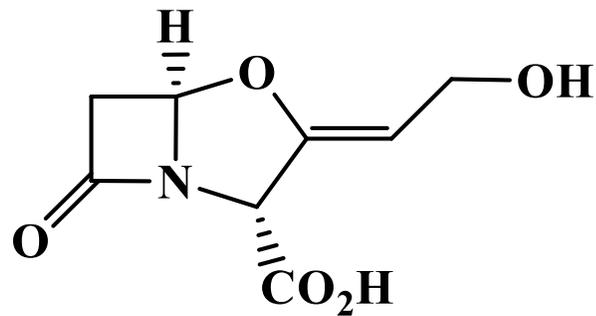
(antibatterico)

Sulbactam (antibatterico)

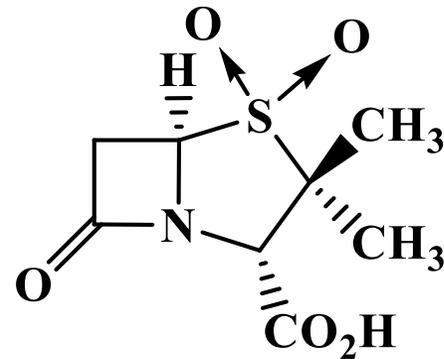
Vigabatrin (anticonvulsivante)

Exemestan (antineoplastico)

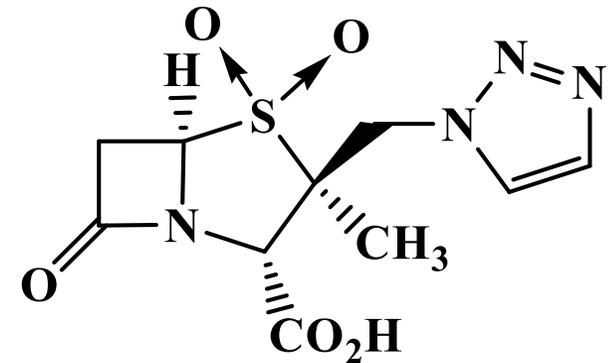
Come esempio di funzionamento di un inibitore suicida, vediamo in dettaglio gli inibitori delle β -lattamasi. Le β -lattamasi sono enzimi batterici responsabili della inattivazione degli antibiotici β -lattamici e costituiscono uno dei principali meccanismi di resistenza nei confronti di tali antibiotici. Agiscono sull'anello β -lattamico allo stesso modo delle PBP, ma la rigenerazione dell'enzima nel caso delle β -lattamasi è un processo veloce. Gli inibitori in uso sono tre: acido clavulanico (in associazione con amoxicillina e ticarcillina), sulbactam (in associazione con la ampicillina) ed il tazobactam (in associazione con la piperacillina).



Acido clavulanico

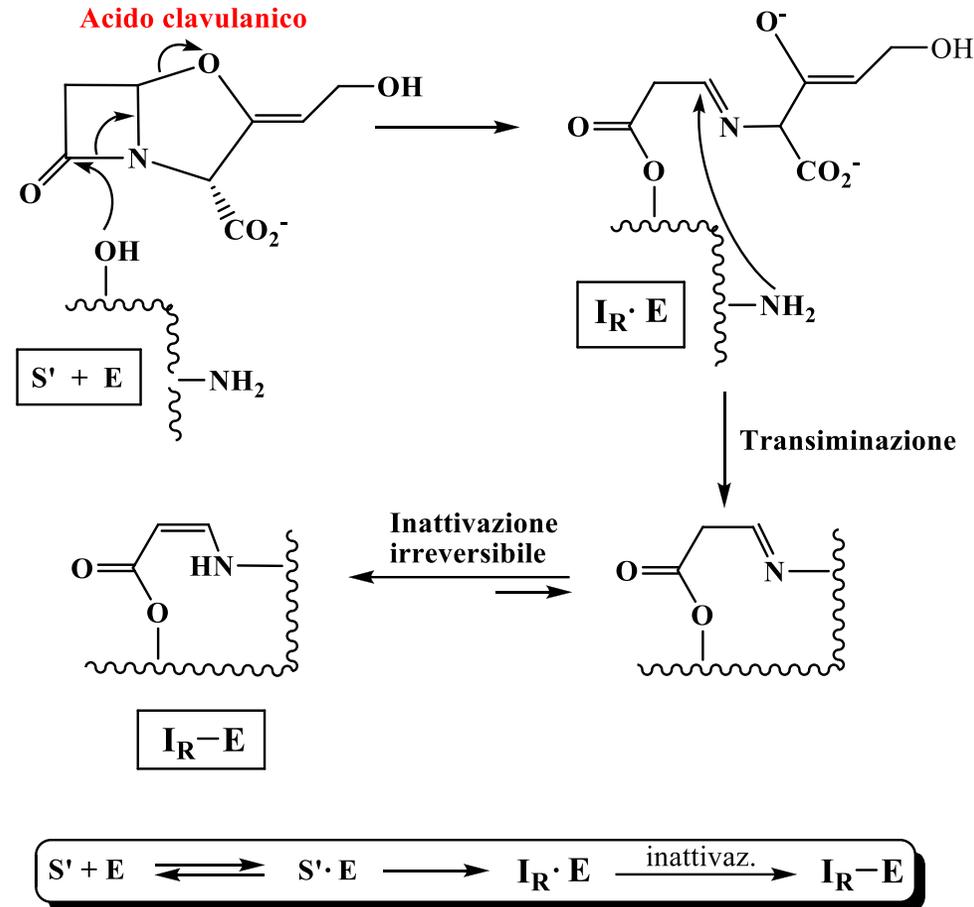


Sulbactam



Tazobactam

Schema generale per il meccanismo inibitorio per l'acido clavulanico. Sequenze simili si verificano nel caso di sulbactam e tazobactam.



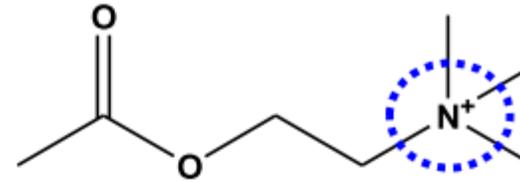
Un ossidrile serinico presente al sito attivo della β -lattamasi attacca il carbonile β -lattamico; si ha una contemporanea reazione di β -eliminazione in cui il gruppo uscente è un enolato con formazione di una imina che costituisce l'intermedio reattivo I_R . Il carbonio iminico elettrofilo viene attaccato da un gruppo aminico appartenente ad un residuo lisinico dell'enzima. La reazione di transiminzazione e la successiva isomerizzazione ad enamina producono un addotto acil-enzima con l'enzima legato attraverso due residui aminoacidici

Legami non Covalenti

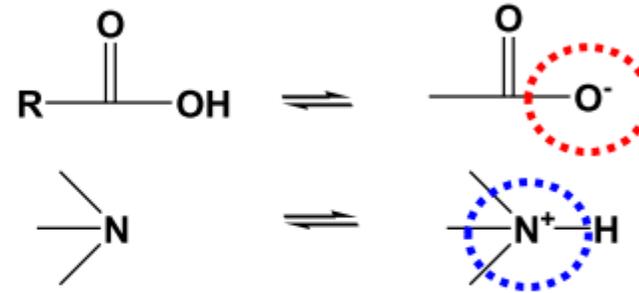
I legami non covalenti che si incontrano nelle interazioni farmaco-bersaglio biologico sono: ione-ione, ione-dipolo, dipolo-dipolo, idrogeno, dipolo-dipolo indotto, dipolo indotto-dipolo indotto (forze di van der Waals), idrofobico ed a trasferimento di carica. Sono caratterizzati da energie di legame modeste se paragonate a quelle dei legami covalenti e da un limitato raggio d'azione. Le interazioni dovute a legami non covalenti sono di breve durata. La loro importanza non deve essere tuttavia sottovalutata in quanto spesso si ha la formazione progressiva (cioè a man mano che il farmaco si avvicina alla macromolecola bersaglio) di legami multipli di vario genere.

Legame ionico

- Molecole ioniche
ad es. acetilcolina

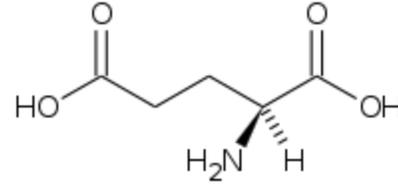
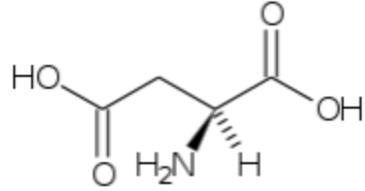


- Molecole ionizzabili



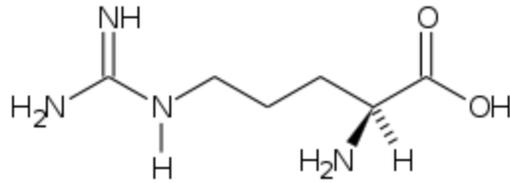
- Biopolimeri
 - Proteine con AA acidi (Glu, Asp) o basici (Lys, Arg, His)
 - Gruppi fosforici
 - Acidi nucleici
 - Fosfolipidi etc

– Proteine con **AA acidi** (Asp, Glu)

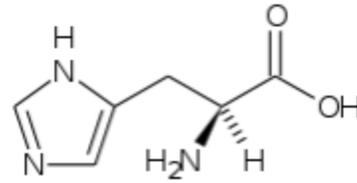


Acido Aspartico (Asp), Acido glutammico (Glu)

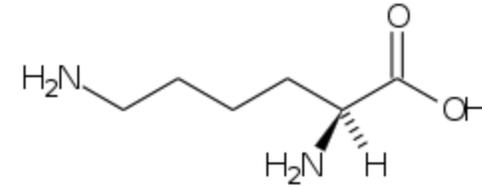
o **basici**



Arginina (Arg)

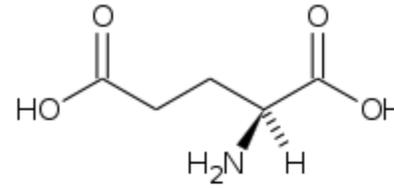
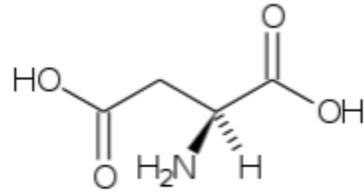


Istidina (His)



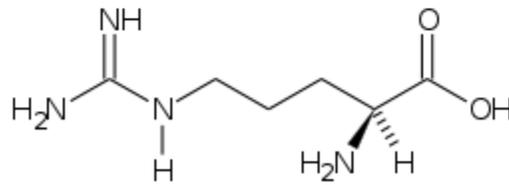
Lisina (Lys)

– Proteine con **AA acidi** (Asp, Glu)

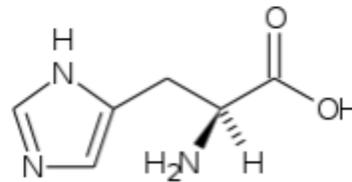


Acido Aspartico (Asp), Acido glutammico (Glu)

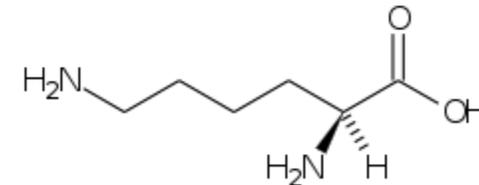
o **basici**



Arginina (Arg)



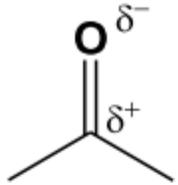
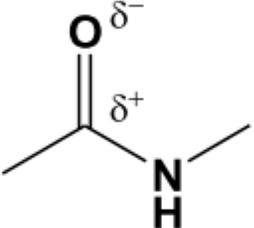
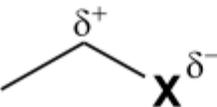
Istidina (His)



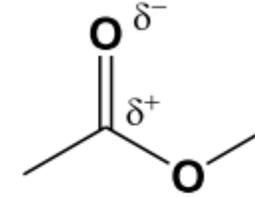
Lisina (Lys)

– Gruppi fosforici

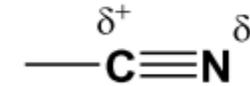
- Acidi nucleici
- Fosfolipidi etc

- Chetoni 
- Ammidi 
- Alchilalogenuri 

Esteri



Nitrili



Anche le molecole neutre possono avere gruppi in cui si hanno separazioni di cariche parziali con formazione di dipoli permanenti, come risultato della differenza di elettronegatività in particolare tra il carbonio ed atomi quali azoto, ossigeno, alogeni. Chetoni, esteri, eteri, amidi, nitrili sono tutti gruppi contenenti dipoli responsabili potenzialmente di interazioni dipolari con il bersaglio biologico.

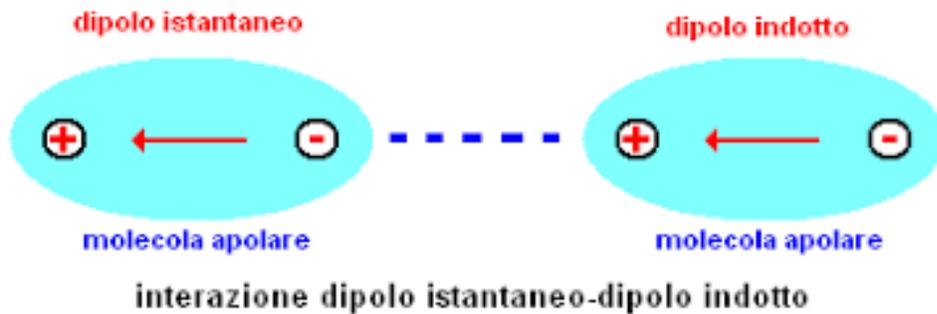
Legame Idrogeno

- Gruppi donatori di legame idrogeno:
-NH; -OH; -SH
- Eterotomi accettori di legame idrogeno:
N; O; S

Il legame idrogeno, caso particolare di interazione dipolo-dipolo, consiste in una interazione elettrostatica tra una coppia di elettroni non condivisi legati ad un eteroatomo (N, O, S) ed un idrogeno elettron-deficiente di gruppi quali NH, OH, SH e rappresenta il meccanismo fondamentale per accrescere la solubilità di un farmaco polare non elettrolita.

Forze di van der Waals

Le forze di van der Waals sono le forme di attrazione tra gli atomi più universale. Esse intervengono ogni qualvolta due atomi di molecole diverse si avvicinano sufficientemente. Sono anche indicate come forze di dispersione di London e sono basate sul fatto che la situazione elettrica di una molecola apolare (o di una porzione apolare di una molecola) è simmetrica solo in senso statistico mentre è ad ogni istante asimmetrica per le fluttuazioni della atmosfera elettronica e del nucleo. Si producono di conseguenza dipoli istantanei che inducono su molecole adiacenti dei dipoli indotti complementari. La energia in gioco è piuttosto debole e decresce molto rapidamente con la distanza tra le molecole. Tuttavia, quando le porzioni non polari interagenti sono sufficientemente estese e di appropriata configurazione, le forze di van der Waals possono contribuire significativamente alla stabilizzazione del complesso farmaco-biomolecola. Gli anelli aromatici e le catene alifatiche lineari o poco ramificate soddisfano questi requisiti.

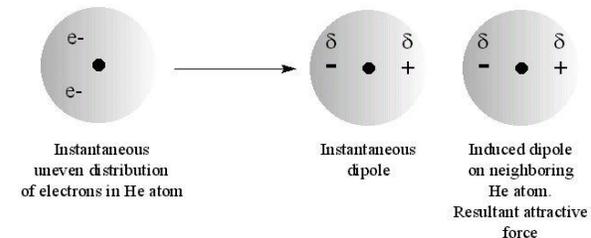


Forze di van der Waals

Un modello per spiegare le forze dispersive di London:

In seguito alla repulsione elettronica, un dipolo temporale su un atomo può indurre un dipolo simile su un atomo vicino

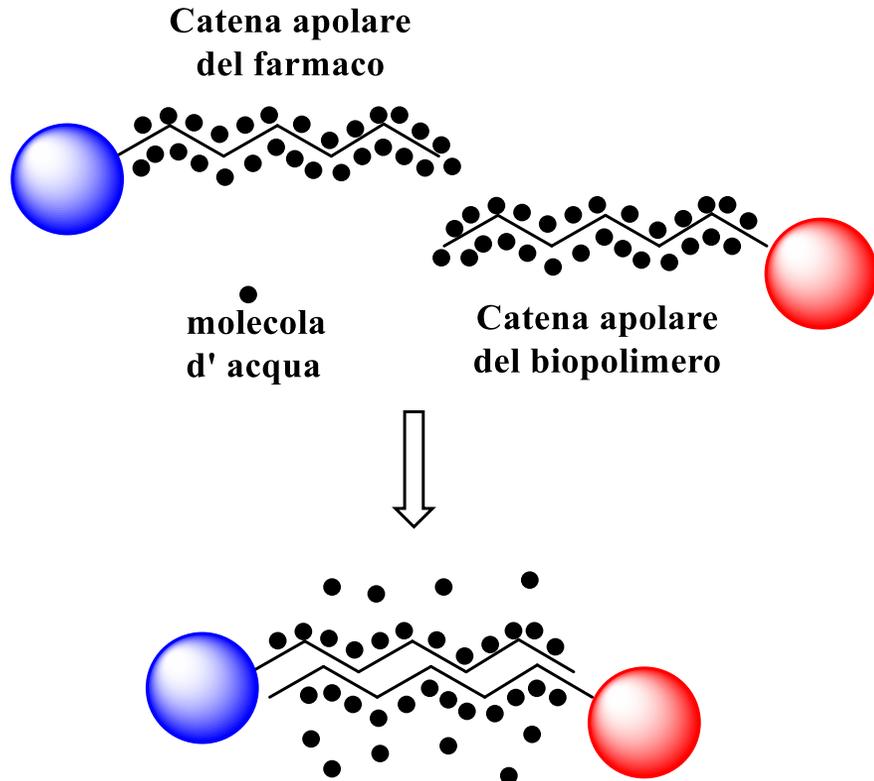
- questo causerà che gli atomi vicini saranno **attratti uno con l'altro**
- Questo è chiamato forza dispersiva di London
- È significativa solo quando gli atomi sono **vicini**



Legame idrofobico

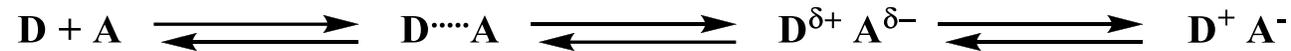
Il **legame idrofobico** rappresenta una delle più importanti interazioni implicate nella conservazione della struttura terziaria delle proteine. Il termine legame non è in realtà appropriato, dal momento che l'interazione è sempre del tipo van der Waals, ma deriva da un guadagno di entropia del solvente acquoso ed è più corretto perciò parlare di effetto idrofobico.

Le porzioni apolari di una molecola presente in soluzione acquosa sono circondate da un mantello idratante estremamente ordinato (strutture a gabbia) a bassa entropia che non è compensata a sufficienza dall'energia (fattore entalpico) associata alle deboli interazioni di tipo dipolo-dipolo indotto tra l'acqua e le porzioni apolari. Di conseguenza, le parti apolari di due molecole diverse tendono ad aggregarsi spontaneamente tra loro in modo da diminuire il numero delle strutture a gabbia attorno ad esse ed accrescere quindi lo stato di disordine del sistema con aumento del fattore entropico (l'aumento di entropia del solvente è maggiore in valore assoluto della diminuzione di entropia del soluto) che compensa ampiamente la variazione sfavorevole di entalpia. La forza motrice che determina quindi l'instaurarsi delle interazioni di van der Waals tra due porzioni apolari di due molecole (in particolare di un farmaco e di una biomolecola) in soluzione acquosa è l'aumento di entropia del solvente.



Trasferimento di carica

I complessi a trasferimento di carica si originano tra molecole elettrone-ricche che agiscono da donatrici (D) e molecole elettrone-povere che si comportano da accettrici (A). Il termine **'trasferimento di carica'** si riferisce ad una successione di eventi tra una molecola D ed una molecola A che può andare dalle deboli interazioni di van der Waals fino alla formazione di una coppia ionica. In altri termini, un complesso a trasferimento di carica è un ibrido tra due strutture limiti, una in cui le molecole interagiscono tramite le forze di dispersione e l'altra in cui D ed A sono legate da un legame ionico.



Tipiche molecole donatrici sono gli eterociclici π elettrone-ricchi pirrolo, furano e tiofene (contengono 6 elettroni π distribuiti su 5 atomi), i composti aromatici con sostituenti elettrone-donatori ed i composti con doppietti elettronici non condivisi; molecole accettrici sono invece ad esempio sistemi eterociclici π elettrone-poveri quali gli anelli purinico e pirimidinico e composti aromatici con sostituenti elettrone-attrattori.

Stereochimica

Isomeri

Stessa formula bruta ma diversa disposizione spaziale degli atomi

Isomeri costituzionali

Differiscono nella formula di struttura e nelle proprietà chimiche e fisiche

Stereoisomeri

Differiscono solo nel modo in cui gli atomi sono disposti nello spazio

Stereoisomeri

```
graph TD; A[Stereoisomeri] --> B[Isomeri conformazionali]; A --> C[Isomeri configurazionali]; C --> D[Isomeri geometrici]; C --> E[Isomeri ottici];
```

Isomeri conformazionali

Interconvertibili per rotazione attorno ad un legame singolo

Isomeri configurazionali

Interconvertibili per rottura di un legame covalente

Isomeri geometrici

Differiscono per la configurazione degli atomi rispetto ad un doppio legame

Isomeri ottici

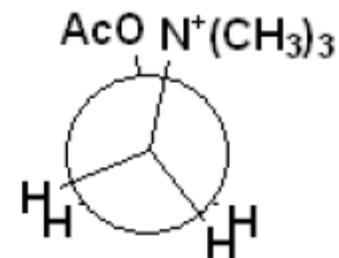
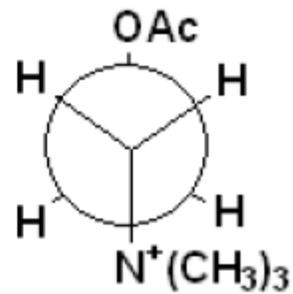
Differiscono per la configurazione di uno o più centri chirali

Isomeri conformazionali

Interconvertibili per rotazione attorno ad un legame singolo



*Proiezioni di
Newman*

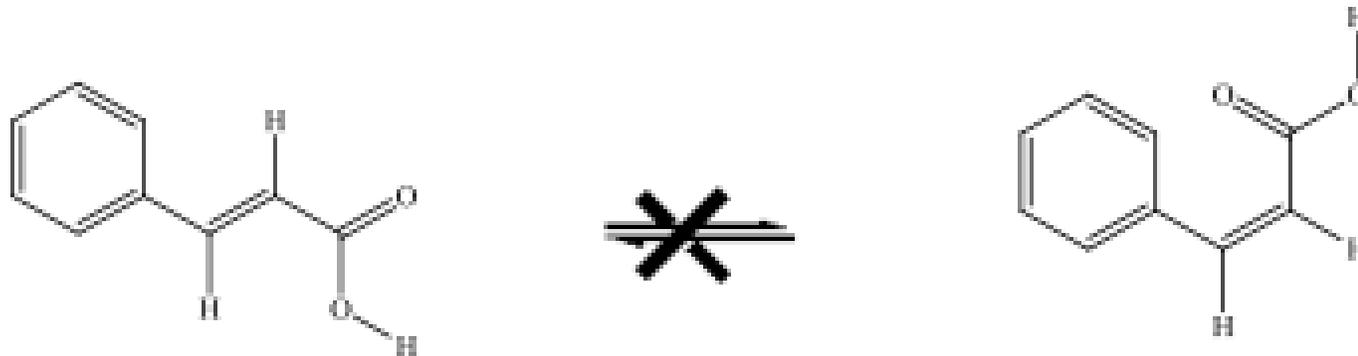


Isomeri configurazionali

Interconvertibili per rottura di un legame covalente

Isomeri geometrici

Differiscono per la configurazione degli atomi rispetto ad un doppio legame



acido (*E*)-3-fenilprop-2-enoico
acido *trans*-cinnamico

acido (*Z*)-3-fenilprop-2-enoico
acido *cis*-cinnamico

Nell'olio essenziale di cannella (dal *Cinnamomum Verum*), assieme all'aldeide cinnamica

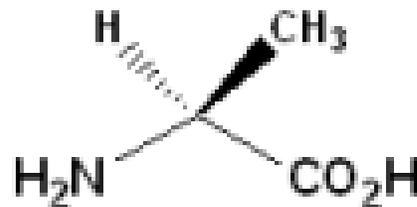
Come acidi e sia come esteri nei balsami di Tolù e del Perù e nello storace (balsamo ottenuto per spremitura della corteccia, bollita in acqua, del *Liquidambar orientalis*, albero delle Amamelidacee).

Isomeri configurazionali

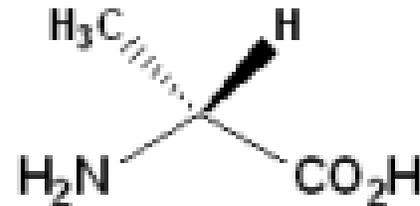
Interconvertibili per rottura di un legame covalente

Isomeri ottici

Differiscono per la configurazione di uno o più centri chirali



(+) (L)-Alanina
(+) (*S*)-Alanina



(-) (D)-Alanina
(-) (*R*)-Alanina

numero massimo di stereoisomeri :

$$2^n$$

n = numero di centri chirali

Coppie di enantiomeri:

$$2^n/2$$

ogni enantiomero di una coppia è diastereoisomero rispetto ai componenti delle altre coppie

Frequentemente gli enantiomeri presentano lo stesso tipo di attività ma uno dei due è più potente dell'altro

Eutomero = enantiomero più potente

Distomero = enantiomero meno potente

$$\frac{\text{Potenza}_{\text{eutomero}}}{\text{Potenza}_{\text{distomero}}} = \text{Rapporto eudismico}$$

**Aumenta con l' aumentare della potenza dell'eutomero
(Regola di Pfeiffer)**

Possibili cause della differenza d'attività dei due enantiomeri

Durante la fase farmacocinetica:

- Assorbimento selettivo
- Legame stereoselettivo alle proteine plasmatiche
- Captazione stereoselettiva da parte di tessuti ed organi
- Escrezione stereoselettiva
- Metabolismo stereoselettivo.
 - stereoselettività di substrato
 - stereoselettività di prodotto
 - stereoselettività di substrato e prodotto

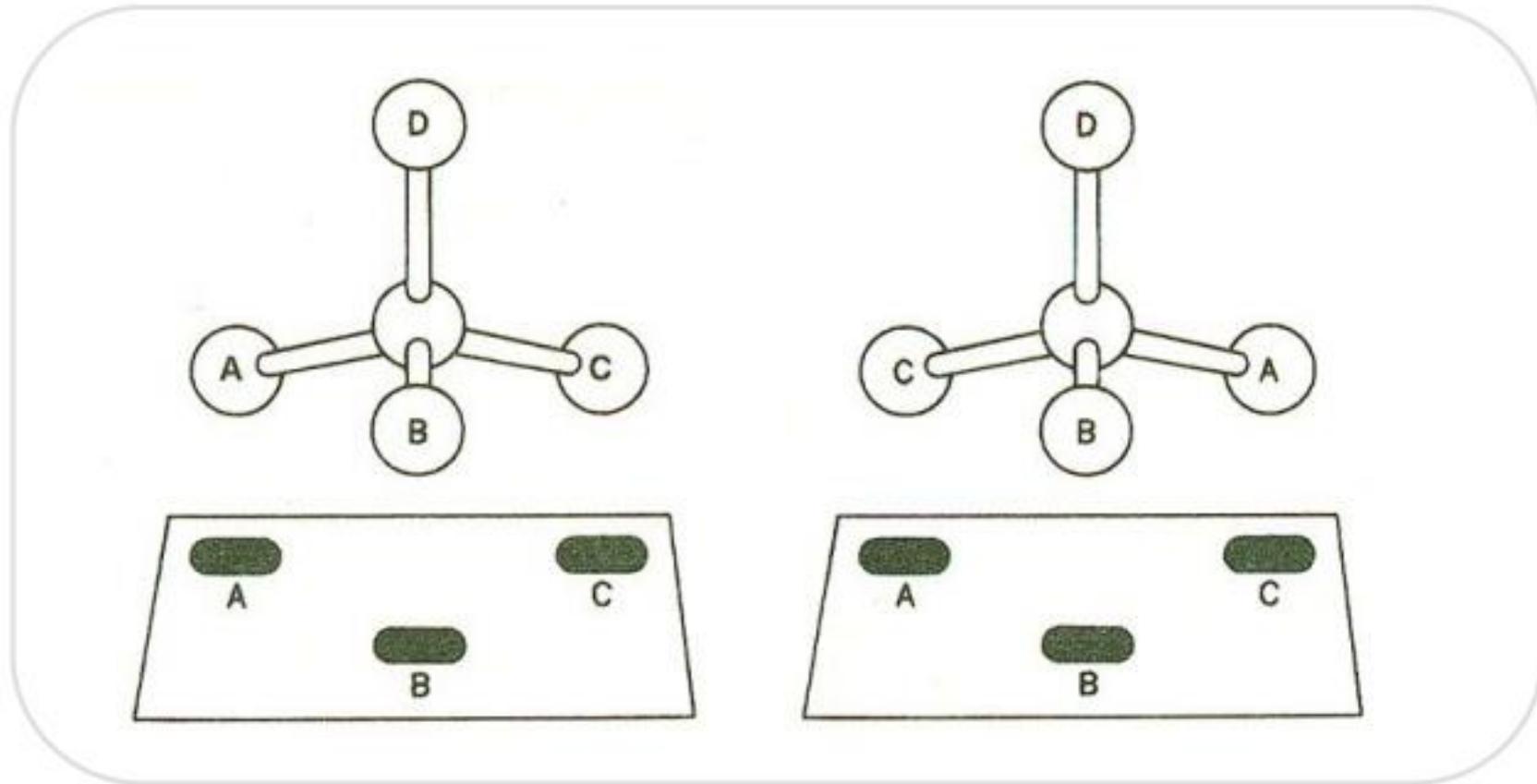
Durante la fase farmacodinamica:

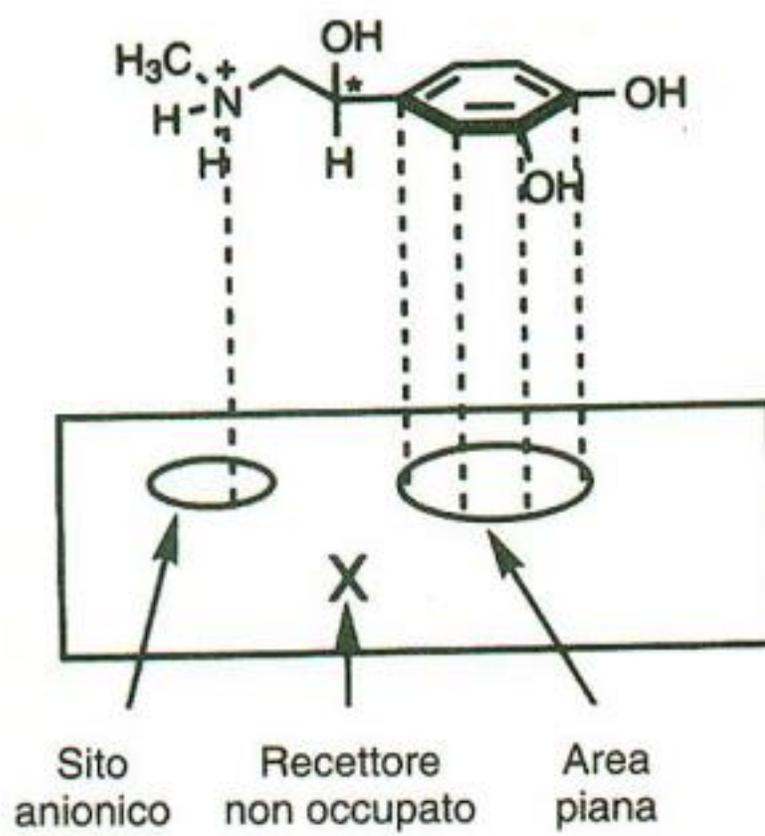
- Interazione stereoselettiva con il biopolimero bersaglio

Attività di due enantiomeri

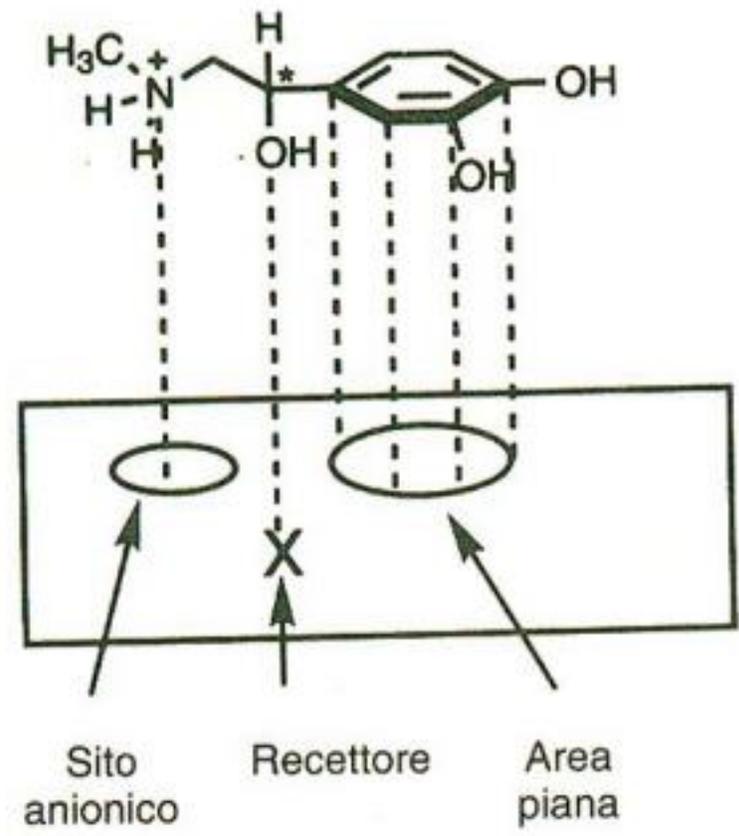
- **I due enantiomeri mostrano lo stesso tipo di attività ma uno è più potente dell'altro**
- **Uno solo è attivo (l'altro potrebbe essere responsabile di effetti collaterali indesiderati)**
- **I due enantiomeri mostrano lo stesso tipo di attività e la stessa potenza**
- **I due enantiomeri mostrano attività di tipo differente**

Modello a tre punti di Easson-Stedman



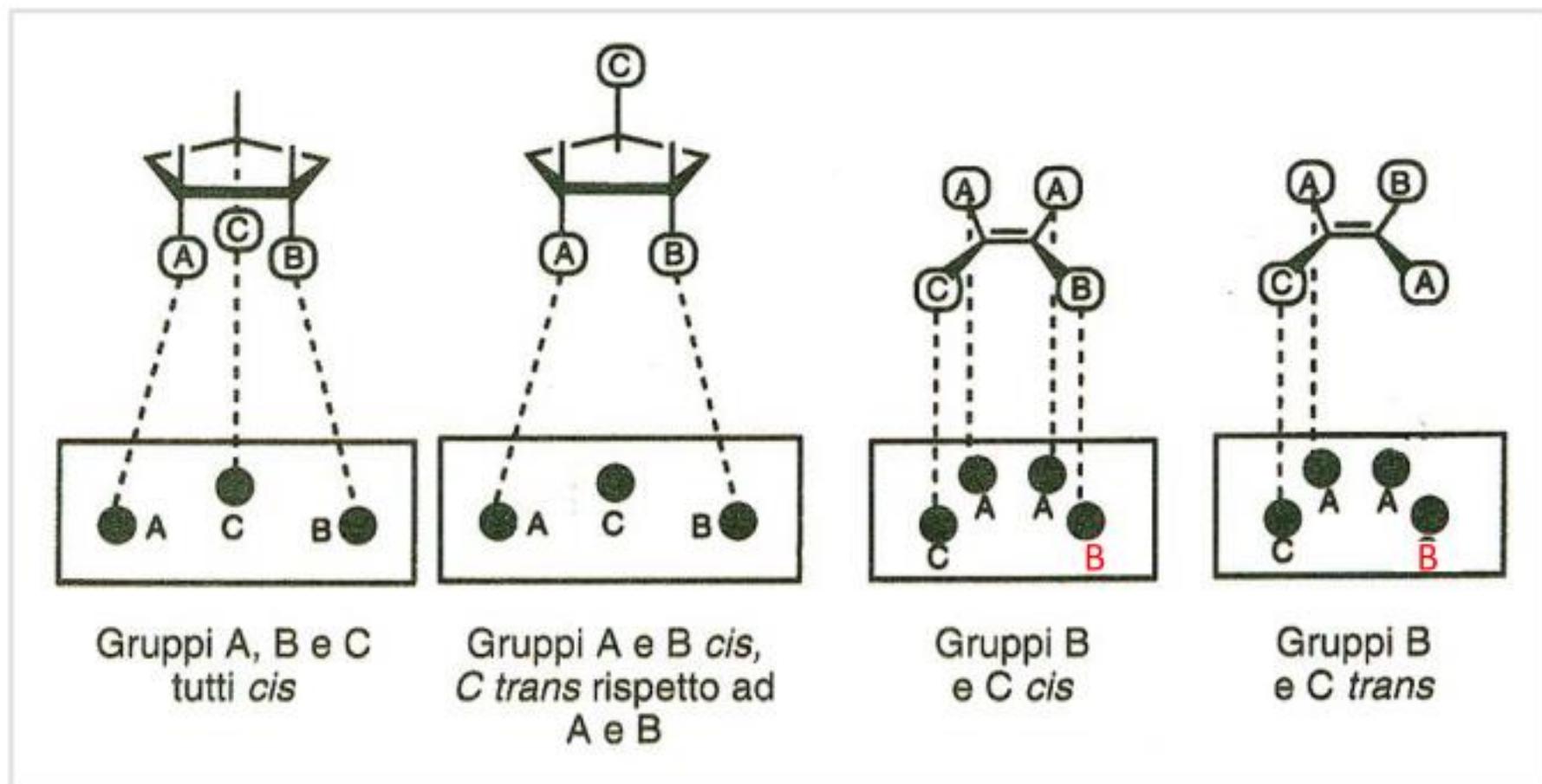


S(+)-Adrenalina (epinefrina)
meno attiva



R(-)-Adrenalina (epinefrina)
più attiva

Diastereoisomeria ed attività



Isomeria conformazionale ed attività

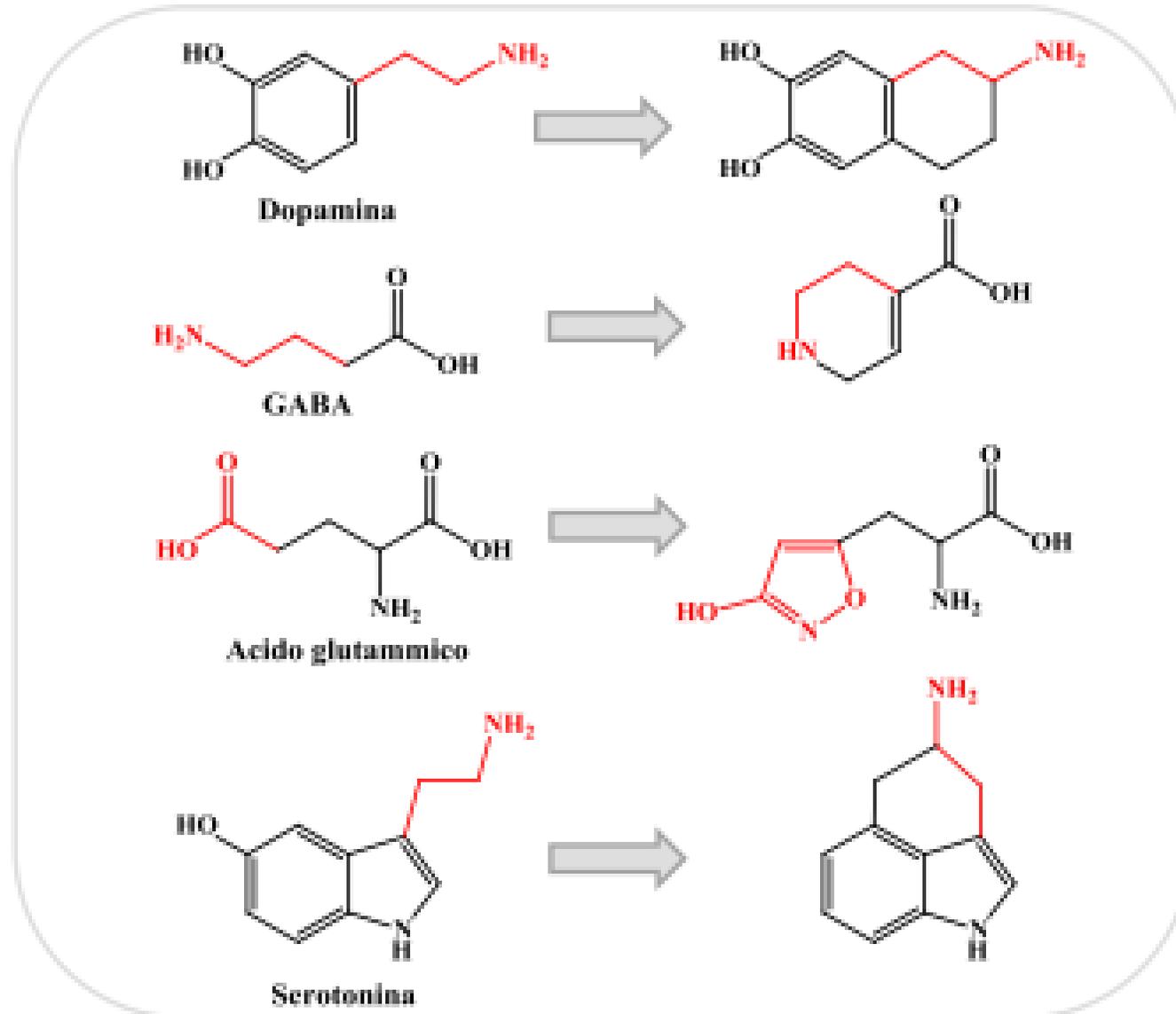
Conformazione attiva o farmacoforica

- Conformazione con la quale un farmaco interagisce con il proprio bersaglio biologico
- Non sempre corrisponde alla conformazione più stabile

Metodi di analisi conformazionale

- Cristallografia a raggi X
- Risonanza magnetica nucleare (NMR)
- Metodi teorici

Analoghi conformazionalmente ristretti di neurotrasmettitori



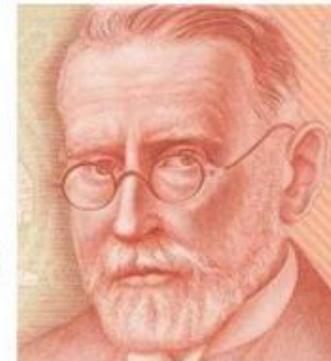
Relazioni Struttura-Attività

Con il termine **relazioni struttura-attività (SAR)** si intendono le relazioni tra la struttura chimica e la attività farmacologica di una serie di composti. Esse vengono costruite nel corso del processo di ottimizzazione di un composto guida attraverso modificazioni molecolari del prototipo e sono a loro volta utilizzate per la progettazione di nuovi analoghi e per una comprensione dettagliata del meccanismo d'azione e della topografia della biomolecola bersaglio.

Possono essere di carattere qualitativo e di carattere quantitativo (QSAR). In quest'ultimo caso, si utilizzano per la loro costruzione parametri chimico-fisici e trattazioni matematiche.

Un passaggio fondamentale negli studi SAR è rappresentato dalla individuazione del **farmacoforo**. Per farmacoforo si intende l'insieme delle caratteristiche strutturali di una molecola biologicamente attiva che sono necessarie per l'interazione con il biopolimero bersaglio e quindi per l'attività. Il bersaglio biologico riconosce l'arrangiamento di certi gruppi della molecola nello spazio tridimensionale e le loro caratteristiche chimico-fisiche

«La più piccola unità strutturale di un farmaco, costituita da un insieme di gruppi funzionali disposti opportunamente nelle tre dimensioni spaziali che, interagendo specificatamente con un recettore, è responsabile dell'attività biologica.»



Paul Ehrlich

Strategie standard

Modificazioni molecolari utilizzabili per l'esplorazione primaria delle relazioni SAR a partire da un nuovo lead compound con una attività di qualsiasi tipo.

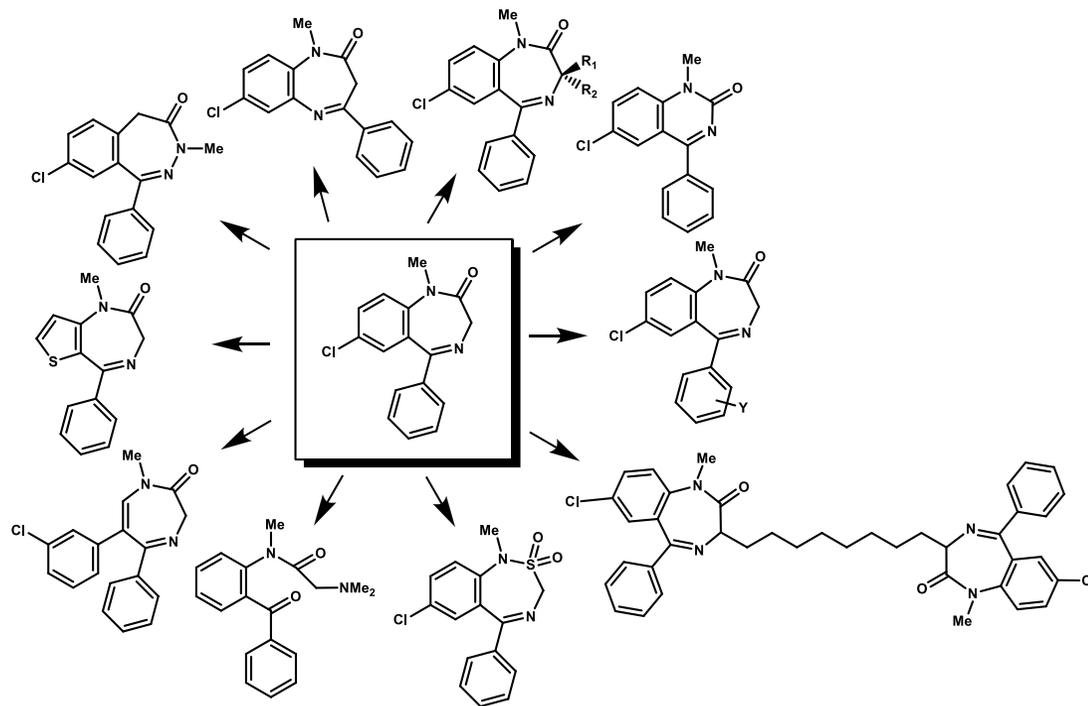
Tali strategie comprendono:

-dissociazione (o semplificazione) molecolare;

-associazione (o complicazione) molecolare;

-processi speciali: variazioni dei sostituenti degli anelli aromatici, preparazione di profarmaci, costruzione di serie omologhe, sostituzioni bioisosteriche.

Il cosiddetto approccio globale consiste nell'applicare in maniera sistematica tutte le strategie suddette, individuando così sulla carta un numero molto alto di variazioni strutturali.



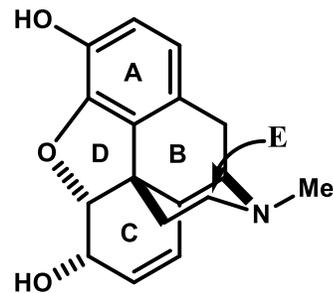
Alcune regole possono aiutare a codificare con precisione l'uso delle varie strategie e ad aumentarne l'efficacia:

- regola 1: dare priorità ad analoghi che derivano dal prototipo attraverso piccole variazioni;
- regola 2: utilizzare prima possibile i dati biochimici;
- regola 3: utilizzare i dati strutturali;
- regola 4: scegliere opportunamente i sostituenti sugli anelli aromatici;
- regola 5: dare la preferenza ad analoghi la cui sintesi sia più semplice e meno costosa;
- regola 6: eliminare i centri chirali

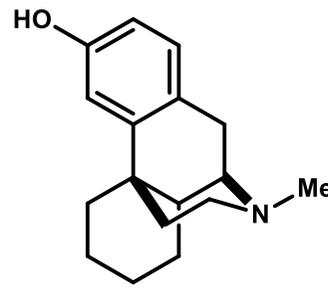
Dissociazione (o Semplificazione) molecolare

Consiste nella sintesi di analoghi più semplici del prototipo. Il fatto che il farmacoforo sia in genere limitato ad alcuni elementi strutturali di una molecola che può essere più o meno complessa fa sì che si possa procedere spesso ad una semplificazione della molecola, sfrondandola degli elementi che non appartengono al farmacoforo (molecular pruning).

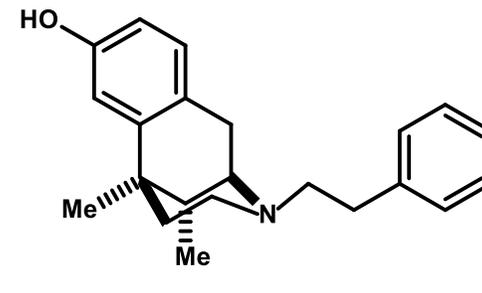
Uno degli esempi più noti di semplificazione molecolare che, partendo da un prodotto naturale complesso, arriva via via alla creazione di molecole sempre più semplici ma ancora farmacologicamente attive è rappresentato dalla **morfina** e suoi congeneri



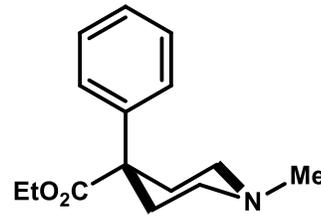
Morfina



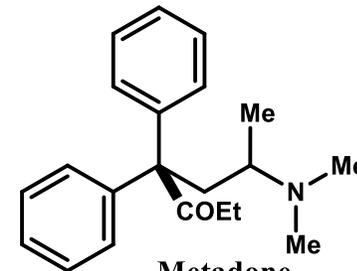
Levorfanolo
(Morfinano)



Fenazocina
(Benzomorfanone)



Meperidina



Metadone

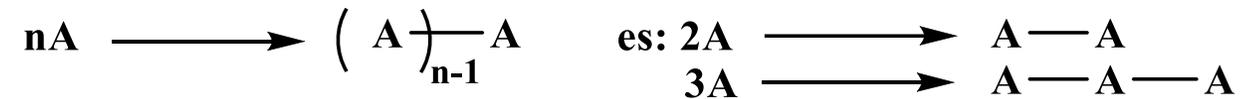
SEMPLIFICAZIONE MOLECOLARE

Associazione (o Complicazione) Molecolare

Consiste nella sintesi di analoghi più complessi del composto guida. I processi di complicazione molecolare si possono distinguere in processi di:

- replicazione molecolare;
- ibridazione molecolare;
- addizione molecolare;
- rigidificazione delle struttura;
- estensione della struttura.

La replicazione molecolare consiste nell'associazione di unità identiche mediante formazione di legami covalenti (raddoppiamento molecolare, triplicazione molecolare, etc.):



Il caso di gran lunga più frequente è rappresentato dal raddoppiamento molecolare.

L'ibridazione molecolare consiste invece nell'associazione di unità diverse, sempre mediante formazione di legami covalenti:

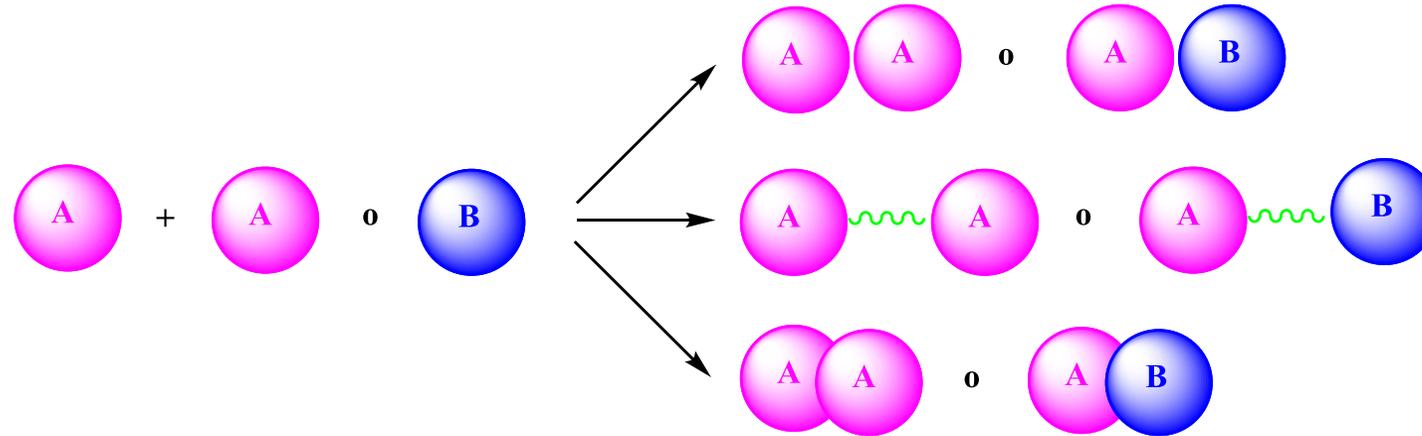


L'addizione molecolare consiste infine nell'associazione tra due unità differenti mediante interazioni non covalenti:

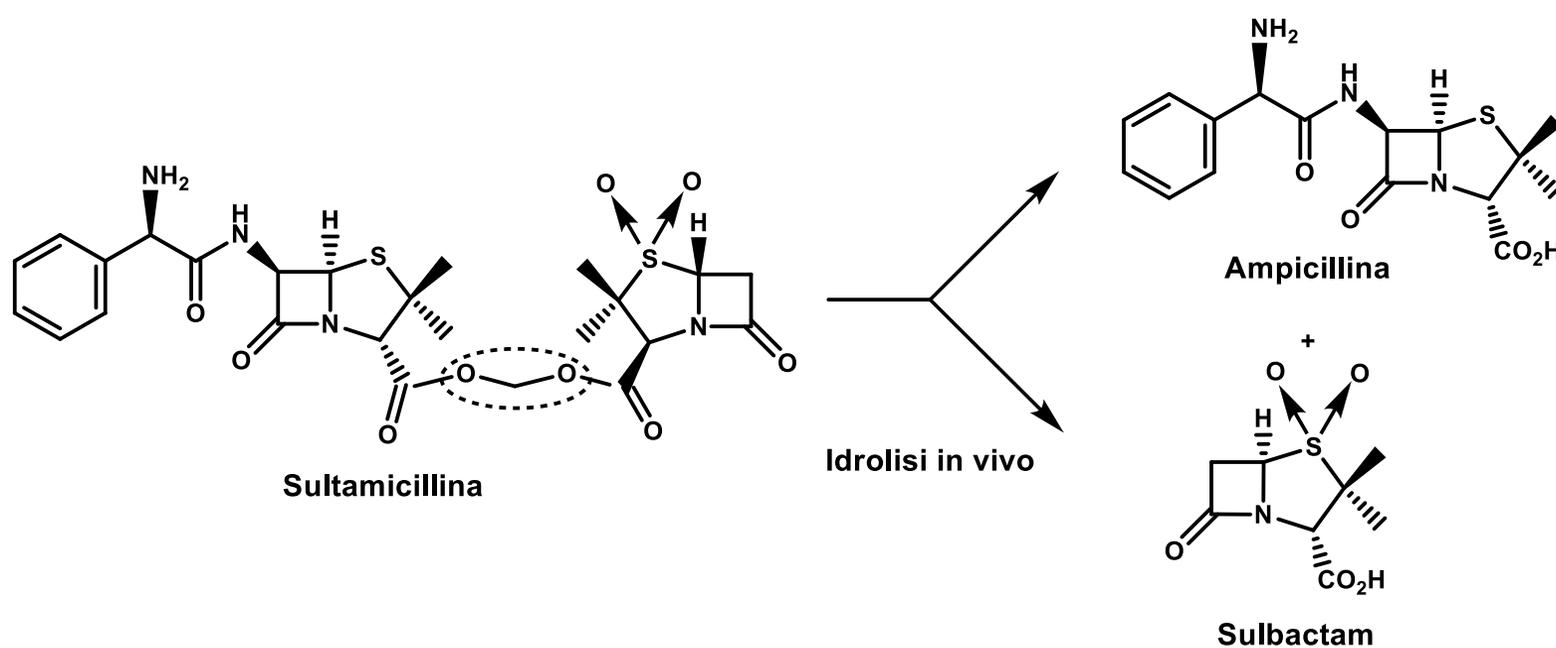


Il **raddoppiamento** e l'**ibridazione molecolari** riguardano la costruzione dei cosiddetti "**twin drugs**", farmaci che derivano appunto dalla combinazione covalente di due porzioni farmacofore identiche o diverse.

Essi possono essere legati direttamente fra loro, separati da uno spaziatore oppure addirittura sovrapposti parzialmente.



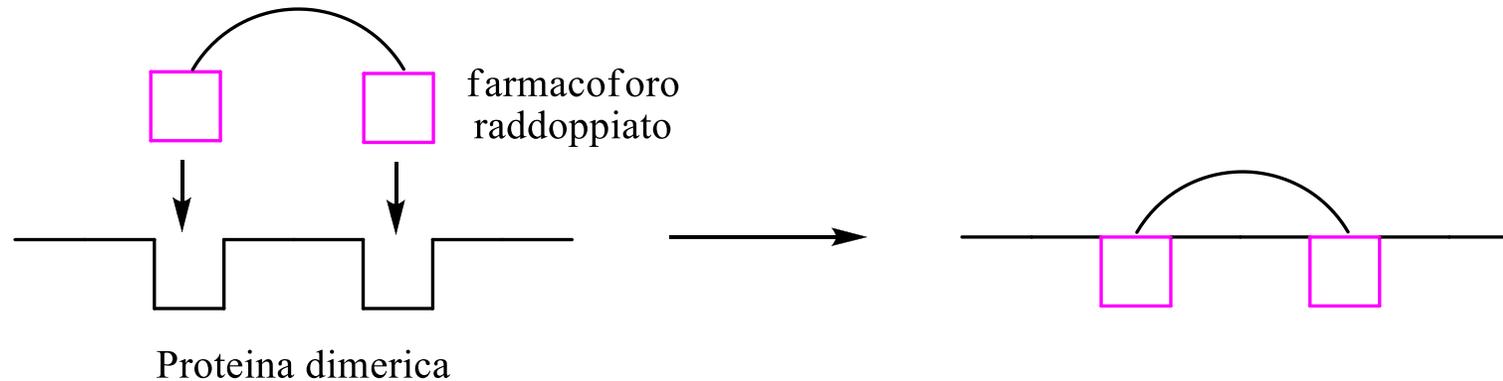
I twin drugs possono rigenerare in vivo i costituenti (questo si verifica soprattutto per gli ibridi molecolari) oppure no (questo invece vale per entrambi i tipi di twin drugs). Nel primo caso si tratta di **profarmaci reciproci** (i due principi attivi si rendono profarmaci a vicenda); il twin drug è di per sé inattivo, si scinde in vivo (in genere attraverso un processo di idrolisi) e rigenera i due componenti attivi. Lo scopo del twin drug è quello di migliorare le proprietà farmaceutiche e farmacocinetiche. Un profarmaco reciproco avrà un'alta probabilità di successo a patto che esso venga ben assorbito, entrambi i componenti siano rilasciati quantitativamente dopo assorbimento ed ingresso in circolo, l'effetto massimo si verifichi con un rapporto tra essi di $\sim 1:1$



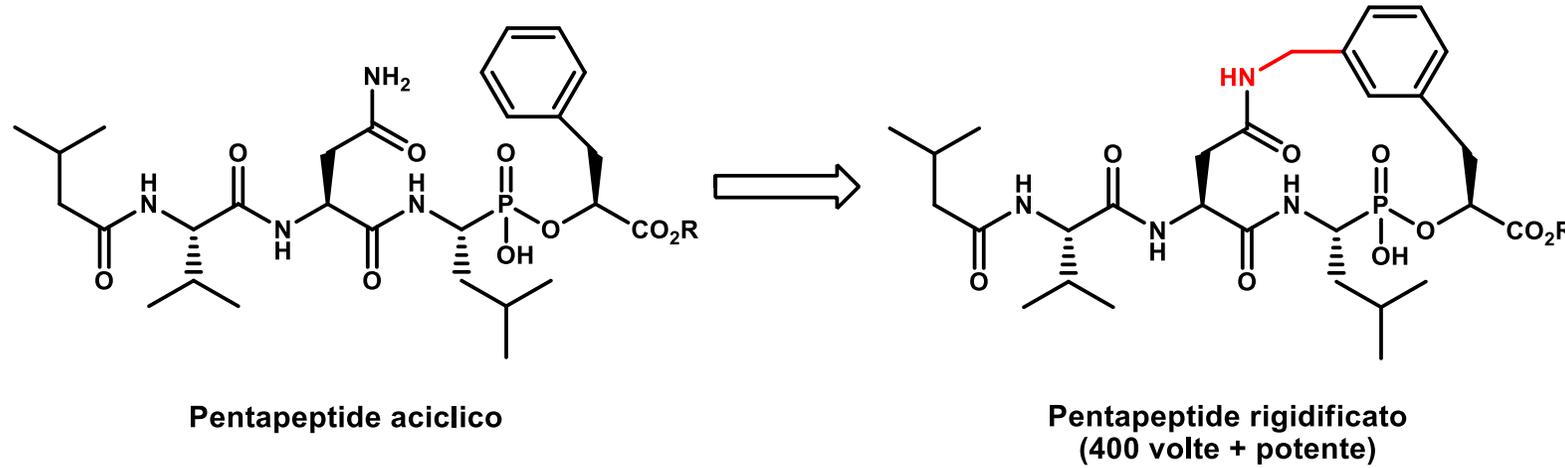
Un esempio è fornito dalla **sultamicillina**, un ibrido molecolare tra l'ampicillina, un antibiotico β -lattamico ad ampio spettro sensibile alle β -lattamasi ed il sulbactam, un inibitore suicida delle β -lattamasi. Mentre il sulbactam è scarsamente assorbito per via orale, una volta combinato sotto forma di doppio estere con l'ampicillina fornisce un ibrido assorbito rapidamente e completamente, con liberazione quantitativa e contemporanea dei due componenti. L'associazione presenta massima attività proprio nel rapporto 1:1 dei due componenti che, oltretutto, vengono distribuiti ed eliminati in maniera analoga.

Anche nel caso di ibridi molecolari che non vengono scissi in vivo il principale vantaggio rispetto alla somministrazione dei due principi attivi separati è di carattere farmacocinetico, poiché l'ibrido ha un unico profilo farmacocinetico. Nel caso di somministrazione dei due componenti separati invece, ciascuna attività dipenderà dai profili individuali di assorbimento, metabolismo ed escrezione. Una molecola di ibrido che non si scinde in vivo non è però generalmente in grado di interagire simultaneamente con i due differenti bersagli biologici delle due porzioni dell' ibrido.

Per quanto riguarda i prodotti di **raddoppiamento molecolare**, la loro base razionale non è sempre evidente e si fonda in genere sull'esistenza di una struttura simmetrica della macromolecola bersaglio (ad esempio una proteina oligomerica) e sulla conseguente possibilità per il dimero di adattarsi contemporaneamente a due siti di legame simmetrici e contigui della proteina. Esempi di **recettori simmetrici** sono i recettori muscarinici, adrenergici, oppiacei, dell'insulina, del fattore di aggregazione piastrinica; esempi di **enzimi simmetrici** sono la trascrittasi inversa e la proteasi dello HIV, diverse protein chinasi.

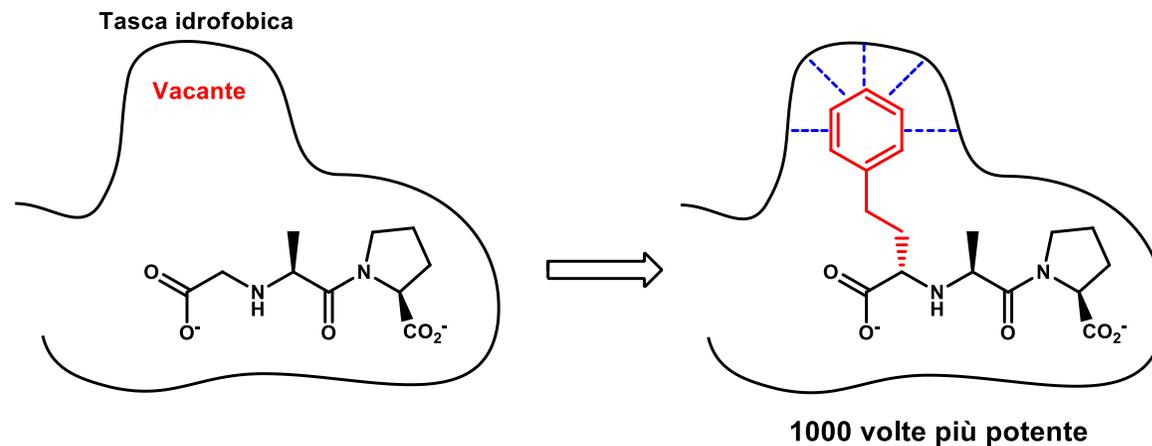


Rigidificazione della struttura. Più flessibile è una molecola di farmaco, più è probabile che essa possa interagire con diversi tipi di recettore, producendo quindi risposte diverse. La strategia della rigidificazione consiste nel bloccare la molecola in una conformazione più rigida in modo che essa non possa assumere altre conformazioni. Il sistema impiegato più comunemente consiste nell'incorporare la regione flessibile del farmaco in un anello.



La rigidificazione ha però anche potenziali svantaggi in termini di sintesi più complesse e di problemi di resistenza legati a mutazioni. Infatti, se una mutazione altera la forma del sito di legame del biopolimero bersaglio, una molecola rigida può non essere più in grado di legarsi, mentre una più flessibile può assumere una conformazione differente in grado di adattarsi al cambiamento.

Estensione della struttura. Questa strategia comporta l'aggiunta di altri gruppi funzionali o alchilici/arilici in modo da stabilire interazioni di legame supplementari. Può essere infatti che un 'lead compound' non interagisca con tutte le regioni di legame disponibili. La tattica dell'estensione della struttura è spesso utilizzata per individuare regioni idrofobiche extra, aggiungendo gruppi alchilici o arilalchilici e per convertire un agonista in un antagonista.



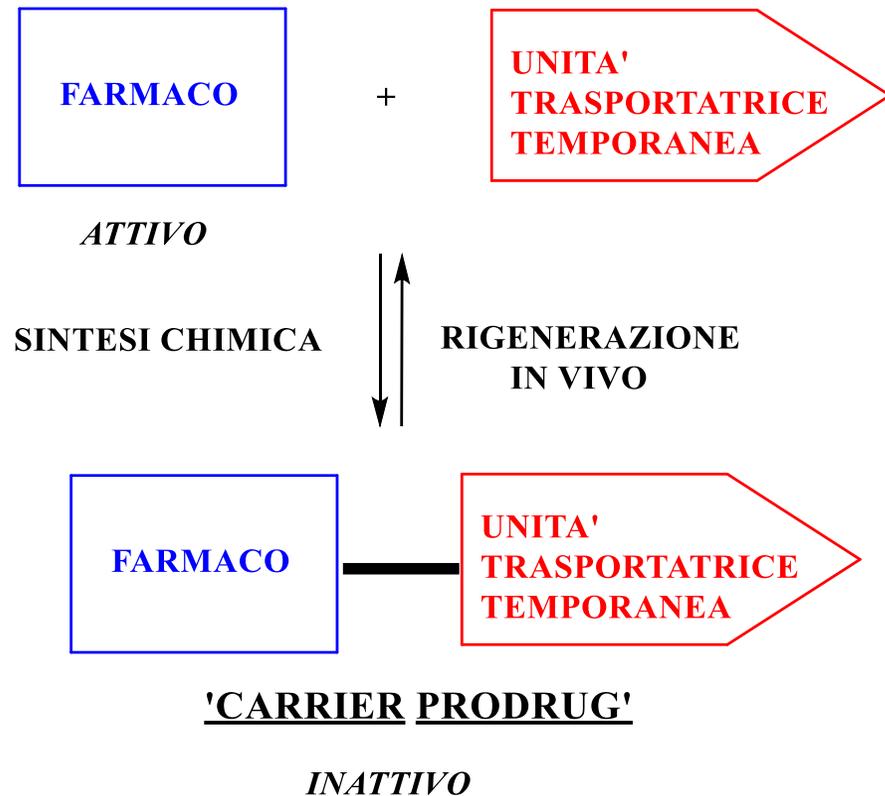
Un esempio di applicazione si riferisce ad antiipertensivi inibitori dell'ACE (enzima convertitore dell'angiotensina). L'aggiunta di un gruppo feniletilico al prototipo in grado di interagire con una tasca idrofobica del sito attivo dell'enzima ha prodotto un aumento della capacità inibitoria di 1000 volte.

Processi speciali

Variazioni dei sostituenti degli anelli aromatici

Le variazioni di posizione e della natura dei sostituenti su anelli aromatici hanno conseguenze sulle caratteristiche elettroniche, steriche e di ripartizione delle molecole. Ad esempio, un nitrogruppo (fortemente elettronattrattore) influenzerà la basicità di un'ammina aromatica più significativamente quando esso si trova in posizione para piuttosto che in quella meta. La chimica coinvolta in questo tipo di procedura è abbastanza semplice, per cui essa è adottata frequentemente nella costruzione delle SAR e si presta bene anche ad analisi QSAR.

Profarmaci

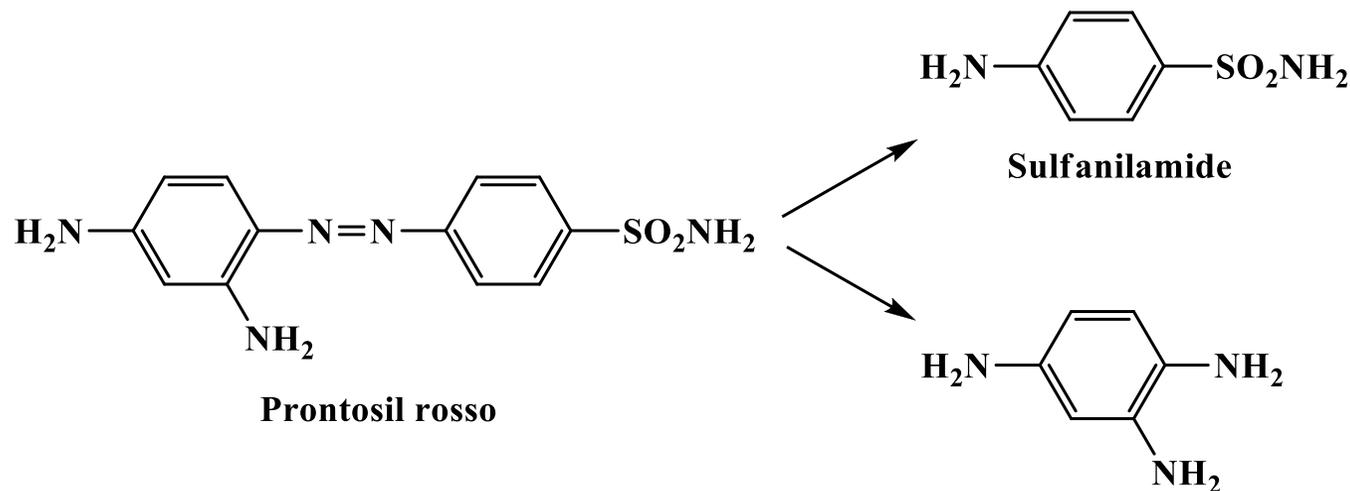


Con il termine di **profarmaco** si intende una sostanza inattiva che viene attivata in vivo attraverso una biotrasformazione metabolica. Un profarmaco può anche essere attivato mediante un processo non enzimatico, ma in questo caso il composto è in genere intrinsecamente instabile e può dare problemi di stabilità. I profarmaci possono essere suddivisi in due categorie: **profarmaci propriamente detti** (indicati in inglese come carrier-prodrugs, cioè profarmaci basati sull'impiego di un trasportatore) e **bioprecursori**.

I profarmaci propriamente detti sono derivati inattivi dei farmaci; il farmaco cioè viene trasformato chimicamente in un derivato inattivo il quale poi nell'organismo rigenera il farmaco originale.

I **bioprecursori** non implicano un legame temporaneo tra il farmaco ed un gruppo trasportatore ma consistono in precursori strutturali di farmaci. Si comportano da substrati di enzimi delle categorie ossidasi, reductasi, soprattutto chinasi, e generano in vivo il metabolita attivo. Esempi di bioprecursori che subiscono una attivazione ossidativa sono il proguanile, la ciclofosfamida e la procarbazine; esempi di bioprecursori che subiscono invece una attivazione riduttiva sono la sulfasalazina e la mitomicina; esempi infine di bioprecursori che subiscono una attivazione fosforilativa sono tutti gli analoghi nucleosidici ad attività antivirale e antineoplastica.

Un esempio storico di bioprecursore è rappresentato dal Prontosil rosso, un colorante azoico che viene convertito in vivo a sulfanilamide, l'effettivo responsabile dell'attività antibatterica; tale scoperta aprì la strada nella seconda metà degli anni trenta allo sviluppo dei sulfamidici.

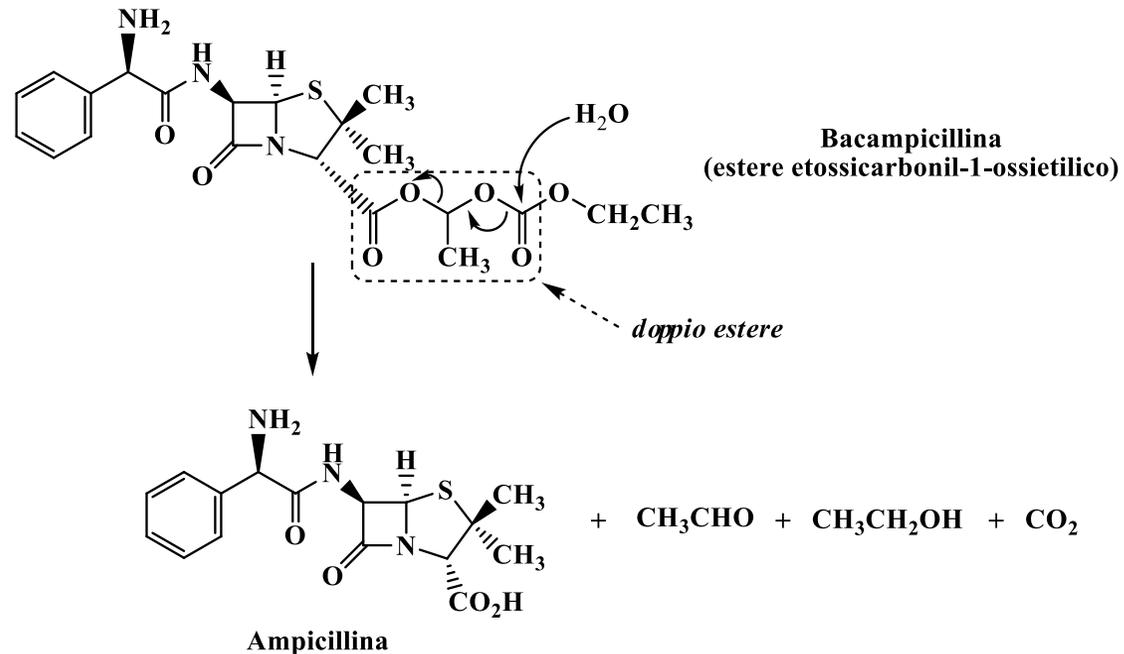


Principali finalità dei profarmaci

- a) miglioramento delle caratteristiche farmacocinetiche (assorbimento e distribuzione) — { Aumento sitospecificità
Aumento biodisponibilità
Aumento durata d'azione
- b) miglioramento della stabilità metabolica — ←
- c) miglioramento dell'accettabilità
- d) mascheramento degli effetti collaterali e della tossicità
-

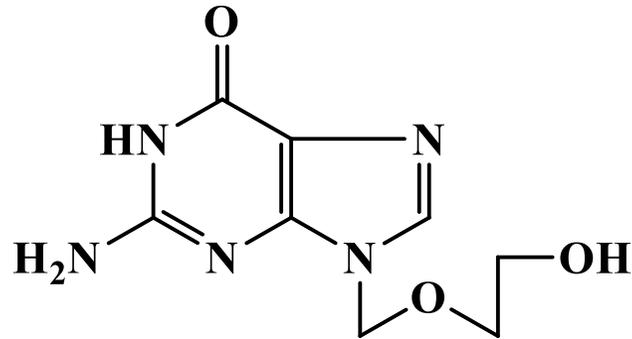
Realizzazioni di profarmaci

La trasformazione di un farmaco in un suo derivato **più lipofilo** può avere come obiettivi un miglioramento dell'assorbimento (con conseguente aumento della biodisponibilità) ed un aumento della durata d'azione. L'**ampicillina**, che esiste prevalentemente come anione nel tratto intestinale, viene assorbita incompletamente. Il suo ampio spettro d'azione associato ad una quota non trascurabile del farmaco non assorbito nel tratto intestinale è responsabile dell'elevata incidenza di diarrea (8-10%). La **bacampicillina**, un doppio estere inattivo dell'ampicillina è invece bene assorbita in conseguenza della sua maggiore lipofilia ($\log P = 2.0$ contro -1.1 per l'ampicillina) e, una volta entrata in circolo, viene rapidamente e quantitativamente idrolizzata per ridare l'ampicillina. L'utilizzo di un doppio estere è dettato dal fatto che nelle penicilline l'intorno del gruppo carbossilico è altamente ingombrato e quindi esteri alifatici semplici (ad esempio. metil- o etilesteri) non sono sufficientemente labili da rigenerare rapidamente e quantitativamente il principio attivo.

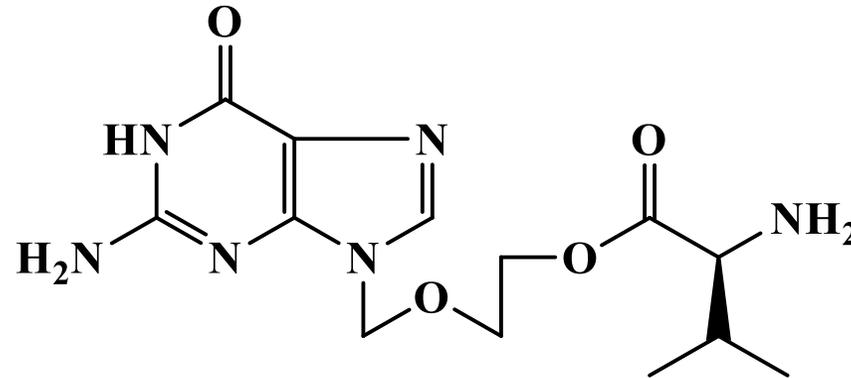


Gruppi esterei altamente lipofili sono impiegati nella preparazione di profarmaci a lento rilascio in circolo. Tali profarmaci vengono disciolti in un veicolo oleoso e somministrati per via intramuscolare. A causa del loro elevato coefficiente di ripartizione, il rilascio dal sito di iniezione è lento. Una volta entrato in circolo, l'estere viene poi rapidamente idrolizzato. I vantaggi di un rilascio lento e prolungato sono: riduzione del numero delle dosi, minimizzazione dei problemi di accettabilità, eliminazione dei picchi di concentrazione e diminuzione degli effetti tossici.

Il miglioramento della **idrofilicità** può costituire una condizione essenziale per la somministrazione di un farmaco per via endovenosa o anche per assicurare una sufficiente idrosolubilità nei fluidi gastrointestinali nel caso di somministrazione orale.



Aciclovir

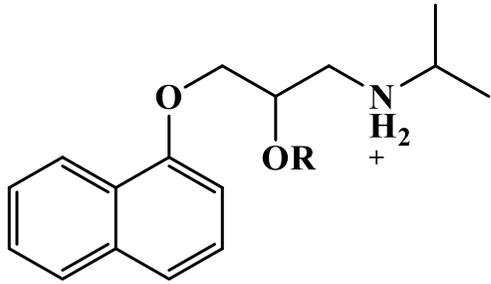


Valaciclovir

L'aciclovir, uno tra i più noti antivirali, ha una biodisponibilità modesta (10-20%) a causa della sua scarsa idrosolubilità. Il valaciclovir è l'estere con la L-valina dell'aciclovir.

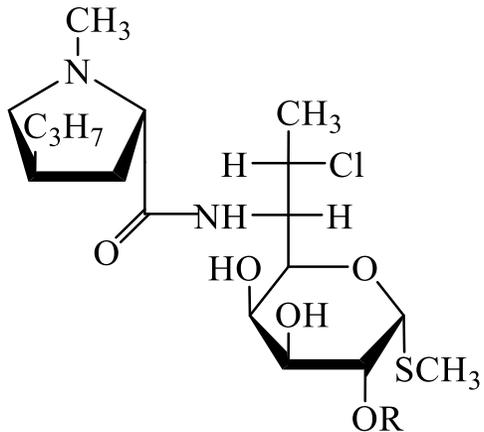
Si tratta di un profarmaco idrosolubile che viene convertito rapidamente e pressoché completamente in aciclovir nel corso del primo passaggio nel fegato.

La biodisponibilità dell'aciclovir aumenta da tre a cinque volte in seguito a somministrazione di valaciclovir.



R = H; propranololo

R = COCH₂CH₂CO₂⁻; emisuccinato

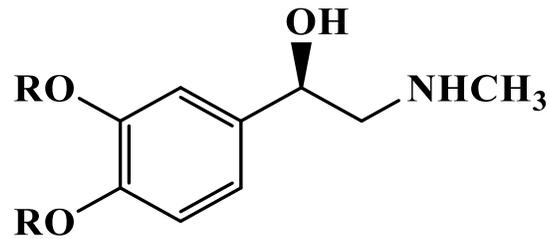


R = H; clindamicina

R = PO₃H₂; fosfato

Il ricorso a profarmaci consente in alcuni casi di prevenire il metabolismo presistemico. Il propranololo (un cardiovascolare adrenergico β -bloccante), sebbene significativamente ionizzato a pH fisiologico, è altamente lipofilo ed accede facilmente all'ambiente microsomiale epatico dove subisce vari processi di inattivazione. Il suo emisuccinato invece è uno ione bipolare e non entra in contatto con gli enzimi microsomiali. Una volta entrato nella circolazione sistemica, l'emisuccinato viene idrolizzato ad opera di esterasi non specifiche per dare il propranololo, con ottenimento di livelli plasmatici superiori di otto volte rispetto all'impiego diretto del propranololo

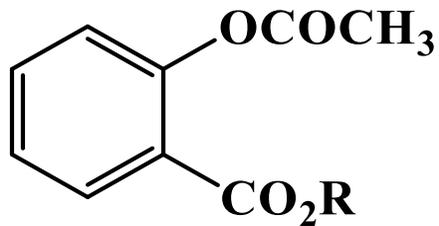
I profarmaci sono talvolta impiegati allo scopo di minimizzare l'odore o il sapore sgradevoli di certi farmaci o di eliminare il dolore al sito di iniezione. Un esempio di miglioramento dell'accettabilità di un farmaco mediante l'uso di un suo profarmaco è rappresentato dalla clindamicina fosfato. Mentre la clindamicina, un antibiotico della categoria delle lincosamidi, causa dolore quanto viene iniettata, il fosfato è ben tollerato; l'idrolisi del profarmaco avviene con un $t_{1/2}$ di ~ 10 minuti.



R = H; epinefrina

R = COCMe₃; dipivefrina

Il mascheramento degli effetti collaterali e della tossicità è spesso una conseguenza del miglioramento dell'assorbimento, della sito-specificità e di un rilascio prolungato. Così, ad esempio, l'epinefrina, usata nel trattamento del glaucoma, presenta una serie di effetti collaterali oculari e sistemici. Il suo profarmaco dipivaloilepinefrina (dipivefrina), in grado di penetrare la cornea più efficacemente dell'epinefrina, ha un profilo di tossicità significativamente migliore.

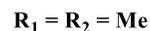
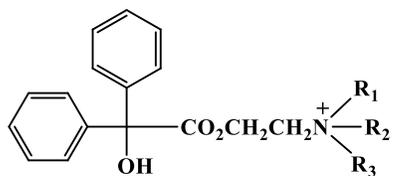
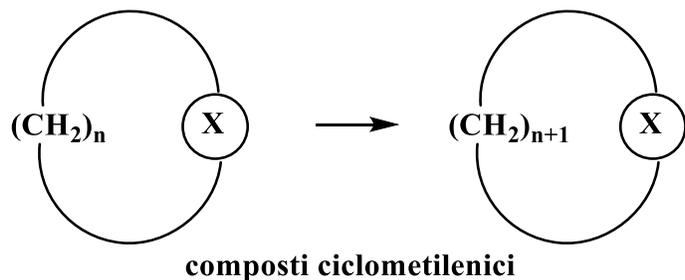
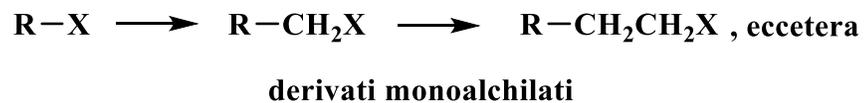


R = H; aspirina

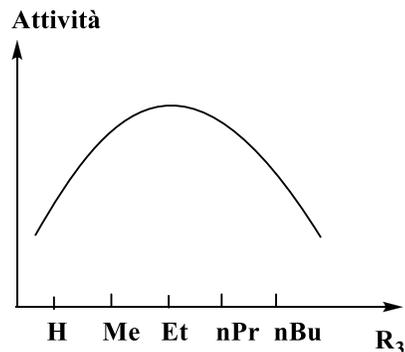
R = alchile; esteri dell'aspirina

Un'altro esempio dell'utilità dell'impiego dei profarmaci per diminuire la tossicità di un farmaco è dato dagli esteri dell'aspirina. Gli effetti collaterali associati alla aspirina sono irritazione gastrica e lesioni emorragiche. L'esterificazione dell'aspirina sopprime grandemente il potenziale ulcerogenico del farmaco. Tuttavia, l'esterificazione rende anche il gruppo acetilossi estremamente suscettibile all'idrolisi enzimatica. Da ricordare che l'aspirina agisce come tale da inibitore irreversibile nei confronti degli enzimi cicloossigenasi (COX), mentre sotto forma del suo metabolita acido salicilico si comporta da inibitore reversibile degli stessi enzimi.

Omologia Lineare e Ciclica



(Anticolinergici)



Consiste nell'esplorazione di una serie omologa, cioè una serie di composti che differiscono tra loro per una unità costante, generalmente un gruppo CH_2 . I casi più frequenti in chimica farmaceutica sono quelli dei derivati monoalchilati, dei composti ciclometilenici e dei composti bifunzionalizzati polimetilenici. Il risultato che si osserva più frequentemente in una serie omolga è un aumento, regolare o irregolare dell'attività con l'aumentare del numero di gruppi CH_2 fino ad un massimo, seguito poi da una diminuzione. Questo andamento è interpretato comunemente come conseguenza di un coefficiente di ripartizione ottimale associato alla massima facilità di attraversamento delle membrane biologiche. Il successivo calo di attività è attribuito alla insufficiente idrosolubilità che rende problematico il trasporto del farmaco.

Un esempio al riguardo è costituito da composti anticolinergici a struttura di sali d'ammonio quaternari di dialchilammino etil esteri dell'acido benzilico. L'attività cresce con il crescere della lunghezza della catena alifatica R_3 , riducendosi già dopo C_2 .

Sostituzioni Bioisosteriche

Le sostituzioni bioisosteriche sono modificazioni in cui un atomo o un gruppo di atomi della molecola prototipo sono sostituiti con atomi o gruppi con caratteristiche steriche ed elettroniche approssimativamente simili con il risultato di ottenere analoghi in grado di interagire con lo stesso sistema biologico del prototipo, comportandosi da agonisti o da antagonisti. Il concetto di isosteria è stato originariamente introdotto da **Langmuir** nel 1919 per spiegare perché alcune specie chimiche presentassero proprietà chimico-fisiche simili tra loro. Tale fatto venne da Langmuir attribuito alla identità nel numero complessivo degli elettroni di tali specie che furono indicate col termine di isosteri.

Coppie di isosteri vennero considerate ad esempio N_2 e CO (14 elettroni), CO_2 ed N_2O (22 elettroni), N_3^- e NCO^- (21 elettroni) e CH_2N_2 e CH_2CO (22 elettroni). Il confronto delle proprietà chimico-fisiche di CO_2 ed N_2O è una evidente dimostrazione delle similitudini tra isosteri.

Proprietà	CO_2	N_2O
Carica elettronica complessiva	22	22
Peso molecolare	44,01	44,02
Viscosità (20°, 1 atm)	148×10^{-6}	148×10^{-6}
Pressione critica (atm)	77	75
Temperatura critica (°C)	31,9	35,4
Conducibilità termica a 100 °C	0,0506	0,0506
Indice di rifrazione del liquido (0 °C)	1,190	1,193
Costante dielettrica del liquido (0 °C)	1,582	1,598
Solubilità in acqua (0 °C)	1,780	1,305
Solubilità in alcool (15 °C)	3,13	3,25

Regola dello Spostamento degli Idruri di Grimm

Elettroni totali	6	7	8	9	10
	C	N CH	O NH CH₂	F OH NH₂ CH₃	Ne HF H₂O NH₃ CH₄

Il concetto di isosteria è stato successivamente elaborato da **Grimm** (1924) con la sua regola dello spostamento degli idruri con cui costruire serie di isosteri. Colonne di isosteri si ottengono aggiungendo un atomo di idrogeno ad un elemento di una riga del sistema periodico e scalando di un posto verso destra l'aggruppamento così ottenuto ed indicato con il termine di pseudoatomo.

A partire dal 1932 infine Erlenmeyer pubblicò una serie di studi sul concetto di isosteria, proponendo una propria definizione di isosteri come elementi, molecole o ioni in cui gli strati elettronici periferici sono identici. Secondo la definizione di Erlenmeyer sono quindi isosteri gli elementi di uno stesso gruppo del sistema periodico

Atomi e Gruppi con Identico Numero di Elettroni Periferici
(Erlenmeyer)

Elettroni periferici	4	5	6	7	8
	C	N	O	F	HF
	N⁺	P	S	Cl	HCl
	P⁺	S⁺	PH	Br	HBr
				I	HI
				OH	H₂O
				SH	H₂S
				PH₂	PH₃

L'estensione del concetto di isosteria al campo dei prodotti biologicamente attivi ha portato, come accennato all'inizio, all'introduzione del termine bioisosteria da parte di **Friedman** (1951). Secondo Friedman sono bioisosteri atomi o raggruppamenti di atomi per lo più (ma non esclusivamente) isosteri secondo le definizioni o di Grimm o di Erlenmeyer, la cui reciproca sostituzione in una molecola farmacologicamente attiva produce composti con lo stesso tipo di attività, anche antagonista.

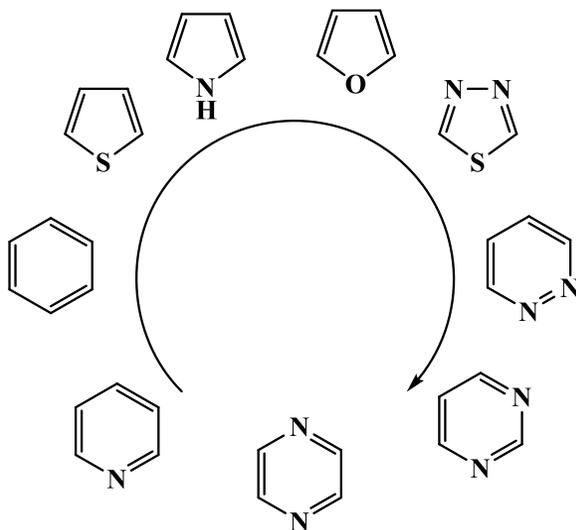
Una definizione più elastica di bioisostere che riflette la constatazione che le similitudini biologiche compaiono più spesso di quanto lascino prevedere le regole di isosteria è quella proposta da **Thornber** nel 1979 e che è stata anticipata all'inizio del paragrafo: bioisosteri sono molecole che derivano dalla sostituzione di un atomo o di un gruppo con atomi o con gruppi con caratteristiche steriche ed elettroniche approssimativamente simili con il risultato di ottenere analoghi in grado di interagire con lo stesso sistema biologico del prototipo, comportandosi da agonisti o da antagonisti.

BIOISOSTERI CLASSICI

1. Atomi e Gruppi Monovalenti -F, -OH, -NH ₂ , -CH ₃ -Cl, -SH, -PH ₂ , -SiH ₃ -Cl, -Br, -I	4. Atomi Tetrasostituiti =N+=, =P+=, =C=
2. Atomi e Gruppi Bivalenti -O-, -S-, -NH-, -CH ₂ -	5. Equivalenti anulari -CH=CH-, -S-, -O-, -NH- -N=, -CH=
3. Atomi e Gruppi Trivalenti -N=, -P=, -CH=	

In diversi casi gli atomi o i gruppi interscambiabili rientrano nelle definizioni di isosteri secondo Grimm o Erlenmeyer. Esistono cioè per essi delle corrispondenze in termini di numero totale di elettroni o di numero di elettroni periferici. Questi sono i cosiddetti bioisosteri classici che possono essere suddivisi in 5 categorie.

Il significato della quinta categoria è illustrato dalla seguente serie di sistemi anulari:



Essi possono essere scambiati reciprocamente in una molecola con mantenimento probabile del tipo di attività.

BIOISOSTERI NON CLASSICI

1. Gruppi Interscambiabili -Cl, -CF ₃ -CO-, -SO ₂ - -CO ₂ H, -SO ₃ H, -PO(OR)OH	-CO₂H, -SO₂NHR -NO₂, -SO₂CH₃, -COCH₃ 2. Modelli Aperti - Modelli Chiusi
---	--

I bioisosteri non classici invece sono serie di gruppi che non rientrano nelle definizioni di isosteri di Grimm o di Erlenmeyer. Le somiglianze tra essi sono più vaghe e spesso il loro accostamento deriva dalla constatazione che in vari tipi di molecole il loro interscambio ha prodotto serie di composti con lo stesso tipo di attività.

Relazioni Quantitative Struttura-Attività' (QSAR)

L'attività di un composto è influenzata in maniera determinante dalle sue proprietà chimico-fisiche. Lo scopo delle QSAR è di individuare delle relazioni con valore predittivo tra le proprietà biologiche del composto ed una serie di parametri che esprimono quantitativamente certe sue proprietà chimico-fisiche (ad es. parametri elettronici, di ripartizione, sterici).

Nei metodi 2D QSAR l'attività è espressa in funzione di parametri chimico-fisici all'interno di un set di composti strutturalmente omogenei, di composti cioè con una struttura base comune e che differiscono tra loro per la natura, la posizione ed il numero dei sostituenti presenti. Le variazioni di attività sono conseguenza delle variazioni dei parametri considerati, variazioni a loro volta legate alle caratteristiche dei sostituenti.

Metodo di Hansch

L'approccio matematico più popolare è il metodo di Hansch.

Esso considera gli aspetti chimico-fisici sia del trasporto e della distribuzione del farmaco che dell'interazione di esso con il recettore. Nella sua formulazione originale ipotizza che in un dato gruppo di principi attivi con strutture analoghe contenenti anelli aromatici ed agenti mediante lo stesso meccanismo giochino un ruolo principale tre parametri chimico-fisici che quantificano le proprietà elettroniche, di lipofilia e steriche dei sostituenti presenti sugli anelli aromatici:

- la costante di sostituente di Hammett σ ;
- la costante di sostituente di lipofilia π ;
- il parametro sterico di Taft E_s .

Effetti Elettronici

Sono espressi dalla costante di sostituente di Hammett σ . La costante σ è stata introdotta in chimica organica negli anni '40 da Hammett per quantificare l'influenza sulla reattività chimica di un composto aromatico da parte dei sostituenti presenti sull'anello stesso. Il valore di σ dipende dalle proprietà elettroniche e dalla posizione del singolo sostituente (così, σ_{meta} e σ_{para} per lo stesso sostituente non sono generalmente uguali) e rappresenta una misura della capacità del sostituente X di cedere o attrarre elettroni. Più elettroneattrattore è un sostituente, maggiormente positivo è il valore di σ (rispetto ad H che è posto pari a 0). La costante σ è additiva, cioè sostituenti multipli esercitano un'influenza complessiva pari alla somma dei singoli sostituenti

Effetti di Lipofilia

Si è già detto dell'importanza del coefficiente di ripartizione P ai fini della attività. Hansch, studiando il coefficiente di ripartizione tra *n*-ottanolo ed acqua di una serie di derivati, ha evidenziato, in analogia con quanto fatto da Hammett per il parametro σ , un parametro π (costante di sostituente di lipofilia) definito come:

$$\pi = \lg P_X - \lg P_H = \lg (P_X/P_H)$$

dove P_X è il coefficiente di ripartizione del composto con il sostituente X e P_H è quello del composto non sostituito. Come nel caso della costante di sostituente di Hammett, anche π può essere positiva o negativa ed è additiva, cioè sostituenti multipli esercitano un'influenza complessiva pari alla somma dei singoli sostituenti.

Effetti Sterici

Un altro importante parametro chimico-fisico è il parametro sterico di Taft. Taft ha definito il parametro sterico E_s allo stesso modo in cui Hammett ha quantizzato gli effetti elettronici dei sostituenti e Hansch quelli di lipofilia:

$$E_s = \lg (k_X/k_H)$$

in cui k_X e k_H sono le costanti di velocità di idrolisi acida degli esteri metilici di acidi acetici monosostituiti XCH_2CO_2Me e dell'acetato di metile CH_3CO_2Me , rispettivamente. Taft usò questa reazione di riferimento dal momento che la sua velocità è controllata da soli fattori sterici. I valori di E_s sono tutti negativi.

I parametri elettronici, di lipofilia e sterici descritti sono stati inseriti da Hansch nella seguente equazione:

$$\lg(1/C) = -a\pi^2 + b\pi + c\sigma + dEs + e$$

dove C è la concentrazione molare di farmaco che provoca un ben definito effetto biologico mentre a, b, c, d ed e sono dei coefficienti che possono essere ricavati mediante metodi matematici (analisi di regressione lineare multipla), misurando le concentrazioni C per una serie di sostanze strutturalmente correlate. Una volta che tali coefficienti siano stati ottenuti, l'equazione può essere utilizzata per predire i valori di C e quindi l'attività di composti non saggiati o non ancora sintetizzati. Il reciproco della concentrazione C riflette il fatto che una maggiore potenza è associata ad una dose più bassa.

L'equazione di Hansch è stata applicata con successo in centinaia di casi sia nella sua forma completa che in versioni ridotte. Sono stati successivamente impiegati parametri diversi da π , σ ed Es per descrivere le proprietà globali della molecola ed il contributo dei singoli sostituenti. La forma più generale dell'equazione impiegata nell'analisi di Hansch è quindi:

$$\lg (1/C) = a (\text{parametro idrofobico}) + b (\text{parametro elettronico}) + c (\text{parametro sterico}) + d (\text{altro parametro}) + e$$

Metodo di Free-Wilson

Non molto dopo che Hansch propose il suo approccio, Free e Wilson riportarono un metodo matematico per l'ottimizzazione dei sostituenti di una struttura fondamentale basato sulla assunzione che la risposta biologica è la somma dei contributi indipendenti dei sostituenti e della struttura fondamentale. In tal modo, se si assegna ai possibili sostituenti un certo valore di contributo all'attività biologica, si possono predire i composti con la massima attività. Naturalmente ciò funziona solo se i contributi dei sostituenti sono additivi. Nel metodo di Free-Wilson si prescinde dalle proprietà chimico-fisiche dei vari sostituenti e si attribuisce a ciascuno di essi un certo contributo di attività che è indipendente dall'effetto dei sostituenti nelle altre posizioni.

Si potrà così scrivere che l'attività [espressa come $\lg(1/C)$] del composto i -esimo di una serie è:

$$\lg(1/C) = \sum a_i X_i + \mu_0$$

dove a_i è il contributo del sostituito i -esimo, X_i è il sostituito i -esimo con un valore di 1 se presente e di 0 se assente e μ_0 è l'attività della struttura base. Anche in questo caso, l'analisi di regressione è impiegata per determinare a_i e μ_0 .

Questo metodo ha trovato applicazione soprattutto nelle fasi iniziali della ricerca di relazioni quantitative struttura-attività quando siano disponibili già diversi analoghi dei quali non si conoscono i dati chimico-fisici dei sostituenti.

Metodo di Topliss

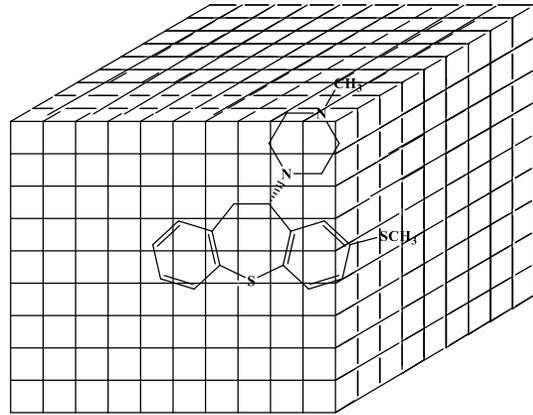
Topliss ha sviluppato nel 1972 una guida all'uso dei principi di Hansch non matematica, non statistica e non computerizzata. Si tratta di un metodo empirico nel quale ciascun composto è testato prima di pianificare un analogo successivo e confrontato in termini di proprietà chimico-fisiche con analoghi già provati. Questo metodo è soprattutto utile quando la sintesi di un gran numero di composti è difficoltosa. Costituisce un approccio manuale per l'efficiente ottimizzazione di un composto guida, minimizzando il numero dei composti da sintetizzare. L'approccio è basato soprattutto sui valori di σ e π .

3D QSAR

Le QSAR tridimensionali si applicano in genere ad una serie di composti con maggiore varietà strutturale rispetto alle QSAR bidimensionali. Ciò deriva dal fatto che le molecole sono descritte da proprietà calcolate direttamente dalle loro strutture tridimensionali mentre nelle 2D QSAR le proprietà vengono stimate da costanti di sostituenti misurate su molecole strutturalmente correlate tra loro. Quindi una 3D QSAR può essere più generale di una 2D QSAR.

Il metodo più usato nelle 3D QSAR è l'analisi comparativa del campo molecolare (CoMFA) che si basa sull'assunzione che le variazioni di attività siano correlate alle variazioni dei campi sterici ed elettrostatici delle molecole in esame.

L'analisi CoMFA inizia con la scelta di un gruppo di molecole (training set), anche molto diverse tra loro, per le quali si hanno a disposizione i dati biologici. Le molecole vengono quindi allineate sulla base di studi di modellistica molecolare* rivolti all'individuazione della conformazione farmacofora e del farmacoforo per ciascuna molecola.



Una volta che le molecole siano state allineate sulla base di caratteristiche molecolari comuni in modo da occupare lo stesso volume di spazio, esse vengono circondate da una griglia tridimensionale che si estende per circa 4 Å attorno a tutte le molecole e che costituisce il potenziale spazio recettoriale. La spaziatura dei nodi della griglia è di solito di 1-2 Å. In ogni punto della griglia vengono quindi calcolati i valori delle intensità dei campi di interazione intermolecolare che circondano ogni molecola. Tali campi sono valutati mediante piccoli gruppi o atomi sonda con proprietà steriche ed elettrostatiche specifiche alle intersezioni di una griglia 3D che racchiude le molecole. Vengono calcolati campi sterici ed elettrostatici mentre nel CoMFA standard non sono presi in considerazione quelli idrofobici. Come in tutti gli studi QSAR, anche nel CoMFA si costruisce una tavola di dati in cui l'attività biologica di ciascun composto è contenuta nella prima colonna, mentre in tutte le altre sono contenuti i parametri strutturali e cioè le intensità delle interazioni steriche ed elettrostatiche del composto con le sonde.

Si tratta poi di trovare una equazione che correli l'attività biologica di ciascuna molecola con i campi esercitati da essa su qualsiasi atomo che la circonda. La difficoltà matematica consiste nel dovere risolvere una equazione con migliaia di coefficienti mentre le misure biologiche sono poche decine.