

Ricerca e sviluppo del farmaco e aspetti regolatori



Informazioni e organizzazione del corso

LEZIONI

- Frontali

MATERIALE DIDATTICO

- Slides delle lezioni scaricabili su pagina web del corso
- Testo di riferimento: Carlo Tomino, *Alla ricerca del farmaco perduto*- Medi Service, 2011; La nascita dei farmaci! Scoperta, progettazione e sviluppo, di Antonio Carta, Irene Briguglio.

FREQUENZA ALLE LEZIONI

- Facoltativa

ESAMI

- Orale

RICEVIMENTO

- Appuntamento via email con modalità in remoto (meet)
(antonella.messore@uniroma1.it)



Obiettivi formativi

- Il corso si prefigge di fornire una visione completa dei processi che portano alla creazione di un nuovo farmaco a partire dalla ricerca di base, la ricerca applicata, lo sviluppo, fino all'immissione in commercio.
- Inoltre verranno approfondite le linee guida, le normative e le complesse procedure cui deve sottoporsi il candidato farmaco per soddisfare i requisiti di sicurezza ed efficacia che le Agenzie Regolatorie nazionali ed Europee pongono prima di autorizzare nuovi prodotti.



Programma:

I. Ricerca di base e applicata

1. Cenni di storia del farmaco. Approccio fisiologico, Approccio meccanicistico, Approccio genetico

Organizzazione dell'industria farmaceutica. Ricerca e sviluppo del farmaco: analisi di tempi, costi, modelli di business.

2. Chimica farmaceutica: Definizione del Target - identificazione del composto hit – identificazione e ottimizzazione del lead – identificazione del farmaco candidato. Interazione farmaco-recettore. Legame covalente. Legame non covalente. Ruolo dell'acqua ed interazioni idrofobiche.

Proteine: come bersagli per farmaci: struttura e funzione. Enzimi come bersagli di farmaci. Definizione di sito attivo. Cristallografia a raggi X. Cofattori e Coenzimi. Inibitori incompetitivi e non competitivi. Substrati suicide (acido clavulanico).

Farmacoresistenza Recettori come bersagli di farmaci. Classificazione dei recettori Progettazione di agonisti.

Agonista pieno Indice terapeutico (IT). Agonista parziale. Antagonisti. Progettazione di agonisti e antagonisti. Definizione di : Desensibilizzazione e sensibilizzazione - Tolleranza e dipendenza -Affinità - Efficacia – Potenza. Acidi nucleici come bersagli di farmaci: struttura e funzione.

3. Proteomica. Tecniche analitiche avanzate a supporto della drug discovery. Elettroforesi bidimensionale. I Dimensione: Isoelettrofocusing e II Dimensione: SDS-PAGE. Cromatografia. Spettrometria di massa. Matrix Assisted Laser Desorption Ionization (MALDI)

Programma:

II. Sviluppo: Sperimentazione preclinica

4. Farmacodinamica, farmacocinetica e metabolismo. Diffusione e trasporto dei farmaci. Regole di Lipinski. Barriera emato-encefalica e barriera placentare. Fase I, o di funzionalizzazione e Fase II o di coniugazione (• glicuronazione • solfoconiugazione • coniugazione ippurica • mercapturazione • acetilazione • metilazione). Effetti off-target. Interazione farmacocinetica. Farmacocinetica ed argomenti correlate (età, stato di salute, genere, genetica. Profarmaci. Metabolismo ed eliminazione, Escrezione renale: Clearance, Emivita. Previsione delle proprietà PK: SwissADME

5. Farmacologia, Tossicologia, Norme di buona pratica di laboratorio (GLPs)

6. Identificazione del saggio biologico: • Saggio in vitro, saggio in vivo. Screening ad alta produttività o high-throughput screening (HTS).

Identificazione del prototipo:

- Screening di sostanze di origine naturale
- Screening di «librerie» di prodotti di sintesi
- Farmaci «me too» e «me better»

L'amplificazione di un effetto collaterale SOSA: Selective Optimization Of Side Activity

Progettazione di farmaci a partire da ligandi o modulatori naturali.

7. Chimica computazionale: Progettazione di prototipi assistita dal computer: Ligand- e structure-based drug design (con virtual screening) Fragment-based drug design.

Programma:

8. Hit to lead process: Chimica combinatoria: caratteristiche e applicazioni. Ruolo della sintesi combinatoria nei processi di scoperta e ottimizzazione di nuovi principi attivi. Tecniche e strumentazioni sintetiche innovative. Spazio chimico e spazio molecolare. Combichem, Sintesi in parallelo, Reazioni in fase solida, Reazioni assistite da microonde e Flow chemistry

9. Criteri di sviluppabilità di un farmaco. Lead optimization. Farmacoforo. Esplorazione primaria delle relazioni struttura-attività (SAR) Semplificazione molecolare e complicazione molecolare. Trasformazione di cicli (approcci analogici, strategie per disgiunzione e congiunzione). Variazioni molecolari in serie omologhe. Variazioni molecolari basate su sostituzioni isosteriche e bioisosteriche. Ottimizzazione delle interazioni con il bersaglio: Scoperta della cimetidina: progettazione razionale

10. Modelli animali: Normativa Riguardante Gli Animali Utilizzati A Fini Sperimentali. Sicurezza Farmacologica. Tossicologia. Studi Di Tossicità Acuta, Subacuta E Cronica. Tossicologia Riproduttiva E Dello Sviluppo. Teratologia. TEST DI MUTAGENESI – test di Ames e test del micronucleo

11. Sistemi di Qualità nello sviluppo di un farmaco: Sistema di Qualità GxP

- Norme di buone pratiche di laboratorio (GLPs)
- Norme di buone Pratiche di Fabbricazione (GMPs)
- Norme di buone Pratiche Cliniche (GCPs)

Cenni storici: nascita FDA/GMP/GLP

Riferimenti alla normative

Relazione finale (Report)

Programma:

III Sperimentazione clinica

Fasi I, II, III, IV – tipologie di disegno degli studi clinici sperimentali. Il protocollo clinico. Norme di buona pratica clinica (GCPs)

Documentazione: Clinical trial application (CTA), Investigator Brochure, Investigational Medicinal Product Dossier (IMPD). La farmacovigilanza.

IV Brevetti

‘ciclo di vita del farmaco’. Farmaci orfani. Fast-tracking

Lezione 1

- Introduzione al corso
- Organizzazione dell'industria farmaceutica e area R&S
- Breve storia del farmaco: dalla civiltà egizia al XX secolo
- Ricerca per i nuovi farmaci: di base, applicata, di sviluppo,
- Approcci alla ricerca: fisiologico, meccanicistico, genetico
- Aspetti economici e sociali della ricerca di nuovi farmaci

L'azienda farmaceutica

Information Technology

Supporto informatico
Gestione dati (databases)
Hardware e software (rete,
server, macchinari,...)

Manufacturing

Produzione
Controllo Qualità
Quality assurance

Marketing & Sales

- Strategie di marketing
- Rete Vendite (ISF)
- Business development

Risorse Umane

- Assunzioni
- Percorsi di carriera
- Gestione del personale
- Buste paga

Amministrazione e Controllo

- Analisi Finanziarie
- Bilancio

Ricerca e Sviluppo

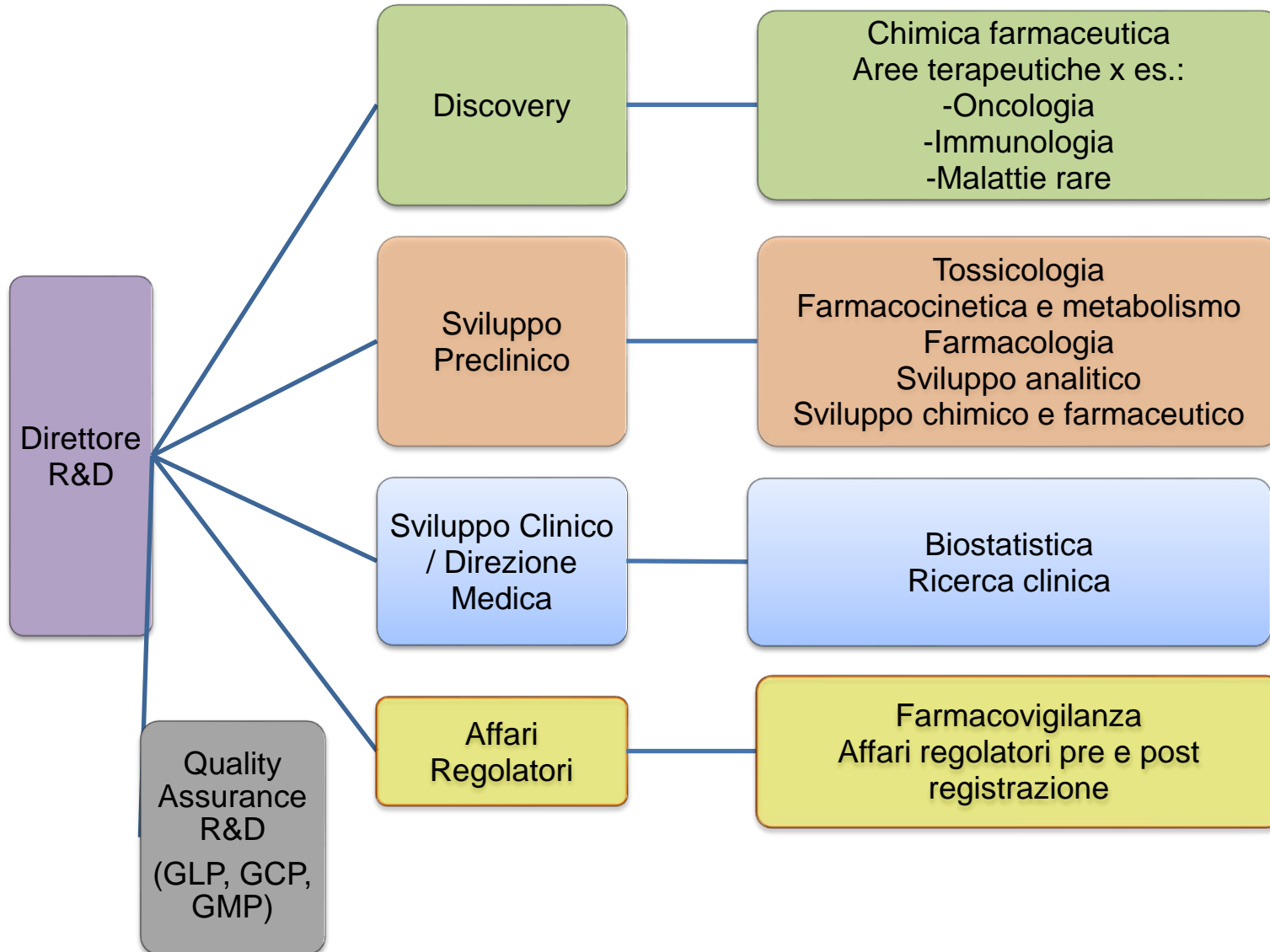
Affari Regolatori

- Nuove AIC
- Farmacovigilanza
- Rapporti con autorità regolatorie

Medical

- Congressi
- Studi clinici post-registrativi

Struttura dell'area Ricerca e Sviluppo



Breve storia del farmaco

Le prime forme di farmacologia si possono probabilmente già rintracciare in quei tentativi condotti dagli uomini primitivi volti a riconoscere le proprietà benefiche contenute in erbe, acque sorgive e sostanze alimentari.

A questi tentativi, che si andarono, via via, sempre più perfezionando, ben presto si affiancarono una serie di teorie accomunate dall'idea che l'azione terapeutica potesse essere potenziata con il ricorso a pratiche magico-religiose “scacciando” dal corpo del malato lo “spirito cattivo” responsabile della patologia.

Malattia come conseguenza di misteriose forze malefiche scatenate dagli Dei irati contro gli uomini

Breve storia del farmaco: LA MEDICINA GRECA IPPOCRATICA (V - III secolo a.C.)



Teoria degli umori:

- sangue,
- flemma,
- bile bianca
- bile nera

Come noto ai più, la medicina come la conosciamo noi oggi - o comunque le sue basi - prese il via a partire dal V secolo a.C. grazie all'attività di **Ippocrate di Kos** (460 a.C. - 377 a.C. circa), antico medico greco considerato, per l'appunto, **padre e fondatore della medicina**. Non a caso le sue teorie influenzarono i medici dell'Occidente per oltre 2000 anni.

Breve storia del farmaco

Compito della medicina era quello di lenire le sofferenze causate da tali malattie

Nel corso dei secoli la scienza medica e quindi la farmacologia e la preparazione del medicamento hanno avuto un'evoluzione che è andata di pari passo con la conoscenza del corpo umano, con il consolidarsi del metodo scientifico e con il progresso tecnologico.



Dall'incontro di queste discipline e dalla fusione di queste ultime con varie civiltà e culture, si evolverà dapprima l'arte dei farmaci galenici e successivamente quelli afferenti all'industria farmaceutica moderna

La civiltà romana

GALENO (Pergamo 129-200 d. c.) medico di corte di Marco Aurelio



Conosceva quasi 500 sostanze semplici di origine vegetale e una vasta gamma di origine animale e minerale. Introdusse farmaci di grande importanza come la corteccia del salice e del laudano (tintura di oppio) come anestetico. Il Galenos era una soluzione di alcol ed oppio che aveva effetti analgesici per quasi tutti i mali dell'epoca. Purtroppo però questo preparato aveva effetti collaterali perché rese dipendente dall'oppio l'imperatore Marco Aurelio

Tabernae medicinae prime farmacie dell' antica Roma (Il secolo d.c.) nelle quali la figura del Pharmacotriba non esercitava più la medicina ma vendeva rimedi medicamentosi e realizzava medicamenti composti prescritti da medici.

Il **silfio** (pianta estinta originaria della Cirenaica): utilizzata per molte applicazioni mediche (tosse, gola irritata, febbre, indigestione, dolori, etc., ma soprattutto come contraccettivo fu il primo farmaco 'pubblicizzato' perché stampato sulle monete d'argento



Rinascimento

Il Rinascimento è l'epoca in cui il rinnovamento culturale e le nuove invenzioni tecniche danno l'avvio ad un progresso che modificherà la vita sociale e che spingerà la ricerca scientifica verso nuove strade

XV secolo: INTRODUZIONE DELLA STAMPA, Medici e specialisti avevano istruzione superiore

Sifilide: una delle malattie più frequenti e difficili da trattare, usati medicinali a base di mercurio metallico, cloruro mercurioso sospeso nell'olio, senza considerare effetti collaterali (nefropatia, dissenteria, morti frequenti).

All'epoca i medici prescrivevano il medicamento senza alcun limite...

Nasce l' Alchimia



chimica primordiale che ha come interesse quello di interpretare il mondo fisico, esce dalla clandestinità e assume un ruolo preciso nel campo della medicina

IATROCHIMICA: arte di trattare le malattie con prodotti elaborati chimicamente

Teofrasto Paracelso: afferma che il compito della chimica è la preparazione delle medicine e non dell'oro

«Tutto è veleno, e nulla esiste senza veleno. Solo la dose fa in modo che il veleno non faccia effetto»



Scoperta dell'America: Introduzione droghe dal Nuovo Mondo: Coca

Foglie di coca masticate da inca per vincere fame, sete e fatica, I conquistadores notarono che ponendo le foglie su ferite erano in grado di lenire il dolore



La coca giunse in europa nel XVIII secolo, nel 1855 venne scoperto il principio attivo presente nelle foglie (la chimica faceva passi da gigante) e fu chiamato cocaina. La scienza medica se ne impossessò usandolo come anestetico locale.

Un medico italiano, Paolo Mantegazza, scrisse un trattato sull'azione fisiologica della coca ed ebbe il merito di introdurre la droga sul mercato europeo.

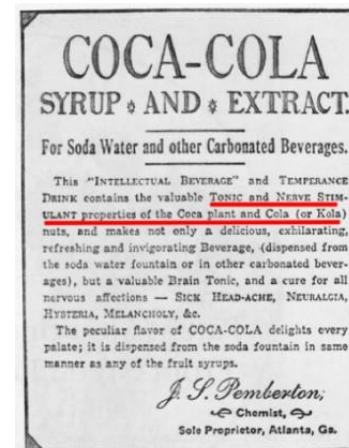
Un farmacista francese Angelo Mariani contribuì ulteriormente alla commercializzazione inventando una pozione **vin Tonique Mariani** contenenti forti dose di cocaina.



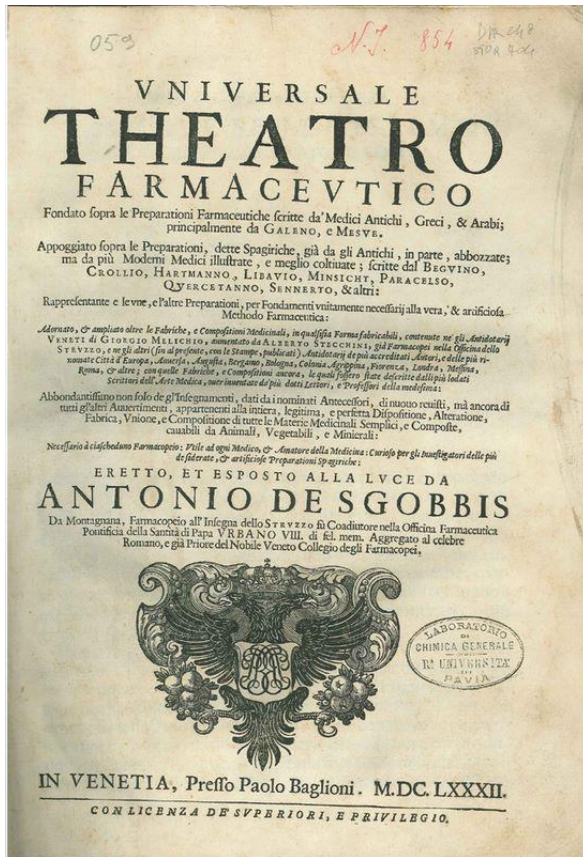
Nel 1886 un farmacista di Atlanta, John Stith Pemberton, produsse per la prima volta la coca cola, all'inizio bevanda alcolica a base di foglie di coca e noci di cola, poi col proibizionismo fu sostituito l'alcol con acqua gassata, negli anni 20 fu eliminata la coca dalla composizione.



Eritroxylon coca



La rivoluzione scientifica



- XVII secolo segna l'entrata nell'età moderna, si afferma concetto di esperienza, l'uso della matematica e il sistema eliocentrico
- Importanti scoperte in medicina e biologia: circolazione del sangue, esistenza di batteri e protozoi, metodo scientifico e osservazione diretta (es. esame urine etc..) per diagnosticare la malattia e prescrivere il medicamento
- Ritorna l'attenzione per I testi medici e si presentò la necessità di tradurli per facilitare la comprensione a tutti
- 'Nuovo et universale theatro pharmaceutico:** scritto dal farmacista veneziano Antonio De Sgobbis, enciclopedia farmaceutica che precorre le successive farmacopee universali.

L'opera è divisa in due libri: nel primo è descritto il metodo farmaceutico con l'arte di unire, alterare e comporre elementi naturali per uso medicinale oltre alle operazioni farmaceutiche fondamentali (triturazione, estrazione, distillazione..). Il secondo libro elenca le forme farmaceutiche distinguendole in classi (solide, molli, liquide)

Settecento e Ottocento

'700: la scienza medica è rivolta alla comprensione dei meccanismi di reazione tra le sostanze cercando di capire le affinità con cui i reagenti si combinano per dare composti.

1787: Lavoisier introduce la nomenclatura chimica degli elementi su cui si basa quella moderna

'800: Nasce la chimica farmaceutica propriamente detta, il punto di partenza sono le molecole e non più miscugli di sostanze animali o vegetali. Si approfondisce l'isolamento e la purificazione di principi attivi naturali, si stabiliscono legami con fisiologia, microbiologia, farmacologia.



1803: Farmacista francese identifica e inizia a estrarre dall'oppio una sostanza cristallina insolubile in acqua: la morfina

1818-1821: vengono isolate, l'emetina dall'ipecacuana, la stricnina dalla noce vomica, l'atropina dalla belladonna, la caffeina.

1832: Robiquet isola la codeina dall'oppio

Nascono i primi farmaci sintetici:

antifebbrina - acetilide (1843), *antipirina* (fenazone) e la *fenacetina*

1898: Hoffmann riprende gli studi di 40 anni prima sull'acido acetilsalicilico e nasce *l'aspirina*



Settecento e Ottocento

Si sviluppa il settore dei vaccini e sieri.

1796 Jenner apre la strada al concetto di immunizzazione attiva inoculando il virus del vaiolo bovino iniziando la sconfitta di una malattia che aveva effetti devastanti

1885 Pasteur utilizza un virus attenuato della rabbia

1894 in commercio il primo siero antidifterico

1897 vaccino contro febbre tifoide

In tutta Europa continua il processo evolutivo che porta la chimica farmaceutica a svilupparsi a livello industriale principalmente come continuazione di settori già avviati come la chimica dei coloranti. In Italia invece la produzione del farmaco si sposta dall'officina dello speziale al laboratorio industriale dove è sempre il farmacista la figura chiave invece dell'imprenditore tessile.



1861 - Unità d'Italia: primi regolamenti in materia sanitaria, prime **farmacopee** nazionali.

Prime **aziende farmaceutiche** nate dall'ingegno di farmacista:



XX secolo

Acquisite importanti conoscenze teoriche e metodologiche in Chimica Organica:

-studi sul meccanismo di azione delle molecole

-ricerche per modulare attività per sostituzione/eliminazione/introduzione di nuove parti di molecola

1922: università di Toronto si somministra l'isletina, un estratto pancreatico, ad un ragazzo diabetico in fin di vita, con risultati sorprendenti, questo gettò le basi per la scoperta dell'insulina (1955)

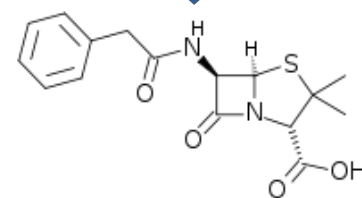
Anni 30: isolamento delle vitamine e scoperti i rapporti con gli enzimi e le reazioni metaboliche correlate

ANTIBIOTICI : *'creature che distruggono la vita degli altri per preservare la propria'*

1928: Fleming nota l'effetto del *penicillium notatum* che inquinava colture di stafilococco esposte all'aria

1940: Florey e Chain isolano la sostanza attiva , penicillina e ne viene determinata la struttura

Composti solforati: Prontosil, evidenziata la porzione attiva della molecola, il radicale sulfonamidico



Penicillina G

XX secolo

Innovazione farmacologiche, cambiamento dell'alimentazione e attenzione all'igiene fanno sì che ci sia una progressiva riduzione della mortalità.



MA: Uso eccessivo di farmaci e pericolosi effetti collaterali...

Da anni '60 maggiore attenzione a tossicità acuta e cronica ed effetti collaterali → basi per sistema **farmacovigilanza**

Nascono teorie recettoriali, il lavoro del chimico di sintesi e del farmacologo diventa di progettazione del farmaco su basi di biologia molecolare

Anni '60: in seguito a studi sugli ormoni steroidei viene introdotto dapprima in USA poi in europa, un farmaco costituito dall'associazione di un progestinico e un estrogeno: la **prima pillola anticoncezionale**



Anni '70 si scoprì che l'effetto antinfiammatorio e analgesico dell'acido acetilsalicilico e dei FANS è legato all'inibizione della cicloossigenasi (COX), fondamentale per la produzione delle prostaglandine e responsabile degli effetti sul sistema gastroenterico.

Anni '80: scoperte le statine per la cura dell' ipercolesterolemia

Ricerca per i nuovi farmaci

Ricerca per i nuovi farmaci

Definizioni:

CHIMICA FARMACEUTICA: la scienza che si occupa della scoperta e della progettazione di nuovi agenti terapeutici

Medicine: sostanze impiegate per il trattamento delle malattie.

Farmaci: molecole usate come medicine o come componenti di medicine per diagnosticare, curare, lenire, trattare o prevenire la malattia.

Ricerca per i nuovi farmaci

Da un punto di vista storico la ricerca in campo farmaceutico, inizia nel XIX secolo:

Il progresso nella terapia farmacologica è iniziato infatti quando le conoscenze scientifiche di base hanno permesso queste scoperte, generate dai precedenti progressi nel campo della **chimica** che ha fornito x es. le tecnologie utilizzate per estrarre e identificare i principi attivi dalle piante medicinali, la conoscenza delle quali ha orientato il lavoro dei ricercatori, che hanno rivolto la loro attenzione a quelle di esse note per la loro specificità di effetti, potenza ed efficacia.

Successivamente si è creata l'interazione di queste discipline con quelle legate alla ricerca clinica: anatomia, fisiologia ed istologia, che consentono di identificare i nuovi bersagli terapeutici, attraverso lo studio dell'organismo che manifesta la malattia.

L'applicazione terapeutica è solo il punto finale di un insieme di saperi sottostanti generati da quella che viene definita **ricerca di base**.

L'industria farmaceutica rappresenta l'effettore di un processo di conoscenza delle malattie, della messa a punto di tecnologie che avvengono nelle realtà legate alla ricerca di base e della continua cura e osservazione dei pazienti nelle strutture sanitarie.

➤ Convenzionalmente si può dividere la ricerca in: **di base, applicata, di sviluppo**.

RICERCA DI BASE

Volta alla scoperta delle leggi naturali, di nuove evidenze che portino ad approfondire la conoscenza dei fenomeni o anche alla messa a punto di nuove tecniche di indagine

RICERCA APPLICATA

partendo dalle conoscenze della scienza di base, mira ad ottenere dall'insieme di esse una tecnologia, un prodotto, che possa essere reso oggetto di commercio.

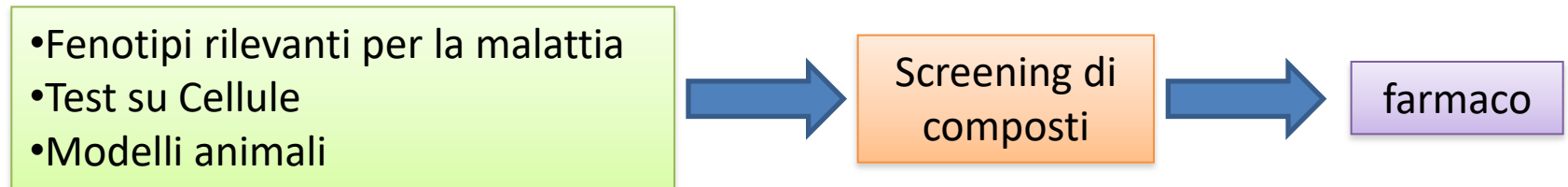
SVILUPPO

si basa sui risultati delle due precedenti, ed è volta alla messa a punto finale della tecnologia o del prodotto nella forma idonea, e con i contenuti necessari alla sua immissione nel mercato

Ricerca per i nuovi farmaci

Approccio fisiologico

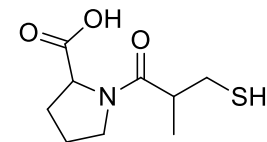
L'approccio fisiologico identifica nuovi farmaci attraverso lo studio dell'organismo *in toto*, dato che vi sono malattie che si manifestano solo a livello di organismo



Qualche esempio:

H-Pyr-Trp-Pro-Arg-Pro-Gln-Ile-Pro-Pro-OH

teprotide

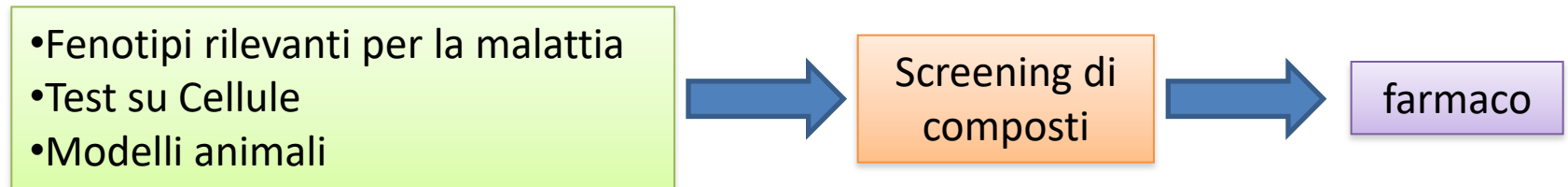


captopril

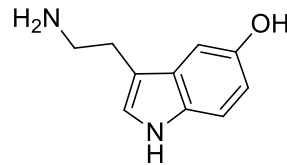
Ricerca per i nuovi farmaci

Approccio fisiologico

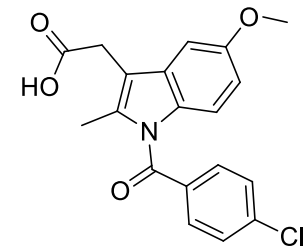
L'approccio fisiologico identifica nuovi farmaci attraverso lo studio dell'organismo *in toto*, dato che vi sono malattie che si manifestano solo a livello di organismo



Qualche esempio:



serotonina



Indometacina

Ricerca per i nuovi farmaci

Approccio fisiologico - *Serendipity*

Il termine *Serendipity* indica la sensazione che si prova quando si scopre una cosa non cercata e impreveduta mentre se ne sta cercando un'altra.

« Serendipity is looking in a haystack for a needle and discovering a farmer's daughter. » (Julius Comroe Jr., 1976)

Scoperte casuali ma...

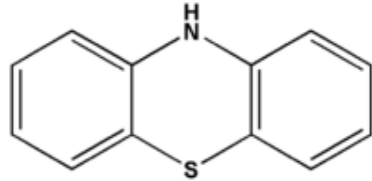
il caso da solo non basta, altrettanto fondamentale è la capacità di vedere qualcosa d'interessante laddove è inaspettato.

«La fortuna favorisce le menti preparate» Louis Pasteur

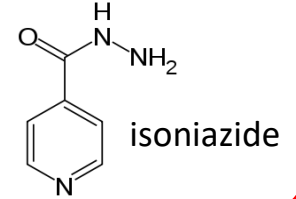
Ricerca per i nuovi farmaci

Approccio fisiologico - Serendipity

i composti fenotiazinici (antipsicotici) sviluppati come coloranti, poi se ne scoprirono gli effetti antistaminici e sedativi e infine gli effetti neurolettici.



MAO inibitori identificati osservando gli effetti di farmaci utilizzati nella terapia della tubercolosi.



gli inibitori selettivi della ricaptazione della serotonina SSRI durante uno screening volto all'identificazione di farmaci antistaminici

Viagra (sildenafil,) testato dalla Pfizer per il trattamento di patologie cardiovascolari

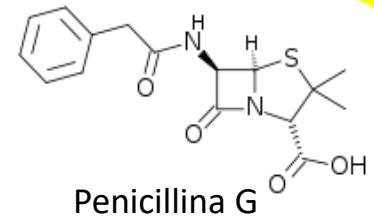


Dopo ulteriori analisi, si è deciso di cambiarne l'utilizzo, raggiungendo il successo planetario

Minoxidil, registrato come **antiipertensivo**. Aveva come effetto collaterale, una rapida crescita di peli e capelli



1928 Alexander Fleming studiò una coltura di staphilococcus aureus scoprendo la Penicillina



Ricerca per i nuovi farmaci

Approccio meccanicistico

L'approccio meccanicistico nella scoperta di nuovi farmaci, pone al centro della sua indagine i meccanismi intracellulari, e quindi i loro effettori, comparando tali sistemi effettori di cellule di organismi in cui si manifesta la malattia, con quelli di uguali organismi sani.

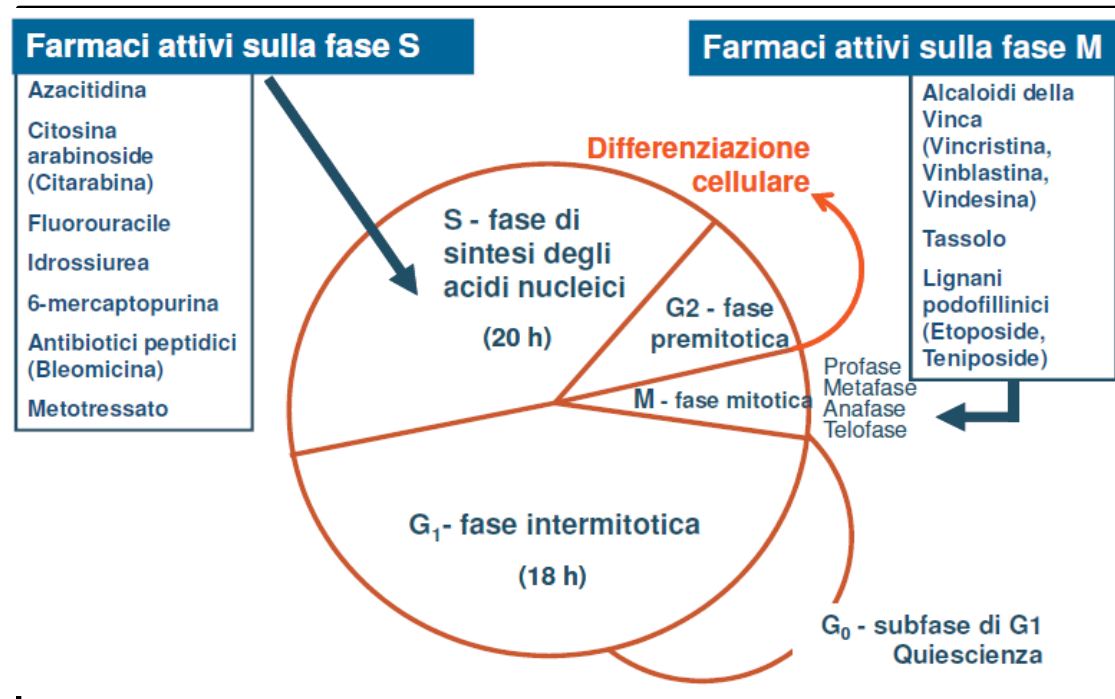
Es. Oncologia

Determinazione dei bersagli terapeutici intracellulari.

Enzimi/proteine coinvolti nelle fasi cellulari:

Topoisomerasi I e II, HDAC, HAT, HSP90

Tubulina α/β



Ricerca per i nuovi farmaci

Approccio genetico

l'approccio genetico: compara la differente espressione genica in cellule e tessuti interessati o meno dalla malattia

Tale approccio sembra essere attualmente utile per correlare determinate malattie al polimorfismo di un singolo nucleotide, e quindi adatto ad identificare i *markers* di una malattia piuttosto che, in questa fase, possibili terapie.

