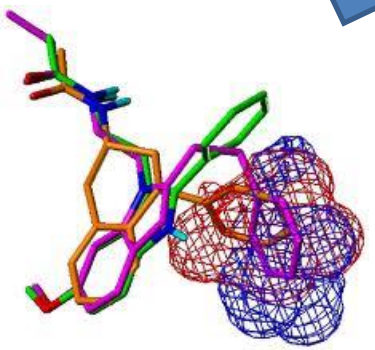
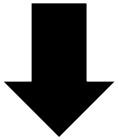
Ricerca e sviluppo del farmaco e aspetti regolatori



Ricerca per i nuovi farmaci

Origine dei nuovi farmaci

- ✓ Scegliere la malattia da trattare!
- ✓ Scegliere il bersaglio molecolare (target)
- ✓ Identificare il saggio biologico opportuno
- ✓ Identificazione del prototipo
- ✓ Isolare e purificare il prototipo
- ✓ Determinare la struttura del prototipo



Lead compound

Origine dei nuovi farmaci

- ✓ Scelta del bersaglio (target).

Identificazione del bersaglio: ad esempio recettore, enzima o acido nucleico.

Agonisti ed antagonisti
Inibitori

Origine dei nuovi farmaci

- ✓ **Interazioni farmaco-recettore.**

Definiamo «recettore» ovvero qualunque molecola biologica con cui il farmaco interagisce. Tale interazione è responsabile dell'effetto finale (farmacologico) del farmaco.

Farmacodinamica

Origine dei nuovi farmaci

✓ Farmacodinamica

Farmaco + Recettore $\underset{K_{off}}{\overset{K_{on}}{\rightleftharpoons}}$ complesso farmaco-recettore

Le macromolecole biologiche bersaglio dei farmaci sono principalmente proteine, di cinque tipi:

- Recettori classici di sostanze endogene
- Canali ionici
- Enzimi
- Trasportatori
- Proteine strutturali

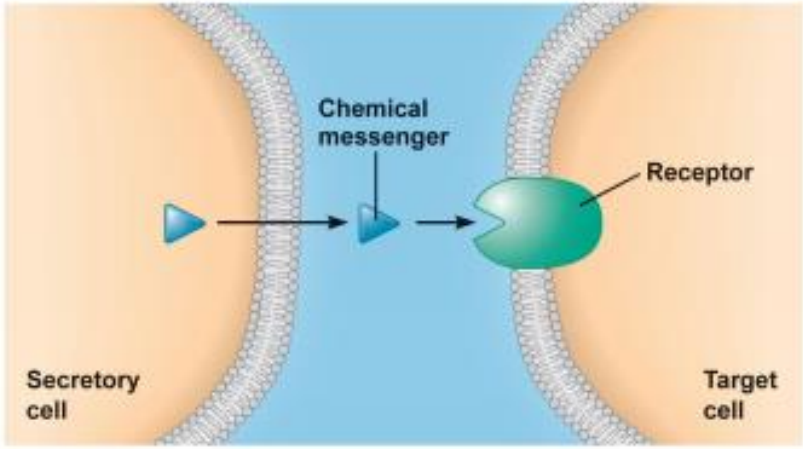
Origine dei nuovi farmaci

✓ **Recettori come bersagli di farmaci**.

I recettori sono elementi sensoriali di natura proteica di diversa localizzazione cellulare facenti parte del sistema di comunicazione che coordina le funzioni di tutte le differenti cellule dell'organismo.

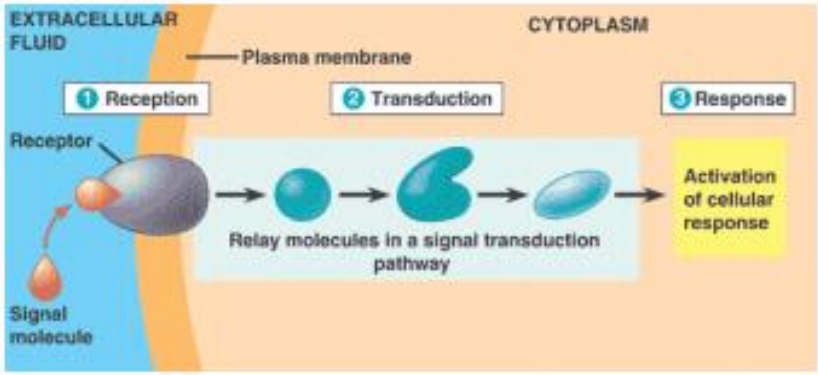
I messaggeri chimici che assicurano le comunicazioni tra le cellule sono ormoni, neurotrasmettitori, fattori di crescita, citochine.

Alcuni di essi attraversano la membrana cellulare e portano il messaggio direttamente all'interno della cellula; altri invece interagiscono con recettori superficiali ed il messaggio che essi contengono viene trasferito all' interno della cellula mediante vari meccanismi.



(b) Communication via chemical messengers

© 2011 Pearson Education, Inc.

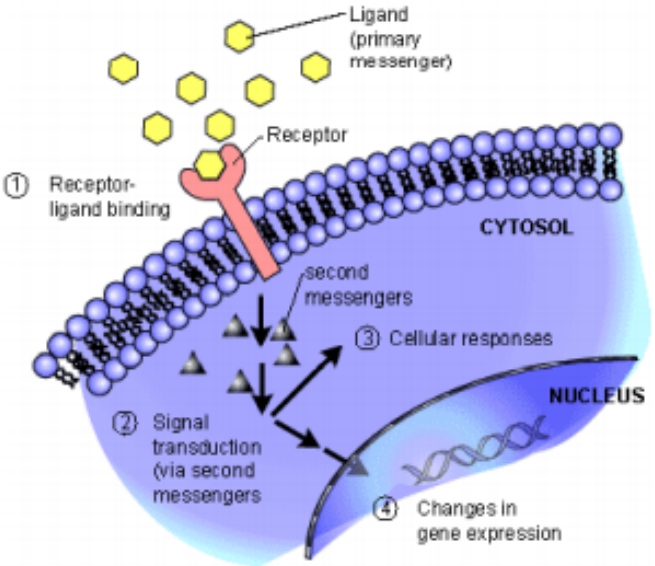


Origine dei nuovi farmaci

✓ **Recettori come bersagli di farmaci**.

I recettori sono in altri termini 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.



Origine dei nuovi farmaci

✓ **Recettori come bersagli di farmaci**.

Nonostante rivestano ruolo biologici differenti, recettori ed enzimi presentano delle analogie

- Sono entrambi di natura proteica;
- Sono deputati all'interazione molecolare (substrato, ligando);
- L'entità e la forza dell'interazione dipende dalla complementarietà e dalle forze intermolecolari;
- La forza dell'interazione è deducibile dalla costante di dissociazione del complesso;
- Il legame induce cambiamenti conformazionali tali da indurre una risposta (catalisi, attivazione della cascata del segnale).

Origine dei nuovi farmaci

- ✓ **Recettori come bersagli di farmaci**.

  Differenze recettori-enzimi

Le differenze sono legate alla loro funzione biologica.

Gli enzimi sono catalizzatori mentre i recettori, in seguito all'interazione con un ligando o messaggero chimico subiscono dei cambiamenti conformazionali tali da innescare una serie di eventi biochimici a cascata che possono coinvolgere trasduttori, effettori (es enzimi) e secondi messaggeri determinando, infine, l'effetto biologico.

La struttura cristallografica dei recettori è molto difficile da ottenere poiché la maggior parte di essi sono localizzati a livello della membrana cellulare, la rimozione della quale modifica la conformazione del recettore

Origine dei nuovi farmaci

✓ **Recettori come bersagli di farmaci**.

Classificazione dei recettori (I)

In base alla localizzazione cellulare:

- Recettori transmembrana;
- Recettori intracellulari o nucleari

Sulla base della struttura e meccanismo di trasduzione,

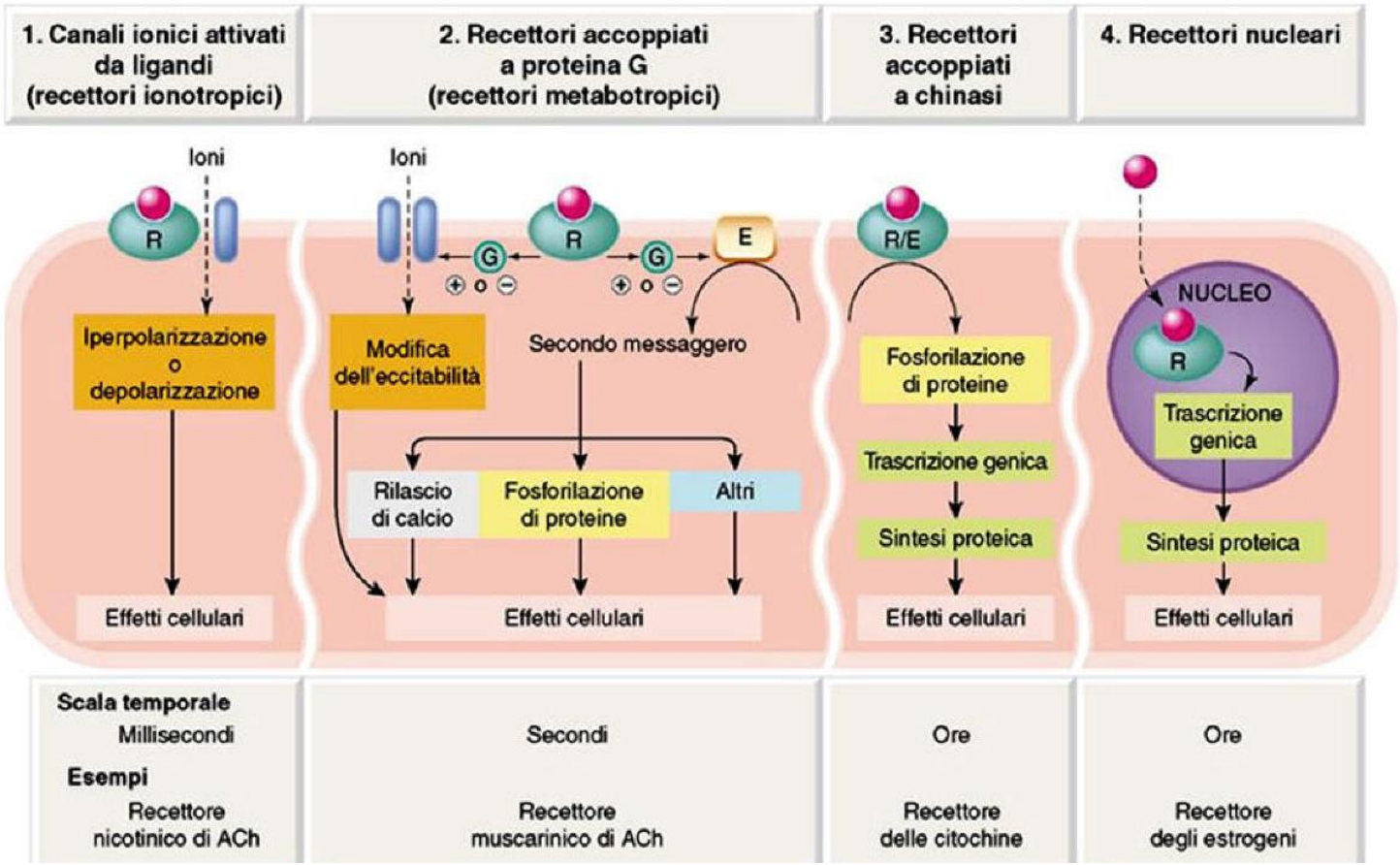
- Recettori accoppiati a proteine G;
- Recettori accoppiatti a protein chinasi;
- Recettori accoppiatti a canali ionici

Ogni superfamiglia è, a sua volta, suddivisa in famiglie recettoriali il cui nome deriva dal ligando endogeno.

Origine dei nuovi farmaci

- ✓ **Recettori come bersagli di farmaci**.

Classificazione dei recettori (I)



Origine dei nuovi farmaci

✓ **Recettori come bersagli di farmaci**.

I farmaci che mimano i messaggeri naturali ed attivano i recettori sono noti come **agonisti**. I farmaci che bloccano i recettori sono invece noti come **antagonisti.**

Progettazione di agonisti.

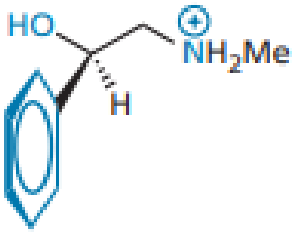
- Il farmaco deve possedere i corretti gruppi di legame
- Il farmaco deve avere questi gruppi correttamente posizionati
- Il farmaco deve essere della dimensione giusta per il sito di legame.

Origine dei nuovi farmaci

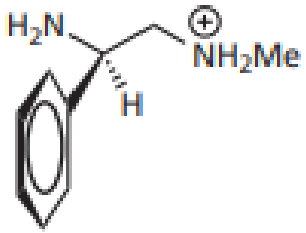
✓ **Recettori come bersagli di farmaci**.

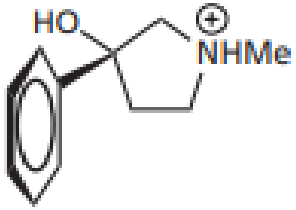
Progettazione di agonisti.

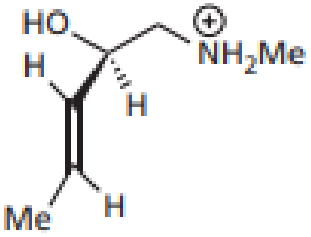
- Gruppi di legame

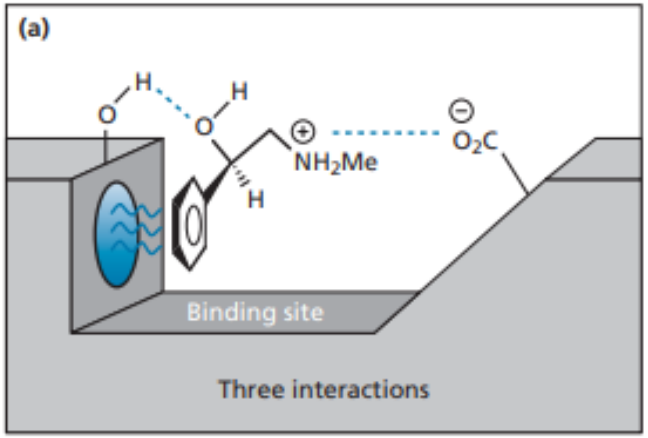


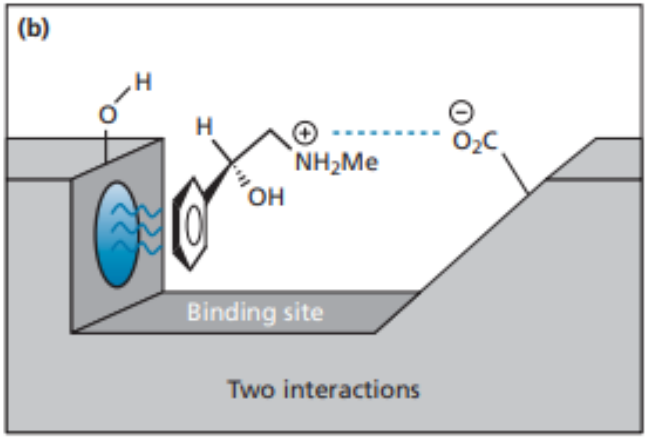
Hypothetical neurotransmitter









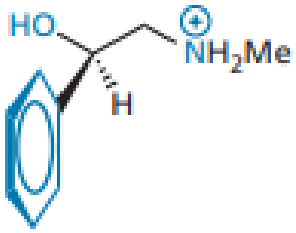


Origine dei nuovi farmaci

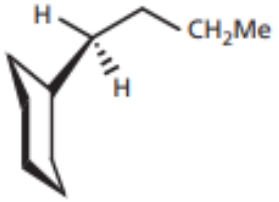
✓ **Recettori come bersagli di farmaci**.

Progettazione di agonisti.

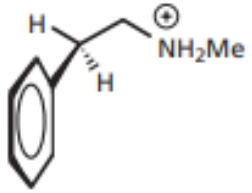
- Gruppi di legame



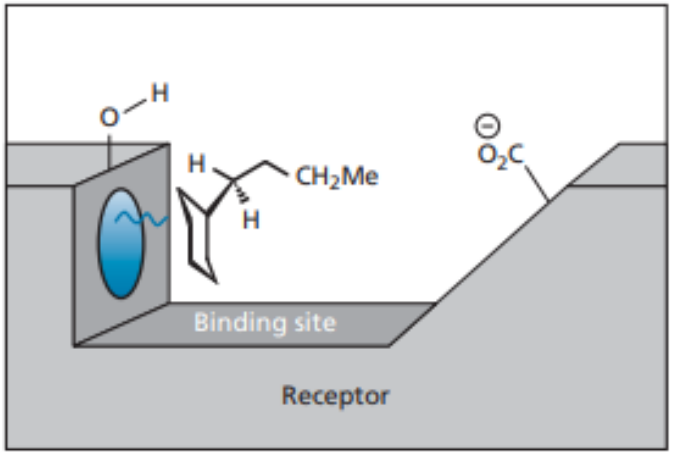
Hypothetical neurotransmitter

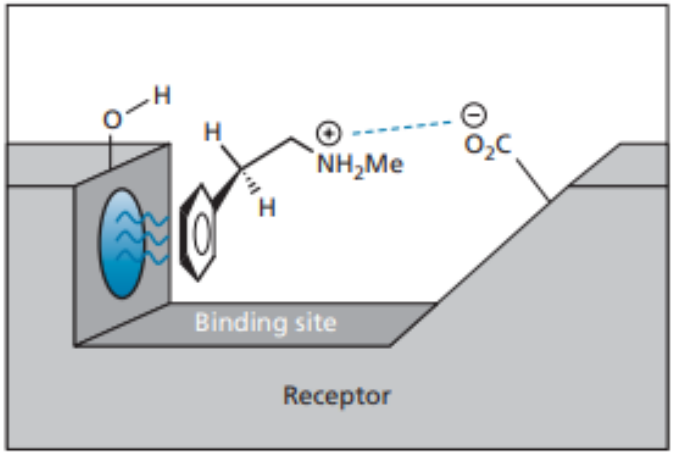


I



II





Origine dei nuovi farmaci

✓ **Recettori come bersagli di farmaci**.

Progettazione di agonisti.

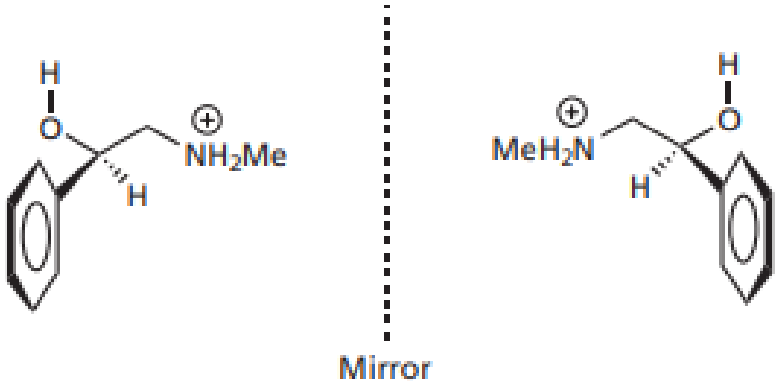
- Il farmaco deve possedere i corretti gruppi di legame
- **Il farmaco deve avere questi gruppi correttamente posizionati**
- Il farmaco deve essere della dimensione giusta per il sito di legame.

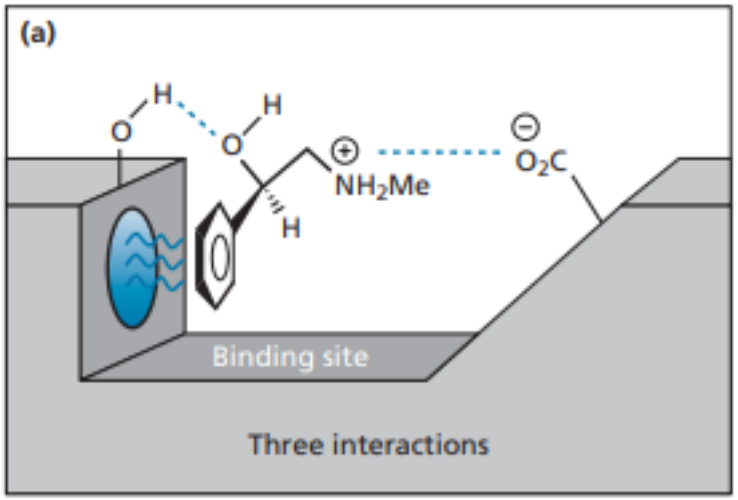
Origine dei nuovi farmaci

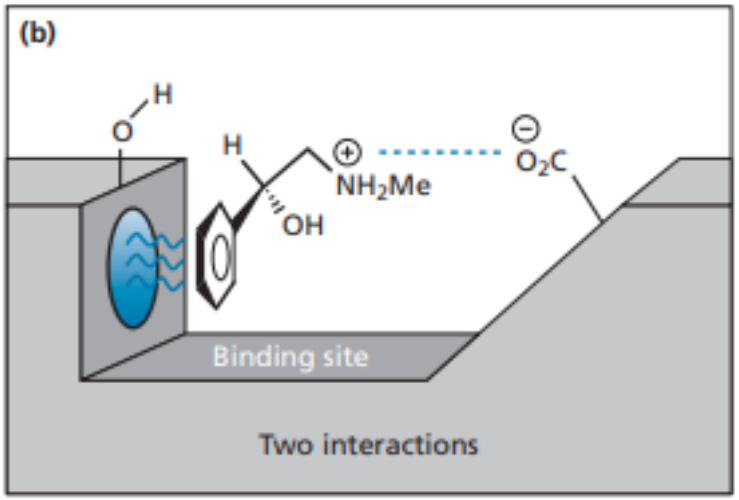
✓ **Recettori come bersagli di farmaci**.

Progettazione di agonisti.

- Posizione dei gruppi di legame







Origine dei nuovi farmaci

✓ **Recettori come bersagli di farmaci**.

Progettazione di agonisti.

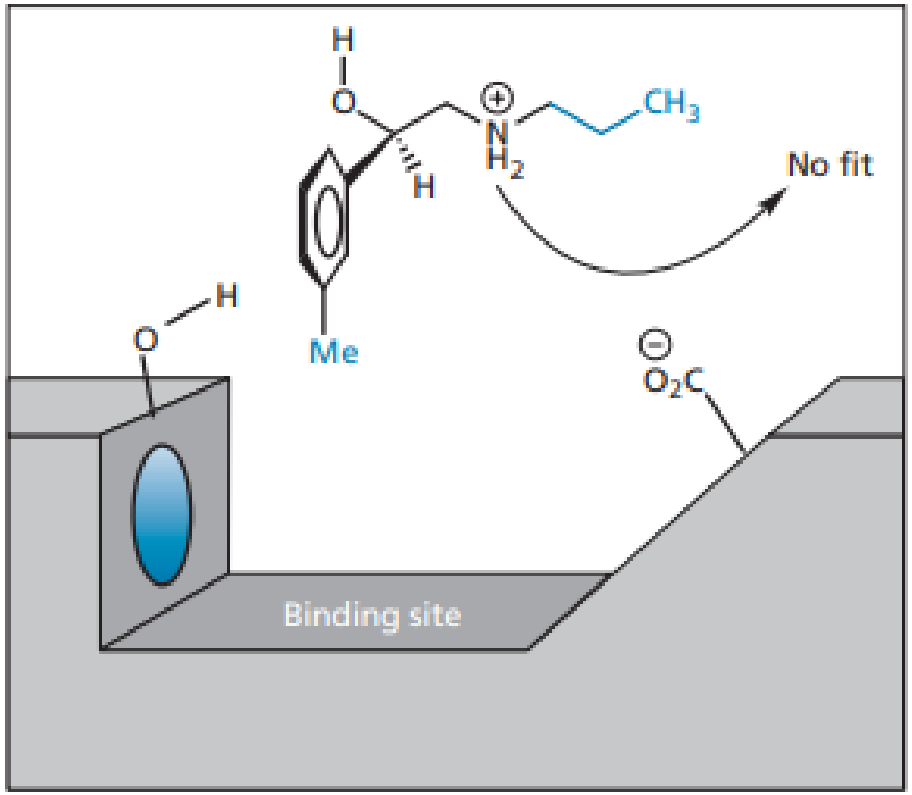
- Il farmaco deve possedere i corretti gruppi di legame
- Il farmaco deve avere questi gruppi correttamente posizionati
- **Il farmaco deve essere della dimensione giusta per il sito di legame.**

Origine dei nuovi farmaci

✓ **Recettori come bersagli di farmaci**.

Progettazione di agonisti.

- Dimensione e forma

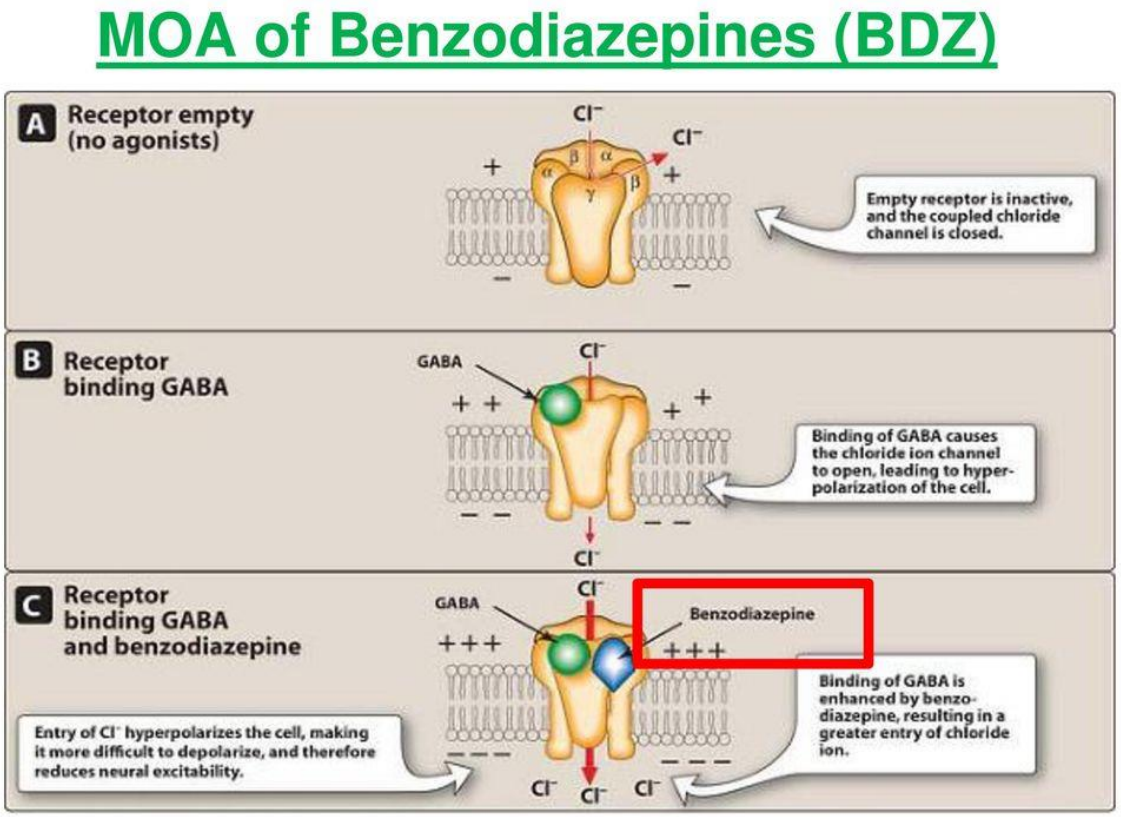


Origine dei nuovi farmaci

✓ **Recettori come bersagli di farmaci**.

Progettazione di agonisti.

- Modulatori allosterici



Origine dei nuovi farmaci

✓ **Recettori come bersagli di farmaci**.

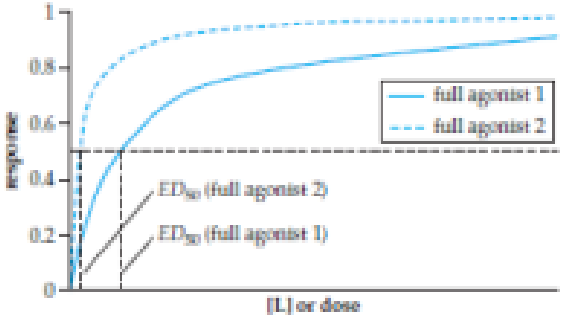
Agonista pieno

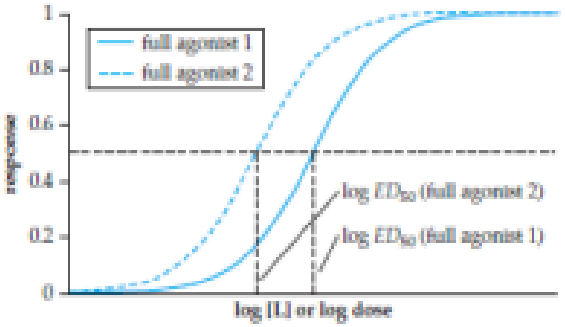
Se l'agonista è in grado di produrre una risposta massimale, si parla di agonista pieno. Il ligando endogeno di un recettore è un agonista pieno

Nella curva dose-risposta, all'aumentare della concentrazione di ligando (o dose) la curva tende alla risposta massimale (1).

La concentrazione e la dose di ligando utile a produrre il 50% della risposta massimale sono l'EC_{50} e l'ED_{50}, rispettivamente, e rappresentano una misura della potenza dell'agonista. Il primo parametro è utile in studi in vitro, mentre il secondo in studi in vivo.

L'agonista con minore EC_{50} ha maggiore potenza (serve una concentrazione minore per produrre lo stesso effetto).



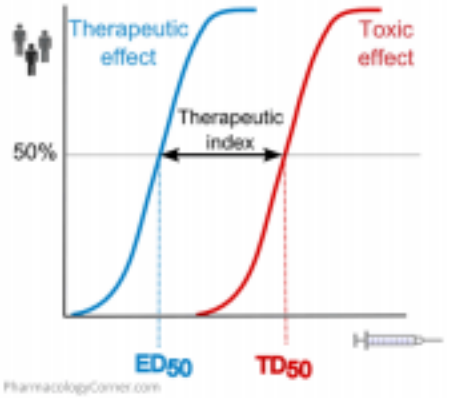


Origine dei nuovi farmaci

✓ **Recettori come bersagli di farmaci**.

Indice terapeutico (IT)

Un agonista pieno con minore ED_{50} è desiderabile, poiché è richiesta una dose minore per produrre lo stesso effetto. Ciò implica che sarà necessaria la somministrazione di una dose minore di farmaco per avere l'effetto farmacologico minimizzando il rischio di effetti collaterali legati ad alte dosi.



In studi in vivo, l'indice terapeutico è una misura della sicurezza del farmaco, definito come rapporto tra la dose tossica e la dose efficace nel 50% della popolazione. Maggiore è l'IT, maggiore è la sicurezza del farmaco.

Elevato IT è indice di una ampia finestra terapeutica

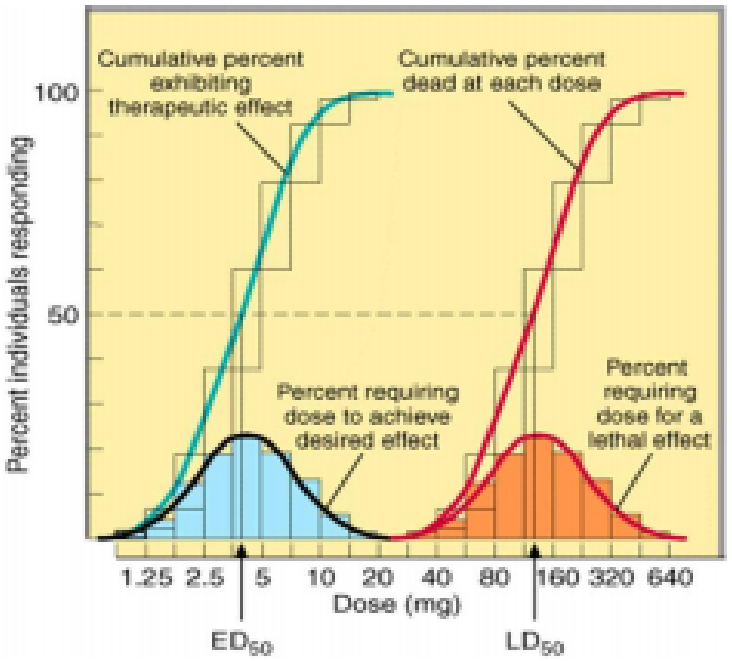
Origine dei nuovi farmaci

✓ **Recettori come bersagli di farmaci.**

Risposta quantale

Nell'ambito di studi in vivo, non sempre è possibile quantificare numericamente una risposta la quale può essere positiva o negativa (risposta quantale), es un farmaco induce il sonno?

In questo caso l'ED_{50} rappresenta la dose di farmaco necessaria a produrre la risposta nel 50% della popolazione

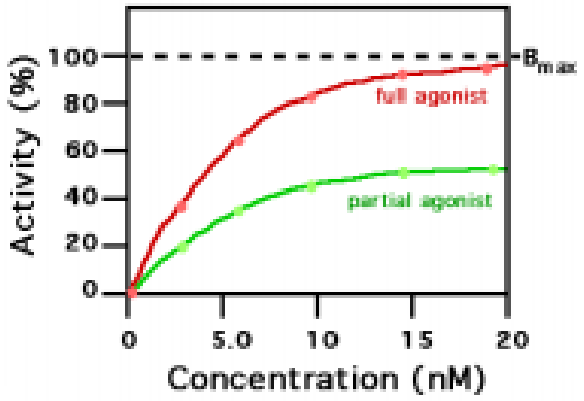


Origine dei nuovi farmaci

✓ **Recettori come bersagli di farmaci.**

Agonista parziale

Gli agonisti parziali inducono una risposta recettoriale di entità minore rispetto a quella massimale inducibile da un agonista pieno. In questo caso, ED_{50} rappresenta la dose necessaria per avere il 50% della risposta massima attivabile da un agonista parziale.



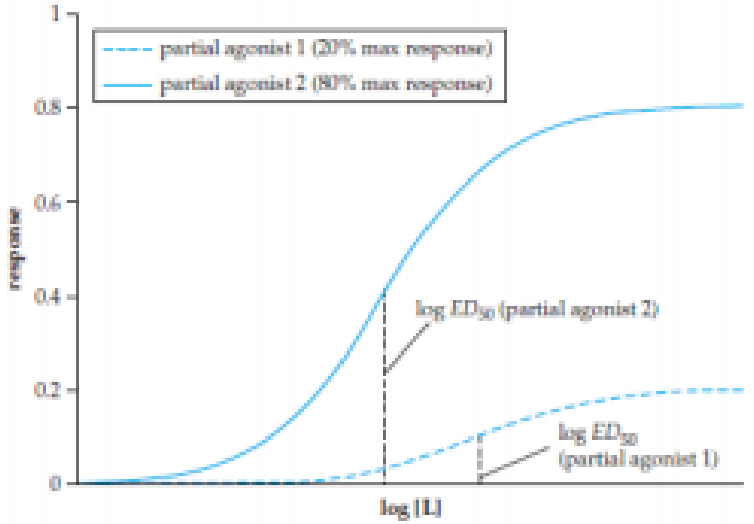


FIGURE 5.9 Partial agonists: response vs. log [L]

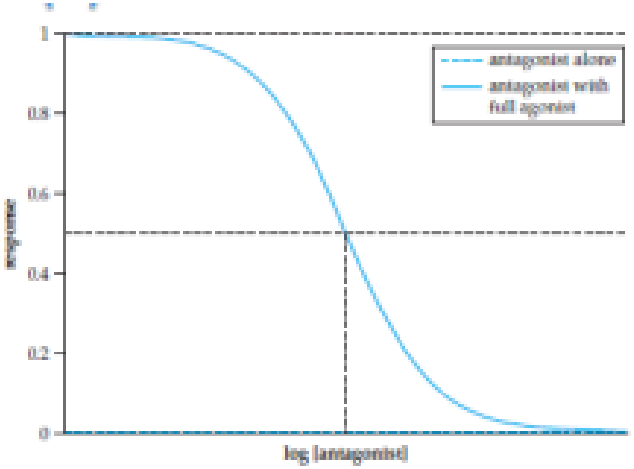
Origine dei nuovi farmaci

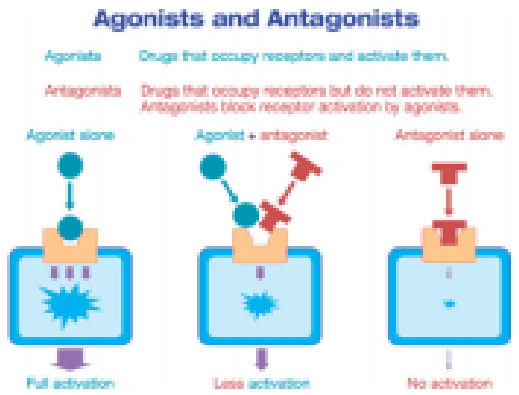
✓ **Recettori come bersagli di farmaci.**

Antagonisti

Gli antagonisti presentano le seguenti proprietà:

- Come gli agonisti, si legano al recettore (possono presentare per esso elevata affinità)
- In seguito al legame, non inducono risposta recettoriale
- A causa dell'elevata affinità recettoriale, ne prevengono il legame e l'attivazione da parte degli agonisti
- Riducono la risposta indotta da un agonista pieno dal 100% a 0.





Origine dei nuovi farmaci

✓ **Recettori come bersagli di farmaci**.

Progettazione di antagonisti.

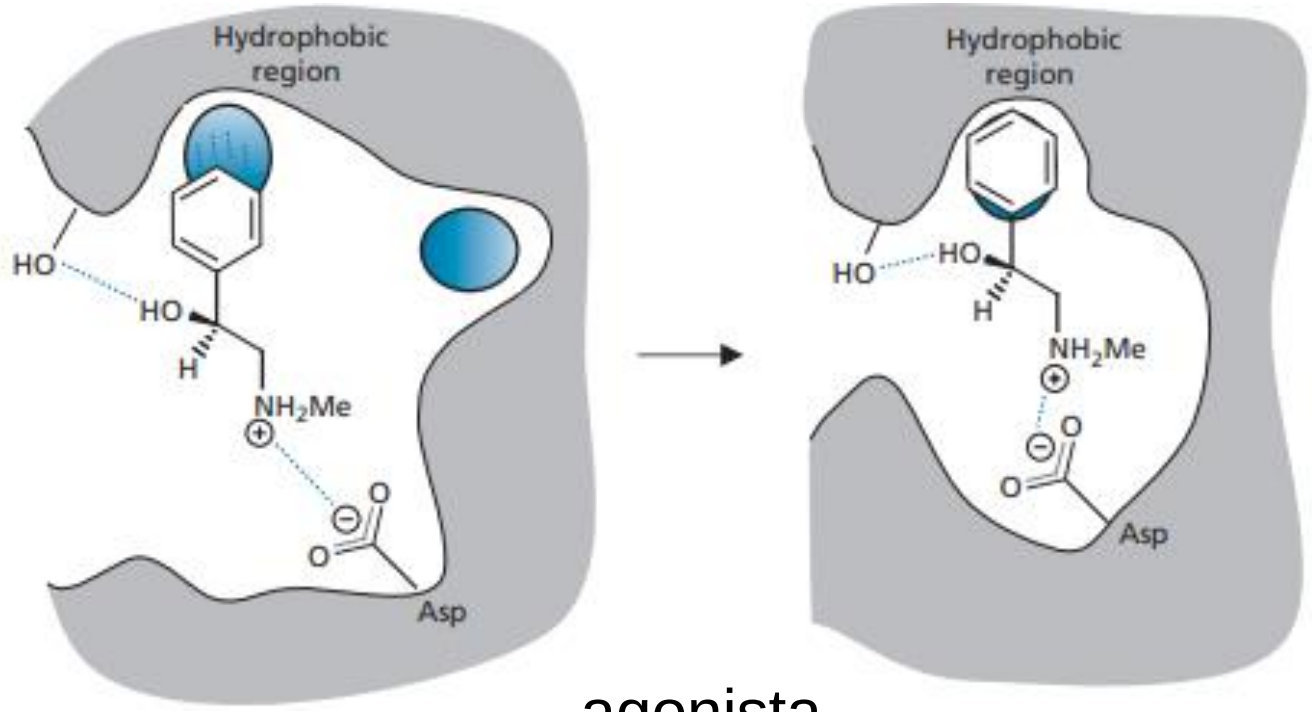
- Competere con il ligando naturale senza causare nessun cambiamento di forma → no effetto biologico.

- Trovare regioni di legame differenti all'interno del sito di legame che non siano utilizzate dal ligando naturale.

Origine dei nuovi farmaci

- ✓ **Recettori come bersagli di farmaci**.

Progettazione di antagonisti.

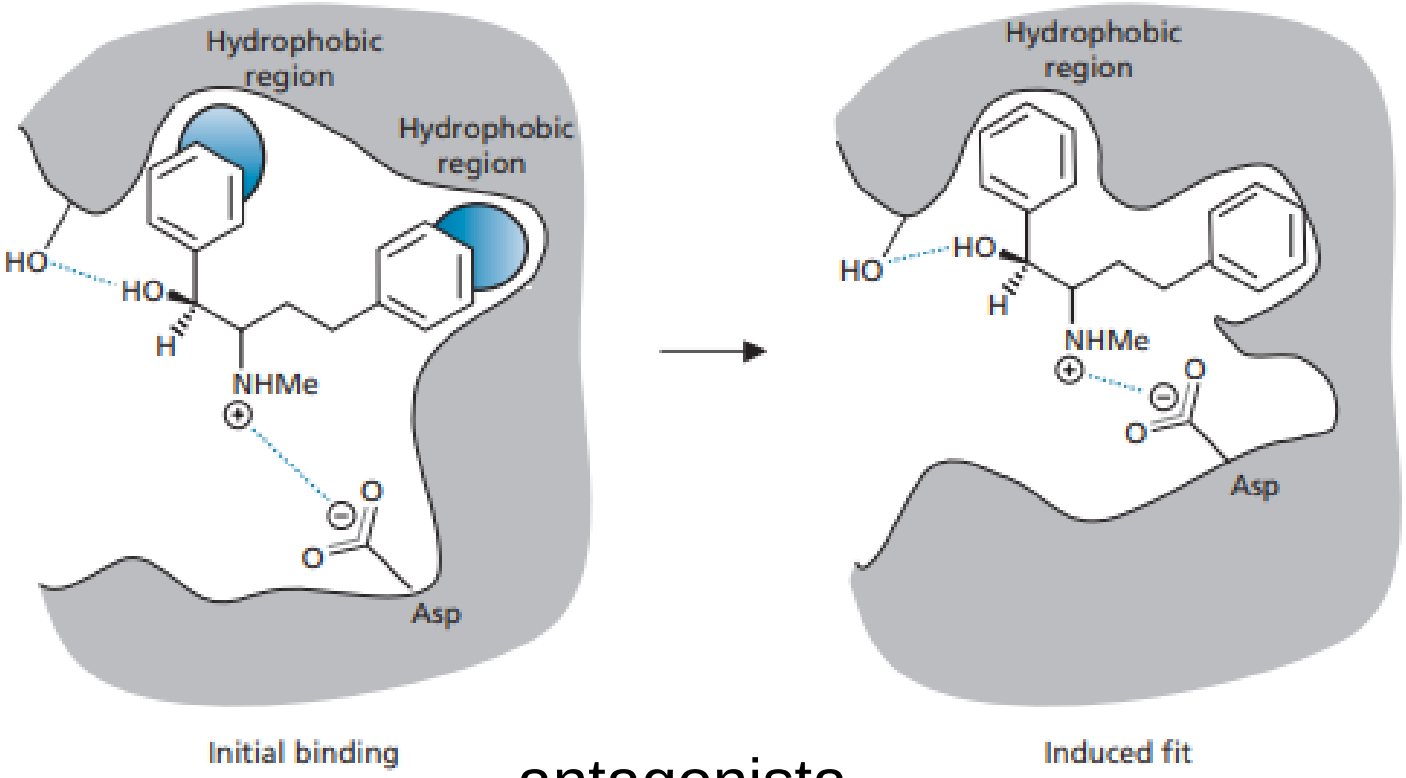


agonista

Origine dei nuovi farmaci

✓ **Recettori come bersagli di farmaci**.

Progettazione di antagonisti.

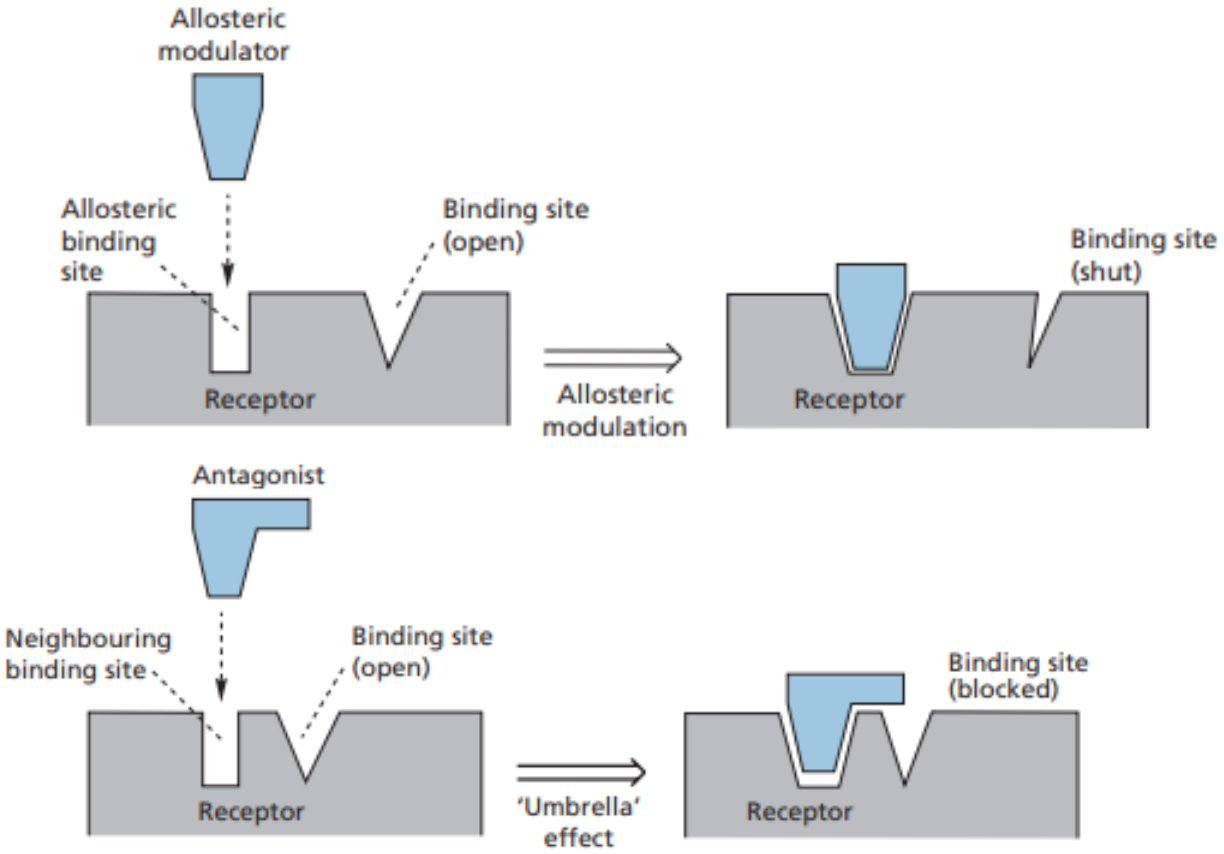


antagonista

Origine dei nuovi farmaci

✓ **Recettori come bersagli di farmaci**.

Progettazione di antagonisti: modulatori allosterici.



Antagonism by the 'umbrella effect'.

Origine dei nuovi farmaci

✓ **Recettori come bersagli di farmaci.**

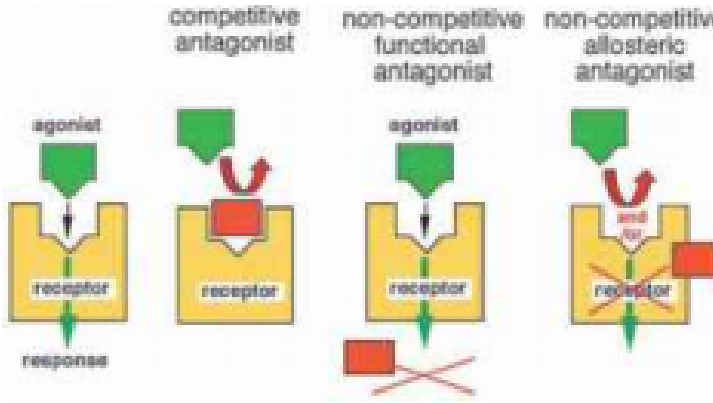
Antagonisti

La concentrazione (o la dose) di antagonista in grado di ridurre del 50% la risposta massimale di un agonista pieno è detta EC_{50}, ED_{50}, IC_{50}

Mentre gli agonisti (pieni o parziali) si legano a zone del recettore tali da attivarne la risposta, l'antagonista può legarsi in qualsiasi sito recettoriale.

Se si lega al sito dell'agonista, ne previene direttamente il legame e l'attivazione (**ANTAGONISMO COMPETITIVO**).

Allo stesso modo, se il legame avviene in un sito allosterico, esso induce cambiamenti conformazionali nel sito del ligando endogeno tali da ridurne/impedirne l'attivazione (**ANTAGONISMO NON COMPETITIVO**).



Origine dei nuovi farmaci

- ✓ **Recettori come bersagli di farmaci**.

RIASSUMENDO:

La conoscenza della forma e della composizione di un sito di legame recettoriale, dovrebbe portarci alla progettazione di farmaci agonisti o antagonisti.
Tuttavia identificare un recettore e determinare la sua mappa non è facile.

PASSATO: UTILIZZO DI LIBRERIE DI COMPOSTI

OGGI: CRISTALLOGRAFIA RAGGI X, CHIMICA COMPUTAZIONALE

Origine dei nuovi farmaci

- ✓ **Recettori come bersagli di farmaci**.

Agonisti parziali

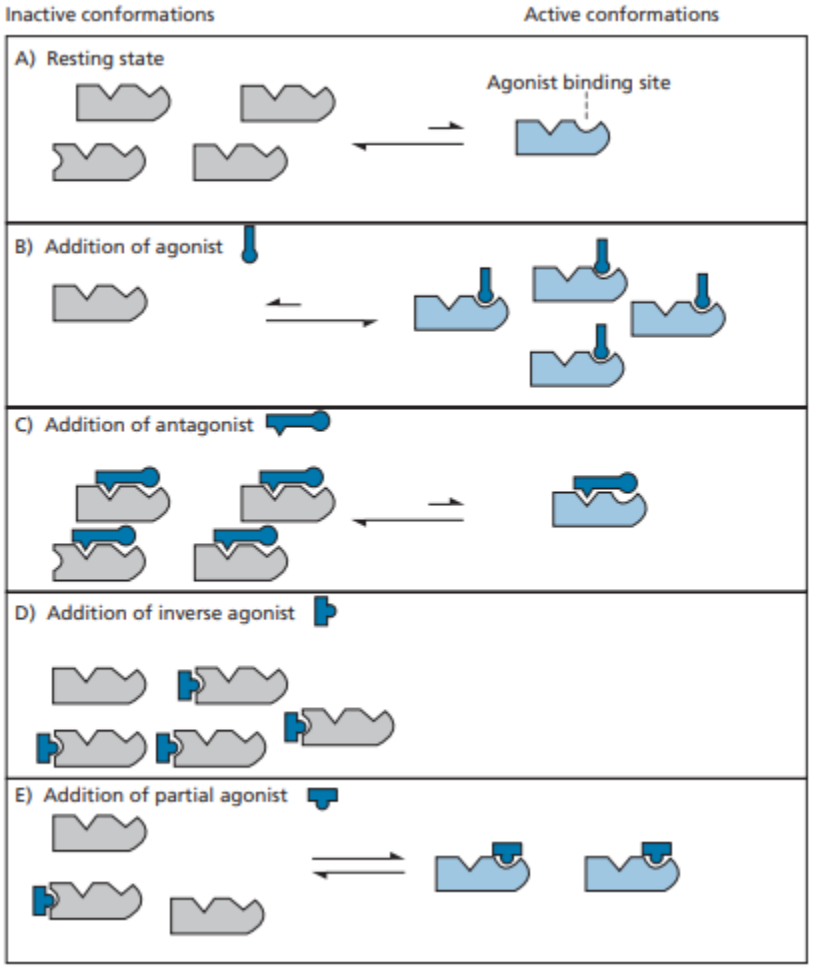
Il composto agisce come un agonista e produce una risposta biologica, ma l'effetto è minore di quello che ci si aspetterebbe da un agonista «puro»

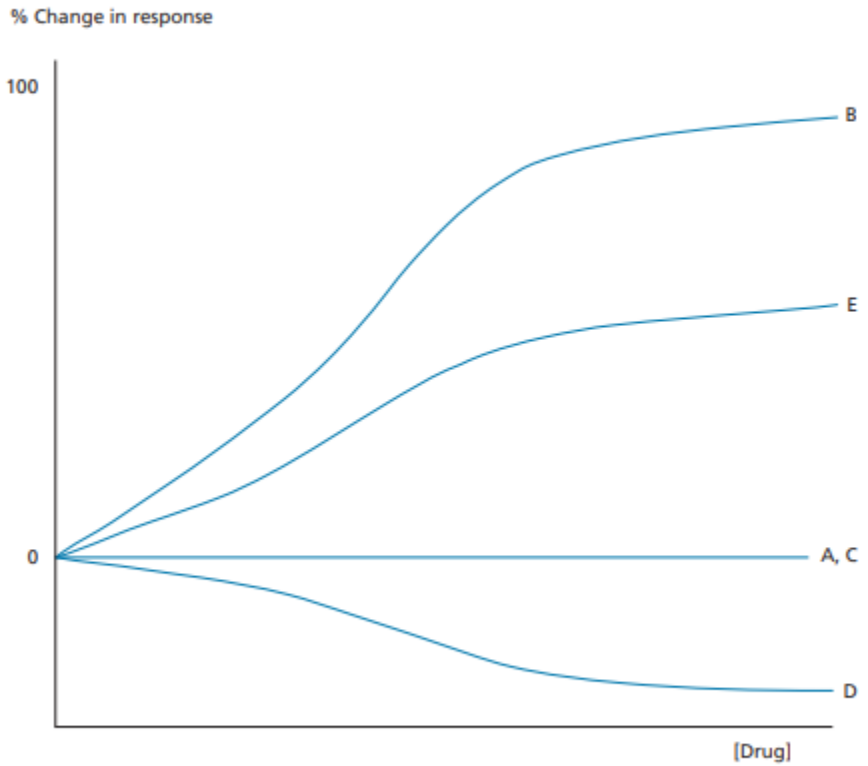
Agonista inverso

Ha lo stesso effetto di un antagonista in quanto lega un recettore, non riesce ad attivarlo ed impedisce al normale messaggero di legarsi.

Protein structure and function

❖Receptors as drug targets.





Origine dei nuovi farmaci

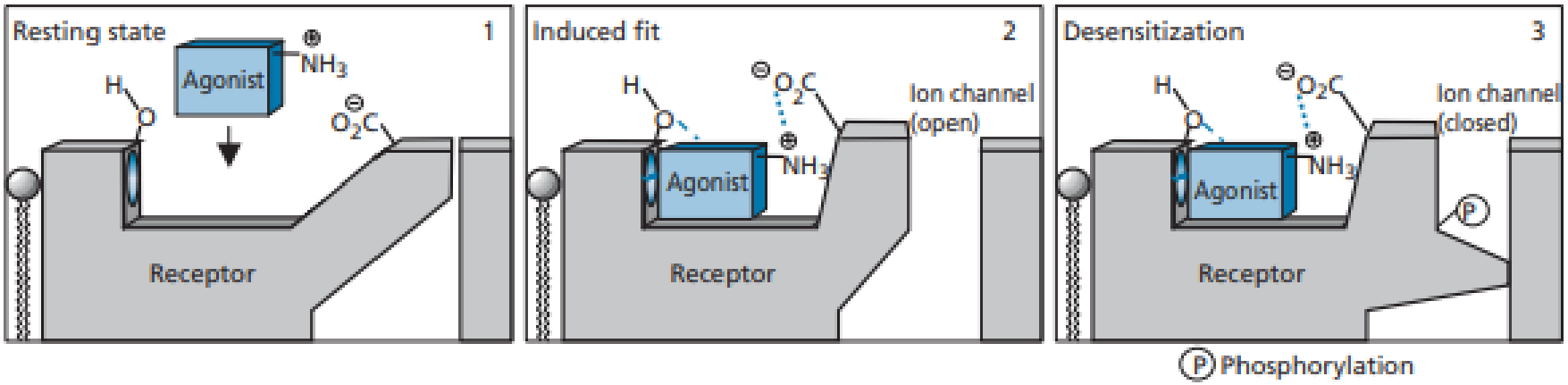
✓ **Recettori come bersagli di farmaci.**

- **Desensibilizzazione e sensibilizzazione**
- **Tolleranza e dipendenza**
- **Affinità**
- **Efficacia**
- **Potenza**

Origine dei nuovi farmaci

✓ **Recettori come bersagli di farmaci**.

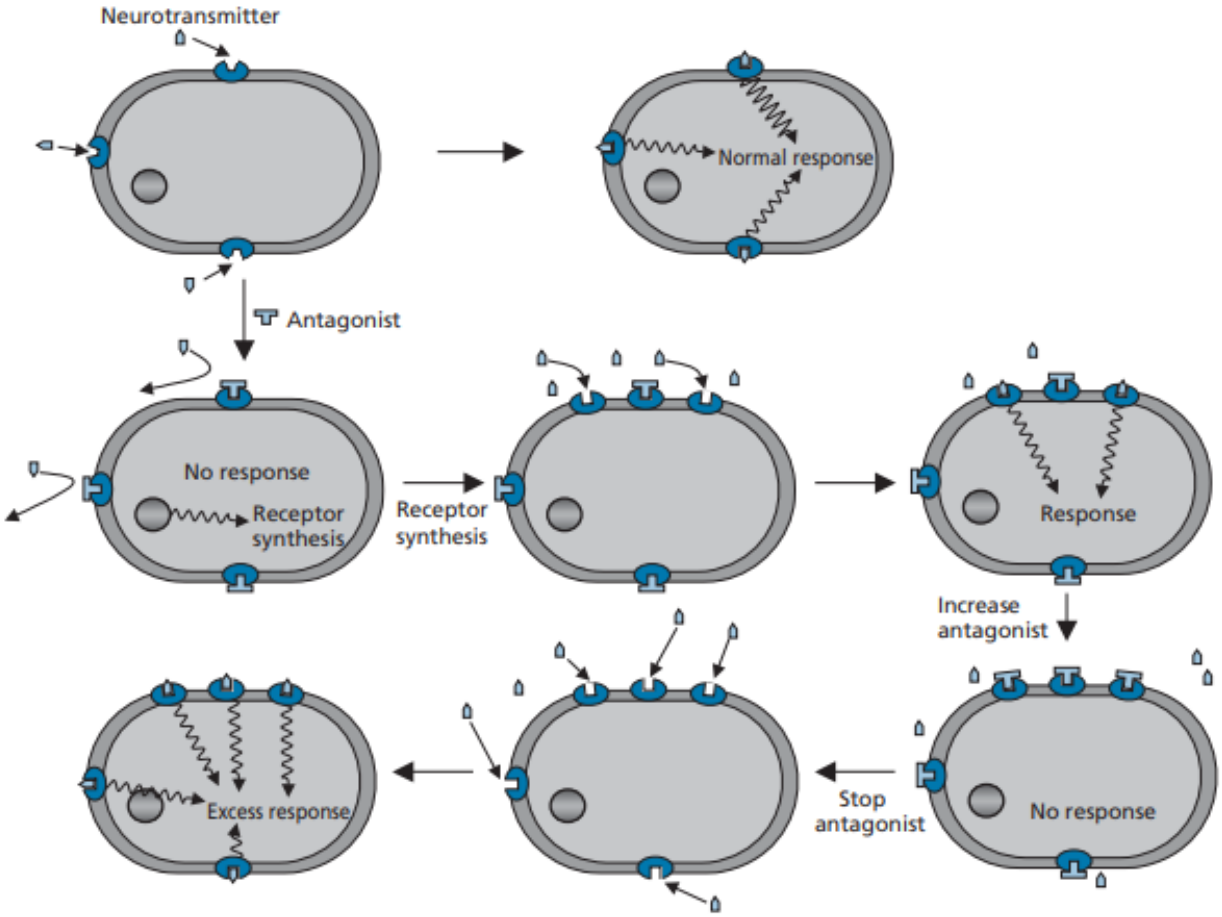
- **Desensibilizzazione:** Alcuni farmaci si legano ad un recettore in modo relativamente forte, lo attivano, ma poi lo bloccano dopo un certo periodo di tempo.



Origine dei nuovi farmaci

✓ **Recettori come bersagli di farmaci**.

- **Sensibilizzazione:** quando la cellula sintetizza più recettori per compensare i recettori che sono bloccati.



Increasing cell sensitivity by the synthesis of more receptors.

Origine dei nuovi farmaci

✓ **Recettori come bersagli di farmaci**.

- **Tolleranza e dipendenza:**

la tolleranza è la situazione in cui sono richiesti livelli più alti di un farmaco per avere la stessa risposta biologica.

Se la somministrazione del farmaco è improvvisamente interrotta, allora tutti i recettori diventano repentinamente disponibili. La cellula è ipersensibile→ astinenza.

Origine dei nuovi farmaci

✓ **Recettori come bersagli di farmaci**.

- **Affinità:**

È la misura di quanto forte è il legame farmaco-recettore.

- **Efficacia:**

È una misura dell'effetto biologico massimo che un farmaco può produrre come risultato del legame al recettore

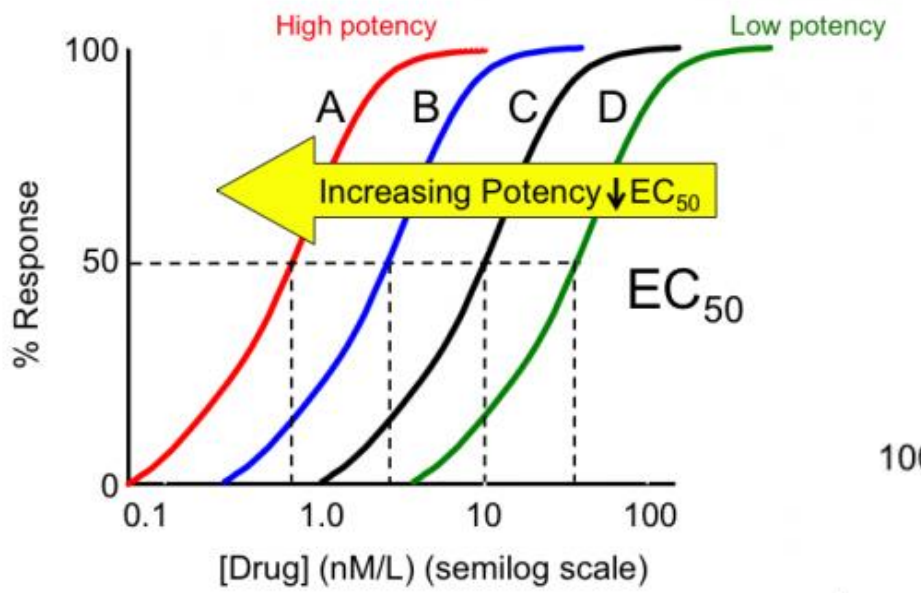
- **Potenza**:

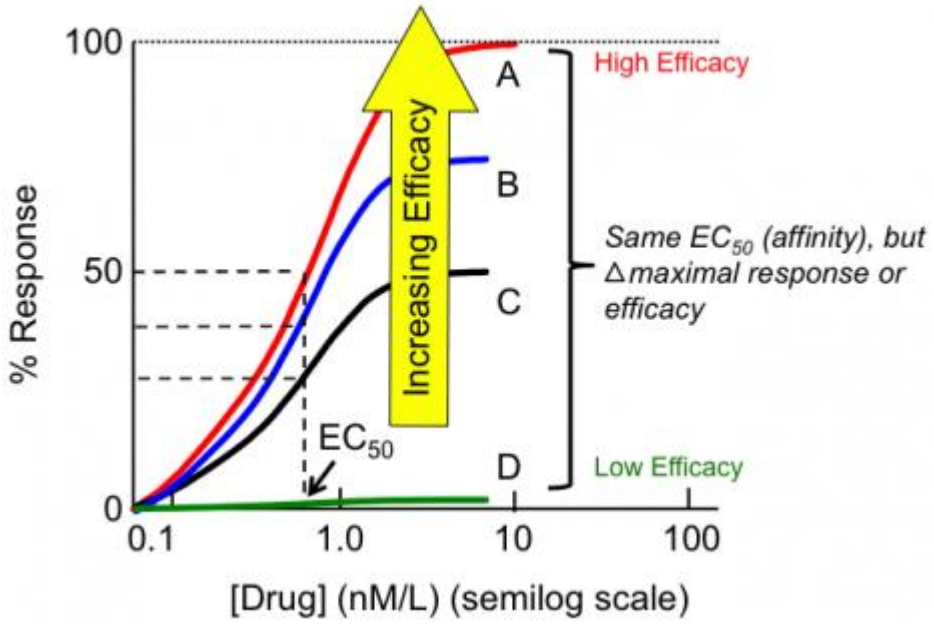
Si riferisce alla quantità di farmaco necessaria per raggiungere un effetto biologico. Più piccola è la dose richiesta, più potente è il farmaco.

Protein structure and function

❖ **Receptors as drug targets.**

Affinity, efficacy and potency.



*agonists that have the same potency, but differ in terms of their **efficacy**.*

*agonists that have the same efficacy, but differ in terms of their **potency**.*