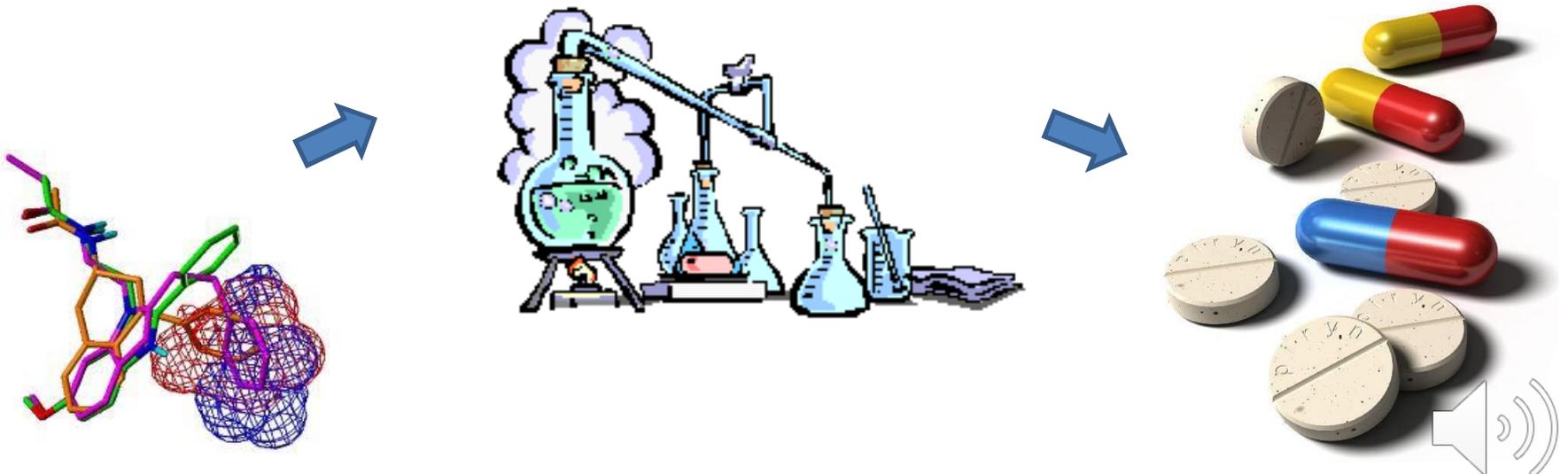


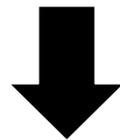
Ricerca e sviluppo del farmaco e aspetti regolatori



Ricerca per i nuovi farmaci

Origine dei nuovi farmaci

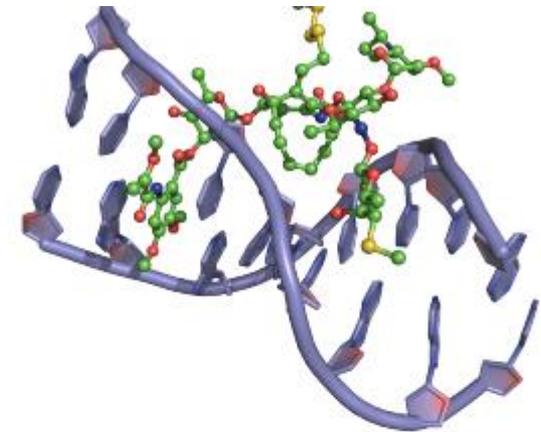
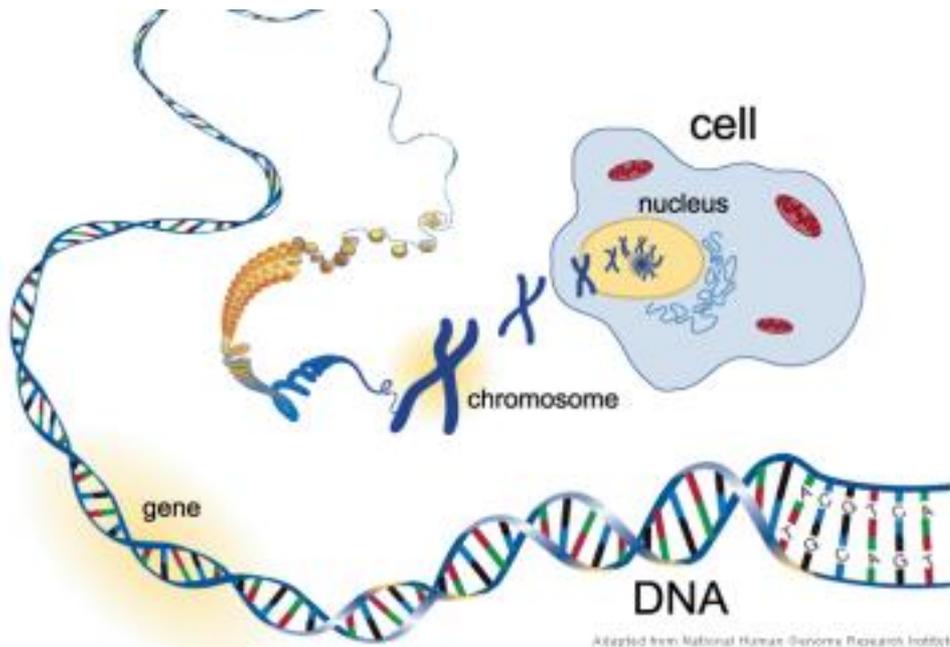
- ✓ Scegliere la malattia da trattare!
- ✓ Scegliere il bersaglio molecolare (target)
- ✓ Identificare il saggio biologico opportuno
- ✓ Identificazione del prototipo
- ✓ Isolare e purificare il prototipo
- ✓ Determinare la struttura del prototipo



Lead compound

Origine dei nuovi farmaci

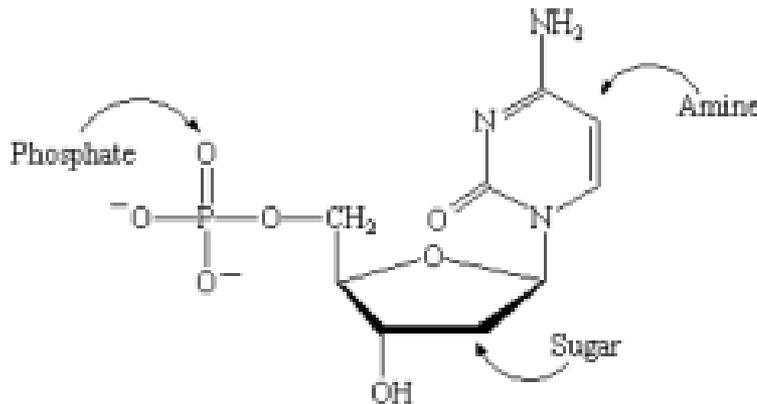
- ✓ Acidi nucleici come bersagli di farmaci



Origine dei nuovi farmaci

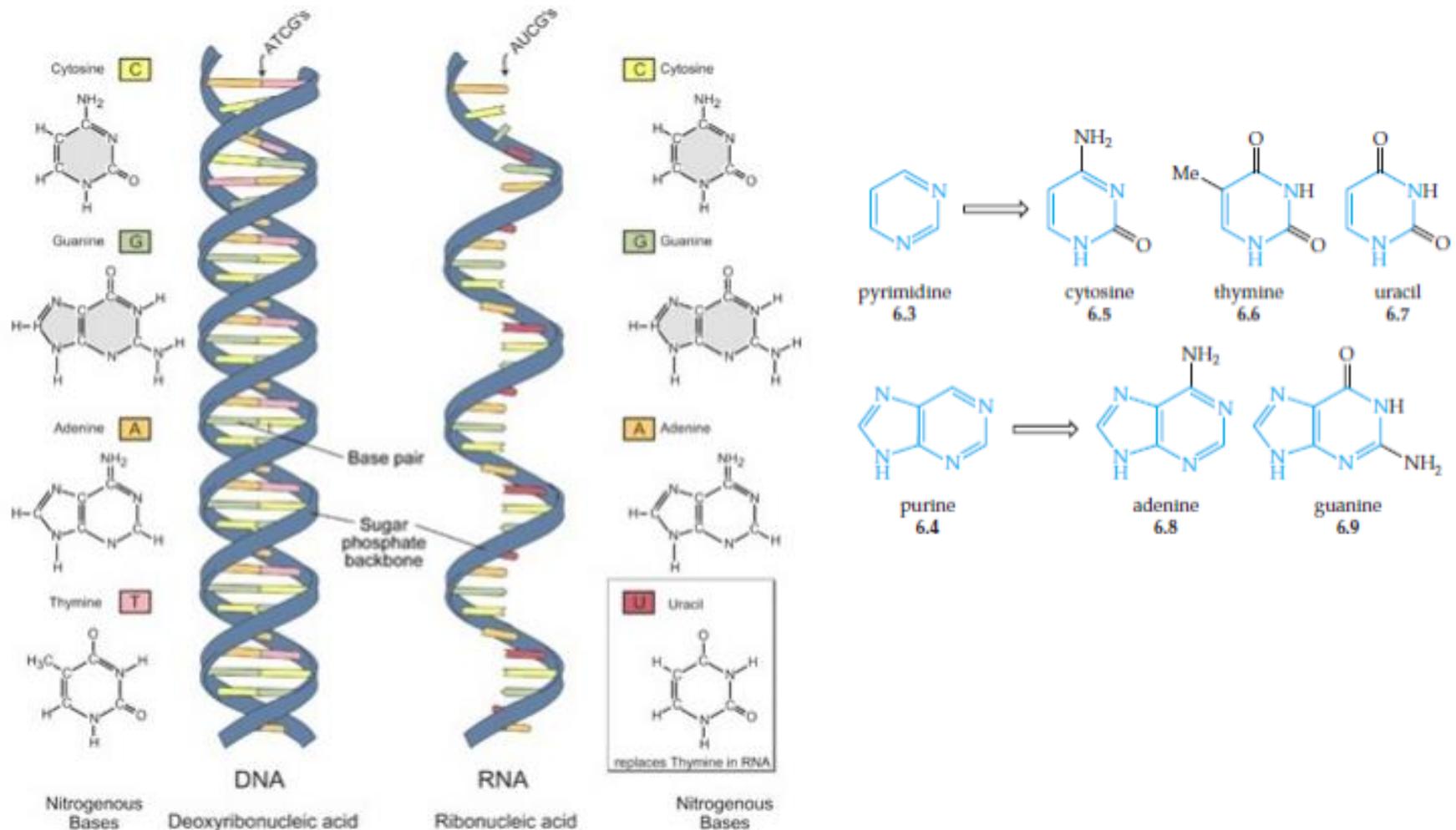
- ✓ Acidi nucleici come bersagli di farmaci

Gli acidi nucleici (DNA, RNA) sono macromolecole costituite dalla ripetizione di unità (nucleotidi). I nucleotidi sono costituiti da nucleoside e gruppo fosfato. A sua volta il nucleoside è costituito da uno zucchero legato ad una base azotata.



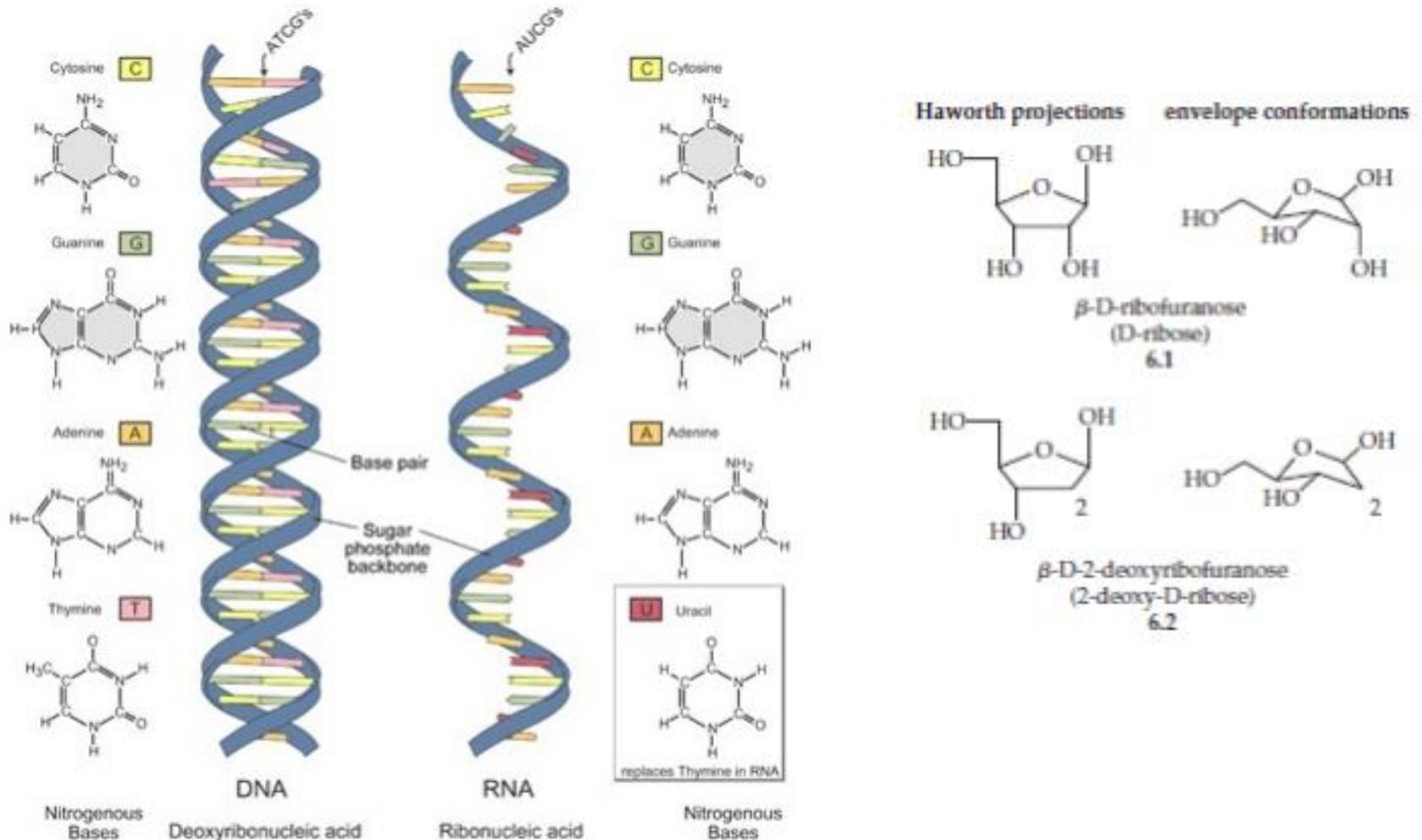
Origine dei nuovi farmaci

- ✓ Acidi nucleici come bersagli di farmaci



Origine dei nuovi farmaci

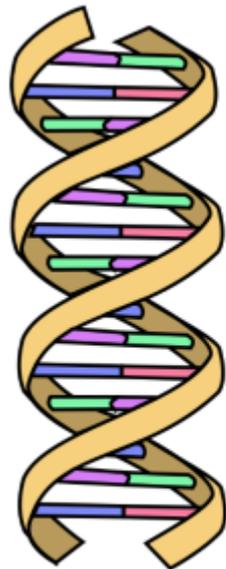
- ✓ Acidi nucleici come bersagli di farmaci



Origine dei nuovi farmaci

- ✓ Acidi nucleici come bersagli di farmaci

Il DNA (acido desossi-ribonucleico) deriva dalla ripetizione ed accoppiamento di desossi-ribonucleotidi. Esso contiene l'informazione genetica codificante per gli elementi funzionali del nostro organismo (proteine, enzimi, recettori)



DNA

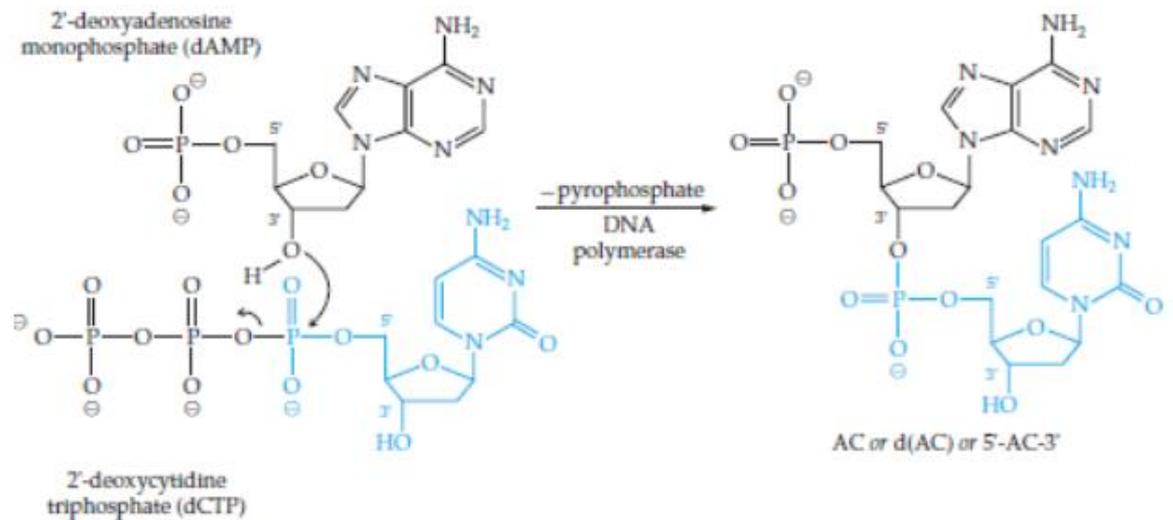
-  = Adenina
-  = Timina
-  = Citosina
-  = Guanina
-  = Struttura laterale (gruppo fosfato e 2-deossiribosio)



Origine dei nuovi farmaci

- ✓ Acidi nucleici come bersagli di farmaci

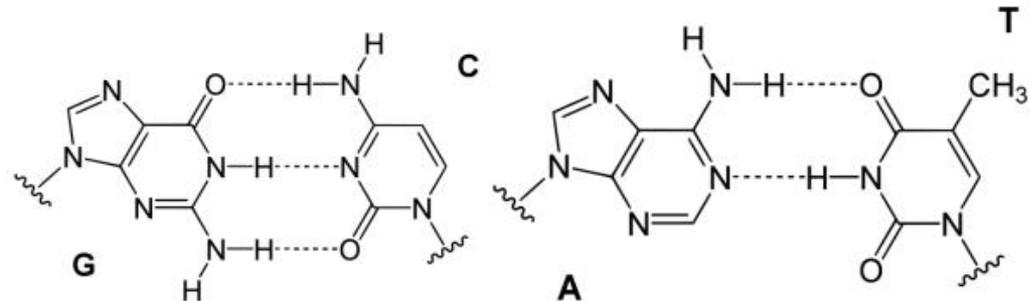
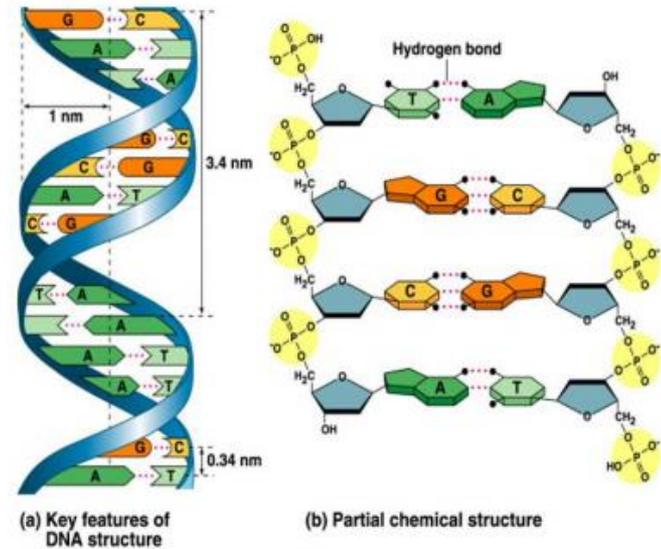
La formazione del polimero prevede la reazione dell'ossidrile in posizione 3' di un desossi-ribonucleotide con il gruppo fosfato di un nucleoside trifosfato. Il dimero così costituito può reagire con un nuovo nucleoside trifosfato permettendo l'allungamento della catena. La sintesi del DNA procede dunque nella direzione $5' \rightarrow 3'$, poiché in tal modo sarà sempre possibile il nuovo attacco di un OH. La sintesi del DNA è catalizzata da DNA polimerasi



Origine dei nuovi farmaci

- ✓ Acidi nucleici come bersagli di farmaci

Il DNA ha una struttura a doppia elica con andamento destrorso. Ogni elica ha orientamento antiparallelo rispetto all'altro. La struttura a doppia elica è stabilizzata dalla formazione di legami H tra le basi azotate di un filamento e quelle del filamento ad orientamento antiparallelo e complementare.

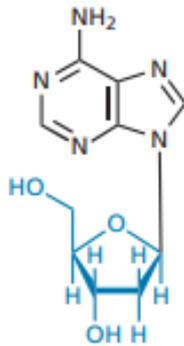


Nucleic acids structure and function

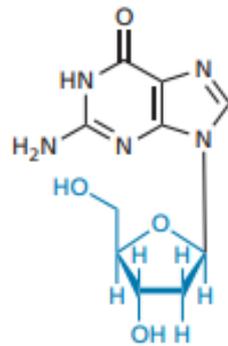
Structure of DNA.

Like proteins, DNA has a primary, secondary, and tertiary structure.

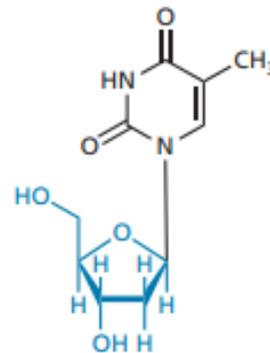
The **primary structure of DNA** is the way in which the DNA building blocks are linked together. Each nucleoside is constructed from two components: a deoxyribose sugar and a base.



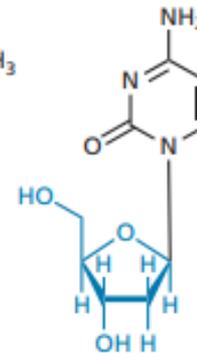
Deoxyadenosine



Deoxyguanosine



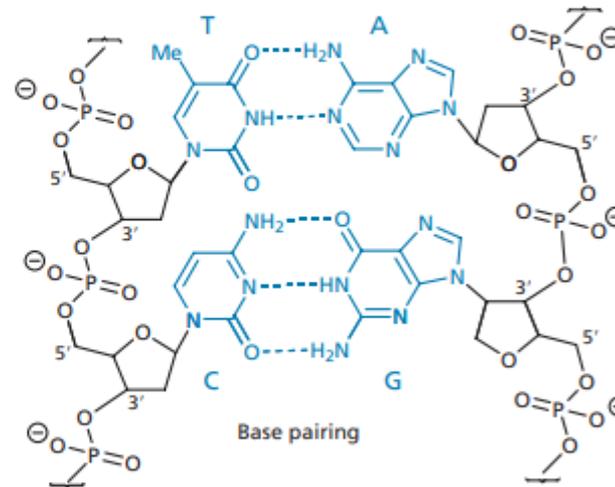
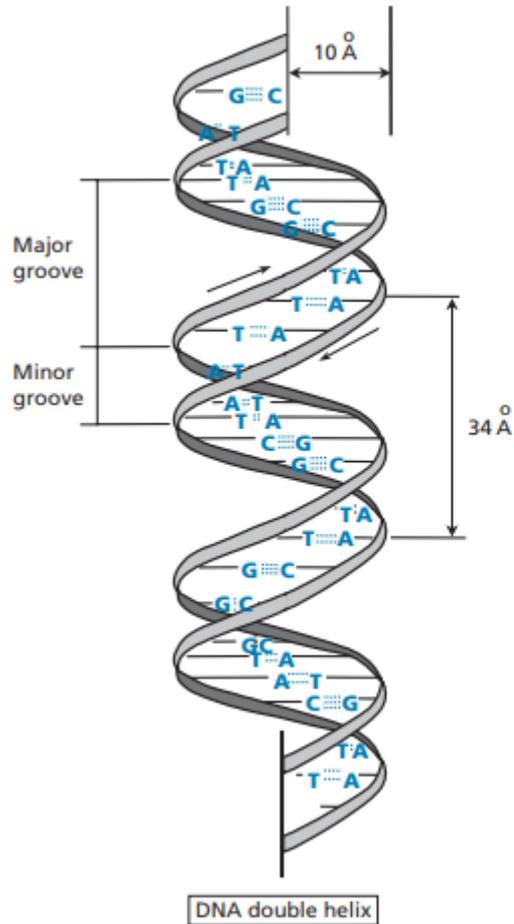
Deoxythymidine



Deoxycytidine

Structure of DNA.

Watson and Crick solved the **secondary structure** of DNA. The structure consists of two DNA chains arranged together in a double helix of constant diameter.

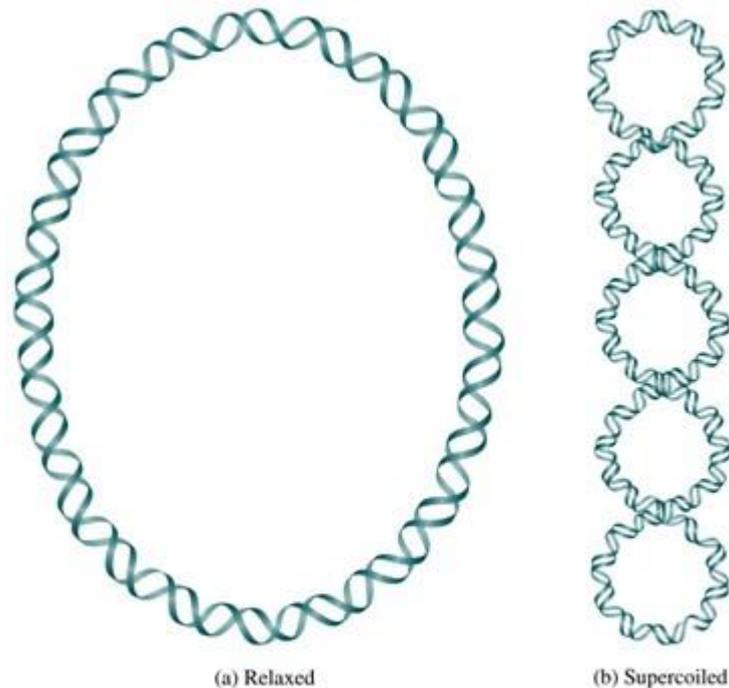


Structure of DNA.

The **tertiary structure of DNA** is often neglected or ignored, but it is important to the action of different drugs.

DNA is an extremely long molecule: so long, in fact, that it would not fit into the nucleus of the cell if it existed as a linear molecule.

It has to be coiled into a more compact three dimensional shape which can fit into the nucleus a process known as supercoiling . This process requires the action of a family of enzymes called **topoisomerase**.



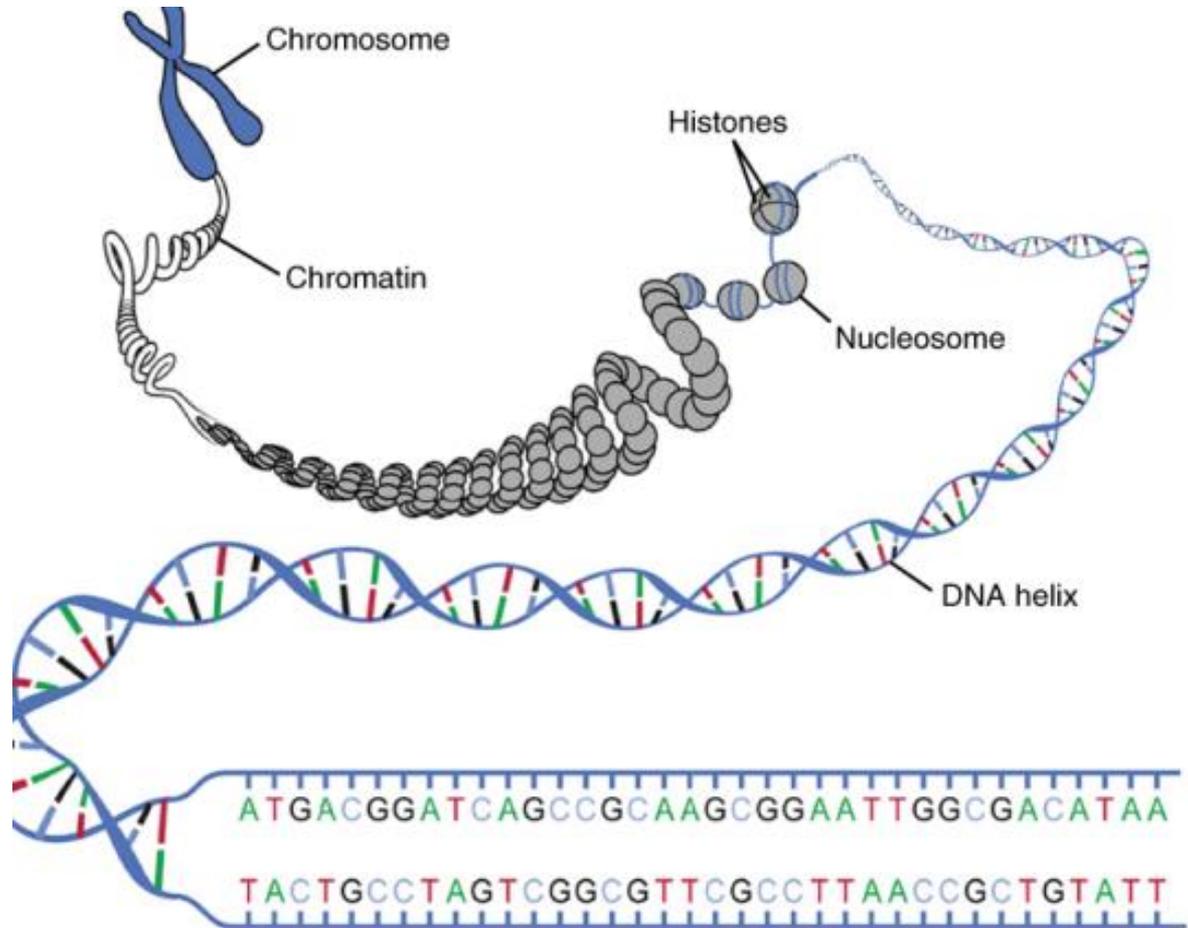
Circular, duplex DNA

Origine dei nuovi farmaci

- ✓ Acidi nucleici come bersagli di farmaci

DNA si localizza a livello nucleare in una forma estremamente compatta e superavvolta, minimizzando in tal modo il contatto con agenti intra ed extracellulari e prevenendone il danno.

A livello nucleare si ritrova la cromatina, costituita da DNA avvolto su proteine istoniche (nucleosoma) e non-istoniche



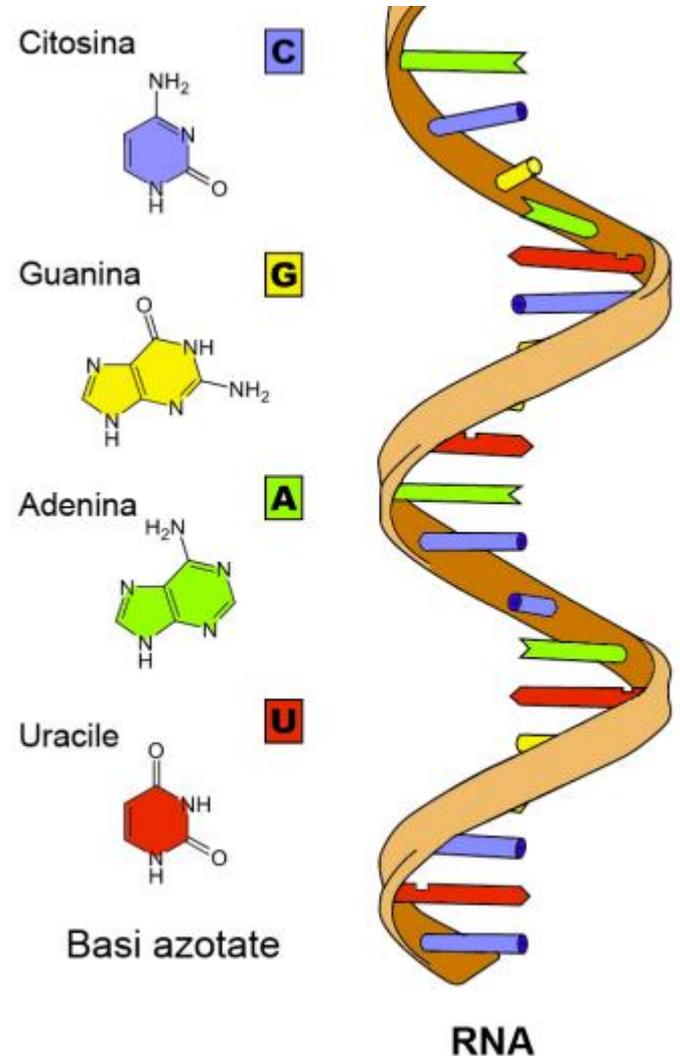
Origine dei nuovi farmaci

✓ Acidi nucleici come bersagli di farmaci

A partire da un frammento di DNA, le RNA polimerasi ne catalizzano la trascrizione in RNA (acido ribonucleico) consentendo il passaggio dell'informazione genetica dal nucleo ad altri compartimenti cellulari (es ribosomi per la sintesi proteica).

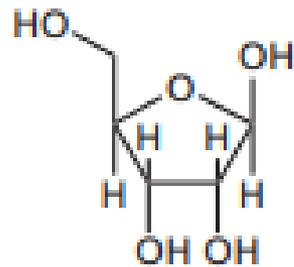
L'RNA ha struttura a singola elica e differisce dal DNA per la presenza del ribosio quale unità zuccherina e per la presenza dell'uracile al posto della timina.

Esistono diverse forme di RNA

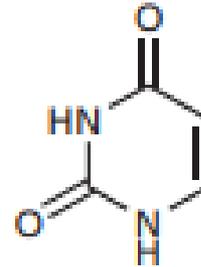


Structure of RNA

The **primary structure of RNA** is the same as that of DNA, with two exceptions: ribose is the sugar component rather than deoxyribose, and uracil replaces thymine as one of the bases.



Ribose



Uracil

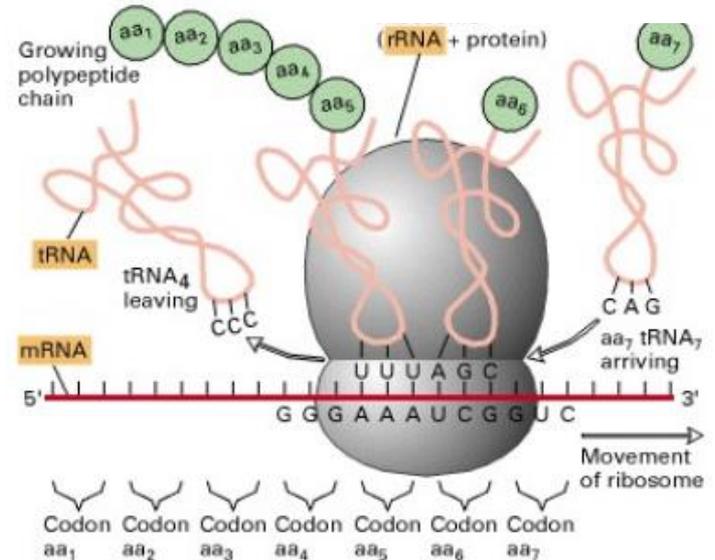
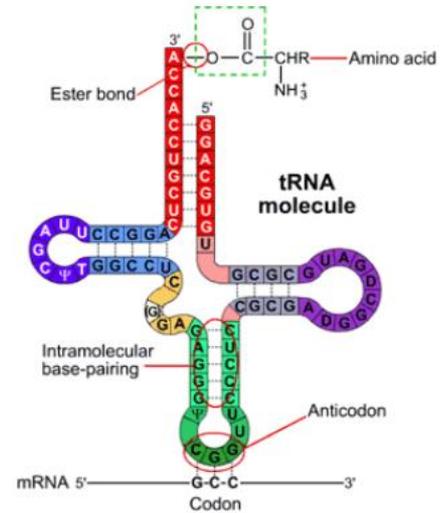
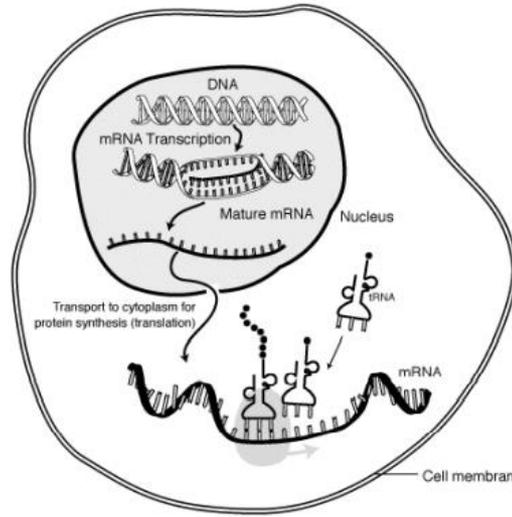
There are three main types of RNA molecules with different cellular functions: messenger RNA (mRNA), transfer RNA (tRNA), and ribosomal RNA (rRNA).

These three molecules are crucial to the process by which protein synthesis takes place. Although DNA contains the genetic code for proteins, it cannot produce these proteins directly.

Origine dei nuovi farmaci

✓ Acidi nucleici come bersagli di farmaci

- mRNA
- rRNA
- tRNA



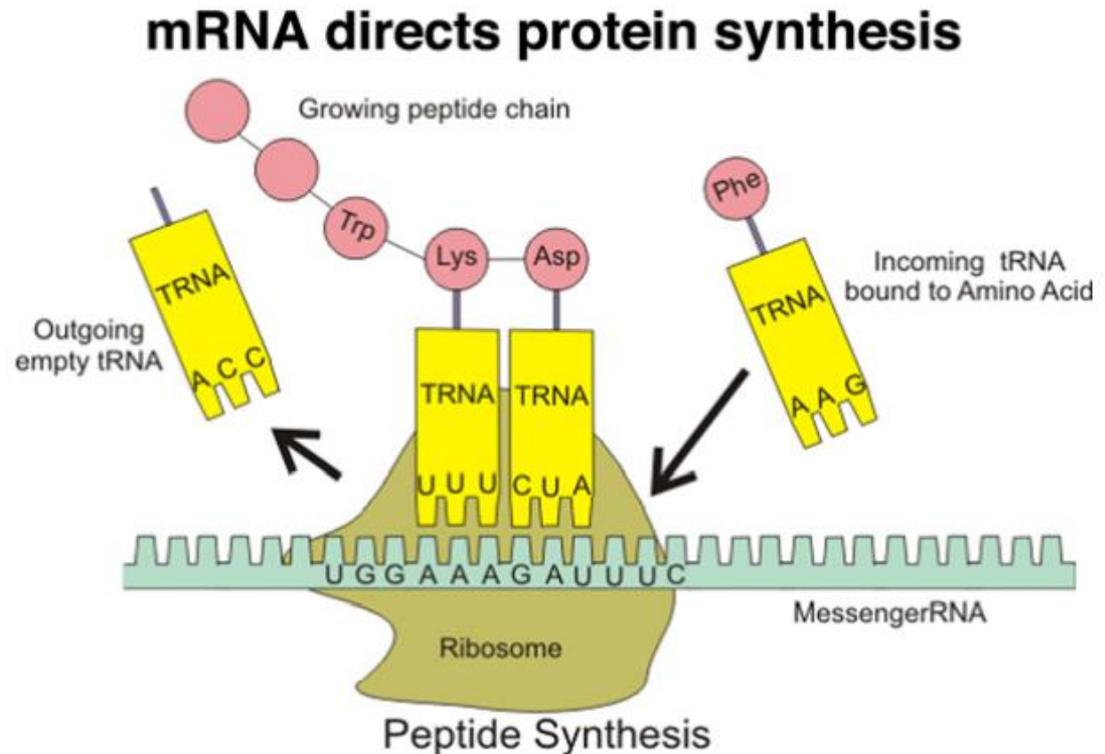
Origine dei nuovi farmaci

- ✓ Acidi nucleici come bersagli di farmaci

Poiché esistono 64 diverse combinazioni di codoni e solo 20 amminoacidi codificanti, diversi codoni possono codificare per uno stesso amminoacido.

Si dice che il codice genetico è ridondante.

Di solito i codoni codificanti per uno stesso amminoacido presentano gli stessi nucleotidi nelle prime due posizioni



Origine dei nuovi farmaci

✓ Acidi nucleici come bersagli di farmaci

Ci sono farmaci che interagiscono con il DNA e farmaci che interagiscono con l'RNA.

Quelli che interagiscono con il DNA, possono essere raggruppati nelle seguenti categorie:

- Agenti intercalanti
- Veleni delle topoisomerasi (non intercalanti)
- Agenti alchilanti
- Tagliatori di catena
- Terminatori di catena

Origine dei nuovi farmaci

- ✓ Acidi nucleici come bersagli di farmaci

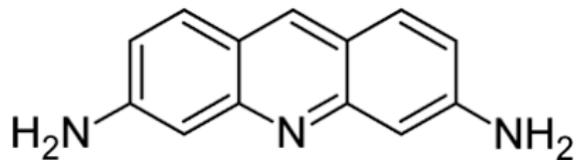
Agenti intercalanti

Sono composti a struttura planare, generalmente eteroaromatica, che si inseriscono tra gli strati di coppie di basi della doppia elica del DNA. Una volta che si sono inseriti, gli anelli aromatici sono trattenuti da interazione di van der Waals. Molti farmaci intercalanti contengono anche gruppi ionizzati che possono interagire con i gruppi fosfato rinforzando così l'interazione. Una volta che le strutture si sono intercalate, una varietà di processi che prevengono la replicazione e trascrizione possono aver luogo, portando così alla morte cellulare.

Origine dei nuovi farmaci

- ✓ Acidi nucleici come bersagli di farmaci

Agenti intercalanti



Proflavina: antibatterico

**Impedisce
replicazione e trascrizione**

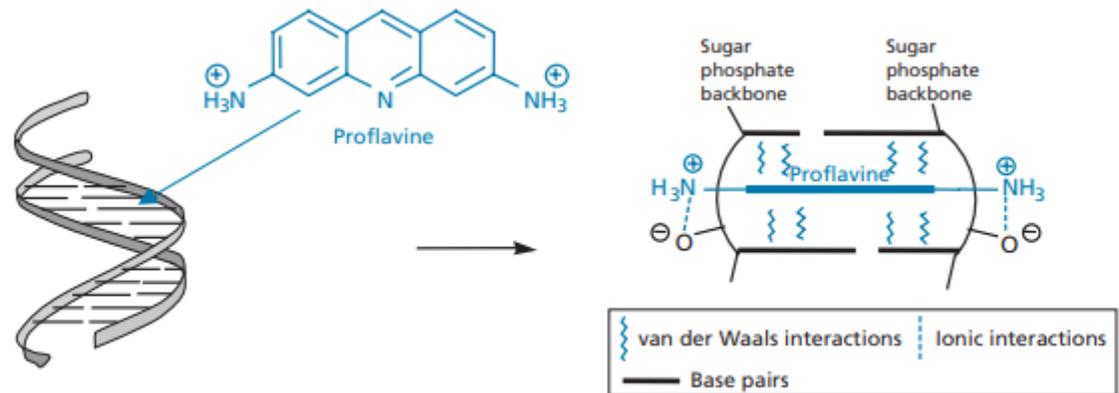
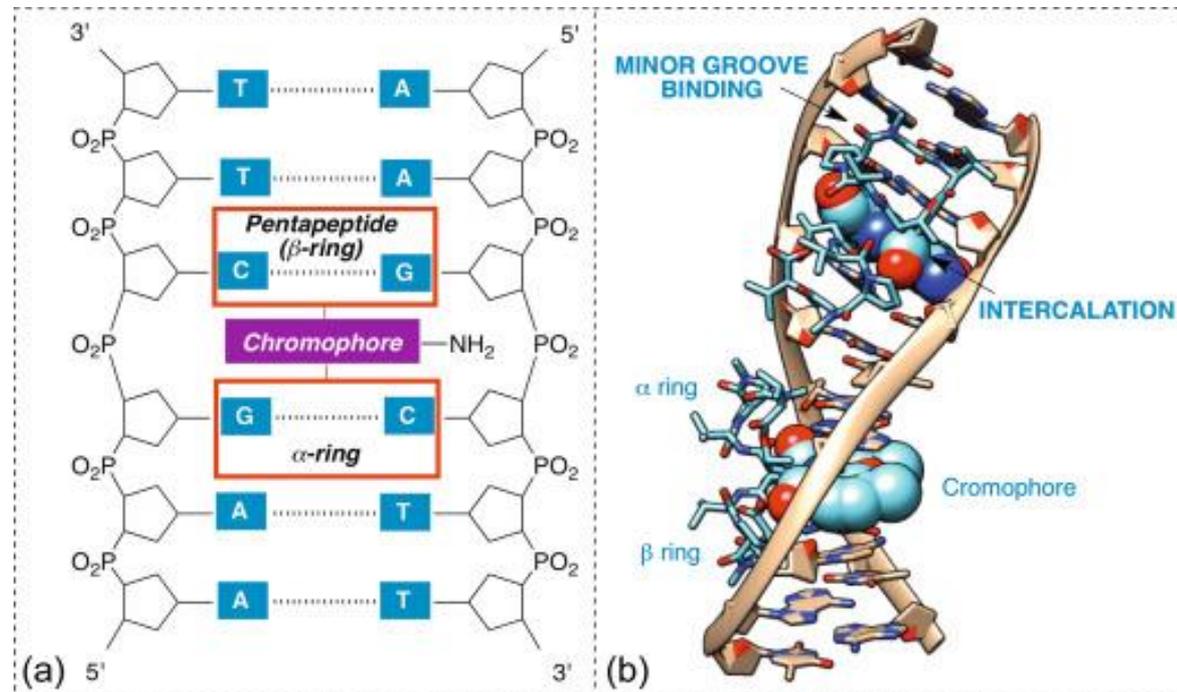
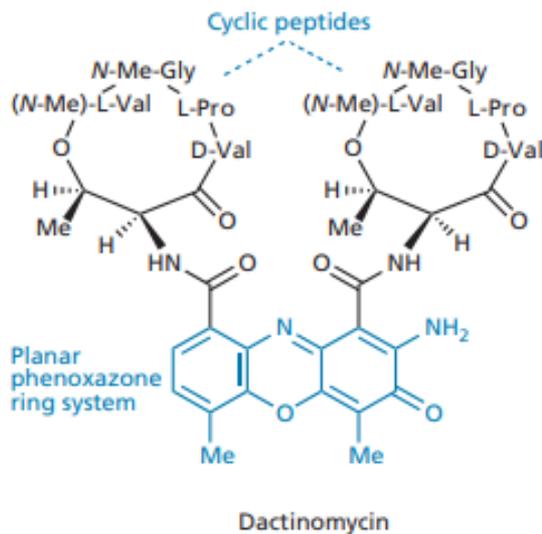


FIGURE 9.1 The intercalation of proflavine with DNA.

Origine dei nuovi farmaci

- ✓ Acidi nucleici come bersagli di farmaci

Agenti intercalanti: antitumorali

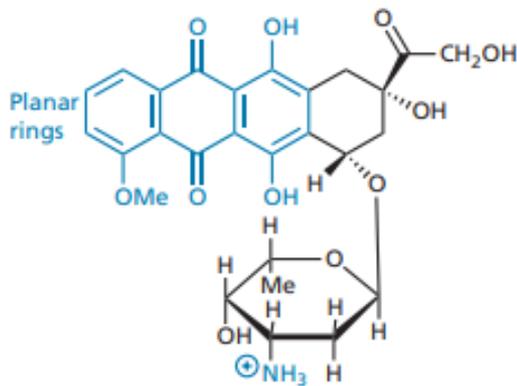


Dactinomycin (actinomycin D): blocco RNA- polimerasi DNA dipendente

Origine dei nuovi farmaci

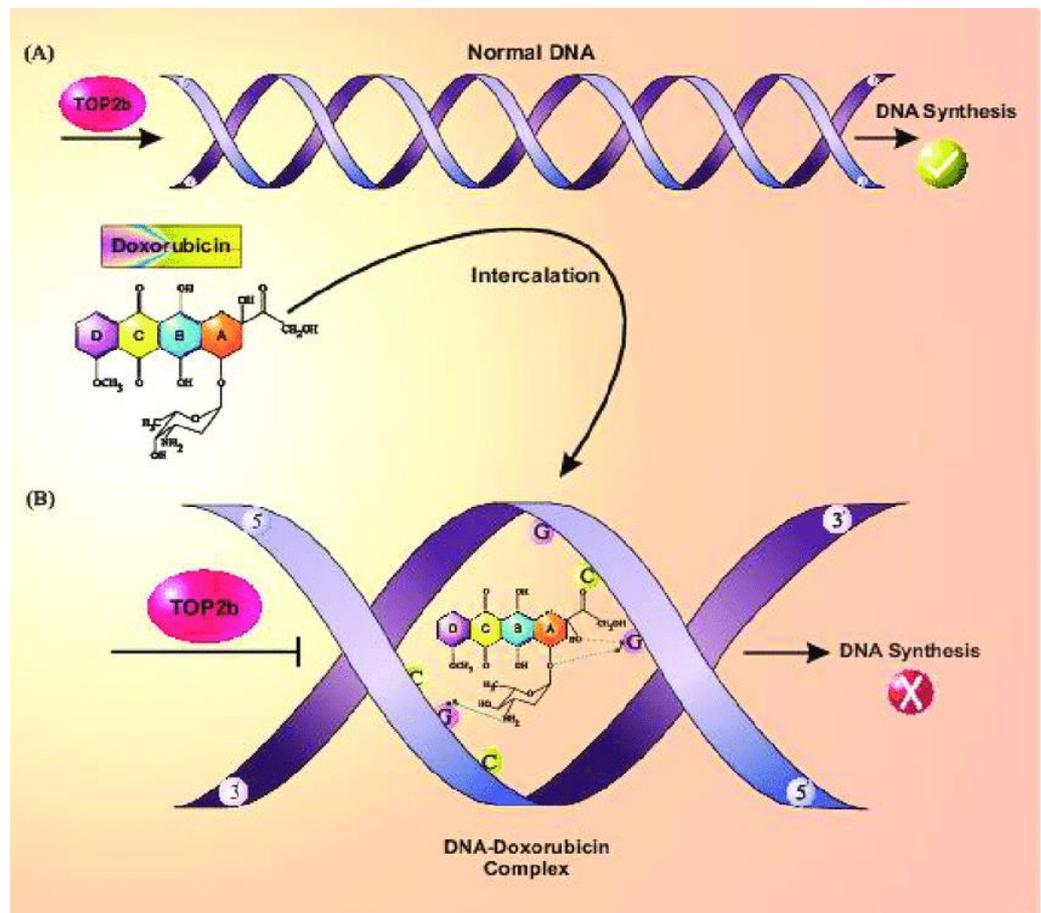
- ✓ Acidi nucleici come bersagli di farmaci

Agenti intercalanti: antitumorali



Doxorubicin

Doxorubicina: blocco
Topoisomerasi II

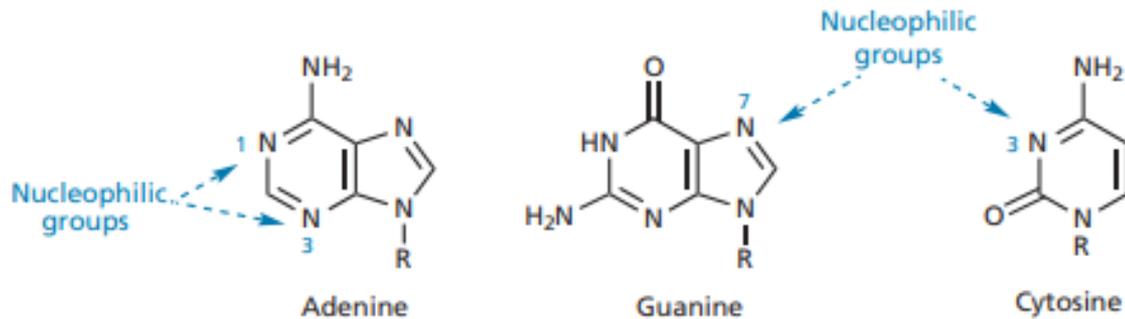


Origine dei nuovi farmaci

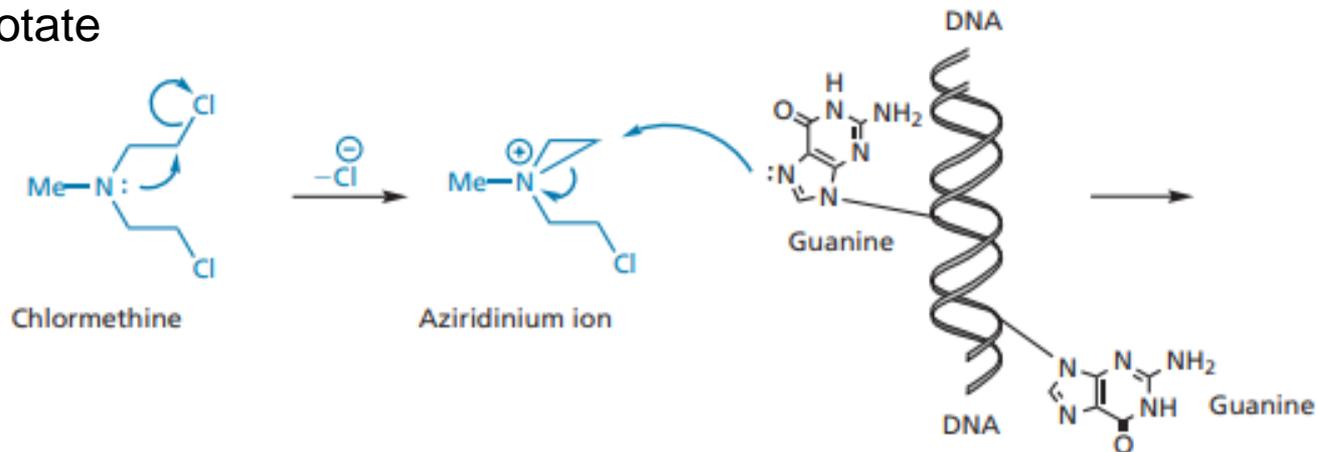
- ✓ Acidi nucleici come bersagli di farmaci

Agenti alchilanti e metallanti:

Composti elettrofili che agiscono con nucleofili per formare forti legami covalenti



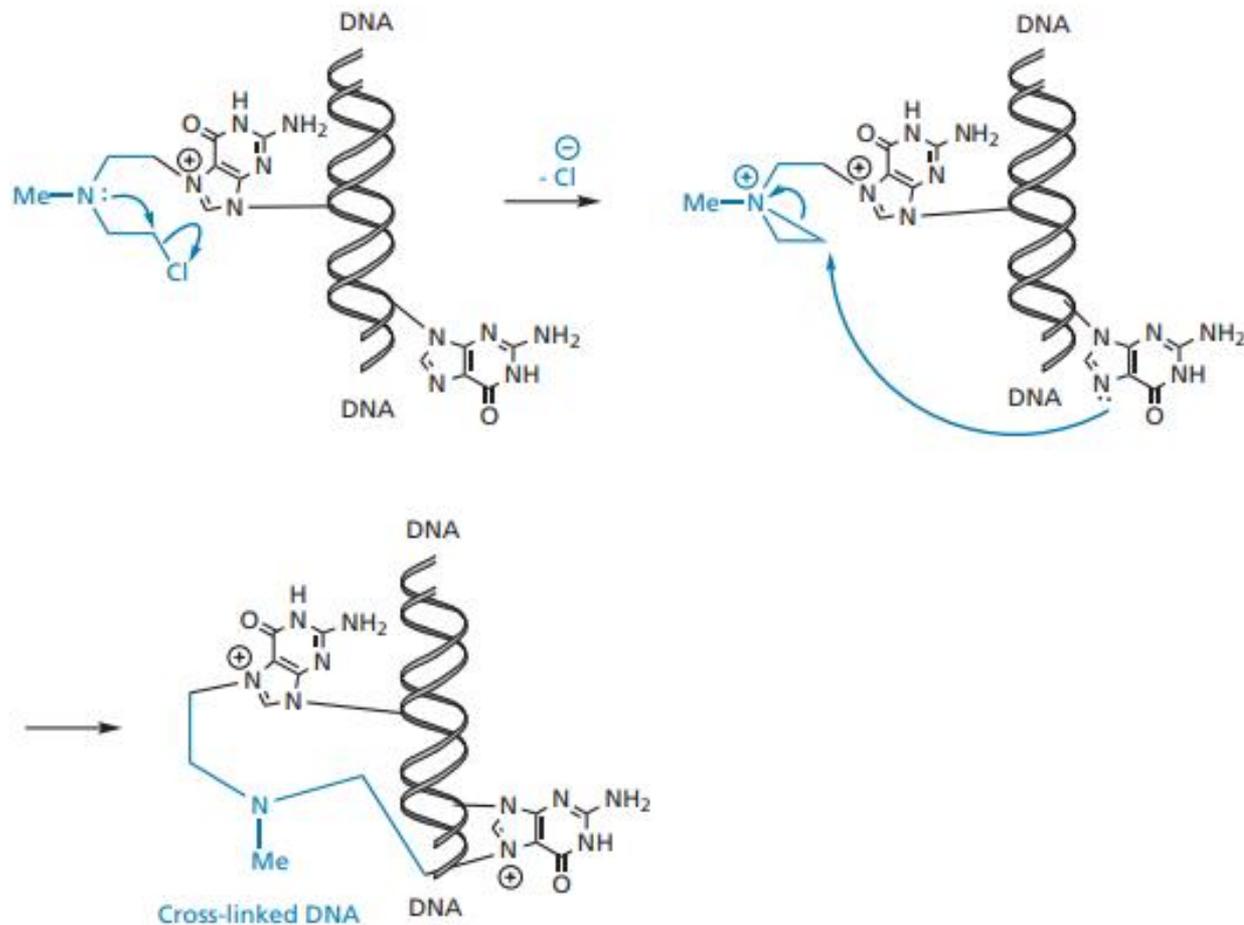
Mostarde azotate



Origine dei nuovi farmaci

- ✓ Acidi nucleici come bersagli di farmaci

Mostarde azotate

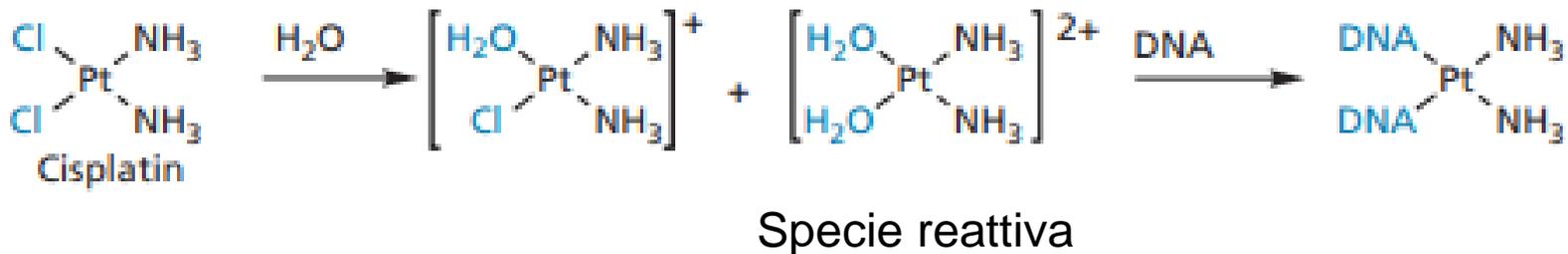


Origine dei nuovi farmaci

- ✓ Acidi nucleici come bersagli di farmaci

Cisplatino

La struttura è costituita da un atomo centrale di platino, legato covalentemente a due cloro, mentre le due molecole di ammoniaca fungono da ligandi. La struttura generale è neutra e non reattiva. Una volta è entrato nelle cellule, tuttavia, entra in un ambiente che ha una bassa concentrazione di ioni cloruro. Questo porta a fuoriuscita di Cl e introduzione di due molecole d'acqua.



Origine dei nuovi farmaci

✓ Acidi nucleici come bersagli di farmaci

- Tagliatori di catena

I tagliatori di catena «tagliano» i filamenti di DNA ed impediscono all'enzima DNA ligasi di riparare il danno

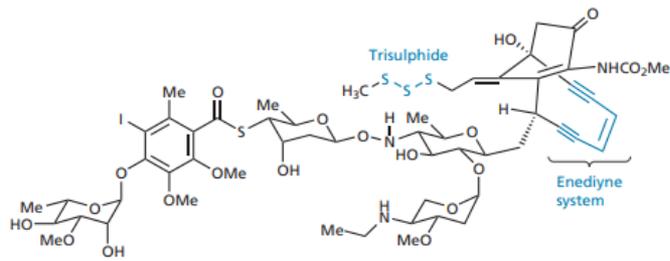


FIGURE 9.18 Calicheamicin γ^1 .

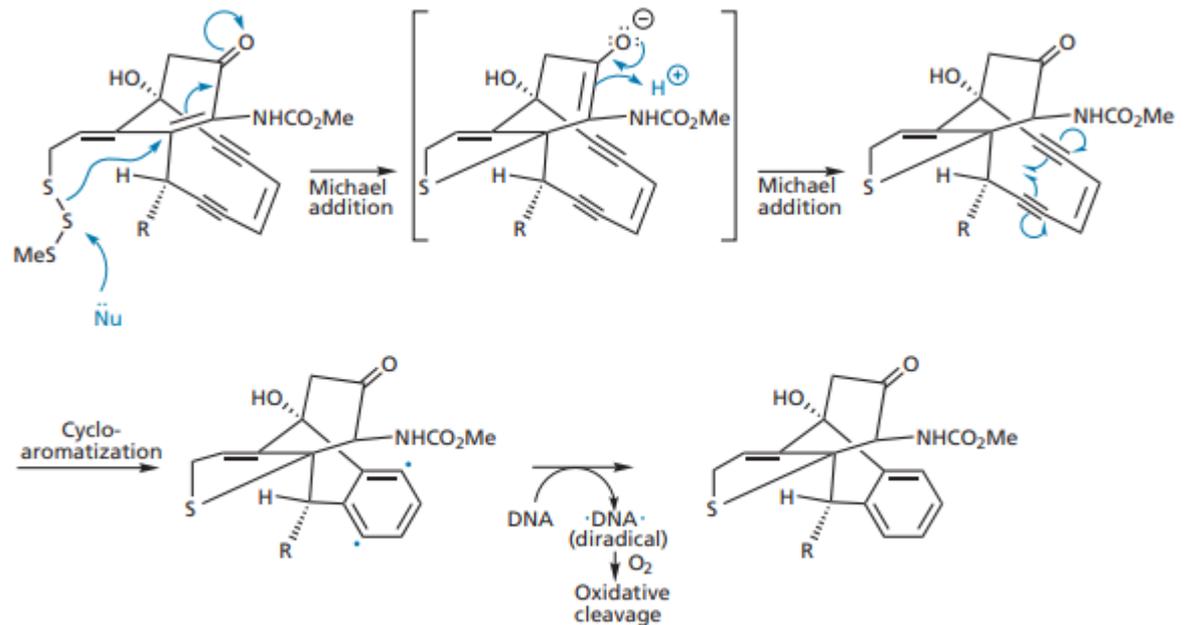


FIGURE 9.19 Mechanism of action of calicheamicin γ^1 .

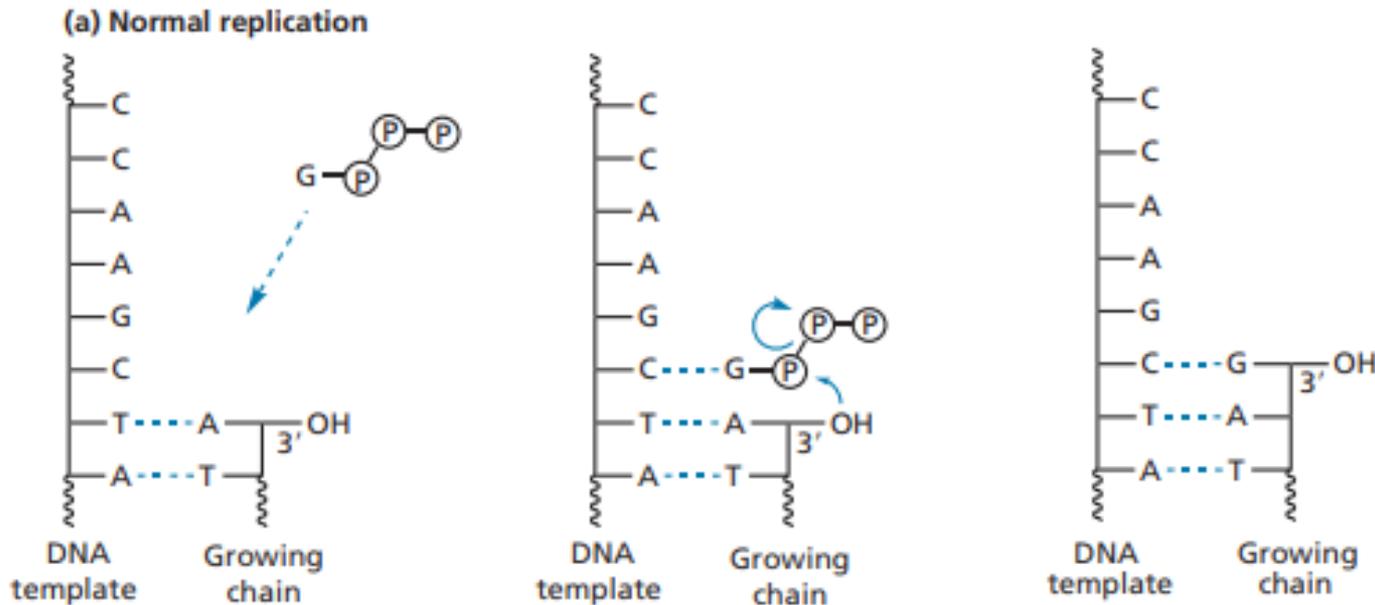
Origine dei nuovi farmaci

✓ Acidi nucleici come bersagli di farmaci

- Terminatori di catena

I terminatori di catena sono farmaci che agiscono come "falsi substrati" e sono incorporati nella catena di DNA in crescita durante la replicazione. Una volta aggiunti, la catena non può più essere allungata e la sua crescita si arresta.

I farmaci che agiscono in questo modo vengono "scambiati" per falsi nucleotidi trifosfati.



Origine dei nuovi farmaci

✓ Acidi nucleici come bersagli di farmaci

- Terminatori di catena

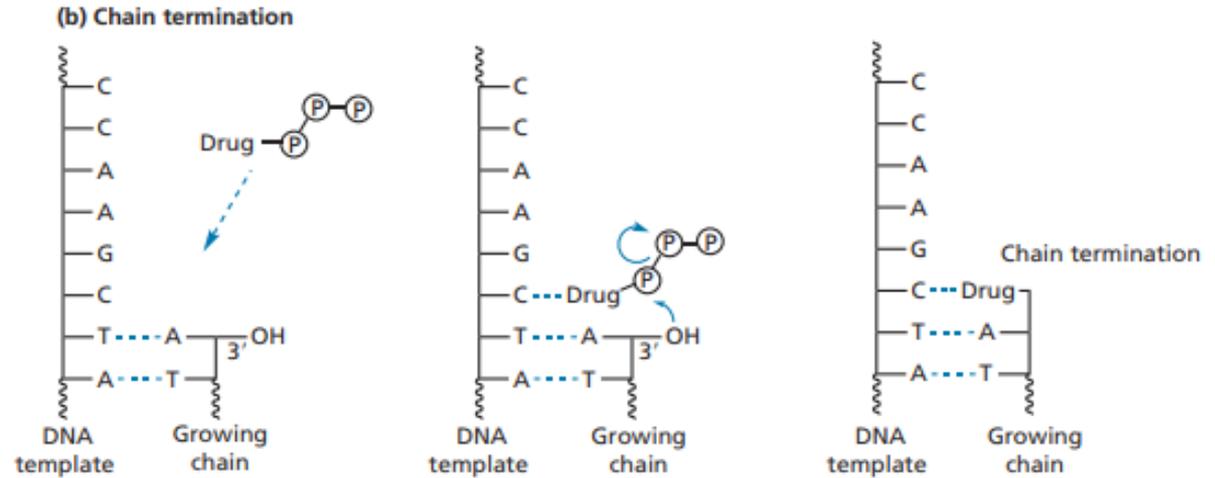


FIGURE 9.20 (a) The normal replication mechanism. (b) A drug acting as a chain terminator. (Ⓟ = Phosphate)

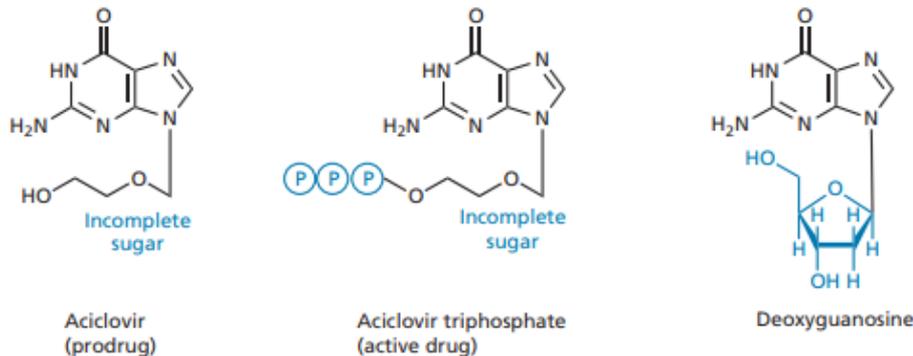


FIGURE 9.21 Structure of aciclovir, aciclovir triphosphate, and deoxyguanosine. (Ⓟ = Phosphate)

Origine dei nuovi farmaci

- ✓ Acidi nucleici come bersagli di farmaci

Agenti che agiscono sull'RNA:

Un gran numero di agenti antibatterici impedisce la sintesi proteica nelle cellule batteriche legandosi ai ribosomi ed inibendo il processo di traduzione.

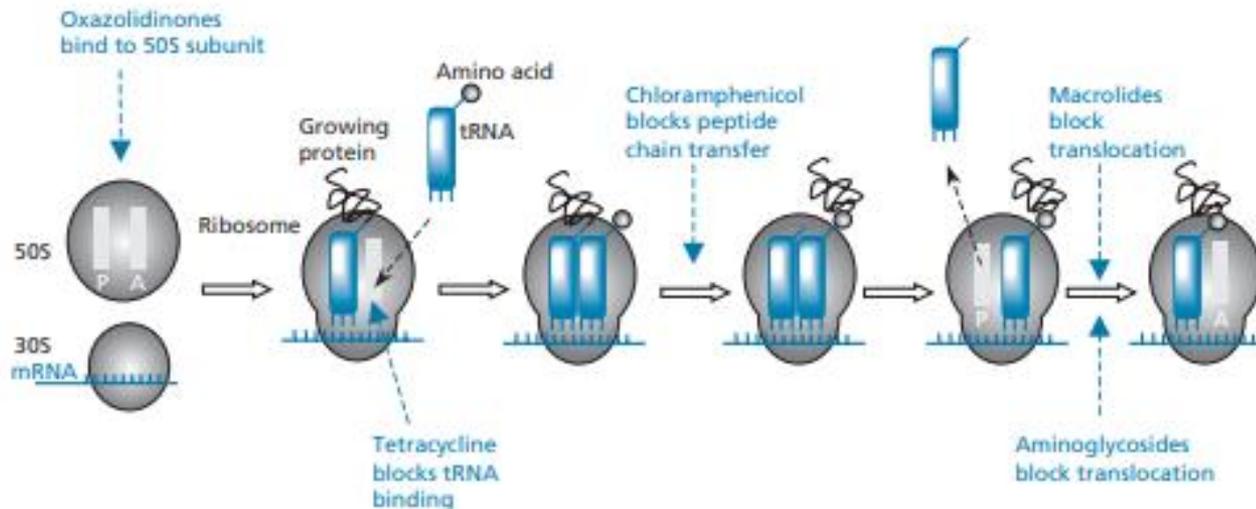


FIGURE 19.64 Stages at which antibacterial agents inhibit translation.

Origine dei nuovi farmaci

- ✓ Acidi nucleici come bersagli di farmaci

Agenti che agiscono sull'RNA: Terapia antisense.

Assumendo che sia nota la sequenza primaria di una molecola di mRNA, si può sintetizzare un oligonucleotide contenete basi che sono complementari ad uno specifico segmento della molecola di mRNA (oligonucleotide antisense) → blocco della sintesi proteica

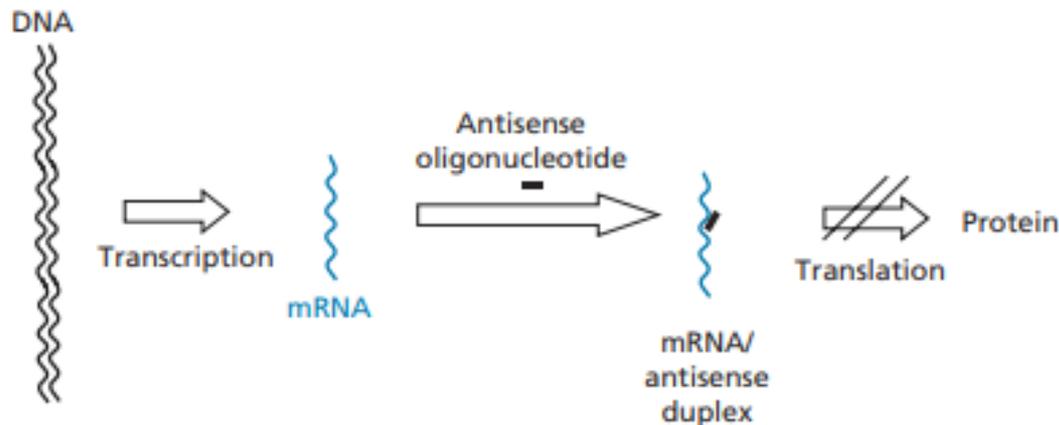
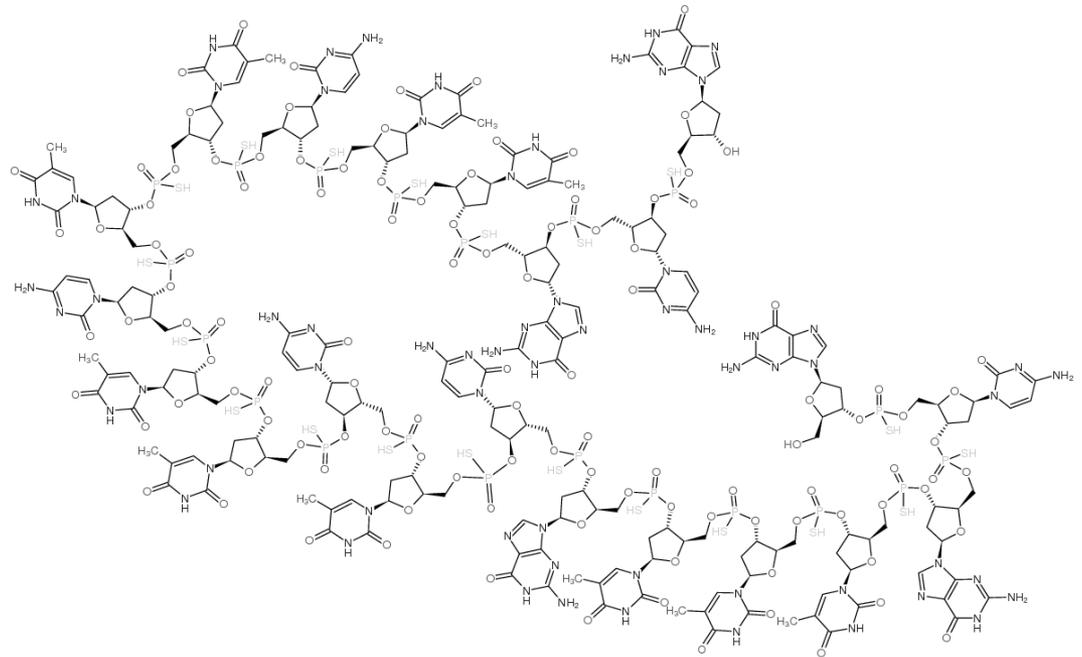


FIGURE 9.23 The principles of antisense therapy.

Origine dei nuovi farmaci

- ✓ Acidi nucleici come bersagli di farmaci

Agenti che agiscono sull'RNA: Terapia antisenso.



Utilizzato nel trattamento della retinopatia da citomegalovirus nei soggetti immunocompromessi come, ad esempio, nei soggetti affetti da HIV. Viene utilizzato per via intravitreale (iniezione diretta nel globo oculare).

In quanto oligonucleotide fosforotioato il composto si presenta resistente alla degradazione operata dalle nucleasi.