

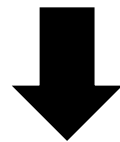
# Ricerca e sviluppo del farmaco e aspetti regolatori



# 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

# Farmacocinetica ed argomenti correlati

- ✓ Le tre fasi dell'azione dei farmaci
  1. Fase farmaceutica
  2. Farmacocinetica
  3. Farmacodinamica

# Farmacocinetica ed argomenti correlati

## ✓ Le tre fasi dell'azione dei farmaci

### 1. Fase farmaceutica

Per un farmaco attivo oralmente, la fase farmaceutica comprende la disintegrazione della compressa nel tratto gastrointestinale (GIT), il rilascio del farmaco e la sua dissoluzione

### 2. Farmacocinetica

Comprende l'assorbimento dal GIT nel torrente circolatorio e i vari fattori che determinano la sopravvivenza del farmaco nel suo viaggio verso il target

### 3. Farmacodinamica

Comprende i meccanismi attraverso i quali il farmaco interagisce con il bersaglio biologico.

# Farmacocinetica ed argomenti correlati

## FASI D'AZIONE DEI FARMACI:

**FASE  
FARMACEUTICA**

**FASE  
FARMACOCINETICA**

**FASE  
FARMACODINAMICA**

*Somministrazione*



Liberazione del farmaco dalla  
forma farmaceutica  
Dissoluzione del farmaco



**A**ssorbimento  
**D**istribuzione  
**M**etabolismo  
**E**screzione



Interazione farmaco-  
macromolecola recettoriale



*Effetto*

# Farmacocinetica ed argomenti correlati

## FASI D'AZIONE DEI FARMACI:

**FASE  
FARMACEUTICA**

**FASE  
FARMACOCINETICA**

**FASE  
FARMACODINAMICA**

*Somministrazione*



Liberazione del farmaco dalla  
forma farmaceutica  
Dissoluzione del farmaco



**A**ssorbimento  
**D**istribuzione  
**M**etabolismo  
**E**screzione



Interazione farmaco-  
macromolecola recettoriale



*Effetto*

# Farmacocinetica ed argomenti correlati

## FARMACOCINETICA

La Farmacocinetica studia il percorso del farmaco nell'organismo. In particolare:

- **A**ssorbimento
- **D**istribuzione
- **M**etabolismo
- **E**scresione

Gli studi di farmacocinetica permettono di stabilire:

- La corretta posologia di un farmaco
- La via di somministrazione più opportuna



# **Farmacocinetica ed argomenti correlati**

## **ASSORBIMENTO**

- **Trasferimento del principio attivo dal sito di assorbimento al torrente ematico**
- **Per raggiungere il torrente ematico il farmaco deve generalmente attraversare una o più membrane biologiche a seconda della via di somministrazione**

# **Farmacocinetica ed argomenti correlati**

## **DIFFUSIONE E TRASPORTO DEI FARMACI**

- 1. DIFFUSIONE O FILTRAZIONE PARACELLULARE**
- 2. PASSAGGIO ATTRAVERSO LE MEMBRANE CELLULARI**

# Farmacocinetica ed argomenti correlati

## 1. DIFFUSIONE O FILTRAZIONE PARACELLULARE

Diffusione del principio attivo attraverso gli interstizi che separano una cellula dall'altra



- **Influenzata principalmente dalle dimensioni della molecola e degli spazi interstiziali**
- **Si svolge all'interno di compartimenti acquosi comunicanti**
- **La spinta alla diffusione è costituita dal gradiente di concentrazione ai due lati della membrana**

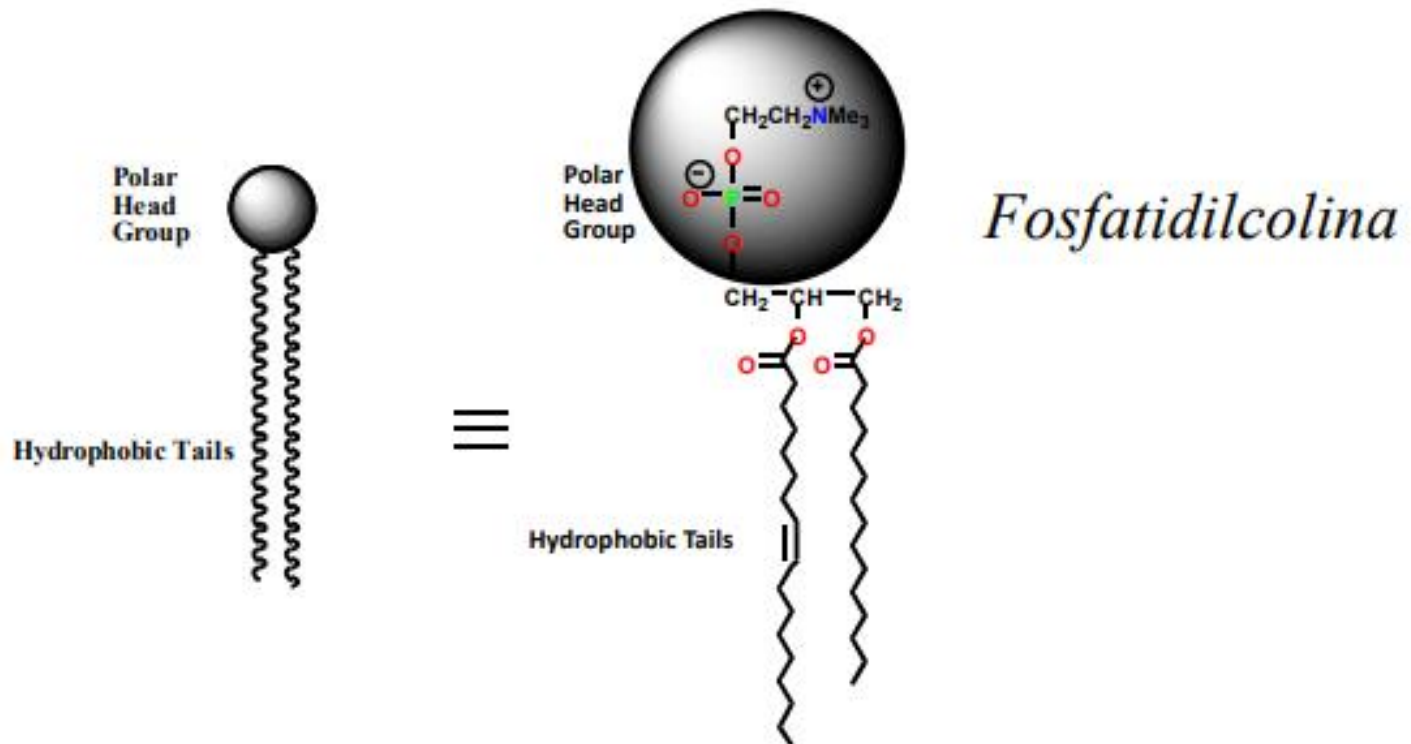
# Farmacocinetica ed argomenti correlati

## 2. PASSAGGIO ATTRAVERSO LE MEMBRANE CELLULARI

- Diffusione convettiva
- Diffusione passiva
- Trasporto mediato da una proteina trasportatrice (carrier)
  - Diffusione facilitata
  - Trasporto attivo
- Endocitosi

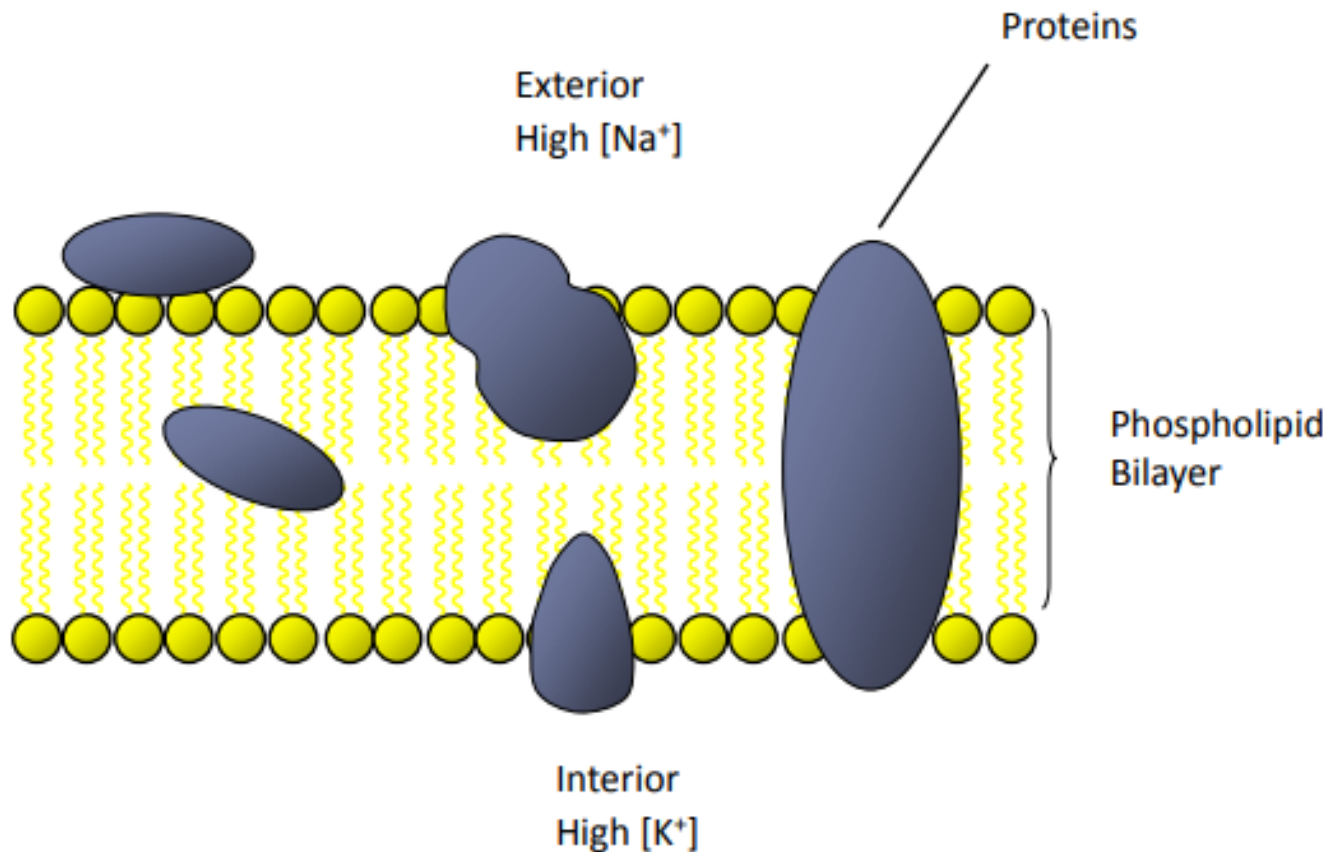
# Farmacocinetica ed argomenti correlati

## Membrana cellulare



# Farmacocinetica ed argomenti correlati

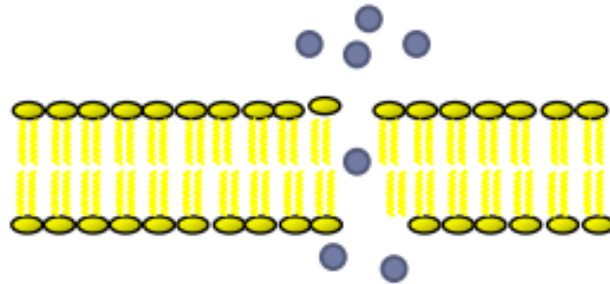
## Membrana cellulare



# Farmacocinetica ed argomenti correlati

## • Diffusione convettiva

- Diffusione attraverso canalicoli acquosi di diametro  $< 7 \text{ \AA}$  che sono presenti nella membrana cellulare
- Diffondono molecole di basso PM ( $< 150$  Dalton), idrofile e non ioniche

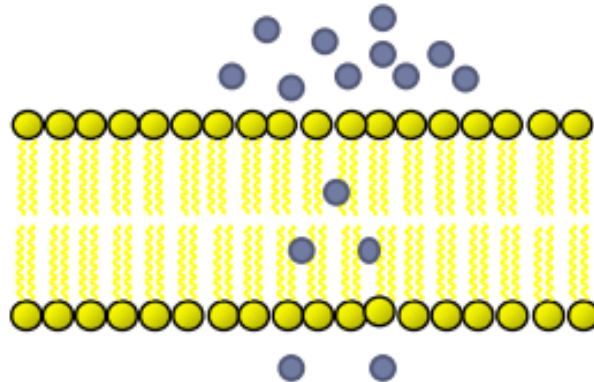


Etanolo, glicerina ed urea possono diffondere attraverso questi canali

# Farmacocinetica ed argomenti correlati

## • Diffusione passiva

- Per diffusione passiva la molecola attraverso la membrana lungo il gradiente di concentrazione



- Comporta la ripartizione tra il fluido acquoso nel quale è disciolto ed i lipidi di membrana, la diffusione attraverso la membrana da un lato all'altro della membrana e la ripartizione tra la membrana e il nuovo fluido acquoso
- La maggior parte delle molecole lipofile o di media polarità è in grado di attraversare le membrane per diffusione passiva
- Non passano le molecole idrofile, le macromolecole, le sostanze molto lipofile e i tensioattivi



# Farmacocinetica ed argomenti correlati

La velocità di **diffusione passiva** di un soluto attraverso una membrana cellulare è regolata dalla **legge di Fick**

$$V = \frac{(C_1 - C_2) A K}{s}$$

Dove:

$V = \Delta C / \Delta T$  è la velocità di diffusione

$C_1$  e  $C_2$  = concentrazioni di soluto nei due compartimenti

$A$  = area superficiale di membrana

$s$  = spessore della membrana

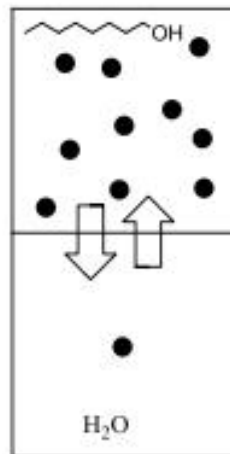
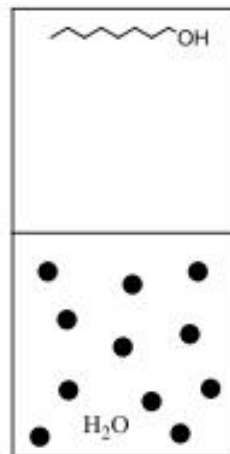
$K$  = **coefficiente di diffusione** che dipende dalla natura del soluto, dalla membrana e dalla temperatura ed è direttamente proporzionale al  $P$  ed inversamente proporzionale alla radice quadrata del diametro del soluto o del suo  $PM$

# Farmacocinetica ed argomenti correlati

**P** è il **coefficiente di ripartizione** del farmaco tra la fase lipidica e quella acquosa

$$P = \frac{[\text{farmaco}]_{\text{fase lipidica}}}{[\text{farmaco}]_{\text{fase acquosa}}}$$

Per determinare sperimentalmente P usualmente si impiega comunemente la coppia di solventi n-ottanolo e acqua (tampone fosfato pH 7.4)



La lipofilia di una molecola si esprime comunemente come **logP**

**logP > 0**

**logP < 0**

**logP ~ 0**

**composti lipofili o apolari o idrofobici**

**composti idrofili o polari**

**composti di media polarità**

# Farmacocinetica ed argomenti correlati

I fluidi biologici presentano una vasta gamma di pH

Nel tratto gastrointestinale:

- pH tra 1 e 2 nello stomaco

*ambiente favorevole all'assorbimento di acidi deboli e sfavorevole all'assorbimento di basi deboli*

- pH tra 4 e 7 nel duodeno e ileo
- pH fino a 8 nel colon

*ambiente favorevole all'assorbimento di basi deboli e sfavorevole all'assorbimento di acidi deboli*

Tutti i farmaci, indipendentemente dal loro carattere acido o basico, sono comunque assorbiti soprattutto nell'intestino a causa della superficie assorbente notevolmente superiore, della maggiore perfusione ematica e dell'epitelio monostratificato.

# Farmacocinetica ed argomenti correlati

Per essere facilmente assorbiti **per diffusione passiva** è necessario che i farmaci presentino un corretto rapporto tra idrofilia e lipofilia

I farmaci assorbiti per via orale obbediscono alla **regola del cinque di Lipinski**

I fattori rilevanti perché un farmaco venga assorbito se somministrato per via orale implicano numeri che sono multipli di 5:

- $PM < 500$
- Non più di 5 gruppi donatori di legami idrogeno
- Non più di 10 gruppi accettori di legami idrogeno
- Valore di  $\log P$  compreso  $< +5$  (compreso tra  $-1$  e  $+5$ )

# Farmacocinetica ed argomenti correlati



Advanced Drug Delivery Reviews 23 (1997) 3–25

advanced  
drug delivery  
reviews

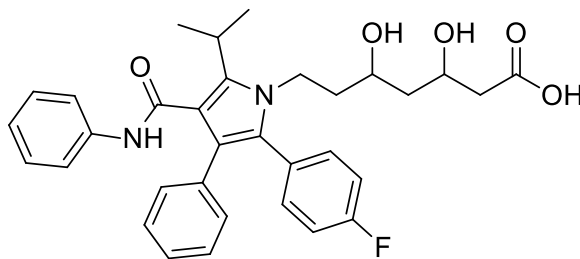
Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings

Christopher A. Lipinski\*, Franco Lombardo, Beryl W. Dominy, Paul J. Feeney

*Central Research Division, Pfizer Inc., Groton, CT 06340, USA*

Eccezioni:

atorvastatina



Chemical Formula:  $C_{33}H_{35}FN_2O_5$

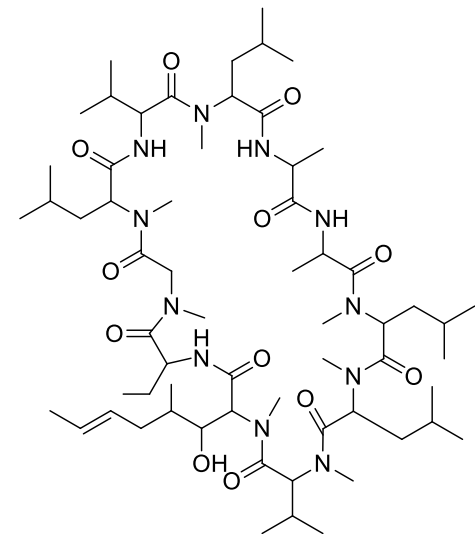
Exact Mass: 558,25

Molecular Weight: 558,64

m/z: 558.25 (100.0%), 559.26 (36.3%), 560.26 (7.4%), 561.26 (1.1%)

Elemental Analysis: C, 70.95; H, 6.31; F, 3.40; N, 5.01; O, 14.32

ciclosporina



Chemical Formula:  $C_{62}H_{111}N_{11}O_{12}$

Exact Mass: 1201,84

Molecular Weight: 1202,61

# Farmacocinetica ed argomenti correlati

## Molecular Properties That Influence the Oral Bioavailability of Drug Candidates

Daniel F. Veber,<sup>\*,†</sup> Stephen R. Johnson,<sup>‡,§</sup> Hung-Yuan Cheng,<sup>||</sup> Brian R. Smith,<sup>⊥</sup> Keith W. Ward,<sup>⊥</sup> and Kenneth D. Kopple<sup>‡,\*</sup>

*Departments of Medicinal Chemistry, Cheminformatics, Computational Analytical and Structural Sciences, and Drug Metabolism and Pharmacokinetics, GlaxoSmithKline, 709 Swedeland Road, P. O. Box 1539, King of Prussia, Pennsylvania 19406-0939*

*Received January 9, 2002*

Oral bioavailability measurements in rats for over 1100 drug candidates studied at SmithKline Beecham Pharmaceuticals (now GlaxoSmithKline) have allowed us to analyze the relative importance of molecular properties considered to influence that drug property. Reduced molecular flexibility, as measured by the number of rotatable bonds, and low polar surface area or total hydrogen bond count (sum of donors and acceptors) are found to be important predictors of good oral bioavailability, independent of molecular weight. That on average both the number of rotatable bonds and polar surface area or hydrogen bond count tend to increase with molecular weight may in part explain the success of the molecular weight parameter in predicting oral bioavailability. The commonly applied molecular weight cutoff at 500 does not itself significantly separate compounds with poor oral bioavailability from those with acceptable values in this extensive data set. Our observations suggest that compounds which meet only the two criteria of (1) 10 or fewer rotatable bonds and (2) polar surface area equal to or less than 140 Å<sup>2</sup> (or 12 or fewer H-bond donors and acceptors) will have a high probability of good oral bioavailability in the rat. Data sets for the artificial membrane permeation rate and for clearance in the rat were also examined. Reduced polar surface area correlates better with increased permeation rate than does lipophilicity ( $C \log P$ ), and increased rotatable bond count has a negative effect on the permeation rate. A threshold permeation rate is a prerequisite of oral bioavailability. The rotatable bond count does not correlate with the data examined here for the in vivo clearance rate in the rat.

# Farmacocinetica ed argomenti correlati

*J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 2615–2623

2615

## **Molecular Properties That Influence the Oral Bioavailability of Drug Candidates**

Daniel F. Veber,<sup>\*,†</sup> Stephen R. Johnson,<sup>‡,§</sup> Hung-Yuan Cheng,<sup>||</sup> Brian R. Smith,<sup>⊥</sup> Keith W. Ward,<sup>⊥</sup> and Kenneth D. Kopple<sup>‡,\*</sup>

*Departments of Medicinal Chemistry, Cheminformatics, Computational Analytical and Structural Sciences, and Drug Metabolism and Pharmacokinetics, GlaxoSmithKline, 709 Swedeland Road, P. O. Box 1539, King of Prussia, Pennsylvania 19406-0939*

*Received January 9, 2002*

Il lavoro svolto da Veber et al nel 2002 mostrò il ruolo sorprendente della flessibilità molecolare nella biodisponibilità orale.

Più è flessibile la molecola, minore è la sua capacità di essere attiva per via orale.

Per misurare la flessibilità, è possibile contare il numero di legami con rotazione libera.

Inoltre, dimostrò che l'area della superficie polare della molecola poteva essere utilizzata Come fattore rilevante al posto del numero di gruppi di legame a idrogeno.

# Farmacocinetica ed argomenti correlati

*J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 2615–2623

2615

## Molecular Properties That Influence the Oral Bioavailability of Drug Candidates

Daniel F. Veber,<sup>\*,†</sup> Stephen R. Johnson,<sup>‡,§</sup> Hung-Yuan Cheng,<sup>||</sup> Brian R. Smith,<sup>⊥</sup> Keith W. Ward,<sup>⊥</sup> and Kenneth D. Kopple<sup>†,\*</sup>

*Departments of Medicinal Chemistry, Cheminformatics, Computational Analytical and Structural Sciences, and Drug Metabolism and Pharmacokinetics, GlaxoSmithKline, 709 Swedeland Road, P. O. Box 1539, King of Prussia, Pennsylvania 19406-0939*

- Un'area di superficie polare  $\leq 140 \text{ \AA}^2$  ed un numero di legami con rotazione libera  $\leq 10$

- Un numero totale di gruppi donatori ed accettori di legame ad idrogeno  $\leq 12$  ed un numero di legami con rotazione libera  $\leq 10$

**Table 2.** Oral Bioavailability Quartile Property Averages for the Rat Oral Bioavailability Data Set and for Subsets Divided on the Basis of Molecular Weight<sup>a</sup>

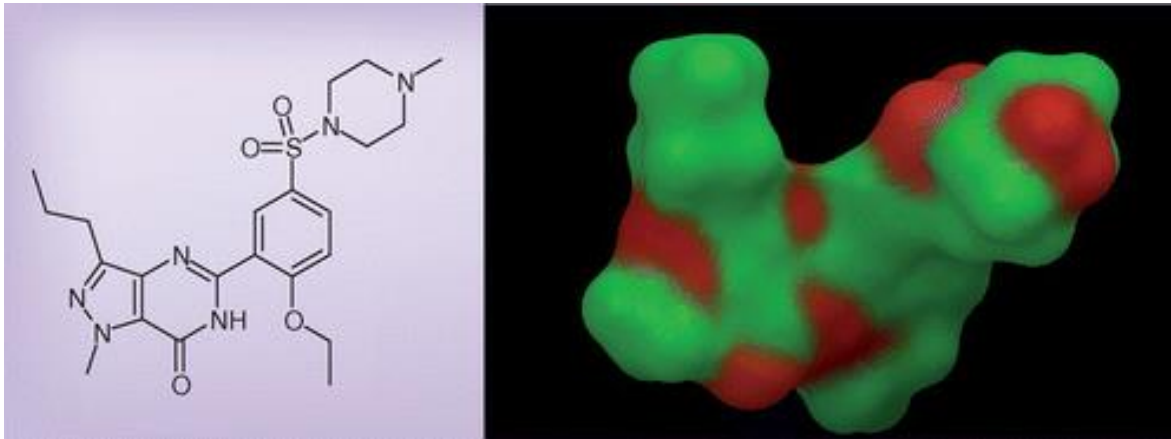
quartile	%F range (rat)	MW	no. of rotatable bonds	<i>C log P</i> <sup>b</sup>	H-bond donor count	H-bond acceptor count	H-bond total count	polar surface area (Å <sup>2</sup> )
Full Data Set, MW range 220–770, <i>n</i> = 1117								
4	>42.7–100	431.6	<i>6.17</i>	4.45	1.75	5.81	7.56	87.8
3	>15.5–42.7	483.9	8.15	4.78	2.03	6.60	8.63	94.0
2	>4.3–15.5	492.3	9.00	4.38	2.40	7.12	9.52	103.6
1	<4.3	511.1	10.22	3.49	2.99	8.06	11.05	123.3
all	av 28.7	479.8	8.39	4.27	2.29	6.90	9.20	102.2
	<i>r</i> with %F	–0.35	–0.39	0.10	–0.32	–0.35	–0.39	–0.30
MW > 550, <i>n</i> = 237								
4	23–100	600.1	10.34	6.21	1.59	7.44	9.03	97.0
3	6.2–23	608.8	11.02	5.91	1.64	7.73	9.37	99.9
2	2.7–6.1	623.4	12.98	5.22	2.47	9.46	11.93	129.3
1	0–2.7	627.8	13.60	4.13	2.83	10.00	12.83	141.2
all	av 15.3	615.1	11.99	5.36	2.14	8.66	10.80	117.0
	<i>r</i> with %F	–0.20	–0.40	0.27	–0.27	–0.33	–0.34	–0.27
MW 400 to $\leq 550$ , <i>n</i> = 668								
4	39.1–100	462.4	6.50	4.76	1.86	6.20	8.06	90.5
3	15.3–39.1	477.3	8.07	4.72	2.30	6.78	9.08	98.2
2	4.7–15.2	476.4	8.69	4.23	2.57	7.01	9.58	103.4
1	0–4.7	473.1	9.08	3.05	3.15	7.47	10.62	119.1
all	av 27.3	472.3	8.08	4.19	2.47	6.87	9.33	102.7
	<i>r</i> with %F	–0.17	–0.34	0.23	–0.33	–0.22	–0.30	–0.24
MW < 400, <i>n</i> = 212								
4	93–100	349.3	5.57	3.94	1.55	4.64	6.19	77.2
3	41–92.7	353.9	4.75	3.43	1.60	4.92	6.53	80.1
2	11–40.6	347.7	4.98	3.12	1.92	4.77	6.70	81.6
1	1–10	358.5	6.09	2.79	2.57	5.87	8.43	97.2
all	av 48.3	352.3	5.35	3.32	1.91	5.05	6.96	84.0
	<i>r</i> with %F	–0.05	–0.05	0.28	–0.33	–0.21	–0.28	–0.20

<sup>a</sup> Italicized values for the quartiles differ from the overall average of the set or subset at the 1% significance level or better. <sup>b</sup> Overall range –0.62 to +9.39.



# Farmacocinetica ed argomenti correlati

La superficie polare (PSA) è un descrittore molecolare ampiamente utilizzato nello studio dei meccanismi di assorbimento come assorbimento intestinale e della barriera emato-encefalica (BBB). È la somma dei contributi all'area superficiale molecolare (solitamente van der Waals) di atomi polari come ossigeno, azoto e i loro idrogeni attaccati

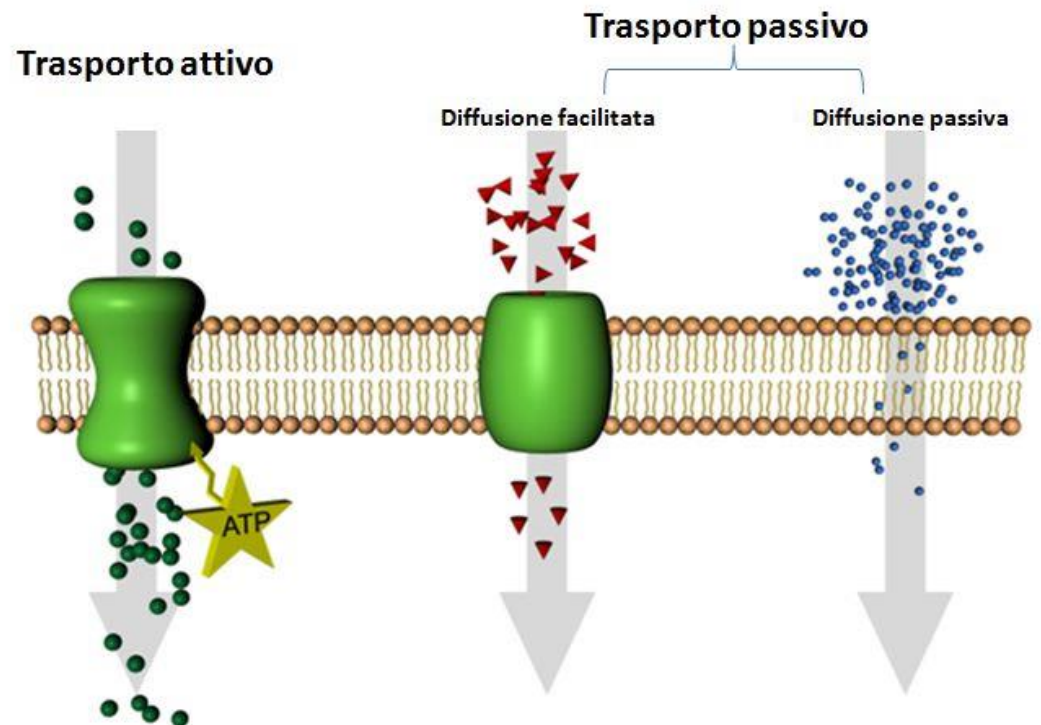


# Farmacocinetica ed argomenti correlati

Farmaci polari che non rispettano le suddette regole sono in generale scarsamente assorbiti e devono essere somministrati per iniezione. Tuttavia esistono varie eccezioni:

- **Proteine di trasporto**

sono essenziali per la sopravvivenza della cellula, poiché trasportano unità di costruzione fortemente polari richieste per diverse vie biosintetiche (aa e basi di acidi nucleici)



# Farmacocinetica ed argomenti correlati

- **Trasporto mediato da una proteina trasportatrice (carrier)**

## *Diffusione facilitata*

- non si ha consumo d'energia
- la diffusione avviene lungo il gradiente di concentrazione

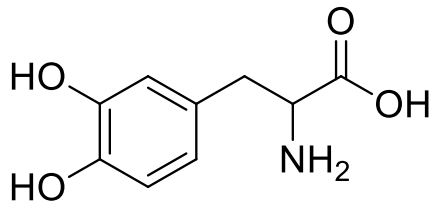
## *Trasporto attivo*

- si ha consumo d'energia fornita dall'idrolisi dell'ATP
- la diffusione può avvenire anche contro il gradiente di concentrazione

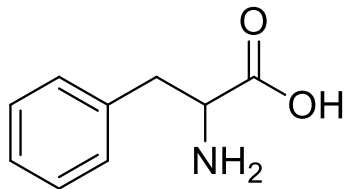
- In entrambi i casi la velocità di assorbimento raggiunge un massimo quando la concentrazione supera una certa soglia

# Farmacocinetica ed argomenti correlati

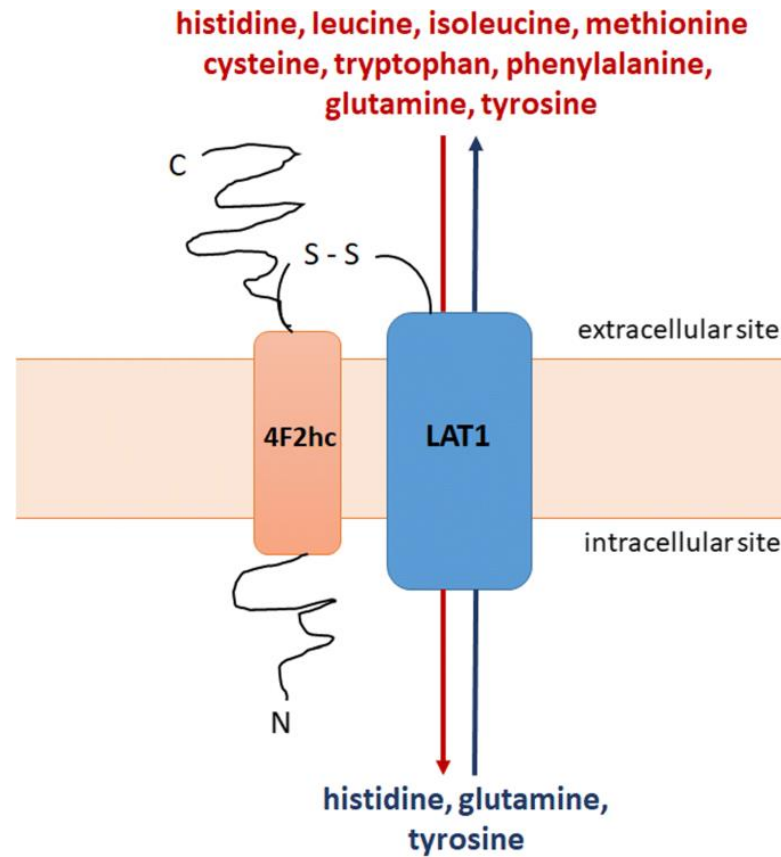
- **Trasporto mediato da una proteina trasportatrice (carrier)**



- Levodopa



- Fenilalanina

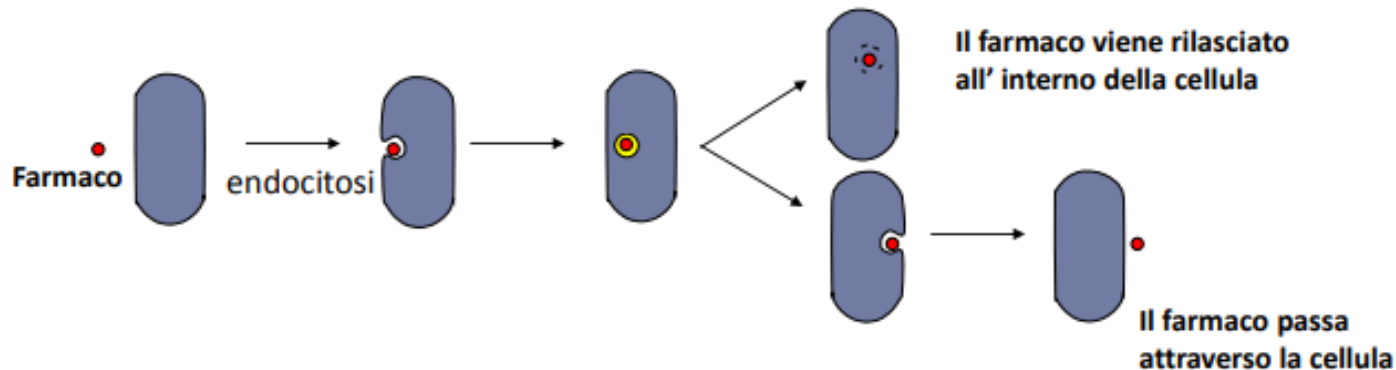


# Farmacocinetica ed argomenti correlati

- Farmaci molto polari possono essere assorbiti nel circolo sanguigno se hanno un PM basso (meno di 200 uma) in quanto possono attraversare piccoli pori tra le cellule della parete intestinale.

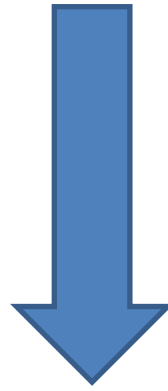
## • Endocitosi (fagocitosi e pinocitosi)

Processo che permette il passaggio di molecole polari ad alto PM (es insulina) senza passare realmente attraverso la membrana



# **Farmacocinetica ed argomenti correlati**

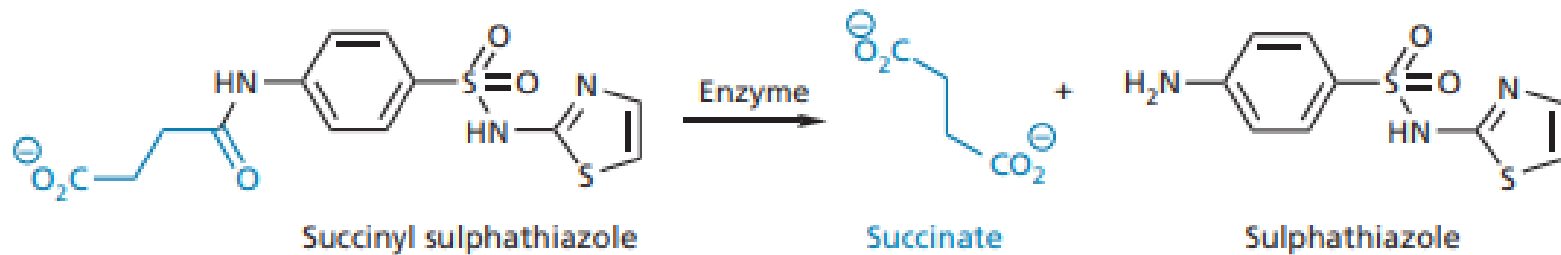
- **Qualche volta i farmaci sono deliberatamente progettati per essere altamente polari, in modo da NON poter essere assorbiti da GIT**



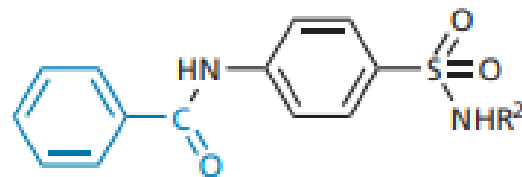
**Agenti antibatterici per il trattamento delle infezioni intestinali.**

# Farmacocinetica ed argomenti correlati

- Trattamento delle infezioni intestinali.



**FIGURE 1** Succinyl sulphathiazole is a prodrug of sulphathiazole.



**FIGURE 2** Substitution on the aniline nitrogen with benzoyl groups.

# Farmacocinetica ed argomenti correlati

## DISTRIBUZIONE

Una volta entrato nel circolo sanguigno il farmaco si distribuisce nei diversi compartimenti acquosi dell'organismo ( $V_{tot} = 0,5 - 0,7 \text{ lt/kg}$ )

- **liquido extracellulare** ( $V = 0,2 \text{ lt/kg}$ )(plasma ( $V = 0,05 \text{ lt/kg}$ ), liquido interstiziale ( $V = 0,15 \text{ lt/kg}$ ), linfa ( $V = 0,01 \text{ lt/kg}$ ))
- **liquido intracellulare** (contenuto all'interno delle cellule) ( $V = 0,3 - 0,4 \text{ lt/kg}$ )
- **liquido transcellulare** (liquido cerebrospinale, peritoneale, pleurico, intraoculare....) ( $V = 0,02 \text{ lt/kg}$ )

Per entrare nei compartimenti intracellulari e transcellulari deve attraversare le barriere cellulari



# Farmacocinetica ed argomenti correlati

## FATTORI CHE REGOLANO LA DISTRIBUZIONE

### ➤ **Proprietà fisiche del farmaco**

- lipofilia o idrofilia del farmaco
- comportamento acido-base
- dimensioni molecolari

### ➤ **Caratteristiche del tessuto**

- permeabilità dei capillari
- grado di vascolarizzazione

### ➤ **Capacità di legarsi reversibilmente alle proteine plasmatiche**

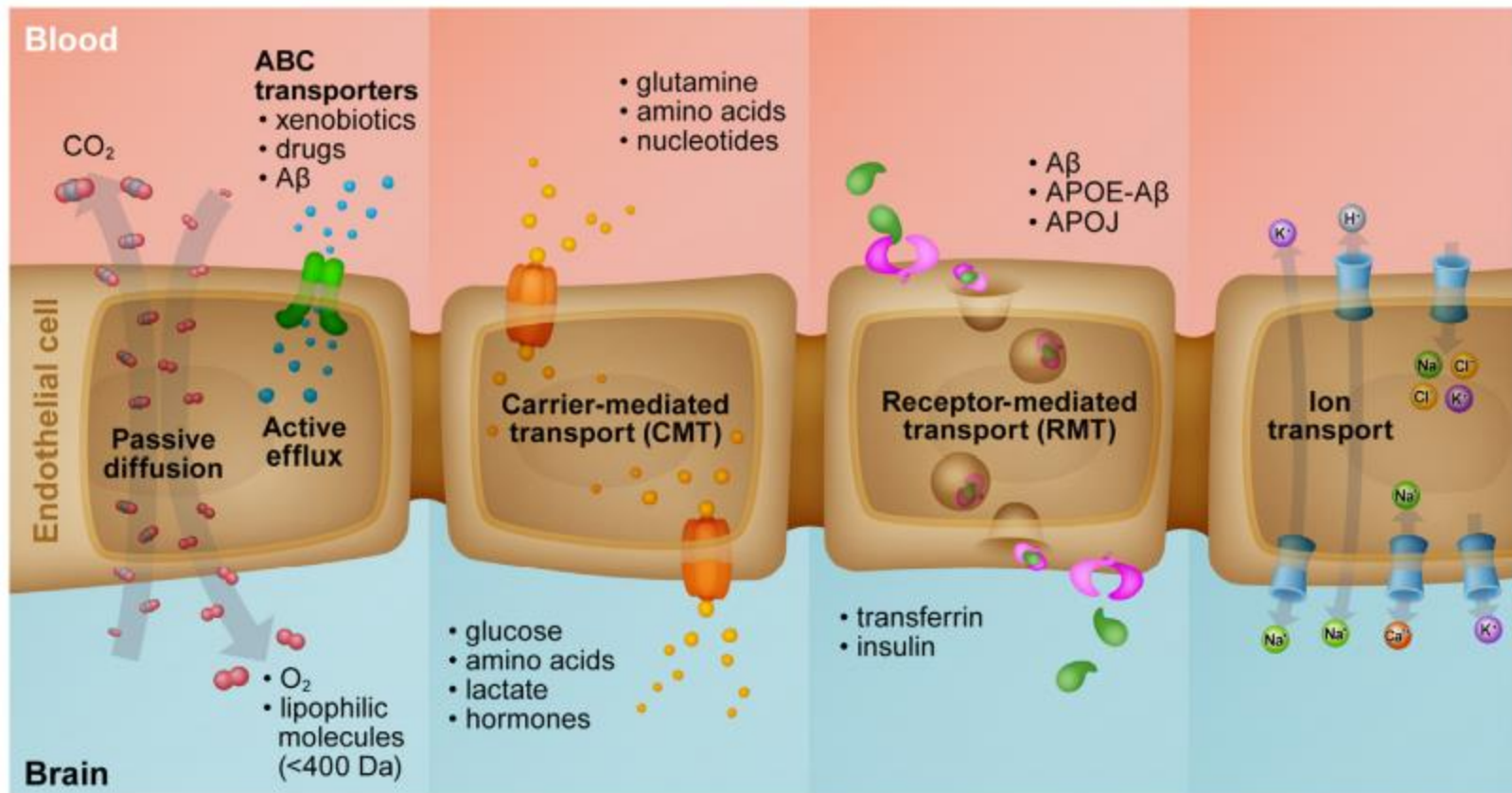
# Farmacocinetica ed argomenti correlati

## BARRIERA EMATO -ENCEFALICA

- Formata dall'unione stretta e senza pori delle cellule endoteliali dei capillari cerebrali e da uno strato di cellule gliali
- I farmaci la possono attraversare per diffusione passiva (farmaci liposolubili o a bassissimo PM) o grazie a carrier di membrana
- Alcuni farmaci idrofili la attraversano grazie a specifici carrier
- Anche nelle cellule endoteliali è localizzata la glicoproteina-P (carrier di efflusso)
- Diventa instabile durante crisi ipertensive, iperglicemia, processi infiammatori e tumorali
- Alcune zone del SNC non sono protette da questa barriera: zona chemocettrice bulbare

# Farmacocinetica ed argomenti correlati

## BARRIERA EMATO-ENCEFALICA



# Farmacocinetica ed argomenti correlati

## BARRIERA EMATO -ENCEFALICA

La barriera ematoencefalica (BEE) svolge un ruolo protettivo per il tessuto cerebrale, è impermeabile alla maggior parte delle molecole che non sono attivamente trasportate all'interno delle cellule, e permette la formazione di un unico ambiente extracellulare intorno alle cellule del Sistema Nervoso Centrale (SNC) la cui composizione è finemente controllata. Questo complesso sistema non permette a micro-organismi e sostanze tossiche di raggiungere il cervello, agendo in maniera molto efficace e facendo sì che le infezioni a carico del cervello siano più rare. Tuttavia, in alcune condizioni, questo aspetto rappresenta uno svantaggio, in quanto rende le infezioni cerebrali tra le più difficili da trattare. La BEE rende difficoltosa la penetrazione di farmaci nel cervello; da un lato impedisce che farmaci utilizzati nel trattamento di una patologia periferica agiscano anche a livello del sistema nervoso centrale, determinando effetti indesiderati; dall'altro, nel caso di patologie che riguardino proprio il tessuto cerebrale (meningite, sclerosi multipla, neuromielite ottica, Alzheimer), la difficoltà di farvi arrivare farmaci in concentrazioni adatte ad ottenere un'azione farmacologica è alla base della difficoltà di trattamento. Lo sviluppo di metodologie innovative per il trasporto di farmaci attraverso la BEE costituisce un'area di ricerca importante sia per la clinica che per l'industria farmaceutica, in quanto può portare all'uso di concentrazioni inferiori di farmaci con una notevole riduzione degli effetti collaterali, favorendo anche una rivalutazione di farmaci che erano stati scartati per la loro tossicità.

# Farmacocinetica ed argomenti correlati

## BARRIERA PLACENTARE

- Le membrane placentari separano il sangue materno dal sangue fetale.
- Il sangue materno fornisce al feto i nutrienti essenziali e porta via i prodotti di scarto.

Sostanze come l'alcool, la nicotina, la cocaina possono passare nel circolo sanguigno del feto.

Farmaci solubili nei grassi attraversano la barriera placentare facilmente

# Farmacocinetica ed argomenti correlati

## FATTORI CHE REGOLANO LA DISTRIBUZIONE

- **Proprietà fisiche del farmaco**
  - lipofilia o idrofilia del farmaco
  - comportamento acido-base
  - dimensioni molecolari
- **Caratteristiche anatomo-fisiologiche del tessuto**
  - permeabilità dei capillari
  - grado di vascolarizzazione
- **Capacità di legarsi reversibilmente alle proteine plasmatiche**

# Farmacocinetica ed argomenti correlati

## Legame dei farmaci alle proteine plasmatiche

Molti farmaci si legano reversibilmente alle proteine plasmatiche



**n** = numero di siti di legame della proteina

**F** = farmaco

**P** = proteina plasmatica

**F<sub>n</sub>...**P = complesso farmaco-proteina

$$K = \frac{[F_n \cdots P]}{[F]^n [P]}$$

La concentrazione plasmatica totale del farmaco (**C<sub>p</sub>**) è pari alla somma delle concentrazioni del farmaco libero e legato

$$C_p = C_{\text{libero}} + C_{\text{legato}}$$

Solo il farmaco libero può subire distribuzione, metabolizzazione ed escrezione