

Ricerca e sviluppo del farmaco e aspetti regolatori



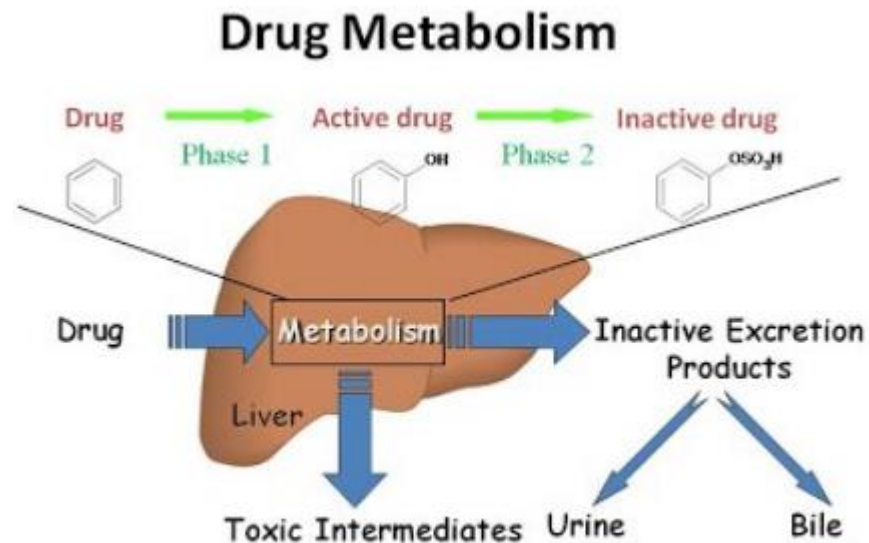
Farmacocinetica ed argomenti correlati

Metabolismo ed eliminazione

In seguito ad assorbimento ed distribuzione, il farmaco è soggetto a metabolismo (modificazione chimica della struttura) ed eliminazione (escrezione dal corpo).

Di solito il metabolismo precede l'eliminazione, poiché le modificazioni chimiche indotte hanno lo scopo di rendere il farmaco più facilmente eliminabile. La sede principale di eliminazione sono i reni, mentre il fegato è il principale organo farmaco/xenobiota-metabolizzante. .

Essendo i principali organi deputati a metabolismo ed eliminazione, alterazioni funzionali a carico di reni e fegato implicano maggiore di rischio di tossicità; per mancanza di metabolismo/eliminazione, il farmaco può raggiungere concentrazioni ematiche molto elevate tali da risultare tossiche.



Farmacocinetica ed argomenti correlati

ESCREZIONE

processo attraverso il quale il farmaco e i suoi metaboliti vengono eliminati dall'organismo.

Vie di escrezione:

- renale
- biliare
- polmonare
- cutanea
- salivare
- lacrimale
- mammaria

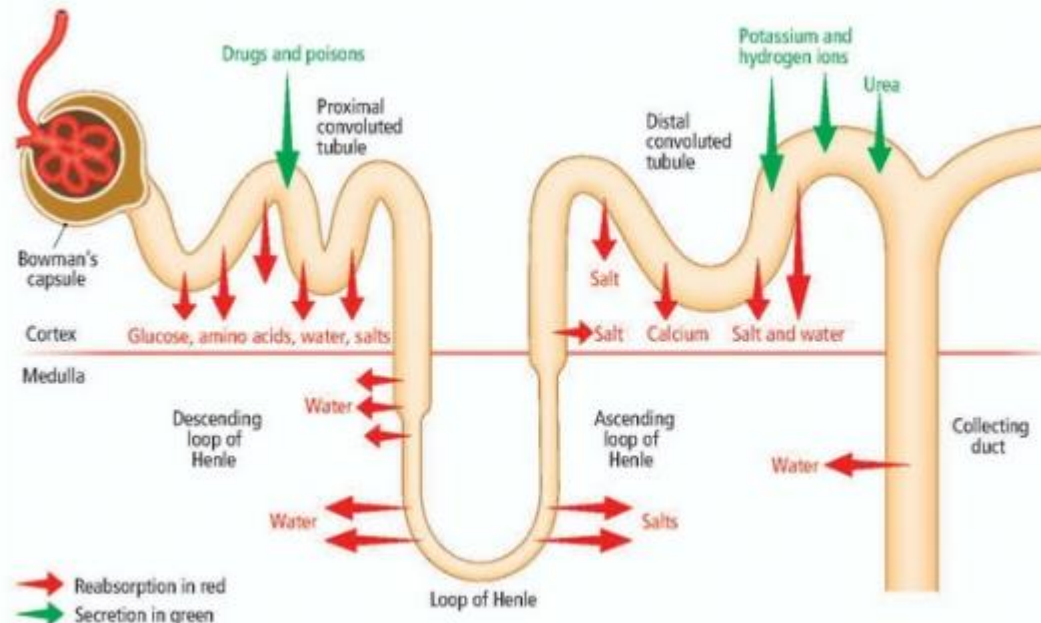
Farmacocinetica ed argomenti correlati

Escrezione renale

Farmaci idrosolubili (o resi tali in seguito a metabolismo) subiscono principalmente escrezione renale.

A livello del tubulo renale avvengono i processi di secrezione e riassorbimento, finalizzati al mantenimento di acqua ed elettroliti vitali nonché all'eliminazione di xenobiotici.

Il processo di riassorbimento implica tuttavia un incremento nella concentrazione del farmaco a livello dei tubuli renale, con rischio di precipitazione (cristalluria). Supplemento di liquidi riduce il riassorbimento di liquidi e la concentrazione del composto a livello renale.



Nefrone costituito da:

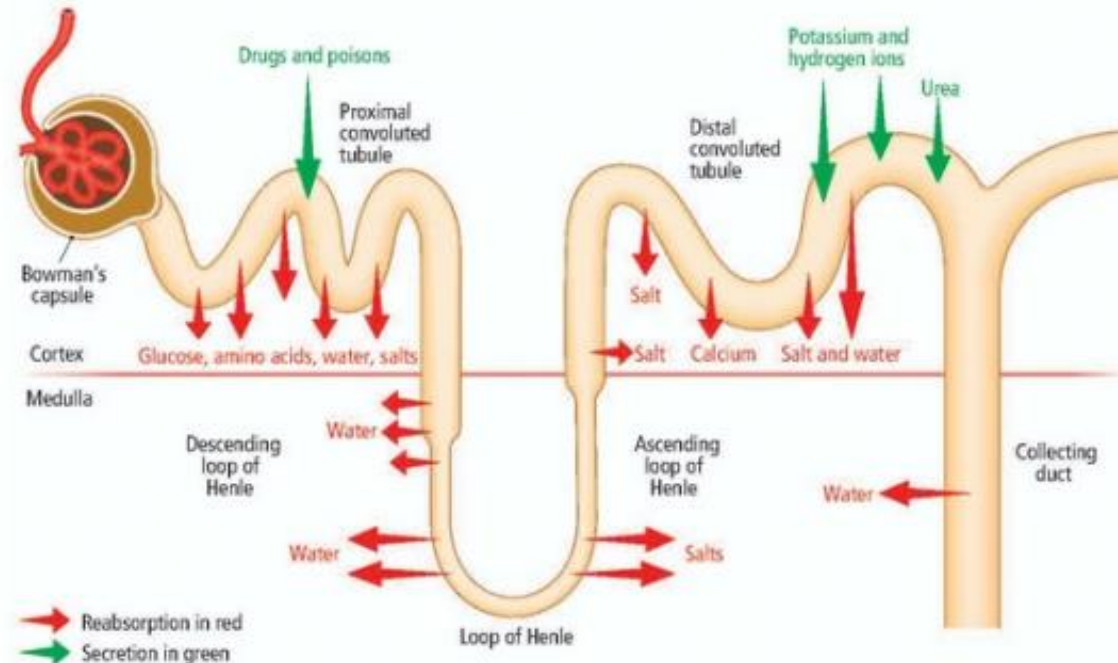
1. Capsula di Bowman
2. Tubulo contorto prossimale
3. Ansa di Henle
4. Tubulo contorto distale
5. Dotto collettore

Farmacocinetica ed argomenti correlati

Escrezione renale

L'escrezione renale coinvolge tre processi:

- Filtrazione glomerulare (diffusione passiva)
- Secrezione tubulare attiva (trasporto mediato da carriers)
- Riassorbimento tubulare passivo (diffusione passiva)



Nefrone costituito da:

1. Capsula di Bowman
2. Tubulo contorto prossimale
3. Ansa di Henle
4. Tubulo contorto distale
5. Dotto collettore

Farmacocinetica ed argomenti correlati

Escrezione renale

- Filtrazione glomerulare (diffusione passiva)

Passaggio di acqua, e di tutti i componenti con $PM < 70000$ Dalton presenti nel sangue, attraverso la barriera filtrante dei capillari glomerulari.

Processo governato dai gradienti di concentrazione dei soluti

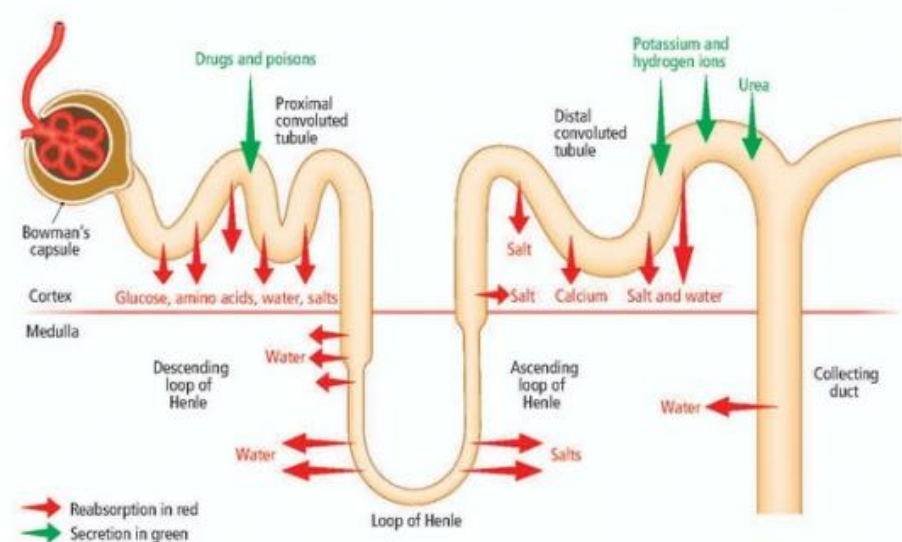
Non vengono filtrate macromolecole come i globuli rossi e le proteine plasmatiche

Solo la quota libera del farmaco verrà perciò filtrata

Farmaci idrofili, scarsamente legati alle proteine, vengono rapidamente filtrati

Nefrone costituito da:

1. Capsula di Bowman
2. Tubulo contorto prossimale
3. Ansa di Henle
4. Tubulo contorto distale
5. Dotto collettore



Farmacocinetica ed argomenti correlati

Escrezione renale

- Riassorbimento tubulare attivo

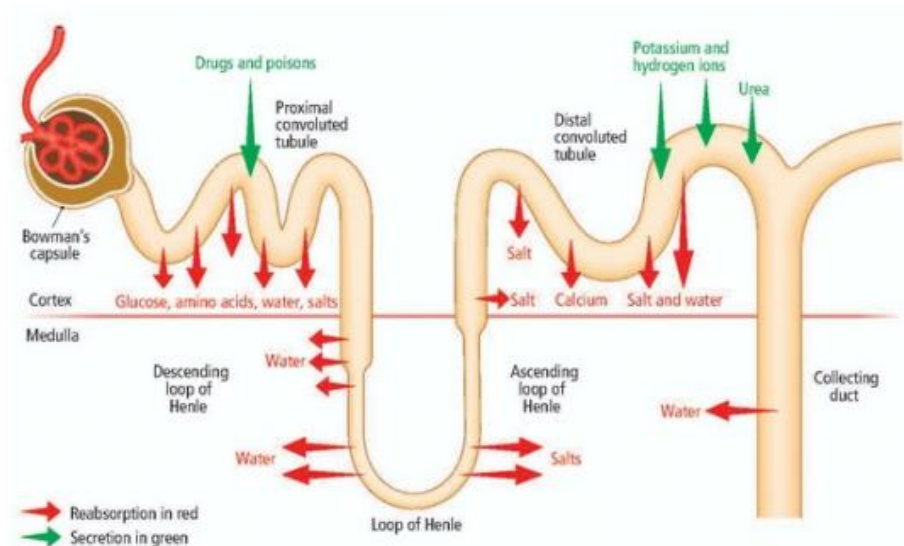
Nel tubulo e nell'ansa di Henle i nutrienti (glucosio, amminoacidi, etc.) e alcuni sali (NaCl, NaHCO₃) vengono riassorbiti attivamente

L'aumento della concentrazione di questi soluti nel liquido interstiziale richiama l'acqua per osmosi

Più del 99% dell'acqua viene riassorbita

Nefrone costituito da:

1. Capsula di Bowman
2. Tubulo contorto prossimale
3. Ansa di Henle
4. Tubulo contorto distale
5. Dotto collettore



Farmacocinetica ed argomenti correlati

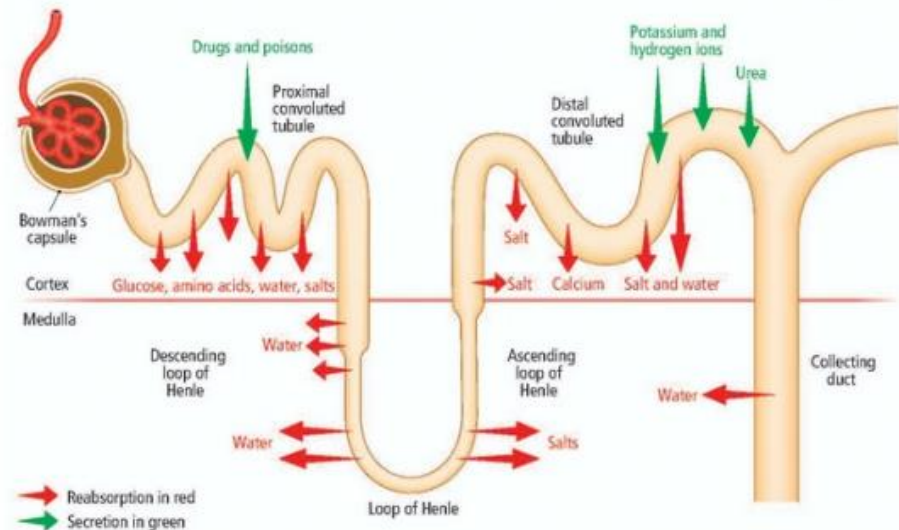
Escrezione renale

Riassorbimento tubulare passivo

A causa del riassorbimento dell'acqua, aumenta la concentrazione del farmaco e dei suoi metaboliti nei tubuli e diminuisce quella nel plasma • Il gradiente di concentrazione che si crea provoca il riassorbimento per diffusione passiva • L'entità del riassorbimento dipende dalla lipofilia e dalle dimensioni del soluto • I soluti lipofili sono in grado d'attraversare l'epitelio monostratificato tubulare • I soluti idrofili vengono in gran parte trattenuti ed eliminati con le urine, tranne quelli con PM < 150 Dalton • Per i farmaci ionizzabili, l'entità del riassorbimento dipende dal pH delle urine (pH = 4,6-8)

Nefrone costituito da:

1. Capsula di Bowman
2. Tubulo contorto prossimale
3. Ansa di Henle
4. Tubulo contorto distale
5. Dotto collettore



Farmacocinetica ed argomenti correlati

Escrezione renale

Secrezione tubulare attiva

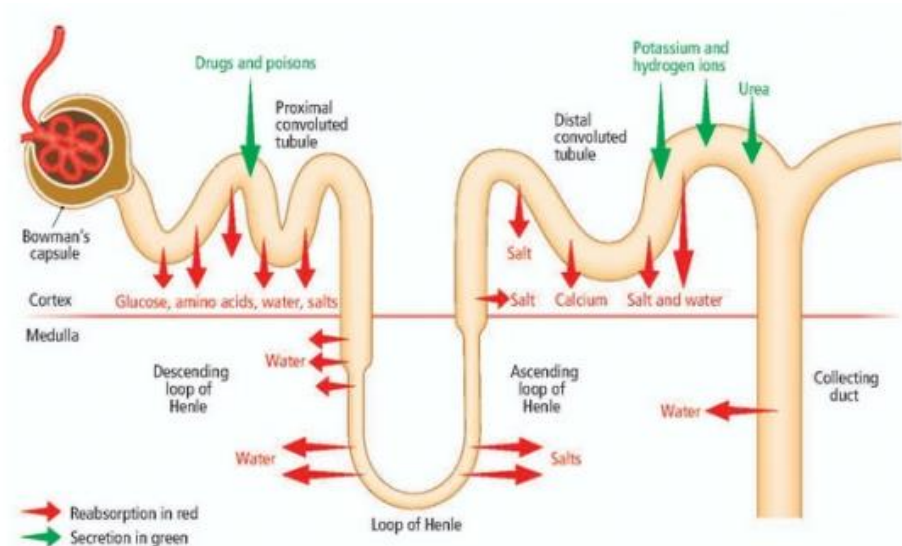
Le cellule dei tubuli prossimali trasportano attivamente composti esogeni ed endogeni dal plasma al lume tubulare

Tre tipi di carrier:

- Carrier per gli anioni organici (glucuronidi, solfati, coniugati con glicina e glutatione, penicillina G e acido salicilico)
- Carrier per i cationi organici (Es. morfina)
- Glicoproteina -P

Nefrone costituito da:

1. Capsula di Bowman
2. Tubulo contorto prossimale
3. Ansa di Henle
4. Tubulo contorto distale
5. Dotto collettore



Farmacocinetica ed argomenti correlati

Escrezione renale

Fattori che influenzano l'escrezione renale:

- Legame alle proteine plasmatiche
- Lipofilia
- Dimensioni molecolari
- % di ionizzazione
- Sistemi di trasporto attivo a livello tubulare

Farmacocinetica ed argomenti correlati

Clearance

E' un importante parametro farmacocinetico per la descrizione del processo di eliminazione di un farmaco (rimozione dal sangue).

A tale processo contribuiscono i reni (eliminazione renale) ed il fegato (tramite il metabolismo), dunque la clearance totale può essere suddivisa in due termini.

$$CL_{tot} = CL_R + CL_E$$

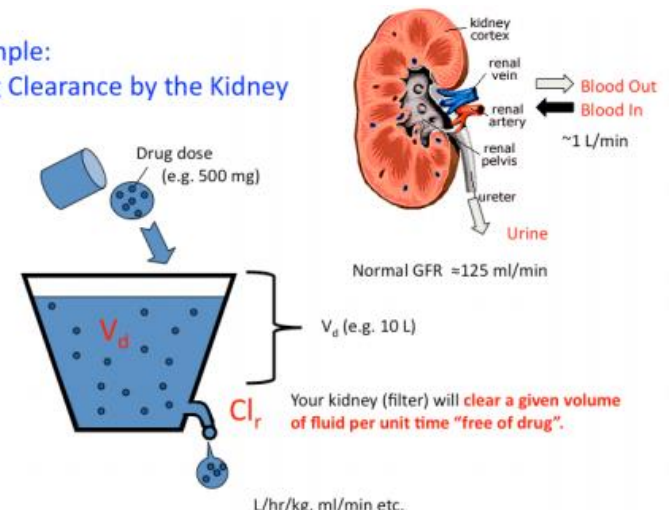
CL_R = clearance renale

CL_E = clearance epatica

Per farmaci che vengono eliminati solo per via renale, $CL_{tot} = CL_R$

Farmaci che vengono eliminati più velocemente hanno maggiore clearance e minore emivita. La clearance è espressa in volumi/ tempo dunque esprime la velocità di eliminazione.

Example:
Drug Clearance by the Kidney



Farmacocinetica ed argomenti correlati

- **Emivita**

L'emivita di un farmaco ($T_{1/2}$), è il tempo necessario perché la concentrazione plasmatica (C_p) si dimezzi

E' una costante per ciascun farmaco in condizioni standard

Nell'arco di 4 emivite la C_p si riduce di circa il 94%

Serve per stabilire l'intervallo di somministrazione del farmaco (di solito pari all'emivita del farmaco).

In base alla loro emivita i farmaci vengono classificati in:

- ❖ breve (meno di 6 ore)
- ❖ media (tra 6 e 24 ore)
- ❖ lunga (> 24 ore)

Farmacocinetica ed argomenti correlati

- **Previsione delle proprietà PK: SwissADME**

SwissADME è un sito gratuito utile a prevedere le proprietà farmacocinetiche di qualsiasi composto chimico (farmaco o non). Il sistema elabora i dati relativi ad una o più molecole ricavandone i descrittori chimico-fisici, parametri ADME, proprietà farmacocinetiche e chimico-farmaceutiche.

<http://www.swissadme.ch/>



Swiss Institute of
Bioinformatics

SwissADME

Farmacocinetica ed argomenti correlati

- **Previsione delle proprietà PK: SwissADME**

La struttura del composto può essere inserita manualmente (disegnata) o ricavata tramite la stringa di comando SMILE; seguendo quest'ultimo metodo, è possibile ottenere i dati di previsione per più composti contemporaneamente.

The screenshot shows the SwissADME web application interface. The browser address bar displays 'www.swissadme.ch'. The page header includes the SwissADME logo and navigation links: Home, FAQ, Help, Disclaimer. The main content area contains a description of the service and a list of SMILES strings. The interface is annotated with several callout boxes:

- SwissDrugDesign toolbar**: Points to the top navigation menu.
- SwissADME toolbar: Home, FAQ, Help and Disclaimer**: Points to the top right navigation links.
- Molecular sketcher: draw, edit, import, open molecular structures from file**: Points to the left sidebar containing drawing tools.
- Transfer sketched structure to SMILES list (active only if the sketcher is not empty)**: Points to a red double arrow button between the sketcher and the SMILES list.
- SMILES list: one molecule per line and (optional) name separated by space**: Points to the text input area for SMILES strings.
- Run calculations (active only if the list is not empty)**: Points to the red 'Run' button at the bottom right.

The SMILES list contains the following entries:

```
CC1=CC=C(C=C1)C2=CC=CC=C2  
CC1=CC=C(C=C1)C2=CC=CC=C2  
CC1=CC=C(C=C1)C2=CC=CC=C2  
CC1=CC=C(C=C1)C2=CC=CC=C2
```

Farmacocinetica ed argomenti correlati

Notazione SMILES

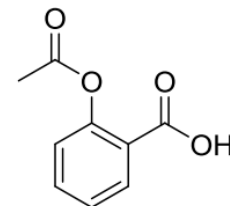
- ❖ SMILES (acronimo di Simplified Molecular Input Line Entry System) è un metodo per descrivere la struttura di un molecola usando una breve stringa ASCII.
- ❖ Le stringhe SMILES vengono importate da gran parte dei software per il disegno delle molecole per creare modelli bidimensionali o tridimensionali.
- ❖ La codifica SMILES è stata sviluppata nel 1980 da Arthur Weininger e David Weininger, poi modificata ed estesa da altri.
- ❖ Recentemente la IUPAC ha introdotto l'InChI (International Chemical Identifier) come standard di rappresentazione delle formule.

Farmacocinetica ed argomenti correlati

Notazione SMILES

- ❖ Gli atomi di idrogeno nei composti organici sono considerati impliciti quindi omessi. Per esempio lo SMILES per l'acqua è semplicemente O e per l'etanolo è CCO.
- ❖ Il doppio legame del biossido di carbonio è rappresentato come O=C=O e il triplo legame dell'acido cianidrico come C#N.
- ❖ Il cicloesano è rappresentato come C1CCCCC1, l'idea è che i due uno indicano la stessa posizione nella molecola, formando così un anello con sei atomi di carbonio.
- ❖ Gli atomi di C, O, S e N aromatici vengono rappresentati con i loro caratteri minuscoli, rispettivamente 'c', 'o', 's' e 'n'.
- ❖ Le ramificazioni sono rappresentate da parentesi tonde, ad esempio CCC(=O)O per l'acido propionico e C(F)(F)F per il fluoroformio, che potrebbe anche essere descritto con la formula non canonica: FC(F)F.

Notazione SMILES :CC(=O)Oc1ccccc1C(=O)O

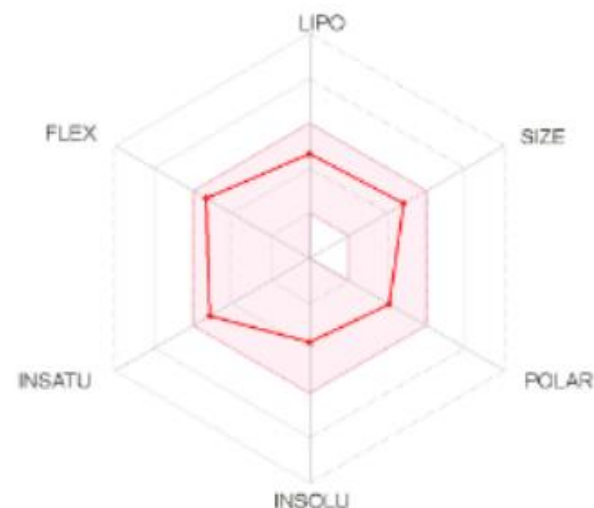
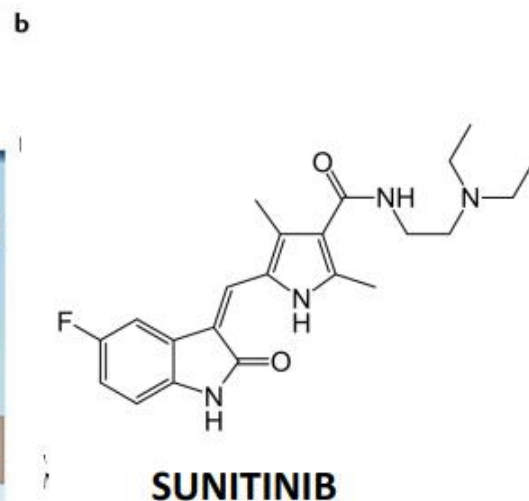
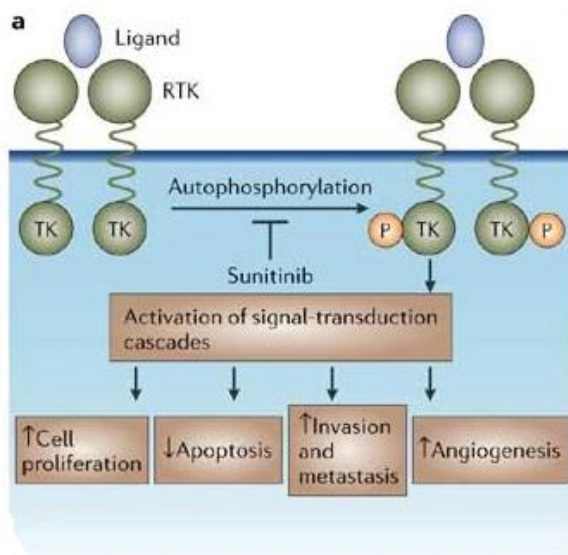


Acido acetilsalicilico (Aspirina)

Farmacocinetica ed argomenti correlati

- **Previsione delle proprietà PK: SwissADME**

Di fianco alla struttura chimica viene visualizzato il radar di biodisponibilità, utile per apprezzare in maniera rapida le proprietà ADME del composto. A tale scopo, vengono considerati 6 parametri chimico-fisici: **lipofilia**, **dimensioni**, **polarità**, **solubilità**, **flessibilità** e **Saturazione**. Affinchè una molecola abbia proprietà drug-like, il radar di biodisponibilità ottenuto deve rientrare completamente nella zona rosa (range ottimale per ogni proprietà).



Farmacocinetica ed argomenti correlati

- **Previsione delle proprietà PK: SwissADME**

Lipofilia: $-0.7 < XLOGP3 < 5$

Dimensioni: $150 < PM < 500$ g/mol

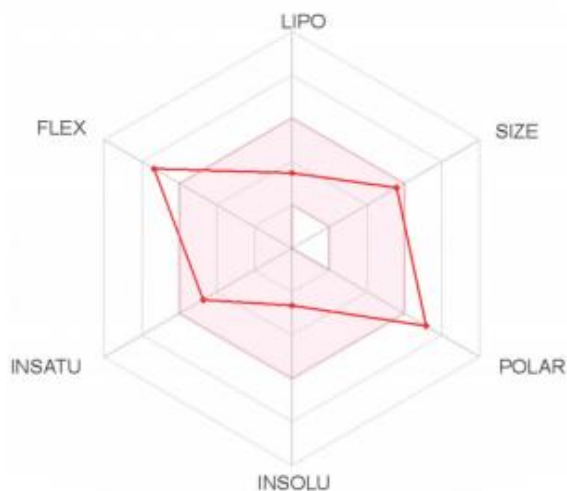
Polarità: $20 < TPSA < 130$ Å²

(TPSA: area superficiale topologica polare)

Solubilità: $\log S < 6$

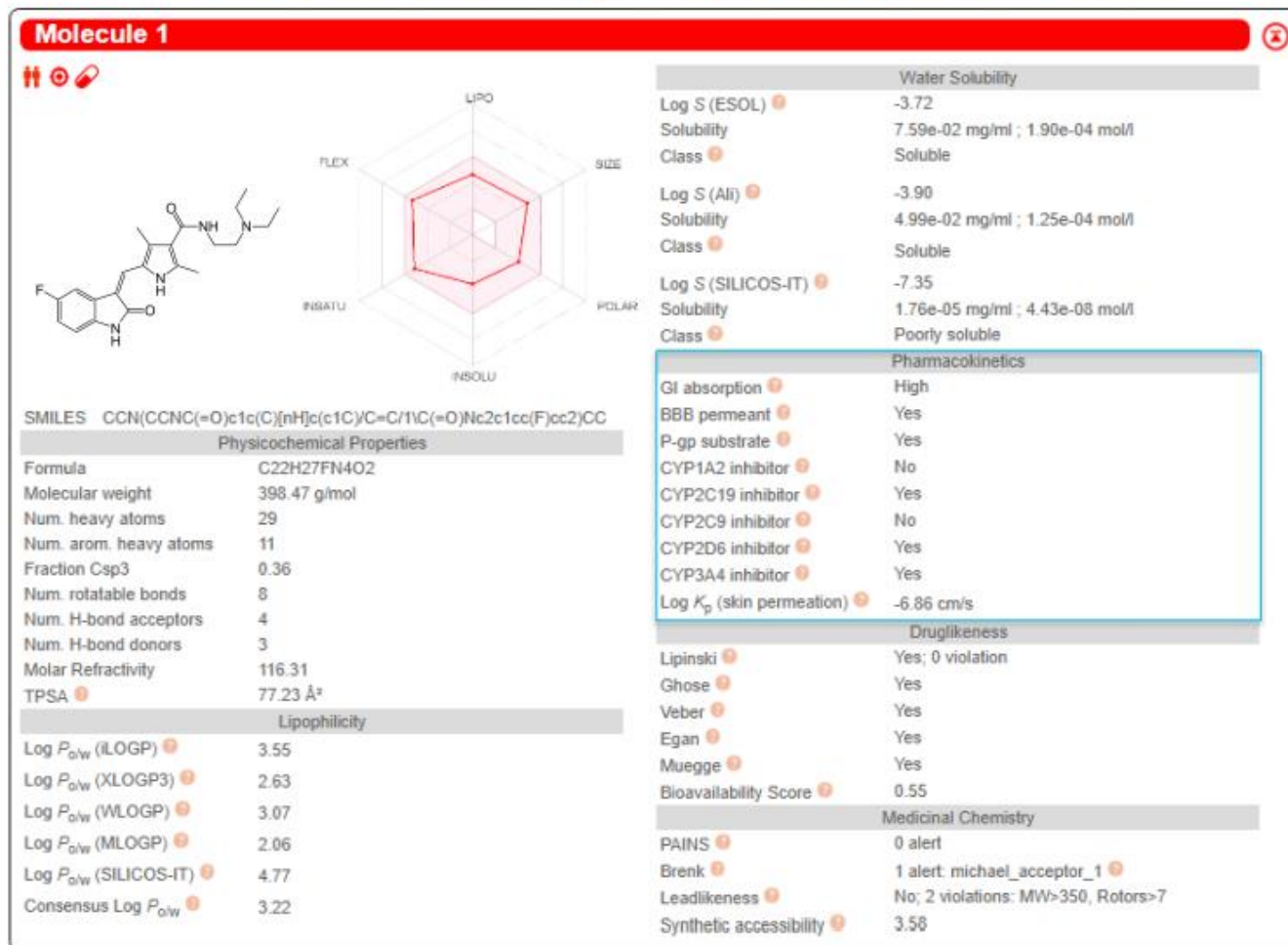
Saturazione: Frazione di C sp³ > 0.25

Flessibilità: non più di 9 legami rotabili



Farmacocinetica ed argomenti correlati


Profilo completo SwissADME



Farmacocinetica ed argomenti correlati

SwissADME: Physicochemical description of the molecule

Physicochemical Properties

| | |
|--|--|
| Formula | C ₂₂ H ₂₇ FN ₄ O ₂ |
| Molecular weight | 398.47 g/mol |
| Num. heavy atoms | 29 |
| Num. arom. heavy atoms | 11 |
| Fraction Csp ³ | 0.36 |
| Num. rotatable bonds | 8 |
| Num. H-bond acceptors | 4 |
| Num. H-bond donors | 3 |
| Molar Refractivity | 116.31 |
| TPSA  | 77.23 Å ² |

- Molecular description
- Simple counts of atoms/bonds
- **Polar Surface Area (PSA, measure of apparent polarity)**



Topological PSA (TPSA, fast 2D calculation).
ADME Guideline: TPSA < 140 Å² good intestinal **absorption**.
TPSA < 70 Å² good **brain** penetration.

Farmacocinetica ed argomenti correlati

SwissADME: Prediction of Lipophilicity

| | Lipophilicity |
|------------------------------|---------------|
| Log $P_{o/w}$ (iLOGP) ? | 3.55 |
| Log $P_{o/w}$ (XLOGP3) ? | 2.63 |
| Log $P_{o/w}$ (WLOGP) ? | 3.07 |
| Log $P_{o/w}$ (MLOGP) ? | 2.06 |
| Log $P_{o/w}$ (SILICOS-IT) ? | 4.77 |
| Consensus Log $P_{o/w}$? | 3.22 |

- Multiple predictions by methods as different as possible
- Every method has strongpoint and weakness

Possibility of consensus prediction (by now: simple average).

Farmacocinetica ed argomenti correlati

SwissADME: Prediction of Lipophilicity

| | Lipophilicity |
|------------------------------|---------------|
| Log $P_{o/w}$ (iLOGP) ? | 3.55 |
| Log $P_{o/w}$ (XLOGP3) ? | 2.63 |
| Log $P_{o/w}$ (WLOGP) ? | 3.07 |
| Log $P_{o/w}$ (MLOGP) ? | 2.06 |
| Log $P_{o/w}$ (SILICOS-IT) ? | 4.77 |
| Consensus Log $P_{o/w}$? | 3.22 |

- Multiple predictions by methods as different as possible
- Every method has strongpoint and weakness

Possibility of consensus prediction (by now: simple average).

Farmacocinetica ed argomenti correlati

SwissADME: Water solubility

| Water Solubility | |
|----------------------|---------------------------------|
| Log S (ESOL) ⓘ | -3.72 |
| Solubility | 7.59e-02 mg/ml ; 1.90e-04 mol/l |
| Class ⓘ | Soluble |
| Log S (Ali) ⓘ | -3.90 |
| Solubility | 4.99e-02 mg/ml ; 1.25e-04 mol/l |
| Class ⓘ | Soluble |
| Log S (SILICOS-IT) ⓘ | -7.35 |
| Solubility | 1.76e-05 mg/ml ; 4.43e-08 mol/l |
| Class ⓘ | Poorly soluble |

- Governs **absorption** and impacts many processes in **formulation**.
- Historical model (GSE, general solubility equation)¹:

$$\log S = 0.5 - 0.01 \times (m.p. \text{ } ^\circ\text{C} - 25) - \log P$$

- Ali²: replacement of melting point (difficult to predict) by TPSA:

$$\log S = -1.0377 \times \log P - 0.0210 \times \text{TPSA} + 0.4488$$










- **Quantitative** classes, log S scale:

insoluble < -10 < poorly < -6 < moderately < -4 < soluble < -2 < very < 0 < highly

Farmacocinetica ed argomenti correlati

Sezione: farmacocinetica

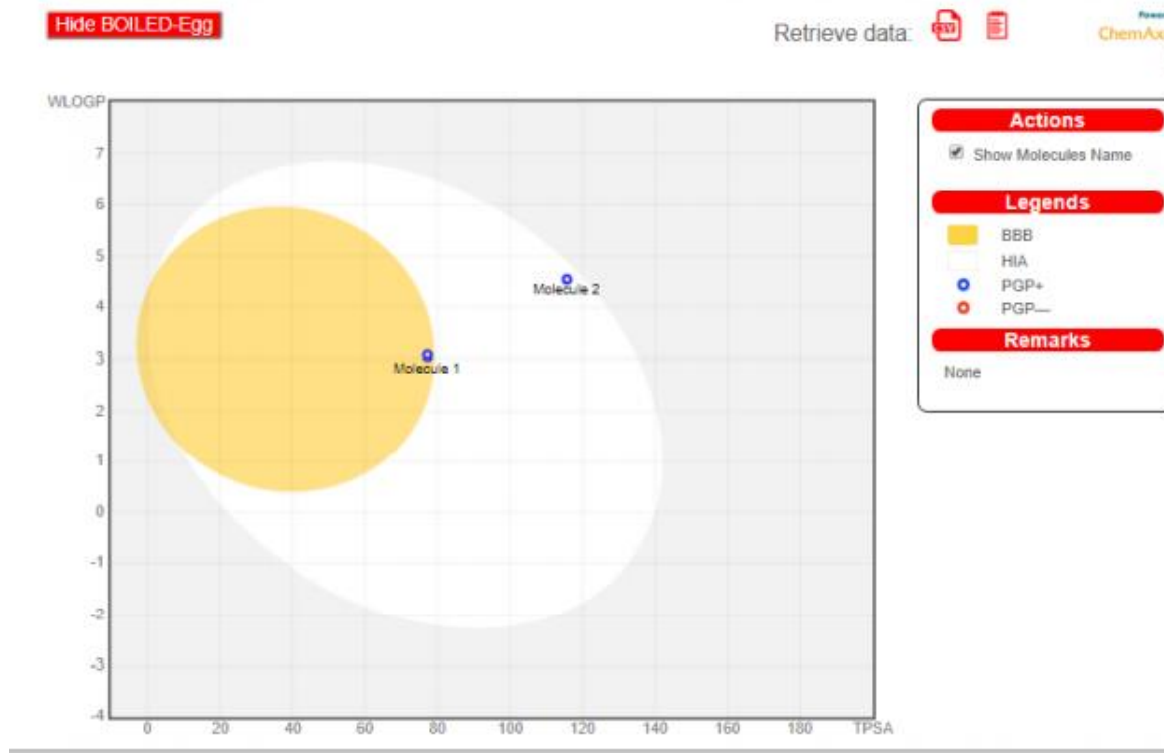
Permette di prevedere l'assorbimento gastrointestinale, la permeabilità nei confronti della barriera emato-encefalica, la capacità di essere substrato di glicoproteina P o vari enzimi microsomiali epatici

| | Pharmacokinetics |
|---|------------------|
| GI absorption  | High |
| BBB permeant  | Yes |
| P-gp substrate  | Yes |
| CYP1A2 inhibitor  | No |
| CYP2C19 inhibitor  | Yes |
| CYP2C9 inhibitor  | No |
| CYP2D6 inhibitor  | Yes |
| CYP3A4 inhibitor  | Yes |
| Log K_p (skin permeation)  | -6.86 cm/s |

Farmacocinetica ed argomenti correlati

«Uovo bollito»

E' un grafico che permette di apprezzare rapidamente l'assorbimento gastrointestinale, la permeabilità nei confronti della barriera emato-encefalica, la capacità di essere substrato di glicoproteina P. Molecole in grado di attraversare le membrane biologiche occupano l'albume, mentre quelle in grado di permeare la barriera emato-encefalica, si trovano nel tuorlo.



Farmacocinetica ed argomenti correlati

Drug-likeness

La sezione «drug-likeness» definisce la capacità di una molecola di essere biodisponibile per via orale, sulla base di vari filtri ed in tale sezione viene presentata l'eventuale loro violazione.

| Druglikeness | |
|-------------------------|------------------|
| Lipinski ? | Yes; 0 violation |
| Ghose ? | Yes |
| Veber ? | Yes |
| Egan ? | Yes |
| Muegge ? | Yes |
| Bioavailability Score ? | 0.55 |

- **Lipinski Rule-of-five (Pfizer Ro5)¹:**
(not more than 1 criteria failing)
 - MW < 500
 - CLOGP < 5 (MLOGP < 4.15)²
 - # H-bond donors ≤ 5
 - # H-bond donors ≤ 10
- **Egan filter (Pharmacopia)³:**
 - SLOGP < 6
 - TPSA < 132 Å²

Farmacocinetica ed argomenti correlati

SwissADME: Medicinal Chemistry

Is it worth to convince a chemist to synthesize the molecule ?

| | Medicinal Chemistry |
|---------------------------|------------------------------------|
| PAINS ? | 0 alert |
| Brenk ? | 1 alert: michael_acceptor_1 ? |
| Leadlikeness ? | No; 2 violations: MW>350, Rotors>7 |
| Synthetic accessibility ? | 3.58 |

- ALERTS: Recognition of problematic fragments², known to be:
 - **toxic**, unstable, reactive
 - **aggregator** → false positive in biological screening
 - dye → perturbation of assays
- Synthetic accessibility score³, estimation of the ease of chemical synthesis, combination of:
 - **Similarity** with actually **existing molecules** in vendor catalogs (list of molecules immediately available).
 - Objective **estimation of the complexity** (macrocycles, chiral centers, ...)

Farmacocinetica ed argomenti correlati

« All models are wrong but some are useful. »



George E. P. Box, 1979