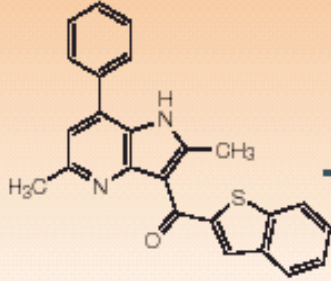


# FASI NELLO SVILUPPO DI NUOVI FARMACI

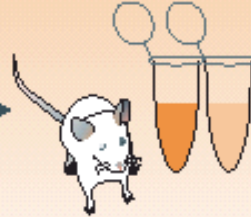
## Studi Preclinici



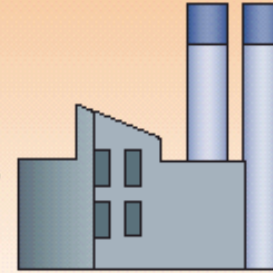
Ricercatori e Scopi della Ricerca



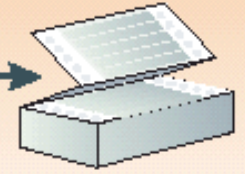
Sintesi di Nuovi Composti Chimici



Test *in vitro* e in Animali. Scelta del farmaco



Formulazione, Sintesi in Larga Scala, Sicurezza negli Animali



Sottomissione dei Dati alla FDA

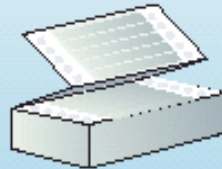
## Studi Clinici



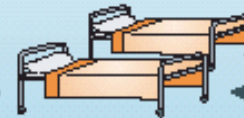
**Il Farmaco È Commercializzato**

FDA

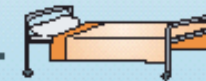
Esame della FDA



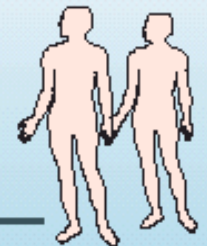
NDA (New Drug Application)



Fase III: Trial Clinici su Molti Pazienti



Fase II: Studi su Pazienti (Efficacia)



Fase I: Studi su Soggetti Sani (Tolleranza)

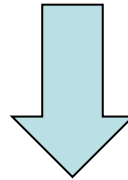
# OBIETTIVI DELLA RICERCA PRECLINICA:

- Individuazione del candidato farmaco (lead compound =composto guida)
- Valutazione del profilo farmacologico
- Valutazione delle caratteristiche farmacocinetiche
- Valutazione della sicurezza (eventuale tossicità)
- Identificare le dosi e le condizioni migliori per la somministrazione del candidato farmaco all' uomo
- Studio delle proprietà chimico fisiche della molecola, valutazione della stabilità
- Individuazione della formulazione per una o più vie di somministrazione

# FINALITA' DELLO STUDIO PRECLINICO:

Nella fase preclinica vengono effettuate prove per determinare:

- l' **attività** del composto *in vitro* e *in vivo*
- L' eventuale **tossicità e sicurezza** al fine di identificare le dosi e le condizioni migliori per la somministrazione all'uomo



Gli studi effettuati in fase preclinica servono anche per produrre i dati richiesti dalle Autorità competenti (AC) per approvare la sperimentazione di una nuova sostanza sull'uomo



# MODELLI SPERIMENTALI PER DEFINIRE PROFILO FARMACOLOGICO DI UN COMPOSTO

## “IN VITRO” e “EX VIVO\*”

### LIVELLO MOLECOLARE:

Legame recettoriale  
Attività enzimatica  
Biotrasformazione

### LIVELLO CELLULARE:

Colture cellulari  
Organi isolati (vasi, cuore, polmoni, ileo, utero etc.)

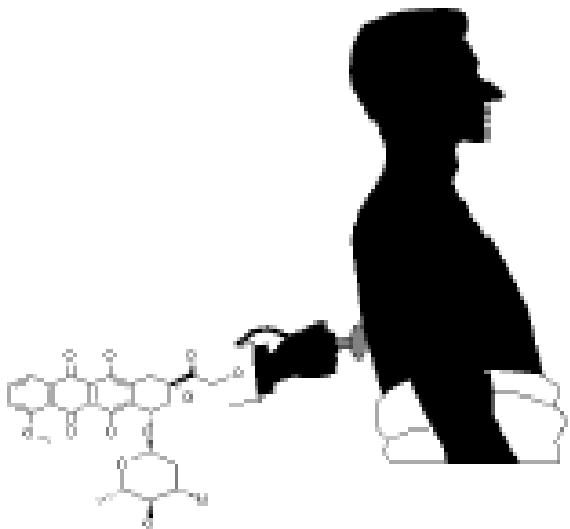
## “IN VIVO”

### MODELLI ANIMALI:

Animali sani (topo, ratto, cane, gatto, coniglio, cavia, maiale)

Animali che riproducono la malattia

\***ex vivo** si riferisce ad una tipologia di sperimentazioni effettuate su un tessuto vivente all'esterno dell'organismo. Es.: prelievo di cellule viventi o tessuti da un organismo e coltivate con specifiche apparecchiature di laboratorio.



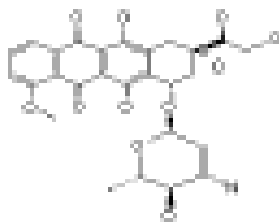
### **FARMACODINAMICA (PD):**

descrive ciò che il farmaco fa all' organismo  
(obiettivo terapeutico, rapporto rischio/  
beneficio)



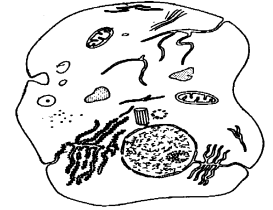
### **FARMACOCINETICA (PK):**

descrive ciò che l' organismo fa al farmaco  
(e in quanto tempo)



# ESPERIMENTI 'IN VITRO'

## NELLO SVILUPPO PRECLINICO DI UN FARMACO



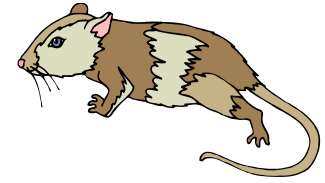
### Vantaggi

- Facilità di reperibilità dei dati, minima variabilità biologica
- Uniformità genetica (elevata riproducibilità)
- Possibilità di manipolazione genetica
- Predittività dei meccanismi d'azione a livello molecolare
- Possibilità di impiego di materiale umano

### Svantaggi

- Impossibilità di rappresentare processi biologici complessi (es. tossicocinetica)
- Difficoltà ad estrapolare i risultati "in vivo"
- Non perfetta rappresentatività delle cellule "immortali" (anche umane) rispetto a quelle differenziate

# ESPERIMENTI 'IN VIVO' NELLO SVILUPPO PRECLINICO DI UN FARMACO



## VANTAGGI

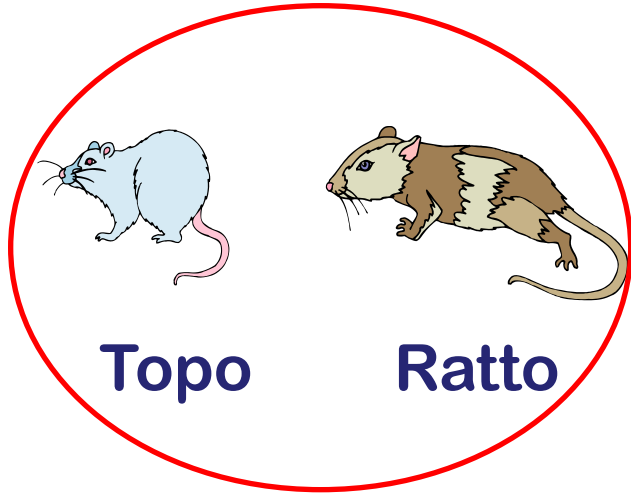
- Valuta effetti sistemici;
- Permette di monitorare più parametri biologici contemporaneamente;
- Consente di studiare, anche in tempi prolungati, processi biologici complessi: cancerogenesi, teratogenesi, comportamento
- Tiene conto dei meccanismi di tossicocinetica

## SVANTAGGI

- Ha un costo elevato
- Presenta la necessità di strutture e processi di stabulazione adeguati
- Prevede un'ampia variabilità biologica delle rilevazioni sperimentali
- Non permette di ottenere alcuna informazione sul fine meccanismo d'azione a livello molecolare

# Modelli animali

Specie più utilizzata:  
roditori



Topo

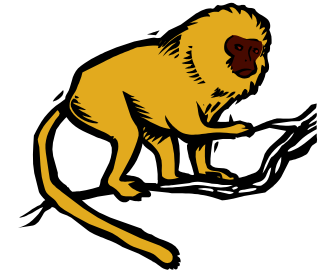
Ratto



Coniglio



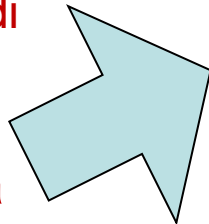
Cane



Primate

- elevata praticità e manipolabilità,
- più ampio bagaglio di conoscenze

•Ma per la distanza filogenetica dall' uomo



Questi modelli non sono in grado di fornire dati predittivi della risposta clinica dell'uomo, specialmente per saggiare l'attività di farmaci di origine biologica. In particolare, la specie-specificità, l'immuno-genicità, la cross-reattività con altri antigeni, la presenza di inibitori nella specie animale in cui si effettua la sperimentazione, possono costituire elementi di disturbo e introdurre incertezze sul profilo di tossicità, farmacocinetica e farmaco-dinamica delle sostanze da valutare.



# Come si genera un modello sperimentale?

Vi sono diversi metodi per creare modelli di malattia

## chirurgici

- lo studio di farmaci contro ischemia o alterazioni del sistema cardiovascolare

## chimici

- somministrazione di sostanze capaci di indurre alterazioni simili a quelle patologiche (es. ratti con ulcera o tumore, ratti trattati con agenti ipertensivanti)

## genetici

- Animali geneticamente **selezionati** per una determinata malattia (ratti ipertesi, topi obesi, o topi in grado di produrre  $\beta$ -amiloide come modello della malattia di Alzheimer)
- Animali **TRANSEGENICI**: Animali in cui un gene esogeno (*transgene*) normale o mutato viene aggiunto al genoma ed espresso in uno specifico tessuto con lo scopo di studiare la funzione della proteina codificata in vivo
- ANIMALI “**KNOCK-OUT** o **KNOCK-IN**” Animali in cui specifici geni endogeni sono completamente inattivati o mutati (Parkinson, Alzheimer)

# NORMATIVA RIGUARDANTE GLI ANIMALI UTILIZZATI A FINI SPERIMENTALI

In Italia l'impiego di animali per fini scientifici è regolamentato dal [Decreto legislativo 4 marzo 2014, n. 26](#) che ha attuato la Direttiva n. 2010/63/UE.

Le norme sono ovviamente tese alla massima protezione degli animali: il loro impiego, infatti, è consentito soltanto quando il responsabile del progetto di ricerca sia in grado di dimostrare e di documentare l'impossibilità di raggiungere il risultato ricercato utilizzando un altro metodo di sperimentazione scientifica che non implichi l'impiego di animali vivi.

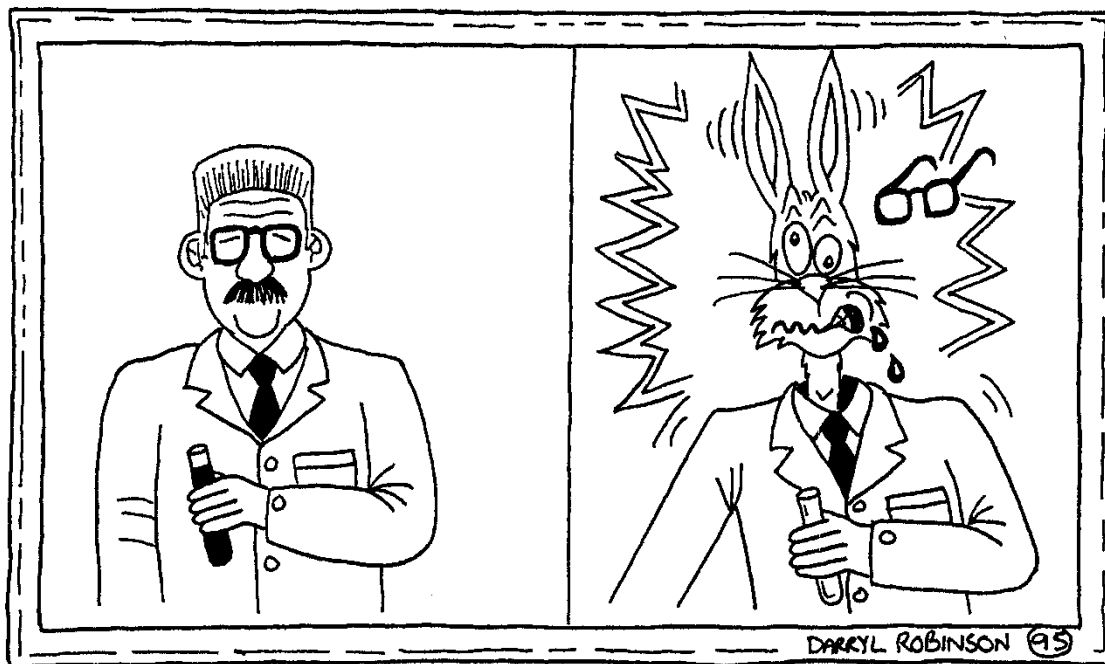
Dimostrato ciò, a parità di risultato, sono favorite le procedure che:

- ✓ richiedono il minor numero di animali;
- ✓ utilizzano animali con la minore capacità di provare dolore, sofferenza, di stress o danno prolungato;
- ✓ sono in grado di minimizzare dolore, sofferenza, di stress o danno prolungato;
- ✓ offrono le maggiori probabilità di risultati soddisfacenti;
- ✓ hanno il più favorevole rapporto tra danno e beneficio.

# ANIMALI UTILIZZATI A FINI SPERIMENTALI

La nuova direttiva dovrà aiutare a standardizzare il comportamento dei singoli paesi, per limitare al minimo l' utilizzo di animali, aumentando il ricorso alle prove *in vitro* e di biologia molecolare.

Tuttavia il ricorso alla sperimentazione animale è ancora ritenuto **necessario** alla luce delle conoscenze scientifiche attuali.



NEVER TESTED ON ANIMALS

# Dalla dose all'effetto



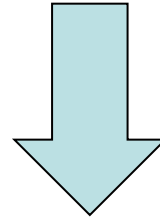
- Assorbimento (trasporto attivo, diffusione passiva, filtrazione, esocitosi)
  - Distribuzione
  - Metabolismo
- Eliminazione (renale, biliare, vie minori)

# FARMACOCINETICA

L'analisi delle maggiori cause di fallimento nello sviluppo di un nuovo farmaco dimostra che circa il 60% di tutti i fallimenti può essere attribuito a cause farmacocinetiche

Anche la tossicità è un fattore importante ed è a sua volta correlato alle proprietà ADME.

Saggi di ADME vengono introdotti nelle fasi precoci di identificazione del composto guida, anche al fine di migliorarne il profilo cinetico per la sua ottimizzazione



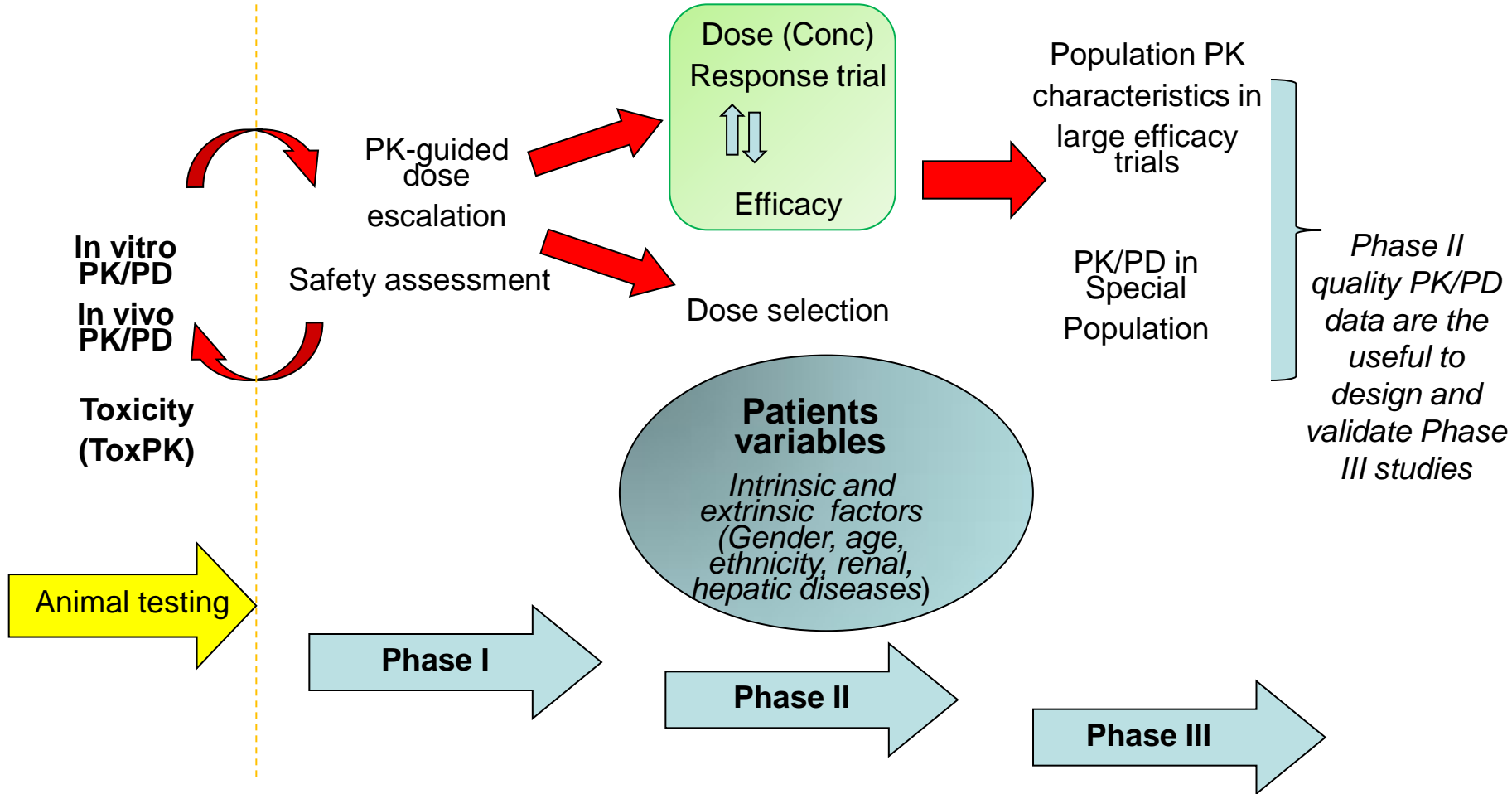
Proprietà ADME esaminate abitualmente comprendono:

Solubilità, permeabilità, legame alle proteine plasmatiche, interazione con molecole di trasporto, assorbimento intestinale, metabolismo epatico, escrezione biliare, distribuzione a recettori, analisi dei metaboliti e potenziali interazioni farmaco-metaboliti

# FARMACOCINETICA NELLO SVILUPPO

## Pre clinical testing

## Clinical human testing



# METABOLISMO

Durante lo sviluppo preclinico è importante definire precocemente il profilo metabolico del candidato farmaco, in particolare:

- il contributo delle vie metaboliche alla clearance totale del farmaco,
- se il metabolismo sia la principale via di eliminazione
- quali isoenzimi del CYP450 siano coinvolti

Le metodologie sperimentali utilizzate per tracciare il profilo metabolico di un farmaco comprendono:



## Test *IN VITRO*

- enzimi ricombinanti
- microsomi umani
- epatociti umani
  
- test comparativi su epatociti/microsomi contenenti CYP delle varie specie

## Test *IN VIVO*

Scelta della specie in cui il farmaco è metabolizzato in maniera qualitativamente e quantitativamente simile all' uomo



# SICUREZZA FARMACOLOGICA

**Col termine sicurezza farmacologica (Safety pharmacology) si intendono tutti gli studi non clinici condotti per valutare i potenziali effetti di un nuovo farmaco sui principali sistemi vitali, non bersaglio dell'attività farmacologica principale.**

**Richiesti dalle  
lineeguida  
internazionali!!**



**ICH Topic S 7 A  
Safety Pharmacology Studies for Human Pharmaceuticals**

# SICUREZZA FARMACOLOGICA

TEST definiti ‘**Safety pharmacology core battery**’ **DEVONO** essere condotti precedentemente al primo uso clinico di un nuovo farmaco

- Studi sul sistema nervoso centrale (SNC) in genere il test di Irwin nel topo o nel ratto
- Studi sull’ apparato respiratorio nel ratto
- Studi sull’ apparato cardiovascolare inclusi: studi *in vitro* del canale del potassio hERG e delle fibre di purkinje, utili per evidenziare potenziali danni a carico della ripolarizzazione cardiaca e studi *in vivo* utilizzando la telemetria (animale sveglio)