



Chimica Farmaceutica

CTF - 6 CFU – 48 h

Docente: Tatiana Da Ros

daros@units.it

Tel: 040 558 3597

Dipartimento di Scienze Chimiche e Farmaceutiche
Via Licio Giorgieri, 1

Studio: Edificio C11, stanza 208, secondo piano

Ricevimento: previo appuntamento / via teams



Lezioni

Lunedì	09.00 – 11.00
Martedì	09.00 – 10.00
Mercoledì	09.00 – 10.00
Giovedì	09.00 – 10.00

Lunedì 24 aprile non ci sarà lezione.

Altre eventuali variazioni verranno comunicate tempestivamente mediante chat del canale Teams e via mail quando possibile.

Obiettivi del corso

fornire i concetti base per la comprensione di:

meccanismi molecolari coinvolti nell'attività di un farmaco

strategie e tecniche utilizzate per progettare e sviluppare farmaci

classi di farmaci

Testi

Graham L. Patrick
Chimica Farmaceutica
EdiSES

Chimica Farmaceutica
a cura di A. Gasco, F. Gualtieri, C. Melchiorre
Casa Editrice Ambrosiana

Thomas L. Lemke
David A. Williams
Victoria F. Roche
S. William Zito

Foye's Principi di Chimica Farmaceutica
Quinta edizione italiana sulla sesta
americana
Piccin Editore

John M. Beale, Jr.
John H. Block

Wilson & Gisvold - Chimica Farmaceutica
Casa Editrice Ambrosiana

Chimica Farmaceutica
I processi di scoperta dei Farmaci
Piccin Editore

Modalità d'esame

Normalmente la verifica dell'apprendimento avviene mediante

elaborato scritto

- **due ore di tempo**
- **domande a risposta aperta**, relative a
 - aspetti generali illustrati nel corso
 - diverse classi di farmaci trattati
 - singoli farmaci di particolare rilevanza

Esempi di compiti saranno disponibili su Moodle.

Modalità d'esame

Normalmente la verifica dell'apprendimento avviene mediante

elaborato scritto

ESCLUSIVAMENTE per la coorte frequentante:

Possibilità di fare una prova in itinere e una seconda prova a conclusione del corso, anticipata rispetto all'appello ufficiale

Date degli appelli 2023: 16 giugno, 13 luglio, 7 e 21 settembre

Per problemi di emergenza COVID-19, le modalità di verifica potrebbero cambiare:

ORALE VIA TEAMS.

Materiale

Verrà caricato su Moodle

(quando verrà attivato il corso)

dopo le lezioni relative all'argomento affrontato

Chimica Farmaceutica (Medicinal Chemistry)

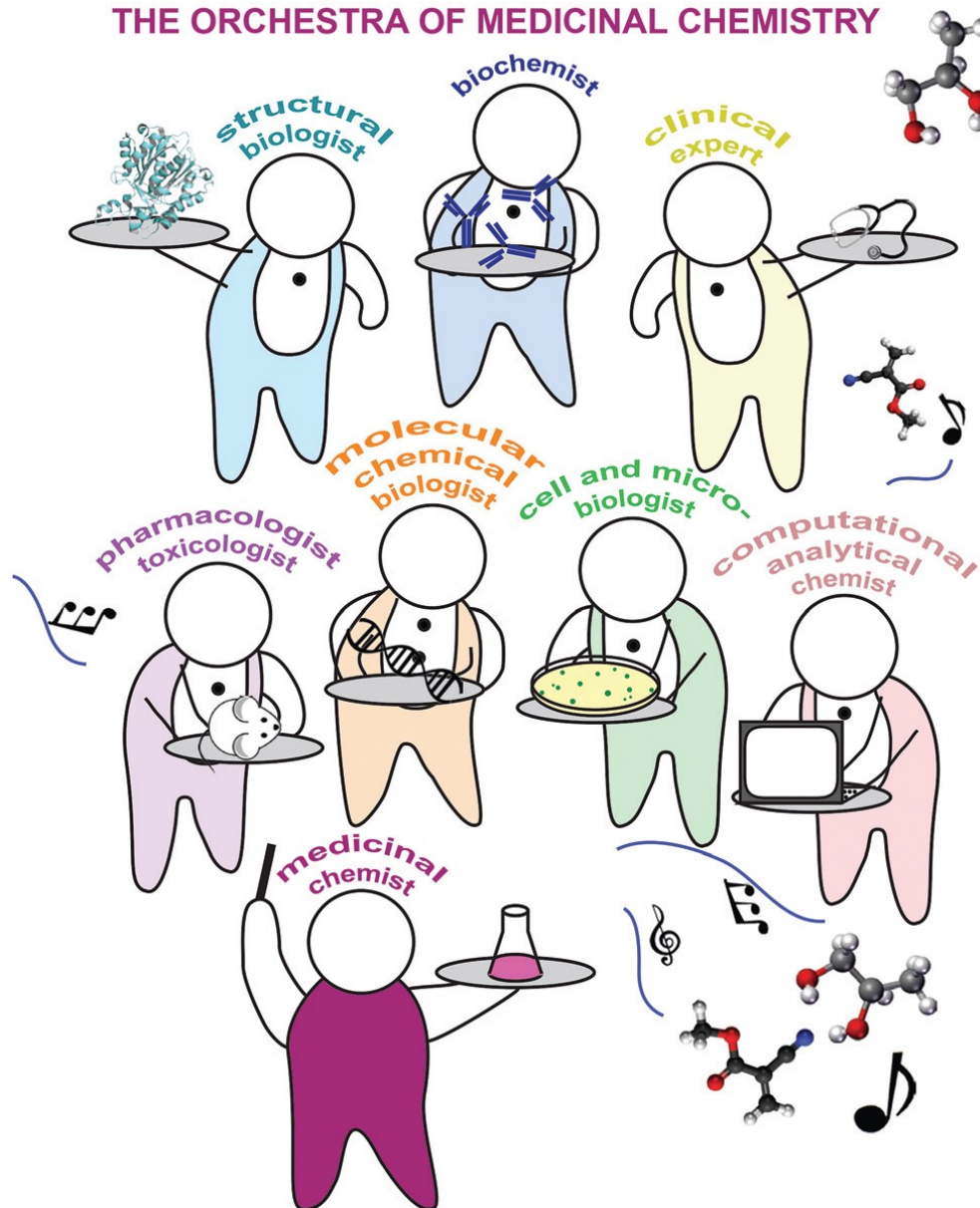
SCOPO: Progettazione e/o scoperta e preparazione di sostanze che possano essere utilizzate in medicina per la prevenzione, il trattamento e la cura di malattie umane e animali

La Chimica Farmaceutica è una disciplina chimica, che coinvolge aspetti delle scienze biologiche, mediche e farmaceutiche. Essa riguarda l'invenzione, scoperta, disegno, identificazione e la preparazione di composti biologicamente attivi, lo studio del loro metabolismo, l'interpretazione della loro modalità di azione a livello molecolare e la costruzione di relazioni struttura-attività (SAR), il rapporto tra struttura chimica e attività farmacologica per una serie di composti.

IUPAC Definition (International Union of Pure and Applied Chemistry)

Chimica Farmaceutica (Medicinal Chemistry)

THE ORCHESTRA OF MEDICINAL CHEMISTRY



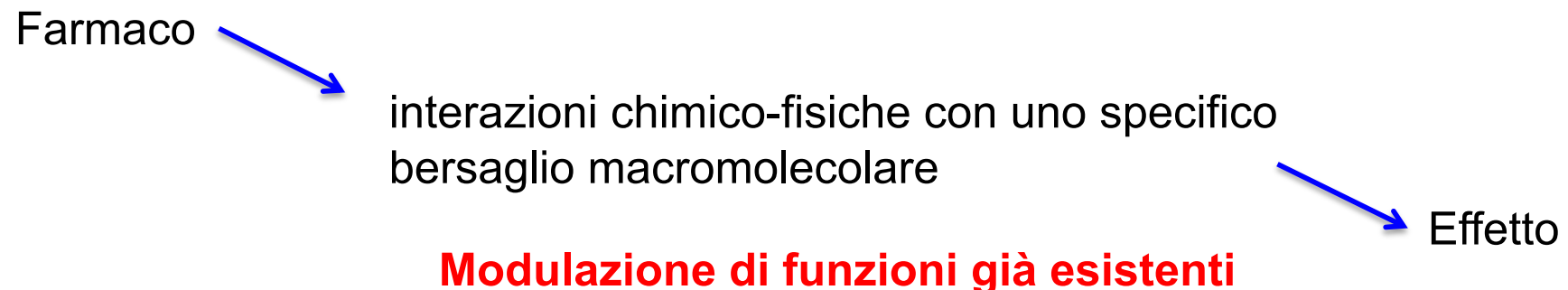
MedChemComm, 2017
What is medicinal chemistry?
– Demystifying a rapidly
evolving discipline!
By Selina Y. L. Holbrook and
Sylvie Garneau-Tsodikova

DOI: 10.1039/c7md90030a

Farmaco

sostanza sintetica o naturale con **effetti benefici** nella cura delle malattie, mediante un'azione **chimica** o **fisica**; sostanza, anche tossica, in grado di provocare determinate reazioni nell'organismo.

Generalmente si intende una sostanza in grado di *interagire* in modo specifico con una macromolecola (bersaglio o *target*) avente una determinata funzione biologica in un organismo vivente. La macromolecola bersaglio è finalizzata al riconoscimento di determinati substrati naturali e il farmaco è in grado di determinare una modulazione (potenziamento o inibizione) delle usuali funzioni di tale componente macromolecolare.



Farmaco

sostanza sintetica o naturale con **effetti benefici** nella cura delle malattie, mediante un'azione **chimica** o **fisica**; sostanza, anche tossica, in grado di provocare determinate reazioni nell'organismo.

Generalmente si intende una sostanza in grado di *interagire* in modo specifico con una macromolecola (bersaglio o *target*) avente una determinata funzione biologica in un organismo vivente.

Definizione di farmaco è molto utile, ma esclude di fatto quelle sostanze che non devono la loro attività farmacologica a una interazione specifica con un sistema macromolecolare.

Esempio: associazione magnesio idrossido/alluminio idrossido, utilizzabile in tutte le forme di iperacidità gastrica, pirosi, gastralgie, ecc., per le sue **proprietà basiche**.

Attività di un farmaco

- **Fase farmaceutica**

Disintegrazione della preparazione farmaceutica e successivo assorbimento del principio attivo

- **Fase farmacocinetica**

Assorbimento, distribuzione, metabolismo, escrezione

- **Fase farmacodinamica**

Interazioni farmaco/bersaglio

- **Effetto farmacologico**

Classificazione dei farmaci

Origine: regno animale, vegetale, minerale, sintesi chimica, ingegneria genetica.

Modalità d'azione:

- i) farmaci **EZIOLOGICI**, veri medicinali (chemioterapici). Efficacia basata sulla TOSSICITÀ selettiva. Si possono includere in tale categoria anche le sostanze utilizzate a scopo preventivo (vaccinoterapia, anticoagulanti, antiossidanti).
- ii) farmaci **SOSTITUTIVI** che rimpiazzano una sostanza mancante (dieta → vitamine; disturbi fisiologici → insulina, estrogeni)
- iii) trattamenti **SINTOMATICI** (stati febbrili, dolore o sintomatologie più specifiche). Non CURANO la causa della malattia ma mitigano i sintomi e possono PROLUNGARE e/o MIGLIORARE la qualità della vita del paziente.

Natura dell'infermità: malattie infettive, neoplasmi, malattie endocrine, malattie del sangue, disturbi mentali, malattie del sistema nervoso, del sistema circolatorio...

Struttura chimica

Tre fasi principali nella nascita di un farmaco

Scoperta – ricerca e preparazione di nuovi composti attivi, generalmente indicati come **lead compounds** (origine naturale, sintesi organica, risorse biotecnologiche).

Ottimizzazione – modifiche strutturali del lead compound per aumentare l'attività e la selettività, e di ridurre la tossicità. Le relazioni struttura-attività (SARs) vengono chiarite e analizzate.

Sviluppo – processo di ottimizzazione sintetica per la produzione industriale della molecola attiva, modulazione delle proprietà farmacocinetiche e farmaceutiche per rendere adatto il prodotto all'uso clinico (formulazione).

Identificazione di un lead compound

Sostanze di origine naturale – spesso eredità del passato
(infusi, sciroppi – digitale, cincona, ipecacuana; salice piangente)

Scoperta casuale: *SERENDIPITY*

Amplificazione degli effetti secondari

Sintesi razionale

Libraries combinatoriali

Screening casuale o focalizzato

“Storia”

Sino agli anni '60

Composti naturali (Digitale, chinina, morfina)

Osservazioni cliniche (proniazide, warfarina)

Serendipity (Penicillina, clordiazepossido)

1960

Relazioni struttura-attività (molti farmaci)

Random screening (taxolo, camptotecina)

1980

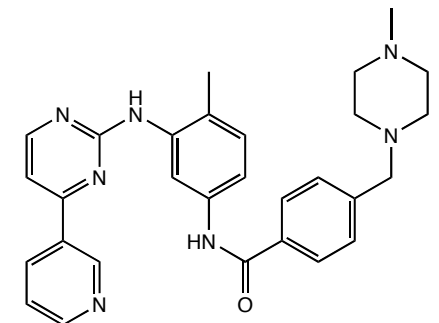
Design razionale:

- ligand based (cimetidine, enalapril)
- protein based (HIV-1 PR inhibitors)

1995

High throughput screening – HTS (Gleevec)

CombiChem



Identificazione di un lead compound

Sostanze di origine naturale – spesso eredità del passato
(infusi, sciroppi – digitale, cincona, ipecacuana; salice piangente)

Scoperta casuale: *SERENDIPITY*

Amplificazione degli effetti secondari

Sintesi razionale

Libraries combinatoriali

Screening casuale o focalizzato

Sostanze di origine naturale

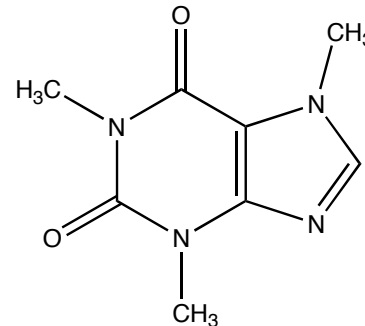
Atropina, chinine, morfina, efedrina, digitossina, taxolo, digossina, artemisinina...

Origine vegetale

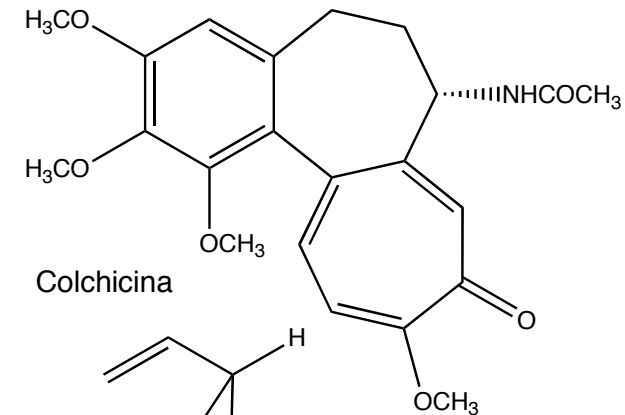
Animale

Veleni, tossine

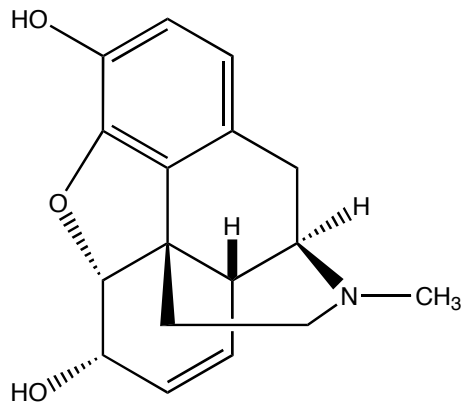
Microorganismi



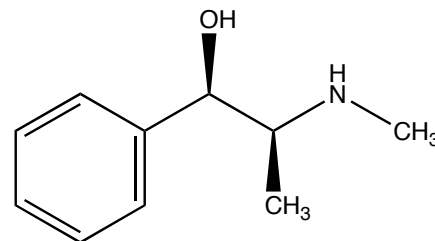
Caffeina



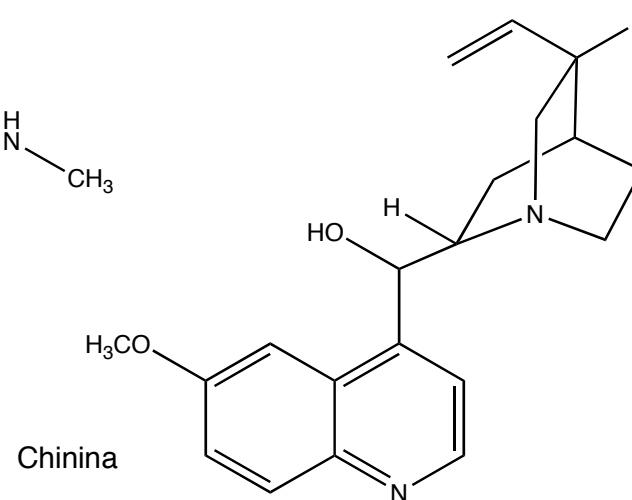
Colchicina



Morfina



Efedrina



Chinina

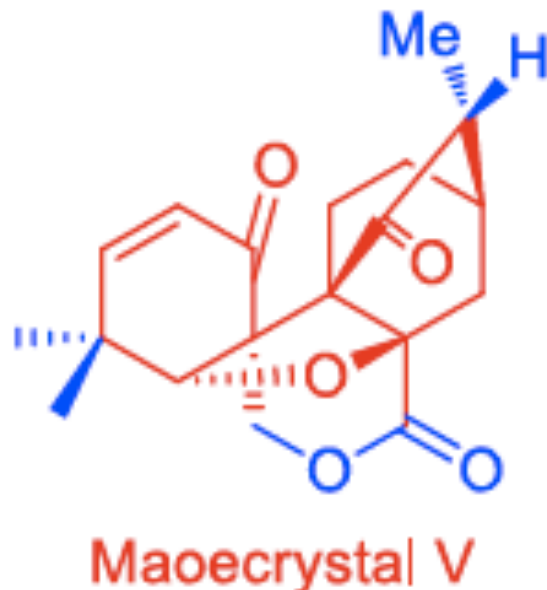
PRO: strutture originali, già selezionate

CONTRO: necessità di identificare il composto attivo, struttura molto complessa, difficoltà sintetiche e di produzione

Sostanze di origine naturale

A second ascent of chemistry's Mt. Everest

Journal of the American Chemical Society
2012
Danishefsky et al.



PRO: strutture originali, già selezionate

CONTRO: necessità di identificare il composto attivo, struttura molto complessa, difficoltà sintetiche e di produzione

Identificazione di un lead compound

Sostanze di origine naturale – spesso eredità del passato
(infusi, sciroppi – digitale, cincona, ipecacuana; salice piangente)

Scoperta casuale: *SERENDIPITY*

Amplificazione degli effetti secondari

Sintesi razionale

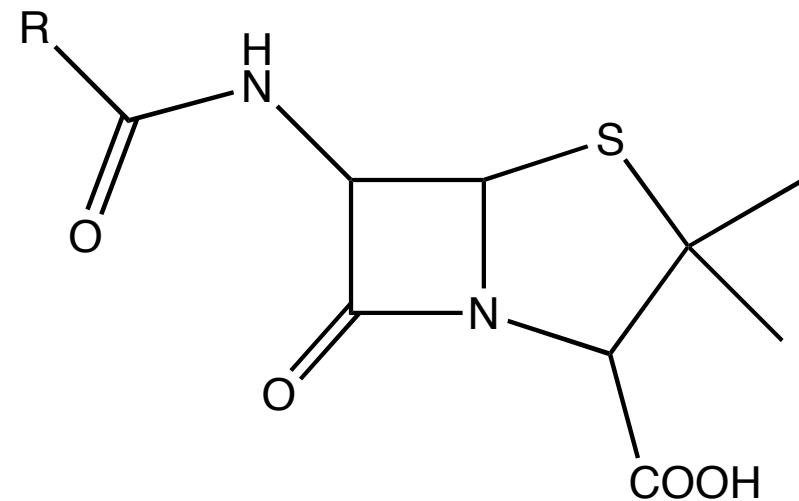
Libraries combinatoriali

Screening casuale o focalizzato

Scoperta casuale

Il caso favorisce la mente preparata (L. Pasteur)

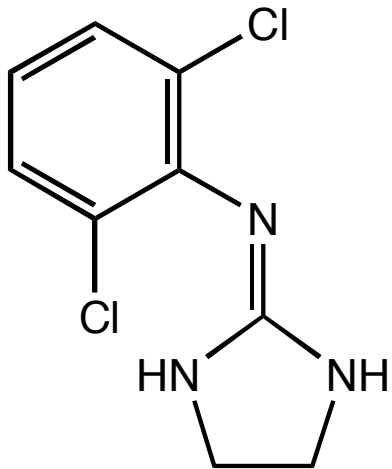
Capacità di notare, e sfruttare, l'inaspettato



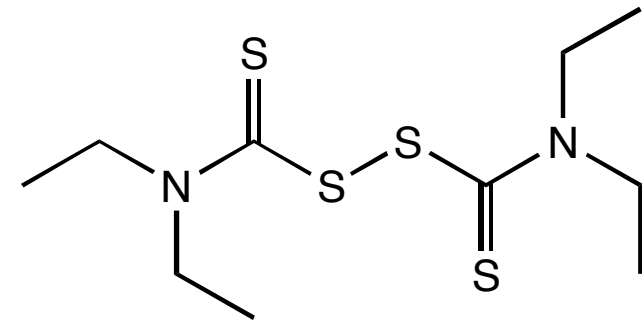
Penicillina: Pasteur 1878 /Fleming 1928

Scoperta casuale

Antabuse: Bis(dietiltiocarbamoil) disolfuro usato come antiossidante nella produzione industriale della gomma. Contaminazione del cibo, inibizione della completa ossidazione dell'etanolo a livello epatico, con surplus di acetaldeide

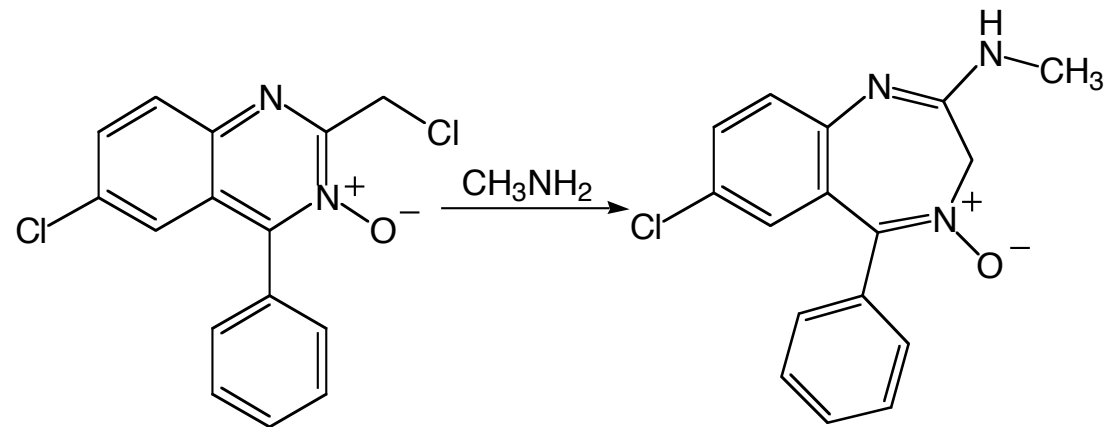


Clonidina: in origine agente vasocostrittore, è un importante antiipertensivo

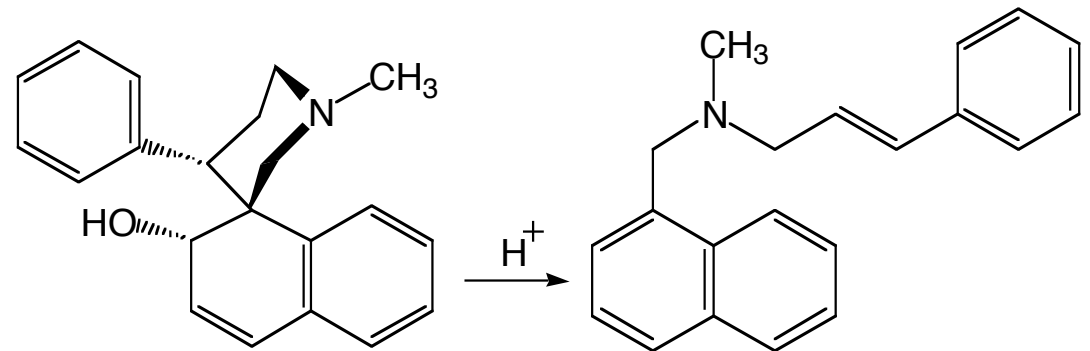


Scoperta casuale

Clordiazepossido: prima benzodiazepina introdotta come ansiolitico, ottenuto da un riarrangiamento chimico inaspettato



Naftifina: antifungino che presenta attività con un meccanismo d'azione completamente differente dai composti già noti



Identificazione di un lead compound

Sostanze di origine naturale – spesso eredità del passato
(infusi, sciroppi – digitale, cincona, ipecacuana; salice piangente)

Scoperta casuale: *SERENDIPITY*

Amplificazione degli effetti secondari

Sintesi razionale

Libraries combinatoriali

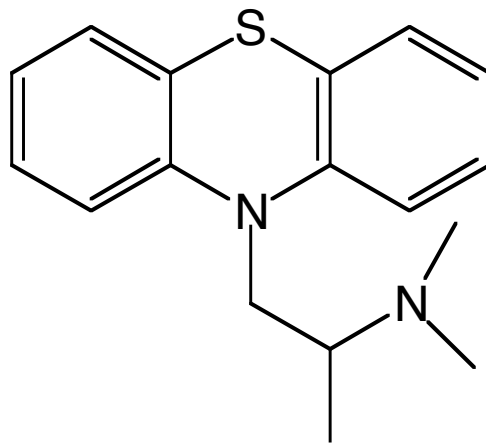
Screening casuale o focalizzato

Amplificazione degli effetti secondari

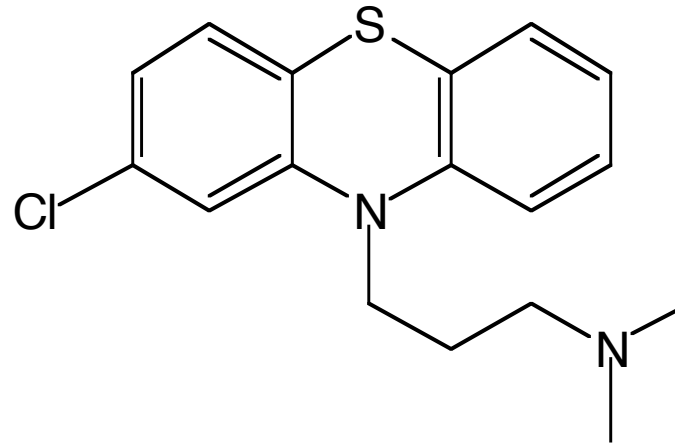
Interessanti effetti secondari → base delle **osservazioni cliniche**

Prototipi di nuovi composti i cui effetti collaterali vengono sviluppati e dissociati dall'originale effetto farmacologico.

Prometazina
(antiistaminico)

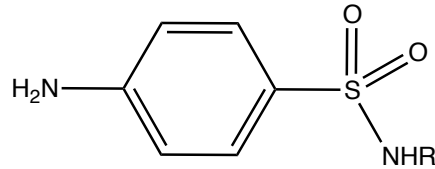


Clorpromazina
(neurolettico)



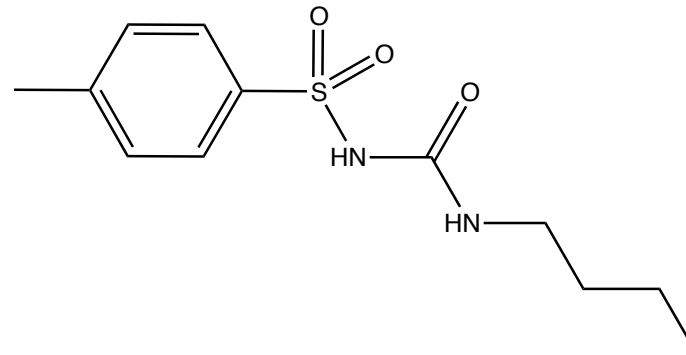
Amplificazione degli effetti secondari

Sulfanilamide



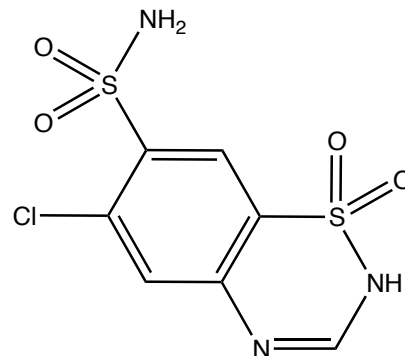
Composti antibatterici con effetti secondari di tipo diuretico e ipoglicemico

Tolbutamide



Composto ipoglicemizzante orale con struttura sulfanilamidica

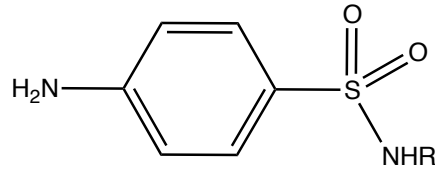
Clorotiazide



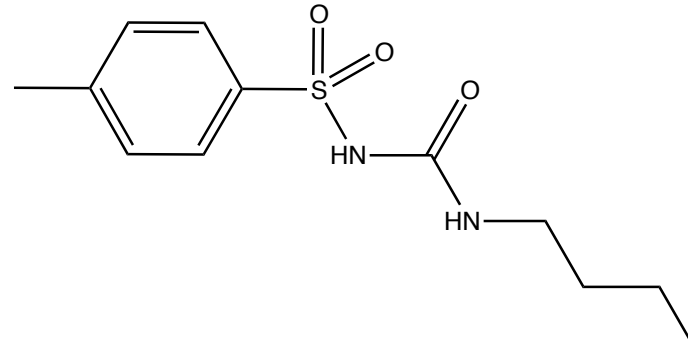
Diuretico tiadiazinico

Amplificazione degli effetti secondari

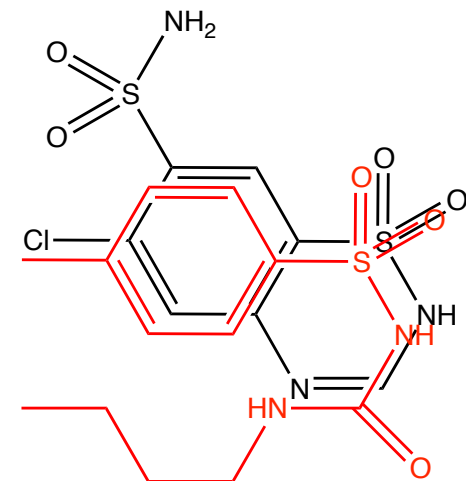
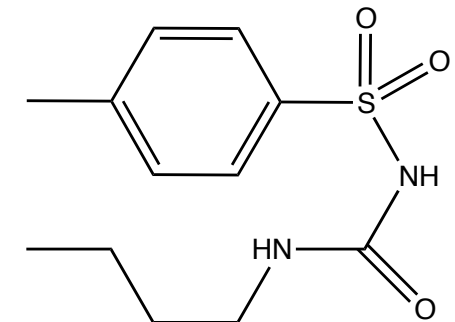
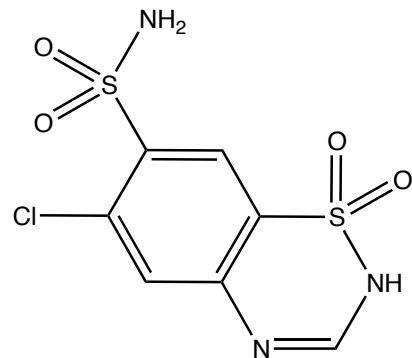
Sulfanilamide



Tolbutamide



Clorotiazide



Identificazione di un lead compound

Sostanze di origine naturale – spesso eredità del passato
(infusi, sciroppi – digitale, cincona, ipecacuana; salice piangente)

Scoperta casuale: *SERENDIPITY*

Amplificazione degli effetti secondari

Sintesi razionale

Libraries combinatoriali

Screening casuale o focalizzato

Sintesi razionale

Conoscenze fisiologiche, fisiopatologiche, biochimiche, chimiche, e farmacologiche per ideare i lead compounds.

- i) Ligandi o modulatori naturali
- ii) Computer assisted design

Ligando + Recettore \rightleftharpoons **LR** \longrightarrow **EFFETTO**

i) **Ligandi o modulatori naturali**

Struttura nota del ligando naturale del recettore (o del substrato naturale dell'enzima)

\Rightarrow Composti con potenziale attività agonista o antagonista verso il recettore (o inibizione enzimatica).

ii) **Computer assisted design**

Computer assisted design

STRUCTURE-BASED DRUG DESIGN

Struttura del ligando: nota
Struttura recettoriale 3D: nota

Necessità di avere la struttura cristallografica della proteina.
Questa viene utilizzata per inserire idealmente (computazionalmente) il ligando al fine di valutare le interazioni del complesso che si forma e stimare, sulla base della stabilità del complesso virtuale, quali composti possano presentare maggiore affinità per il target.

Computer assisted design

HOMOLOGY MODELING

Struttura del ligando: nota
Struttura recettoriale primaria: nota

Basato sulla struttura primaria, la struttura terziaria del recettore viene ipotizzata, usando quali possibili riferimenti strutture di folding di proteine simili (OMOLOGIA DI STRUTTURA).

Computer assisted design

LIGAND-BASED DRUG DESIGN

Struttura del ligando: nota
Struttura recettoriale: sconosciuta

Il modello del sito di binding è sviluppato usato come modello (stampo)
la struttura nota dei ligandi.

Identificazione di un lead compound

Sostanze di origine naturale – spesso eredità del passato
(infusi, sciroppi – digitale, cincona, ipecacuana; salice piangente)

Scoperta casuale: *SERENDIPITY*

Amplificazione degli effetti secondari

Sintesi razionale

Libraries combinatoriali

Screening casuale o focalizzato (spesso basato su libraries)

High-throughput screening - screening focalizzato

Approccio conveniente con il perfezionamento e l'automatizzazione delle metodologie di screening

Due modalità:

Un composto \longrightarrow molti saggi biologici
Molti composti \longrightarrow un saggio biologico

Collezioni di prodotti

Tecnica facile e veloce

Es.: inibitori non nucleosidici della trascrittasi inversa

2-piridoni (Merk)

TIBO (Janssen)

Dipiridodiazepinoni (Boehringer)

Tre fasi principali nella nascita di un farmaco

Scoperta – ricerca e preparazione di nuovi composti attivi, generalmente indicati come **lead compounds** (origine naturale, sintesi organica, risorse biotecnologiche).

Ottimizzazione – modifiche strutturali del lead compound per aumentare l'attività e la selettività, e di ridurre la tossicità. Le relazioni struttura-attività (SARs) vengono chiarite e analizzate.

Sviluppo – processo di ottimizzazione sintetica per la produzione industriale della molecola attiva, modulazione delle proprietà farmacocinetiche e farmaceutiche per rendere adatto il prodotto all'uso clinico (formulazione).

Tre fasi principali nella nascita di un farmaco

Scoperta – ricerca e preparazione di nuovi composti attivi, generalmente indicati come **lead compounds** (origine naturale, sintesi organica, risorse biotecnologiche).

Ottimizzazione – modifiche strutturali del lead compound per aumentare l'attività e la selettività, e di ridurre la tossicità. Le relazioni struttura-attività (SARs) vengono chiarite e analizzate.

Sviluppo – processo di ottimizzazione sintetica per la produzione industriale della molecola attiva, modulazione delle proprietà farmacocinetiche e farmaceutiche per rendere adatto il prodotto all'uso clinico (formulazione).

Meccanismo d'azione dei farmaci

(Attività relativa all'interazione con i sistemi macromolecolari)

Farmaco →

Interazione con macromolecole funzionali →

Trasferimento delle informazioni dalla macromolecola
alla cellula →

Cascata di eventi biochimici →

Risposta cellulare

(Rilascio Ca^{2+} e contrazione delle miofibrille)

Somma delle risposte cellulari nel tessuto funzionale →

Risposta fisiologica

(contrazione muscolare)

Meccanismo d'azione dei farmaci



Caratteristiche generali dei farmaci

Molecola *Drug-like*:

Basso peso molecolare (più o meno)
Opportuno rapporto idrofobico/idrofilico
Gruppi funzionali

Regola di Lipinski o del cinque

Una molecola, per avere le caratteristiche di un farmaco (molecola *drug-like*), “deve” avere:

MW < 500 Da
logP < 5
< 5 donatori di legami H
< 10 accettori di legami H

Caratteristiche generali dei farmaci

FARMACO

Rapporto idrofobicità/idrofilia adatto
Presenza di gruppi funzionali

< 5 gruppi donatori di legami H
< 10 gruppi accettori di legami H

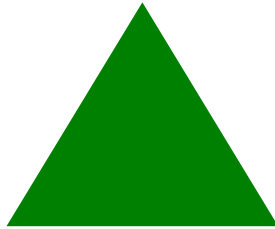


Scheletro, porzioni molecolari in grado di interagire con il bersaglio, caratteristiche di solubilità ottimali (porzioni che conferiscono la solubilità)....

Caratteristiche generali dei farmaci

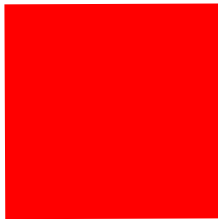
FARMACOFORO

Arrangiamento 3D degli atomi, che permette le interazioni di binding il bersaglio desiderato

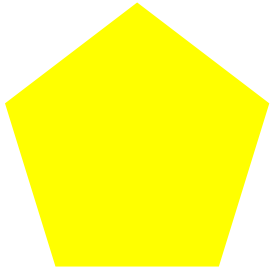


TOSSICOFORO

Arrangiamento 3D degli atomi, responsabile delle interazioni che possono portare a tossicità



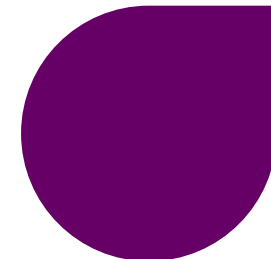
Caratteristiche generali dei farmaci



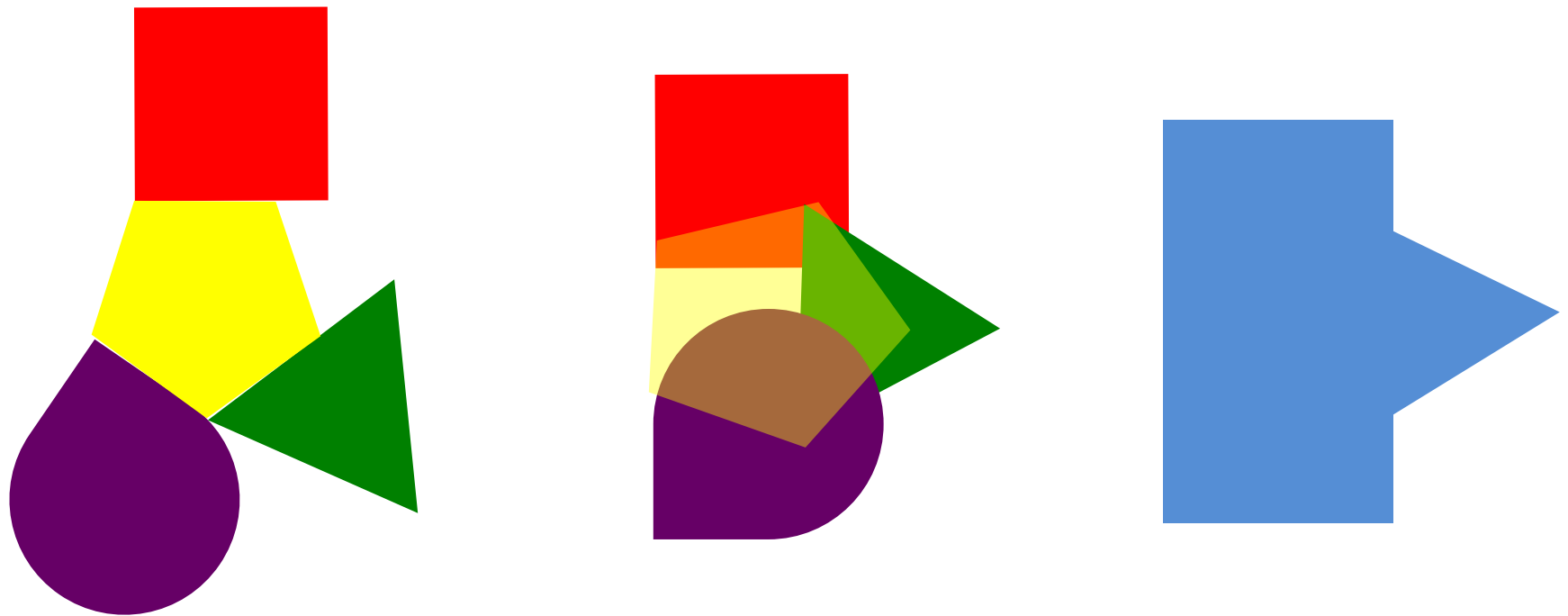
METABOFORO

Arrangiamento 3D degli atomi, responsabile delle proprietà metaboliche

Tutte le altre parti della molecola sono
BAGAGLIO MOLECOLARE

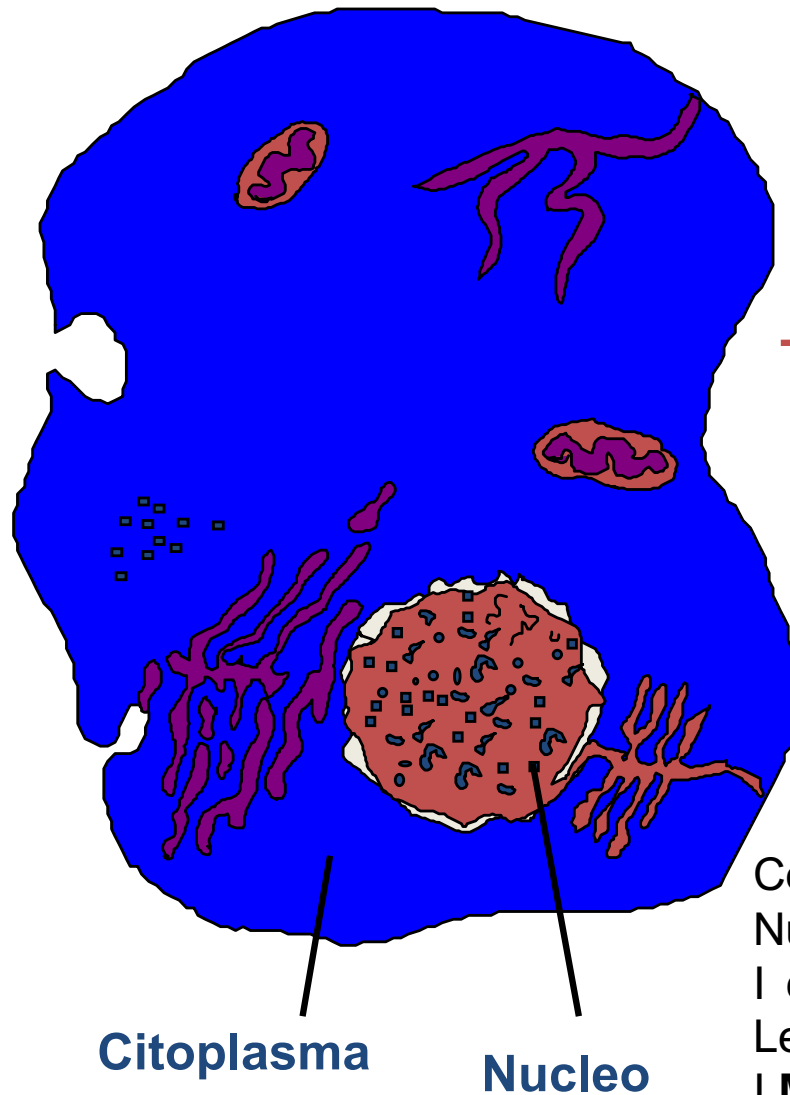


Caratteristiche generali dei farmaci

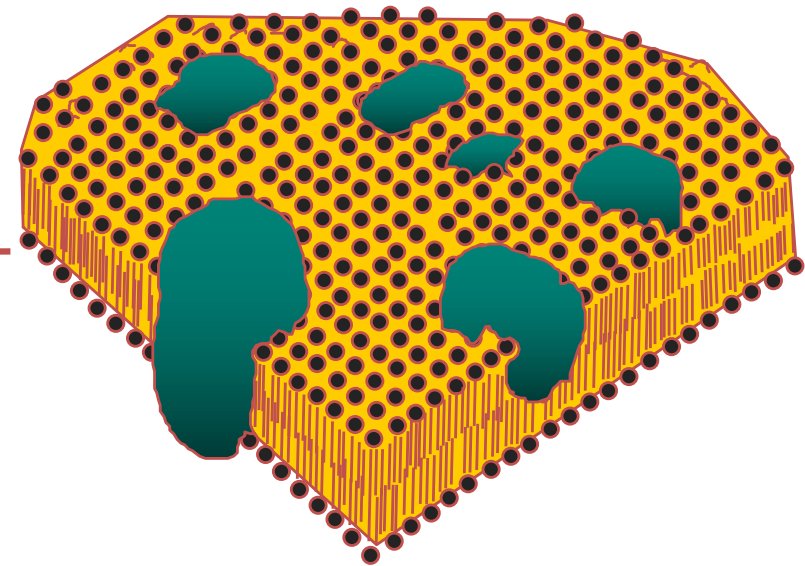


Target di farmaci

Struttura cellulare



Doppio strato fosfolipidico



Cellule **eucariote**

Nucleo: DNA

I contenuti fluidi della cellula sono noti come citoplasma

Le strutture sono dette organelli

I **Mitocondri** sono la “centrale energetica” delle cellule

I **Ribosomi** sono i centri di produzione proteica

Target di farmaci

Lipidi

Lipidi della membrana cellulare

Carboidrati

Carboidrati della superficie cellulare
Antigeni e molecole di riconoscimento

Acidi Nucleici

DNA
RNA

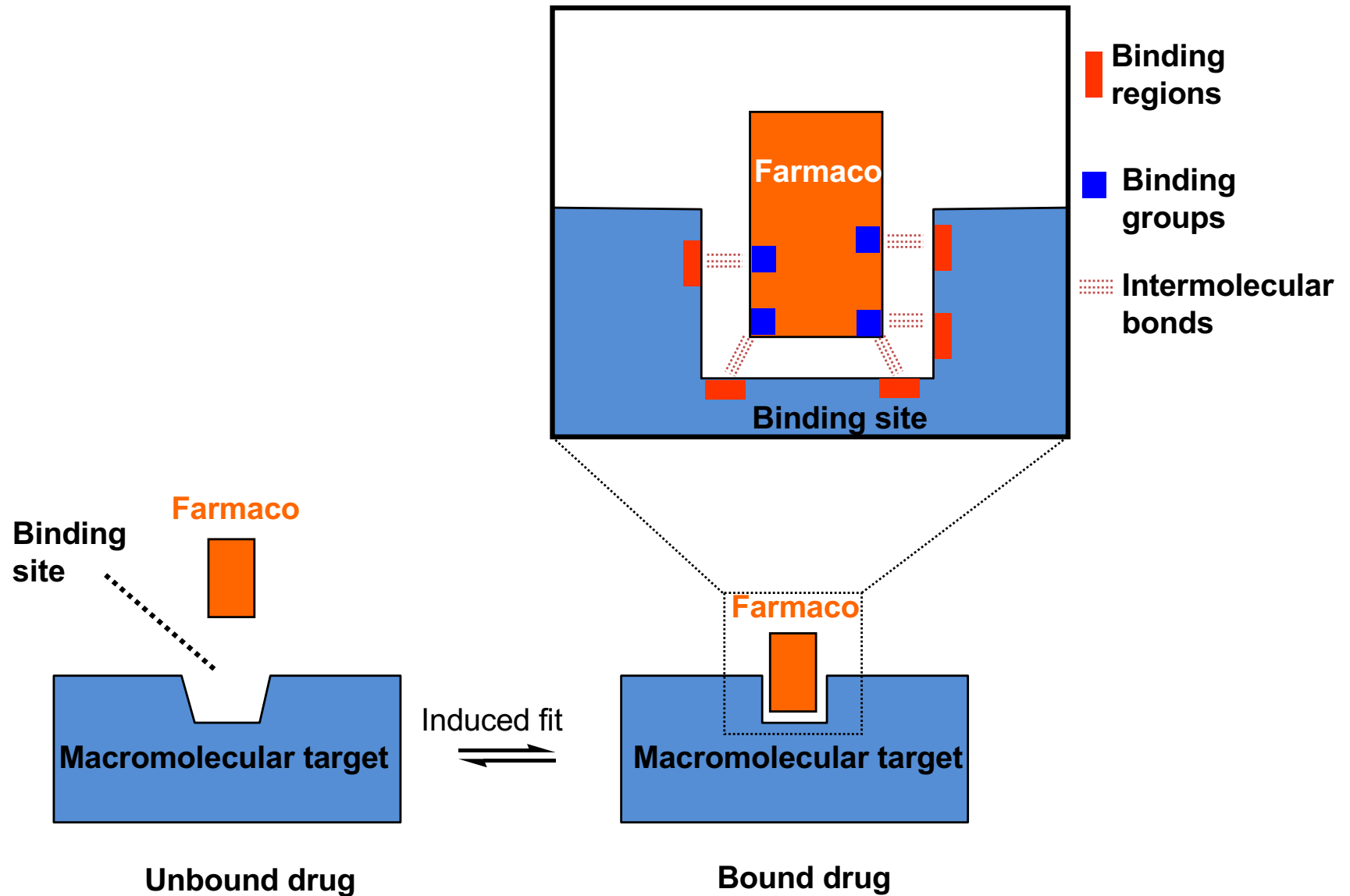
Proteine

Enzimi
Proteine di trasporto
Proteine strutturali (tubulina)
Recettori

Target di farmaci

- Bersagli farmacologici: macromolecole
- Farmaci: molecole generalmente molto più piccole dei loro bersagli
- Farmaci: interazione con il target mediante legame ai siti di legame del target stesso
- Siti di legame: tipicamente cavità idrofobiche o fessure sulla superficie di macromolecole
- Interazioni di legame: tipicamente legami intermolecolari
- In genere in equilibrio tra forma legata e non
- Gruppi funzionali del farmaco coinvolti nelle interazioni di legame (binding groups)
- Regioni specifiche all'interno del sito di legame coinvolte nelle interazioni di legame (regioni di binding)

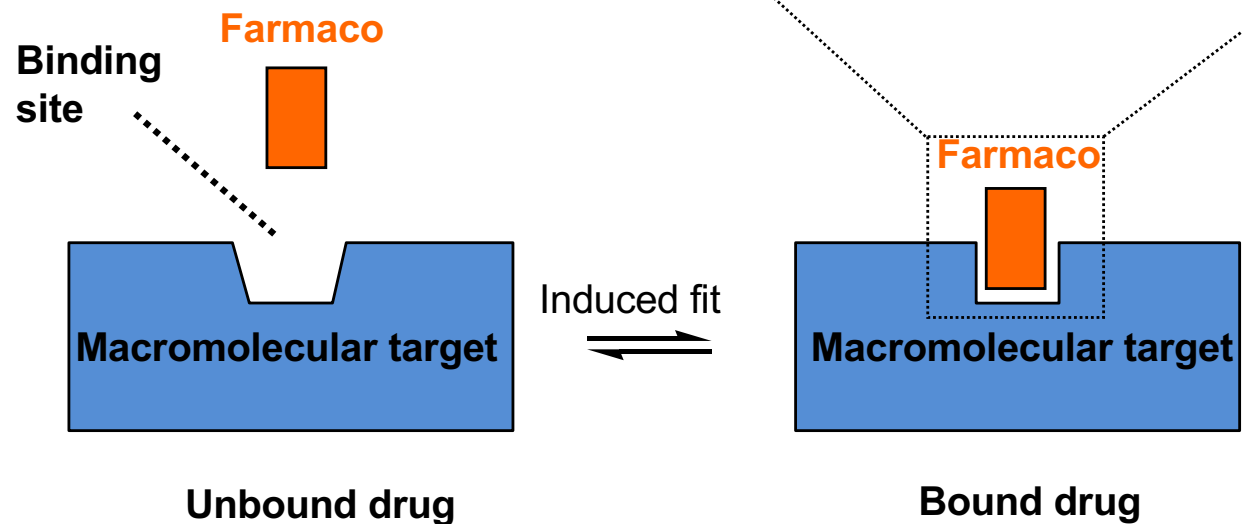
Target di farmaci



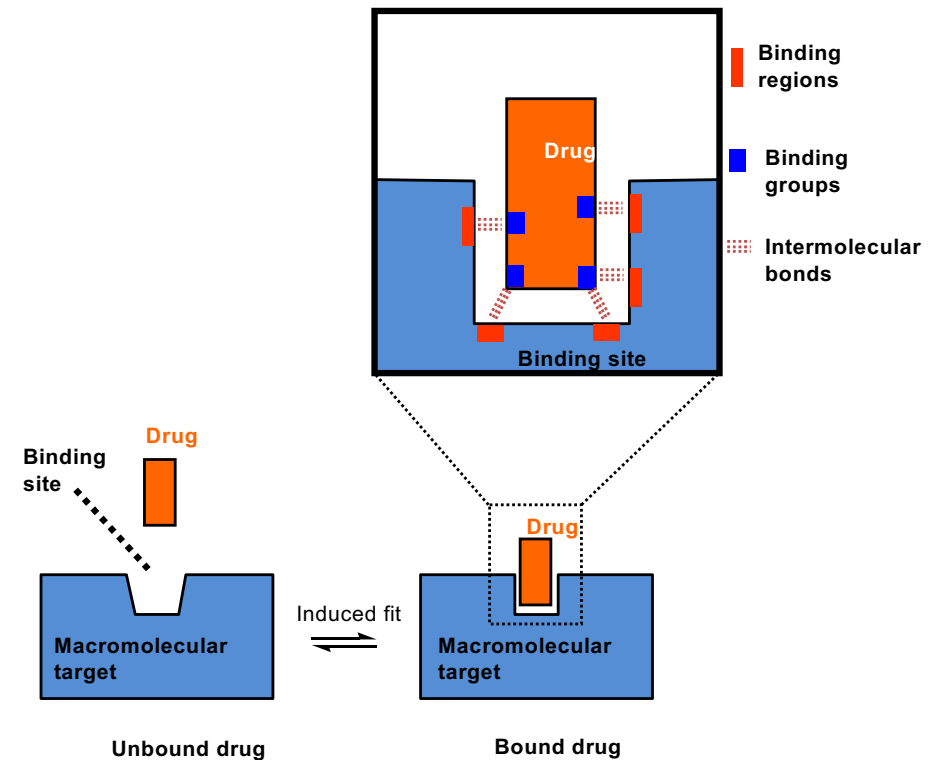
Target di farmaci

“**Lock and Key**”: complementarità “rigida” tra target e substrato a esso complementare

“**Induced fit**”: gradi di flessibilità della struttura. Adattamento del target alla conformazione del substrato quando le due parti interagiscono



Target di farmaci



Le interazioni di legame generalmente portano a un **“induced fit”** in cui il binding site cambia forma per accomodare il farmaco (substrato)

L'**induced fit** può portare anche a variazioni della struttura complessiva del target

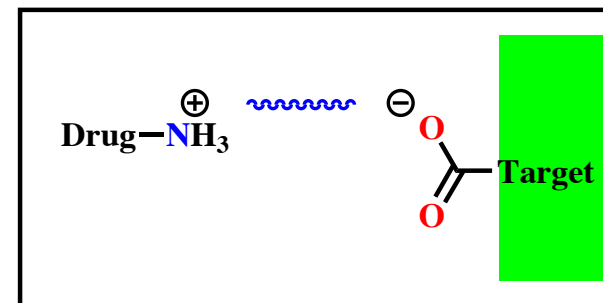
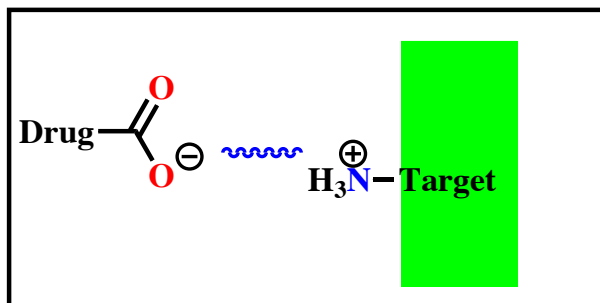
Importante per l'effetto farmacologico del farmaco

Legami – Forze coinvolte

Legami ionici o forze elettrostatiche

Legami intermolecolari

- **Il più forte** dei legami intermolecolari (**20-40 kJ mol⁻¹**)
- Si instaura tra gruppi con cariche opposte
- La forza dell'interazione è inversamente proporzionale alla distanza tra le due cariche
- **Interazioni più forti in ambienti idrofobici**
- La forza dell'interazione diminuisce meno rapidamente all'aumento della distanza tra le due porzioni rispetto alle altre interazioni intermolecolari
- **Interazioni iniziali più importanti** quando un farmaco entra nel sito di binding

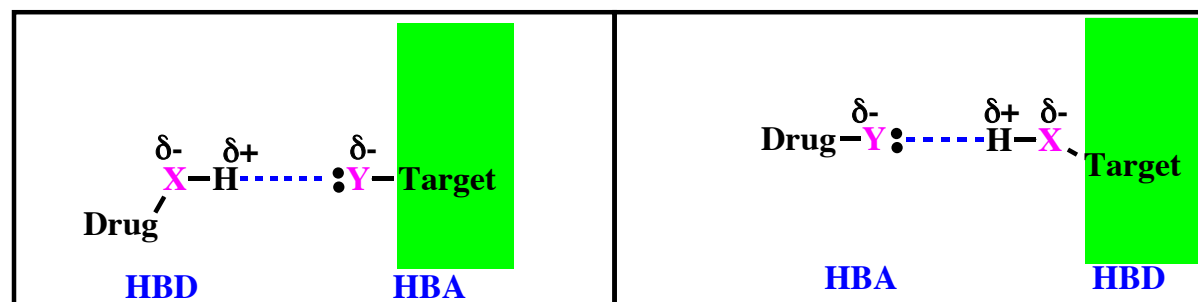


Legami – Forze coinvolte

Legami idrogeno

- Di forza varia
- Più deboli delle interazioni elettrostatiche, ma più forti di quelle di van der Waals
- Un legame idrogeno ha luogo tra un **idrogeno elettrone-deficiente** e un **eteroatomo ricco di elettroni** (N o O)
- L'atomo di idrogeno è generalmente legato a un eteroatomo (O o N)
- Donatore di legami idrogeno
- Accettore di legami idrogeno

Legami intermolecolari



Legami – Forze coinvolte

Legami idrogeno

Legami intermolecolari

- L'interazione coinvolge orbitali ed è direzionale
- Orientazione ottimale: il legame H-X punta direttamente verso il doppietto elettronico di Y, in modo che l'angolo tra X, H e Y sia di 180°



- Forti accettori di legami idrogeno
 - carbossilati, fosfati, ammine terziarie
- Moderate accettori di legami idrogeno
 - acidi carbossilici, ossigeno ammidico, chetone, estere, etere, alcool
- Scarsi accettori di legami idrogeno
 - solfuri, fluoruri, cloruri, anelli aromatici, azoto ammidico, ammine aromatiche
- Buoni donatori di legami idrogeno
 - ioni alchilammonici

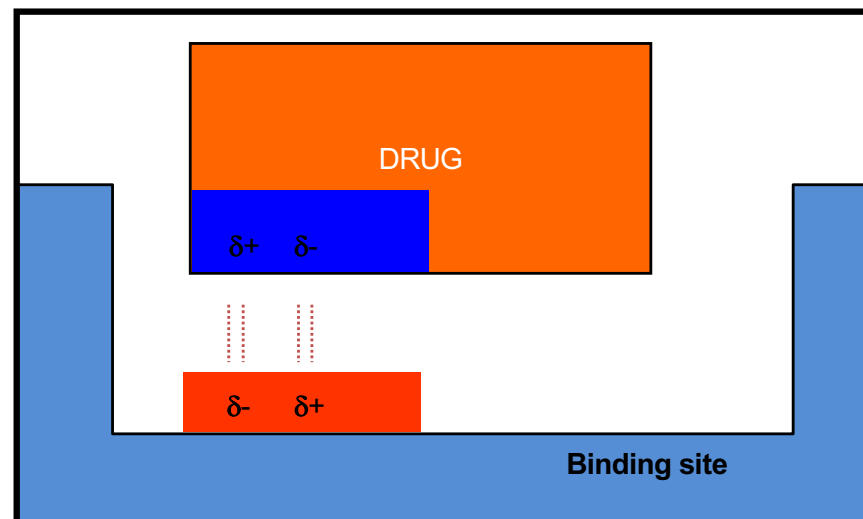
Legami – Forze coinvolte

Interazioni di Van der Waals

- Interazioni molto deboli ($2-4 \text{ kJ mol}^{-1}$)
- Hanno luogo tra le regioni idrofobiche del farmaco e del target
- Aree transitorie di alta e bassa densità elettronica che causano dipoli temporanei
- L'interazione diminuisce rapidamente con la distanza
- Il farmaco deve essere vicino alla regione di legame affinché si verifichino le interazioni
- Il contributo complessivo delle interazioni di van der Waals può essere cruciale per il binding

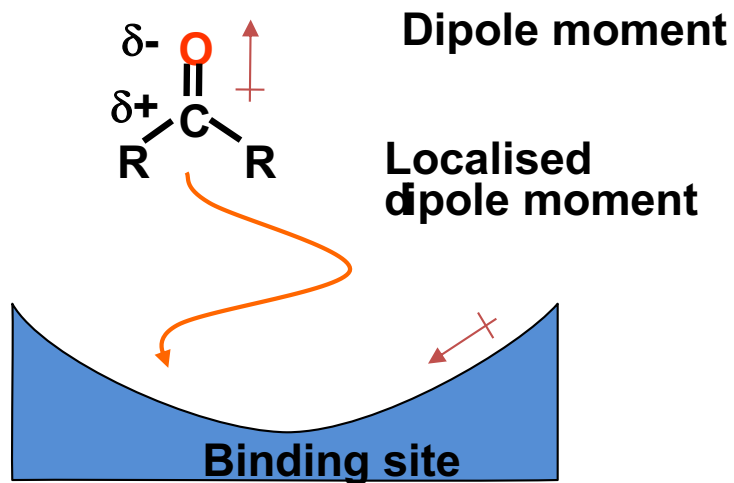
Legami intermolecolari

- ■ Hydrophobic regions
- δ+ δ- Transient dipole on drug
- ⋮ van der Waals interaction

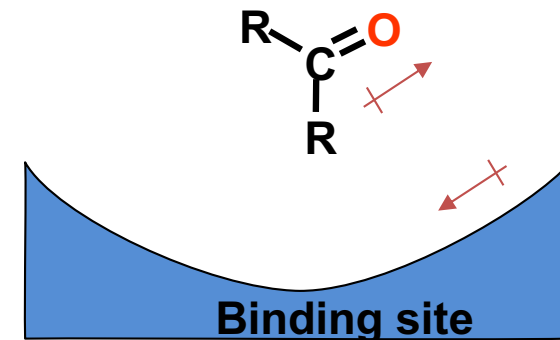


Legami – Forze coinvolte

Interazioni dipolo-dipolo

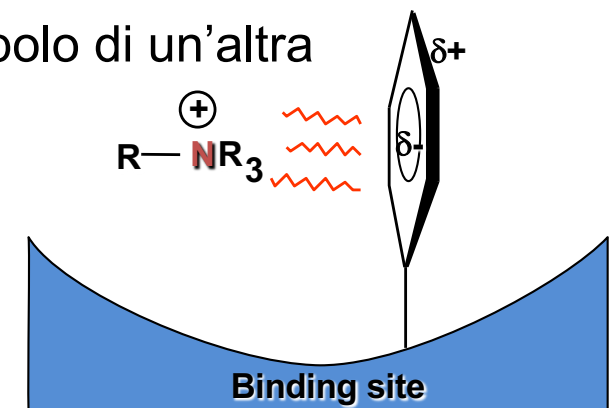


Legami intermolecolari



Interazioni dipolo indotto

- Ha luogo quando la carica di una molecola induce il dipolo di un'altra
- Ione ammonio e anello aromatico

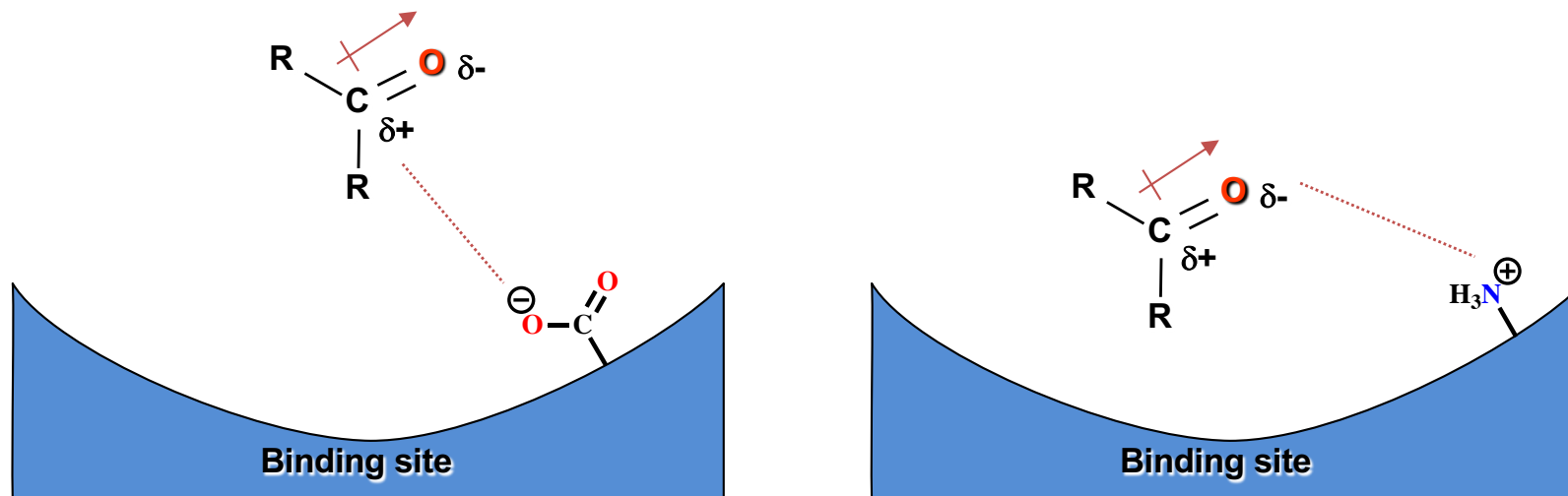


Legami – Forze coinvolte

Legami intermolecolari

Interazioni ione-dipolo

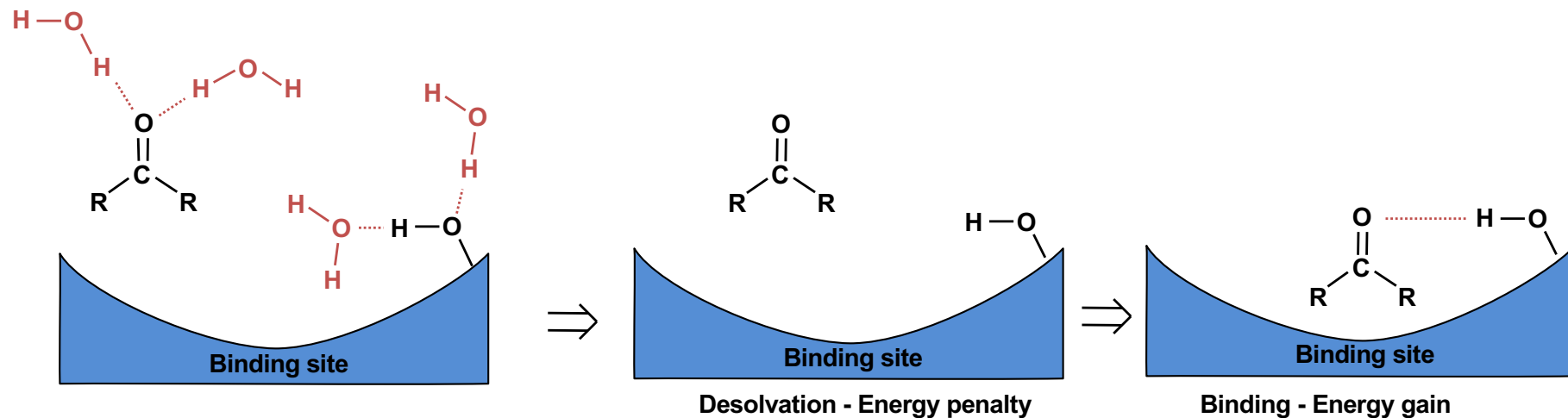
- Hanno luogo quando la carica di una molecola interagisce con il momento dipolare di un'altra
- Più forti delle interazioni dipolo-dipolo
- La forza del legame diminuisce meno velocemente all'aumentare della distanza rispetto a quanto succede per le interazioni dipolo-dipolo



Legami – Forze coinvolte

Desolvatazione

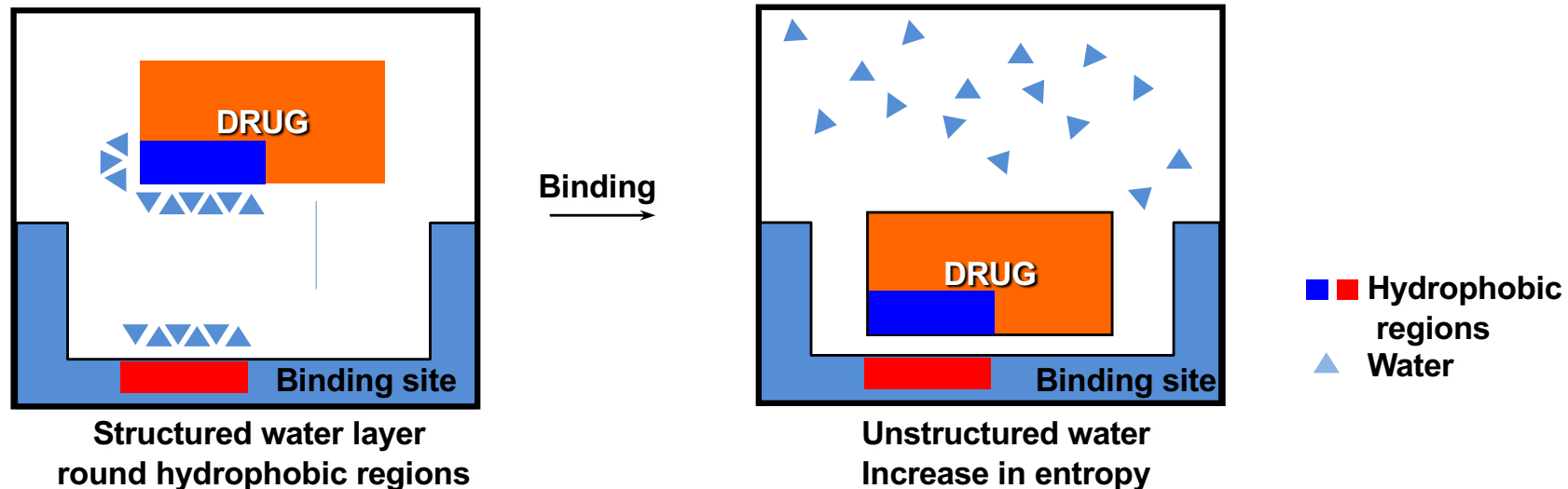
- Regioni polari di un farmaco e del suo target: solvate prima dell'interazione
- Desolvatazione: necessaria e richiede energia
- L'energia ottenuta dall'interazione farmaco-target deve essere maggiore dell'energia richiesta per la desolvatazione



Legami – Forze coinvolte

Interazioni idrofobiche

- Le regioni idrofobiche del farmaco e del suo target non sono solvate
- Le molecole d'acqua interagiscono tra loro e formano uno strato ordinato vicino alle regioni idrofobiche - entropia negativa
- Le interazioni tra le regioni idrofobiche del farmaco e del suo target 'rilasciano' le molecole d'acqua impaccate
- Aumento di entropia
- Vantaggioso per energia di legame



Target di farmaci

Lipidi

Lipidi della membrana cellulare

Carboidrati

Carboidrati della superficie cellulare
Antigeni e molecole di riconoscimento

Acidi Nucleici

DNA
RNA

Proteine

Enzimi
Proteine di trasporto
Proteine strutturali (tubulina)
Recettori

Target di farmaci

Lipidi

Lipidi della membrana cellulare

Carboidrati

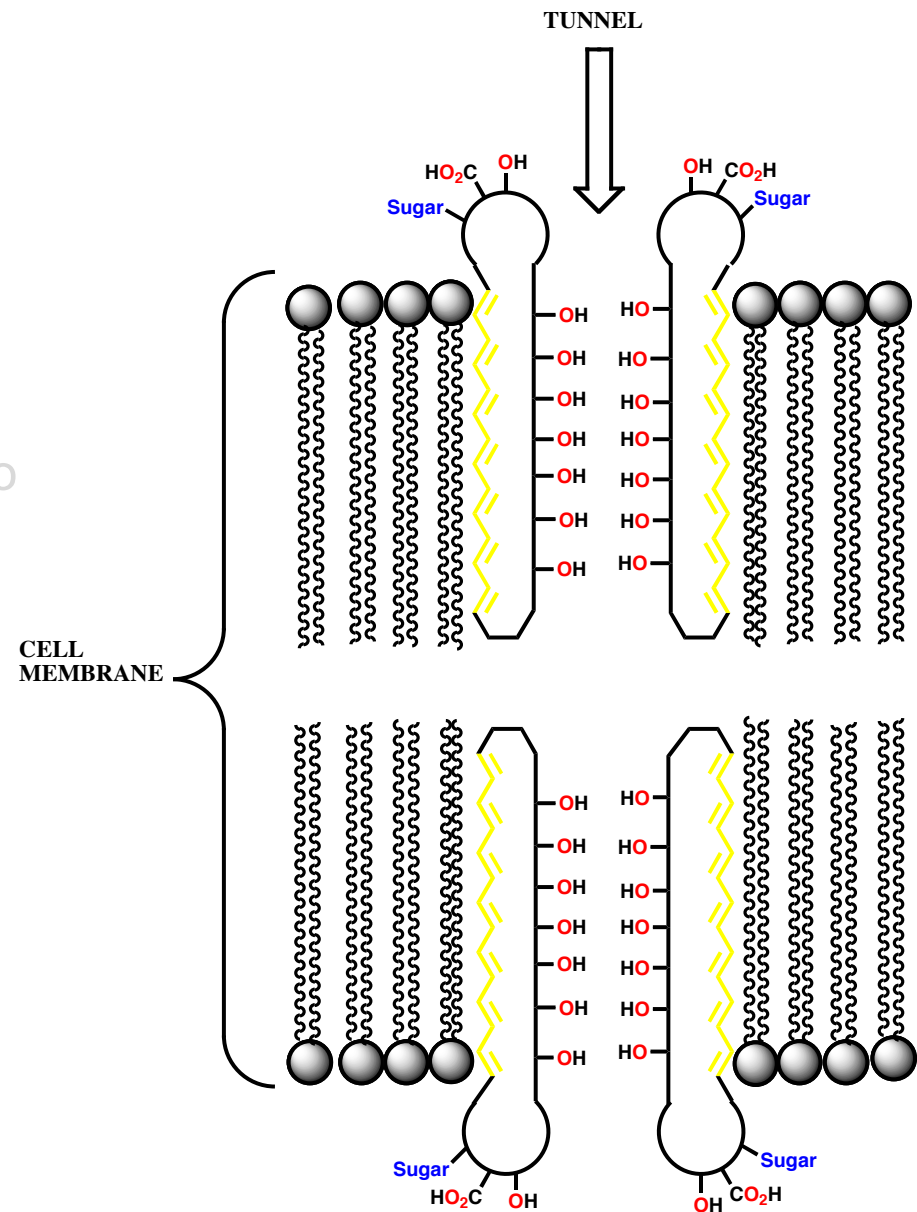
Carboidrati della superficie cellulare
Antigeni e molecole di riconoscimento

Acidi Nucleici

DNA
RNA

Proteine

Enzimi
Proteine di trasporto
Proteine strutturali (tubulina)
Recettori



Target di farmaci

Lipidi

Lipidi della membrana cellulare

Carboidrati

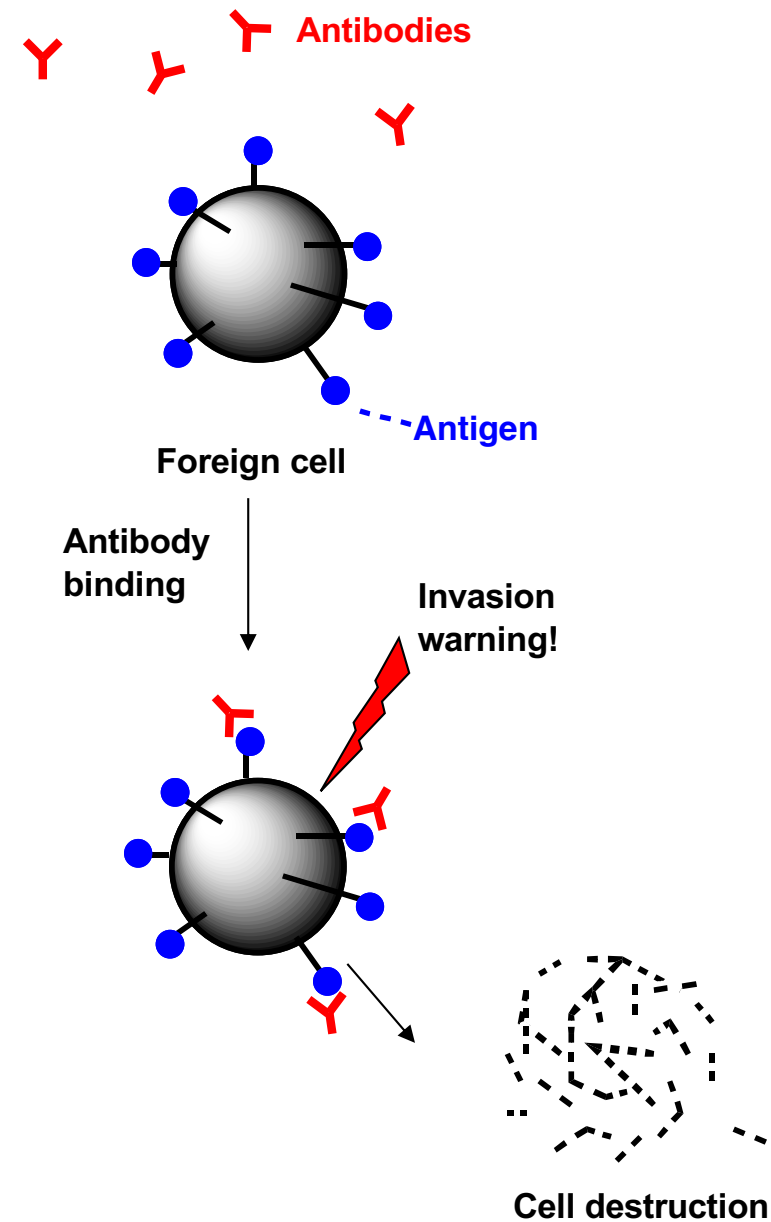
Carboidrati della superficie cellulare
Antigeni e molecole di riconoscimento

Acidi Nucleici

DNA
RNA

Proteine

Enzimi
Proteine di trasporto
Proteine strutturali (tubulina)
Recettori



Target di farmaci

Lipidi

Lipidi della membrana cellulare

Carboidrati

Carboidrati della superficie cellulare
Antigeni e molecole di riconoscimento

Acidi Nucleici

DNA
RNA

Proteine

Enzimi
Proteine di trasporto
Proteine strutturali (tubulina)
Recettori

Agenti intercalanti

(Veleni delle Topoisomerasi)

Agenti alchilanti

Agenti metallanti

Chain cutters

Chain terminators

Controllo della trascrizione genetica

Target di farmaci

Lipidi

Lipidi della membrana cellulare

Carboidrati

Carboidrati della superficie cellulare
Antigeni e molecole di riconoscimento

Acidi Nucleici

DNA
RNA

Proteine

Proteine di trasporto
Proteine strutturali (tubulina)
Enzimi
Recettori

Target di farmaci – Proteine di trasporto

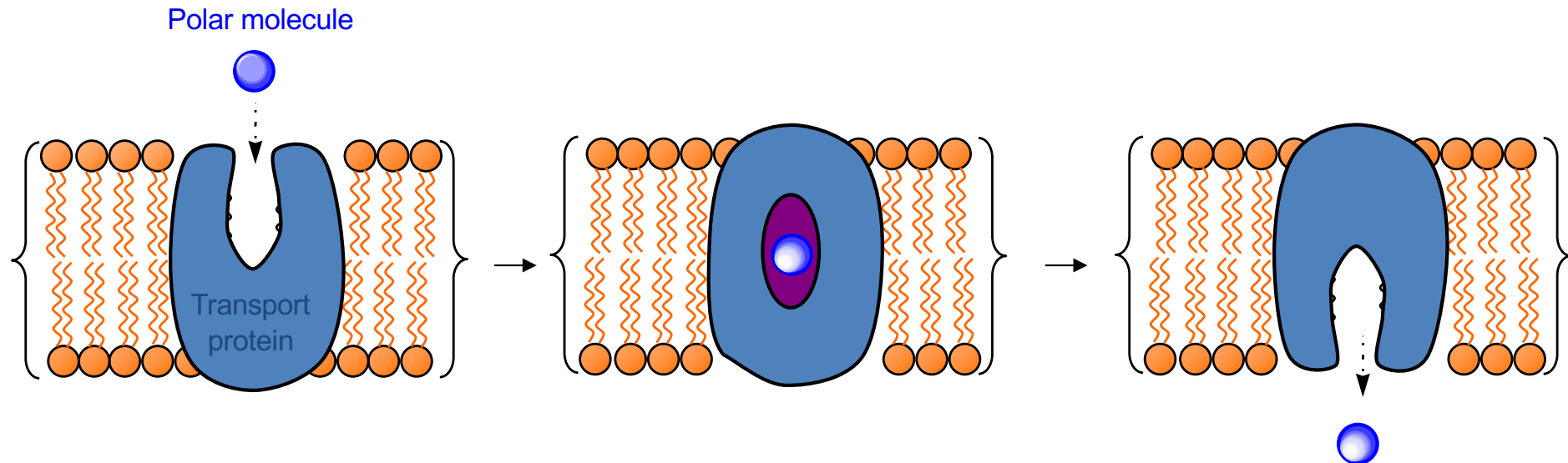
Molti farmaci attraversano le membrane biologiche mediante **diffusione passiva**: le molecole si muovono spontaneamente da una zona di maggiore concentrazione a una con concentrazione inferiore, con una velocità che dipende dal gradiente di concentrazione attraverso la membrana.

Alcune sostanze **endogene** invece utilizzano i sistemi di trasporto e il processo è definito come **attivo**. Per questo tipo di trasporto, le membrane hanno sistemi proteici specifici che "riconoscono" il prodotto da trasportare.

Il **trasporto attivo** differisce dalla diffusione passiva poiché può avvenire contro gradiente di concentrazione; tuttavia, il sistema di trasporto presenta limite di carico e specifica affinità strutturale per le sostanze da trasportare: sostanze esogene, strutturalmente simili a quelle endogene, possono legarsi al trasportatore, causando fenomeni di competizione che possono ridurre la sua efficacia.

Sfruttando questa competizione, un farmaco può esercitare la sua azione influenzando il trasporto di molecole endogene attraverso la membrana cellulare. La proteina di trasporto diventa allora il **bersaglio farmacologico**.

Target di farmaci – Proteine di trasporto



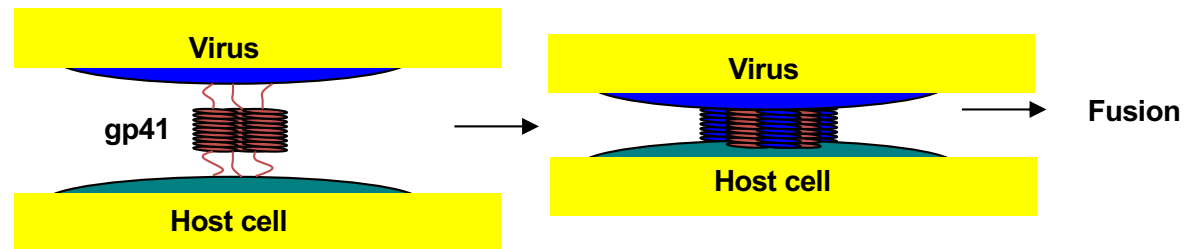
Il **trasporto attivo** differisce dalla diffusione passiva poiché può avvenire contro gradiente di concentrazione; tuttavia, il sistema di trasporto presenta limite di carico e specifica affinità strutturale per le sostanze da trasportare: sostanze esogene, strutturalmente simili a quelle endogene, possono legarsi al trasportatore, causando fenomeni di competizione che possono ridurre la sua efficacia.

Sfruttando questa competizione, un farmaco può esercitare la sua azione influenzando il trasporto di molecole endogene attraverso la membrana cellulare. La proteina di trasporto diventa allora il **bersaglio farmacologico**.

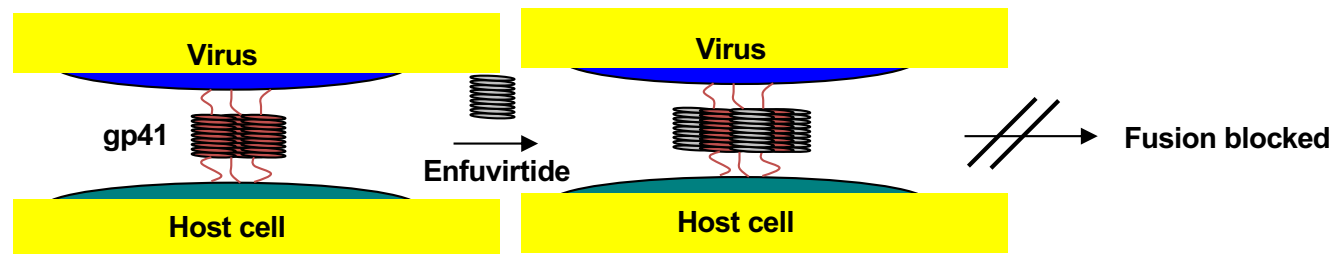
Target di farmaci – Proteine strutturali

Proteine strutturali virali

Ingresso dell'HIV nella cellula



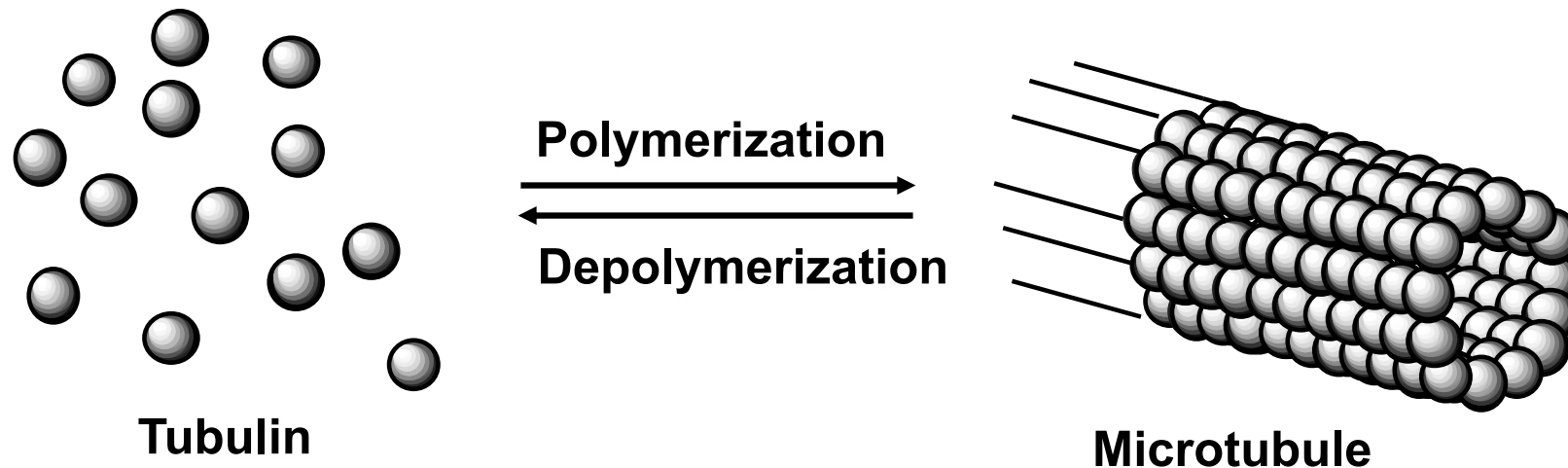
Blocco della fusione



Enfuvirtide: polipeptide di 36 amminoacidi

- Usato vs. HIV dal 2003
- Agisce come inibitore della fusione
- Interagisce con parte della **proteina virale** (gp41)
- Lega la gp41 e impedisce il processo di fusione

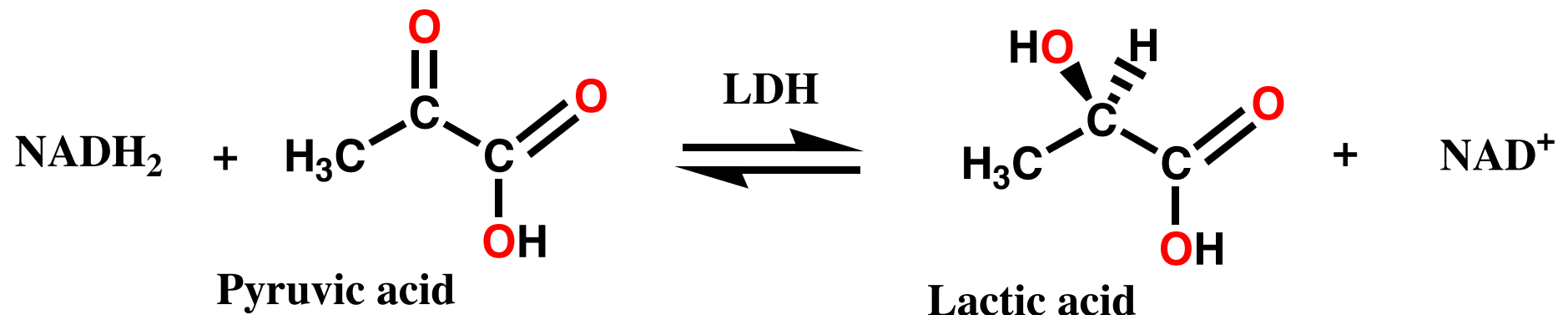
Target di farmaci – Proteine strutturali



Target di farmaci – Enzimi

Struttura e funzione

- Proteine globulari che fungono da catalizzatori
- Più veloce raggiungimento dell'equilibrio della reazione
- Minore energia di attivazione



LDH = Lactate dehydrogenase (enzyme)

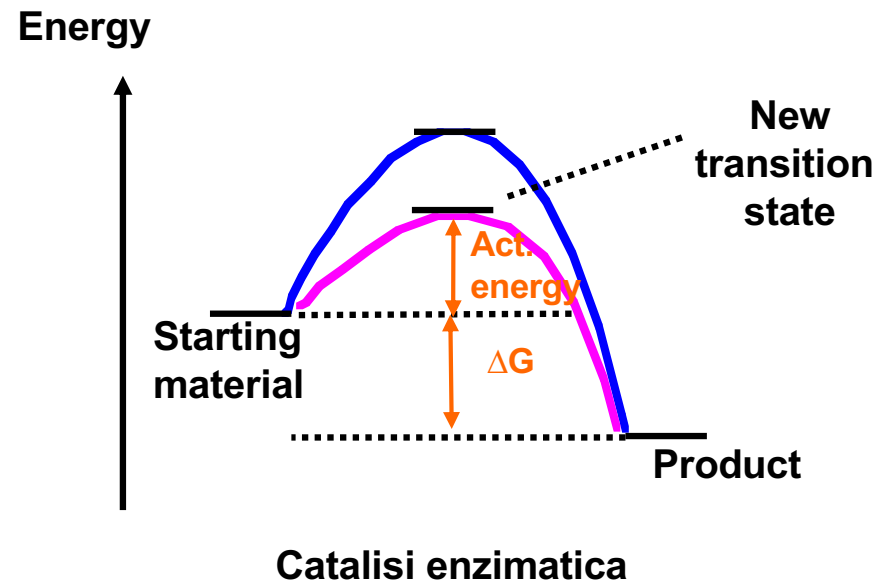
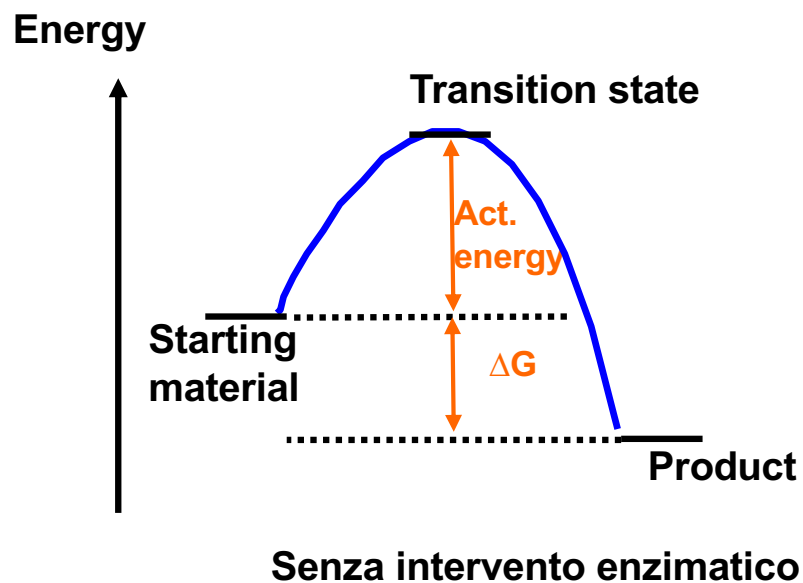
NADH₂ = Nicotinamide adenosine dinucleotide (reducing agent & cofactor)

Pyruvic acid = Substrate

Target di farmaci – Enzimi

Struttura e funzione

Diminuzione dell'energia di attivazione di una reazione



Enzimi: abbassano l'energia di attivazione della reazione ma il ΔG resta uguale

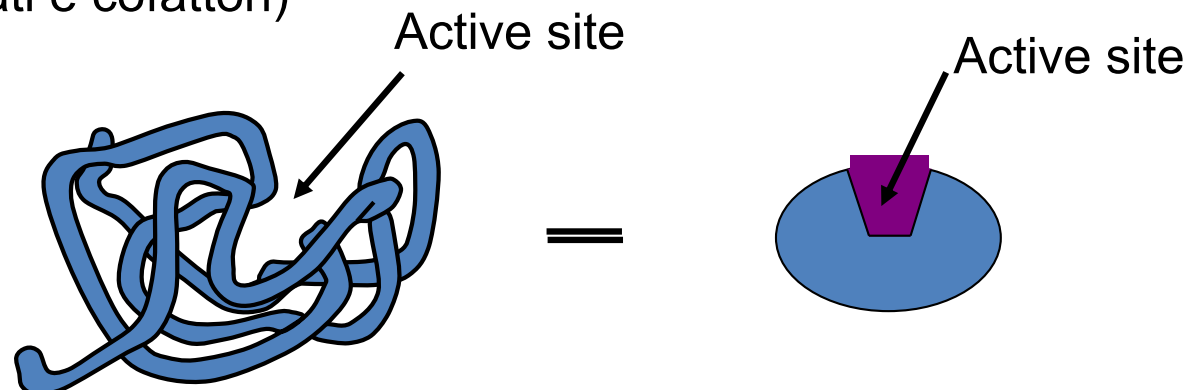
Target di farmaci – Enzimi

Caratteristiche

- Presentano una superficie “di reazione” (il sito attivo)
- Forniscono un ambiente idoneo (idrofobico)
- Posizionano i reagenti correttamente affinché possa avvenire la reazione
- Indeboliscono i legami nei reagenti
- Portano a catalisi acida / basica
- Forniscono gruppi nucleofili

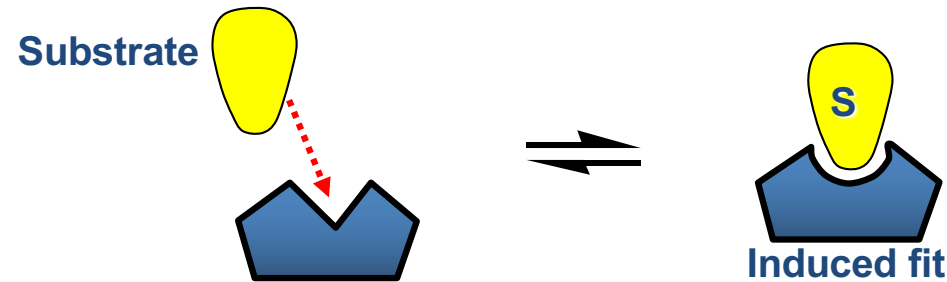
Sito attivo

- Cavità o fessura idrofobica sulla superficie dell'enzima
- Accetta reagenti (substrati e cofattori)
- Contiene amminoacidi che
 - legano i reagenti (substrati e cofattori)
 - catalizzano la reazione



Legame substrato - enzima

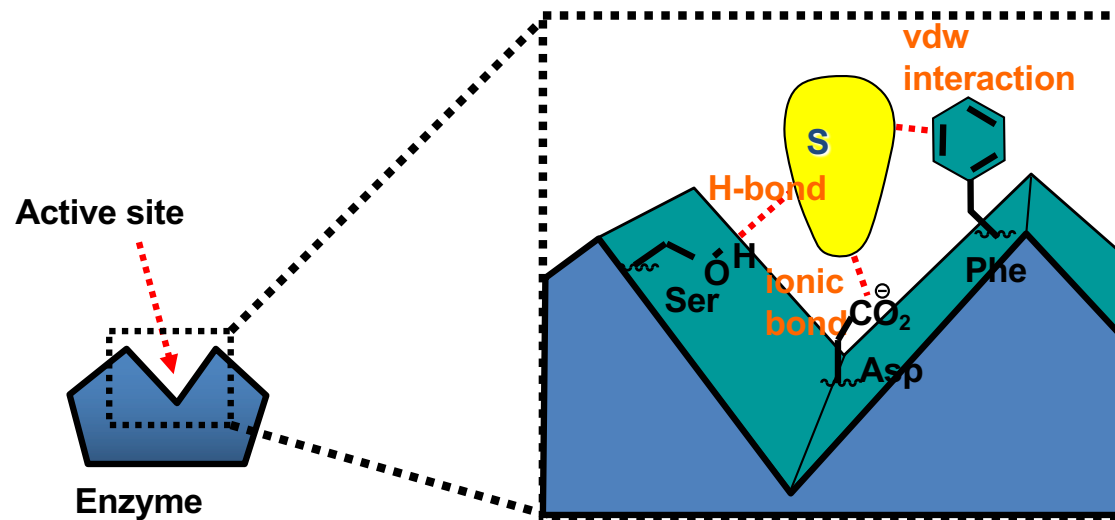
Induced fit



- Il sito attivo presenta una forma adatta per interagire con il substrato
- Il binding altera la forma dell'enzima (induced fit)
- Il binding varia la lunghezza dei legami del substrato
- Il binding coinvolge legami intermolecolari tra gruppi funzionali del substrato e del sito attivo

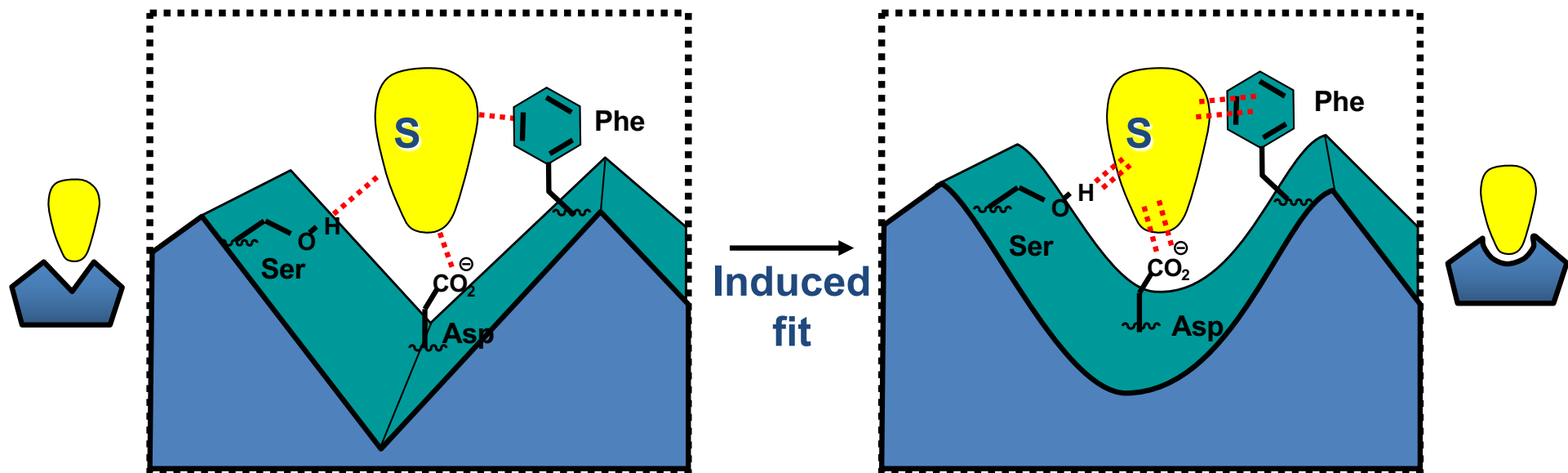
Forze di legame

- Ioniche
- Legami H
- van der Waals



Legame substrato - enzima

- Induced fit – Il sito attivo altera la struttura per massimizzare le interazioni intermolecolari



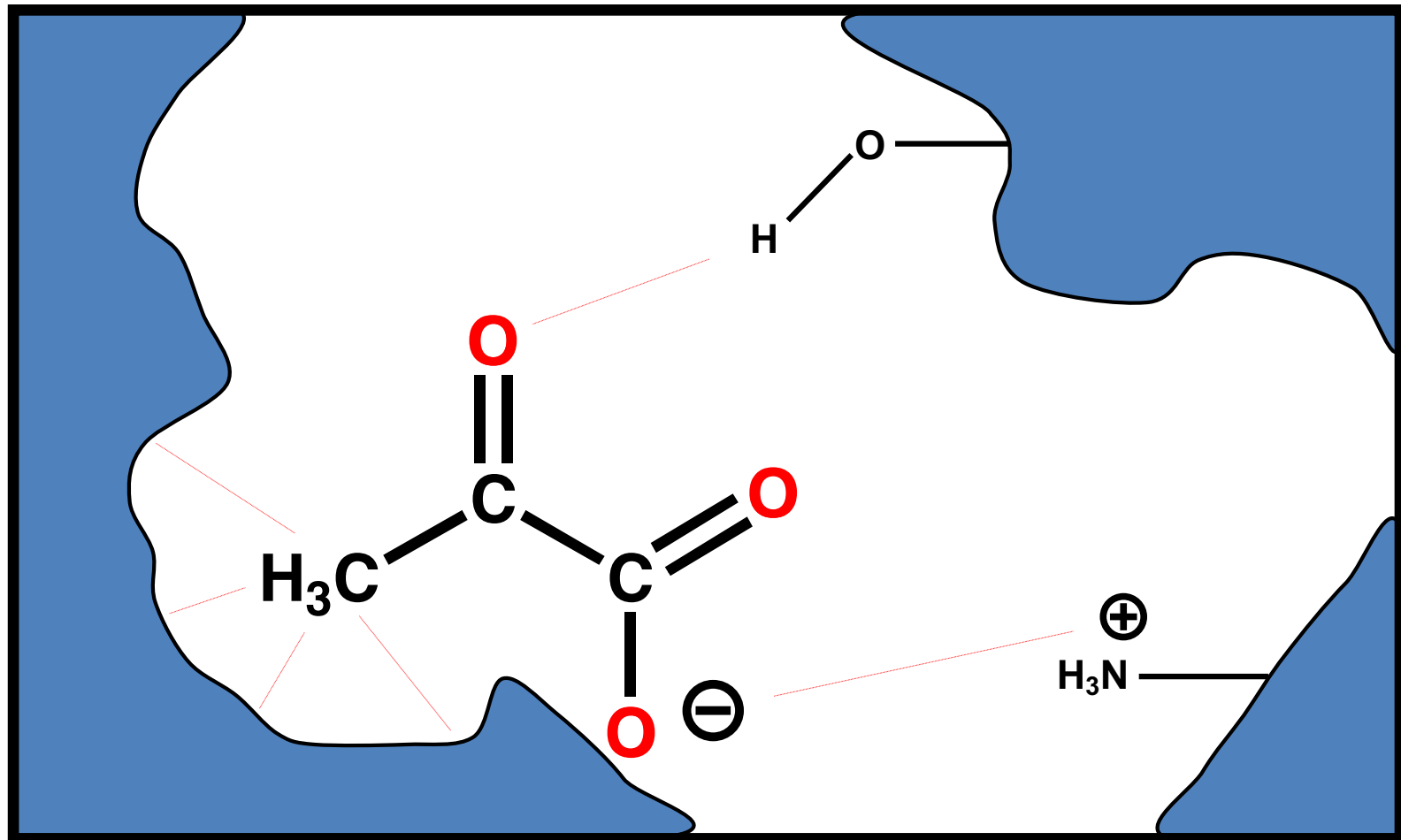
Legami intermolecolari di lunghezza non ottimale per il legame

Lunghezze di legame intermolecolare ottimizzate

Variazione della lunghezza dei legami nel substrato, che possono essere facilmente scissi

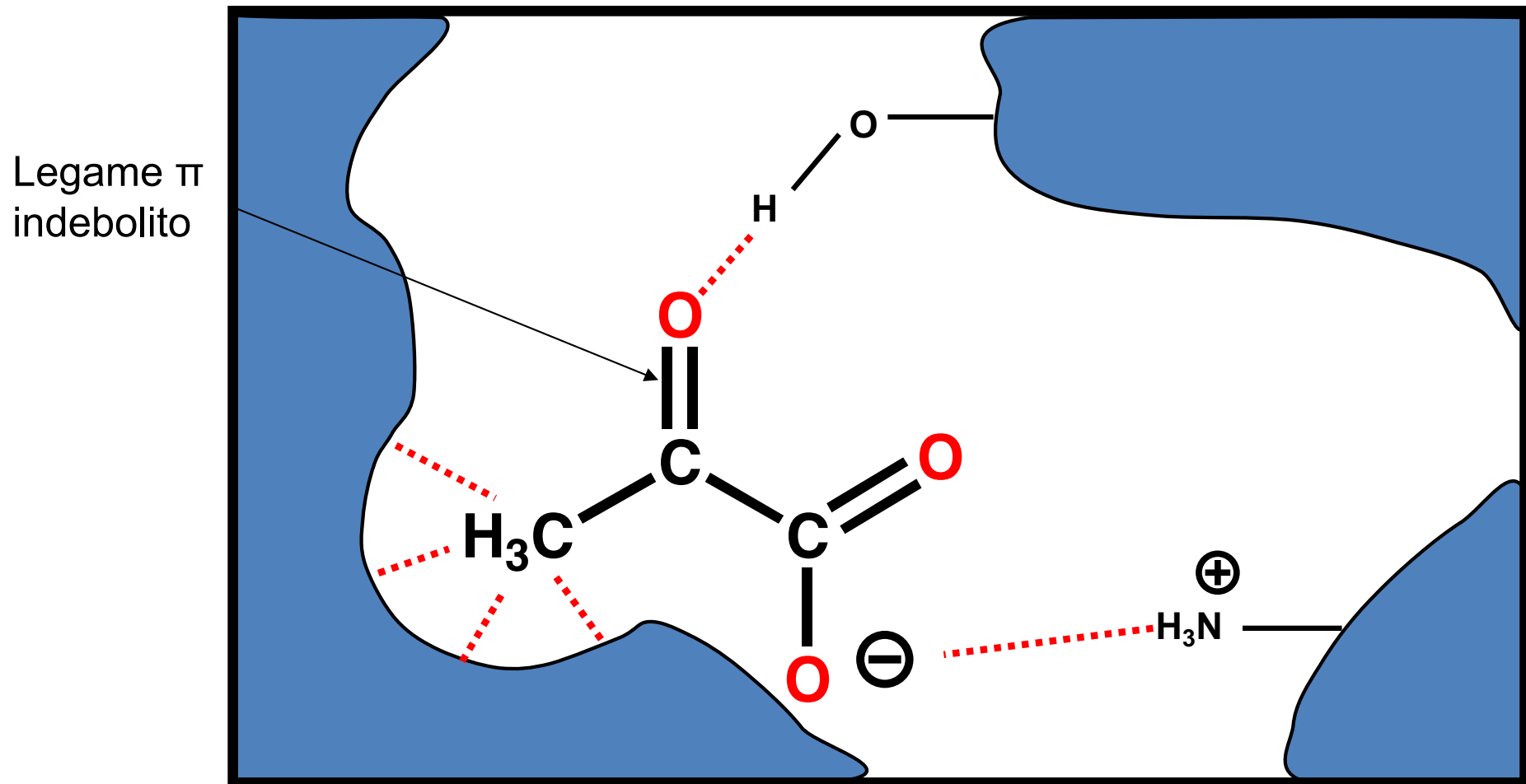
Legame substrato - enzima

Acido piruvico nella LDH

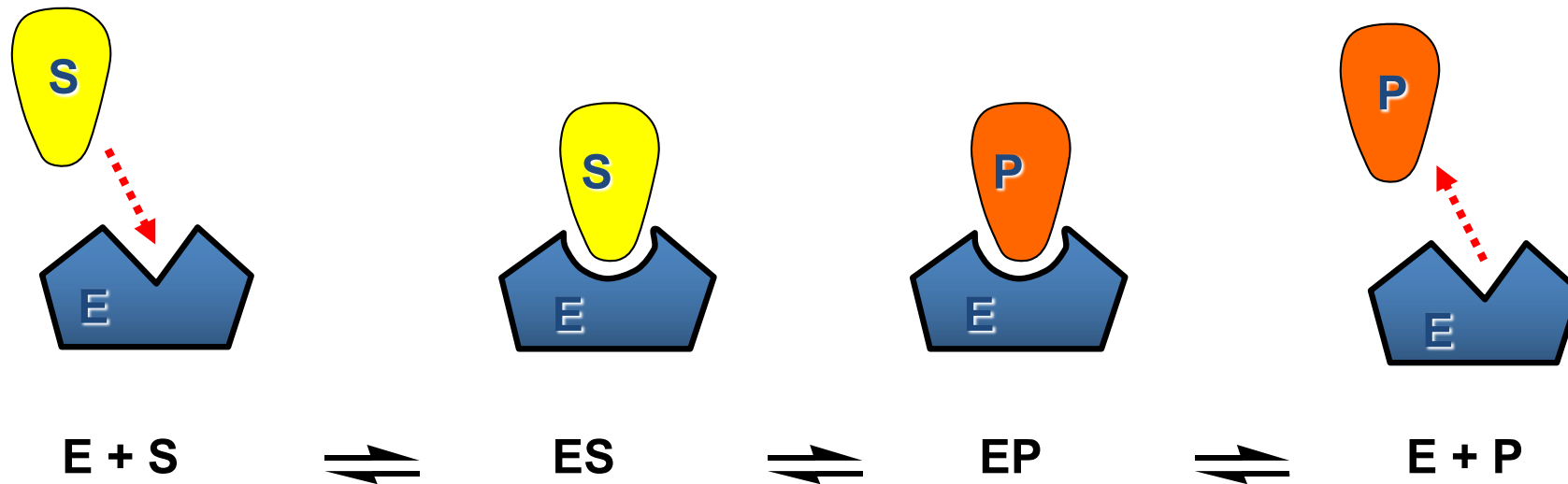


Legame substrato - enzima

Acido piruvico nella LDH



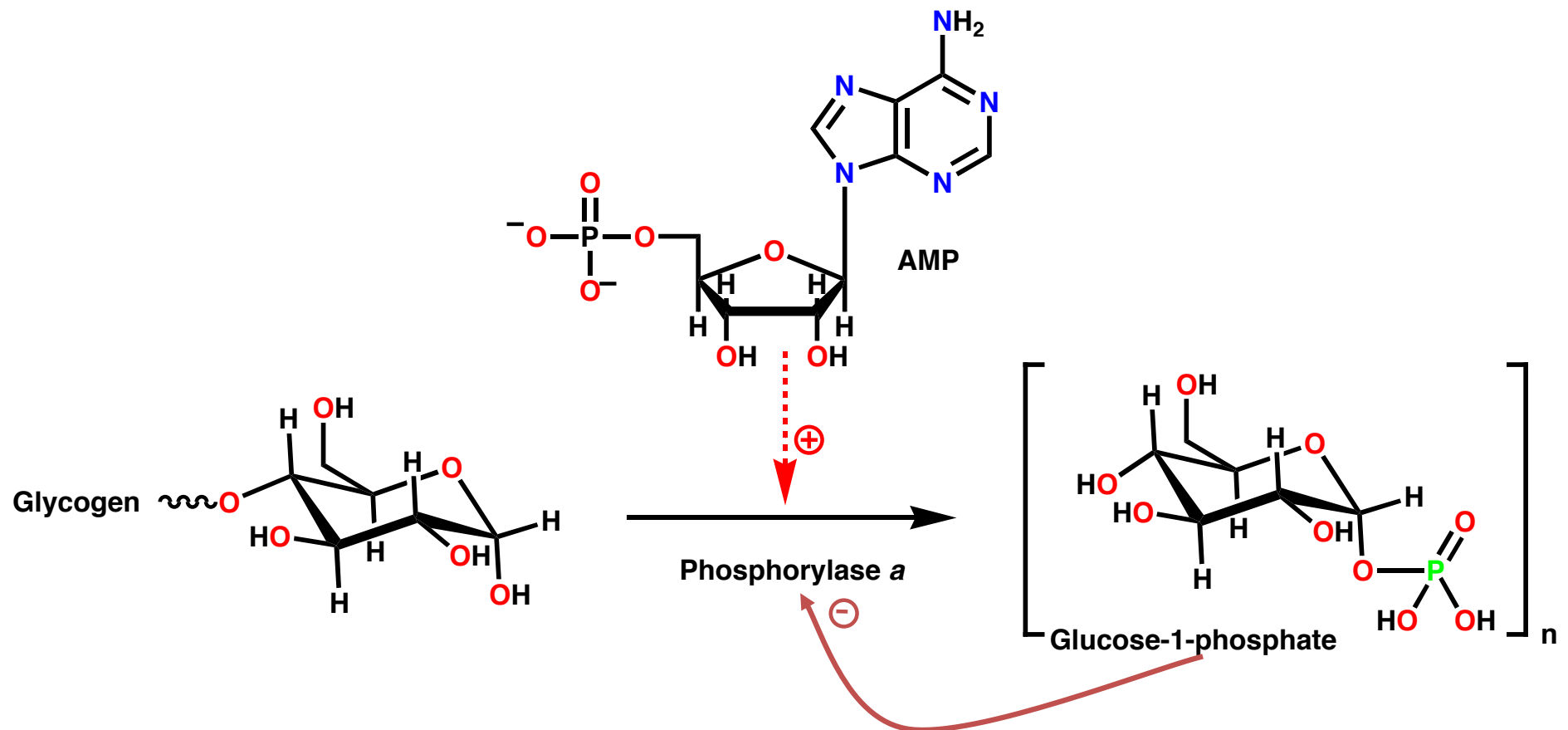
Processo di catalisi



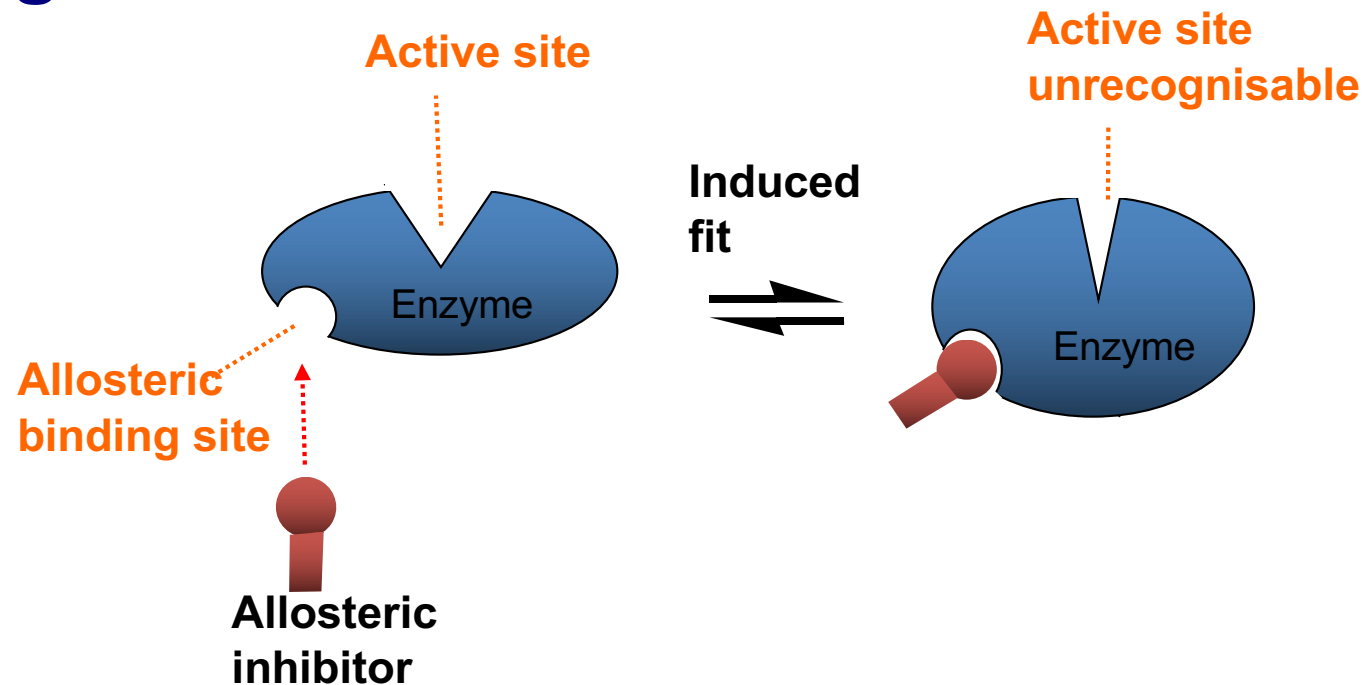
- Interazioni di legame abbastanza forti per legare il substrato sufficientemente a lungo affinché la reazione avvenga
- Interazioni sufficientemente deboli da consentire al prodotto di staccarsi
- Delicato equilibrio
- La progettazione di molecole con forti interazioni di legame risulta nella preparazione di inibitori enzimatici che bloccano il sito attivo

Regolazione enzimatica

- Molti enzimi sono regolati da agenti presenti nella cellula
- La regolazione può incrementare o inibire l'attività dell'enzima
- I prodotti di alcuni enzimi possono agire quali inibitori
- Questi in genere si legano a un sito detto sito allosterico

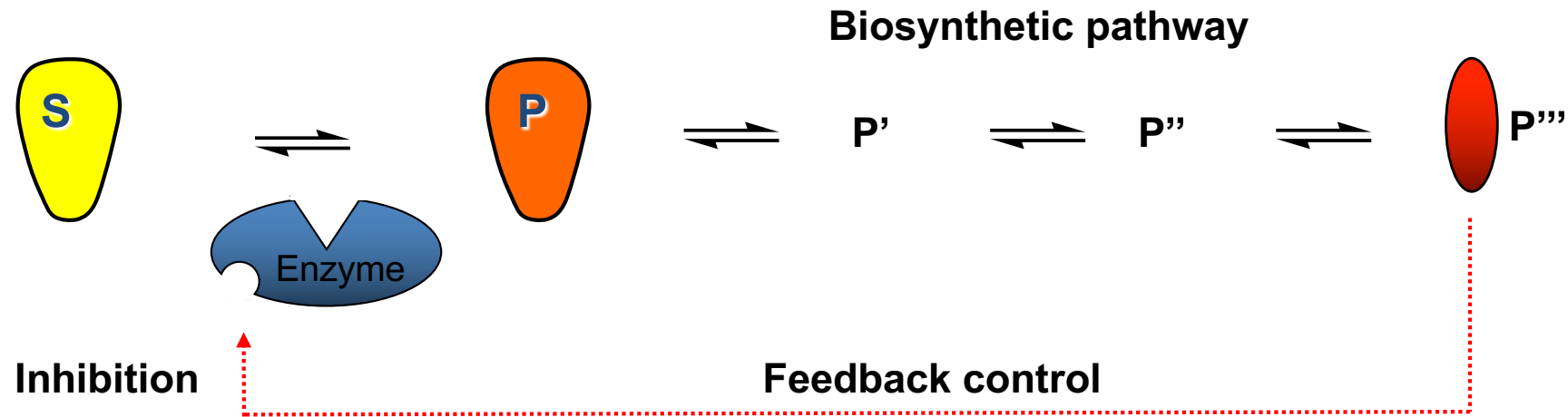


Regolazione enzimatica



- **Inibitore allosterico:** si lega reversibilmente a un sito di legame allosterico
- Si formano legami intermolecolari
- L'induced fit altera la struttura dell'enzima
- Il sito attivo è distorto e non viene riconosciuto dal substrato
- Una crescente concentrazione del substrato non elimina l'inibizione
- La struttura dell'inibitore allosterico non è simile a quella del substrato

Regolazione enzimatica



- Enzimi con siti allosterici spesso sono i primi nella catena di un processo biosintetico che coinvolge più passaggi (e più enzimi)
- L'enzima è controllato dal prodotto finale del processo
- Il prodotto finale lega il sito allosterico dell'enzima, inibendolo
- ISOenzimi

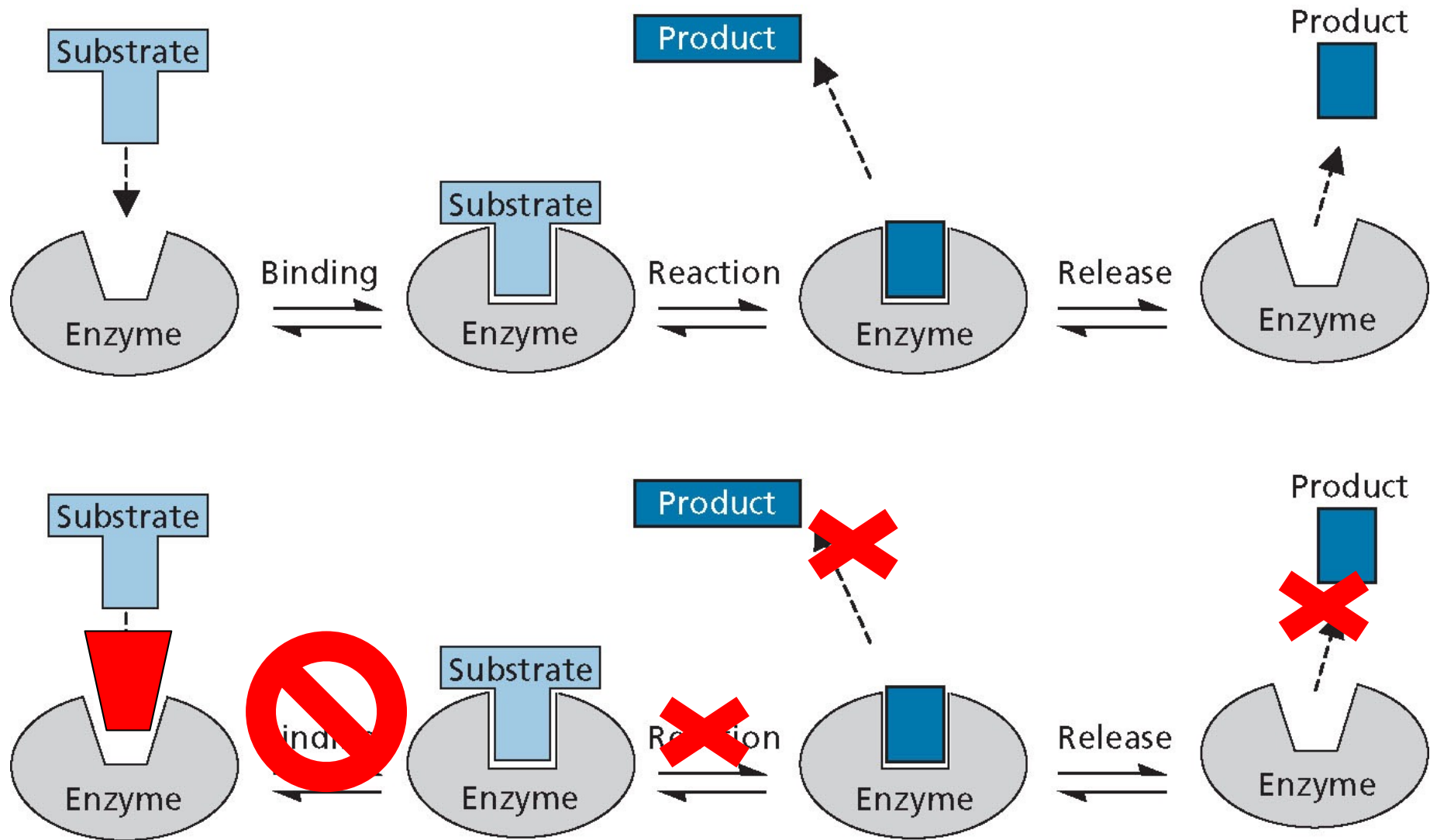
Inibitori reversibili competitivi

Gli inibitori competitivi si legano al sito attivo dell'enzima mediante legami intermolecolari e il binding è reversibile, permettendo un equilibrio tra il composto legato e quello libero – una specie di effetto 'yoyo' in cui il composto si lega al sito attivo, viene rilasciato, si rilega.

Questo significa che l'inibizione causata dal composto è reversibile.

Se la concentrazione del substrato aumenta, quest'ultimo compete per il sito attivo con maggiore efficacia con l'inibitore e l'inibizione del farmaco è meno efficace.

Inibitori reversibili competitivi

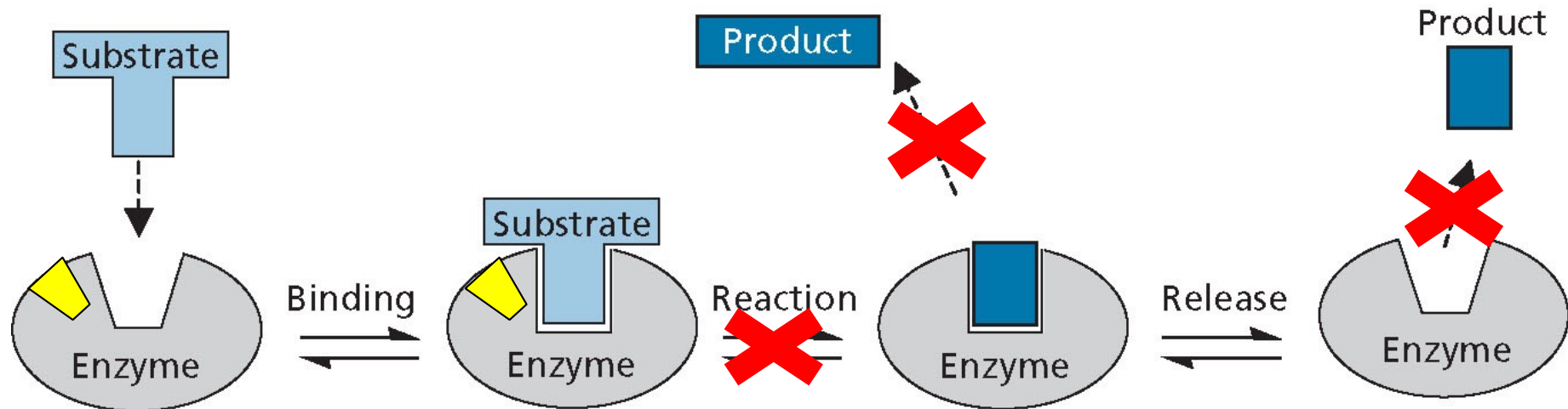


Inibitori

Alcuni inibitori legano il sito attivo, ma non sono in concorrenza con il substrato. Come può accadere?

Il sito attivo di qualche enzima può legare, oltre al substrato, un cofattore enzimatico.

inibitori competitivi che si legano alla regione del sito attivo occupato dal cofattore e competere con esso, piuttosto che con il substrato.

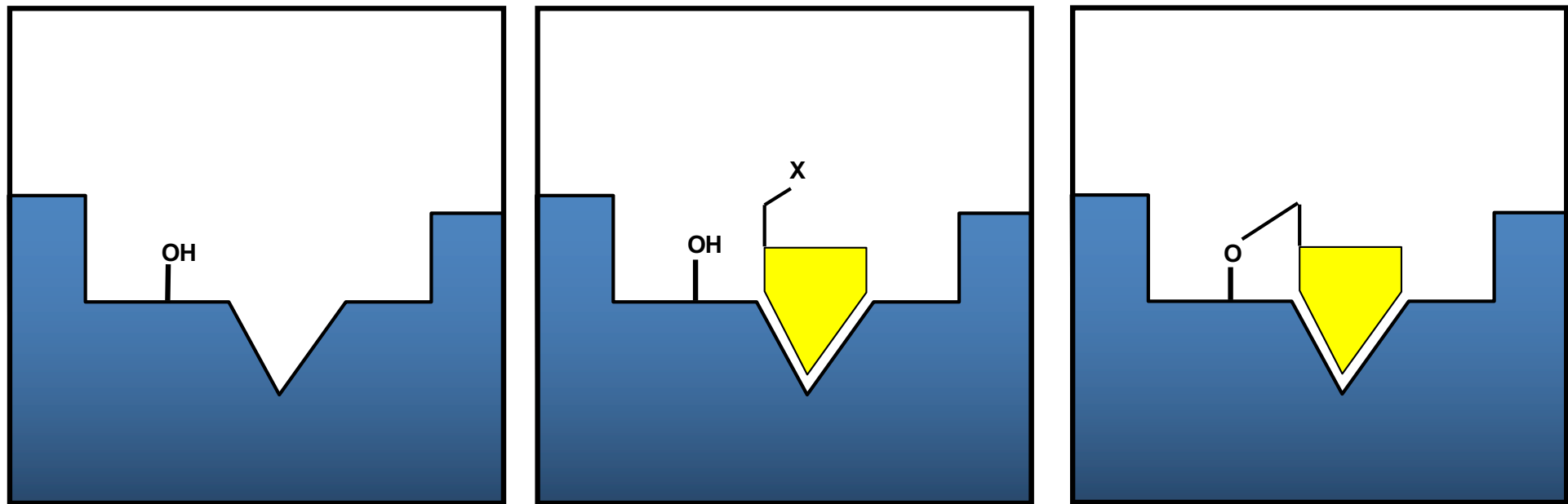


Inibitori irreversibili

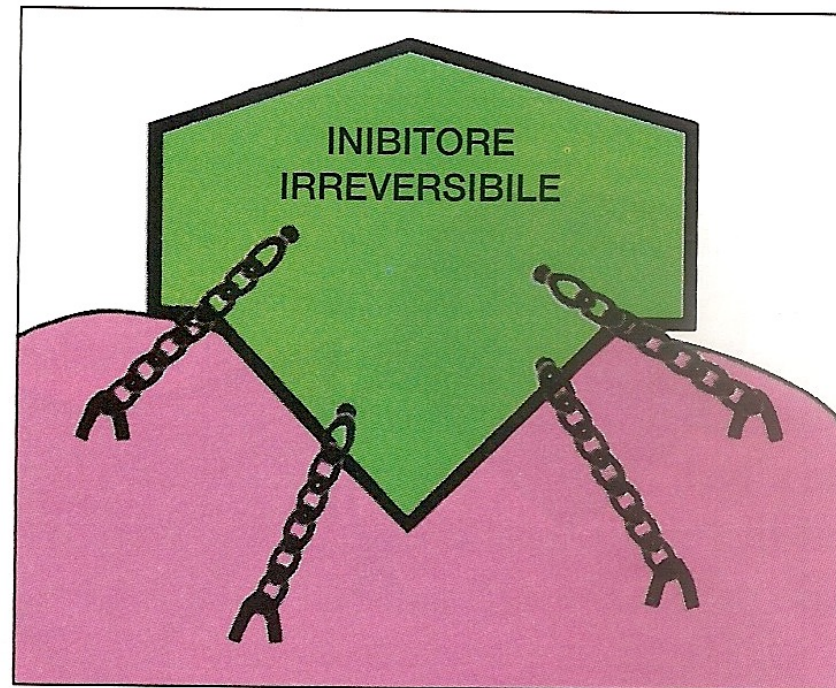
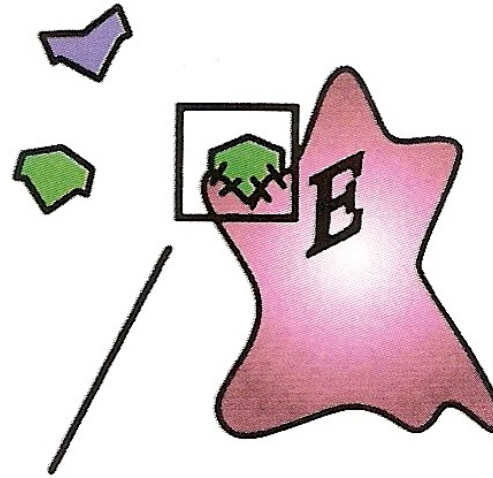
Ci sono alcuni inibitori enzimatici che **legano irreversibilmente il sito attivo** dell'enzima e lo bloccano permanentemente. Gli inibitori irreversibili più efficaci sono quelli che possono reagire con un amminoacido nel sito attivo formando un legame covalente.

Gli inibitori irreversibili non sono competitivi!

L'aumento della concentrazione di substrato non porta al ripristino dell'attività, poiché essi non possono essere spiazzati dal sito attivo.



Inibitori

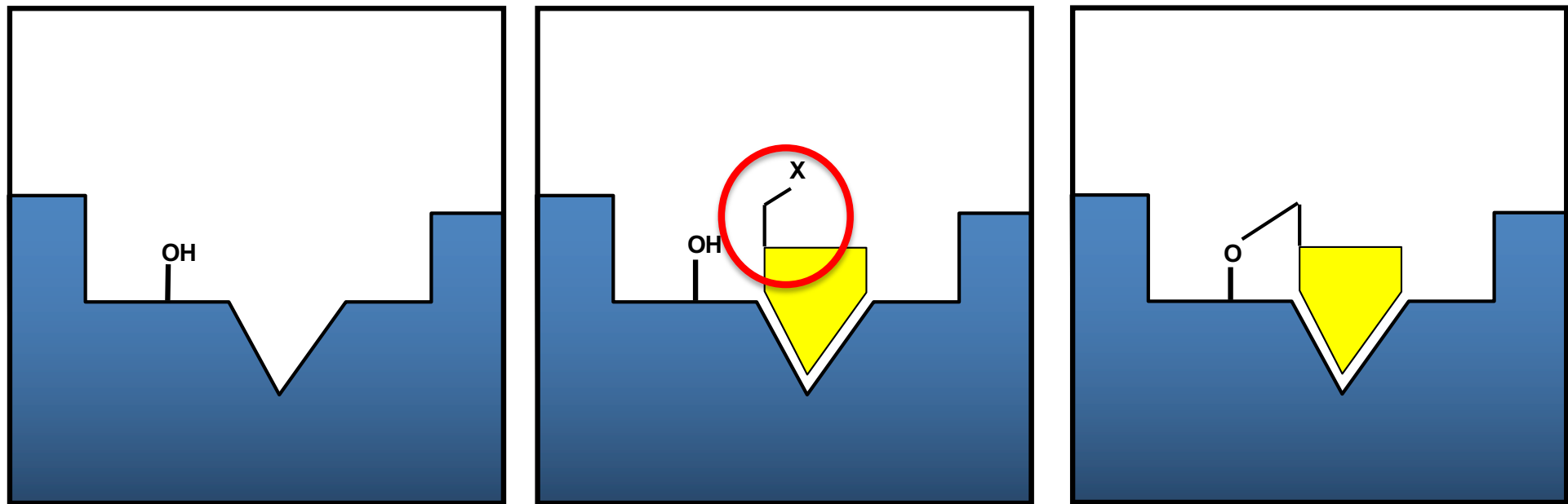


Inibitori suicidi

Gli inibitori suicidi sono agenti che vengono **convertiti a specie altamente reattive** quando subiscono **una reazione catalizzata dall'enzima**.

Essi formano legami covalenti con l'enzima e lo inibiscono irreversibilmente. Tali agenti sono progettati per subire una **trasformazione enzimatica catalizzata che li converte in una specie altamente reattiva che forma un legame covalente al sito attivo**.

Quando questo legame covalente si forma formata il sito attivo non è in grado di legarsi al substrato. Come risultato, **l'enzima viene inibito irreversibilmente**.

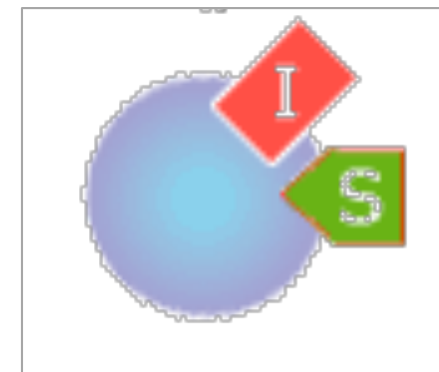


Inibitori acompetitivi

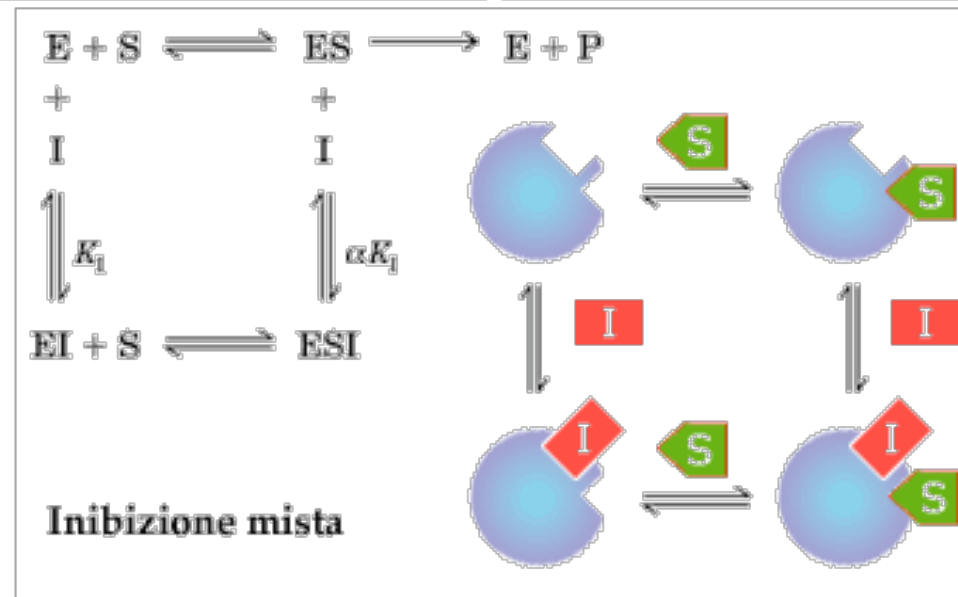
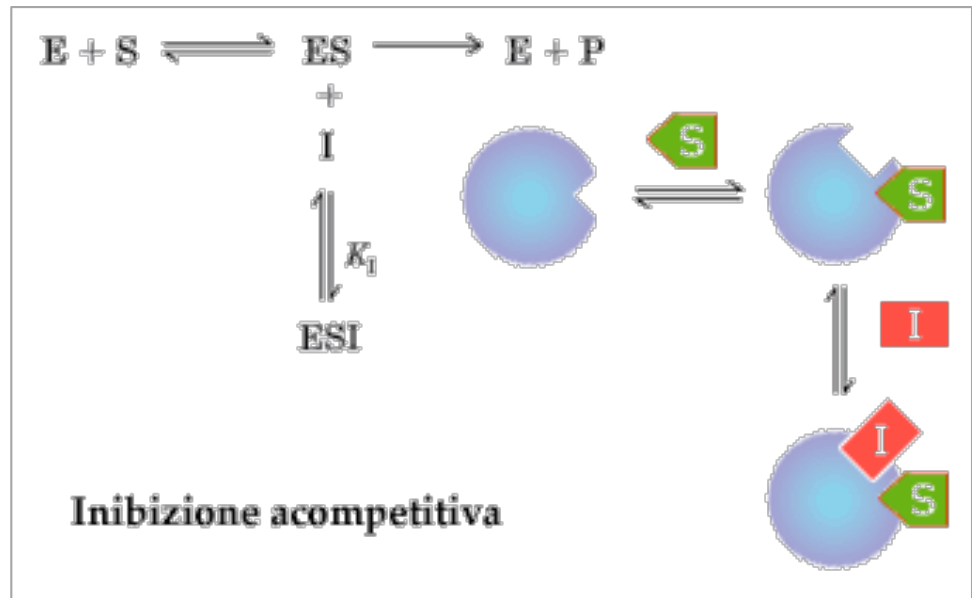
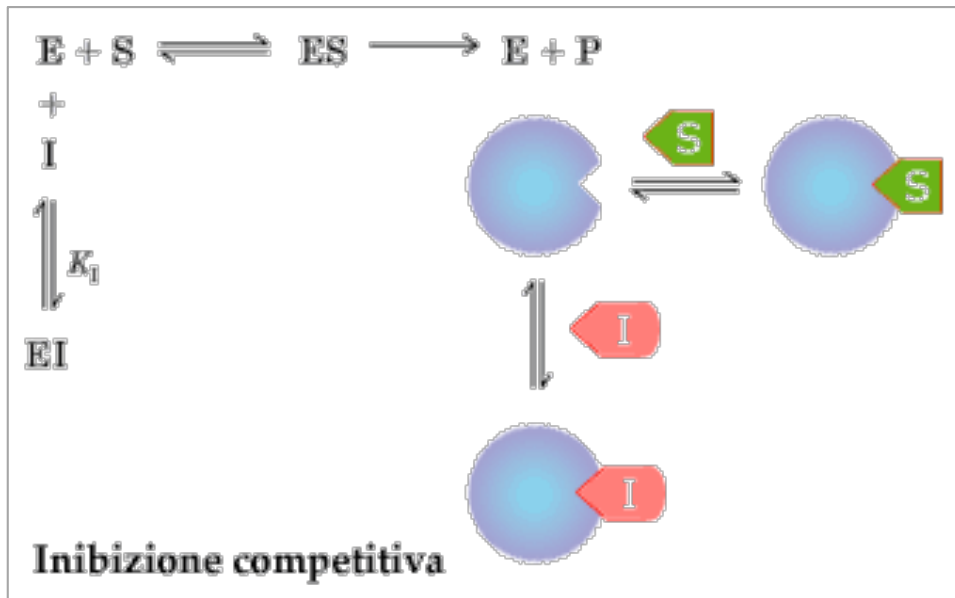
Gli inibitori acompetitivi sono inibitori che possono legarsi solo **reversibilmente** all'enzima quando il substrato è già legato al sito attivo: **si legano al complesso enzima-substrato**.

L'aumento della concentrazione del substrato non evita l'inibizione come accade nel caso degli inibitori competitivi.

Il livello di inibizione dipende dalla presenza di una concentrazione di substrato presente per formare il complesso enzima-substrato. Quindi gli **inibitori acompetitivi sono meno efficaci a basse concentrazioni di substrato**. Gli inibitori acompetitivi non sono molto comuni.



Inibitori



Inibitori allosterici

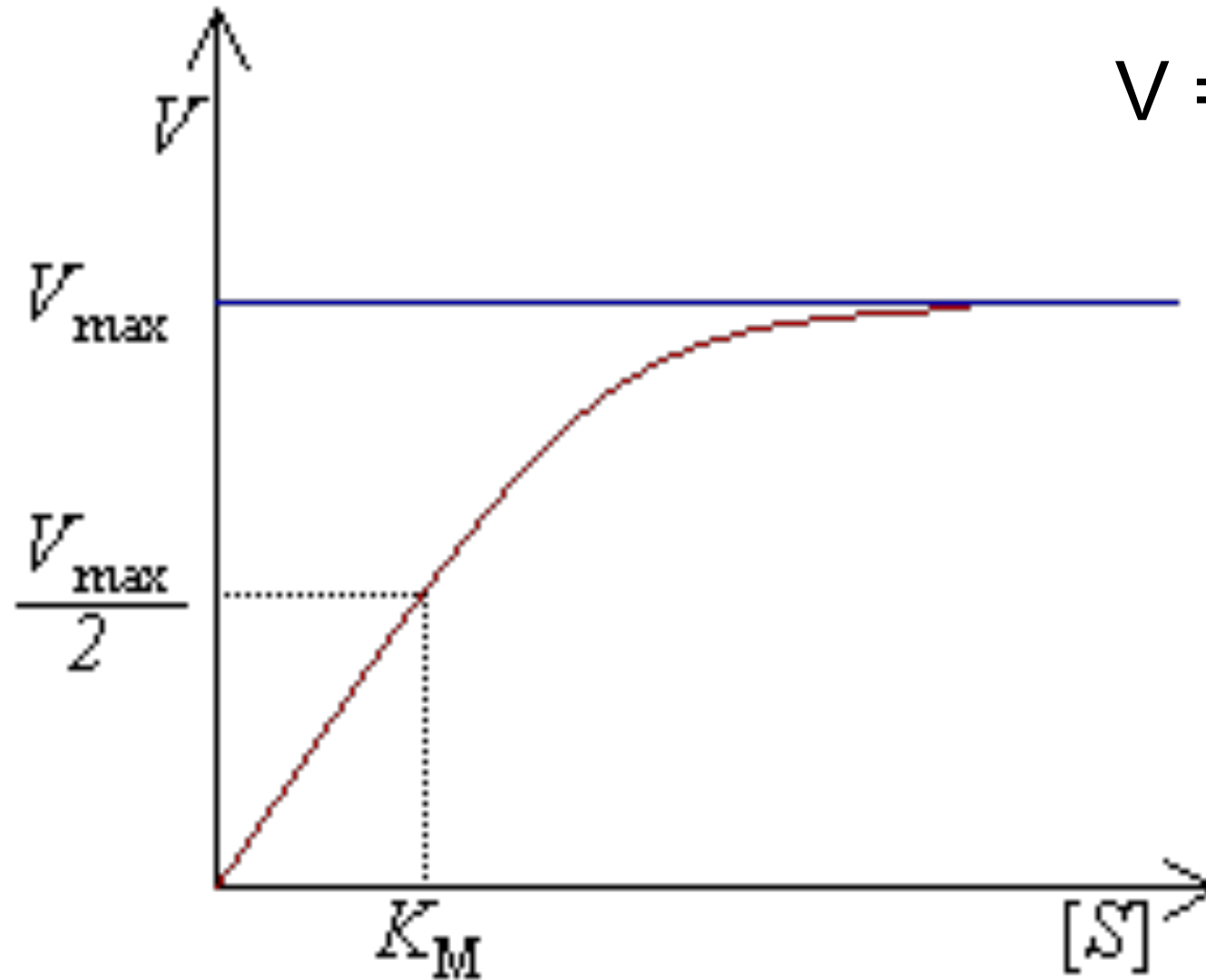
I farmaci possono essere progettati per mimare il controllo naturale dell'enzima.

Se il farmaco si lega attraverso **interazioni intermolecolari**, l'inibizione è **reversibile**.

Se il farmaco contiene un gruppo reattivo che consente di formare un **legame covalente** al sito di legame allosterico, l'inibizione è **irreversibile**.

Modulatori

Inibitori



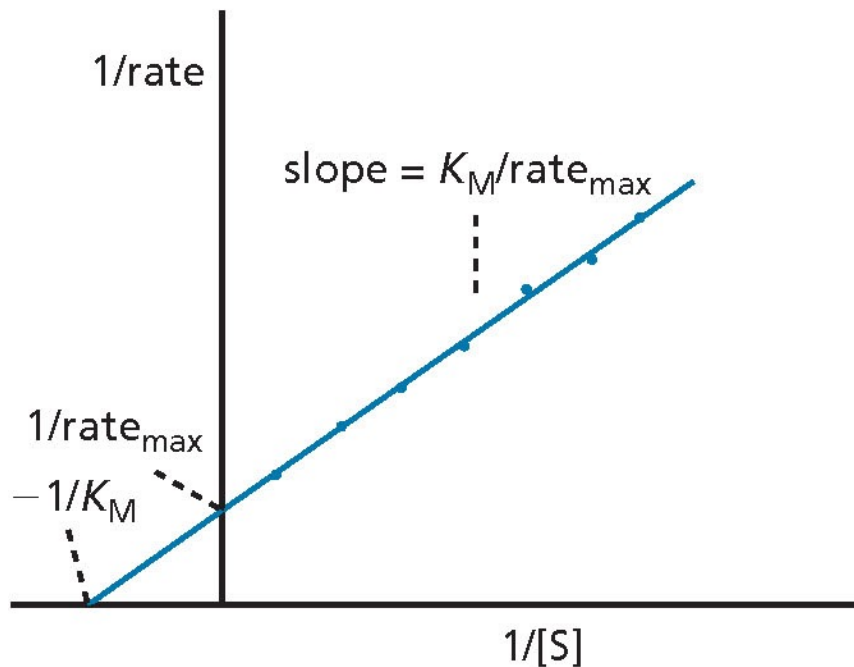
$$V = \frac{V_{\max} [S]}{K_M + [S]}$$

Plot dei doppi reciproci

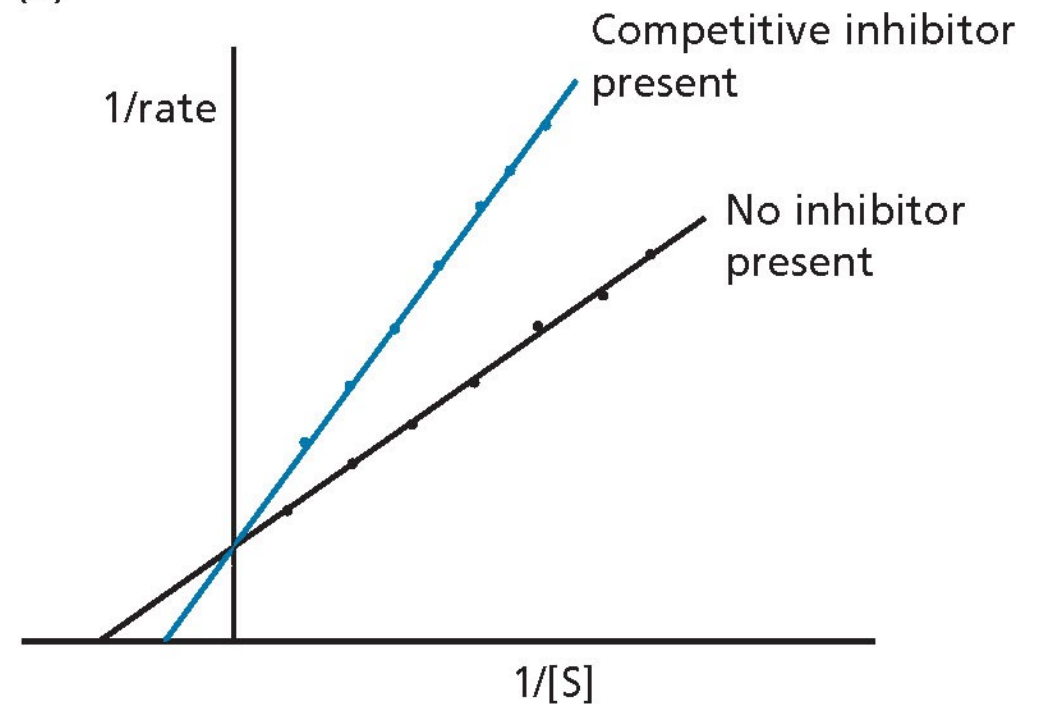
(o di Lineweaver-Burk)

$$\frac{1}{\text{Vel}} = \frac{1}{\text{Vel}_{\text{max}}} + \frac{K_m}{\text{Vel}_{\text{max}} [S]}$$

(a)



(b)



Inibitori

