

# Design di Farmaci

# Design e sviluppo di un farmaco

1. Identificare la malattia bersaglio
2. Identificare il bersaglio farmacologico
3. Stabilire le procedure per testare i composti
4. Trovare il lead compound
5. Relazioni struttura-attività (SAR)
6. Identificare il farmacoforo
7. Drug design – ottimizzazione delle interazioni farmacodinamiche
8. Drug design – ottimizzazione delle proprietà farmacocinetiche
9. Test tossicologici e di safety
10. Sviluppo chimico e produzione
11. Brevettazione e “regulatory affairs”
12. Trials clinici

# Malattia da curare

## Priorità dell'industria farmaceutica

L'eventuale profitto dalla commercializzazione di un nuovo farmaco coprirà i costi del suo sviluppo e studio?

## Domande da farsi

Malattia diffusa? (i.e. malattie cardiovascolari, ulcera, malaria)

Malattia di interesse del “primo” mondo? (vi.e. malattie cardiovascolari, ulcera)

Farmaci già presenti sul mercato?

Se sì, vantaggi e svantaggi degli stessi? (i.e. effetti collaterali)

Ci sono vantaggi a livello di mercato nel proporre una nuova terapia?

# Target del farmaco

## Selettività

### Tra speci

- Antibatterico, antimicotico e antivirale
- Identificare i target che sono unicità del patogeno invasore
- Identificare i target che sono condivisi, ma che sono significativamente differenti nella struttura

### All'interno dell'organismo

- Selettività tra enzimi diversi, recettori etc.
- Selettività tra i tipi e sottotipi recettoriali
- Selettività tra isoenzimi
- Selettività d'organo e tissutale

# Target del farmaco

## Test del farmaco

- Test necessari per trovare lead compounds e per l'ottimizzazione del farmaco
- Prove *in vivo* o *in vitro*
- Combinazione di test

### *In vitro*

- Test non effettuati su animali / umani
  - Molecole bersaglio (ad esempio enzimi isolati o recettori)
  - Cellule (cellule clonate)
  - Tessuti (tessuto muscolare)
  - Organi
  - Microrganismi (per gli agenti antibatterici)

# Test

## *In vitro*

- Più adatto per i test di routine
- Utilizzato nell'high throughput screening
- Misura dell'interazione di un farmaco con il target, ma **non la capacità del farmaco per raggiungere il target**
- Risultati facili da razionalizzare - meno fattori coinvolti
- Nessuna dimostrazione di un effetto fisiologico o clinico
- Nessun riscontro di possibili effetti collaterali
- Nessuna possibilità di identificare profarmaci efficaci

# Test

## Test di inibizione enzimatica

- Identificazione di inibizione competitiva e non competitiva
- Capacità di inibizione misurata come  $IC_{50}$
- $IC_{50}$  = concentrazione di inibitore richiesta per ridurre l'attività enzimatica del 50%

## Test recettoriali

- Difficile isolare recettori di membrana
- Utilizzo di cellule intere, colture di tessuti o organi isolati
- Affinità - forza con cui composti si legano a un recettore
- Efficacia - misura di massimo effetto biochimico, derivante dal legame di un composto con il recettore
- Potenza - concentrazione di un agonista necessaria per produrre 50% del massimo effetto possibile.

# Test

## *In vivo*

- Effettuati su animali o esseri umani
- Misura dell'effetto fisiologico osservato
- Misura della capacità di un farmaco di interagire con il suo obiettivo e la sua capacità di raggiungere questo obiettivo
- Identificazione di possibili effetti collaterali
- Razionalizzazione difficile a causa del numero di fattori coinvolti
- Animali transgenici - animali geneticamente modificati
- Potenza di un farmaco - concentrazione di farmaco necessaria per produrre 50% del massimo effetto possibile
- **Indice terapeutico** – rapporto tra la dose di farmaco necessaria per produrre un effetto desiderato nel 50% del campione di prova ( $ED_{50}$ ) rispetto alla dose letale per il 50% del campione ( $LD_{50}$ )

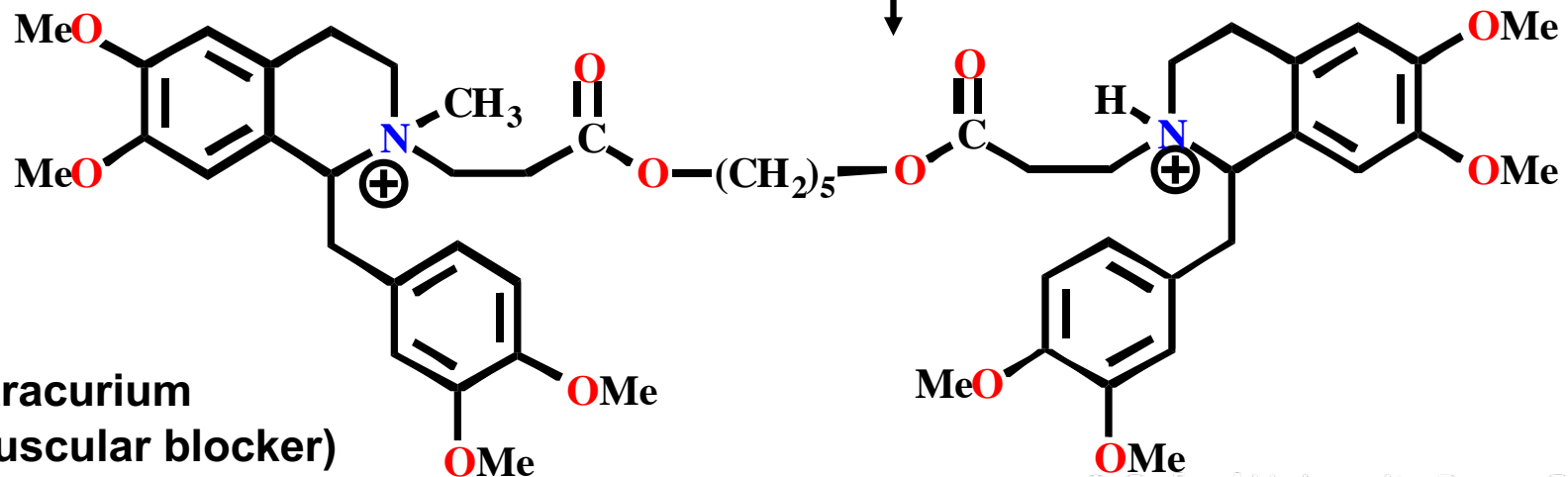
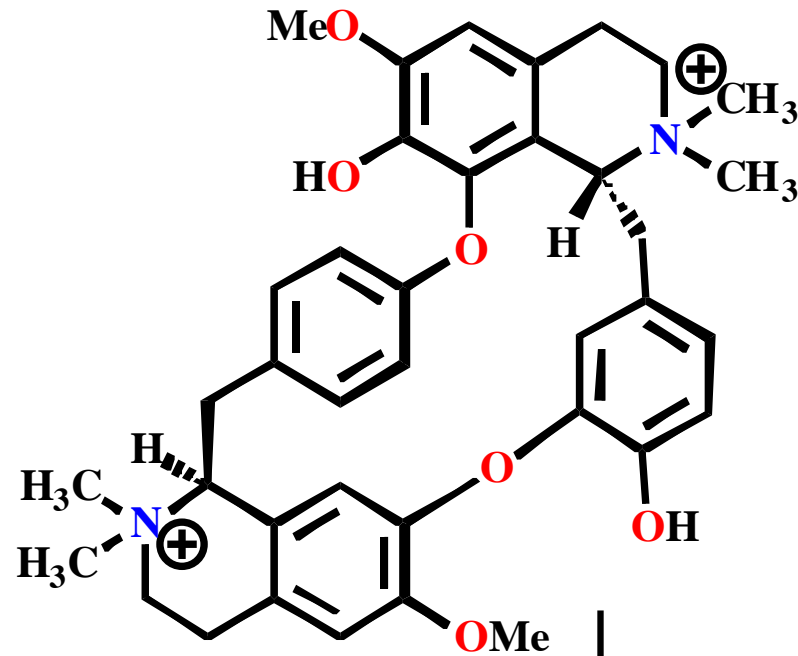


# Lead Compound

- Composto con una **proprietà probabilmente terapeuticamente utile**
- Livello di attività e selettività verso il target non sono cruciali
- **Utilizzato come punto di partenza per la progettazione e lo sviluppo di farmaci**
- Design (modellistica molecolare o NMR) o mediante screening composti (naturali o di sintesi)
- Necessità di identificare un test adeguato per trovare un composto capostipite
- **Principio attivo** - un composto che è isolato da un estratto naturale e che è principalmente responsabile per l'attività farmacologica dell'estratto. Spesso utilizzato come lead compound

# Lead Compound

Tubocurarine  
(from curare)



Atracurium  
(Neuromuscular blocker)

# Design e sviluppo di un farmaco

1. Identificare la malattia bersaglio
2. Identificare il bersaglio farmacologico
3. Stabilire le procedure per testare i composti
4. Trovare il lead compound
5. **Relazioni struttura-attività (SAR)**
6. Identificare il farmacoforo
7. Drug design – ottimizzazione delle interazioni farmacodinamiche
8. Drug design – ottimizzazione delle proprietà farmacocinetiche
9. Test tossicologici e di safety
10. Sviluppo chimico e produzione
11. Brevettazione e “regulatory affairs”
12. Trials clinici

# SAR: Relazione Struttura - Attività

Identificare quali gruppi funzionali sono importanti per il legame e / o attività

- **Alterare, rimuovere o nascondere** un gruppo funzionale
- Testare l'attività dell'analogo ottenuto
- Conclusioni dipendono dal metodo di studio
- *in vitro* - test per le interazioni di legame con bersaglio
- *in vivo* - test per le interazioni di binding e / o la farmacocinetica vincolanti
- Se l'attività *in vitro* diminuisce, implica gruppo è importante per il legame
- Se l'attività *in vivo* rimane inalterata, il gruppo non è importante

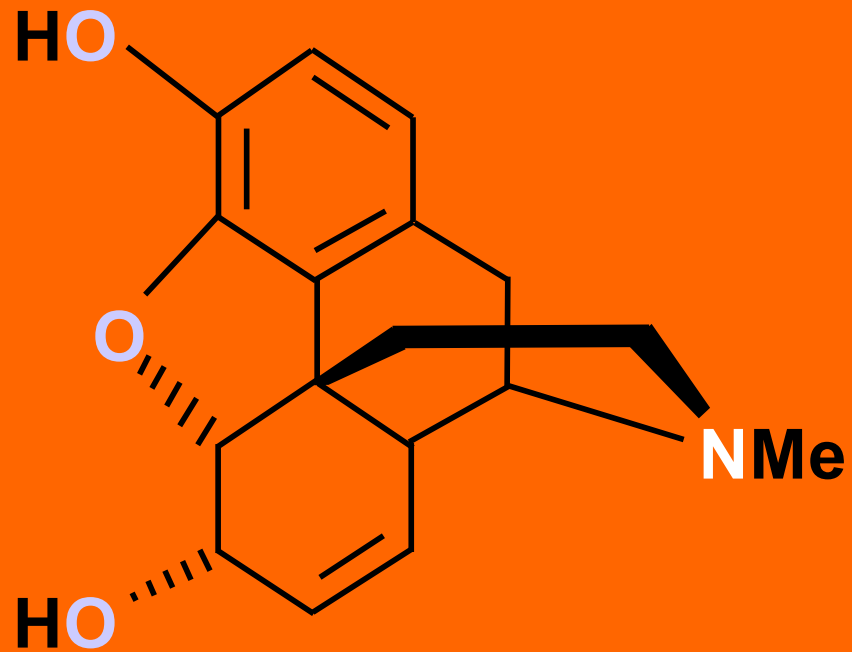
# SAR

Identificare quali gruppi funzionali sono importanti per il legame e / o attività

## Cosa può essere fatto

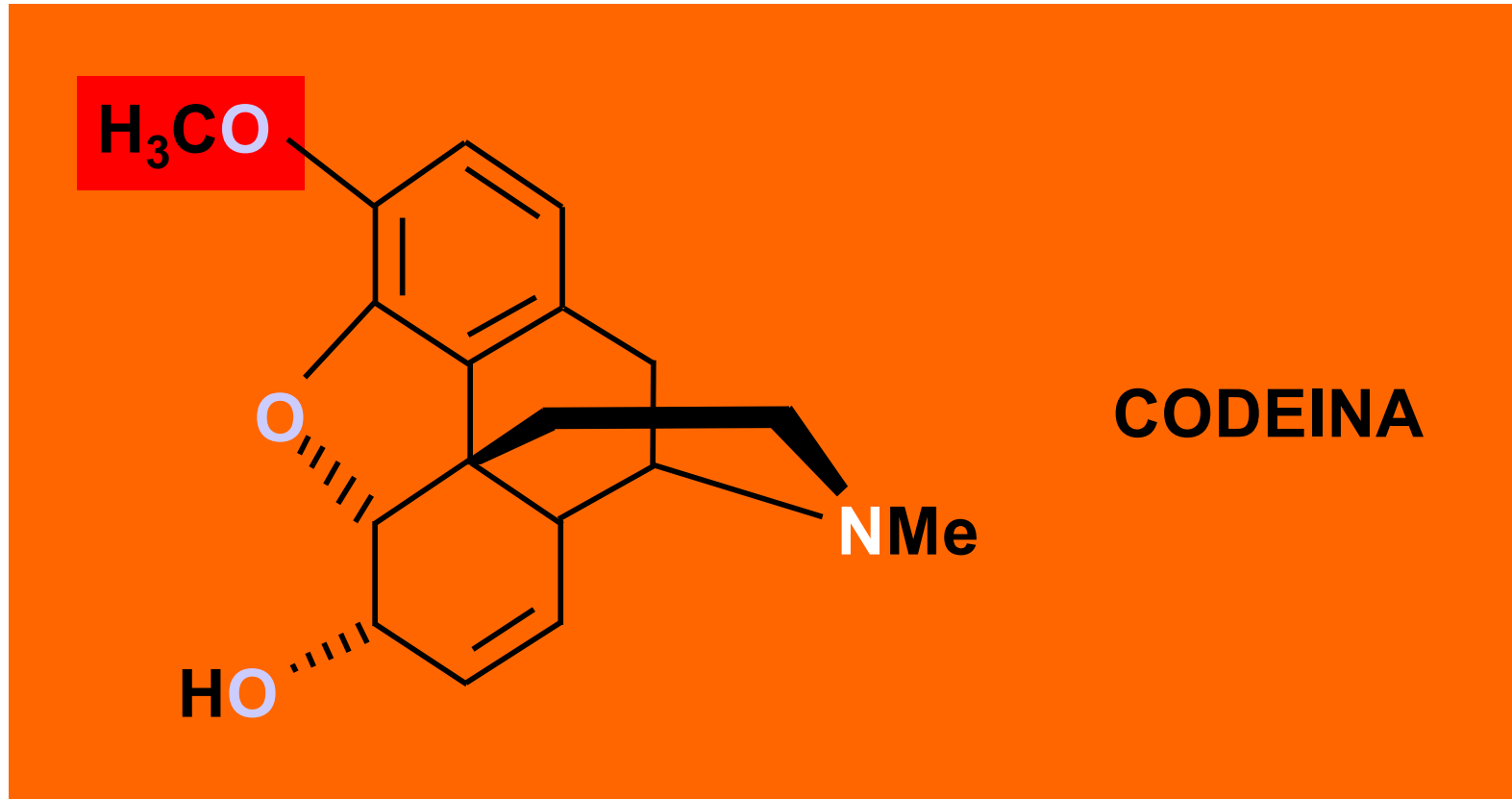
- Le modifiche possono compromettere il legame con il target per effetti elettronici / sterici
- Analoghi più semplici ottenibili a partire dal lead compound
- Eventuali modifiche potrebbero dipendere da altri gruppi presenti
- Alcuni analoghi possono essere ottenuti con sintesi completa (ad esempio la sostituzione di un anello aromatico con un anello cicloesano nello scheletro della molecola)
- Permette l'identificazione di gruppi importanti coinvolti nel legame
- **Permette l'identificazione del farmacoforo**

# SAR



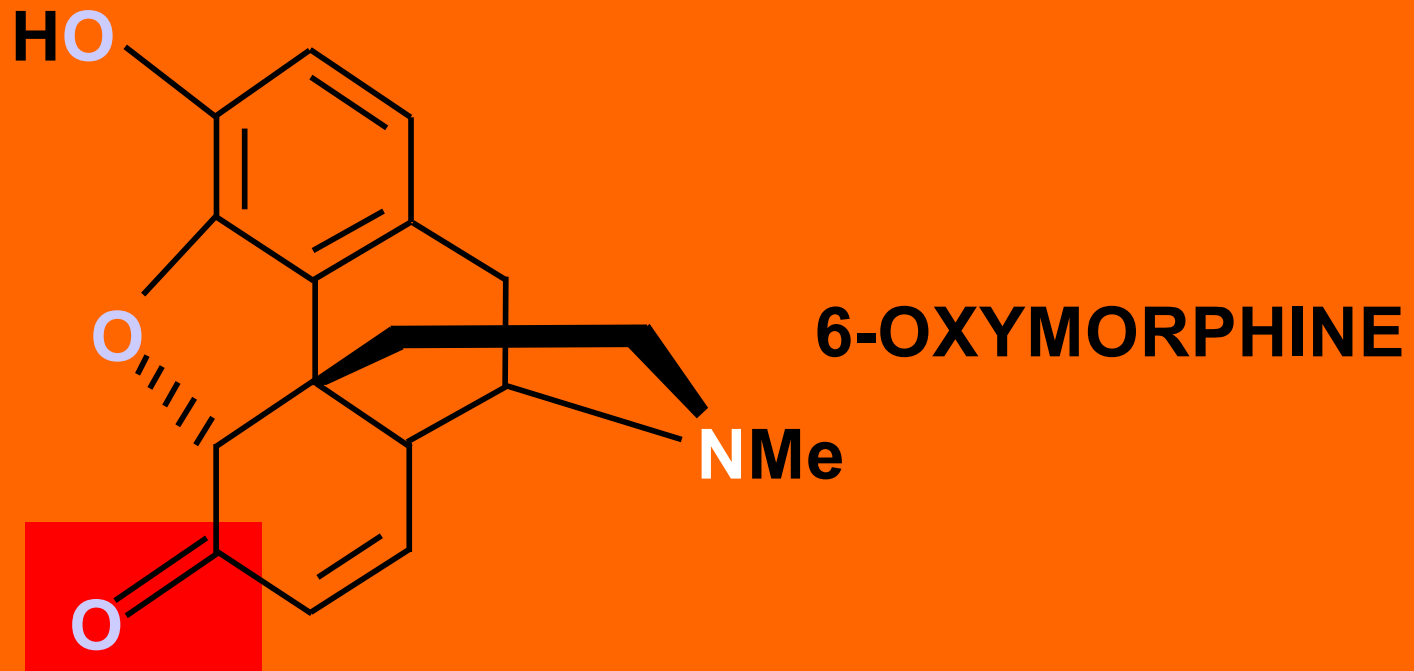
**MORFINA**

## SAR



**DIMINUZIONE DELL'ATTIVITA'**

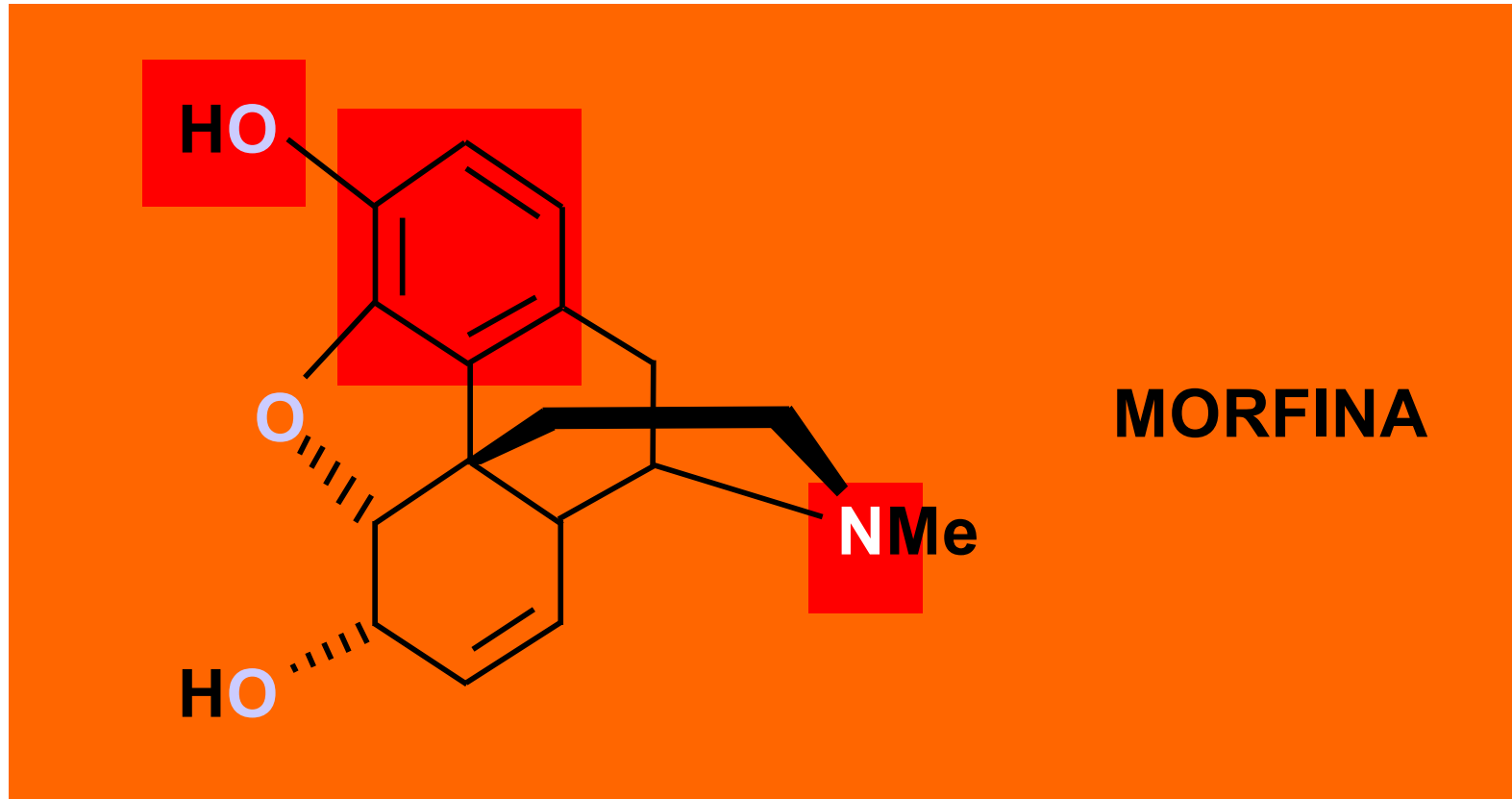
# SAR



**ACTIVITY UNAFFECTED**



## SAR

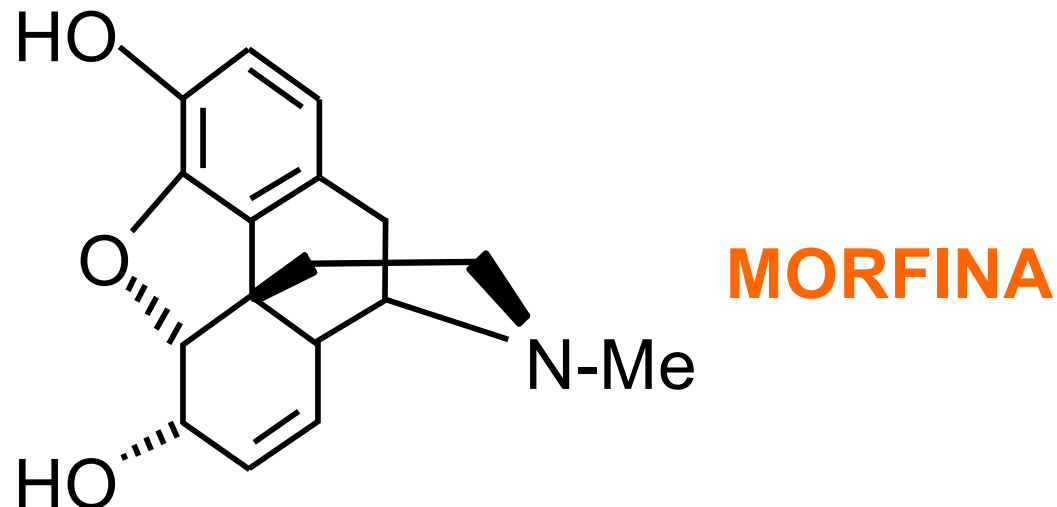


**Gruppi essenziali per l'attività**

# Farmacoforo

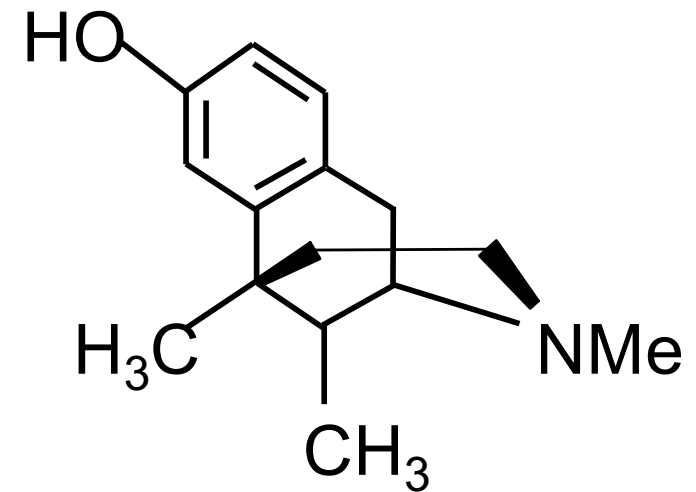
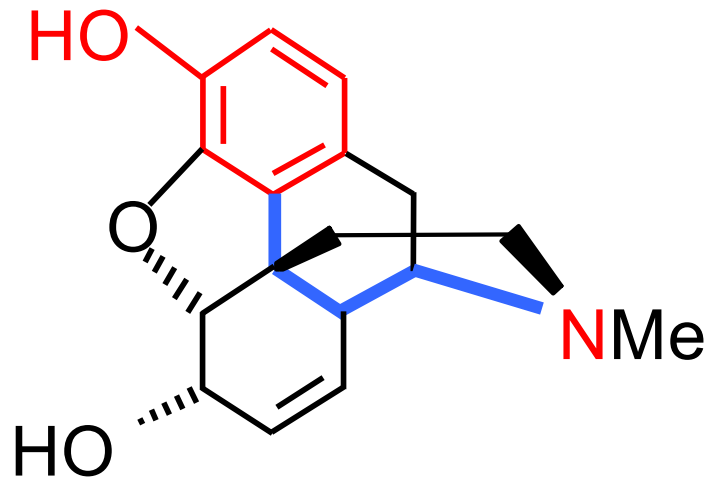
- Definisce i gruppi importanti coinvolti nel legame
- Definisce le posizioni relative dei gruppi che si legano
- Necessità di conoscere la conformazione attiva
- Importante per progettare i farmaci
- Importante per la scoperta di nuovi farmaci

**Definisce lo scheletro minimo che lega i gruppi di binding importanti**

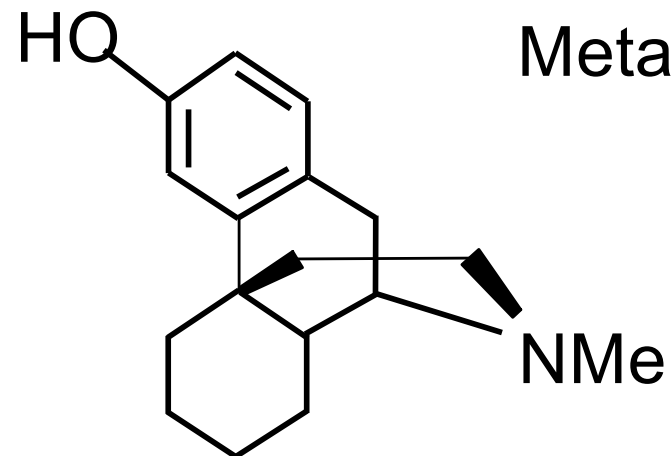


# Farmacoforo

## GRUPPI IMPORTANTI PER L'ATTIVITÀ ANALGESICA



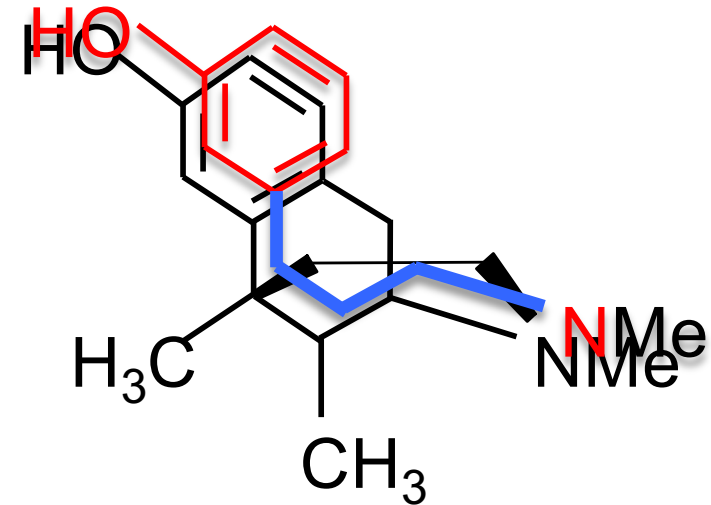
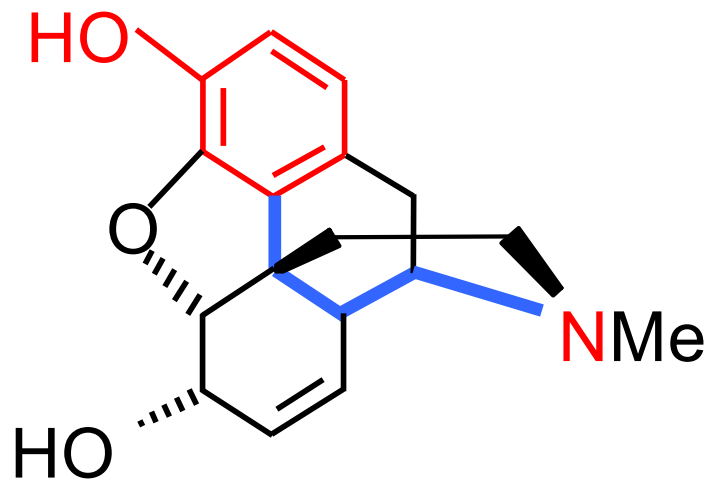
Metazocina



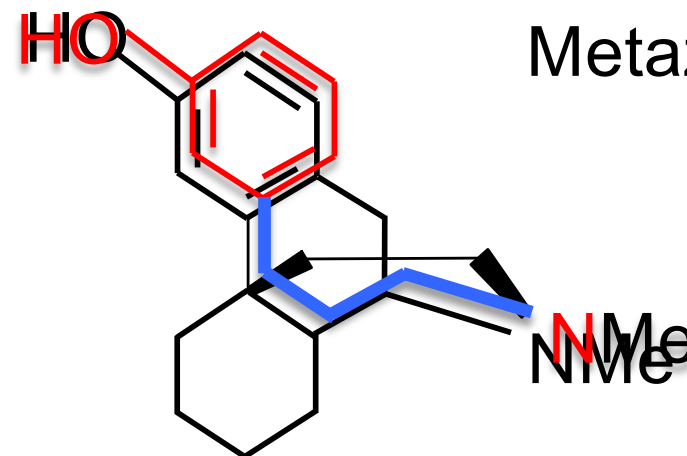
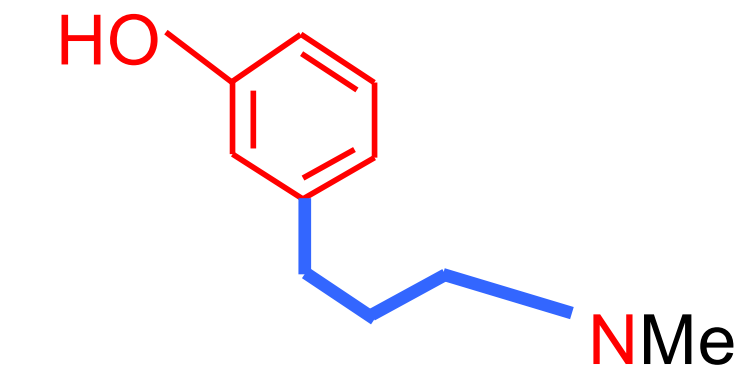
Levorfanolo

# Farmacoforo

## GRUPPI IMPORTANTI PER L'ATTIVITÀ ANALGESICA



Metazocina

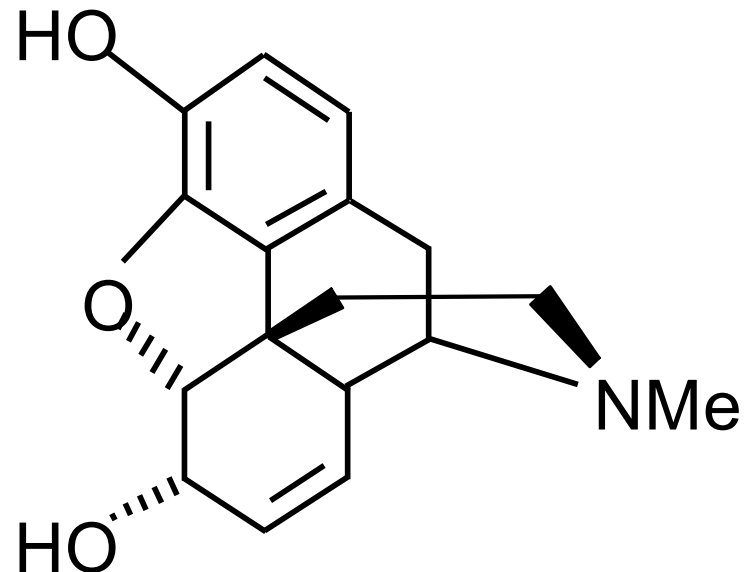
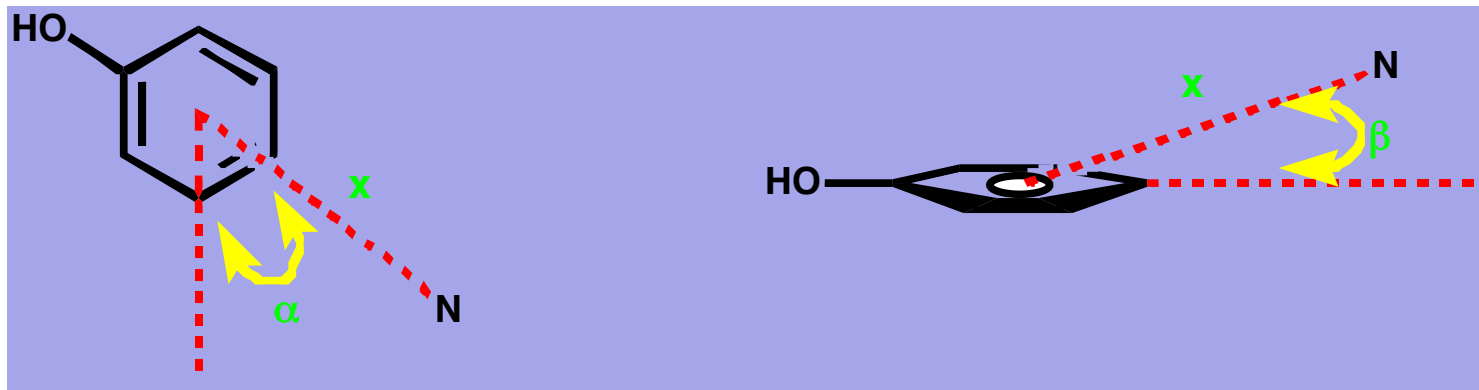


Levorfanolo

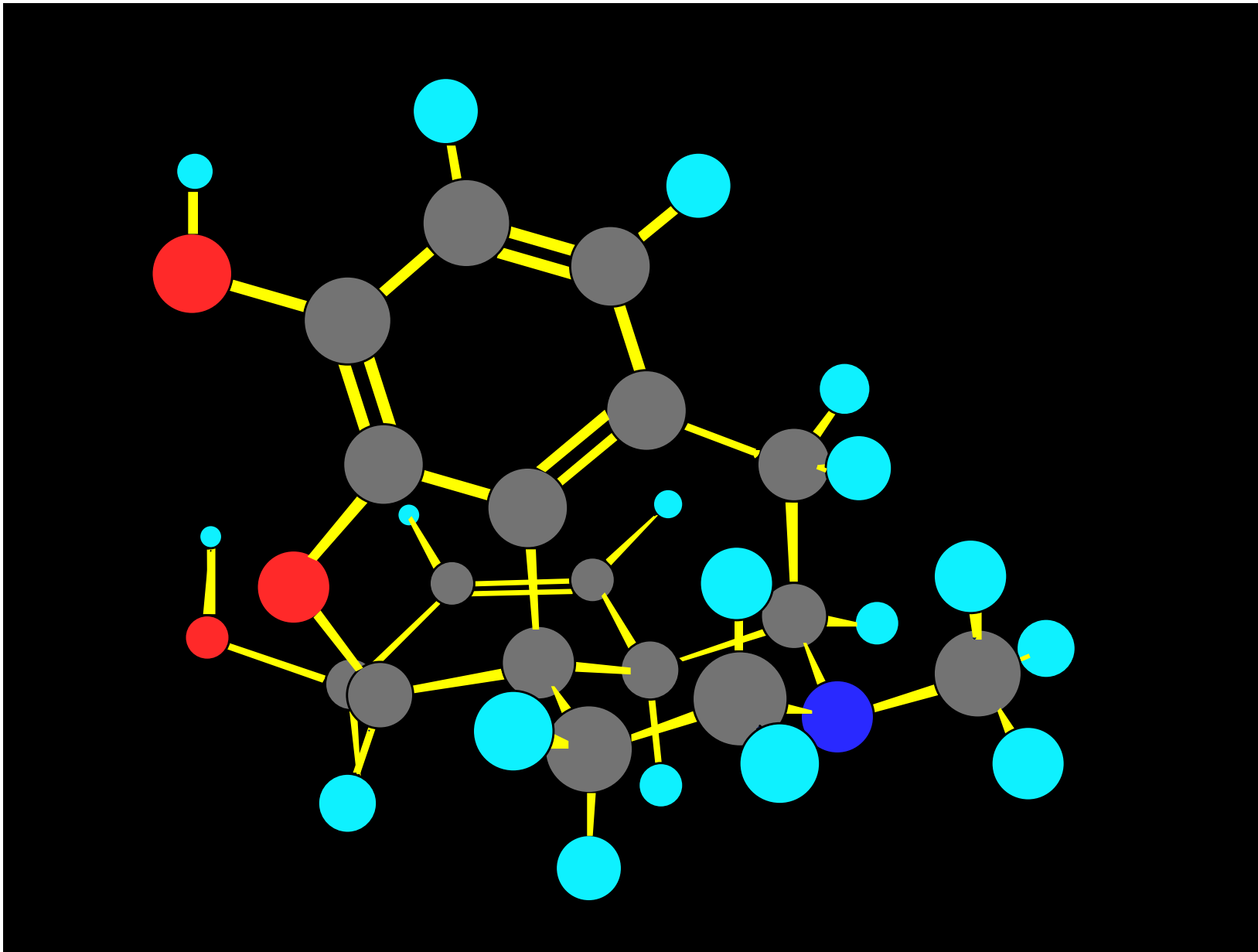
# Farmacoforo

## 3D

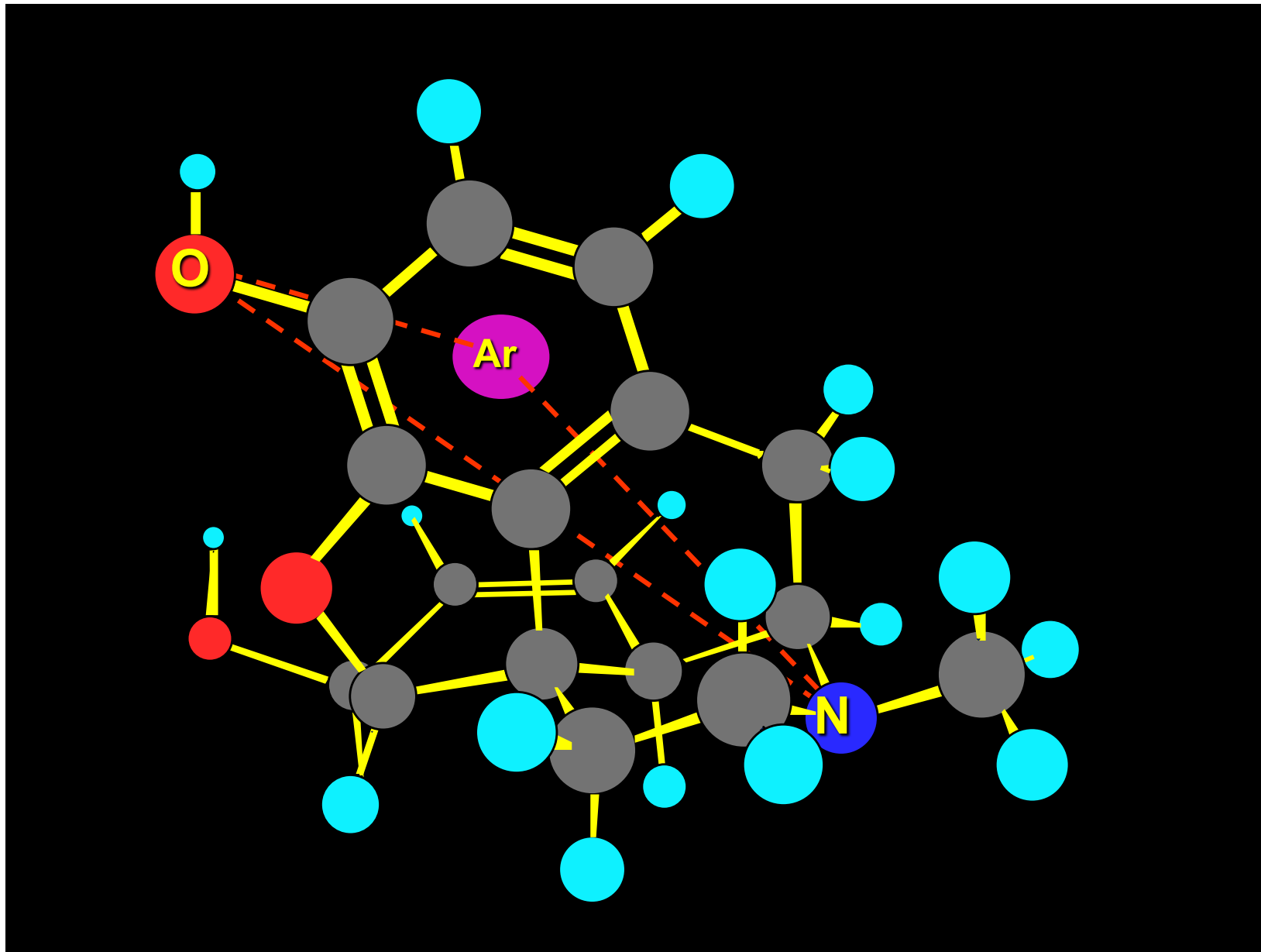
Definisce le posizioni spaziali relative dei gruppi di binding



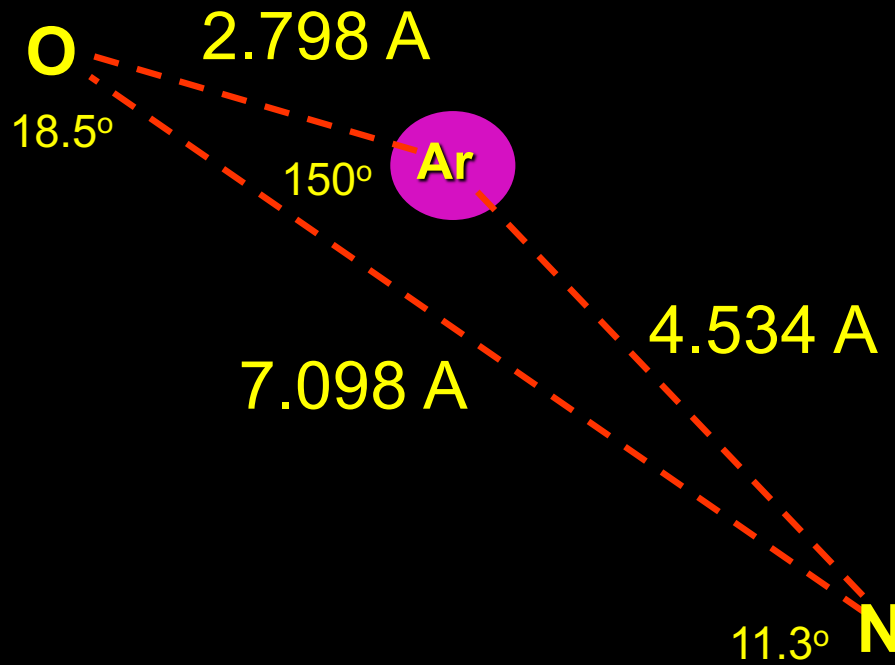
# Farmacoforo



# Farmacoforo

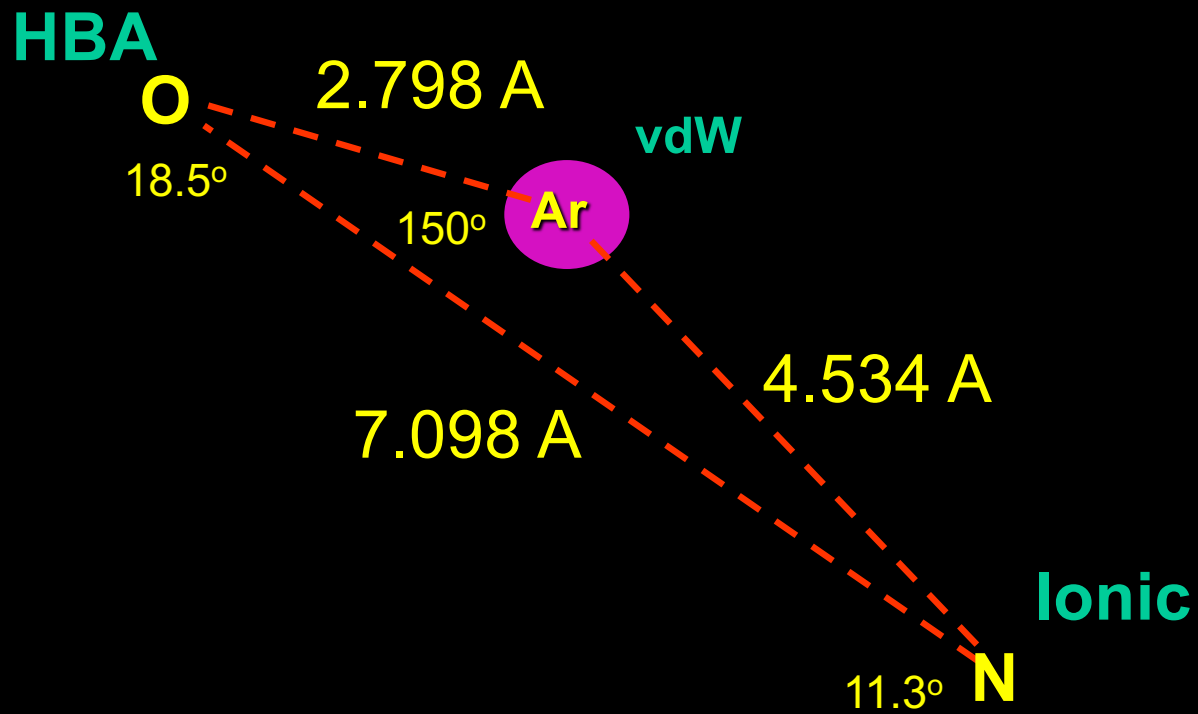


# Farmacoforo

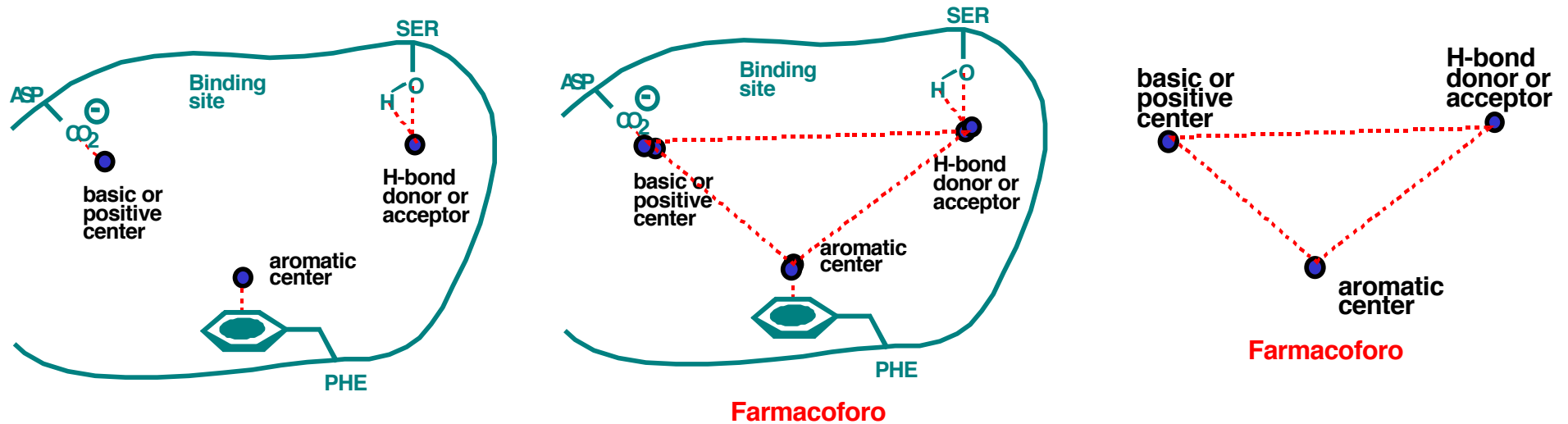




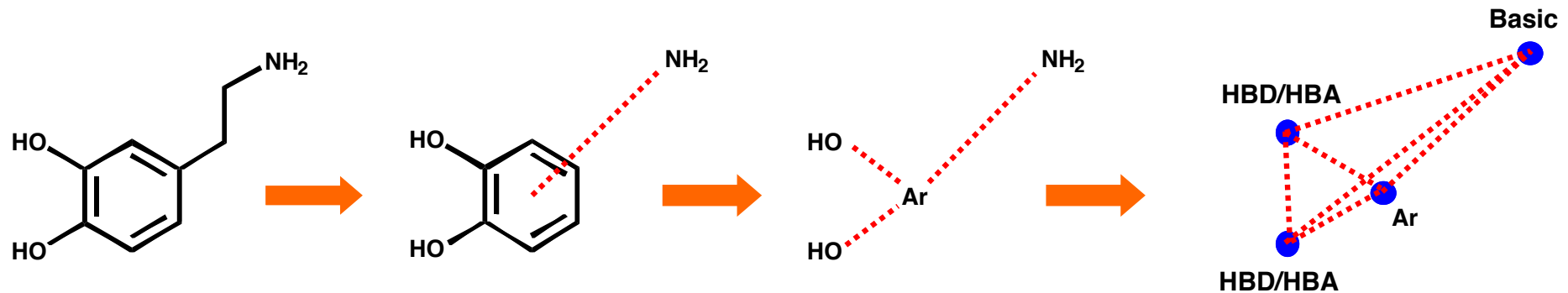
# Farmacoforo



# Farmacofori ottenuti dai siti di legame del target



## Triangolo farmacoforico della dopamina



# SAR

# SAR

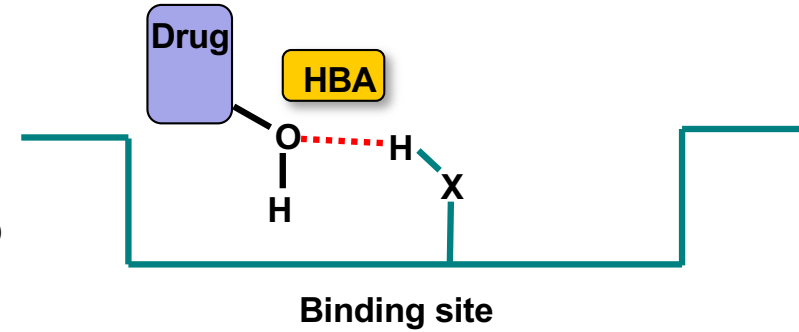
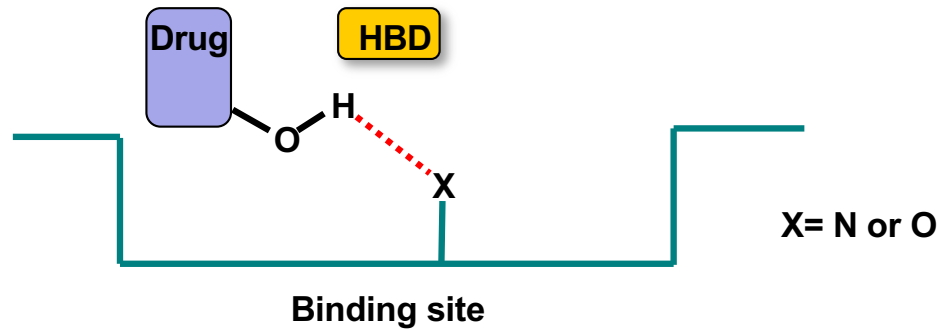
Identificare quali gruppi funzionali sono importanti per il legame e / o attività

## Cosa può essere fatto

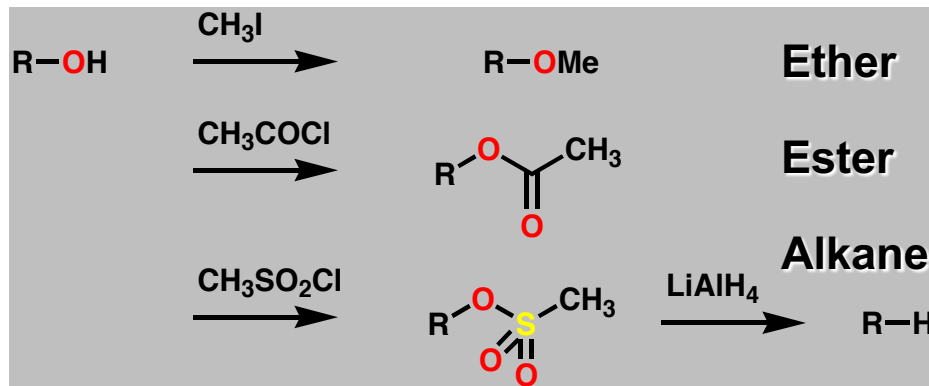
- Le modifiche possono compromettere il legame con il target per effetti elettronici / sterici
- Analoghi più semplici ottenibili a partire dal lead compound
- Eventuali modifiche potrebbero dipendere da altri gruppi presenti
- Alcuni analoghi possono essere ottenuti con sintesi completa (ad esempio la sostituzione di un anello aromatico con un anello cicloesano nello scheletro della molecola)
- Permette l'identificazione di gruppi importanti coinvolti nel legame
- **Permette l'identificazione del farmacoforo**

# SAR: alcoli

## Possibili interazioni di legame

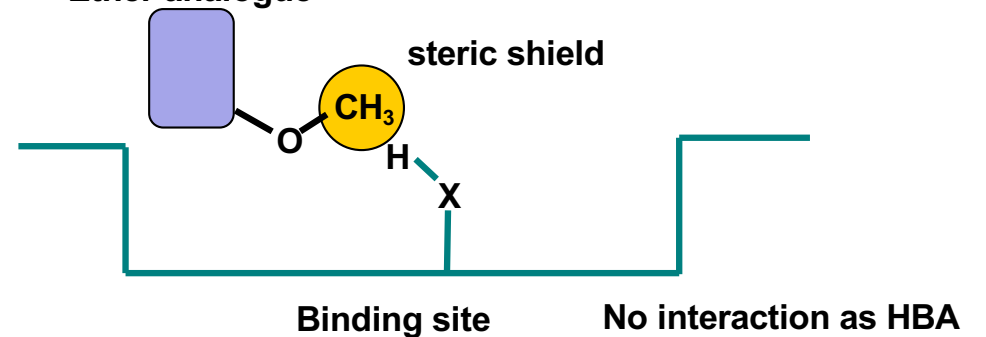
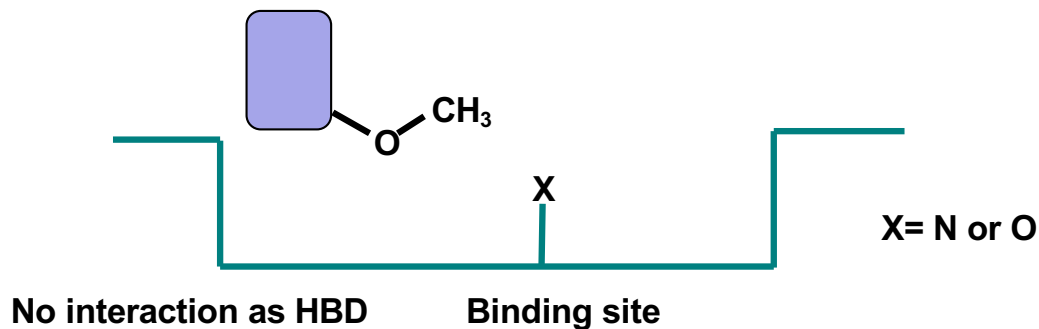


## Possibili analoghi



Ether analogue

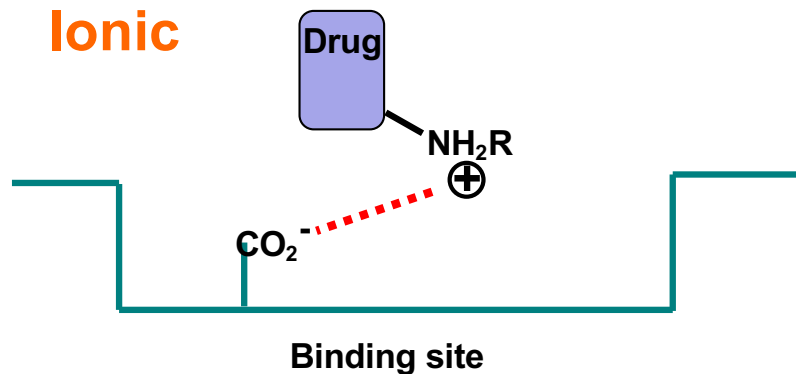
Ether analogue



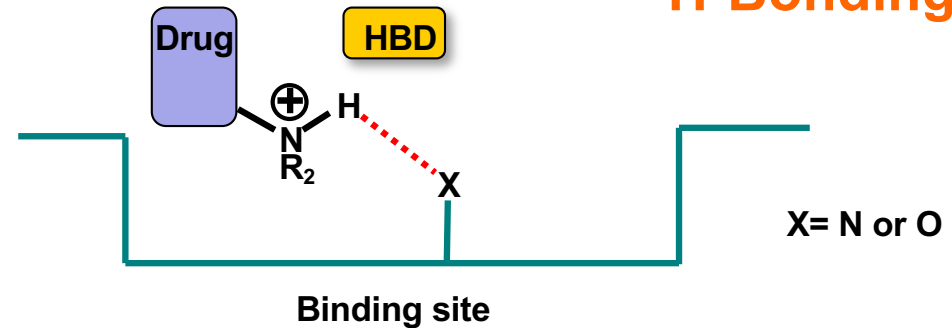
# SAR: ammine

## Possibili interazioni di binding di gruppi ammonici

Ionic



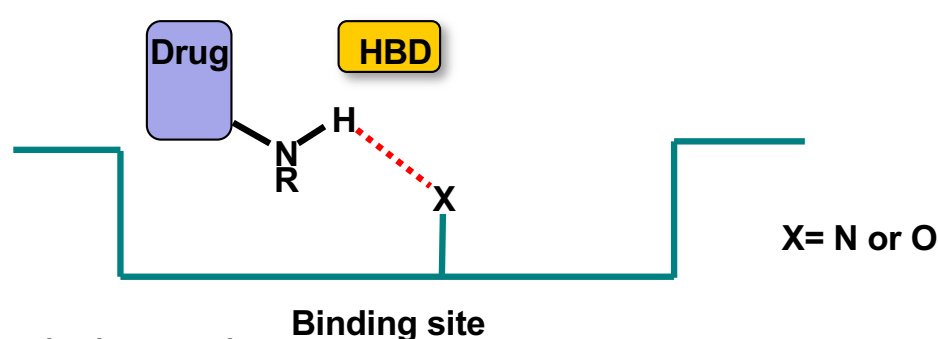
H-Bonding



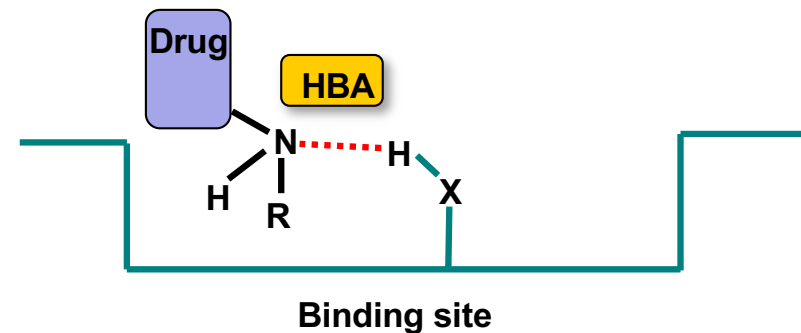
$\text{R}_3\text{NH}^+$  acts as a strong HBD

## Possibili interazioni di binding di ammine (free base)

H-Bonding

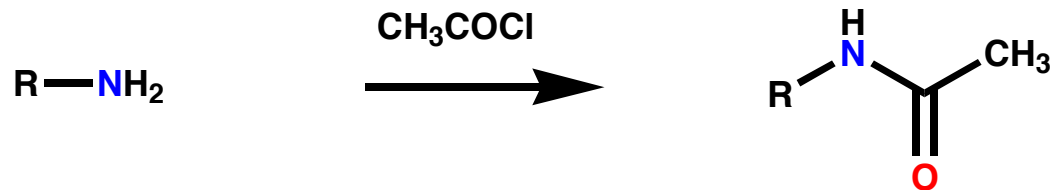


Non terziaria, ovviamente

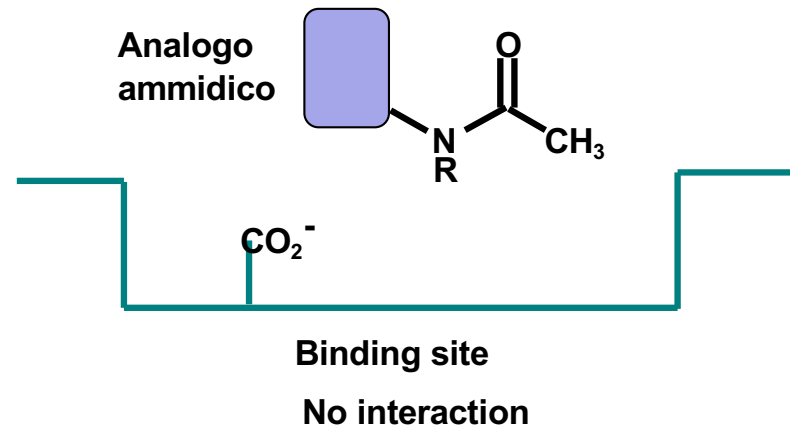


# SAR: ammine

## Possibili analoghi



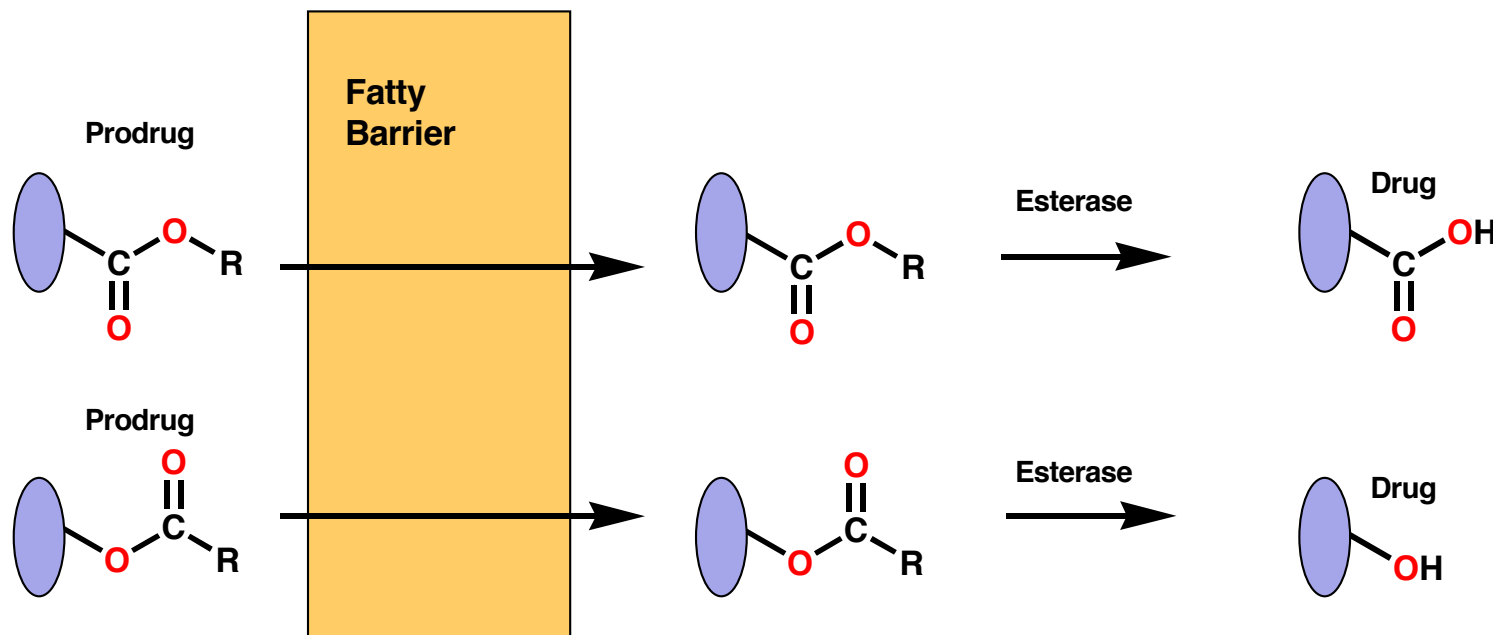
## Effetti sul legame



- Ammine primarie e secondarie vengono convertite rispettivamente ad ammidi secondarie e terziarie
- Ammidi: non possono ionizzare, legame ionico inibito
- N ammidico: scarso HBA, nessun interazione come HBA
- Effetto sterico dell'acile sull'NH quale HBD (ammide secondaria)

# SAR: esteri

- Gli esteri sono generalmente idrolizzati dalle esterasi a livello ematico
- Gli esteri possono essere importanti nella farmacocinetica (cioè in qualità di profarmaci)

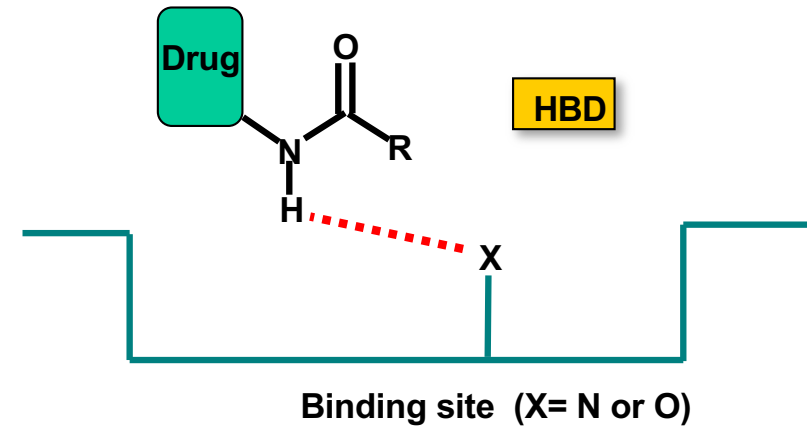
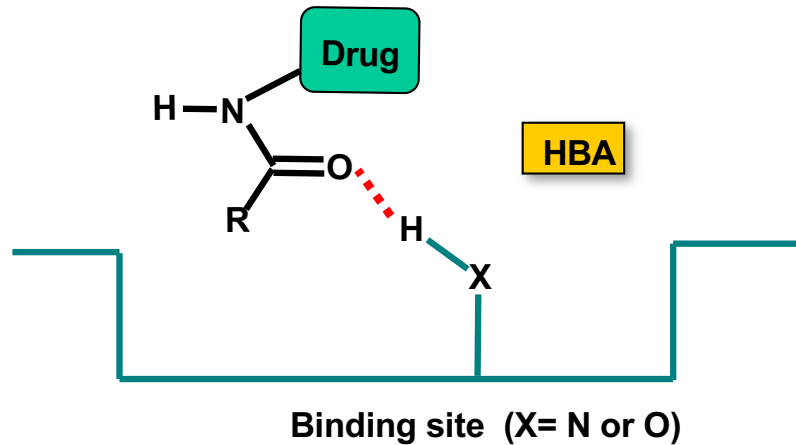


- L'estere maschera un gruppo polare
- Permette il passaggio attraverso la membrana cellulare

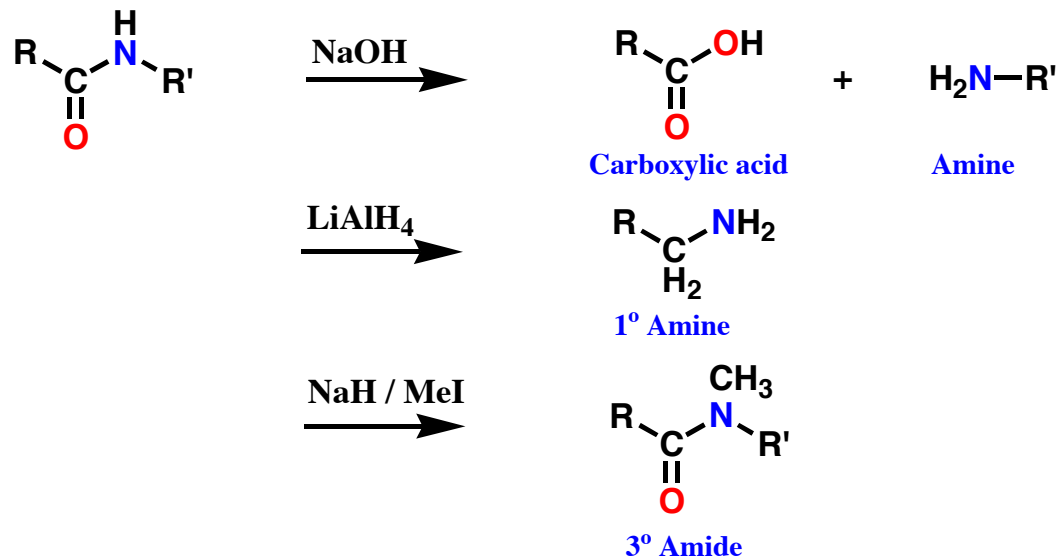


# SAR: ammidi

## Possibili interazioni di legame



- L'azoto di un'amide non è un HBA - doppietto interagisce con il C=O
- Amidi terziarie: no H, quindi non HBD

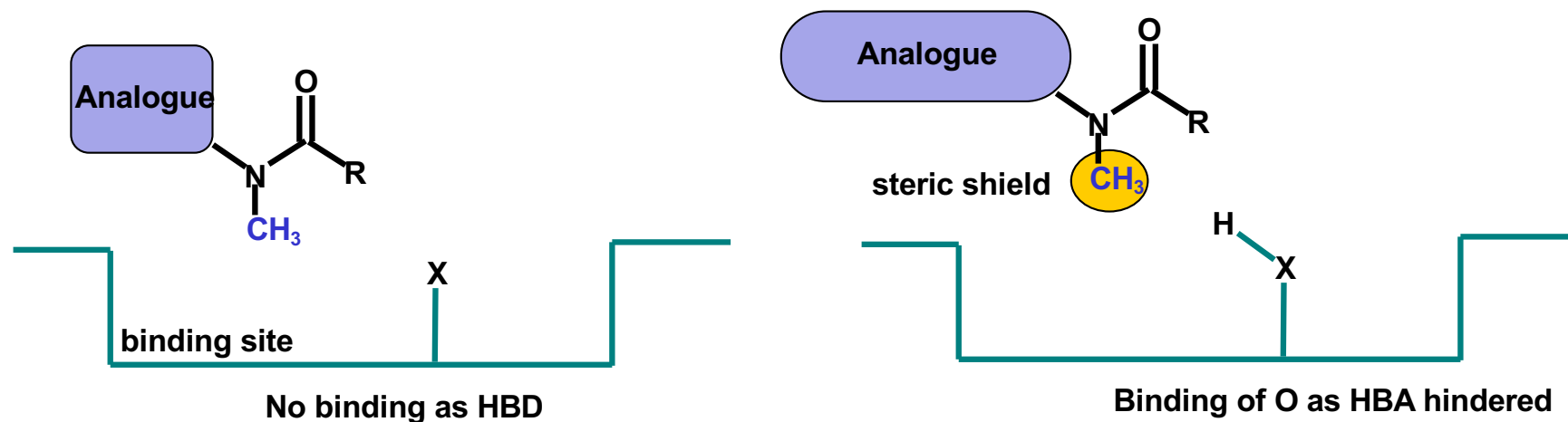


## Possibili analoghi

# SAR: ammidi

- L'idrolisi scinde la molecola e può portare alla perdita di attività dovuta alla perdita di altri gruppi funzionali - adatto solo per amidi semplici.
- L'idrolisi porta a un notevole aumento della polarità che può influenzare la capacità di raggiungere il target se si utilizzano test *in vivo*
- La riduzione ad ammina rimuove il gruppo carbonilico e può stabilire importanza l'ossigeno carbonilico, ma la reazione può essere difficile da fare se sono presenti altri gruppi labili

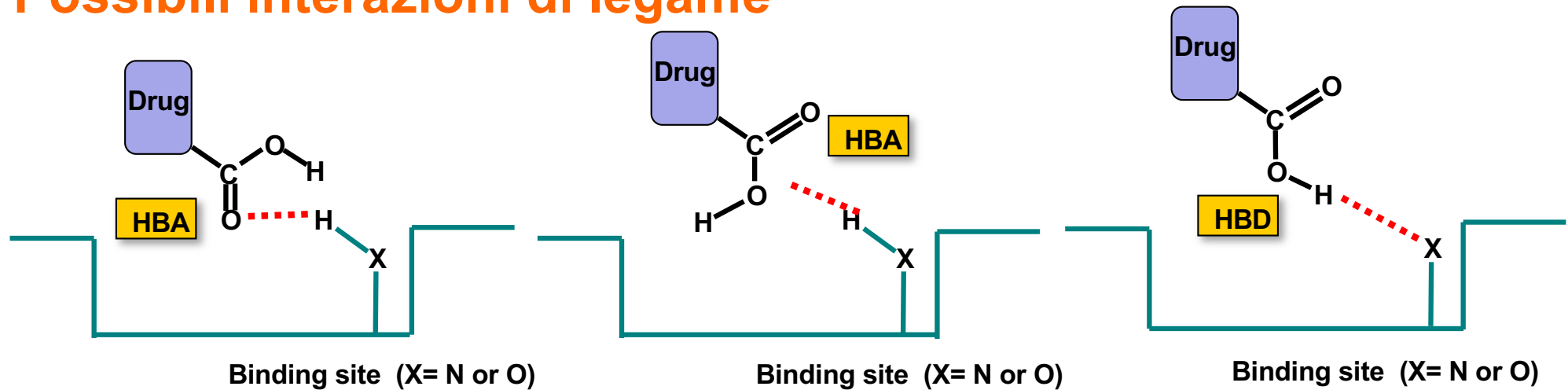
## Possibili analoghi



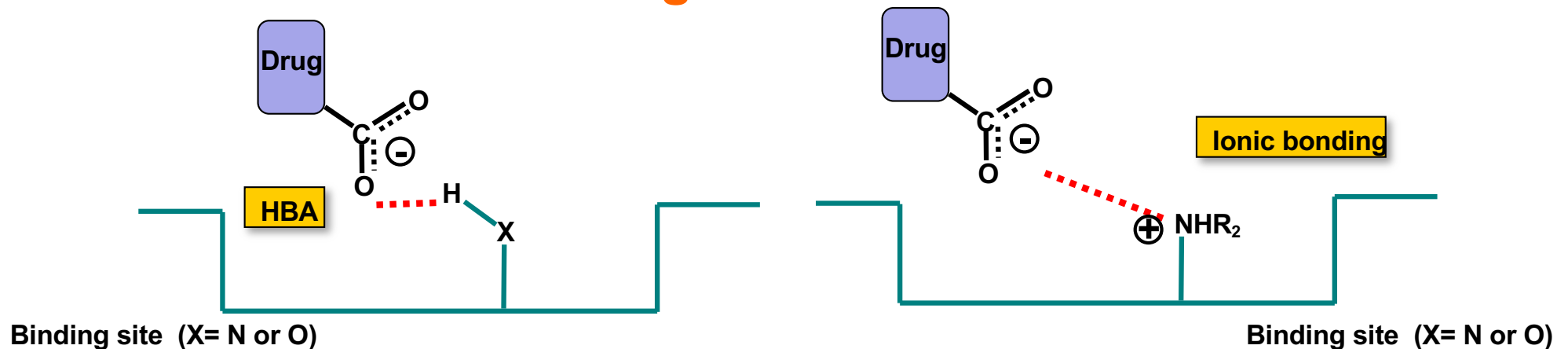
- L'N-metilazione impedisce l'interazione come HBD e può introdurre un effetto sterico che blocchi un'interazione come HBA

# SAR: acidi carbossilici

## Possibili interazioni di legame



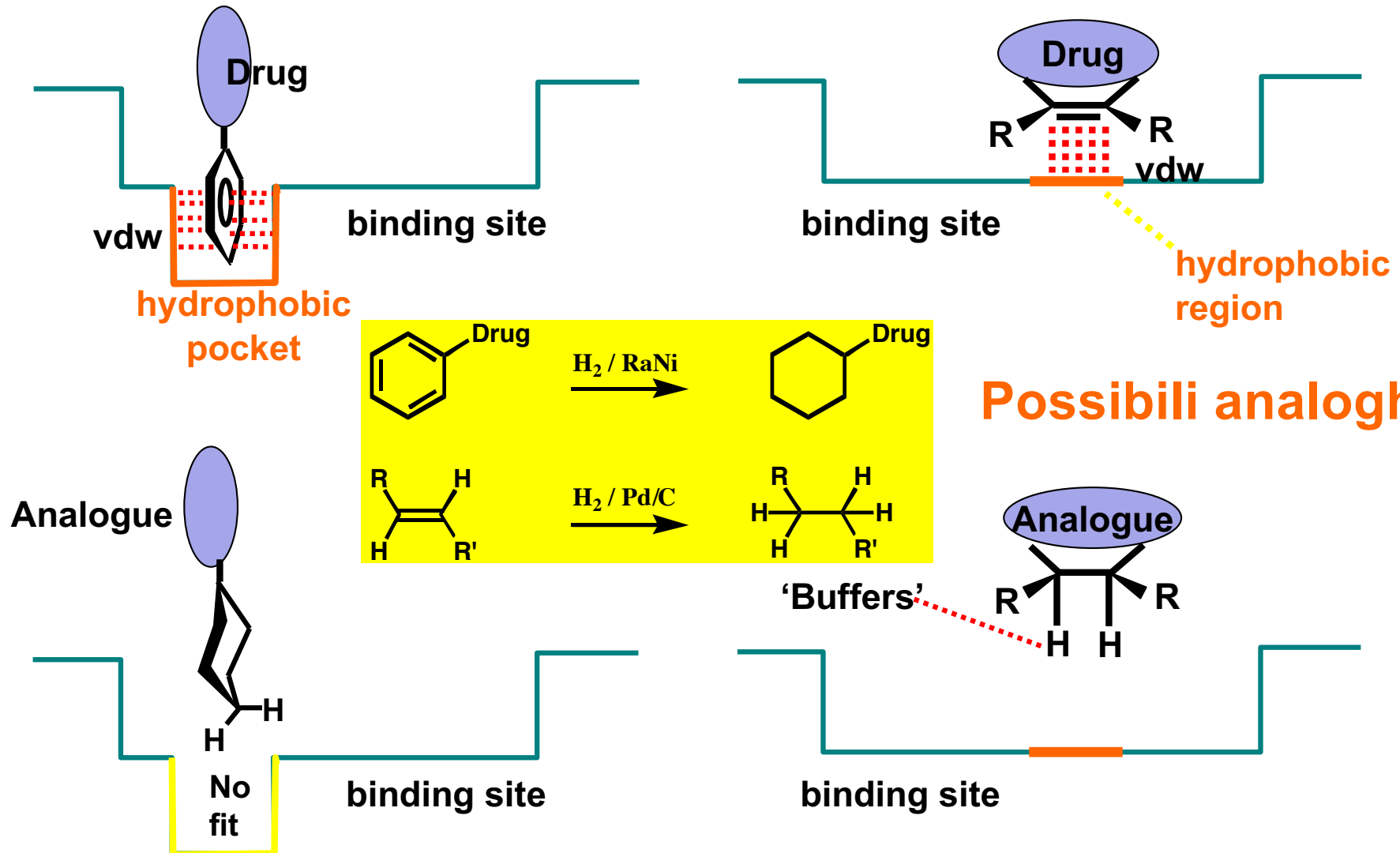
## Possibili interazioni di legame come carbossilato



- Nel carbossilato gli ossigeni sono forti HBA
- Il gruppo può instaurare legame ionico e legami idrogeno contemporaneamente

# SAR: anelli aromatici e alcheni

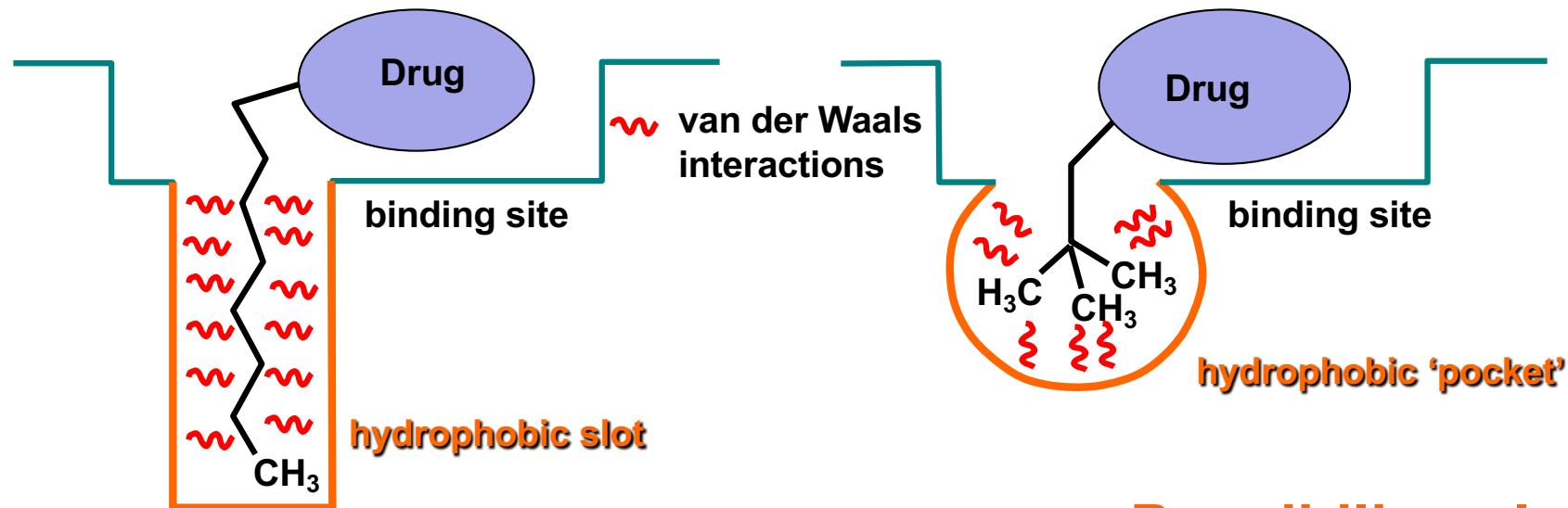
## Possibili interazioni di legame



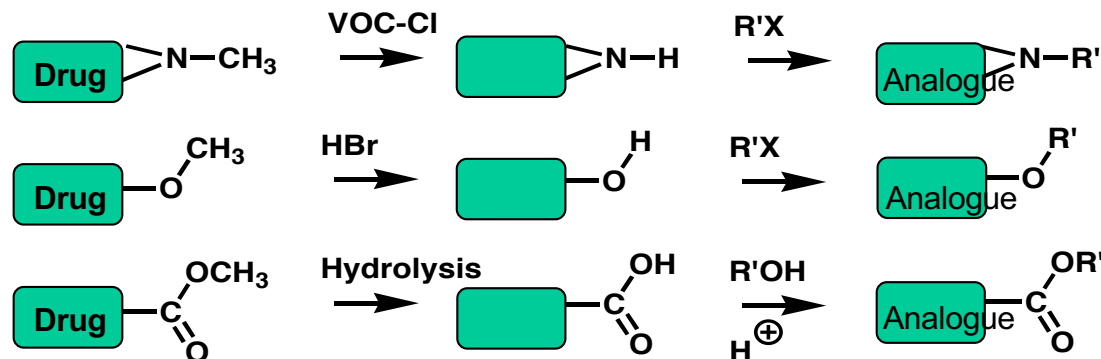
## Possibili analoghi

# SAR: gruppi alchilici

## Possibili interazioni di legame



## Possibili analoghi



- Variazioni di gruppi alchilici facili se sostituenti di eteroatomi
- Variazione della lunghezza e dell'ingombro del gruppo alchilico per definire lo spazio disponibile

# Gruppi funzionali e farmaci

- Cloruri degli acidi: troppo reattivi per essere utilizzati
- Anidridi: troppo reattive
- Alogenuri alchilici: presenti in farmaci antitumorali (reazioni con nucleofili, anche a livello di DNA)
- Alogenuri arilici: comunemente presenti. Di solito non coinvolti direttamente nel legame
- Gruppi nitro: a volte presenti ma spesso tossici
- Alchini: a volte presenti, ma di solito non importanti nelle interazioni di legame
- Tioli: presenti in alcuni farmaci come importante gruppo di legame per metalli di transizione (ad esempio Zn in metalloproteinasasi)
- Nitrili: presenti in alcuni farmaci, ma raramente coinvolti nel legame
- Gruppi funzionali: possono essere importanti per ragioni elettroniche (nitro, ciano, alogenuri arilici)
- Gruppi funzionali: possono essere importanti per ragioni steriche (alchini)

# Isosteria e Bioisosteria

# Variazioni dei gruppi funzionali: Isosteria

isostero e bioisostero

analogo

composto provvisto di una somiglianza strutturale e/o funzionale rispetto alla molecola di riferimento

- (a) semplice analogia di tipo chimico
- (b) analogia sia di tipo strutturale sia di attività farmacologica
- (c) una differenza di struttura chimica con il mantenimento di proprietà farmacologiche paragonabili

Isosteria:            primi del '900 J. Moir  
                              1919 da I. Langmuir

Correlazione di analogie strutturali esistenti tra molecole diverse con la condivisione di alcune proprietà chimico-fisiche.



# Variazioni dei gruppi funzionali: Isosteria

Sostituzione, in una molecola attiva, di un atomo o un gruppo di atomi con un altro con disposizione elettronica e sterica paragonabile.

- Isosteri: composti chimici o i gruppi di atomi con lo stesso numero di atomi e la stessa distribuzione elettronica.

Possiedono spesso proprietà chimico-fisiche simili, tra queste la densità, la costante dielettrica, l'indice di rifrazione e la solubilità, ma anche proprietà biologiche confrontabili

Estensione del concetto di isosteria:

legge dello "spostamento dell'idruro" (H. G. Grimm, 1925) riferita a gruppi con un numero diverso di atomi ma medesimo numero di elettroni di valenza provvisti del

# Isosteria

Aggiunta di un atomo di idrogeno a un elemento pseudoatomo, con proprietà simili all'atomo con il numero atomico successivo più elevato.

CH è isosterico con N, CH<sub>2</sub> e NH sono isosterici con O...

Elettroni di valenza	4	5	6	7	8
	C	N	O	F	Ne
		CH	S	Cl	Ar
			NH	OH	FH
			CH <sub>2</sub>	SH	OH <sub>2</sub>
				NH <sub>2</sub>	NH <sub>3</sub>
				CH <sub>3</sub>	CH <sub>4</sub>

# Isosteria

1932 Erlenmeyer

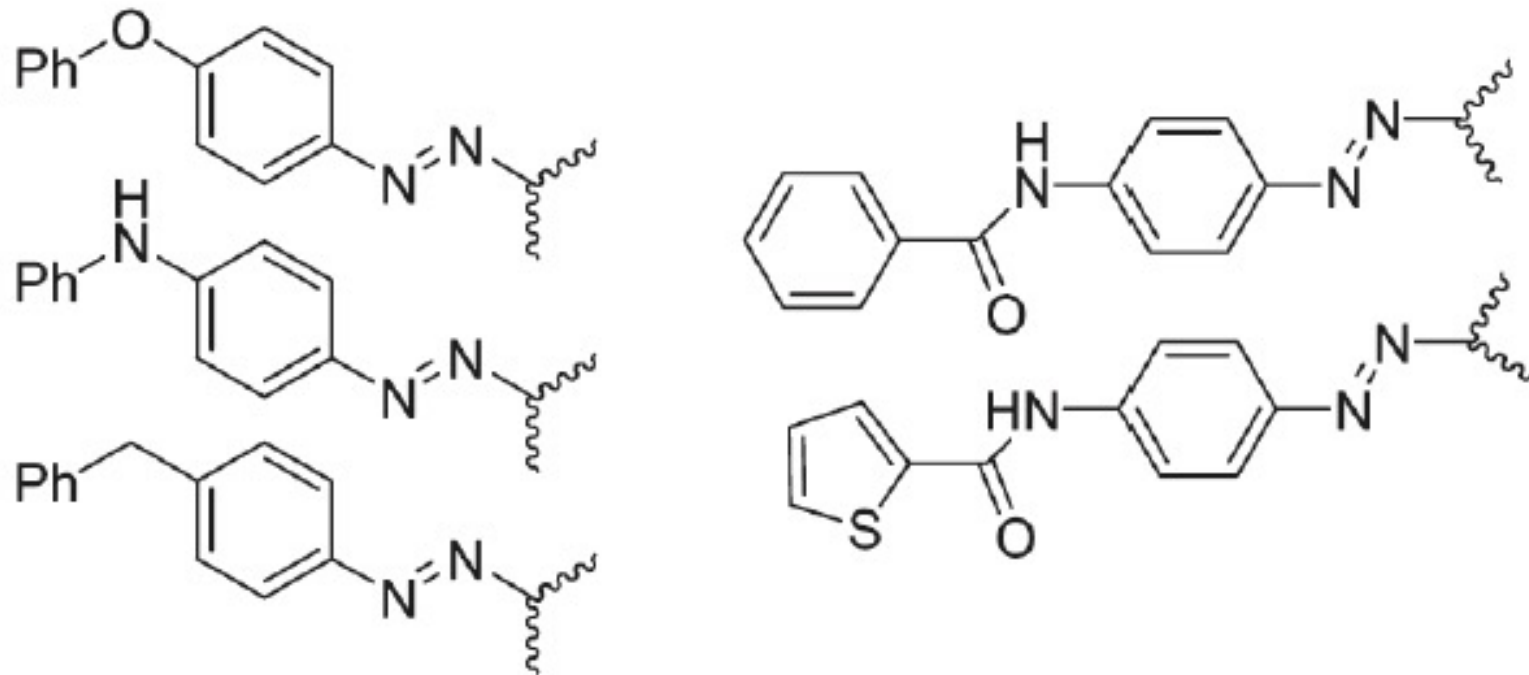
Isosteri: elementi, ioni, gruppi funzionali oppure molecole, i cui strati elettronici periferici possono essere considerati identici

Proprietà aggiuntive:

- gli elementi del medesimo gruppo nella tavola periodica sono tra loro isosteri (ad es. il silicio e il carbonio, l'ossigeno e lo zolfo)
- si devono considerare gli pseudoatomi nella classificazione di gruppi in apparenza diversi ma in realtà con analoghe proprietà fisiche
- opportune equivalenze d'anello consentono un confronto tra nuclei diversi (ad es. il benzene e il tiofene, dove  $\text{H}-\text{C}=\text{C}-\text{H}$  equivale a  $-\text{S}-$ , sono considerati isosteri).

# Bioisosteria

Erlenmeyer: ha dimostrato che gli anticorpi non sono in grado di discriminare tra fenile e tiofene o tra O, NH, and CH<sub>2</sub> negli antigeni artificiali.



# Bioisosteria

## Bioisosteria

gruppi dotati ancora di analogie nelle proprietà elettroniche  
ma simili nella disposizione spaziale, o con una o più proprietà  
chimico-fisiche rilevanti ai fini della loro attività biologica.

## Friedman anni '50

composti in grado di esercitare un effetto biologico simile, precisando  
che **derivati isosterici** di una serie omogenea possono anche non  
essere bioisosterici.

# Bioisosteria

Thornber

Burger

classificazione dei bioisosteri classici

definizione di bioisostero svincolata dall'analogia delle proprietà chimico-fisiche, comprendendo funzioni che possono differire anche in modo significativo nelle proprietà elettroniche, steriche e topologiche (bioisosteri non classici) rispetto al gruppo del quale mimano l'effetto biologico.

# Bioisosteria

La progettazione di bioisosteri introduce cambiamenti strutturali che possono essere utili o deleteri, a seconda del contesto.

Questi cambiamenti possono essere di:

**dimensione, forma, distribuzione elettronica, polarizzabilità, polarità, lipofilia, pKa, preferenze conformazionali**

Variazioni che cooperano nel processo di riconoscimento molecolare e nel determinare l'analogia del profilo biologico

Bioisosteria: approccio fondamentale per affrontare una serie di aspetti legati a **progettazione e sviluppo di farmaci**.

Nella pratica contemporanea della chimica farmaceutica si usa per migliorare potenza, selettività, variare le proprietà fisiche, ridurre o riorientare il metabolismo, eliminare o modificare il tossicoforo, poter brevettare.

# Bioisosteria

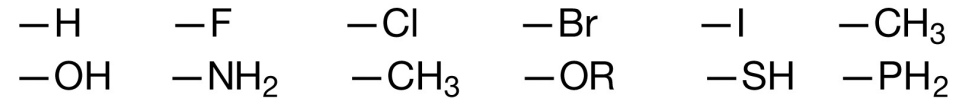
Proprietà che si vuole modificare mediante una funzione bioisosterica:

- **interazioni con recettori/enzimi;** sostituzione bioisosterica considerando principalmente parametri quali le dimensioni, la forma, le proprietà elettroniche, i valori di  $pK_a$ , la reattività chimica, la capacità di formare legami idrogeno
- **sostituzione di frammenti molecolari “strutturali”**, responsabili ad esempio del mantenimento di conformazioni preferenziali (quindi importanti sono le dimensioni molecolari e gli angoli di legame, cruciali ai fini del riconoscimento della proteina bersaglio)
- **aspetti farmacocinetici:** ottimizzazione di assorbimento, trasporto ed escrezione. Parametri rilevanti: lipofilia, idrofilia, legami idrogeno,  $pK_a$
- **aspetti metabolici:** porzione molecolare maggiormente coinvolta nel favorire o sfavorire un dato processo metabolico - introduzione di un adatto bioisostero per modulare la reattività chimica del gruppo originario.

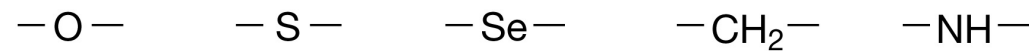


# Bioisosteri

## Atomi e gruppi monovalenti



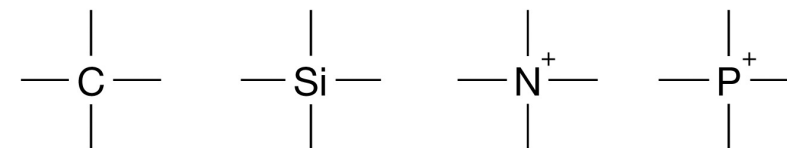
## Atomi e gruppi bivalenti



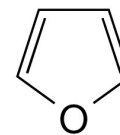
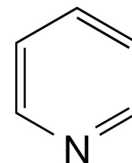
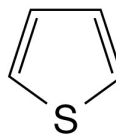
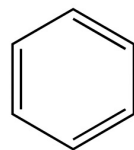
## Atomi o gruppi trivalenti



## Atomi tetraivalenti



## Equivalenti ciclici

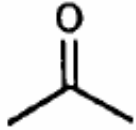
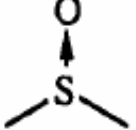
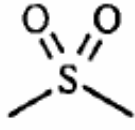
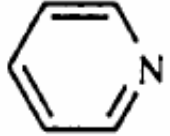
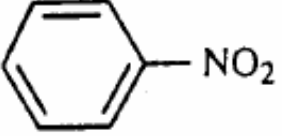
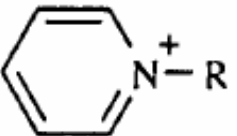


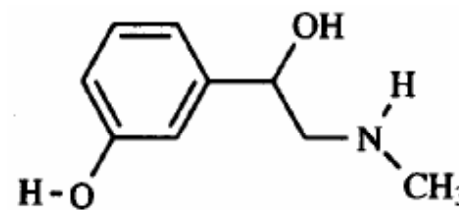
# Bioisosteri

- Sostituzione di atomi e gruppi monovalenti
- Alogeni (soprattutto il Cl)
- Altri gruppi elettron-attrattori (-CF<sub>3</sub>, -CN)
- Interscambio di atomi e gruppi bivalenti: -O-, -S-, -NH-, -CH<sub>2</sub>-
- Interscambio di atomi e gruppi trivalenti: -CH= → -N=
- (Sostituzione classica in anelli aromatici)
- **EQUIVALENTI D'ANELLO** -CH= → -N= ; -CH=CH- → -S-

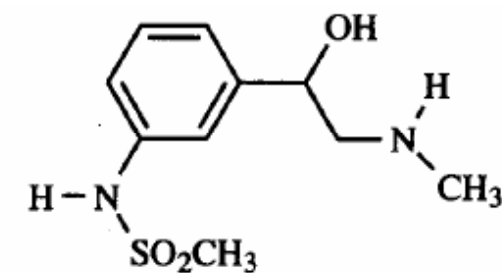
Monovalenti	Bivalenti	Trivalenti	Tetravalenti	Equivalenti d'anello
-CH <sub>3</sub> , -NH <sub>2</sub> , -OH, -F, -Cl	-CH <sub>2</sub> -, -NH-, -O-, -S-, -Se-	-CH=, -N=	>C<, >Si<	-CH=CH-, -S-
-PH <sub>2</sub> , -SH	-COCH <sub>2</sub> -, -CONH-, COO-, -COS-	-P=, -As=	=C=, =N+= =P+=	-CH=, -N=
-Br, - <i>i</i> -Pr				-O-, -S-, -CH <sub>2</sub> -, -NH-
-I, - <i>t</i> -Bu				

# Isosteria e bioisosteria

		
$-\text{COOH}$	$-\text{SO}_2\text{NHR}$	$-\text{SO}_3\text{H}$ $\text{O}=\text{P}(\text{NH}_2)\text{OH}$
$-\text{OH}$	$-\text{NHCOR}$	$-\text{NHSO}_2\text{R}$
Alogeni	$-\text{CF}_3$	$-\text{CN}$ $-\text{OCN}$ $-\text{SCN}$
		



Fenilefrina



Protoni con la stessa acidità

# Bioisosteri non classici

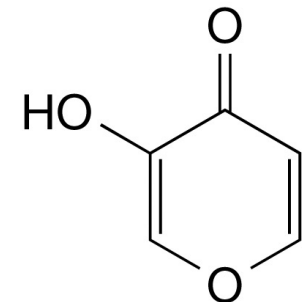
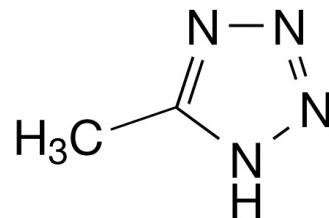
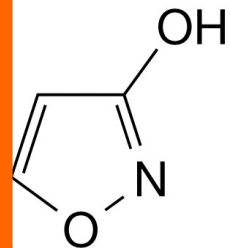
bioisosteri del carbossile

in genere impiegati per migliorare le proprietà farmacocinetiche del farmaco progenitore, riducendone la polarità, aumentandone la lipofilia e favorendo quindi la permeabilità di membrana.

CO<sub>2</sub>H  
PO(OH)NH<sub>2</sub>

SO<sub>2</sub>NHR  
PO(OH)OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>

SO<sub>3</sub>H  
CONH-CN



# Bioisosteri non classici

Fluoro: quasi del tutto assente nei prodotti di origine naturale

numerosi derivati sintetici contenenti fluoro dotati di interessanti profili di attività biologica

Diversi composti fluorurati impiegati per lo studio degli aspetti conformazionali di molecole biologicamente attive, sfruttando in particolare il legame C–F

Stabilità metabolica

Blocco di siti metabolicamente poco stabili introducendo un atomo di fluoro, purché la variazione di dimensioni (per quanto sia un atomo piccolo) non impedisca il binding con il target.

# Bioisosteri non classici

Fluoro

Effetto sul pK<sub>a</sub>

Quale atomo elettronegativo, il fluoro ha un forte effetto su acidità e basicità dei gruppi funzionali adiacenti.

amine	pK <sub>a</sub>	acid	pK <sub>a</sub>
CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> NH <sub>3</sub> <sup>+</sup>	10.7	CH <sub>3</sub> CO <sub>2</sub> H	4.76
CH <sub>2</sub> FCH <sub>2</sub> NH <sub>3</sub> <sup>+</sup>	9.0	CH <sub>2</sub> FCO <sub>2</sub> H	2.66
CHF <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> NH <sub>3</sub> <sup>+</sup>	7.3	CHF <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H	1.24
CF <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> NH <sub>3</sub> <sup>+</sup>	5.7	CF <sub>3</sub> CO <sub>2</sub> H	0.23

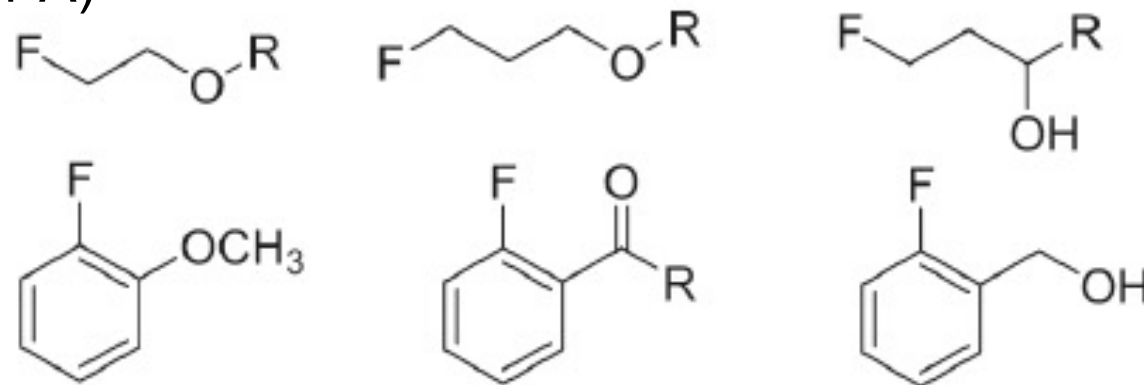
# Bioisosteri non classici

Fluoro

Effetto sulla lipofilia

Studio su 293 coppie di molecole che differiscono solo per lo scambio  $H \rightarrow F$ : aumento medio della lipofilia.

In alcuni casi avviene invece l'inverso (quando i composti presentano almeno un conformero a bassa energia con una distanza tra O e F minore di 3.1 Å)



# Bioisosteri non classici

## Scambio dell'OSSIGENO ETEREO e del GRUPPO METILENICO

Struttura tetraedrica analoga. Risultati spesso sono anomali, in genere l'eliminazione dell'ossigeno porta a risultati migliori della sostituzione con il CH<sub>2</sub>. Probabilmente questo è dovuto a una diminuita variazione di lipofilia nel primo caso rispetto al secondo.

## Bioisosteria CARBONIO-SILICIO

Silicio meno elettronegativo del Carbonio

Legami Si—C sp<sup>3</sup> 20% più lunghi dei C—C

Composti con il silicio più suscettibili all'idrolisi e all'attacco nucleofilo.

Presente solo al centro di strutture quaternarie, nonostante questo facilmente attaccabile → composti con durata d'azione più breve.

## Bioisosteria CARBONIO-BORO

Composti bororganici: sensibili alla degradazione.

Composti usati: Acido borico e acidi boronici.

Vero utilizzo in terapia dei tumori: boron neutron capture



# Scaffold hopping

variazione dello scheletro portante

1999 Schneider

strategia chemo-informatica per identificare strutture molecolari **isofunzionali** caratterizzate da **differenze di scaffold**.

procedura efficiente per identificare nuovi termini di impatto chimico-farmaceutico innovativo.

- conoscenza della struttura tridimensionale dei composti biologicamente attivi
- identificare nuove porzioni molecolari
- frammento centrale dell'impalcatura del composto progenitore.

Elementi strutturali, essenziali ai fini del profilo biologico ricercato, con caratteristiche non adatte allo sviluppo, problemi di requisiti chimico-fisici, di stabilità metabolica, di tossicità, di proprietà intellettuale.

# Scaffold hopping

variazione dello scheletro portante

Applicazione di metodi della computazionali all'ottimizzazione strutturale nel processo di *drug discovery*.

Nuovi **chemotipi** (porzioni molecolari) all'interno dello scheletro della molecola parente per generare composti biologicamente attivi equipotenti di nuova concezione

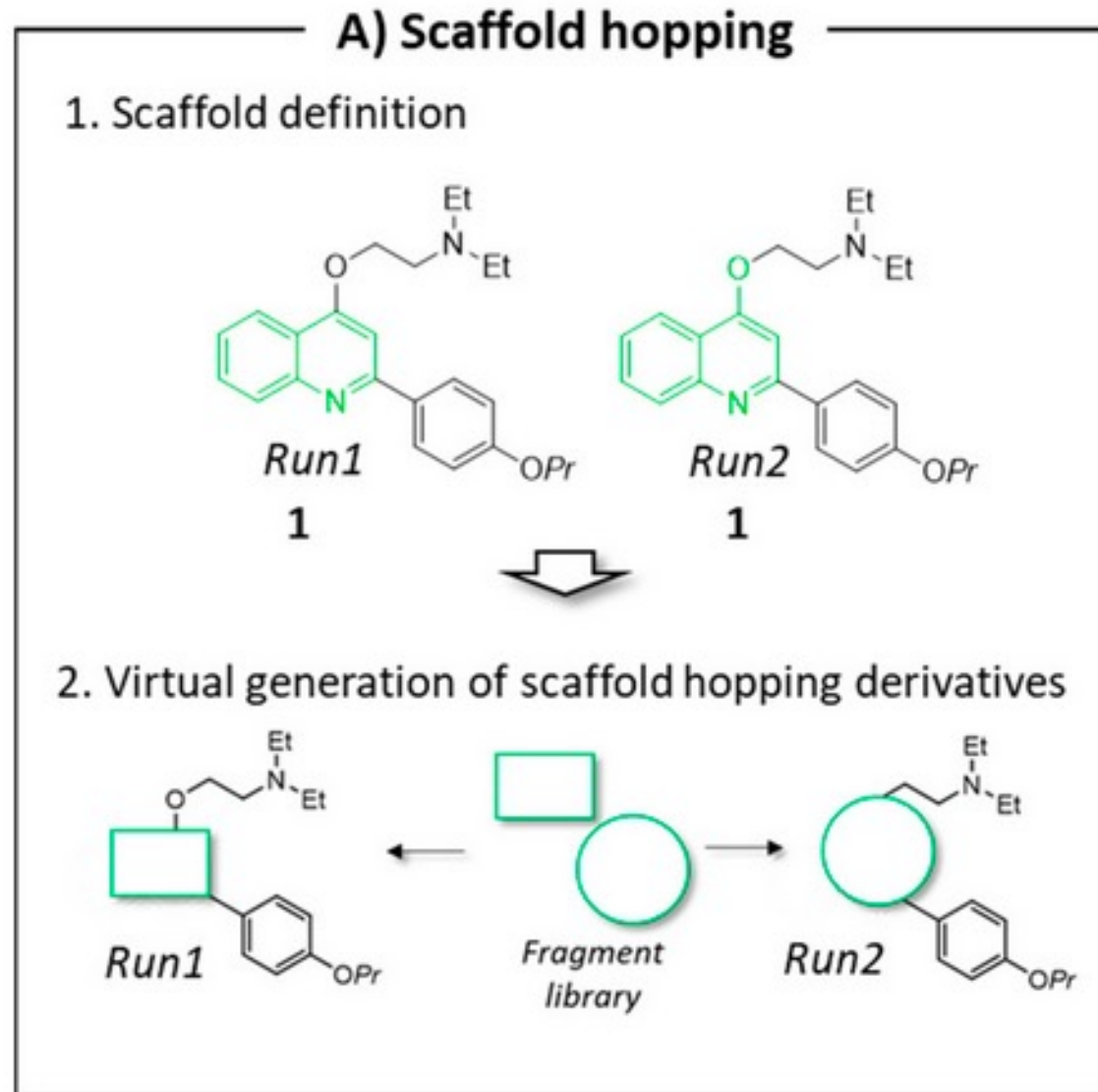
Sviluppo di molecole innovative per una specifica applicazione terapeutica

In contrasto con il principio della somiglianza strutturale (analogia di comportamento biologico associata a gruppi/ frammenti simili dal punto di vista molecolare)

**Composti con diversità strutturale, anche pronunciata, possono riconoscere il medesimo target biologico condividendo alcuni elementi/parametri strutturali globali (i.e. forma, superficie elettropotenziale)**

Somiglianza strutturale: connotazione macroscopica, anche senza gruppi che obbediscono ai principi generali della bioisosteria

# Scaffold hopping

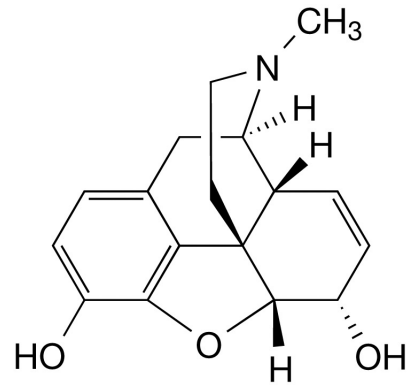


# Variazioni volte all'ottimizzazione strutturale

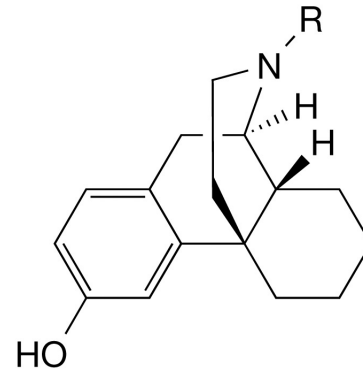
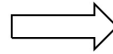
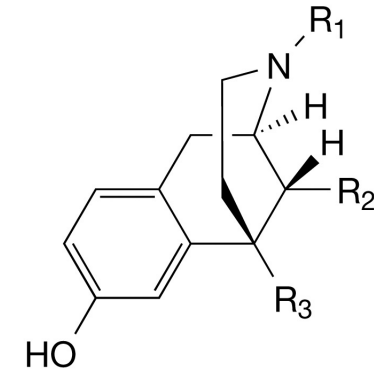
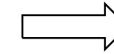
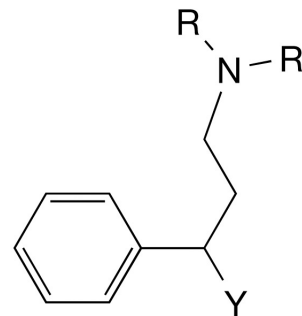
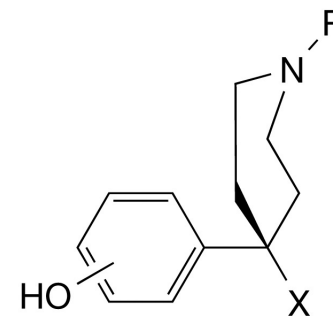
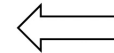
**semplificazione** della struttura di un lead, noto come **approccio disgiuntivo**:

- usato per derivati naturali
- dissezione molecolare con riduzione del numero di funzioni e di sostituenti e/o eliminazione o apertura di anelli.
- identificazione del nucleo farmacoforico di una sostanza naturale
- processo di ottimizzazione del profilo farmacologico
- eliminazione di eventuali effetti indesiderati o tossici associati alla molecola più complessa

# Variazioni volte all'ottimizzazione strutturale



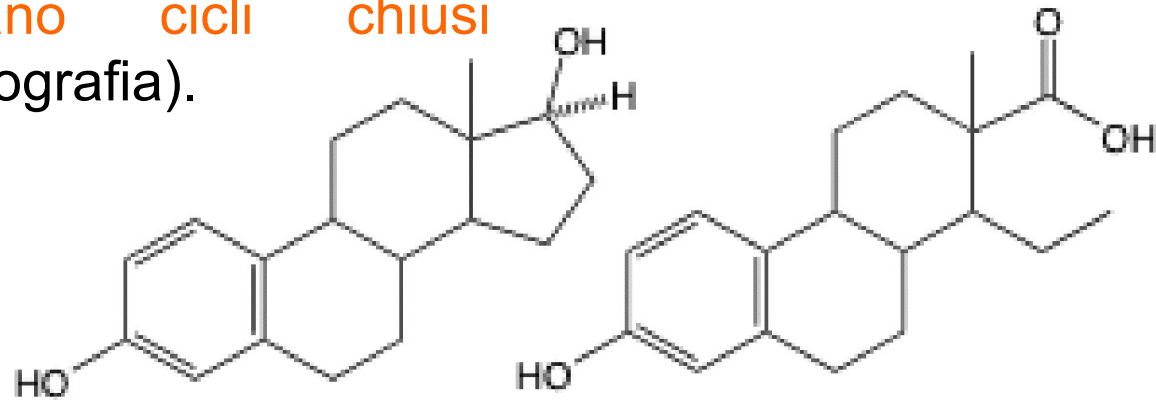
Morfina

Morfinani  
(Levorfanolo)Benzomorfini  
(Pentazocina)Fenilpropilamine  
(Metadone)Arilpiperidine  
(Meperidina)

# Variazioni volte all'ottimizzazione strutturale

Composti non attivabili *in vivo*: pseudocicli.

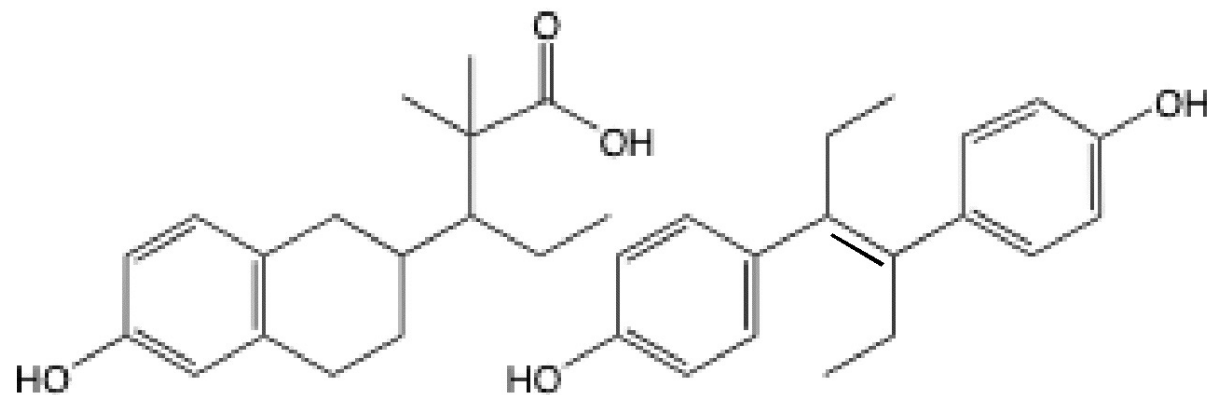
Sistemi che mimano cicli chiusi  
(dimostrabile via cristallografia).



Estradiolo

Acido bisdeidrodoisinolico

Distanza  
comparabile tra i  
due ossidrili



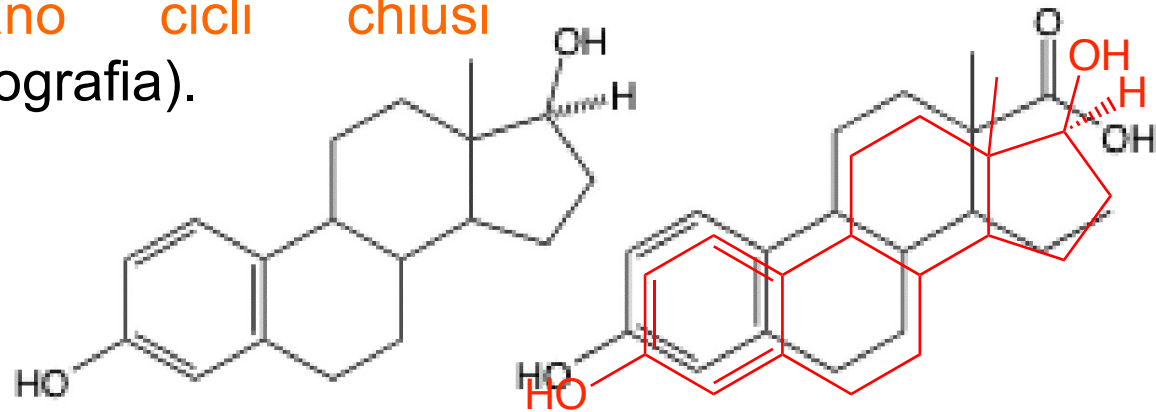
Allenestrolo

Dietilstilbestrolo

# Variazioni volte all'ottimizzazione strutturale

Composti non attivabili *in vivo*: pseudocicli.

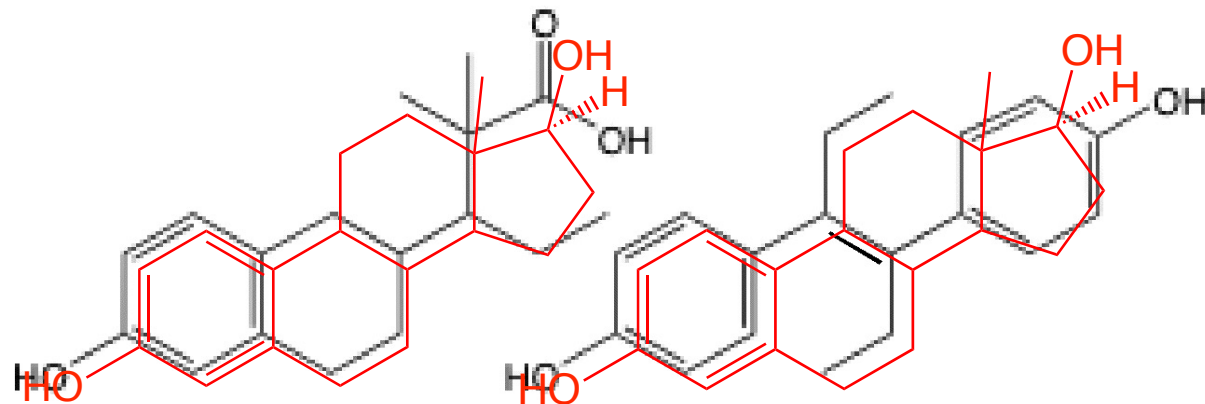
Sistemi che mimano cicli chiusi  
(dimostrabile via cristallografia).



Estradiolo

Acido bisdeidrodoisinoico

Distanza  
comparabile tra i  
due ossidrili

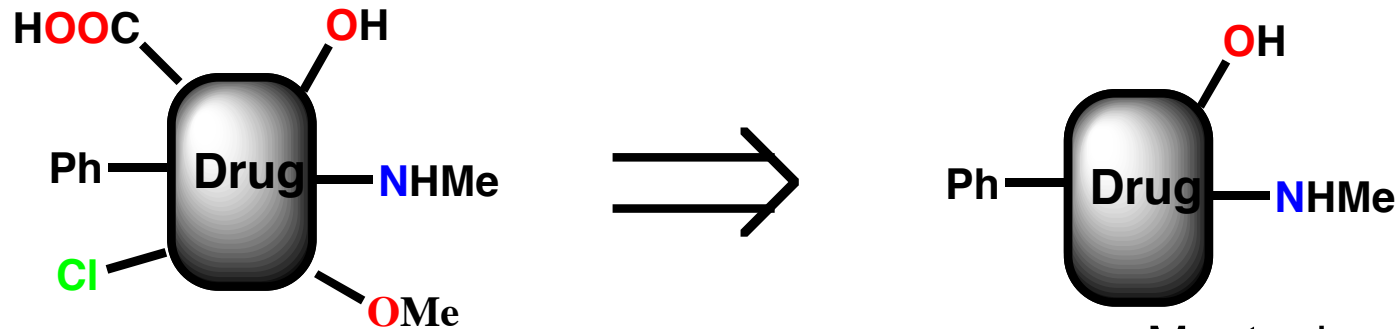


Allenestrolo

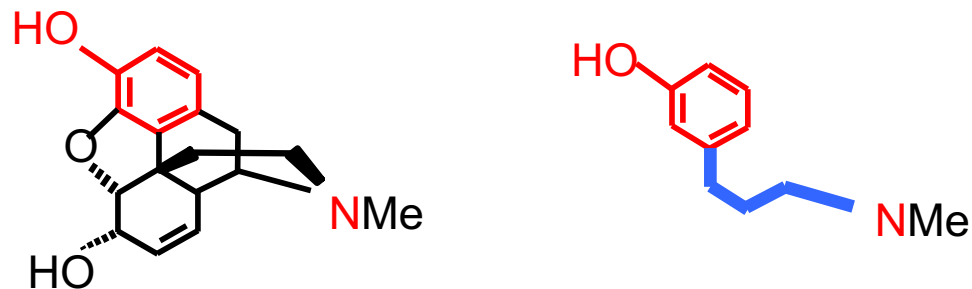
Dietilstilbestrolo

# Variazioni volte all'ottimizzazione strutturale

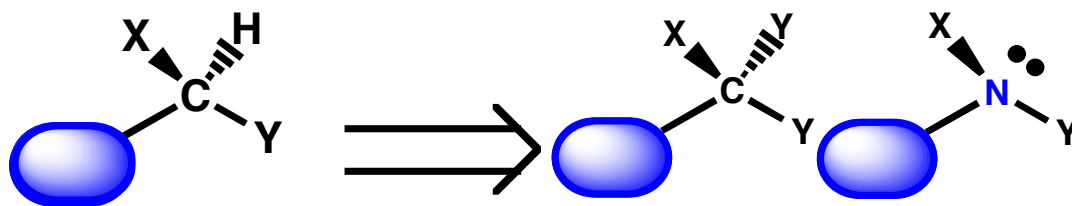
## Semplificazione molecolare



Mantenimento del farmacoforo



Rimozione dei centri di asimmetria





# Variazioni volte all'ottimizzazione strutturale

## **complicazione molecolare, o approccio congiuntivo**

- inserimento mirato di sub-strutture aggiuntive tra cui raddoppiamento delle dimensioni del composto originario (farmaci cosiddetti gemelli)

Strategia frequentemente impiegata in fase di ottimizzazione di molecole promettenti che derivano dalla progettazione razionale, dall'approccio della chimica combinatoriale e dallo screening sistematico.

Decorazione mirata della struttura originaria si vuole incrementare la potenza del composto e/o la sua affinità/selettività d'azione, oppure cambiare il modo di interazione di un ligando con il bersaglio biologico, migliorare la stabilità metabolica di una molecola, ad esempio mediante protezione sterica di funzioni degradabili.

# Variazioni volte all'ottimizzazione strutturale

Mantenimento della *drug-likeness* dei nuovi composti generati (requisiti farmacocinetici e tossicologici)

Complicazione molecolare:

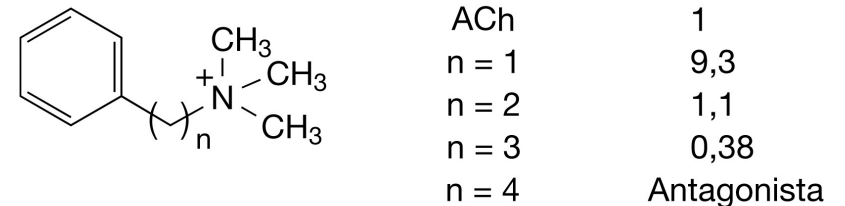
- omologazione,
- modulazione conformazionale,
- raddoppiamento della struttura (in particolare i ligandi omo- ed eterobivalenti)
- ibridazione della struttura (ligandi progettati per l'interazione con più di un bersaglio biologico).

# Omologazione

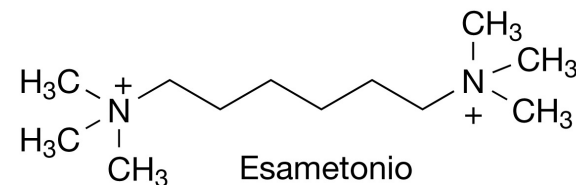
inserimento di uno o più atomi di carbonio o gruppi all'interno o all'estremità di una catena lineare (omologazione alchilica o arilica) oppure di un sistema ciclico (omologazione ciclica)

- incremento progressivo della lunghezza
- possibili variazioni della geometria molecolare
- variazioni del modo d'azione dei ligandi.

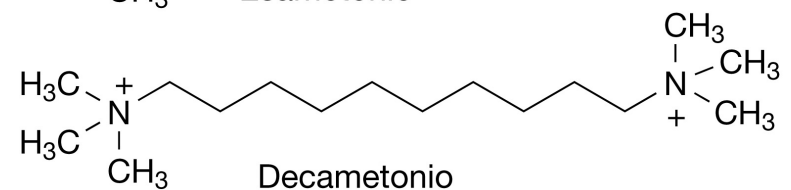
agonista i recettori nicotinici muscolari  
N=4 antagonista



bloccante dei recettori nicotinici gangliari

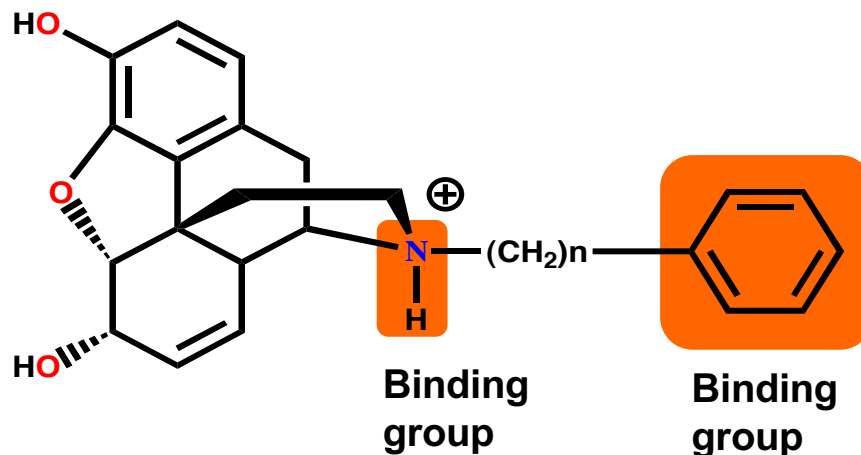
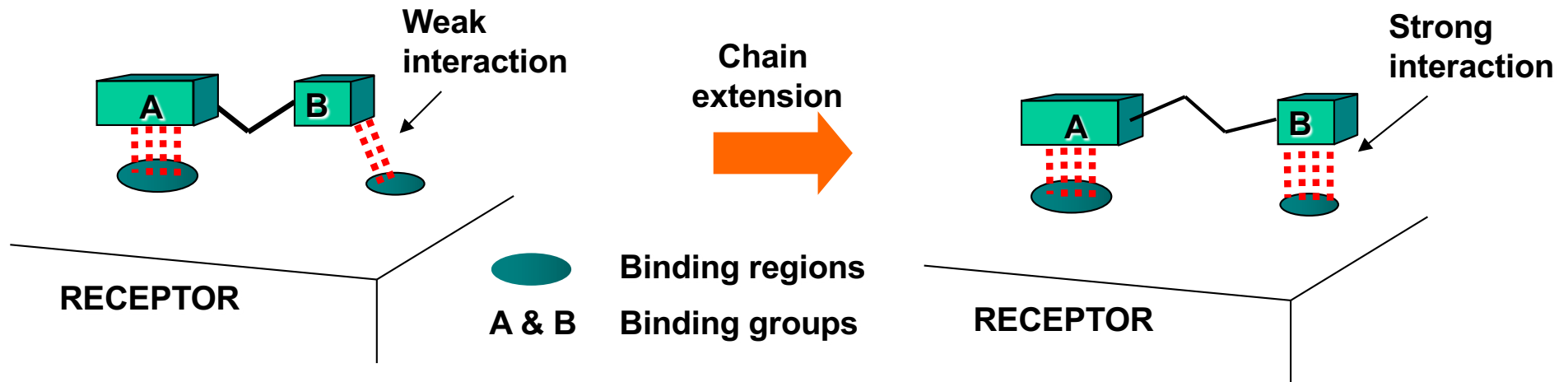


bloccante dei recettori nicotinici della placca motrice



# Espansione/contrazione

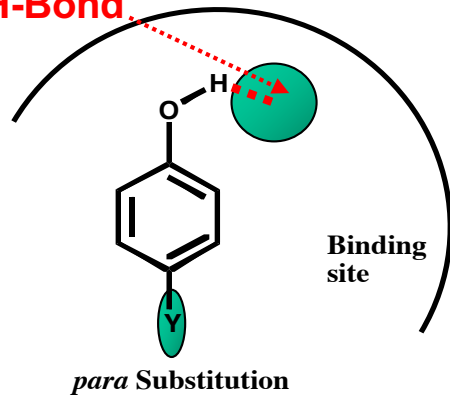
- Utile se una catena lega di due gruppi di binding
- Variare la lunghezza della catena per ottimizzare le interazioni



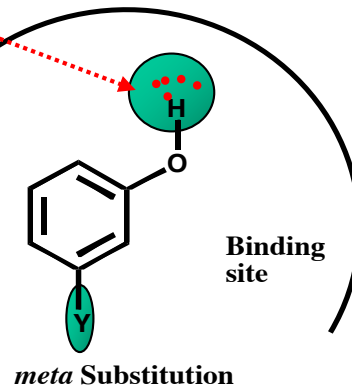
Optimum chain length = 2

# Variazioni volte all'ottimizzazione strutturale



Weak  
H-Bond

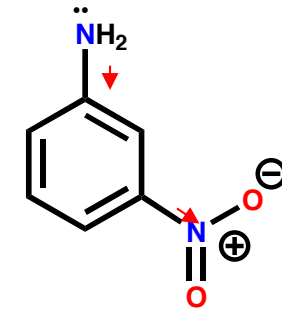


Strong  
H-Bond  
(increased  
activity)

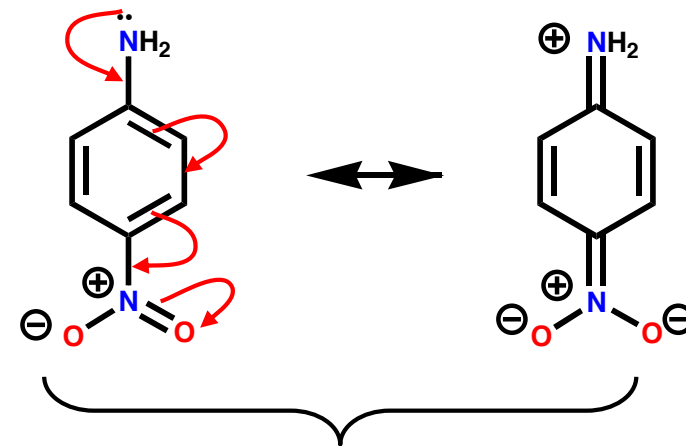


Variazione dei sostituenti e/o della loro posizione

 Binding Region  
(H-Bond)  
 Binding Region  
(for Y)



*Meta* substitution:  
Inductive electron  
withdrawing effect

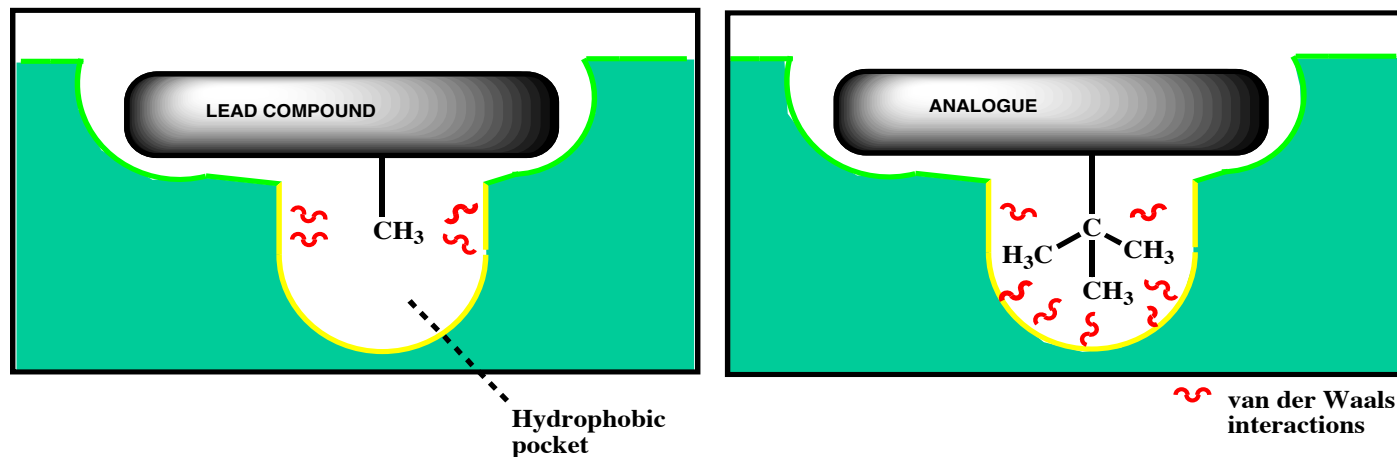


*Para* substitution:  
Electron withdrawing effect due to resonance  
+ inductive effects leading to a weaker base

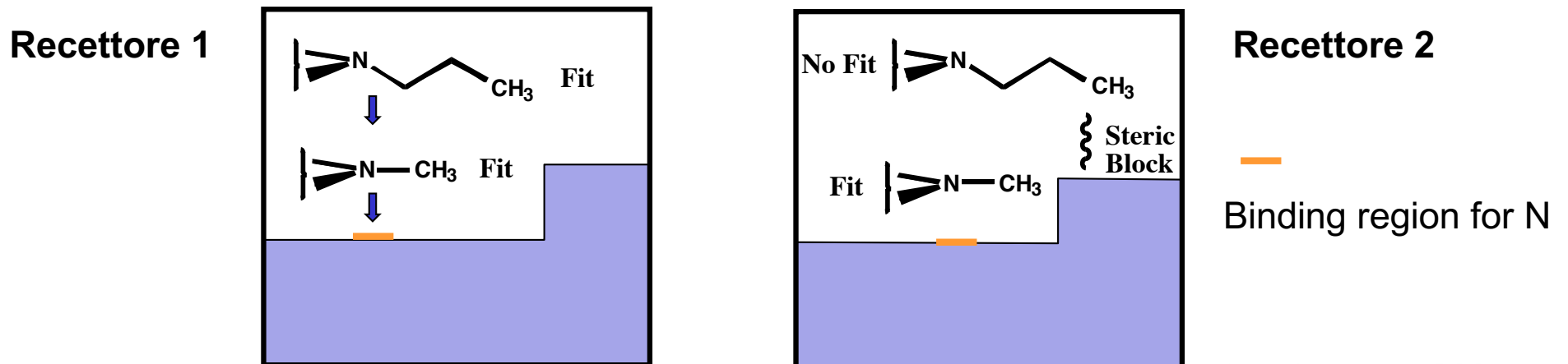
- Forza di binding dell' $\text{NH}_2$  come HBD influenzata dalla posizione relativa di  $\text{NO}_2$
- Forte quando  $\text{NO}_2$  è in posizione para

# Ottimizzazione delle interazioni di legame

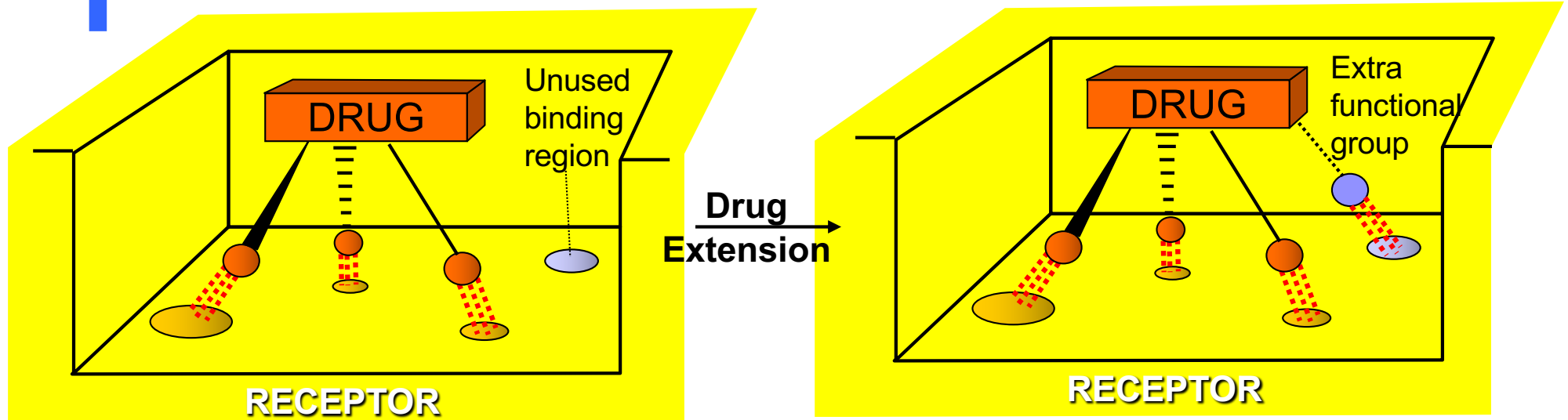
- Gruppo alchilico con interazione nella regione idrofobica in sito di legame
- Variazione della lunghezza e del volume del gruppo per ottimizzare l'interazione



- Variazione della lunghezza e del volume del gruppo per ottimizzare la selettività



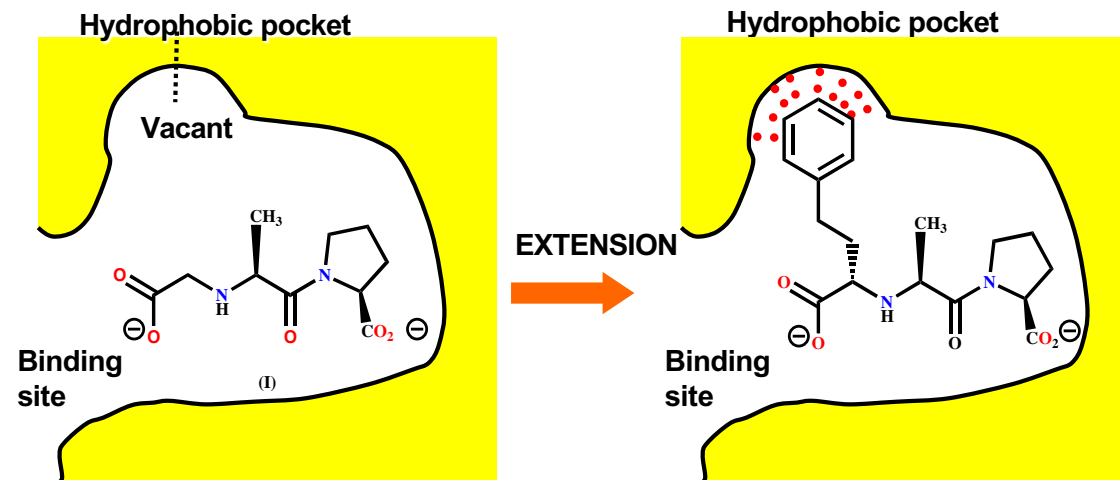
# Estensione



Binding regions
  Binding group

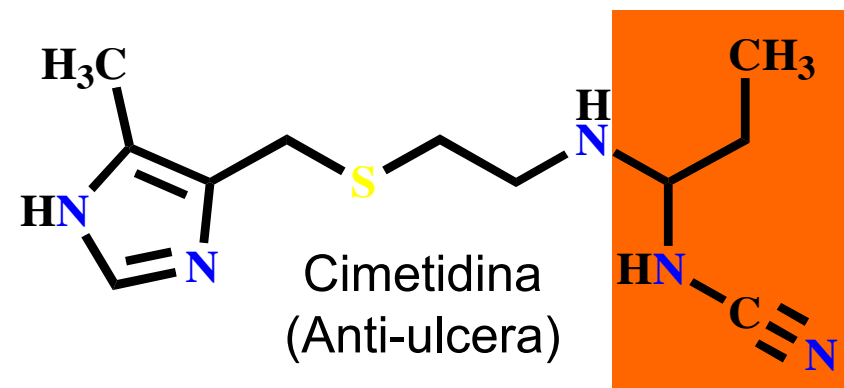
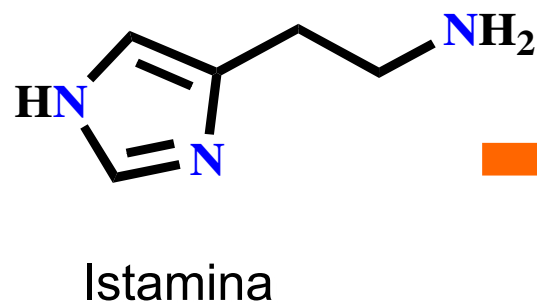
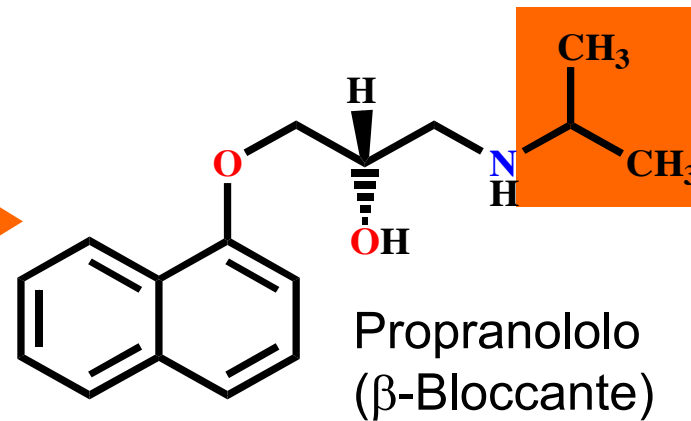
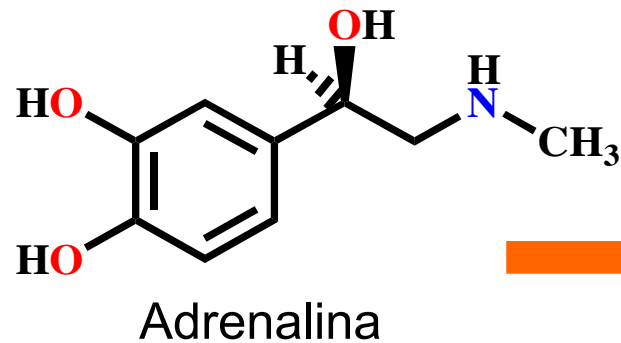
Per esplorare il sito di legame del target in altre possibili regioni di legame, per ottenere ulteriori interazioni con il target

ACE



# Estensione

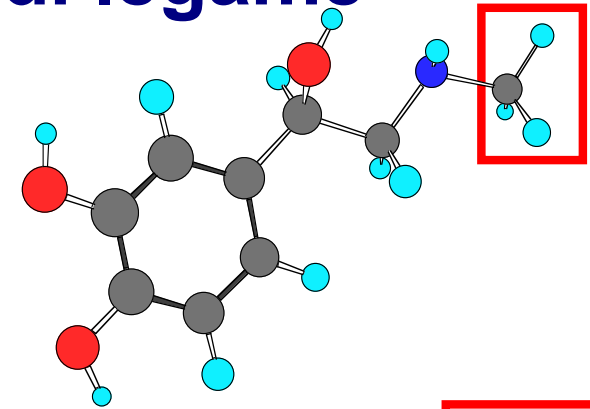
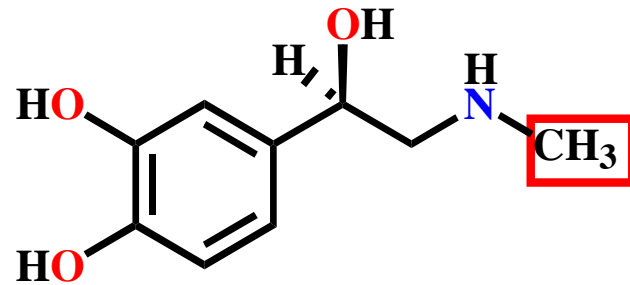
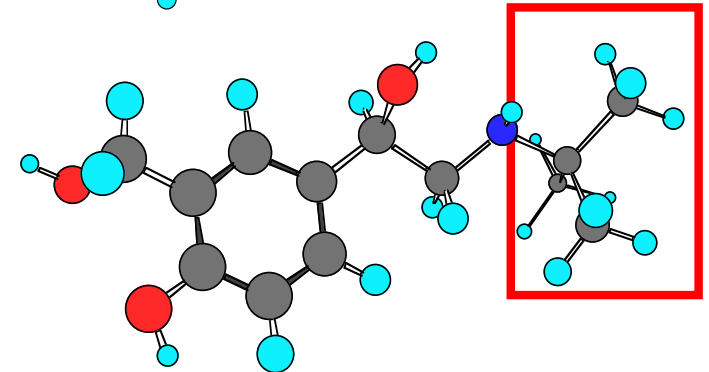
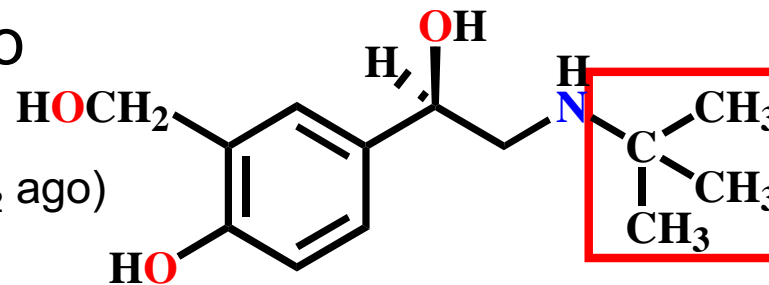
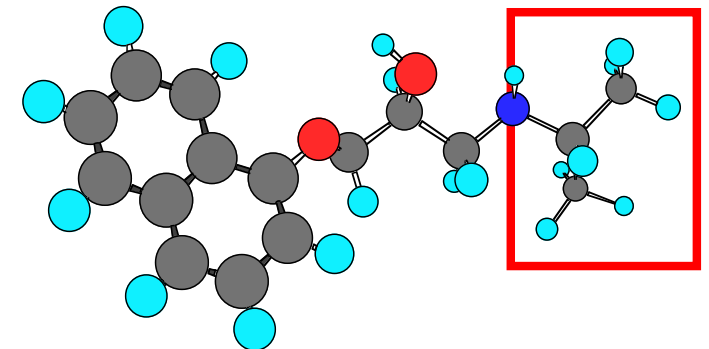
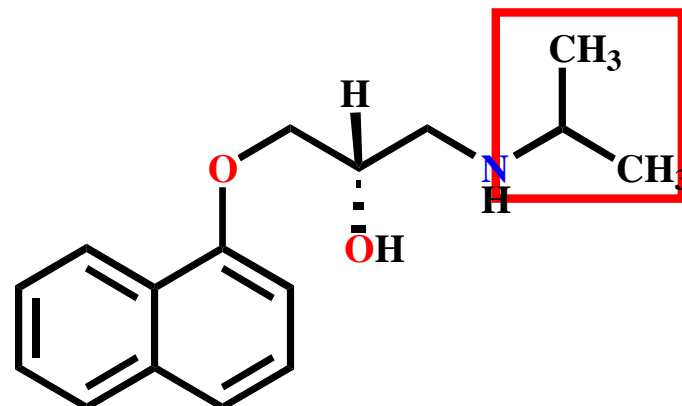
## Antagonisti da agonisti



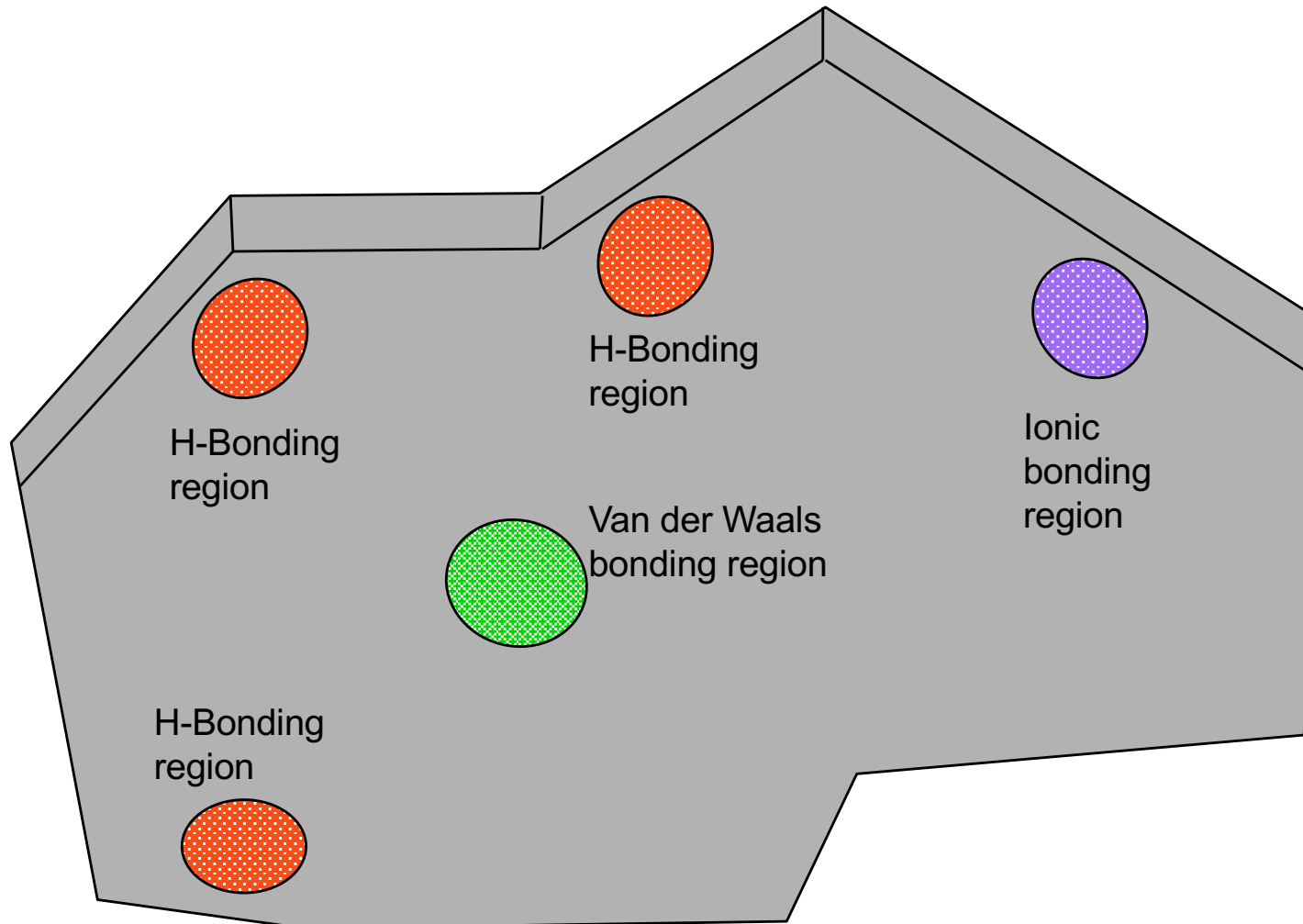


# Ottimizzazione delle interazioni di legame

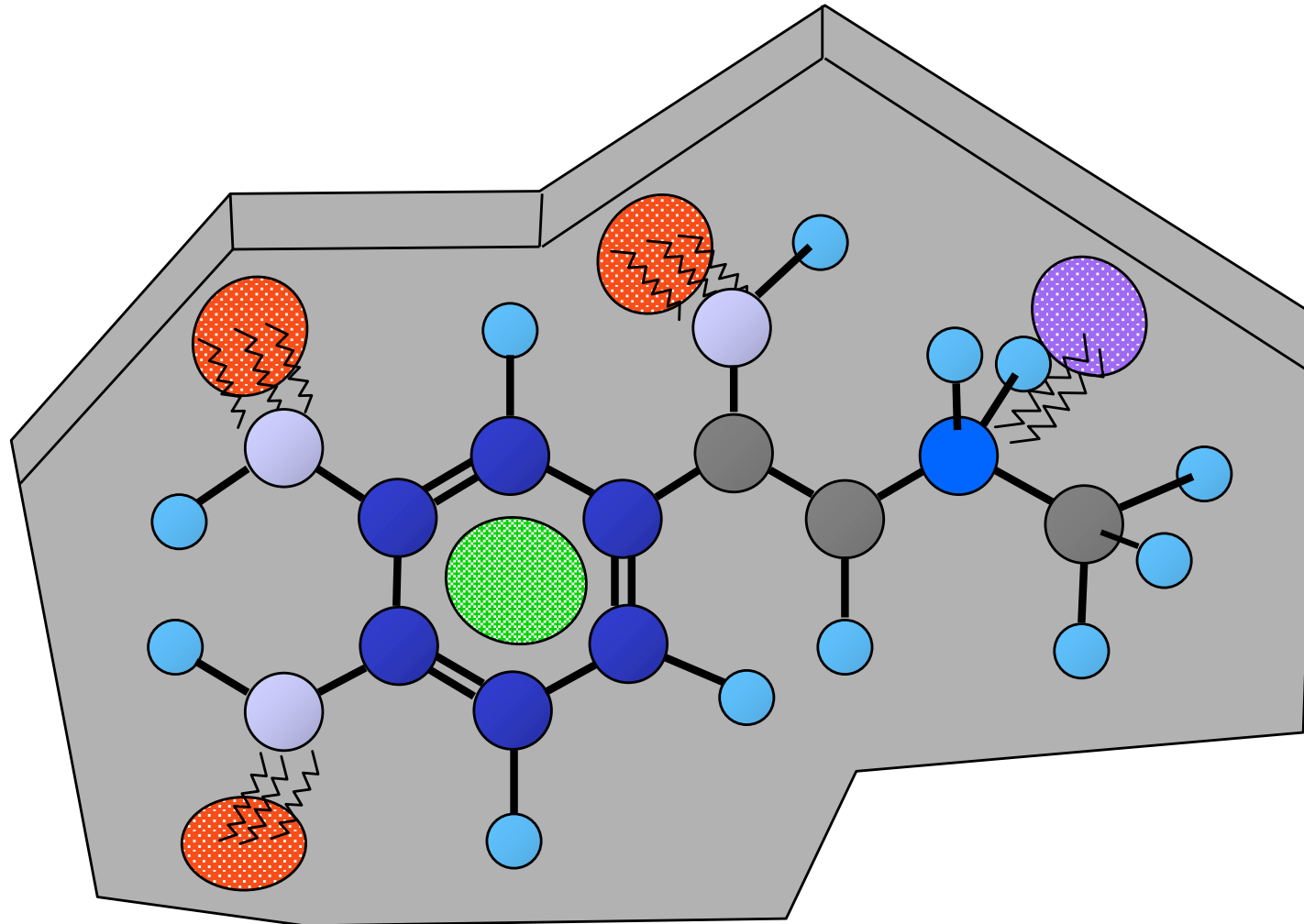
Adrenalina

Salbutamolo  
(Ventolin)(Anti-asmatico,  $\beta_2$  ago)Propranololo  
( $\beta$ -Bloccante)

# Recettore $\alpha$ -adrenergico

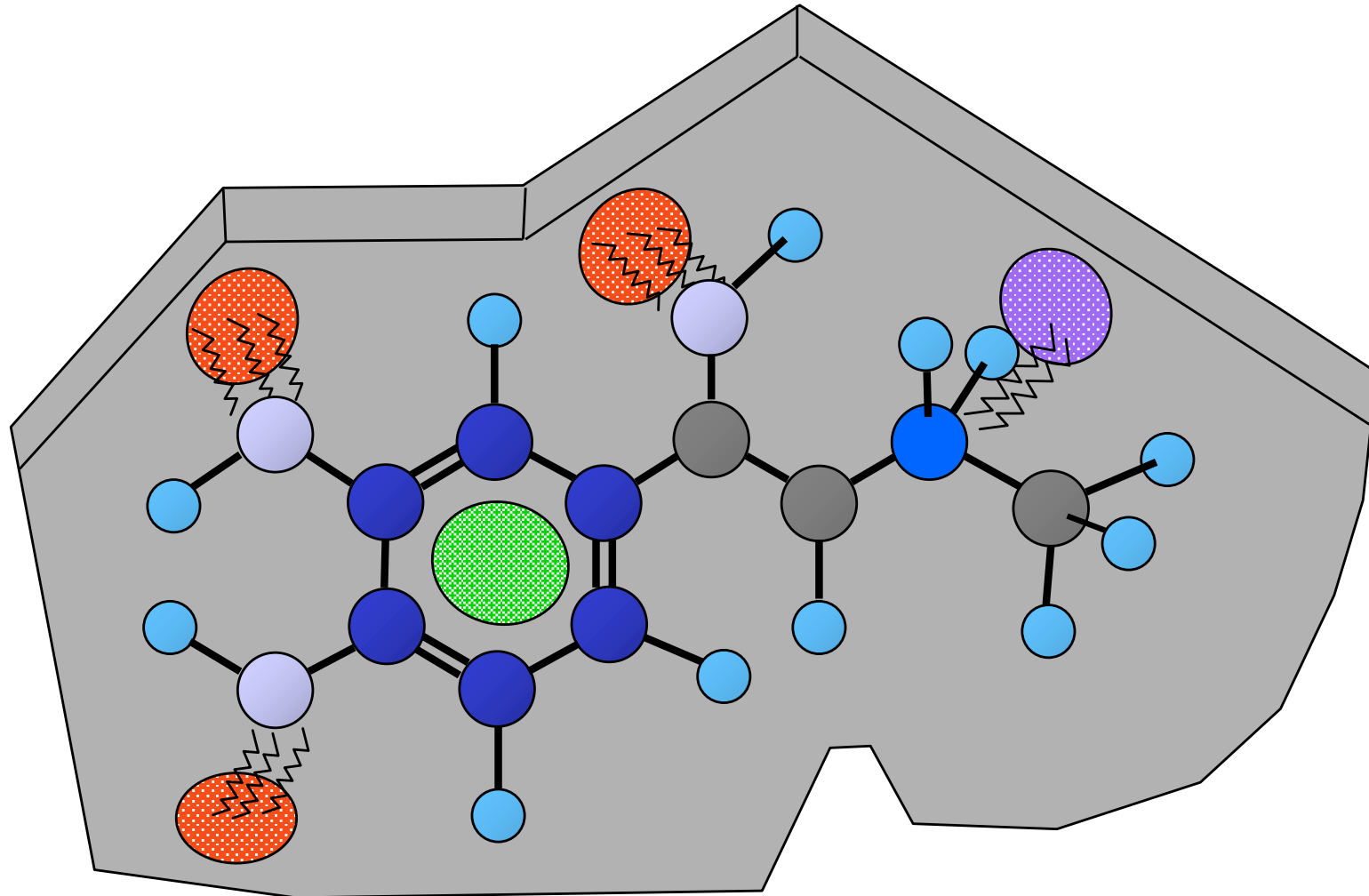


# Recettore $\alpha$ -adrenergico



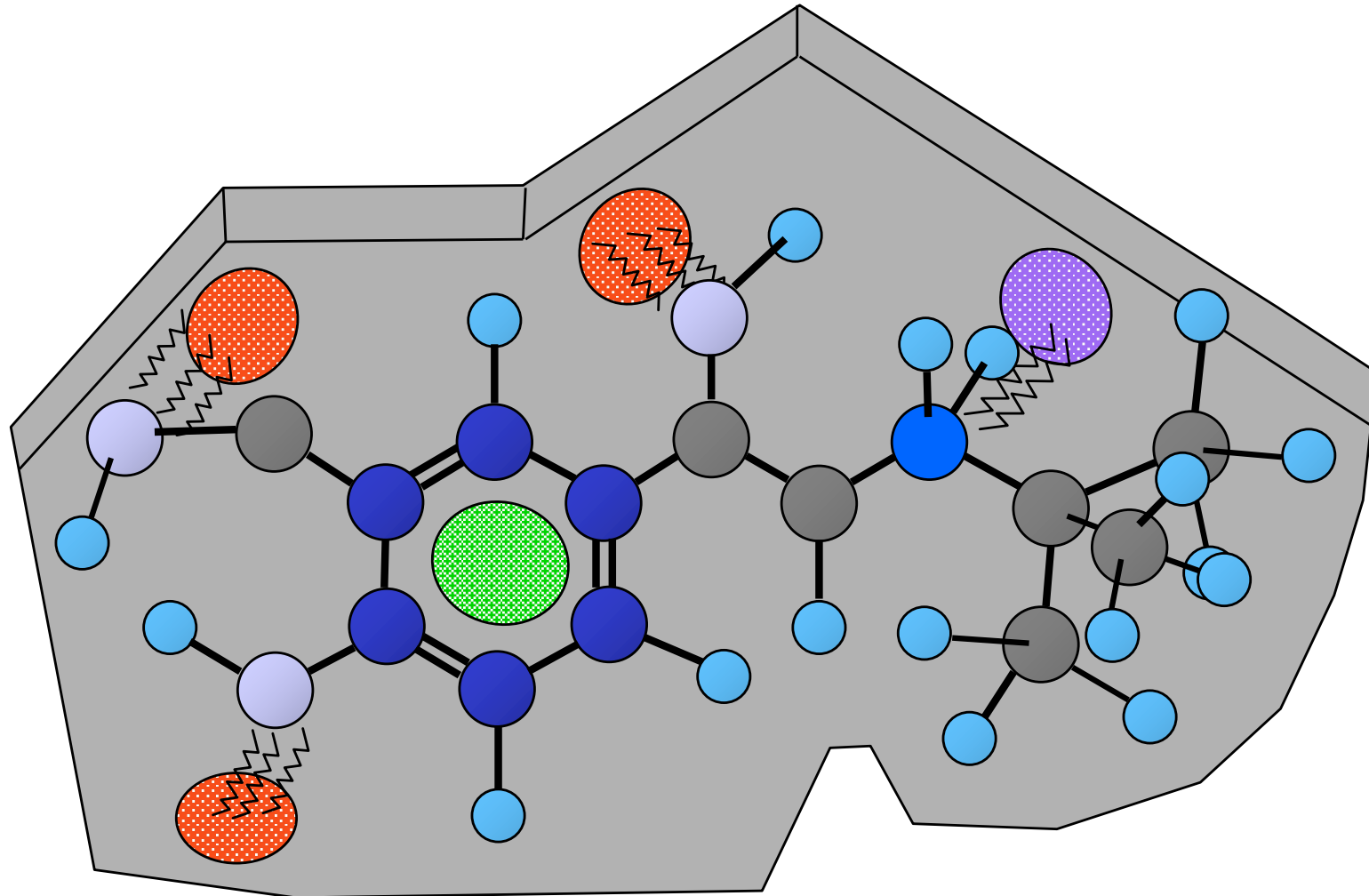
**ADRENALINA**

# Recettore $\beta$ -adrenergico



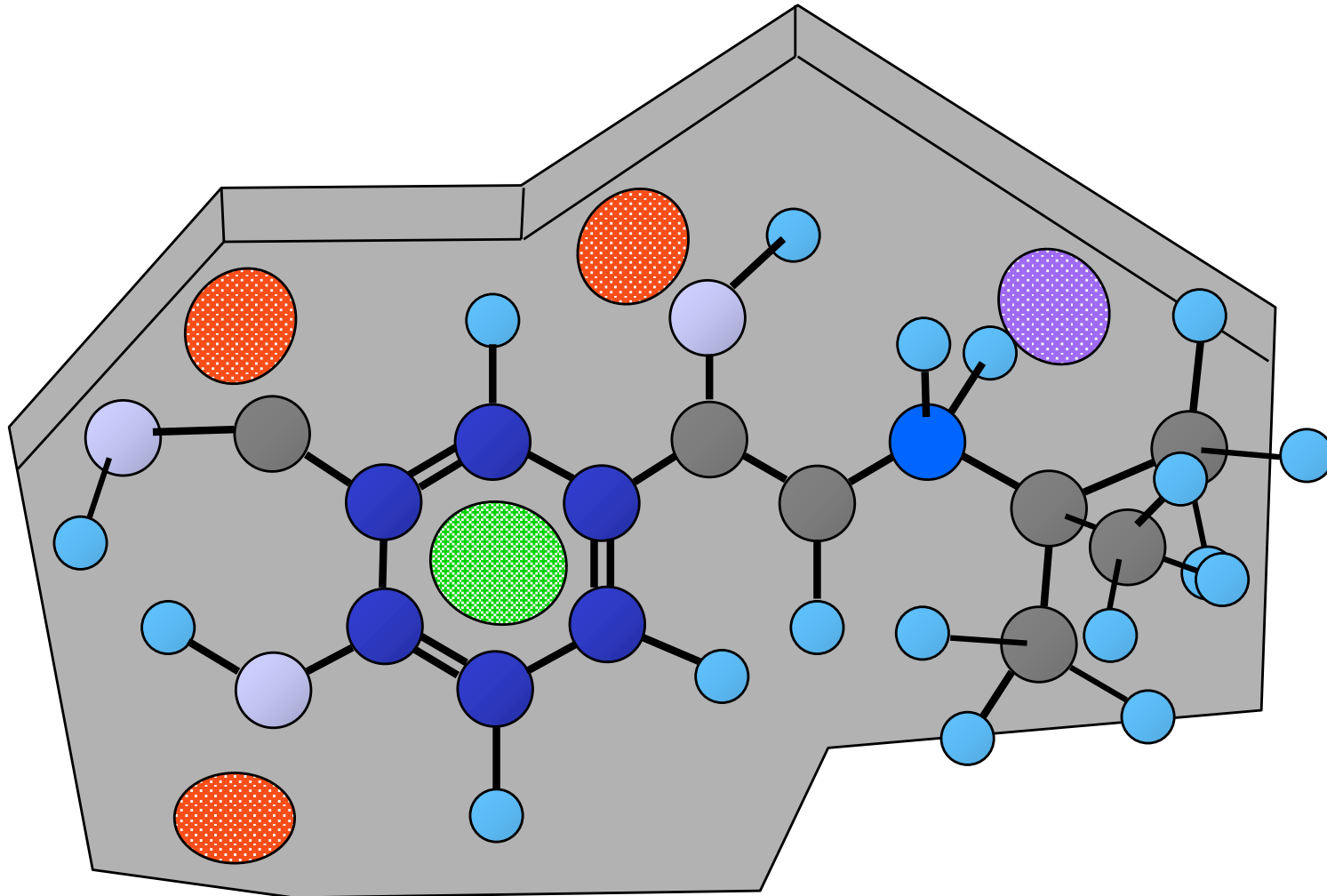
**ADRENALINA**

# Recettore $\beta$ -adrenergico



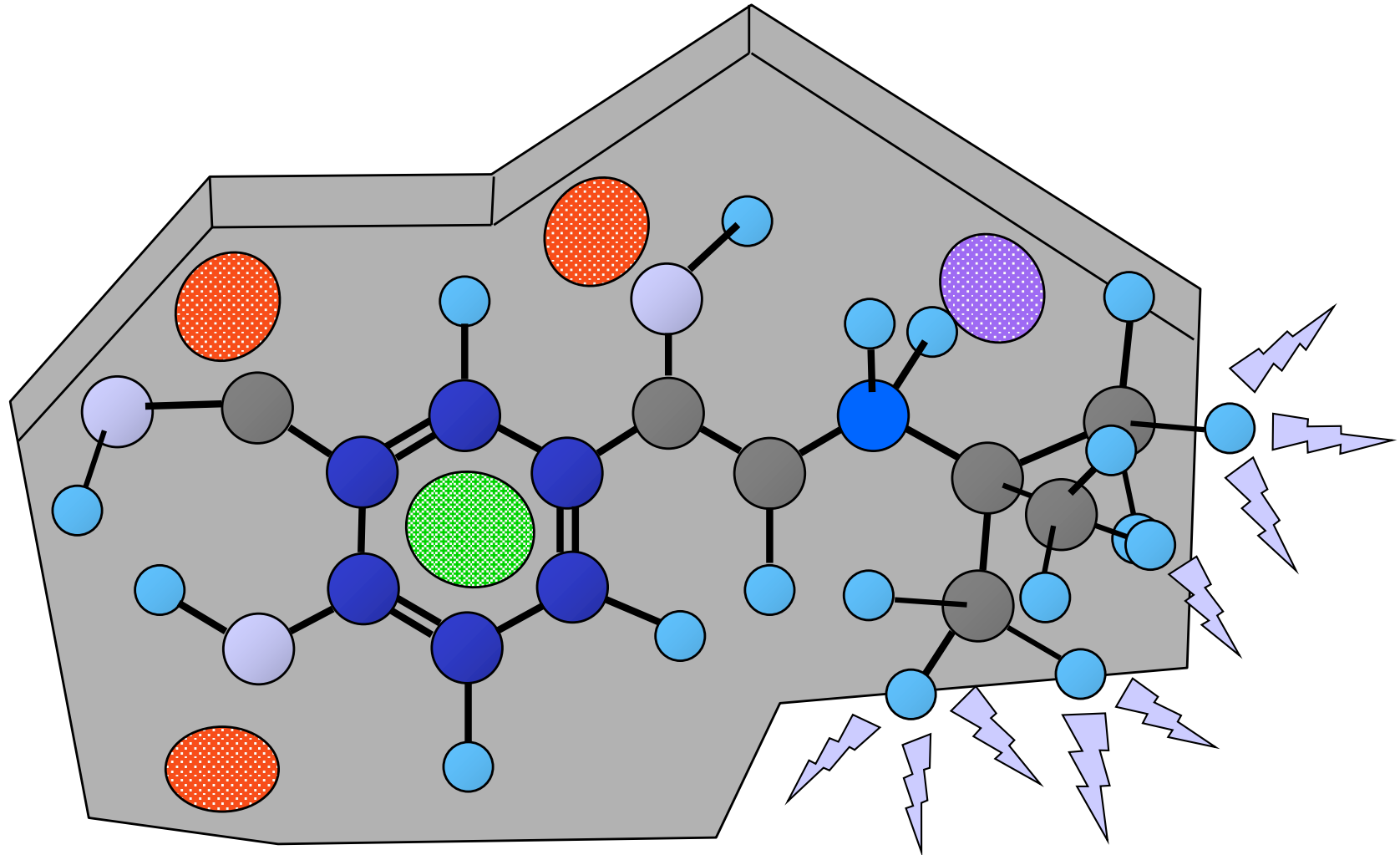
## SALBUTAMOLO

# Recettore $\alpha$ -adrenergico



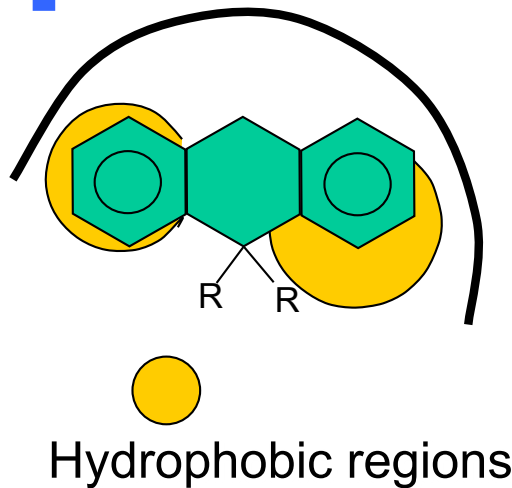
**SALBUTAMOLO**

# Recettore $\alpha$ -adrenergico

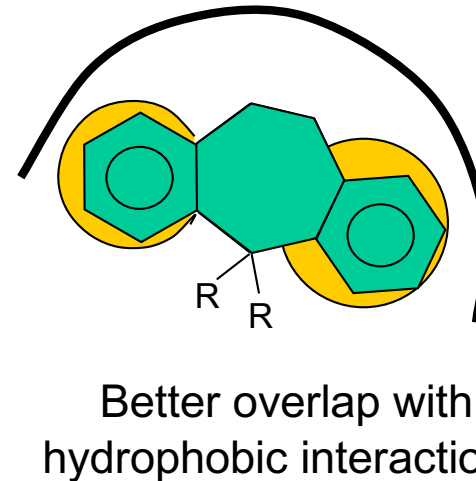


**SALBUTAMOLO**

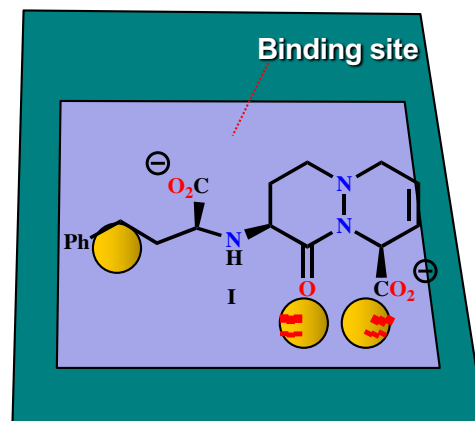
# Espansione/contrazione d'anello



Ring  
expansion  
→

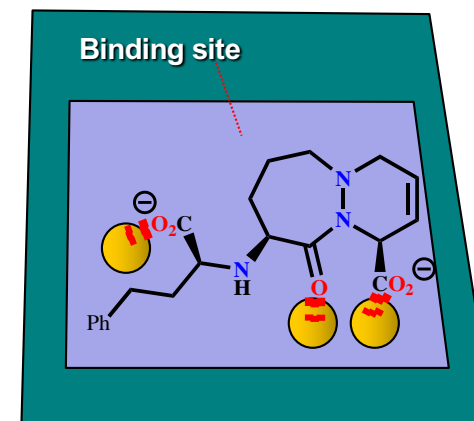
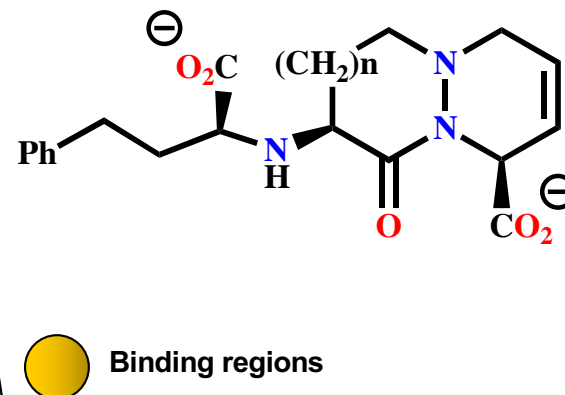


Per migliorare la  
sovrapposizione di  
gruppi di legame  
con le loro regioni  
di legame



Two interactions:  
carboxylate ion out of range

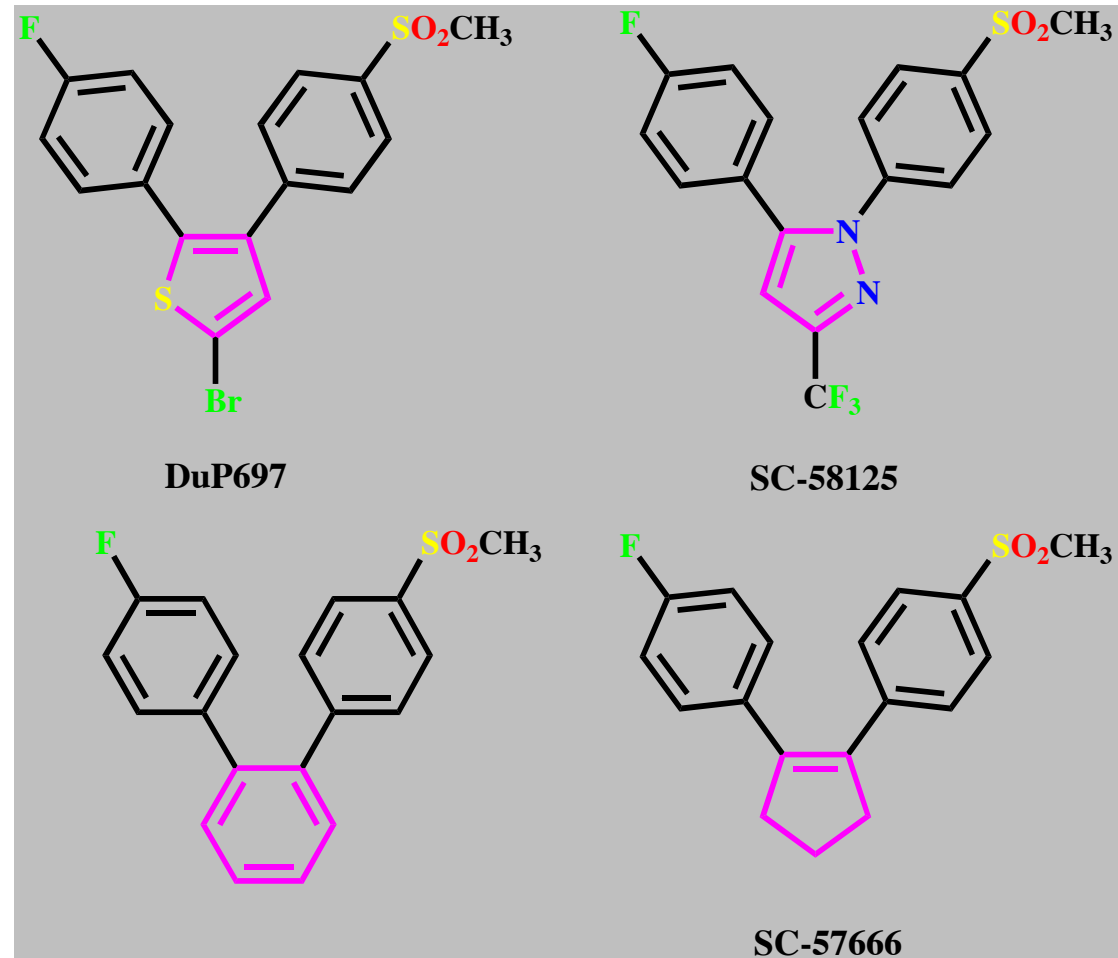
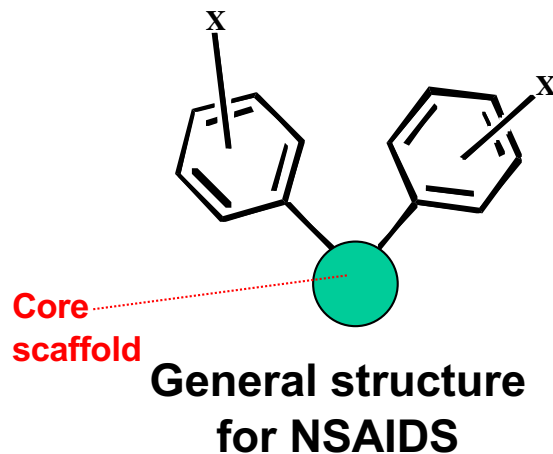
Vary n to vary ring size



Three interactions  
Increased binding



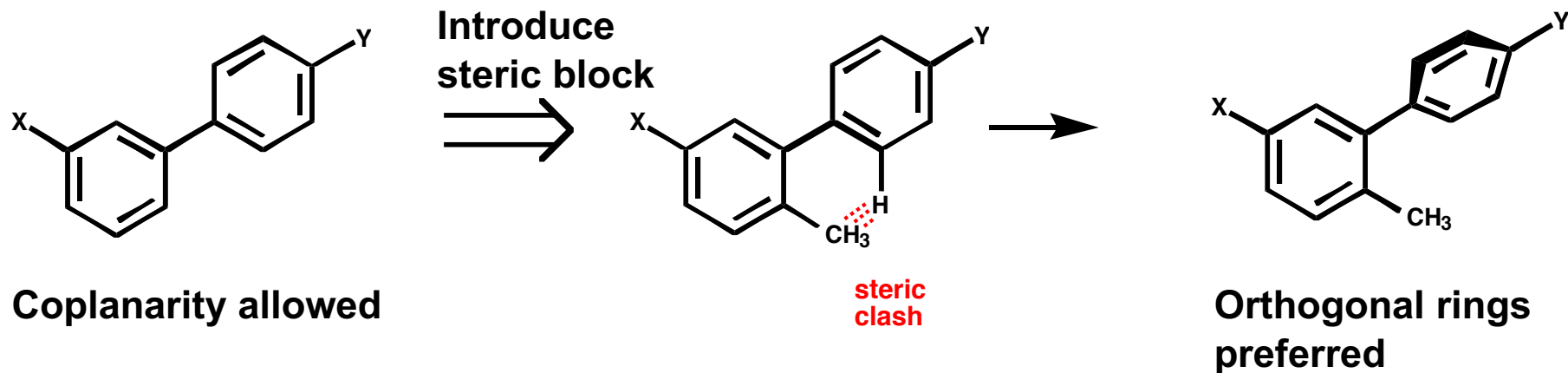
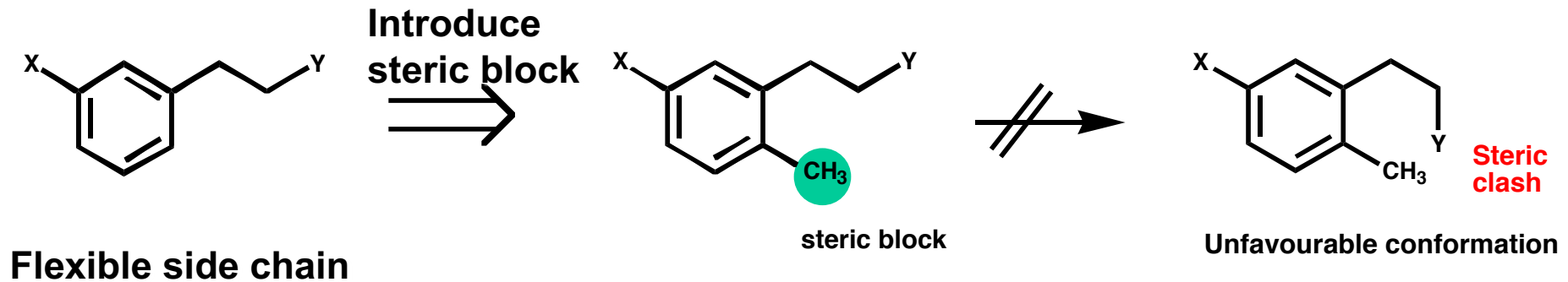
# Variazioni d'anello



- Sostituire / anelli eterociclici aromatici con altri sistemi ad anello
- Spesso fatto per motivi di brevetto

# Modulazione conformazionale

## Rigidificazione



# Modulazione conformazionale

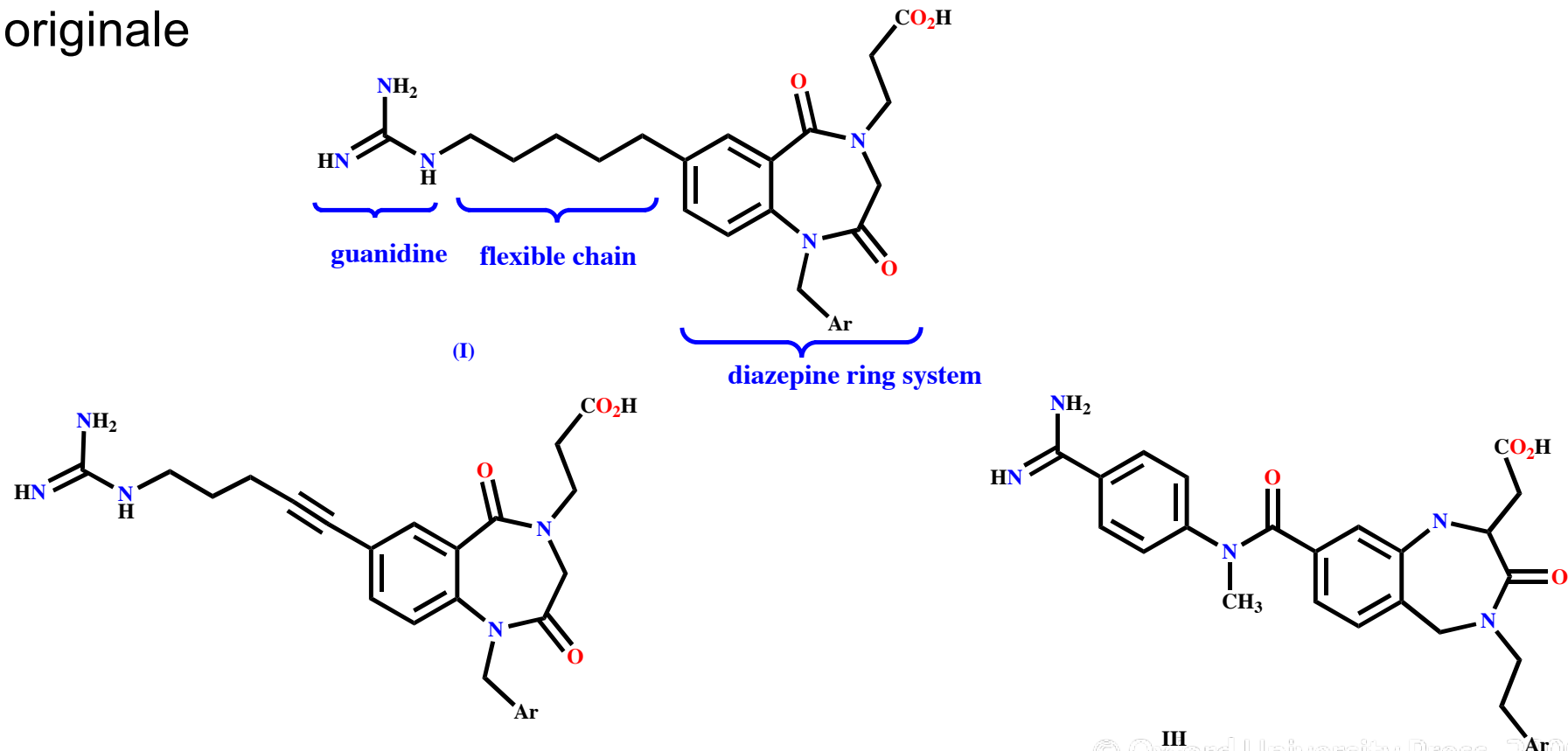
## Rigidificazione

Variazione conformazionale

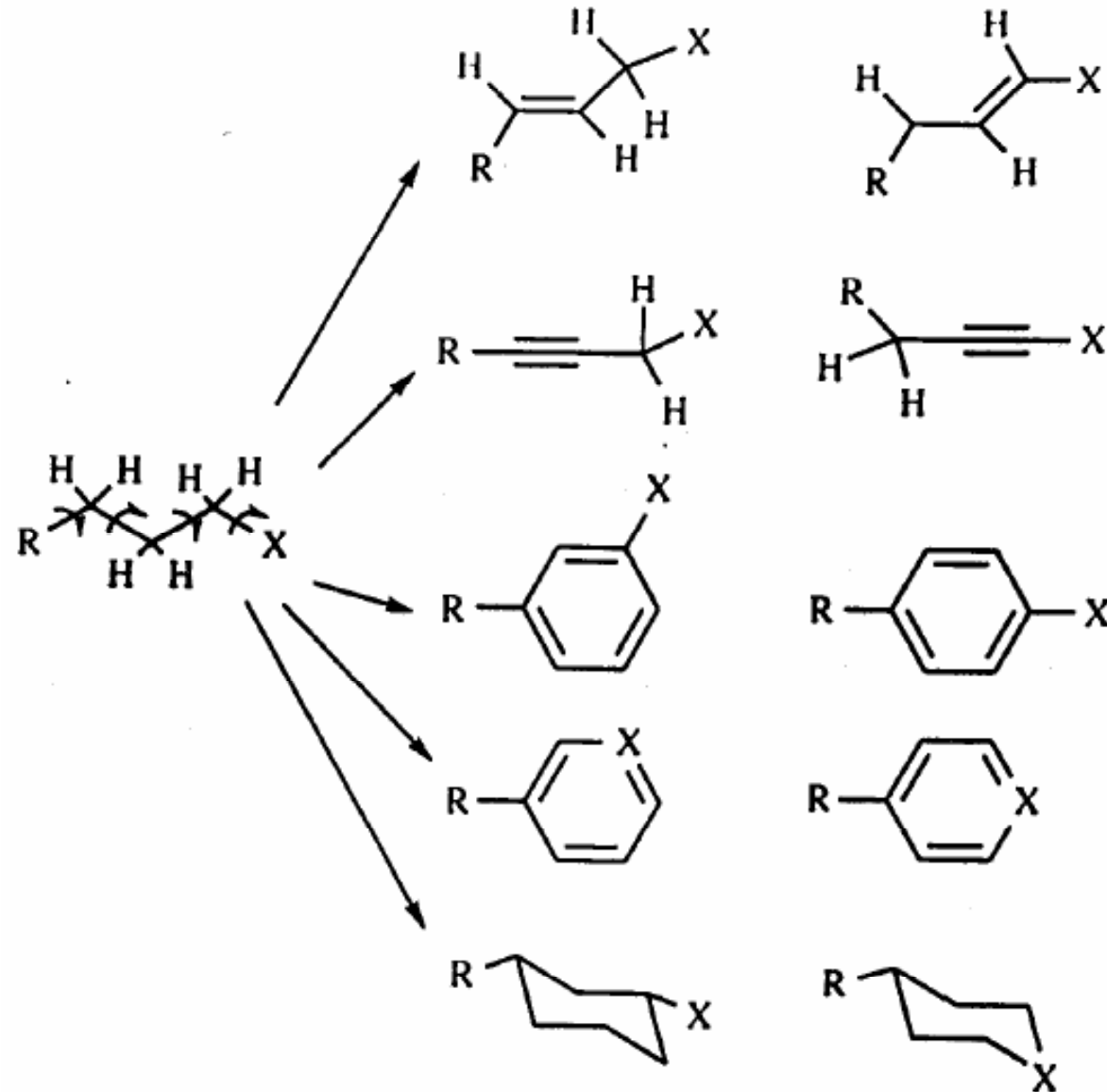
esempio di complicazione della struttura

inserimento di gruppi alchilici e arilici oppure di doppi o tripli legami

nuovo analogo con conformazione preferenziale rispetto al composto originale

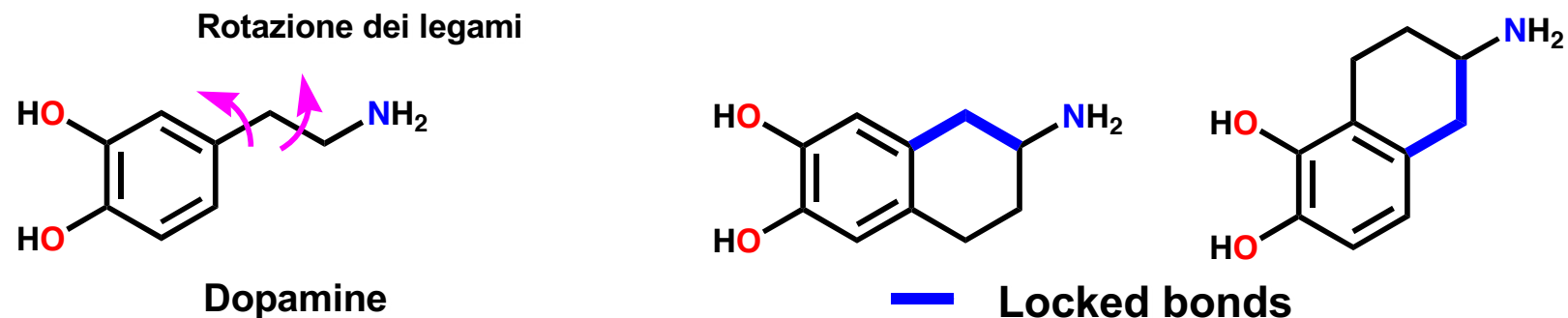


# Isomeri conformazionali



# Conformazione attiva

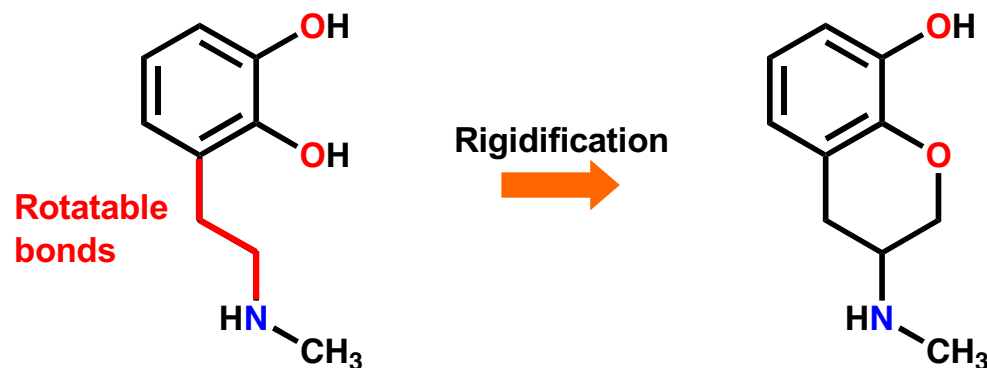
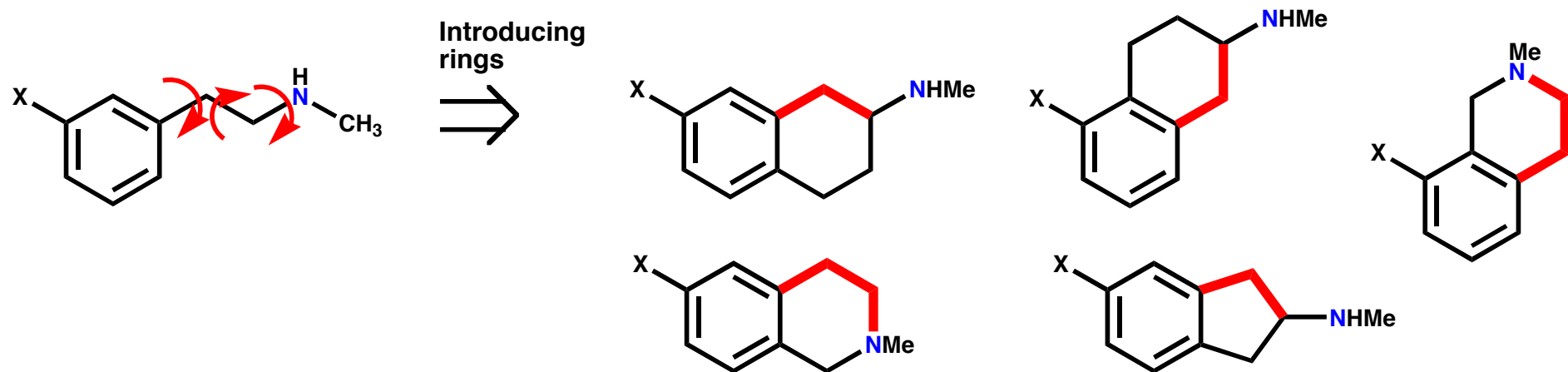
- **Conformazione adottata da un farmaco quando si legano al suo target**
- Identificazione della conformazione attiva necessaria al fine di identificare il farmacoforo 3D
- Analisi conformazionale per individuare possibili conformazioni e le loro stabilità
- Analisi conformazionale difficile per molecole flessibili con un gran numero di conformazioni
- Più facile confrontare l'attività di analoghi rigidi



# Isomeri conformazionali

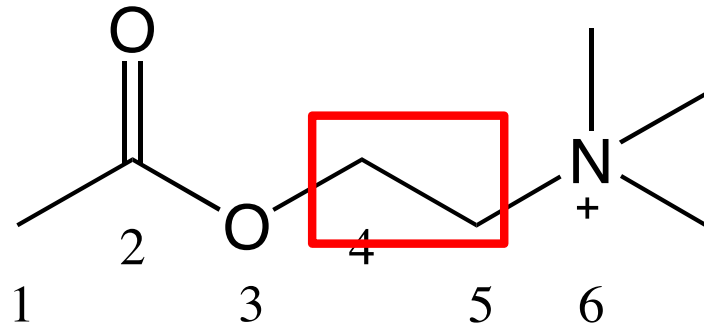
## Rigidificazione

Strutture rigide per identificare la conformazione attiva

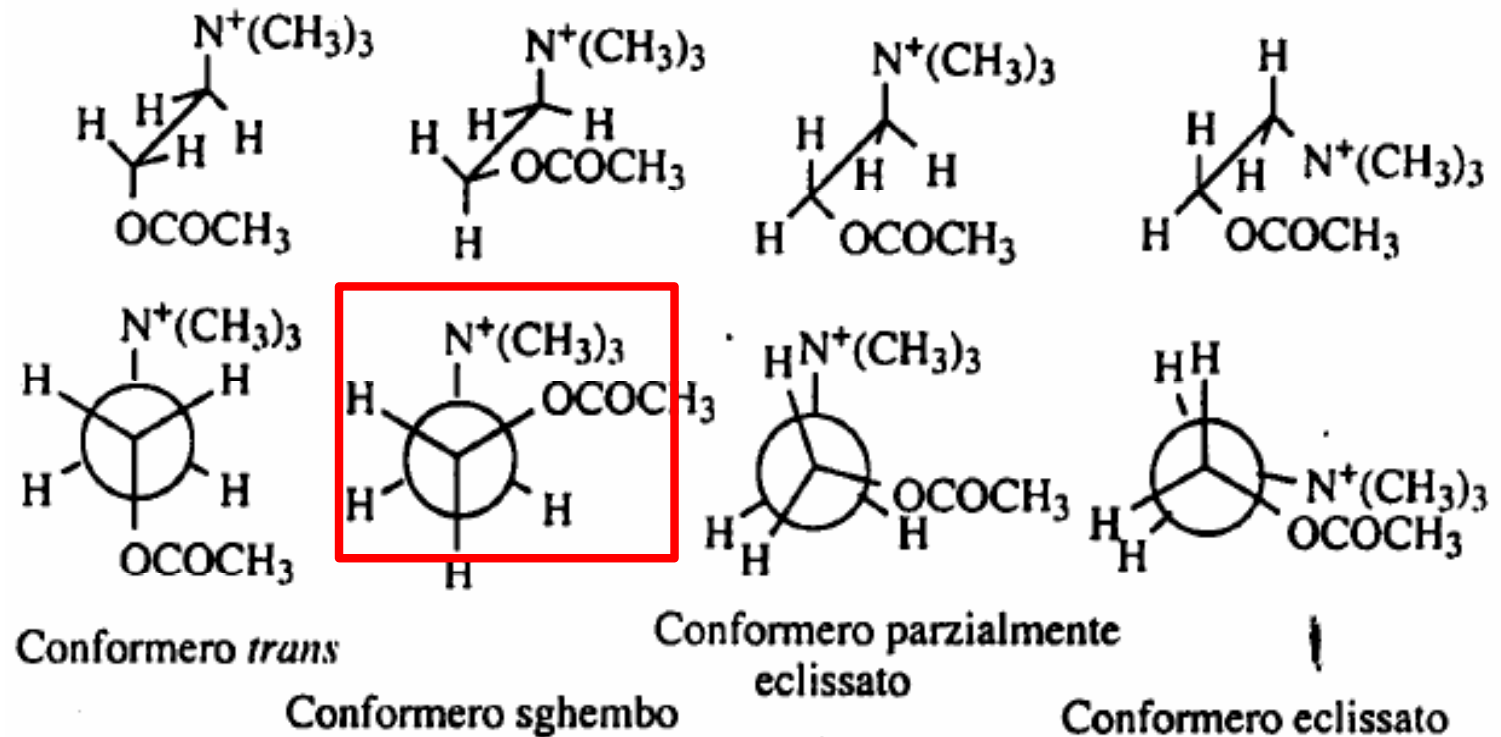


# Isomeri conformazionali

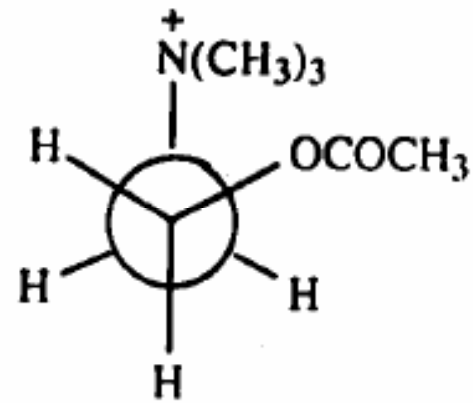
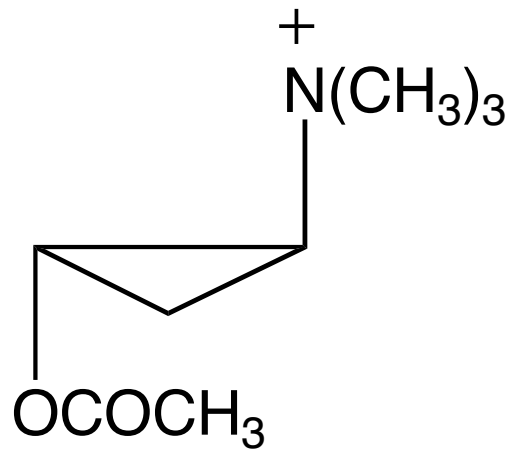
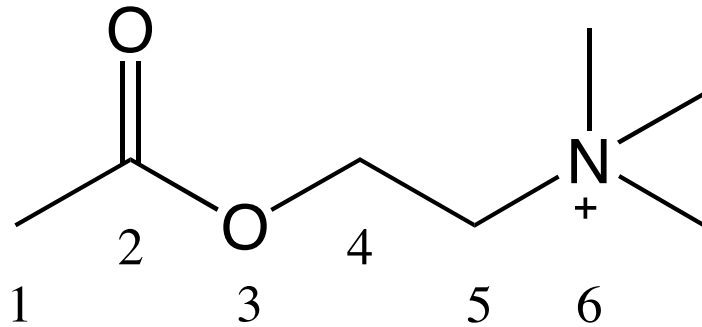
## CONFORMERI



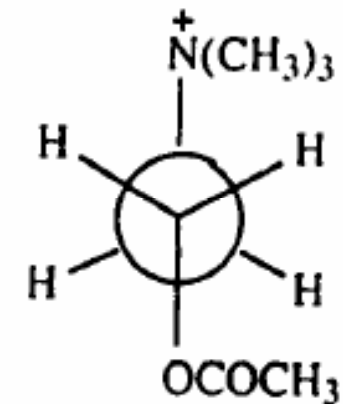
Acetilcolina



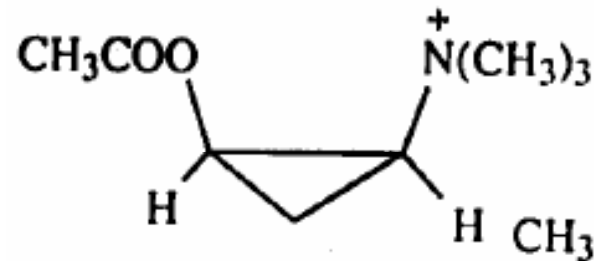
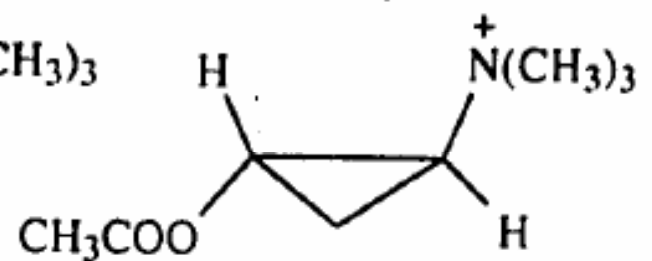
# Isomeri conformazionali



ACh: sinclinale

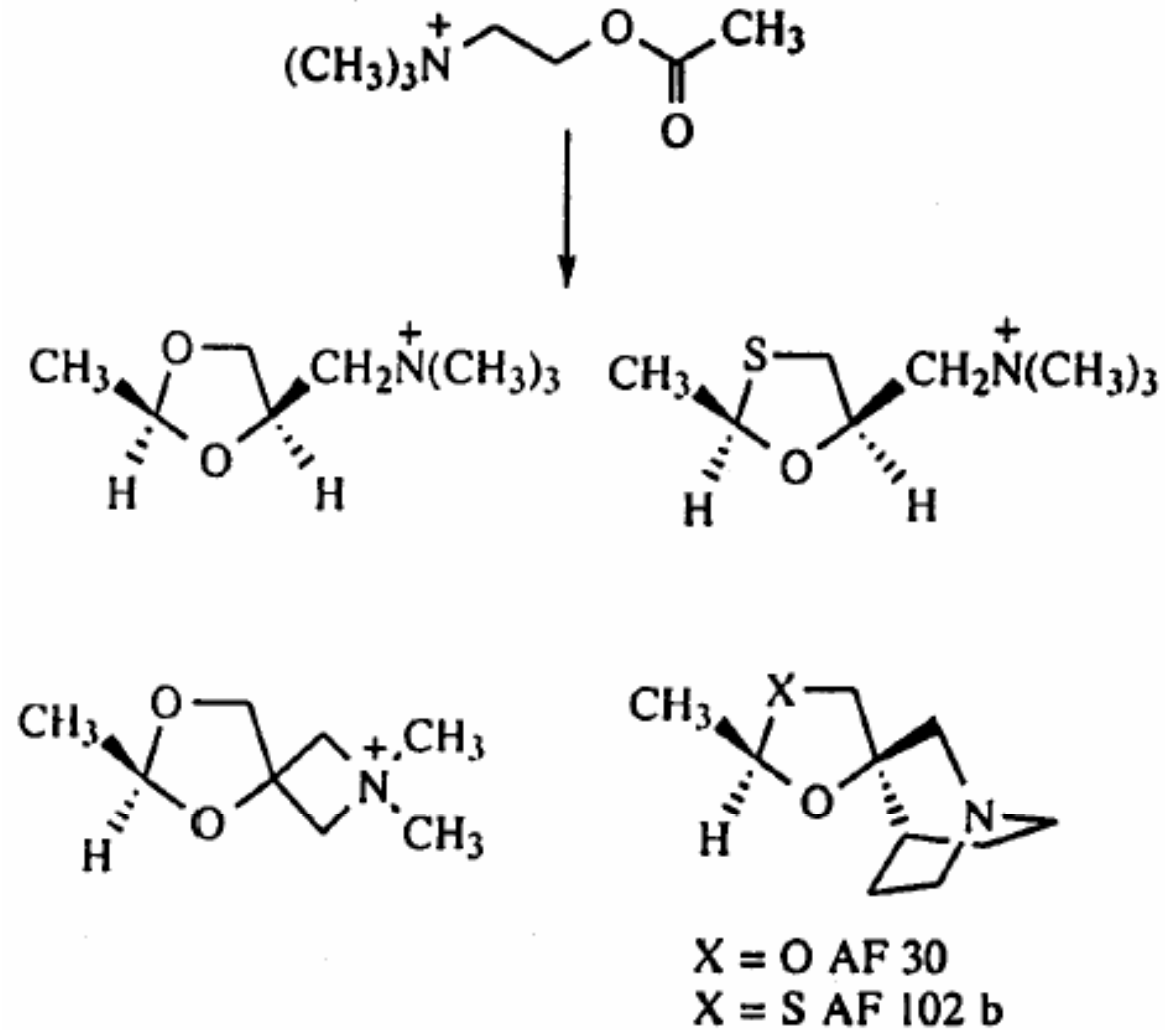


ACh: antiperiplanare

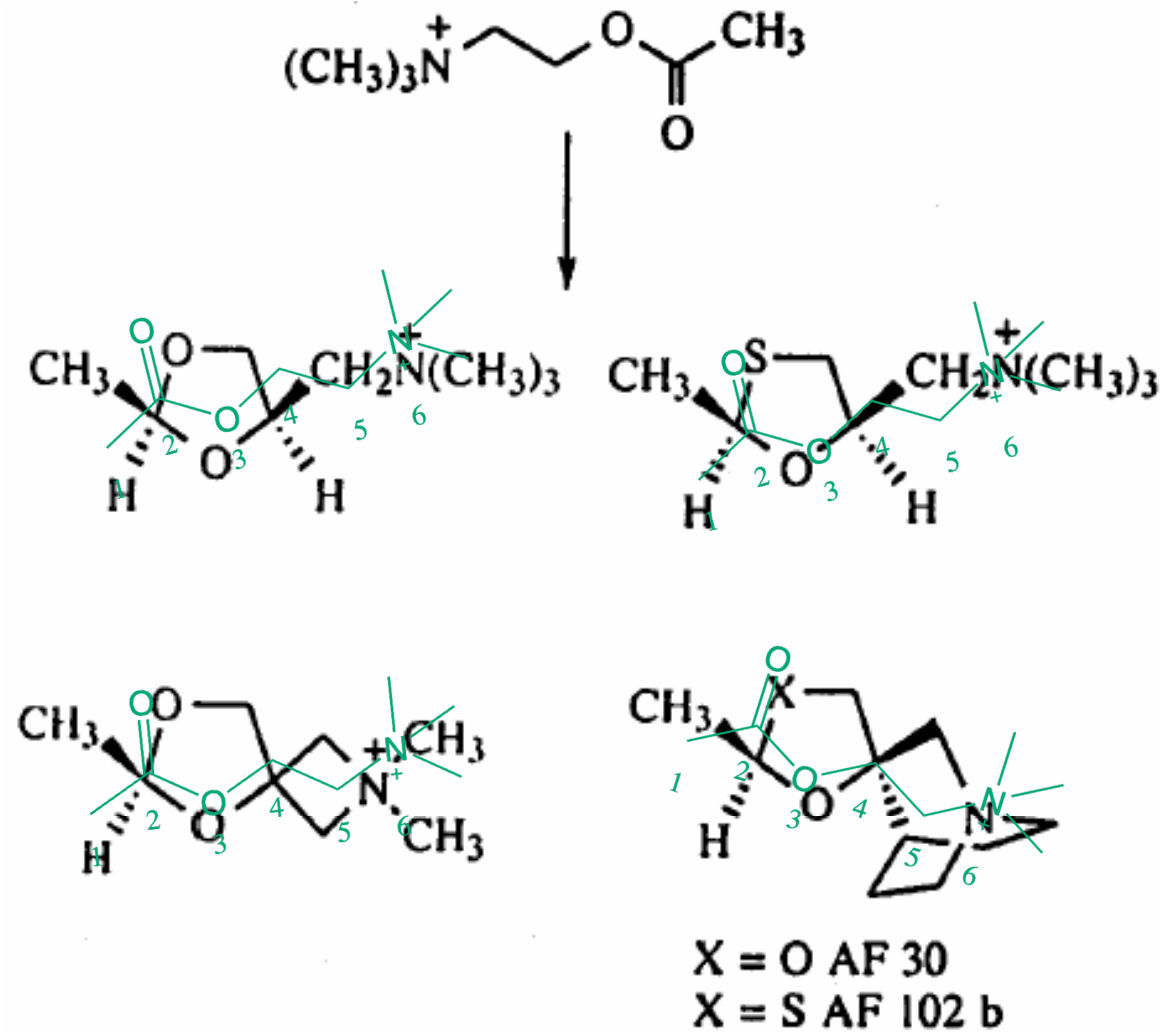
*cis* ACTM*trans* ACTM



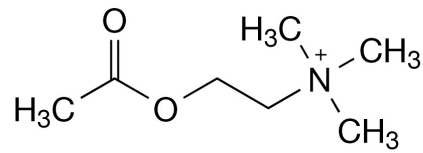
# Isomeri conformazionali



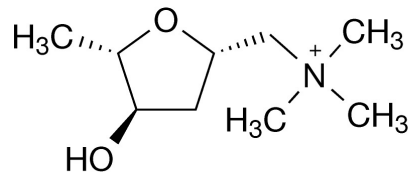
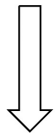
# Isomeri conformazionali



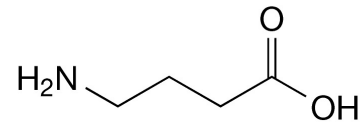
# Introduzione di cicli (rigidificazione)



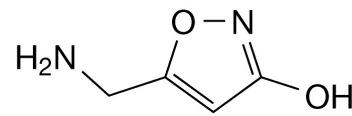
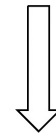
ACh



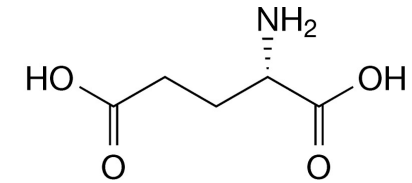
Muscarina



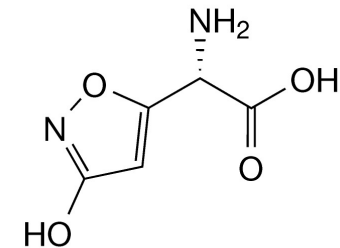
GABA



Muscimolo



Glu



Acido ibotenico

# Composti chirali

Enantiomeri → stesse caratteristiche chimico-fisiche, diversa attività biologica

Non solo diversa attività biologica, ma diverse interazioni anche con enzimi e proteine in genere, così il percorso metabolico, la distribuzione e la tossicità possono variare anche notevolmente.

RACEMO: Non può essere considerato semplicemente una miscela dei due enantiomeri, uno dei quali esplica attività biologica.

## RICOGNIZIONE CHIRALE

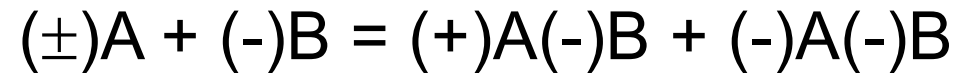
Ricognizione molecolare basata sulla complementarità di molecola e bersaglio biologico.

Target chirale: disposizione spaziale importante (configurazione sterica)!  
Non solo caratteristiche chimico fisiche

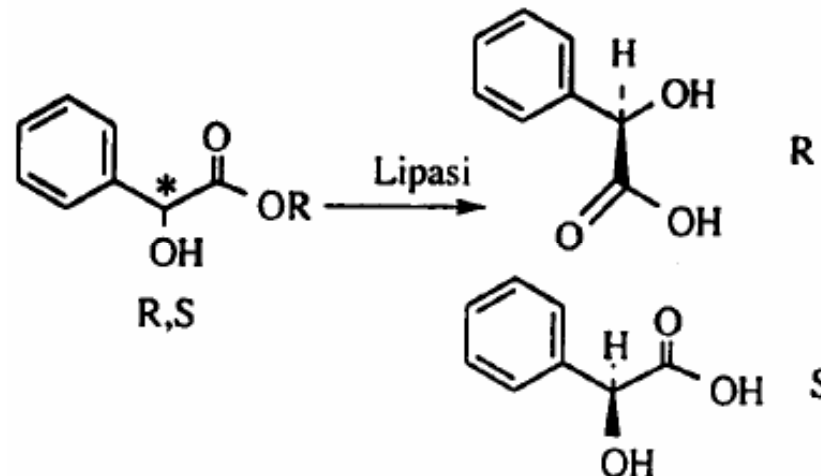
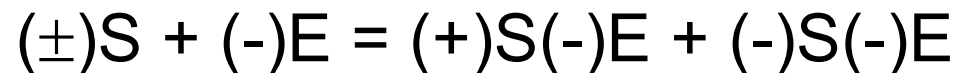
# Composti chirali

## IDEA DEL COMPLESSO

Molecola chirale/target chirale quale DIASTEREOISOMERO, con velocità di reazione, controllo cinetico e termodinamico diversi.



S = substrato            E = enzima



# Composti chirali

Due farmaci isomerici A e A' che interagiscono con il target biologico B con effetto E



A e A' con differenti caratteristiche chimico-fisiche (isomeri geometrici, strutturali, diastereoisomeri) → affinità diversa per il target espressa con la costante di dissociazione  $K_D^{AB} \neq K_D^{A'B}$

Se A e A' sono ENANTIOMERI: differenza unica rotazione luce polarizzata. Interazione diversa (e affinità diversa) con il target B SOLO SE QUEST'ULTIMO E' CHIRALE (ma quali non lo sono?)

# Composti chirali

**ENANTIOSELETTIVITA'** – differenza **QUANTITATIVA** nell'attività biologica di due enantiomeri

Esiste la possibilità che due enantiomeri presentino la medesima attività biologica con uguale potenza, ma il caso è raro.

**EUTOMERO** (Eu) enantiomero a maggiore attività  
**DISTOMERO** (Dis) enantiomero meno attivo

Rapporto di potenza tra EUTOMERO e DISTOMERO:  
RAPPORTO EUDISMICO (ER)

INDICE EUDISMICO (EI):  $\text{Log ER}$

relativamente a un DETERMINATO effetto biologico

**Valore elevato → indice di interazione altamente specifica**

# Composti chirali

Enantiomeri con:

- Attività farmacologica uguale con potenza uguale o diversa
- Un enantiomero è farmacologicamente attivo, l'altro no
- Attività farmacologica diversa

Necessità di sviluppo di un farmaco **chirale** se:

El elevato

Basso indice terapeutico

Distomero tossico

(Assenza di inversione chirale *in vivo*)

**Racemo** se

Attività additiva e sinergica degli enantiomeri

Elevato indice terapeutico

Bassa tossicità del distomero

Instabilità ottica o inversione chirale *in vivo*



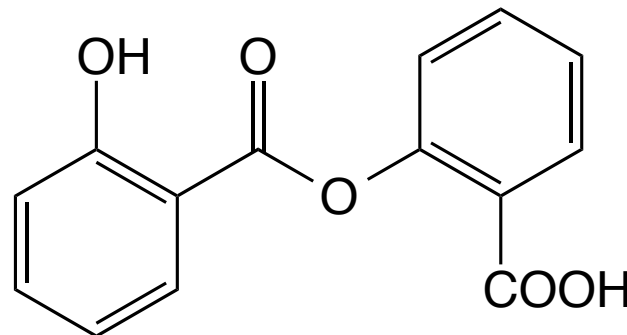
# Composti chirali

Singolo enantiomero	Racemato
L'attività terapeutica risiede in modo prevalente o esclusivo in un enantiomero (eutomero)	Attività terapeutiche additive o sinergiche di entrambi gli enantiomeri
Agli enantiomeri sono associati profili di attività opposti (agonista/antagonista recettoriale oppure attivatore/bloccante di un canale)	Elevato indice terapeutico
L'isomero inattivo (distomero) è tossico	Tossicità trascurabile del distomero
Nessuna osservazione d'inversione della configurazione assoluta	Inversione del centro stereogenico che genera un rapporto fisso tra gli enantiomeri
Gli enantiomeri possiedono un profilo farmacocinetico (assorbimento, legame alle proteine, metabolismo) differente	Grado d'innovatività del farmaco, oppure indicazione terapeutica per patologie potenzialmente mortali
Fattibilità economica	Sintesi su larga scala economicamente non conveniente dell'isomero attivo

# Variazioni strutturali

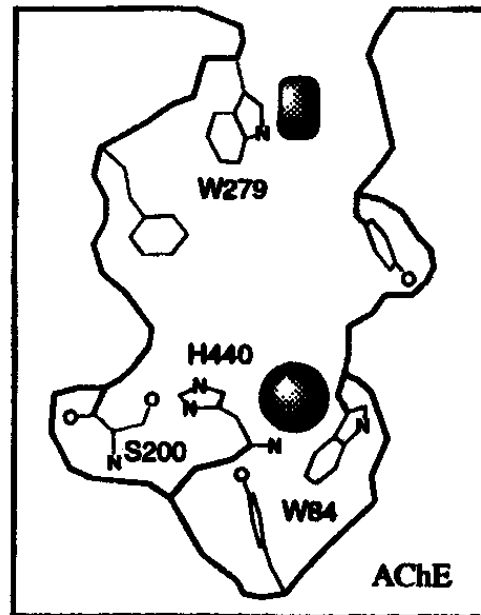
## Raddoppiamento molecolare

- Duplicazione farmacoforica: “diretta” (testa-testa, testa-coda) o con interposizione di un **linker** o spaziatore che distanzia le due unità
- Il processo metabolico rilascia due molecole dello stesso farmaco → **profarmaco!**
- A volte la molecola così ottenuta può presentare attività di per sé

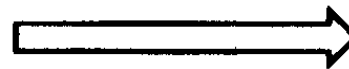


Acido salicilsalilico

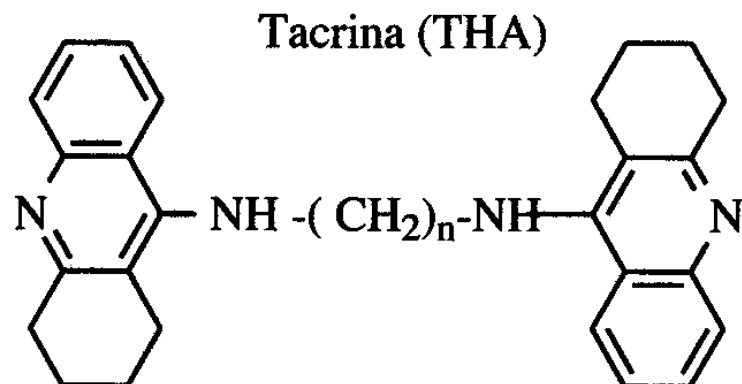
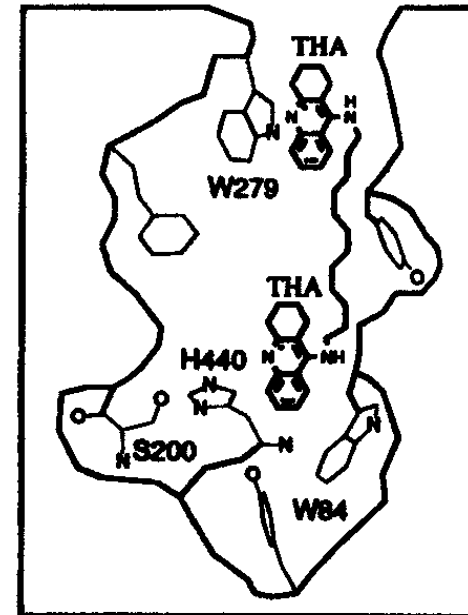
# Raddoppiamento molecolare



Disegno  
Razionale  
basato sulla  
conoscenza del  
sito attivo



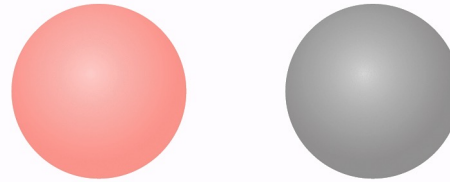
● Sito Catalitico  
▭ Sito Periferico



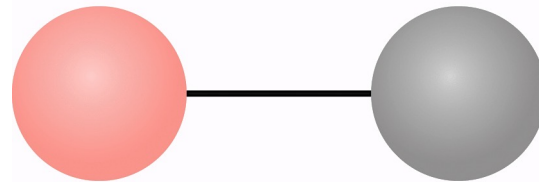
n	IC <sub>50</sub> nM ( AChE cervello di ratto)
THA	590
3	0,40
4	0,66
5	0,77
6	3,1

# Ibridazione molecolare

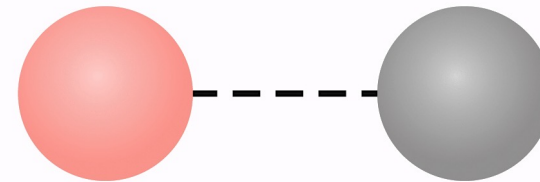
Ligandi monofunzionali selettivi



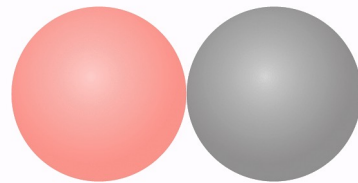
Ligandi duali



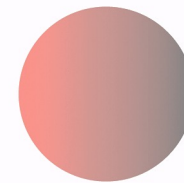
Connessione mediante uno spaziatore



Connessione mediante uno spaziatore labile



Fusione

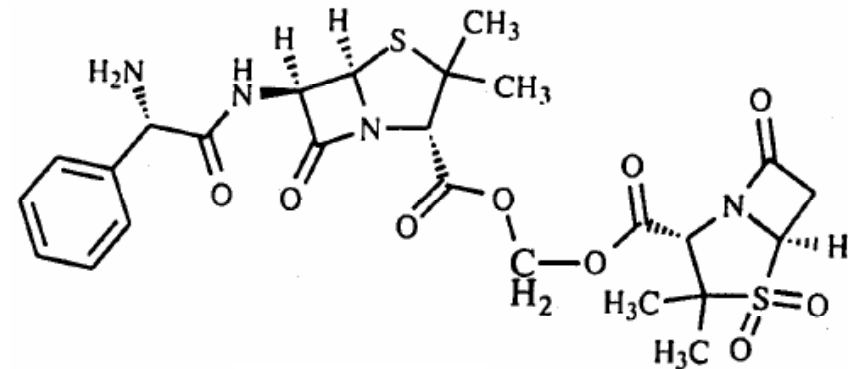


Integrazione

# Ibridazione molecolare

- I. Due molecole che presentano **meccanismo diverso**, ma lo **stesso effetto farmacologico**, legate da un legame covalente che porta a una nuova unità MOLECOLARE (farmaci gemelli non identici)

Ampicillina/sulbactam →  
 Inibizione della sintesi della cell-wall  
 batterica  
 Inibitore della beta-lattamasi

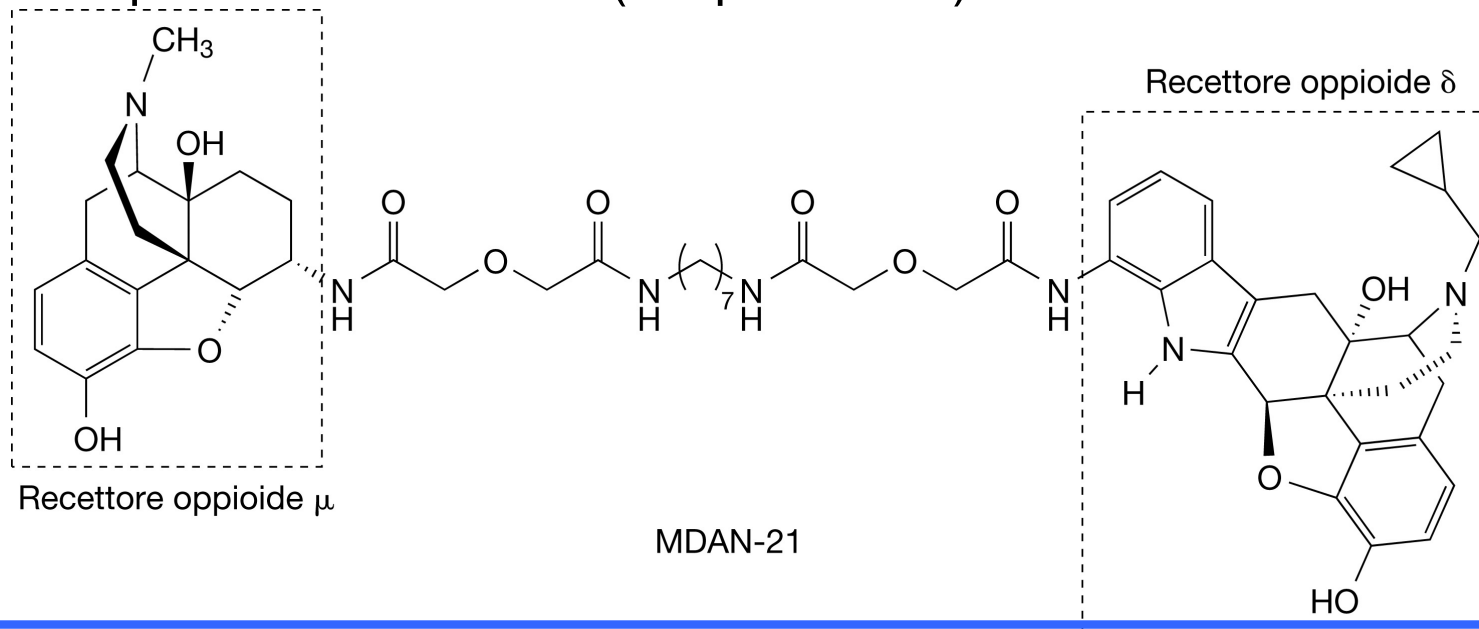


Sultamicillin

- II. Farmacofori di due molecole che presentano lo **stesso effetto farmacologico** (con meccanismo che può essere diverso o lo stesso) uniti a dare una nuova entità molecolare, parzialmente corrispondente alle molecole parenti

# Raddoppiamento molecolare

- Ligandi eterobifunzionali (legano sottotipi diversi di recettori oppioidi) composti anche 50 volte più potenti della morfina
- non causano gli effetti collaterali centrali tipici degli analgesici oppioidi
- frammento agonista dei recettori oppioidi  $\mu$  (ossimorfone) e da uno antagonista dei recettori  $\delta$  (naltrindolo).
- spaziatore di 21 atomi
- ligando bifunzionale: no tolleranza, no dipendenza
- spaziatori più corti: tolleranza (e dipendenza).



# Templato universale (o passe-partout)

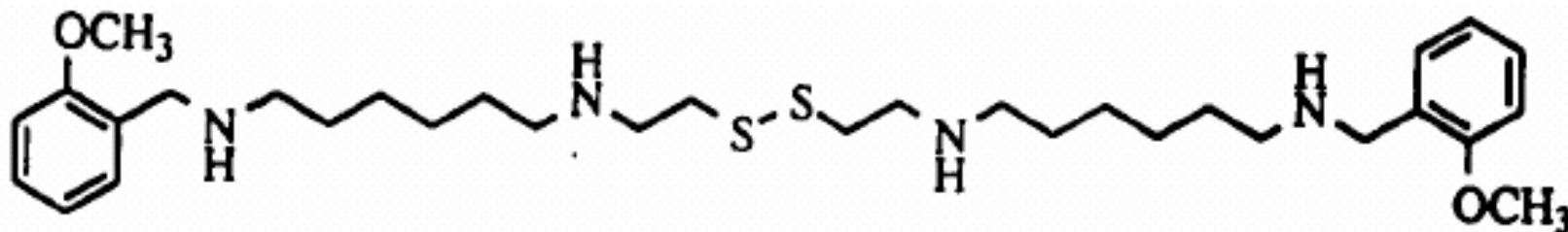
Prof. MELCHIORRE (Bologna)

Studi di derivati tetraamminici, con utilizzo di sistemi bifunzionali e sfruttamento dell'idea indirizzo/messaggio.

→ BENEXTRAMINE: Antagonista adrenergico

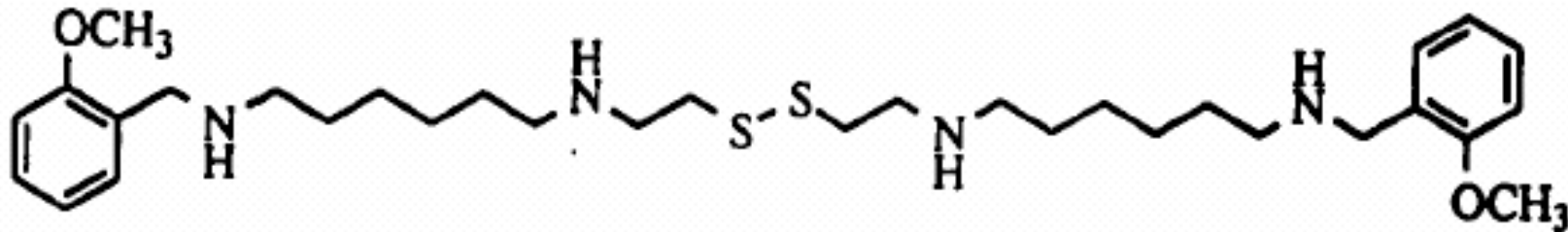
- **irreversibile** su recettori  $\alpha_1$
- **reversibile** su recettori  $\alpha_2$

Anche debole attività antimuscarinica

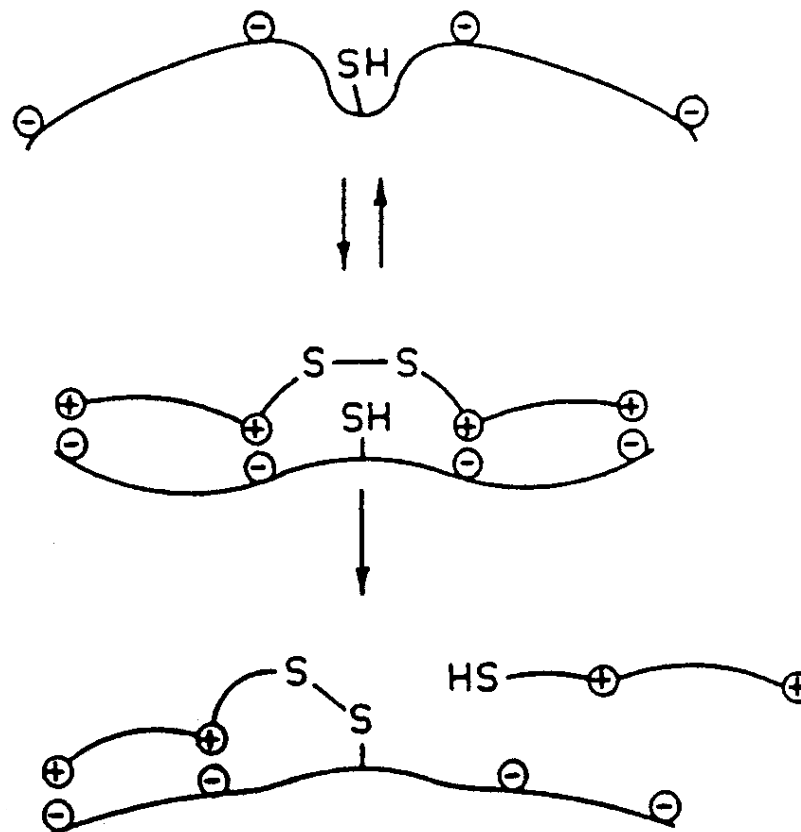


Benextramine

# Templato universale (o passe-partout)



Benextramine

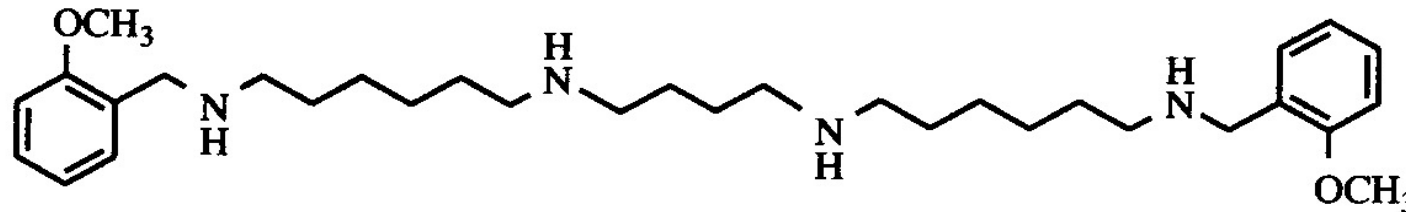




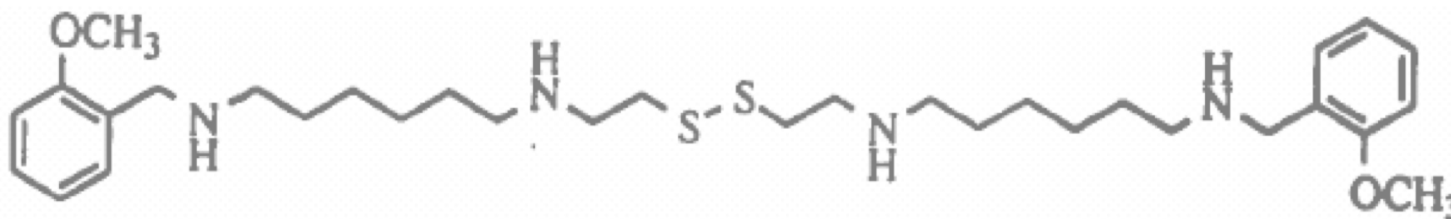
# Templato universale (o passe-partout)

## Metoctramina:

- Alta affinità per i recettori muscarinici, in particolare sottotipo M<sub>2</sub>
- Strumento farmacologico utilizzato per caratterizzare questi recettori



Methoctramine



Benextramine