

Laurea specialistica in Biotecnologie del Farmaco
Programma del Corso di:
Chimica Farmaceutica Biotecnologica

A.A.2013/2014

docente del Corso

Prof.Elena Luraschi

La Chimica Farmaceutica Biotecnologica si occupa dello studio di "biofarmaci" o "farmaci biotecnologici". Essi sono una nuova categoria di farmaci ottenuti con l'Ingegneria genetica ovvero con l'introduzione delle biotecnologie nell'industria farmaceutica.

La biotecnologia si basa sulla produzione di proteine ricombinanti. Tale tecnica consiste nell'introdurre un gene d'interesse, per esempio un gene umano che codifica per un proteina che si vuole produrre come farmaco, in un organismo ospite che viene successivamente fatto crescere in un fermentatore industriale per produrre la proteina desiderata. La definizione di DNA ricombinante deriva dal fatto che, mediante queste tecniche, è possibile isolare un gene di interesse e trasferirlo da un organismo ad un altro, per esempio dall'uomo ad un batterio, mantenendone la capacità funzionale, cioè la capacità di trasferire l'informazione per la sintesi di una proteina.

PRIMO MODULO : la tecnologia del DNA ricombinante

Tappe operative impiegate nella produzione di una proteina ricombinante: Isolamento del gene di interesse (DNA esogeno) dall'organismo donatore, Ricombinazione del gene isolato con un vettore di espressione appropriato in un costrutto DNA esogeno-Vettore, Trasferimento e mantenimento dell'ibrido DNA-Vettore in cellule ospiti idonee (trasformazione), Selezione ed isolamento delle cellule contenenti il DNA ricombinante (cellule trasformate), Fermentazione su ampia scala, in appositi bioreattori, delle cellule trasformate ed espressione della proteina codificata dall'inserito ricombinante, Isolamento e purificazione della proteina ricombinante in tal modo essa potrà essere preparata per un eventuale uso farmaceutico. N.B. La cellula ospite, in seguito all'espressione genica, oltre a produrre le sue proteine naturali, esprimerà anche la proteina codificata dall'inserito di DNA ricombinante, la quale potrà essere isolata, purificata e preparata per uso farmaceutico.

Produzione di proteine destinate all'uso umano ottenuti mediante tecnologia del DNA ricombinante.

Esse sono ottenute da geni clonati in batteri e/o in cellule eucariotiche; vengono utilizzate per curare disordini

mediante sostituzione o integrazione delle versioni malfunzionanti. Queste proteine sono sintetizzate in quantità molto limitata nel corpo umano e la tecnologia ricombinante è l'unico modo per ottenerle in quantità necessarie in clinica. L'applicazione della mutagenesi sito-specifica, o il rimescolamento dei domini funzionali, sono utili strategie di progettazione per l'ottenimento di proteine ricombinanti, dotate di migliori caratteristiche rispetto alle proteine native.

CITOCHINE:

- **Interleuchine: ALDESLEUCHINA (IL-2 ricombinante) (PROLEUCHIN) , DENILEUKIN DIFTITOX (ONTAK)**

- **Interferone**

ROFERON-A (INF Ricombinante α 2A)

INTRON - A (INF Ricombinante α 2B)

BETASERON (IFN Ricombinante beta 1B)

IMUKIN (IFN gamma 1B)

Derivati coniugati con polietilenglicole (PEG) **PEGASYS (peginterferone- α 2A)** e **PEGINTRON (peginterferone- α 2B)**

Fattori di crescita emopoietici. prodotti ricombinanti a base di G-CSF: FILGRASTIM e LENOGRASTIM e a base di GM-CSF: MOLGRAMOSTIM e SARGRAMOSTIM e PEGFILGRASTIM

Eritropoietina. EPREX (Eritropoietina alfa)

NEORECORMON(Eritropoietina beta)

ARANESP (Darbepoietina alfa)

• **VACCINI BIOTECNOLOGICI**

- 1.Vaccini Vivi Attenuati **DUKORAL** (Vibrio Colerae)
- 2.Vaccini Vivi Ricombinanti (Vaccinia Virus) 3.Vaccini sub-unità virali **ENGERIX, FENDRIX** (HBsAg),**GARDASIL** (HPV) Vaccini sub-unità batterica **DIFTAVAX,DIFTETALL** (Difterite) Produzione della forma ricombinante del vaccino difterico **CMR 197**,
- 4.Vaccini coniugati utilizzando come carrier il **CMR 197** **PREVENAR** (Streptococcus pneumoniae) **MENINGITEC** (vaccino meningococcico)
- **PROCOMVAX** (vaccino bivalente) **QUINTANRIX** (vaccini pentavalente) **HINFANRIX** (vaccino esavante)
- 5. Vaccini peptidici: Plasmodium falciparum come esempio di applicazione di peptidi ricombinanti
- 6.Vaccini a DNA nudo.Aspetti farmaceutici dei vaccini

Di tutti i prodotti summenzionati ne viene descritta la struttura, il meccanismo d'azione,il ruolo biologico,la produzione,la formulazione dei prodotti farmaceutici e le rispettive indicazioni terapeutiche.

SECONDO MODULO: Antineoplasti, Antivirali e Immunomodulatori sintetizzati per via chimica.

Stato attuale delle conoscenze sulle malattie neoplastiche. Principi di chemioterapia antitumorale. Siti di azione dei farmaci antitumorali. Classificazione dei farmaci in base al loro meccanismo d'azione. Chimica, relazione struttura-attività, meccanismo d'azione, attività farmacologica, azioni citotossiche. Impieghi terapeutici. Via di somministrazione delle seguenti classi di farmaci:

Agenti Alchilanti :

Mecloretamina, Melfalan, Ciclofosfamide, Ifosfamide, Cloram bucil

Strand breakers: Bleomicina

Intercalatori: Antracicline (Daunorubicina Doxorubicina, Idarubicina Epirubicina)

Antimetaboliti: Metotrexato, 5-FU, Citarabina AraC
Mercaptopurina, Azatioprina , Tioguanina

Antimitotici: Alcaloidi della Vinca
(Vinblastina, Vincristina, Vindesina, Vinorelbina)

Epidofillotossine: Etoposide, Teniposide

ANTIVIRALI

Virus. Struttura dei virus, genomi virali: virus a DNA, a RNA, retrovirus. Classificazione dei virus in base al loro genoma. Principali virus patogeni per l'uomo raggruppati per tipo di acido nucleico: Ciclo di replicazione dei virus: litico, lisogeno.

Farmaci contro i virus a **DNA**: gli Herpes virus
Antimetaboliti: Aciclovir Valaciclovir Famciclovir
Penciclovir Ganciclovir

Farmaci contro i virus a **RNA**: virus dell'influenza A
Inibitori della Neuraminidasi: Zanamavir ,Oseltamivir

Farmaci contro i **Retrovirus**: 1) Inibitori della trascrittasi inversa Derivati nucleosidici : Analoghi del substrato: Zidovudina Stavudina Zalcitabina Didanosina Inibitori della Proteasi Analoghi del substrato di transizione: Saquinavir Indinavir Ritonavir Nelfinavir Inibitori della fusione del legame GP120-CD4 : Enfuvirtide (T20)
Trimeris.Roche Zintevir (AR177) Aronex Pharmaceuticals

TERZO MODULO: I BIOFARMACI ottenuti con la tecnologia del DNA ricombinante Antineoplasti, Antivirali e Immunomodulatori impiegati in monoterapia o in associazione con i farmaci tradizionali

Classi di farmaci biologici studiati in funzione della loro struttura e del loro meccanismo d'azione. Impiego di anticorpi monoclonali, tirosine-chinasi, ODN approvati nelle terapie oncologiche, nelle malattie autoimmuni, nei disordini genetici e nella cura dell'AIDS. Principi di terapia genica e loro possibile utilizzo nelle malattie genetiche.

ANTICORPI MONOCLONALI nella cura dei tumori e delle malattie autoimmuni. Produzione degli mAb mediante la tecnica degli ibridomi e con la tecnologia del DNA ricombinante Struttura. Meccanismo d'azione. Prodotti farmaceutici.

- **mAb** diretti contro le proteine di superficie nella cura dei tumori:

CD20: Rituximab, Ibritumomab Linfoma non Hodking (

CD30 Brentuximab Linfoma Hodking (LH)

CD33 Gentuzumab LMA

CD52, Alemtuzumab LLC

CD 25 Basiliximab, Daclizumab nel rigetto dei

trapianti

- **mAb** diretti contro i recettori dei fattori di crescita con dominio extracellulare nella cura dei tumori
 - anti VEGFR Bevacizumab nel CRC
 - anti EGFR, HER Trastuzumab (Herceptin) nel C.M con espressione HER2
 - Cetuximab nel CRC con K-RAS non mutato

- **mAb** diretti contro il TNF nella cura delle patologie autoimmuni e disordini genetici
 - Infliximab AR e Malattie autoimmuni Malattia di Crohn (colite ulcerosa)
 - Adalimumab AR e Malattie autoimmuni
 - Golimumab AR e Malattie autoimmuni
 - Etanercept AR e Malattie autoimmuni

TIROSINE-CHINASI molecole che interferiscono con la trasduzione del segnale determinando il blocco dell'attivazione dell'EGFR mediante l'impiego di piccole molecole in grado legarsi alla tirosinchinasi del recettore, competendo per l'occupazione del sito attivo dell'ATP. Sono definiti farmaci biologici perché progettati in base a caratteristiche biologiche delle cellule tumorali.

- Gefitinib(ZD1839, Iressa®) nella cura del CRC
- Erlotinib (OSI 774,Tarceva®) nella cura del CRC
entrambi derivati chinazolinici sono inibitori competitivi per l'ATP a livello del dominio intracellulare del recettore per l'EGFR.
- Vatalanib recettori TK dell'VEGFR e PDGF nella cura del CRC
- Crizotinib recettori TK del linfoma anaplastico ALK
- Imatinib compete con la proteina Bcr-Abl per il sito attivo dell'ATP, nella LMC
- Dasatinib compete con la proteina Bcr-Abl per il sito dell'ATP, nella LMC

INIBITORI DEL CODICE GENETICO

IL codice genetico come bersaglio farmacologico. Strategie utilizzate per inibire il codice genetico: oligonucleotidi antigene, antisenso, decoy, aptameri, ribozima.

PNA. Meccanismo d'azione. Impieghi terapeutici nel campo della terapia oncologica ed antivirale

ODN nella cura delle malattie virali (**AIDS**) in associazione con le terapie tradizionali antiretrovirali.
.Preparazione, struttura, meccanismo d'azione.

- Enfuvirtide (polipeptide sintetico) nella cura dell'AIDS
- Zintevir (oligonucleotide) nella cura dell'AIDS

LA TERAPIA GENICA

La terapia genica ex vivo ed in vivo. Principi di trasferimento dei geni: stabile e transiente. I metodi di trasferimento dei geni. Trasferimento dei geni non virale: iniezione del DNA nudo, cannoni genici e liposomi. I vettori virali: conversione di un virus in vettore, integrazione, trasduzione della cellula target. vettori virali: Retrovirus, Lentivirus, Adenovirus, Virus Adeno-associati, Herpes Simplex virus. Caratteristiche, vantaggi e svantaggi dei vettori virali analizzati. Le patologie bersaglio della terapia genica. malattie neoplastiche, malattie virali, malattie del sistema immunitario, malattie genetiche (ADA, Ipercolesterolemia, Fibrosi cistica, Talassemia). I limiti della terapia genica: l'efficienza del trasferimento del DNA, la durata dell'espressione, la sicurezza della procedura e la reazione immunitaria.

Terapia genica del cancro: trasferimento genico nei linfociti che infiltrano il tumore. Immunoterapia adottiva mediante modificazione genetica delle cellule tumorali, immunoterapia adottiva mediante modificazione genetica dei fibroblasti. Terapia con geni suicidi. Chemioprotezione.

