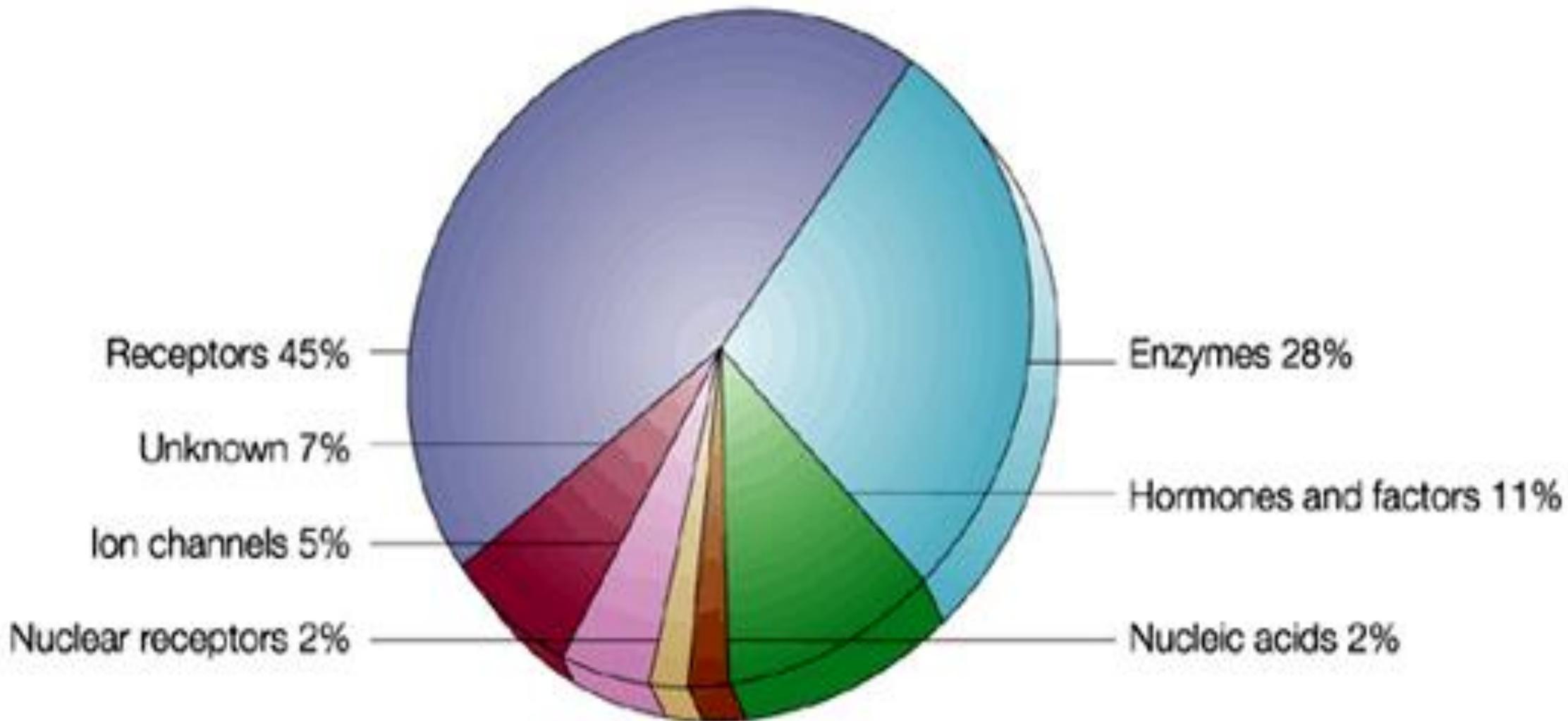
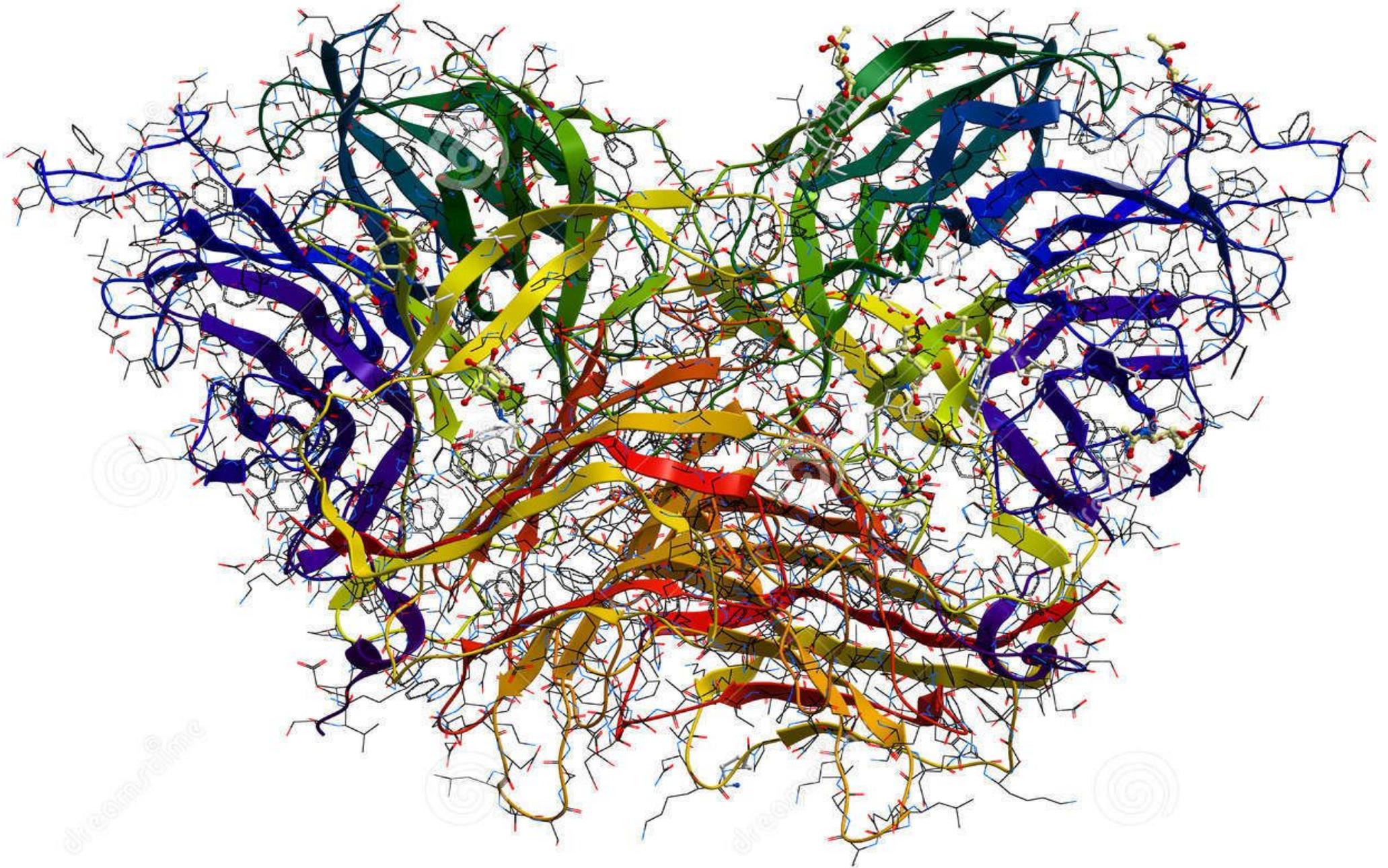


TARGETS DEI FARMACI ATTUALMENTE IN USO



ENZIMI



Invertasi, un enzima che catalizza l'idrolisi di saccarosio

ENZIMI

Numero	Classe	Tipo di reazione catalizzata
1	Ossidoreduttasi	Trasferimento di elettroni (ioni idruro H ⁻ o atomi di H)
2	Transferasi	Reazioni di trasferimento di gruppi funzionali
3	Idrolasi	Reazioni di idrolisi (trasferimento di gruppi funzionali all'acqua)
4	Liasi	Addizione di gruppi a legami doppi o formazione di legami doppi mediante eliminazione di gruppi
5	Isomerasi	Trasferimento di gruppi all'interno di molecole per formare isomeri
6	Ligasi	Formazione di legami C-C, C-S, C-O e C-N mediante reazioni di condensazione accoppiate alla scissione di ATP

EC = Enzyme
Commission

CLASSIFICAZIONE INTERNAZIONALE DEGLI ENZIMI

6 classi, ciascuna divisa in sottoclassi

Nome raccomandato es. carbossipeptidasi

Nome sistematico es. peptidil-L-ammino-acido idrolasi

3.4.17.1 EC

3 classe principale

4 sottoclasse (legami peptidici)

17 sottosottoclasse (metallopeptidasi, Zn²⁺)

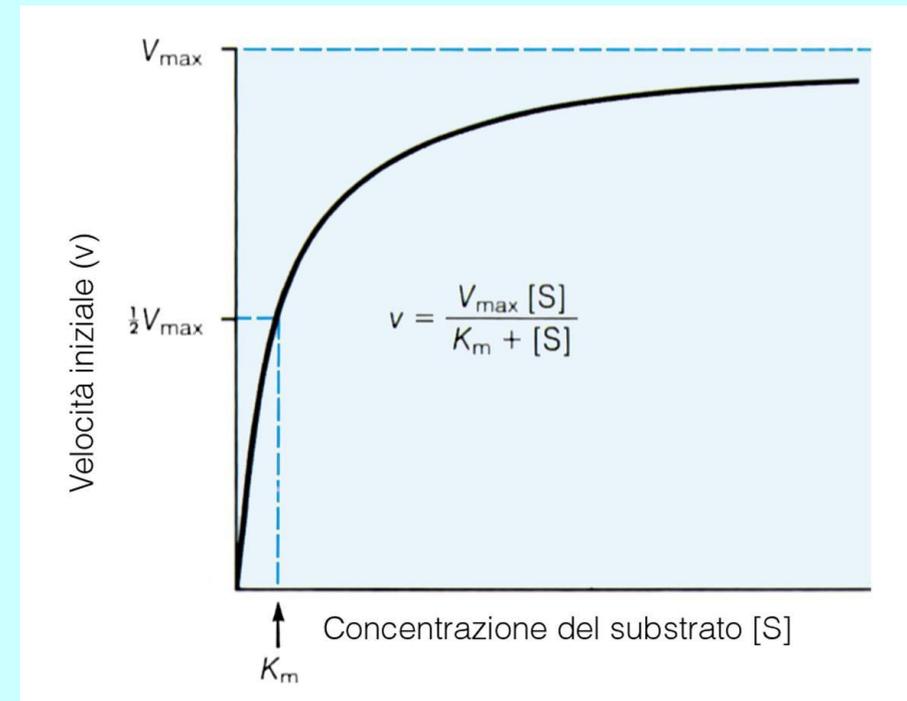
1 numero di serie

CINETICA ENZIMATICA

A parità di altre condizioni (temperatura, concentrazione di enzima, pH, ecc.) riportando in grafico la concentrazione di substrato in funzione della v_0 si ottiene una curva iperbolica.

Si osserva che, nel primo tratto della curva (rettilineo) la v_0 è direttamente proporzionale alla concentrazione di substrato (aumentando la concentrazione di S aumenta proporzionalmente il numero di molecole che formano il complesso ES).

Una volta raggiunta una certa concentrazione di S la v_0 cresce più lentamente fino a raggiungere un valore massimo quando tutto l'enzima è saturato dal substrato e pur continuando ad aumentare la concentrazione di S la v_0 rimane costante (V_{max}).



E' possibile risalire alla velocità di una reazione enzimatica dall'equazione $v_0 = \frac{V_{max} [S]}{[S] + K_m}$ proposta dai due studiosi Michaelis e Menten. Nell'equazione, v è la velocità di reazione, V_{max} la velocità massima, $[S]$ la concentrazione del substrato e K_m è la costante di Michaelis-Menten.

K_m corrisponde alla concentrazione di S alla quale la velocità è $= V_{max}/2$

EQUAZIONE DI MICHAELIS-MENTEN

$$v_0 = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + [S]}$$

A basse concentrazioni di substrato, quando $[S]$ è molto più piccola di K_m e quindi trascurabile, si ha

$v_0 = V_{\max} [S] / K_m$ cioè, la velocità è direttamente proporzionale alla concentrazione del substrato.

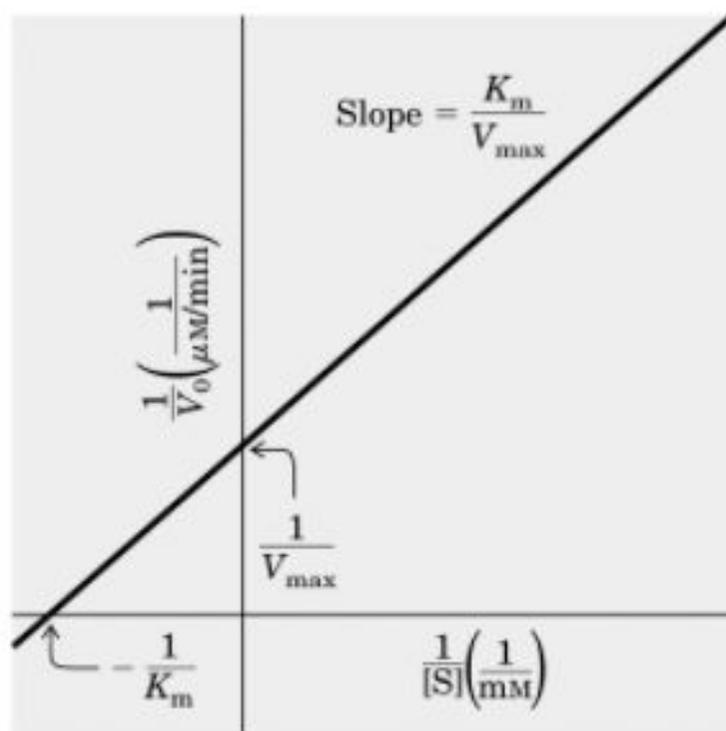
Ad alte concentrazioni di substrato, quando $[S]$ è molto più grande di K_m , K_m diventa trascurabile e si ha $v_0 = V_{\max}$, cioè, la velocità è la massima, indipendentemente dalla concentrazione del substrato.

I valori di K_m variano moltissimo da enzima ad enzima ed esprimono l'affinità che l'enzima ha per il substrato. Osservando la posizione di K_m sul grafico velocità contro concentrazione di substrato, si può notare che se K_m è bassa, in ogni istante è necessaria una bassa concentrazione di substrato per saturare metà delle molecole di enzima e questo è segno di alta affinità dell'enzima per il substrato, mentre se K_m è alta, occorre una più alta concentrazione di substrato per saturare metà delle molecole di enzima in ogni istante e questo vuol dire che l'enzima presenta bassa affinità per il substrato. Il valore di K_m è indipendente dalla concentrazione dell'enzima e dalla concentrazione del substrato.

Per un calcolo più accurato della V_{max} e della K_m è opportuno trasformare matematicamente l'equazione di Michealis-Menten facendo il reciproco di entrambi i lati dell'equazione

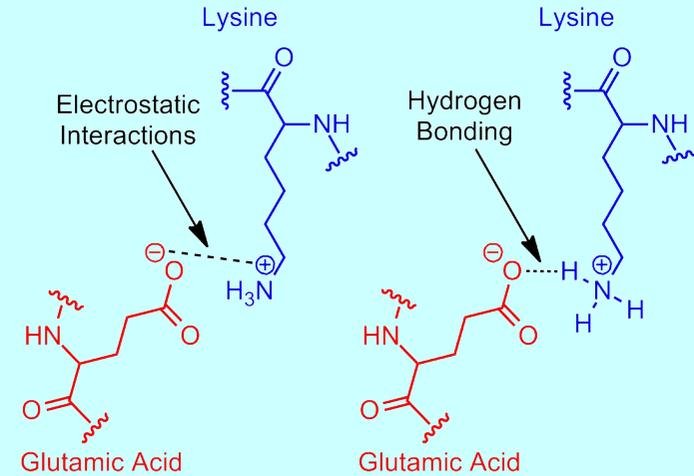
$$v_0 = \frac{V_{max} [S]}{K_m + [S]} \dots\dots\dots \frac{1}{v_0} = \frac{K_m}{V_{max}} \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{max}}$$

Si ottiene il grafico dei doppi reciproci (o grafico di **Lineweaver-Burk**) mediante il quale la curva iperbolica viene convertita in una retta



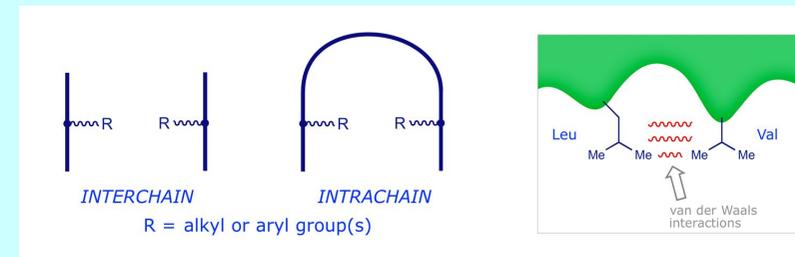
FORZE DI LEGAME TRA INIBITORI ED ENZIMI

- FORZE ELETTROSTATICHE

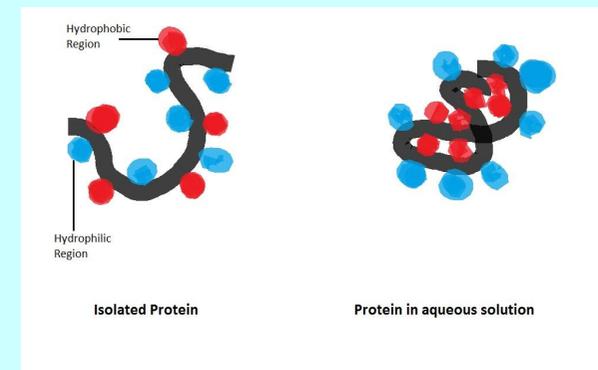


- LEGAMI IDROGENO

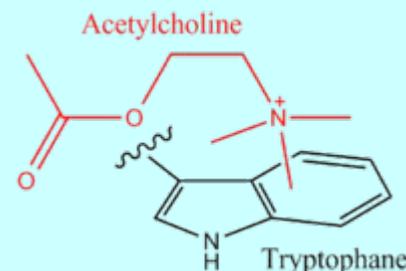
- FORZE DI VAN DER WAALS



- INTERAZIONI IDROFOBICHE

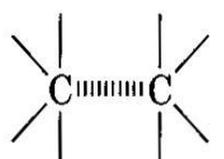
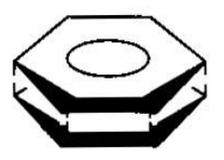


- LEGAMI CATIONI-II



FORZE DI LEGAME TRA INIBITORI ED ENZIMI

Table 1.1 Types of Intermolecular Forces

Bond Type	Bond Strength (kcal/mol)	Example
1. Covalent	40-140	CH ₃ CH ₂ O-H
2. Ionic (Electrostatic)	5	$R_4N^+ \cdots \overset{\ominus}{O} - \overset{\overset{O}{\parallel}}{C} -$
3. Hydrogen	1-10	$-NH \cdots \underset{\underset{H}{ }}{O} - H$
4. Dipole-dipole	1	$R_3N: \cdots \overset{\diagup}{\diagdown} C = O$
5. van der Waals	0.5-1	
6. Hydrophobic	1	

RUOLO DEI GRUPPI FUNZIONALI NELL'INTERAZIONE CON IL BERSAGLIO

Gruppi **Alcolici**, **amminici**, **esterei**, **ammidici**, **carbossilici**, **fenolici** e **chetoni** sono gruppi funzionali in grado di interagire con i siti di legame grazie alla formazione di **legami ad idrogeno**:

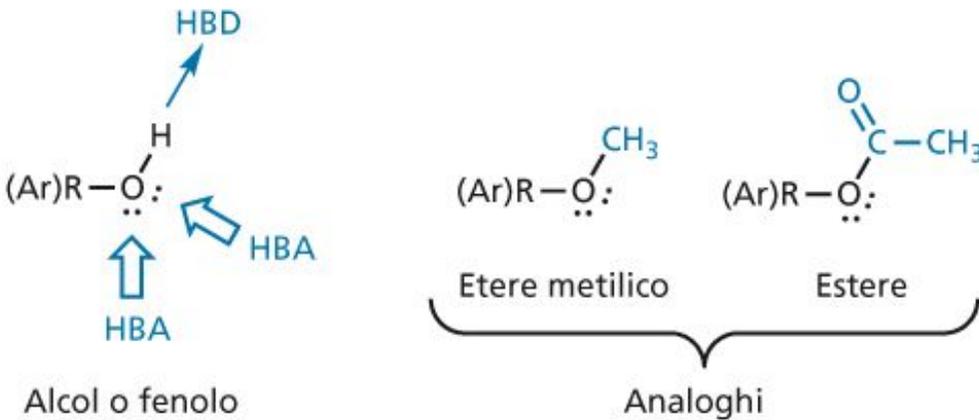


FIGURA 13.3 Interazioni di legame a idrogeno possibili per gli alcoli e i fenoli (HBD: donatore di legame a idrogeno; HBA: accettore di legame a idrogeno).

RUOLO DEI GRUPPI FUNZIONALI NELL'INTERAZIONE CON IL BERSAGLIO

Gruppi **amminici**, **ammonici quaternari**, **carbossilici**, sono gruppi funzionali in grado di interagire con i siti di legame grazie alla formazione di **legami ionici** e **legami idrogeno**:

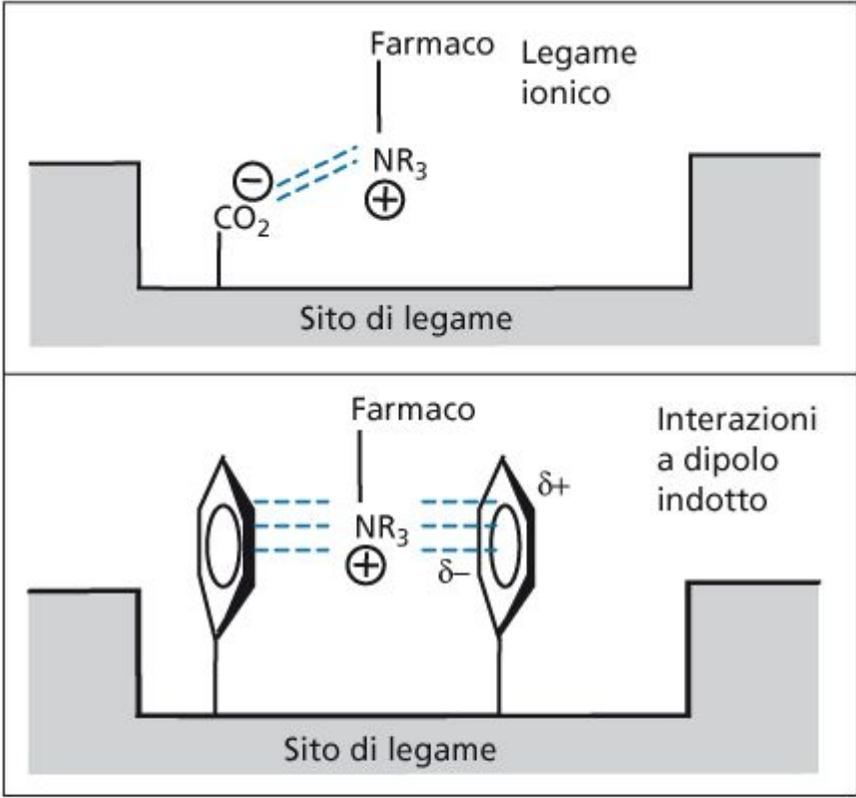


FIGURA 13.18 Interazioni di legame possibili per uno ione ammonio quaternario.

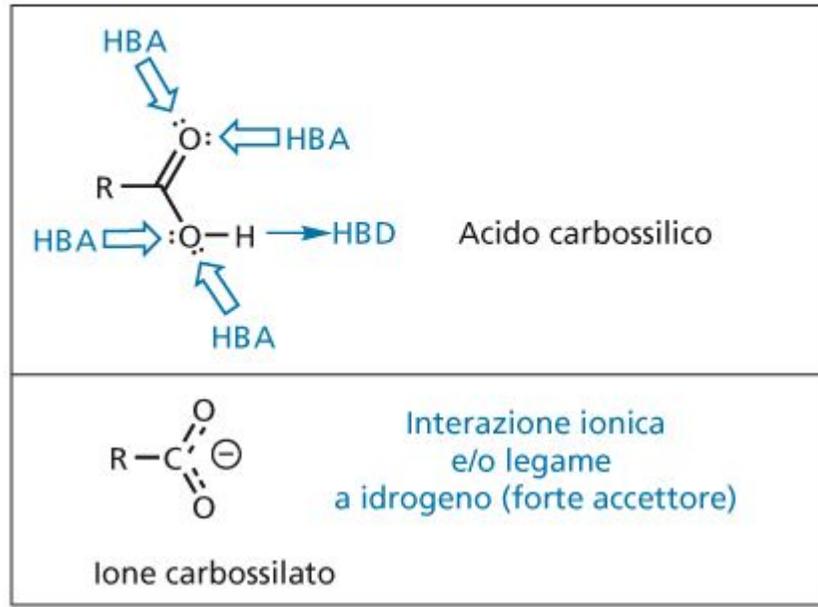
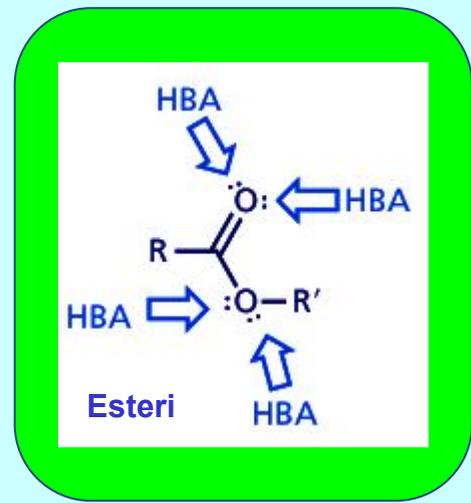
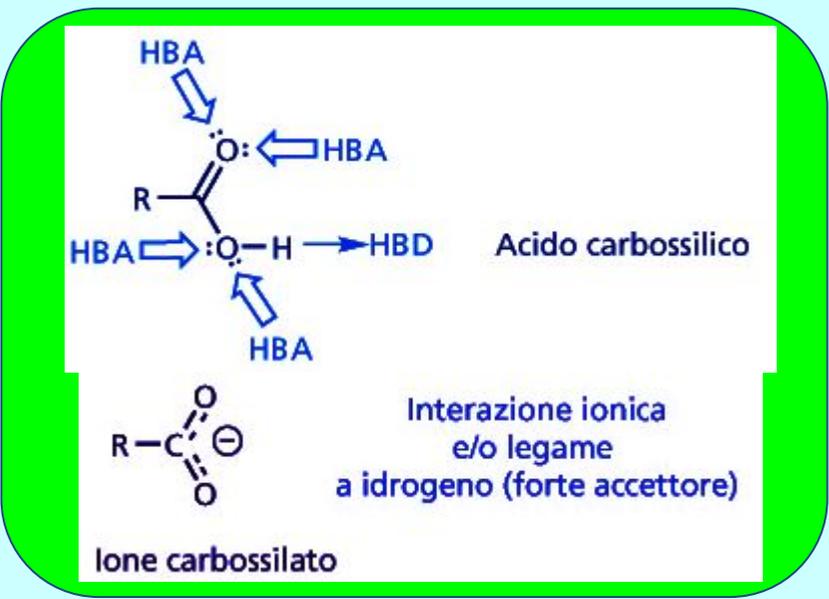
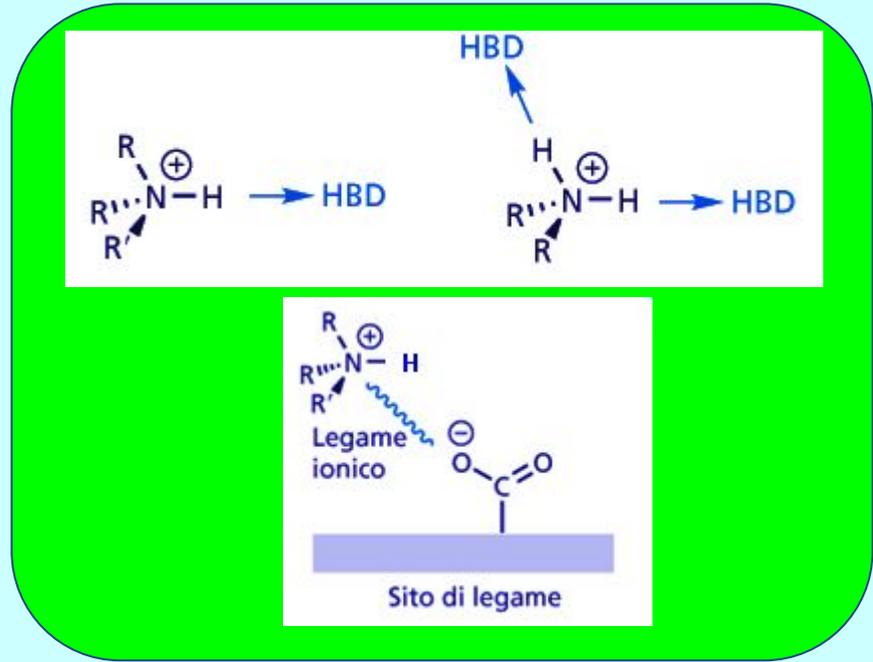
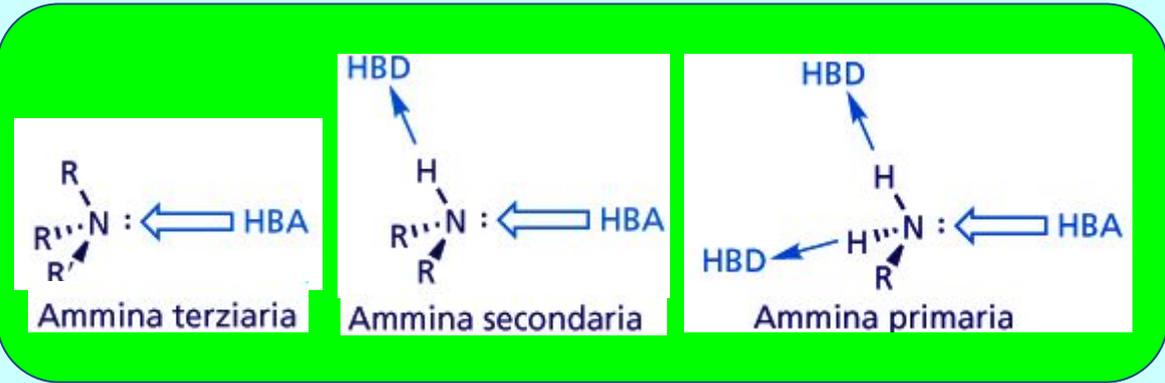


FIGURA 13.19 Interazioni di legame possibili per il gruppo carbossilico e per lo ione carbossilato (HBA: accettore di legame a idrogeno; HBD: donatore di legame a idrogeno).

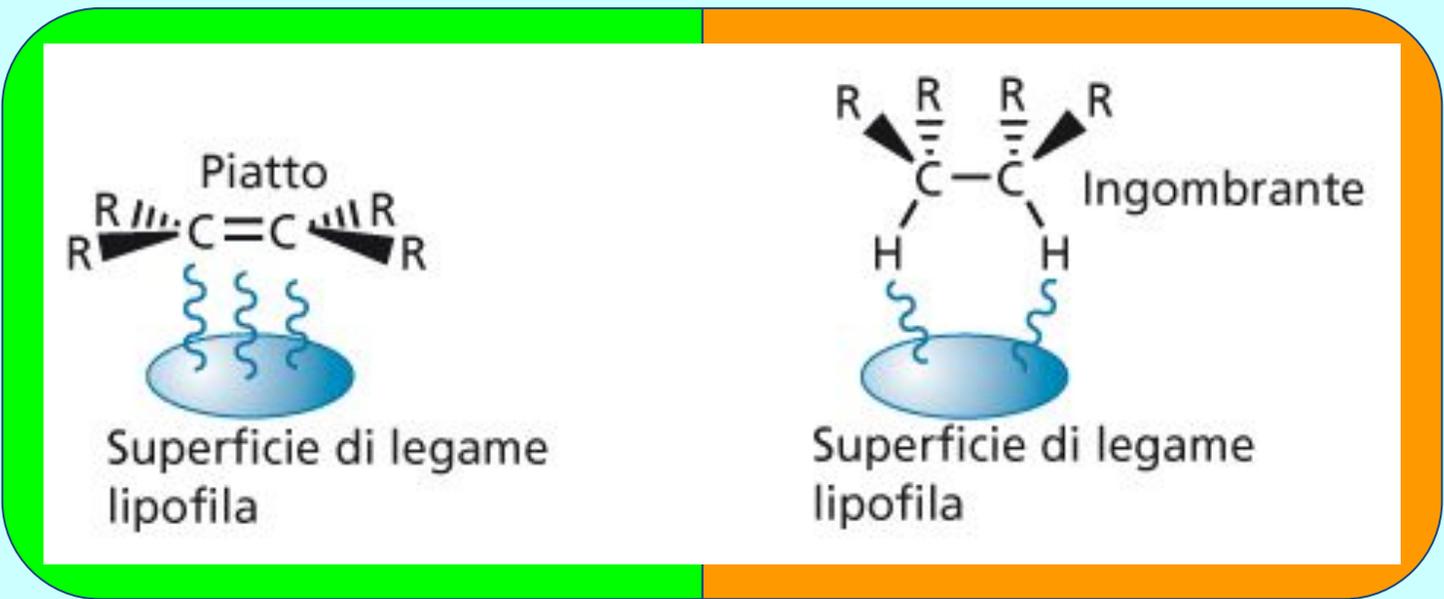
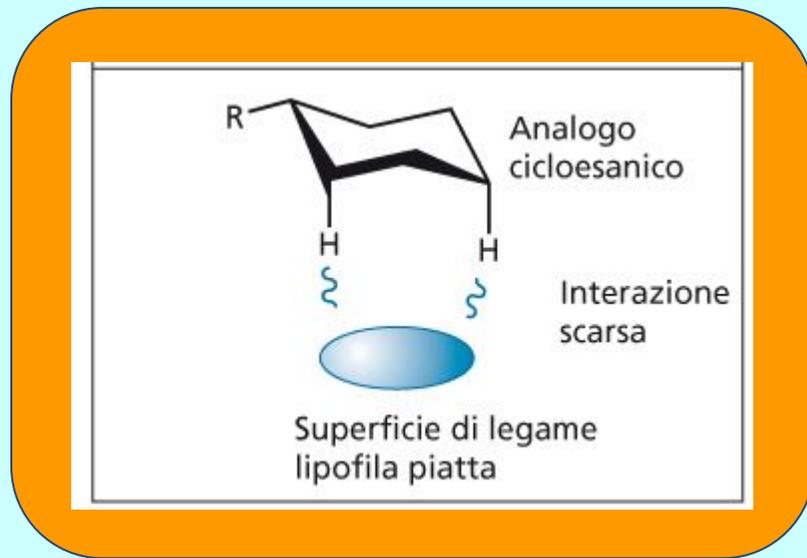
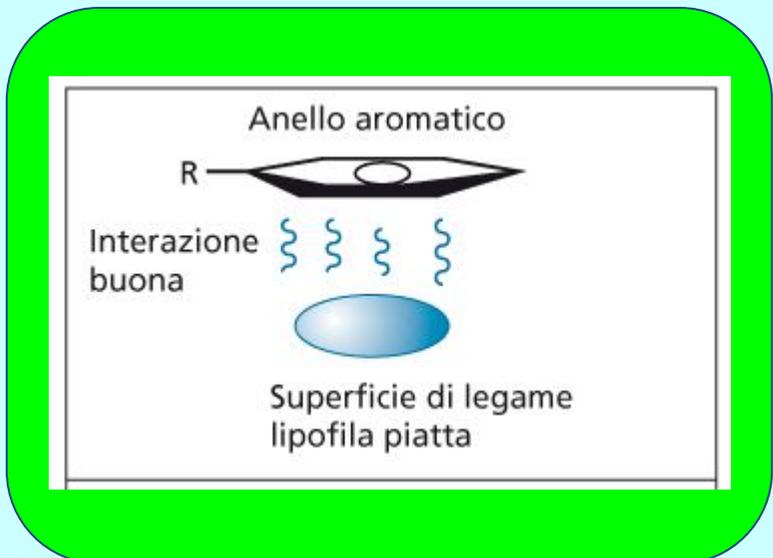
RUOLO DEI GRUPPI FUNZIONALI NELL'INTERAZIONE CON IL BERSAGLIO

Gruppi **amminici**, **ammonici quaternari**, **carbossilici**, sono gruppi funzionali in grado di interagire con i siti di legame grazie alla formazione di **legami ionici** e **legami idrogeno**:



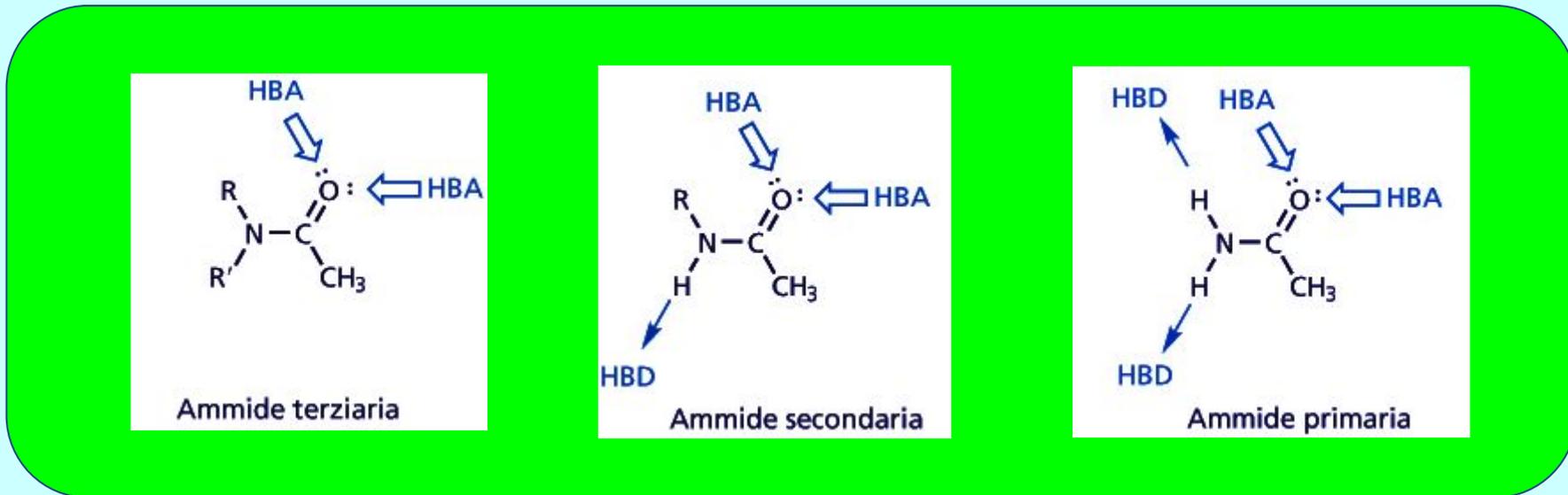
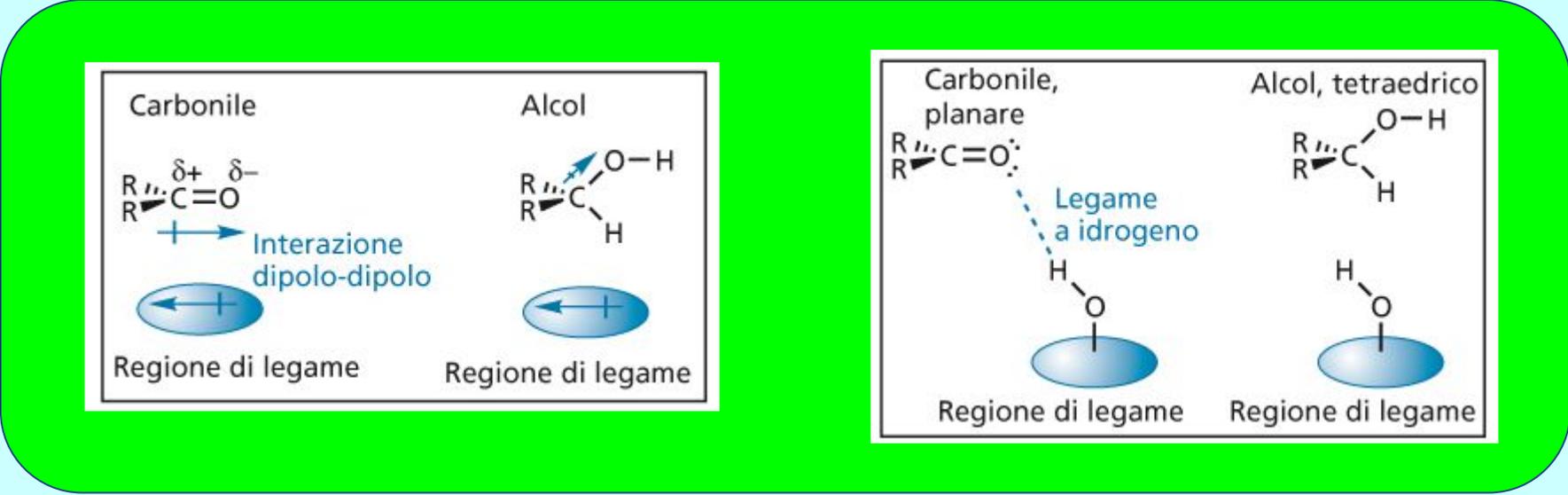
RUOLO DEI GRUPPI FUNZIONALI NELL'INTERAZIONE CON IL BERSAGLIO

Anelli aromatici e doppi legami possono formare **legami di van der Waals ed idrofobici** con regioni piatte del sito di legame:

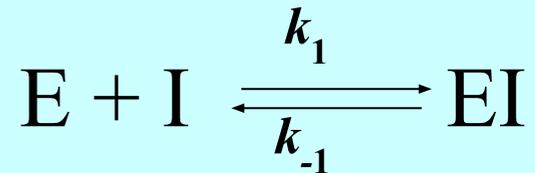


RUOLO DEI GRUPPI FUNZIONALI NELL'INTERAZIONE CON IL BERSAGLIO

Chetoni possono formare **legami idrogeno** o **interazioni dipolo-dipolo**, **Ammidi** possono formare **legami idrogeno**:



FORZE DI LEGAME TRA INIBITORI ED ENZIMI



$$K_i = \frac{[E][I]}{[EI]}$$

$$\Delta G^\circ = RT \ln K_i$$

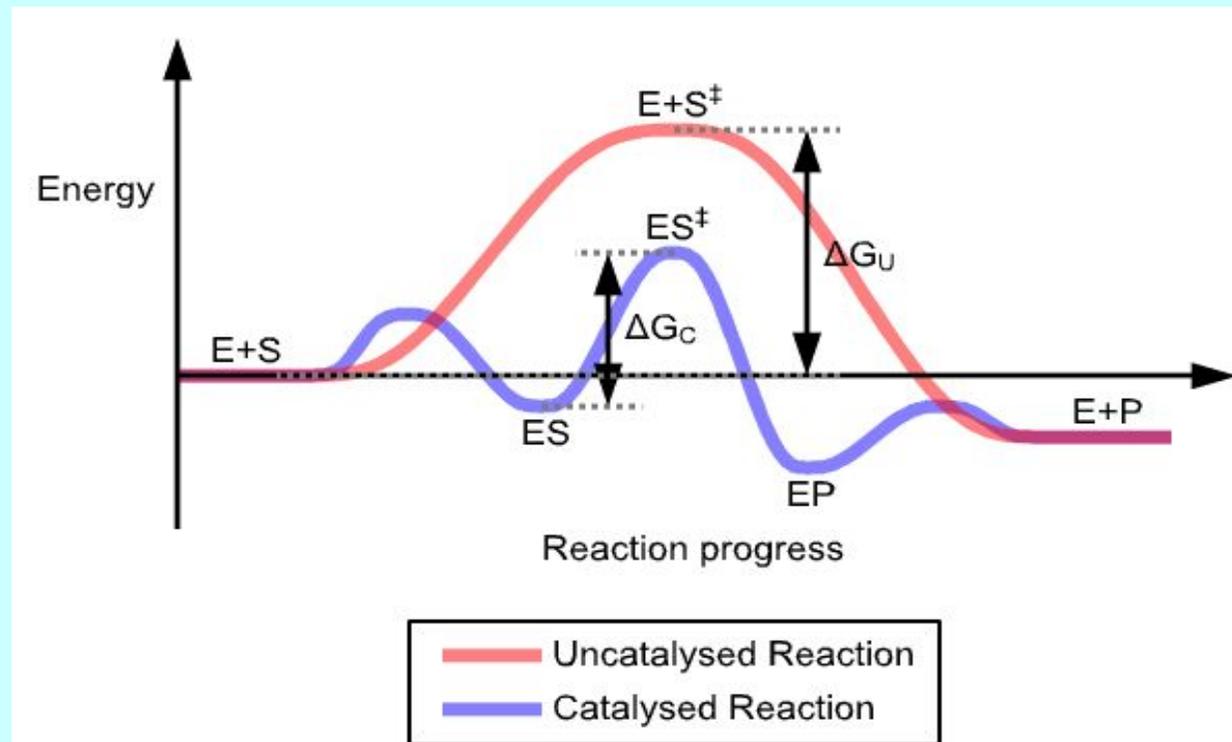
$$\Delta G^\circ = \Delta H^\circ - T\Delta S^\circ$$

Inibizione competitiva

$$IC_{50} = K_i (1 + [S]/K_M)$$

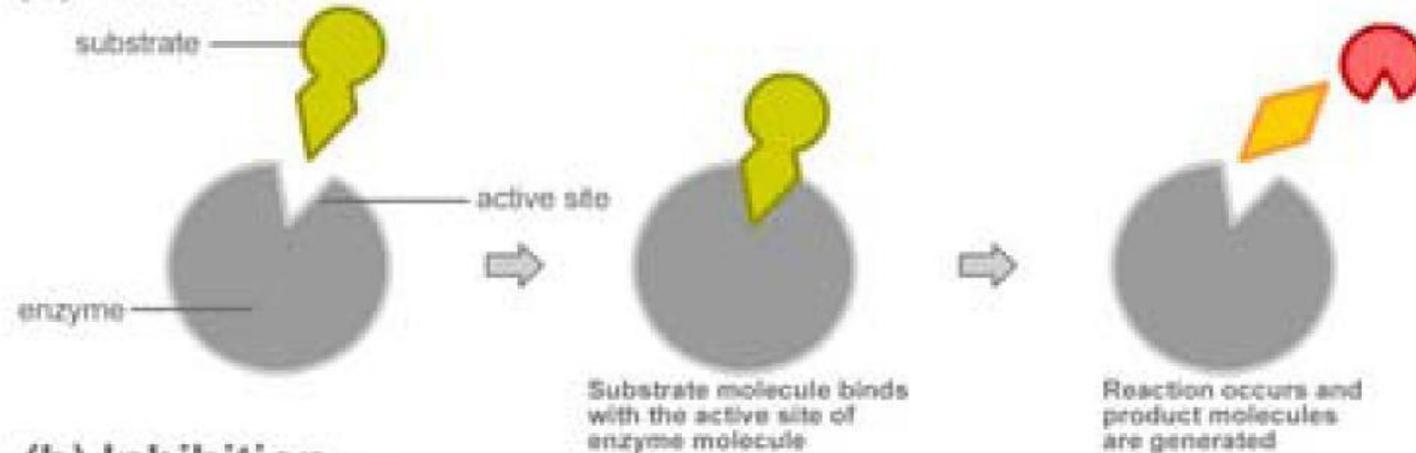
Inibizione non-competitiva

$$IC_{50} = K_i (1 + K_M/[S])$$

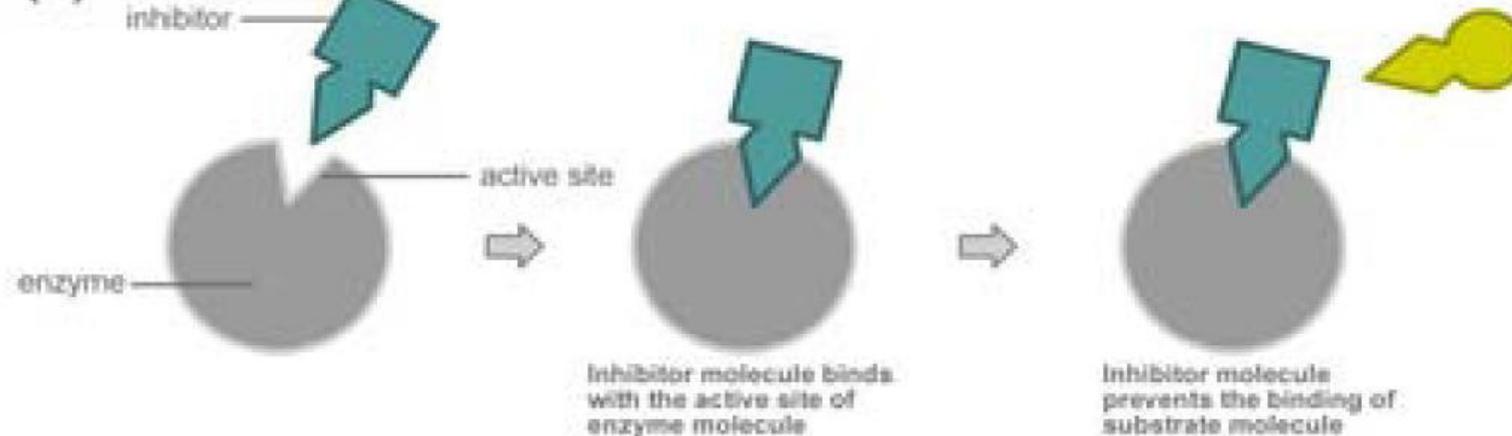


Inibizione competitiva

(a) Reaction

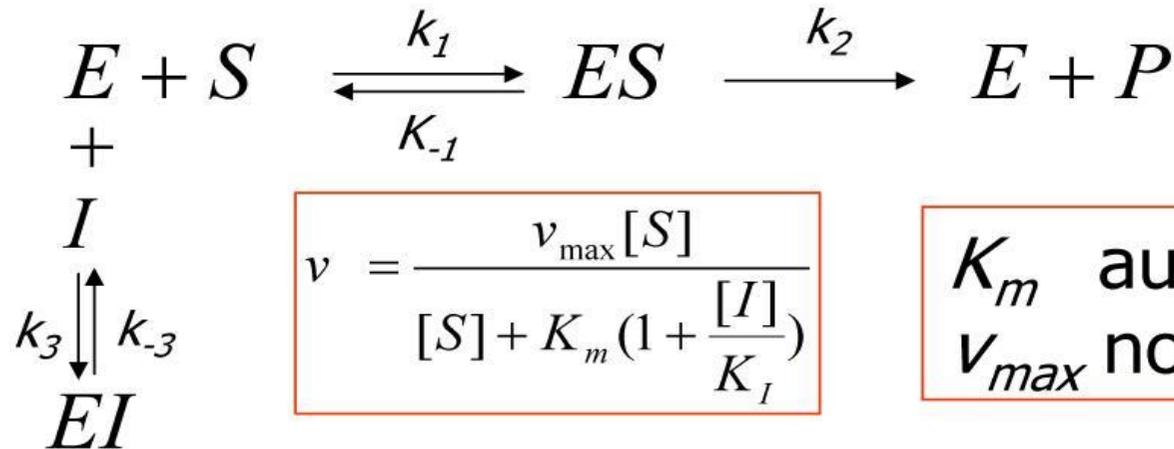


(b) Inhibition



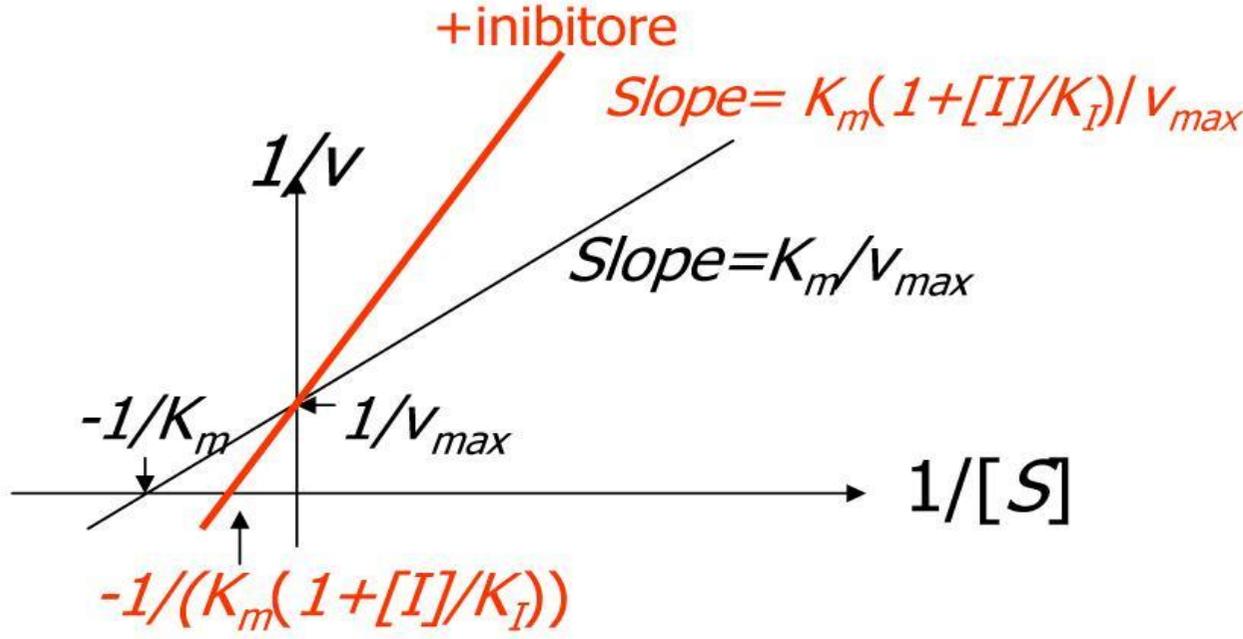
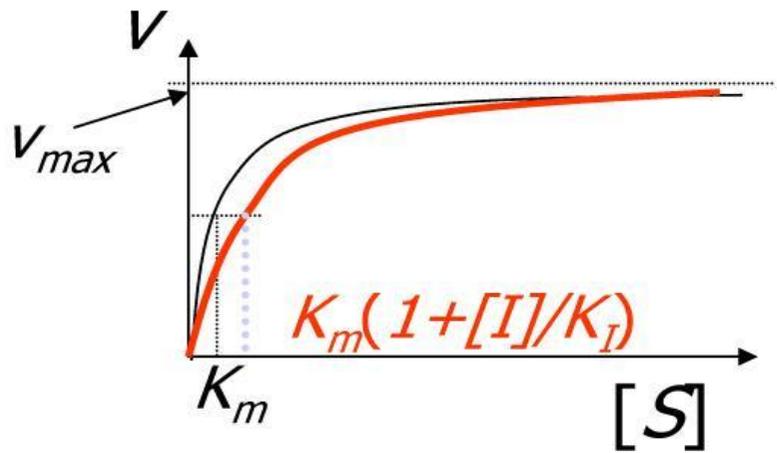
Un inibitore competitivo si lega all'enzima, impedendo il legame del substrato. Il legame del substrato all'enzima impedisce il legame con l'inibitore, così substrato ed inibitore competono per l'enzima

Inibizione competitiva



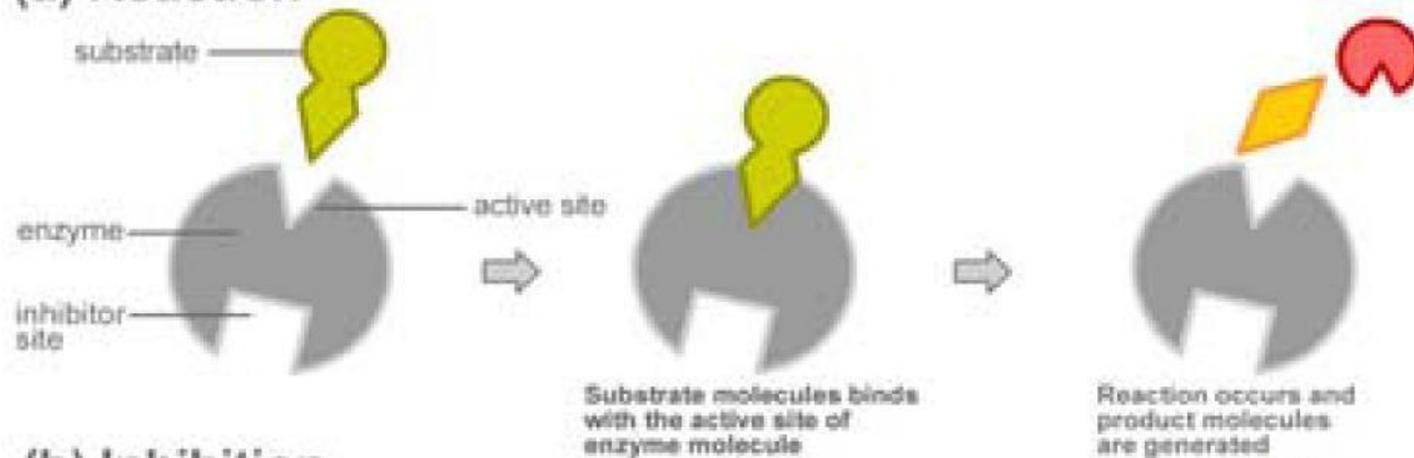
$$v = \frac{v_{\max} [S]}{[S] + K_m \left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right)}$$

K_m aumenta
 v_{\max} non cambia

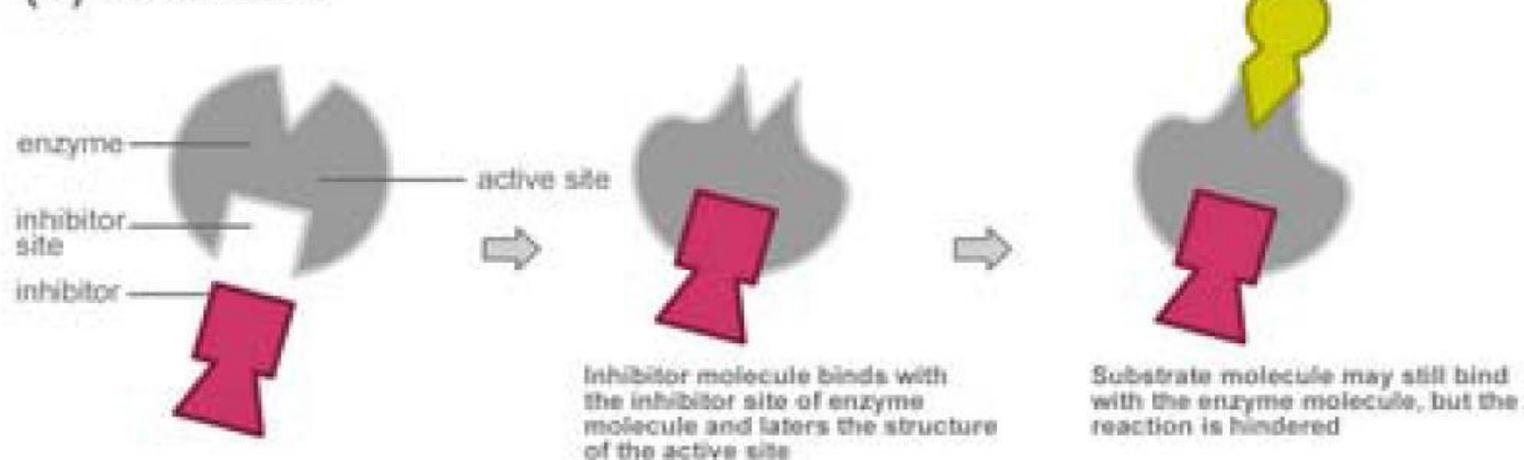


Inibizione non competitiva

(a) Reaction

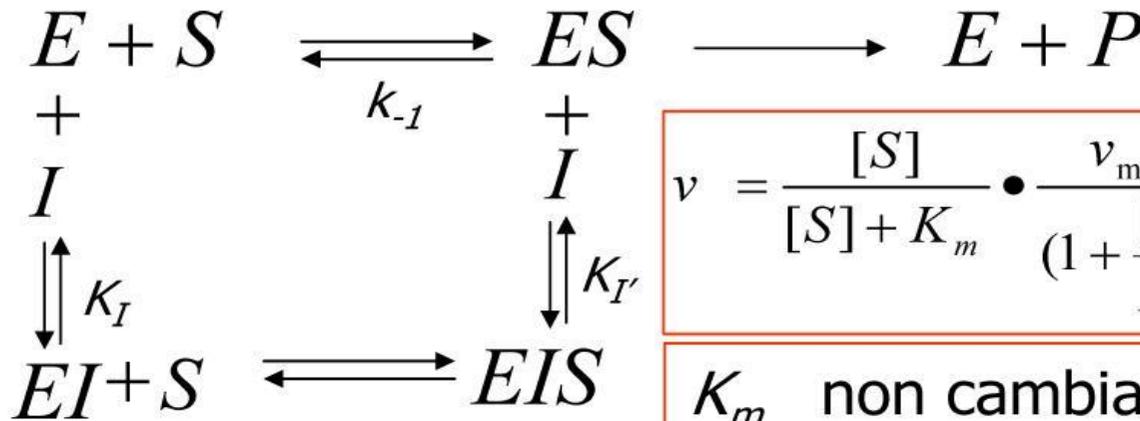


(b) Inhibition



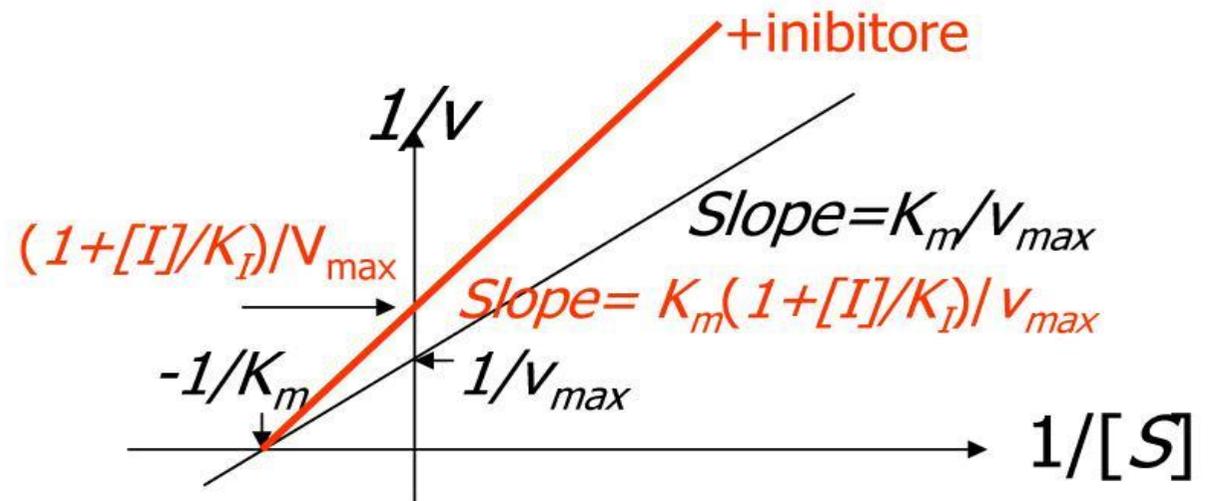
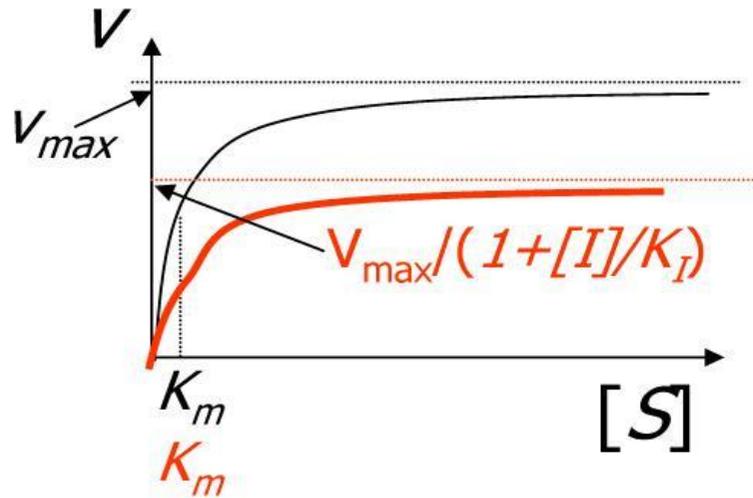
Gli inibitori non competitivi si legano all'enzima in siti differenti da quelli di legame del substrato. La catalisi è impedita poiché gli inibitori non competitivi alterano la struttura dell'enzima, sebbene questo possa ancora legare il substrato.

Inibizione reversibile non competitiva

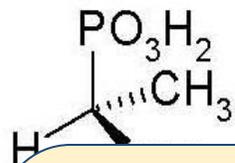


$$v = \frac{[S]}{[S] + K_m} \cdot \frac{v_{max}}{\left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right)}$$

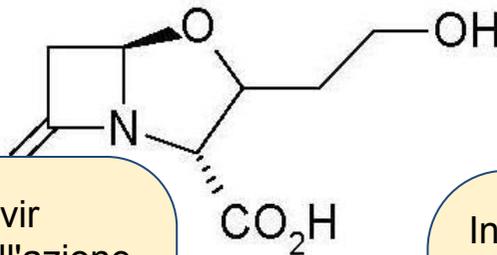
K_m non cambia
 v_{max} diminuisce



INIBITORI ENZIMATICI

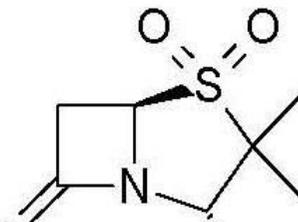


All'interno della cellula, l'aciclovir viene monofosforilato grazie all'azione dell'enzima timidina chinasi, il quale è codificato solamente dai virus erpetici e non dall'organismo. È per tale motivo che il farmaco agisce prevalentemente sulle cellule infettate e non su quelle sane.

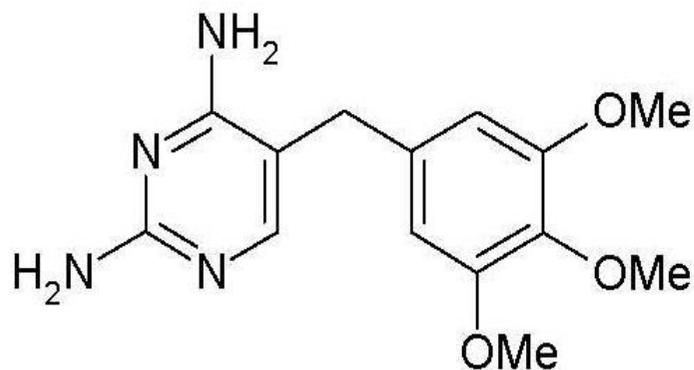


Clavulanico

Inibitori d



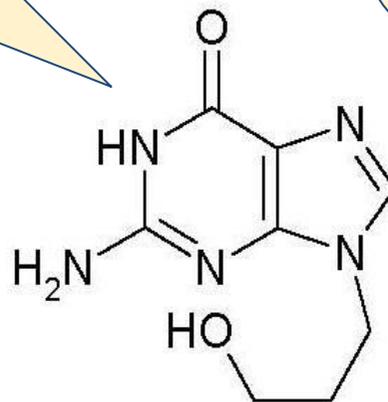
Inibitore irreversibile dell'ornitina decarbossilasi, un enzima chiave nella biosintesi delle poliamine che hanno un ruolo importante nella replicazione e differenziazione cellulare. Viene utilizzata come farmaco nel trattamento della tripanosomiasi africana (la cosiddetta malattia del sonno). Oltre che un'attività antiprotozoaria eflornitina svolge anche un'attività antineoplastica, e viene pure utilizzata per il trattamento dell'irsutismo facciale.



Trimetopirim

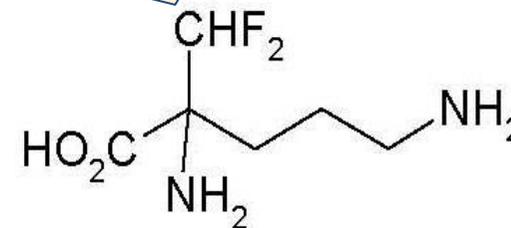
Inibitore della diidrofolato reduttasi

Agente antibatterico



Aciclovir

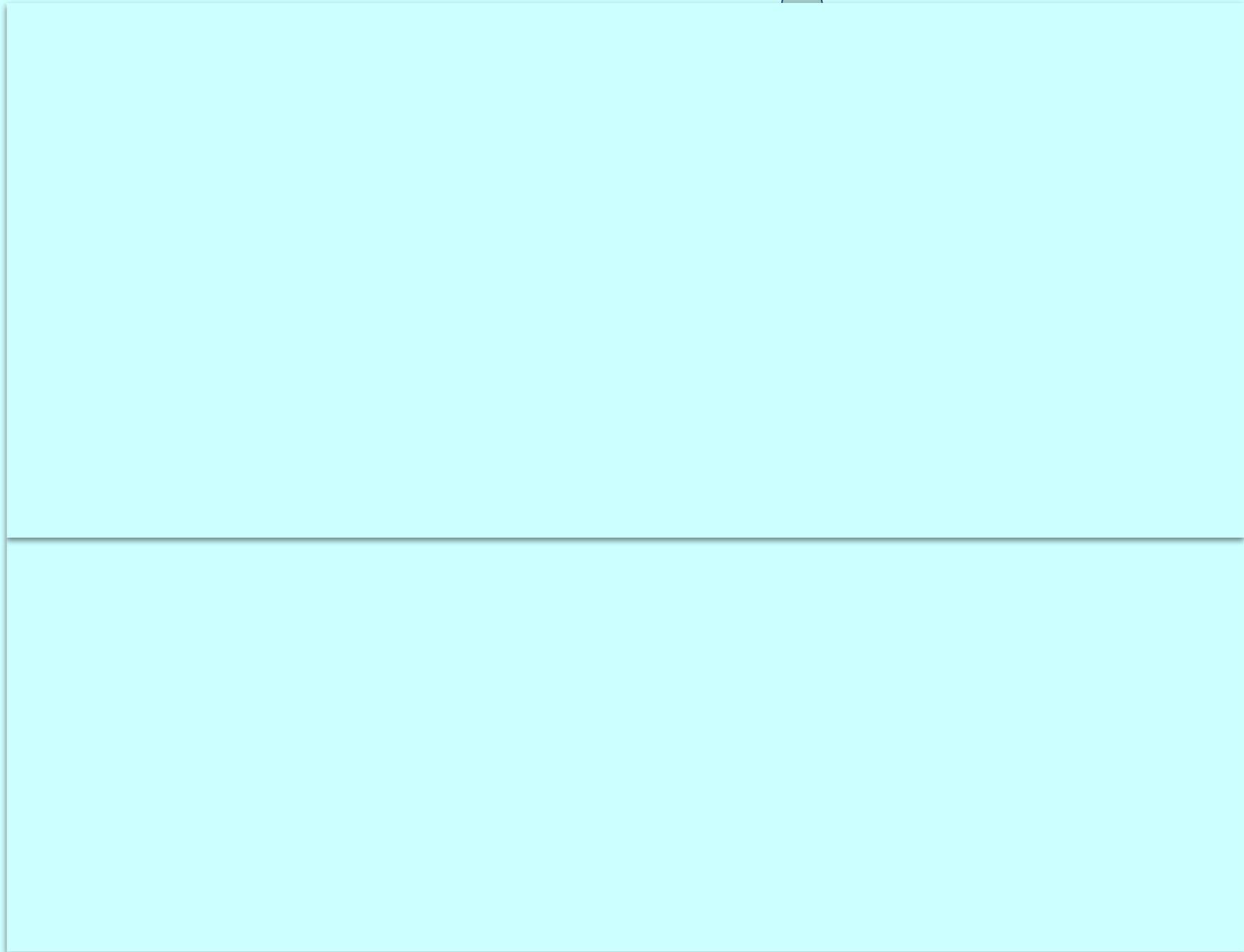
Antivirale



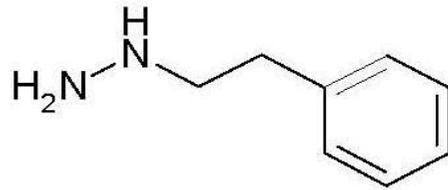
Difluorometilornitina

Inibitore dell'ornitina decarbossilasi

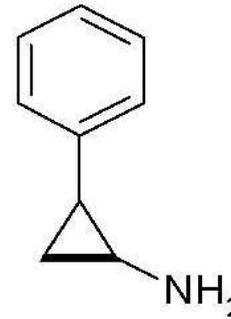
INIBITORI ENZIMATICI



INIBITORI ENZIMATICI

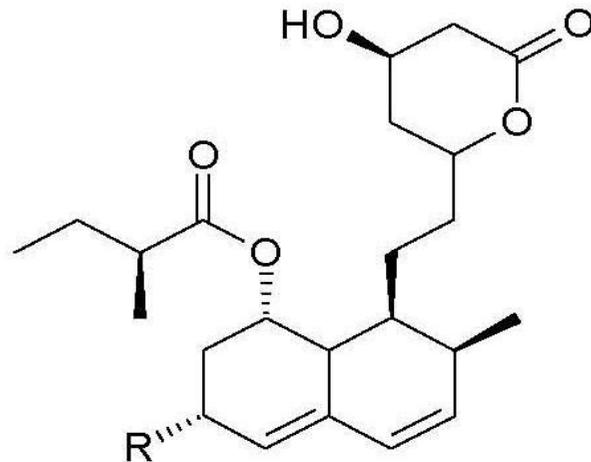


Fenelazina
Antidepressivo

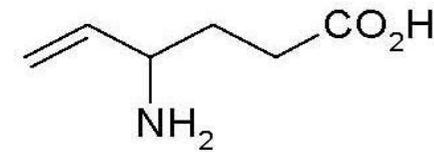


Tranilcipromina

Inibitori MAO



R = H Compattina
R = Me Mevinolina



Inibitore GABA amminotransferase
Epilessia

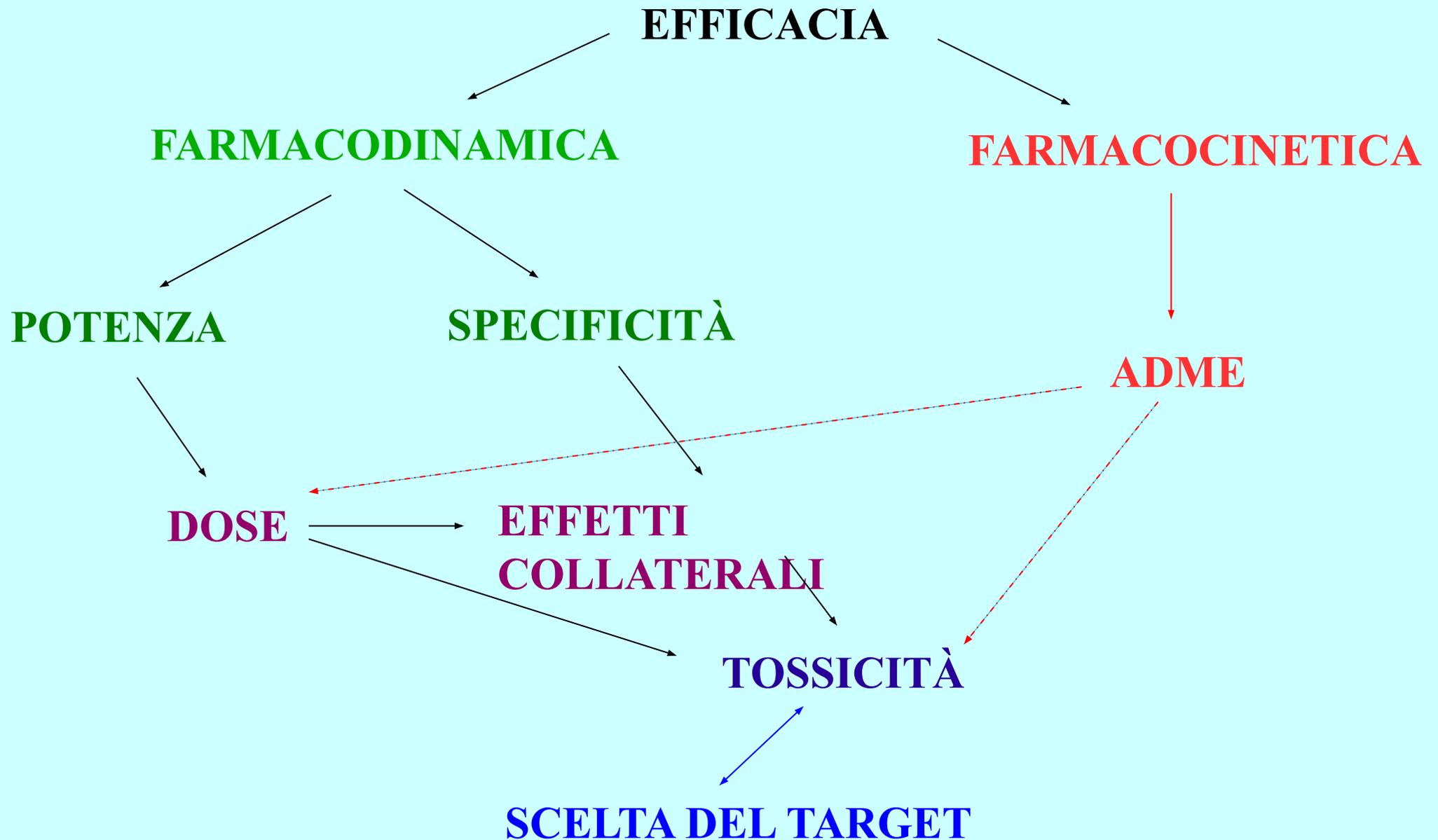
Inibitori 3-idrossi-3-metilglutaril-coenzima A reduttase

Anticolessterolo

EFFICACIA DI INIBITORI COME AGENTI TERAPEUTICI

- Potenza dell'inibitore (K_i , IC_{50})
- Specificità per l'enzima bersaglio
- Scelta della via metabolica su cui intervenire
- Adeguate caratteristiche farmacocinetiche

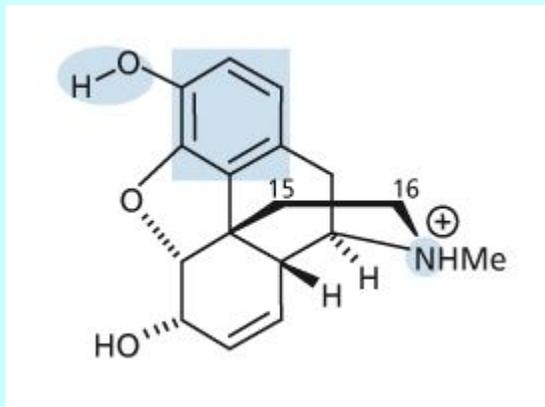
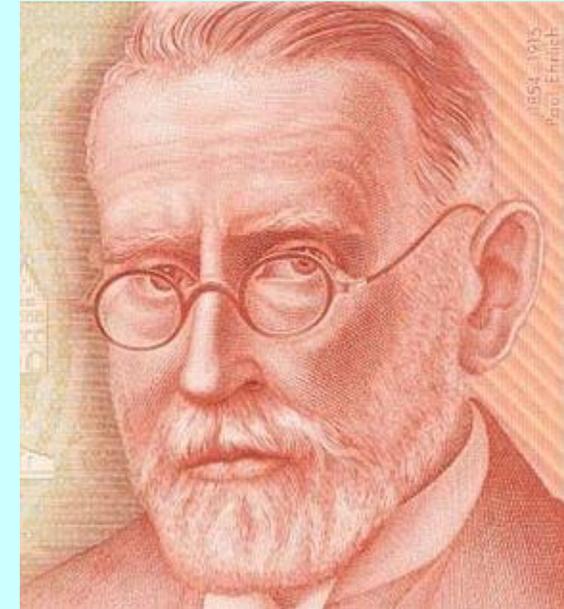
EFFICACIA DI INIBITORI COME AGENTI TERAPEUTICI



DEFINIZIONE DI FARMACOFORO

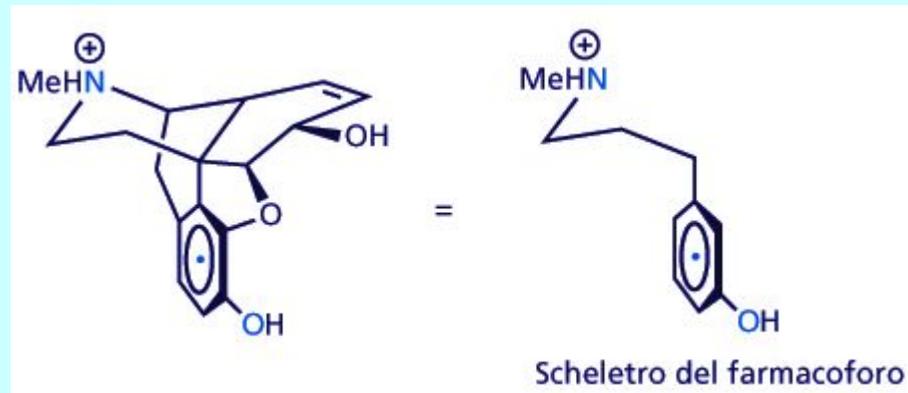
«La più piccola unità strutturale di un farmaco, costituita da un insieme di gruppi funzionali disposti opportunamente nelle tre dimensioni spaziali che, interagendo specificatamente con un recettore, è responsabile dell'attività biologica.»

Paul Ehrlich (1909)



Farmacoforo 2D

Per individuare un farmacoforo è necessario evidenziare i raggruppamenti chimici fondamentali per l'attività e le conformazioni bioattive dei composti esaminati



Farmacoforo 3D

Evidenzia le posizioni relative nello spazio dei gruppi importanti per l'interazione con il bersaglio

ISOSTERIA

Il concetto di isosteria nasce dal tentativo di estendere alle molecole in toto la conoscenza acquisita sugli elementi.

Gli **isosteri** sono atomi o gruppi di atomi che hanno la stessa valenza (o stesso numero di elettroni nel guscio esterno) e presentano analogie dal punto di vista chimico o fisico.

Prima definizione di Langmuir (1919):

“Due molecole sono isosteriche se contengono lo stesso numero e la stessa disposizione di elettroni”

Isosteri: somiglianza delle caratteristiche fisiche (densità, viscosità, conducibilità termica...)

Es. molecole monoatomiche: O^{2-} , F^- , Ne , Na^+ , Mg^{2+} , Al^{3+} ;

molecole biatomiche: CO , N_2 ;

molecole triatomiche: N_2O , CO_2 ;

molecole poliatomiche: ClO_4^- , SO_4^{2-} , PO_4^{3-}

ISOSTERIA

PROPRIETÀ	CO ₂	N ₂ O
Carica elettronica complessiva	22	22
Peso molecolare	44,01	44,02
Viscosità (20°, 1 atm)		
Pressione critica (atm)		
Temperatura critica (°C)		
Conducibilità termica a 100 °		
Indice di rifrazione del liquido (0°)		
Costante dielettrica del liquido (0°)		
Solubilità in acqua (0°)		
Solubilità in alcool (15°)		

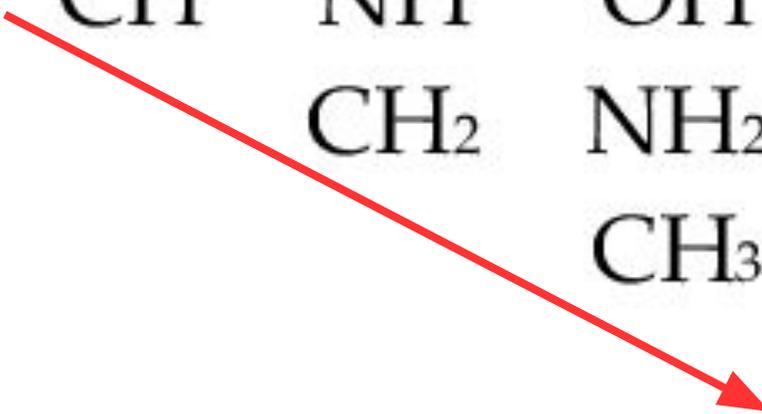
3 atomi e
22 elettroni

TABLE 15.1 Groups of Isosteres as Identified by Langmuir

Groups	Isosteres
1	H ⁻ , He, Li ⁺
2	O ²⁻ , F ⁻ , Ne, Na ⁺ , Mg ²⁺ , Al ³⁺
3	S ²⁻ , Cl ⁻ , Ar, K ⁺ , Ca ²⁺
↓	↓
8	N ₂ , CO, CN ⁻
9	CH ₄ , NH ₄ ⁺
10	CO ₂ , N ₂ O, N ³⁺ , CNO ⁻
↓	↓
21	SeO ₄ ²⁻ , AsO ₄ ³⁻

ISOSTERIA

C	N	O	F	Ne	Na ⁺
	CH	NH	OH	FH	-
		CH ₂	NH ₂	OH ₂	FH ₂ ⁺
			CH ₃	NH ₃	OH ₃ ⁺
				CH ₄	NH ₄ ⁺



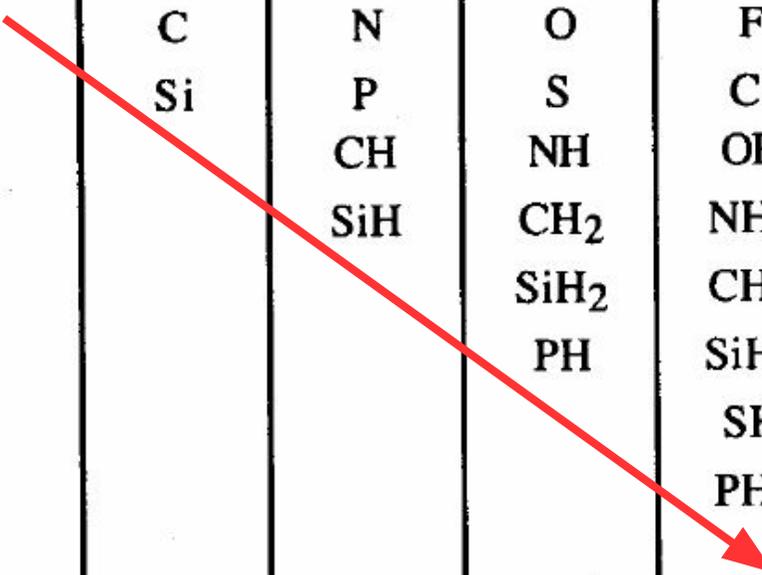
Legge di Grimm dello spostamento dell'idruro (1925):

“L’aggiunta di un idrogeno ad un atomo conferisce all’aggregato le proprietà dell’atomo successivo nella tavola periodica. Tra questi aggregati, chiamati pseudoatomi, esiste una relazione di isoelettronicità”

Grimm suppose che l’unione di un atomo ad un idrogeno generasse un nuovo atomo o meglio “pseudoatomo” o “idruro” nel quale la presenza dell’idrogeno poteva essere trascurata a causa del suo ridotto ingombro sterico. Questo pseudoatomo viene ad assumere la configurazione elettronica dell’atomo che lo segue nel periodo.

ISOSTERIA

Totale elettroni di valenza	4	5	6	7	8
	C	N	O	F	Ne
	Si	P	S	Cl	Ar
		CH	NH	OH	FH
		SiH	CH ₂	NH ₂	OH ₂
			SiH ₂	CH ₃	NH ₃
			PH	SiH ₃	CH ₄
				SH	SiH ₄
				PH ₂	PH ₃
					SH ₂



Ampliamento del concetto di isosteria: Erlenmeyer (1932)

“Isosteri: elementi, molecole, ioni che presentano lo stesso numero di elettroni nello strato periferico o di valenza”

La tabella poteva essere estesa anche agli atomi delle righe successive, il numero dei gruppi considerati isosteri diventa cospicuo e molto più utile per il chimico sintetico.

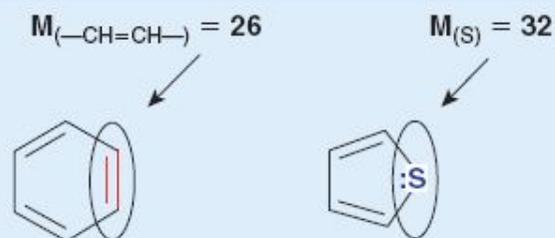
ISOSTERIA

Hinsberg dal canto suo, osservando la stretta somiglianza delle proprietà di benzene e tiofene propose l'equivalenza dei gruppi

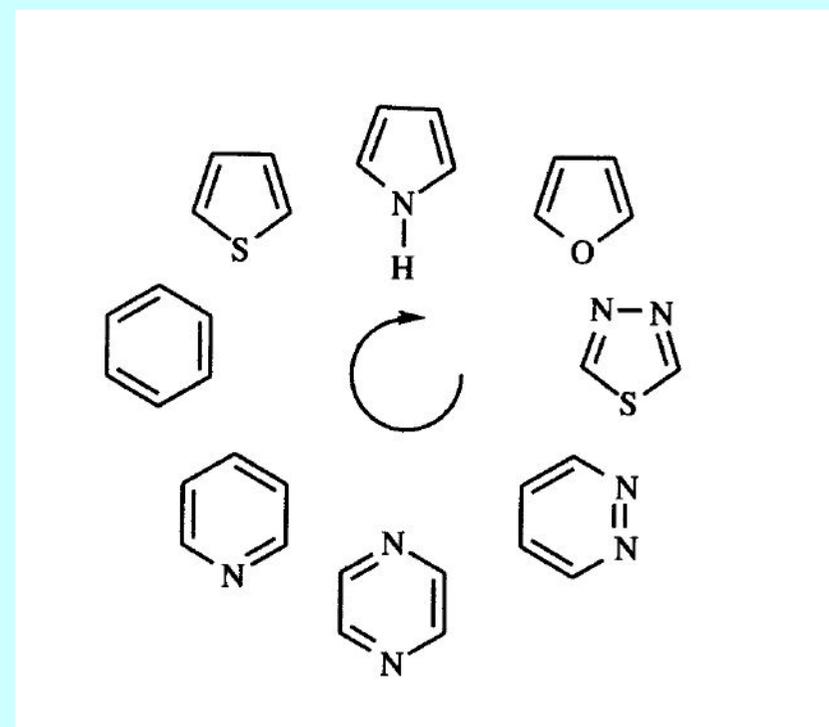


Integrando tra loro le diverse definizioni proposte diventa possibile ammettere l'isosteria di una serie di eterocicli equivalenti di anello: gruppi che possono essere scambiati in sistemi ciclici aromatici senza variare drasticamente le proprietà chimico-fisiche della molecola.

TABLE 15.3 The Sulphur Atom is Approximately Equivalent to an Ethylenic Group (Size, Mass, Capacity to provide an Aromatic Lone Pair)

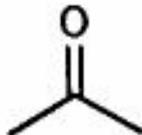
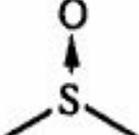
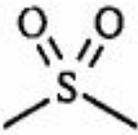
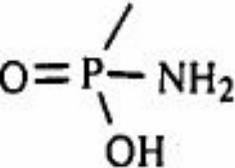
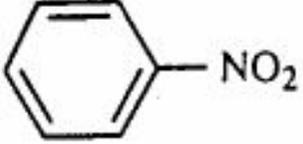
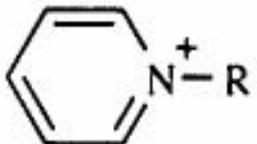


Compound	E°C	Isostere	E°C
Benzene	80°	Thiophene	84°
Methylbenzene	110°	2-Methyl-thiophene	113°
Chlorobenzene	132°	2-Chloro-thiophene	130°
Acetylbenzene	200°	2-Acetyl-thiophene	214°



ISOSTERIA

Con il progredire delle conoscenze si è evidenziato che il numero degli elettroni periferici non costituisce una caratteristica essenziale, e che il tipo di ibridazione condiziona molto di più la capacità di un gruppo di sostituirne opportunamente un altro. È stato quindi proposto di considerare **ISOSTERI** tutti quei raggruppamenti che, indipendentemente dal numero di elettroni, possiedono caratteristiche steriche o di ibridazione o di distribuzione di carica simili. Tali isosteri sono detti *non classici*.

			
—COOH	—SO ₂ NHR	—SO ₃ H	
—OH	—NHCOR	—NHSO ₂ R	
Alogeni	—CF ₃	—CN	—OCN —SCN
			

BIOISOSTERIA

Friedman (1951): si definiscono **BIOISOSTERI** i composti o i gruppi che soddisfano la definizione di isosteri nel senso più ampio e hanno lo stesso tipo di **attività biologica**.

Thornber (1979): **BIOISOSTERI** sono gruppi o molecole aventi analogie chimiche e fisiche che producono **effetti biologici** spiccatamente simili.

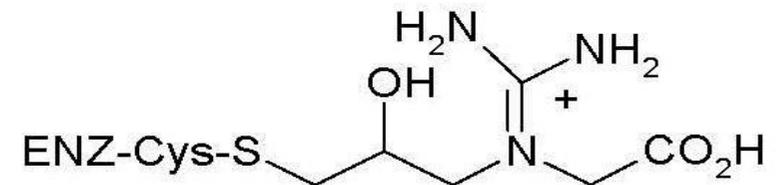
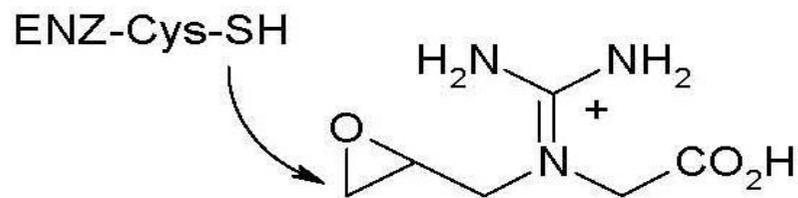
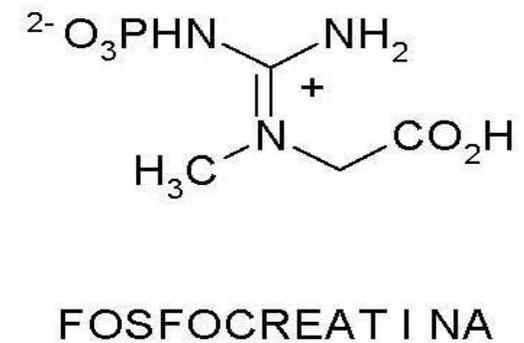
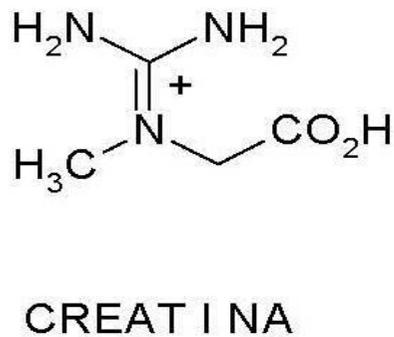
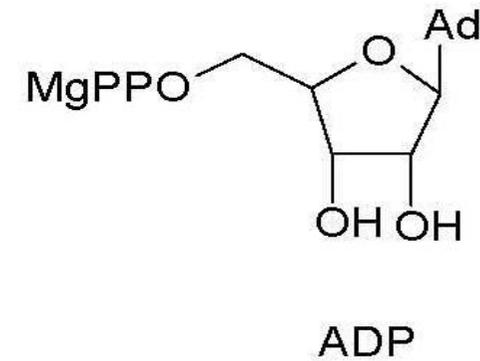
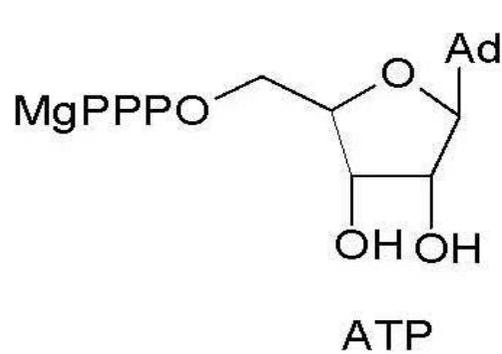
Burger (1991): Si considerano **BIOISOSTERI** quei raggruppamenti che, indipendentemente dal numero di elettroni, possiedono caratteristiche steriche ed elettroniche simili e sostituiti al gruppo originale in una data molecola ne mantengono il tipo di **attività** (mantengono intatta nella molecola la capacità di essere riconosciuta dallo stesso bersaglio biologico).

l'attività può essere **SIMILE** o **OPPOSTA**: producono proprietà biologiche correlate



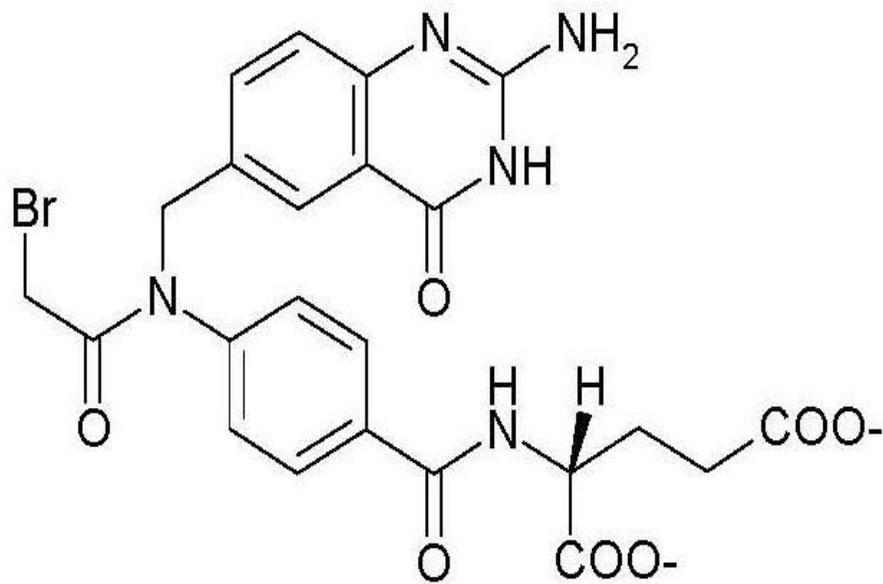
Un gruppo bioisosterico in un sistema biologico (recettore) può **NON ESSERLO** in un **ALTRO** sistema biologico (recettore)

MARCATORI DI AFFINITÀ

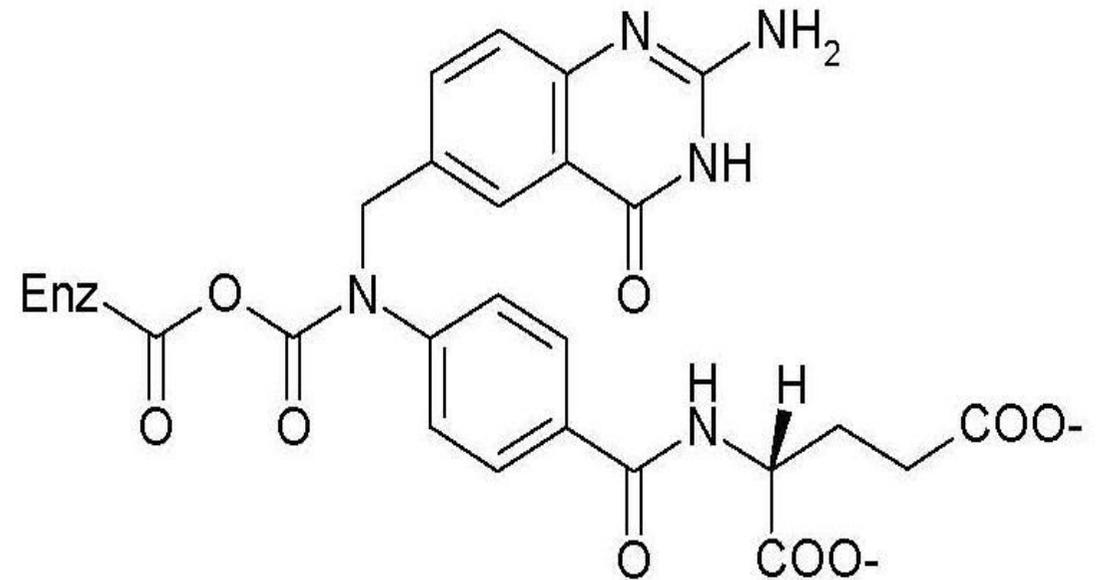


N-2,3-(Epoxypropil)-N-amminoglicina

MARCATORI DI AFFINITÀ

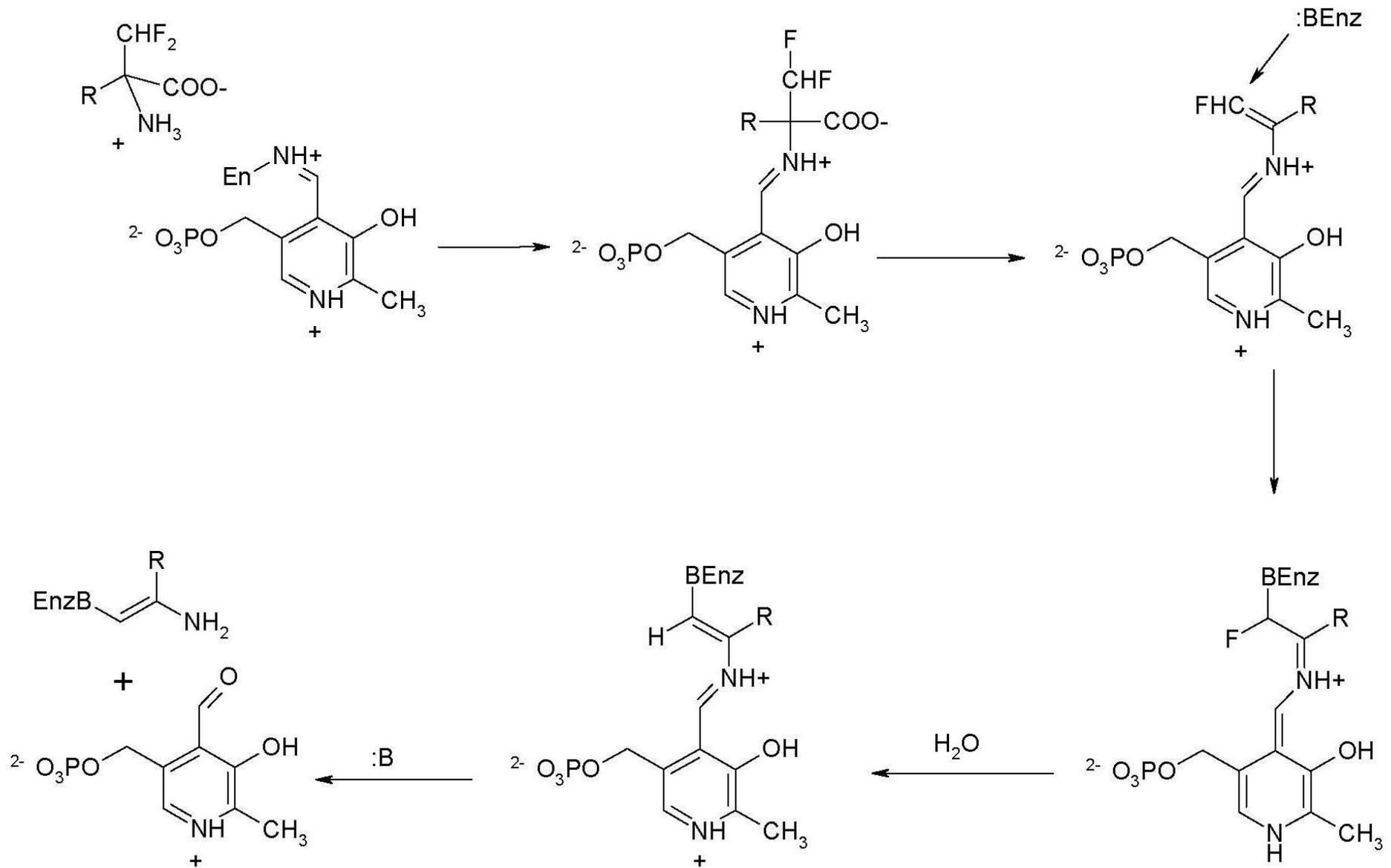


Bromoacetil-5,8-dideazafolato

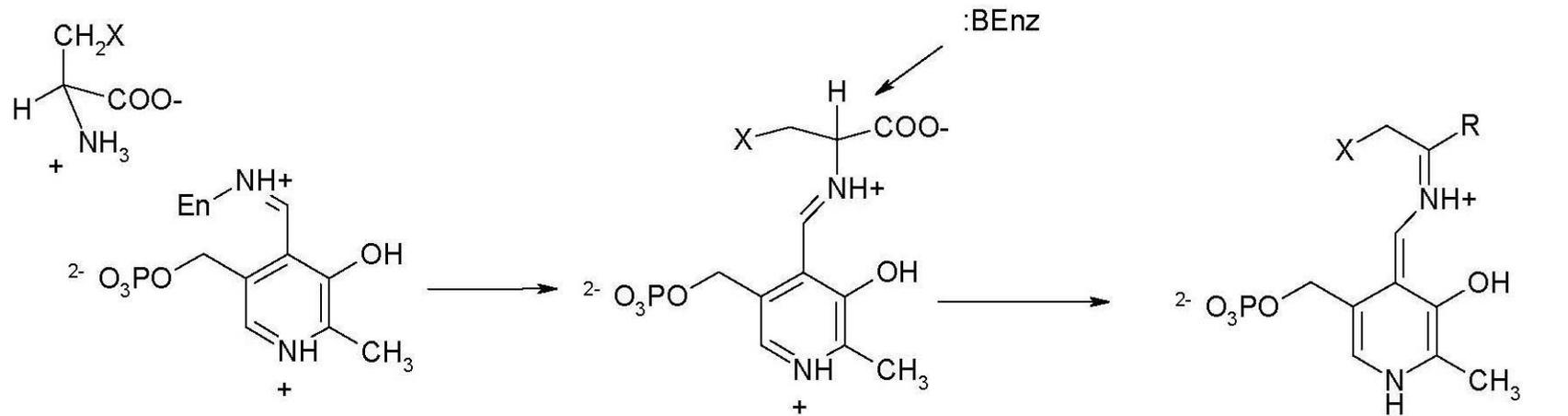


Glicinammide ribonucleotide transformilase

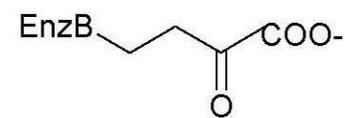
INIBITORI SUICIDI



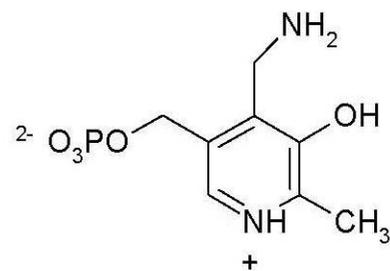
INIBITORI SUICIDI



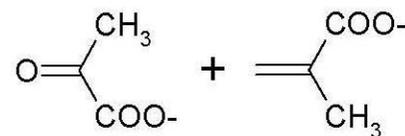
B/A = 830/1
Alanina Racemasi



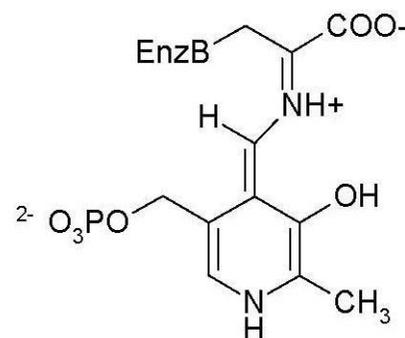
+



H₂O

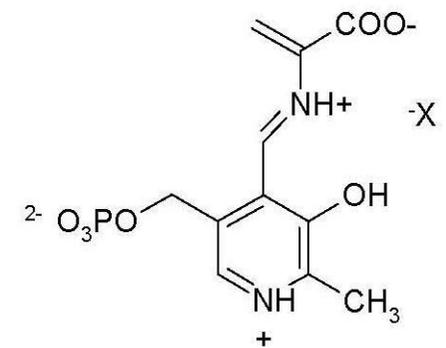


A

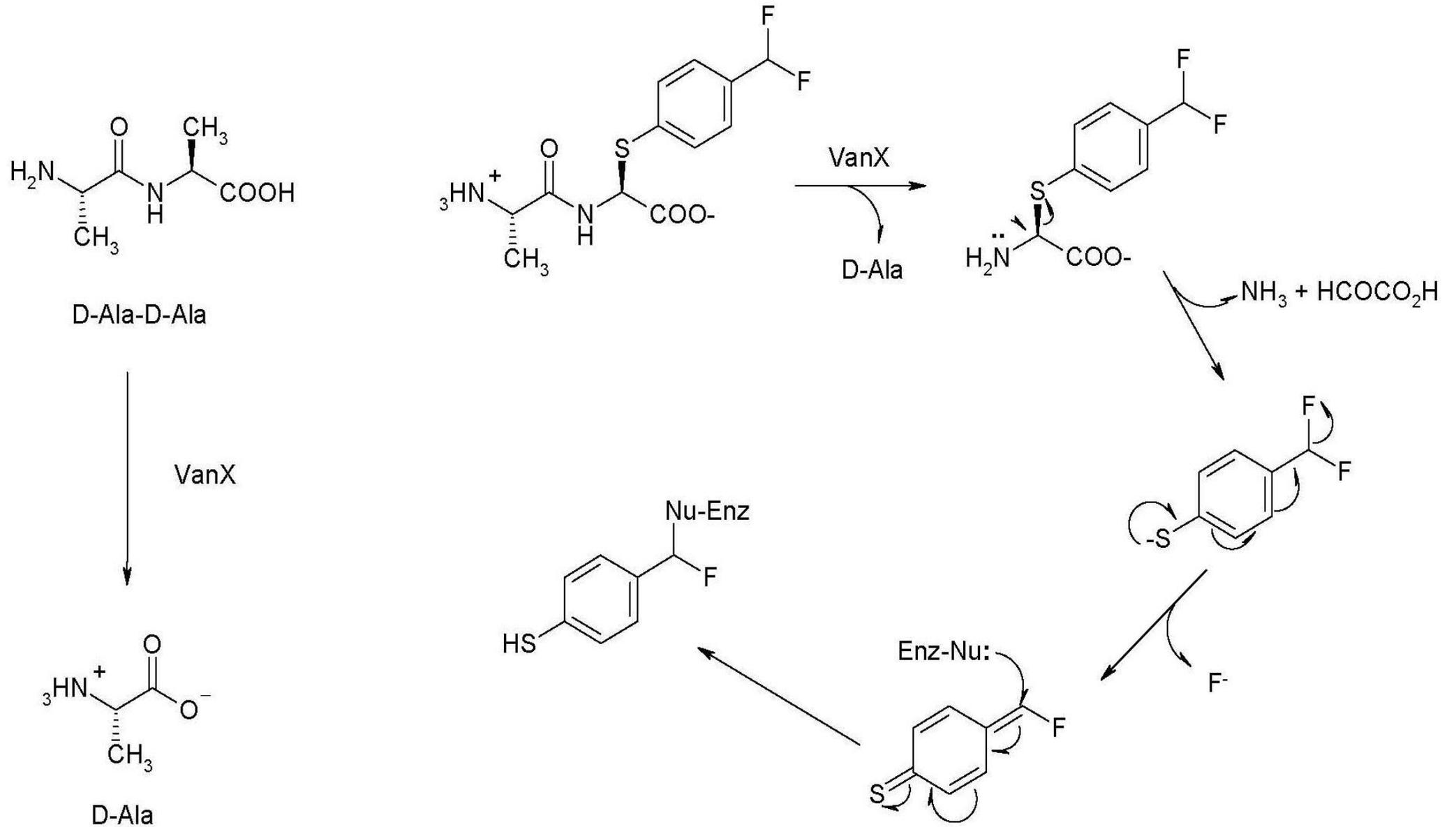


B

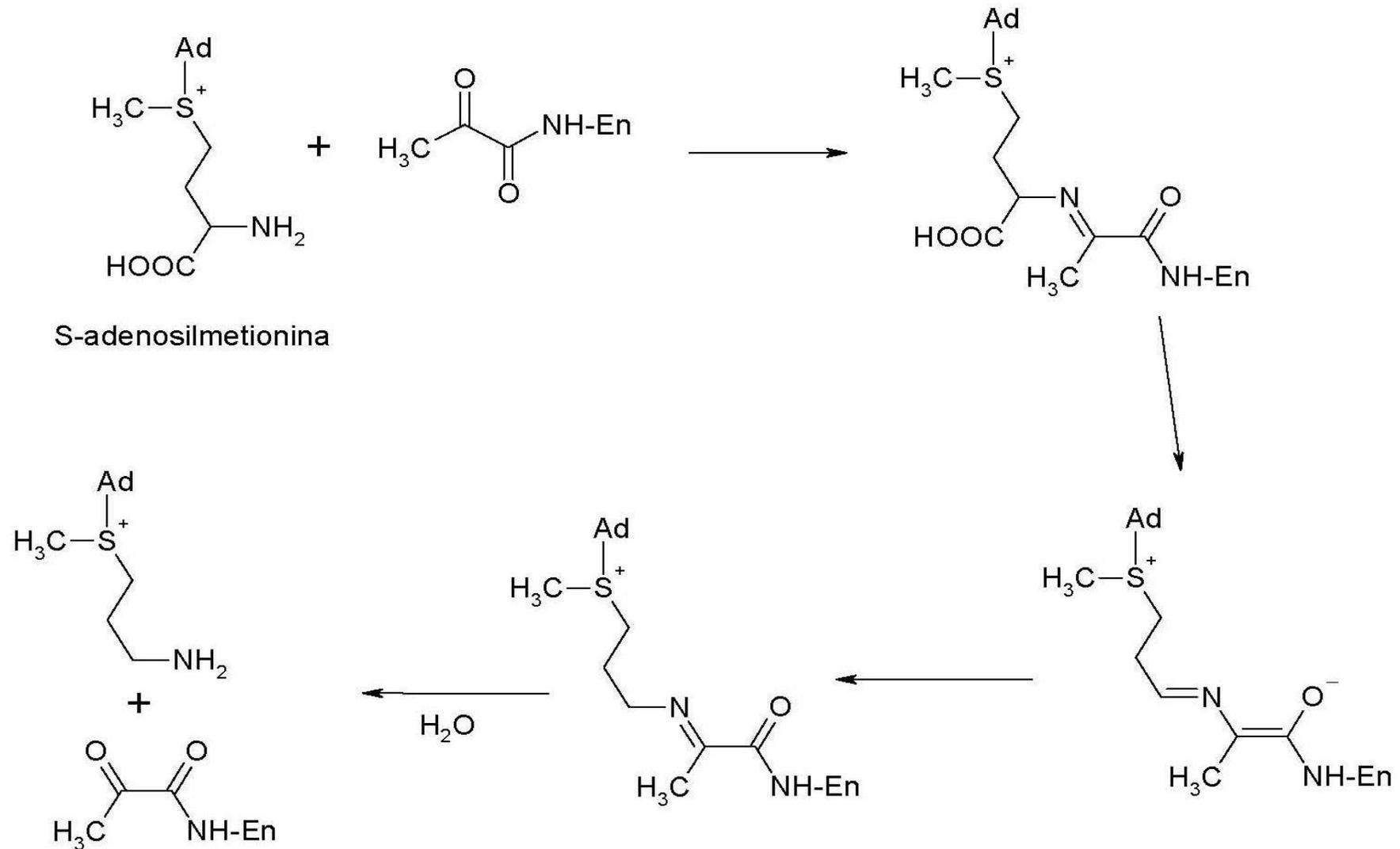
EnzB:



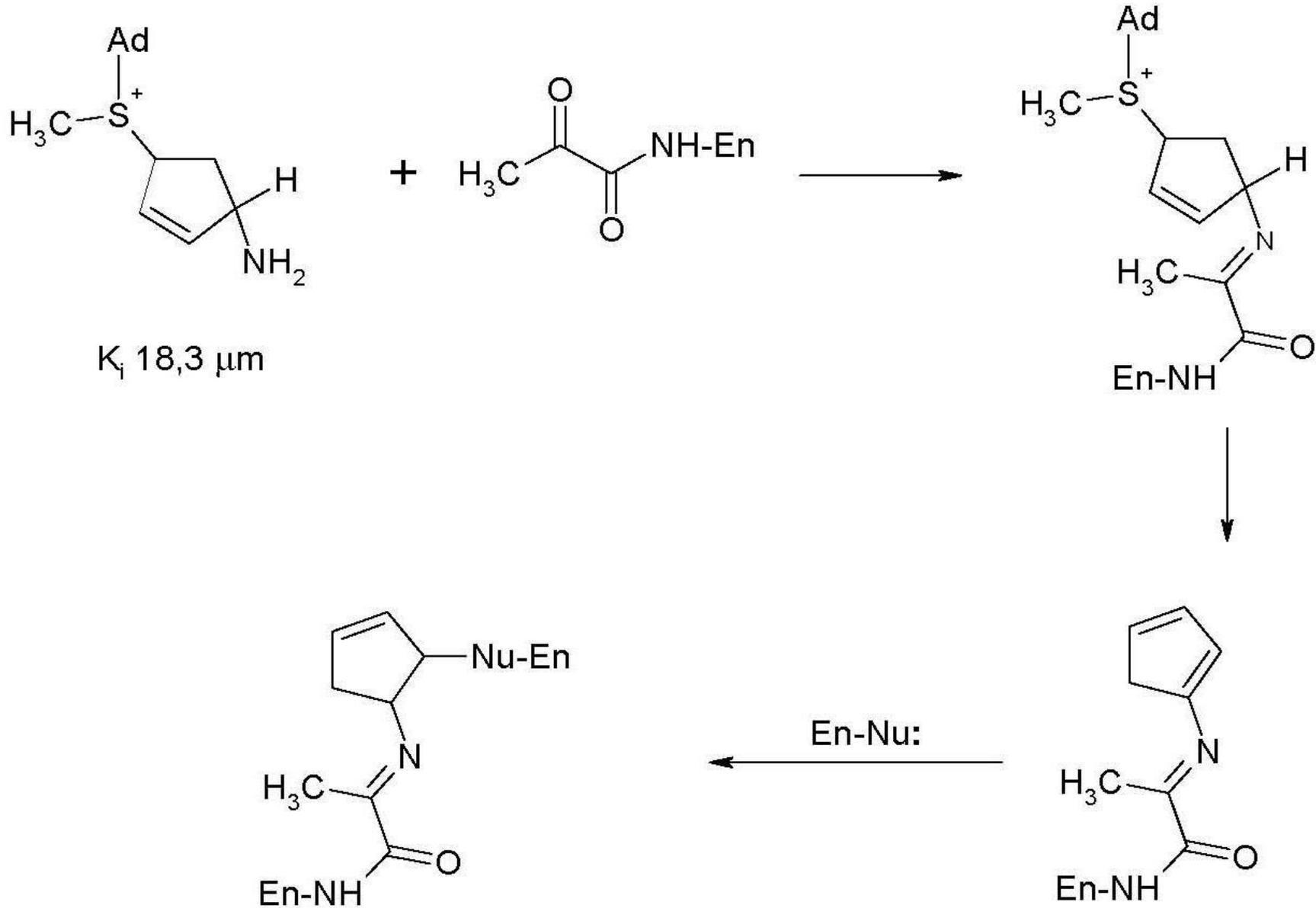
INIBITORI SUICIDI



INIBITORI SUICIDI



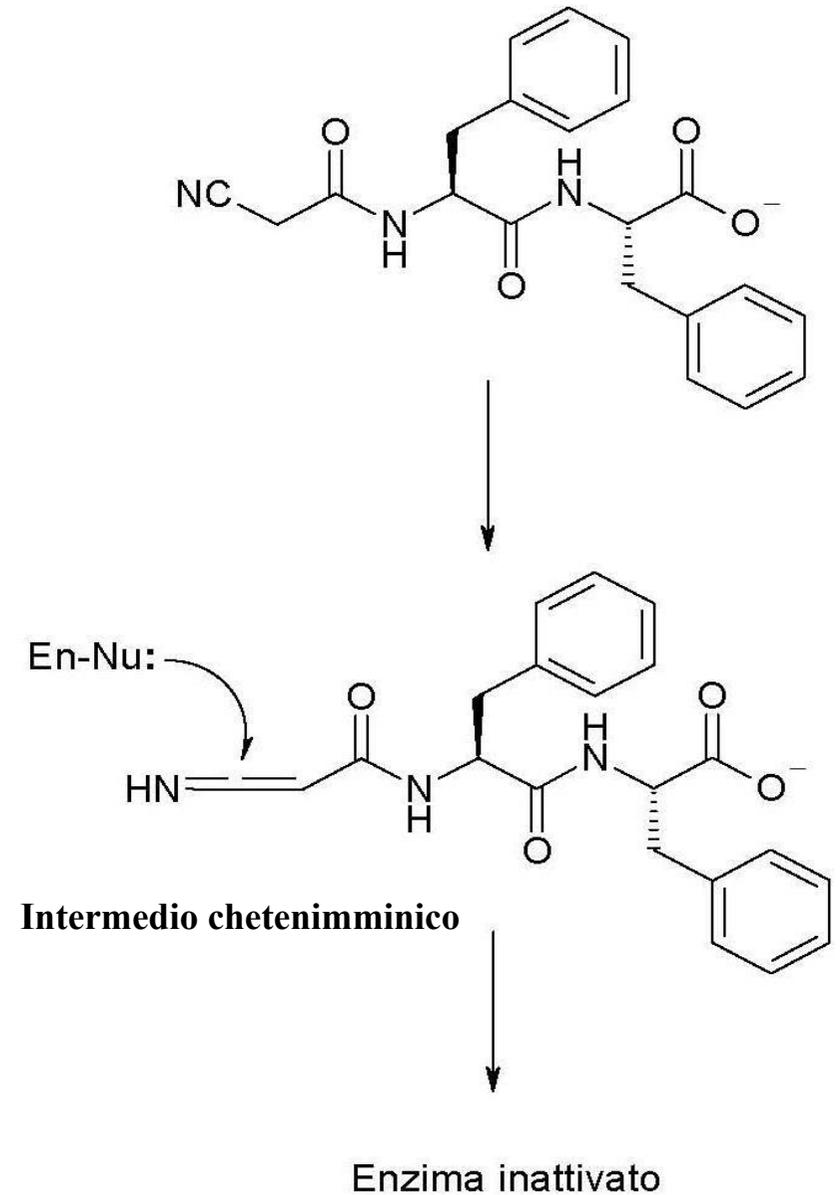
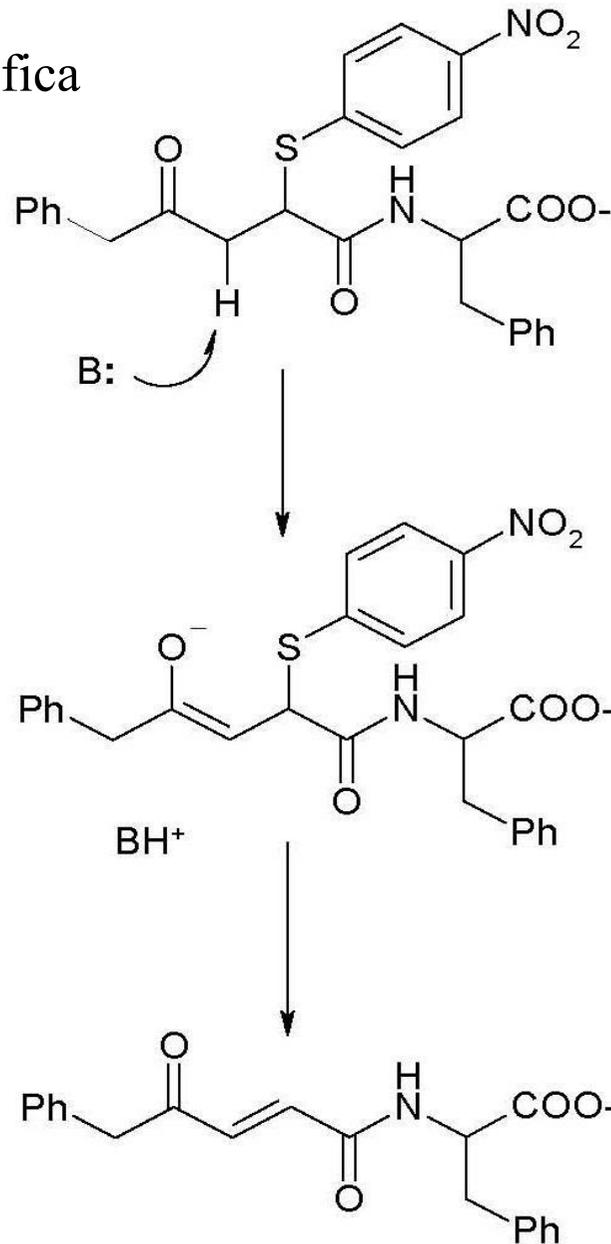
INIBITORI SUICIDI



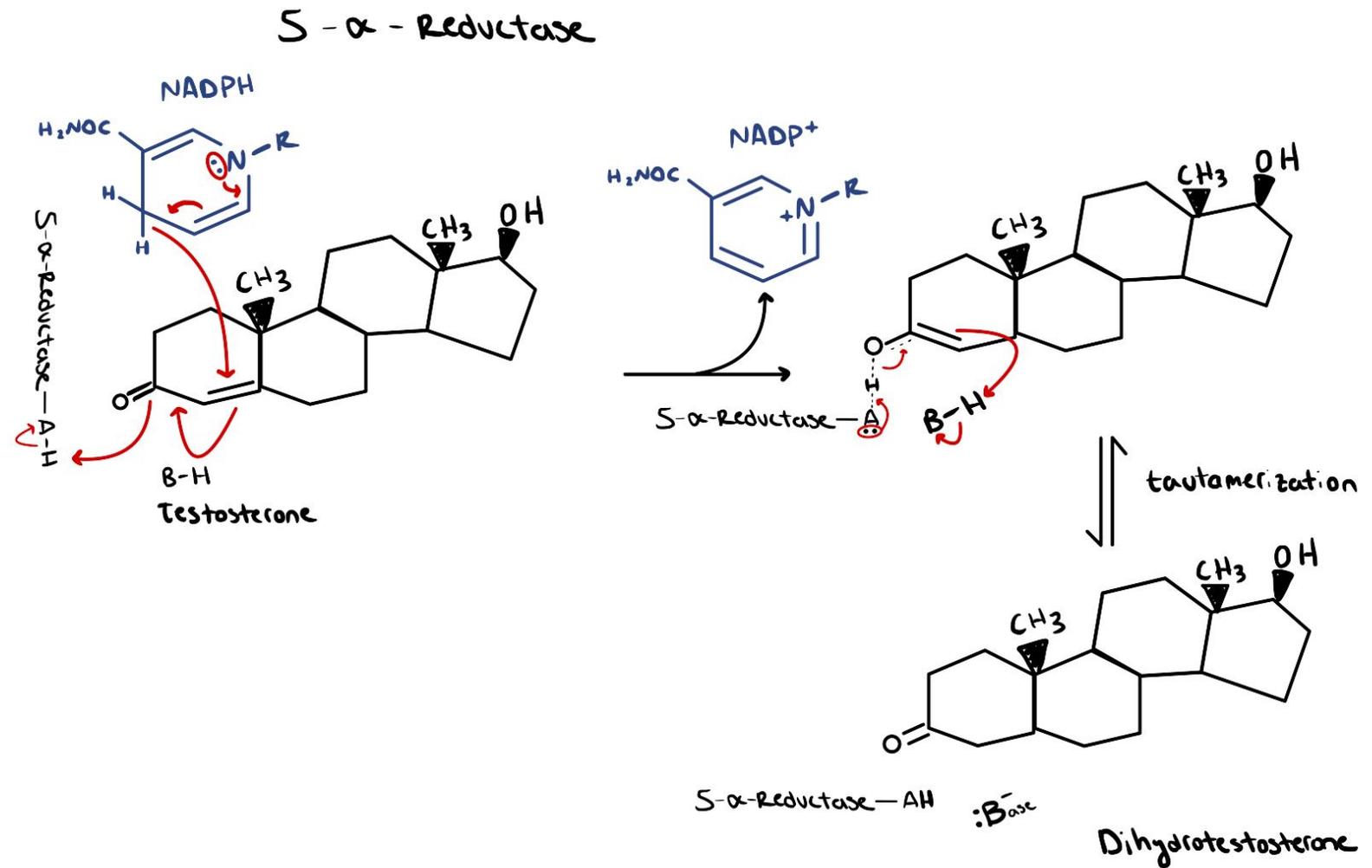
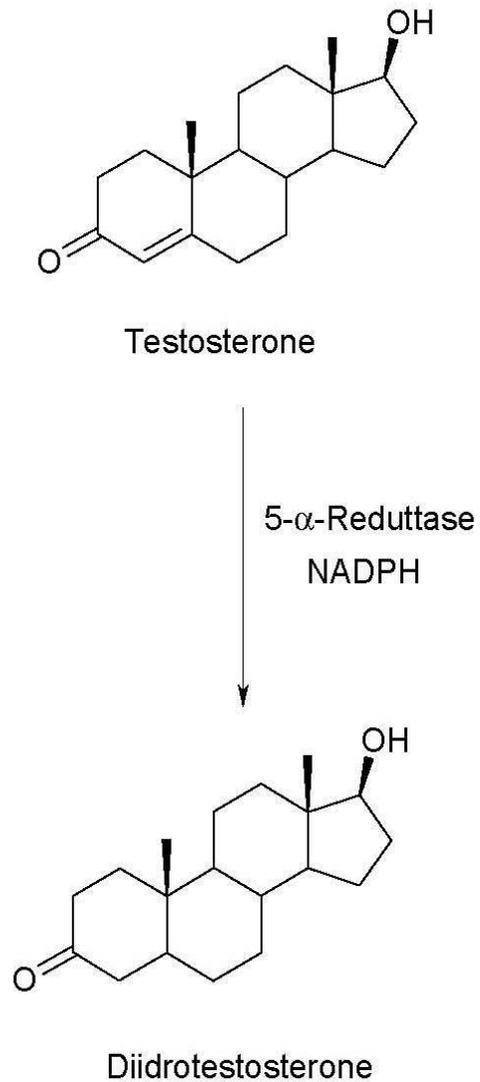
INIBITORI SUICIDI

ACE

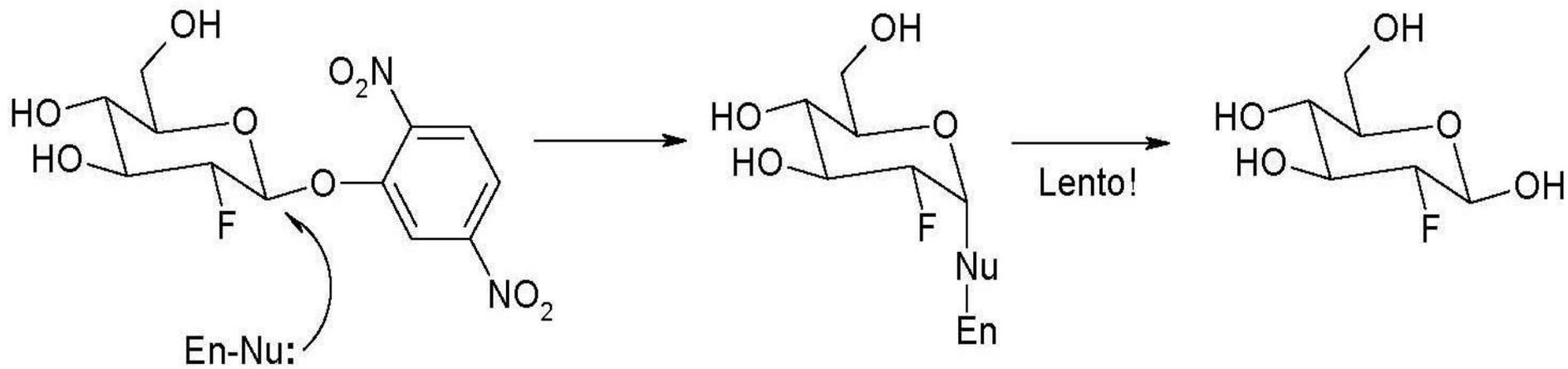
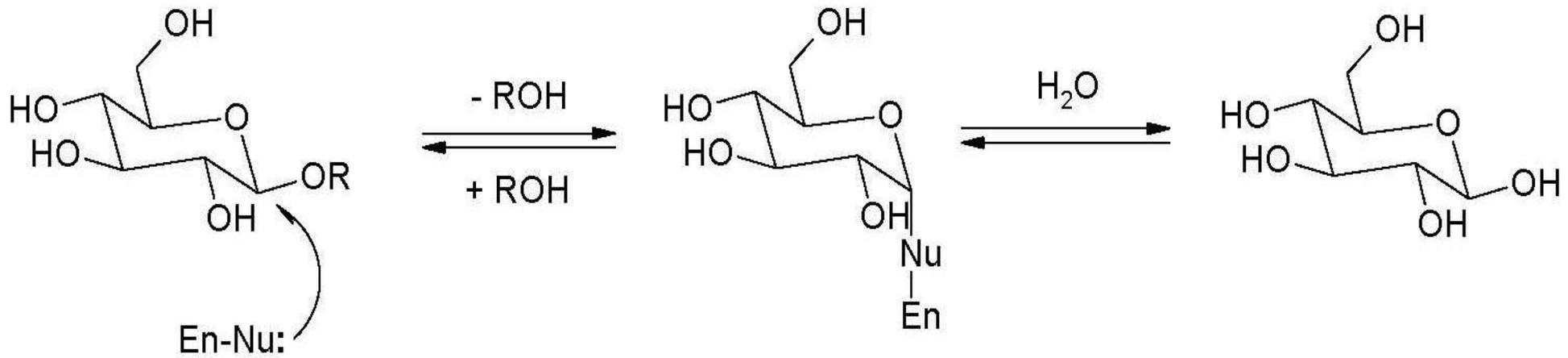
Enolizzazione stereospecifica
di substrati chetonici



INIBIZIONE PSEUDOIRREVERSIBILE

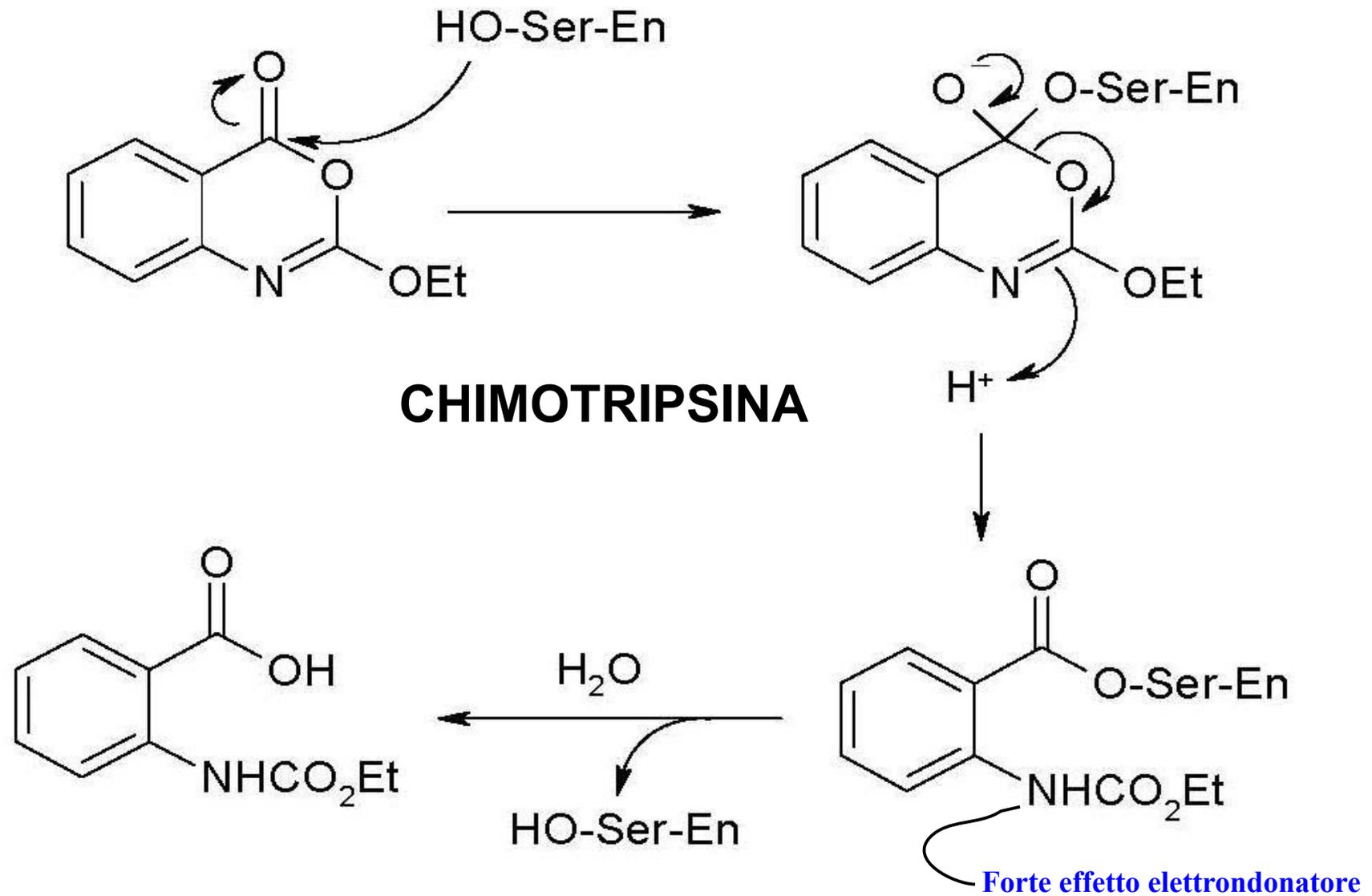


INIBIZIONE PSEUDOIRREVERSIBILE



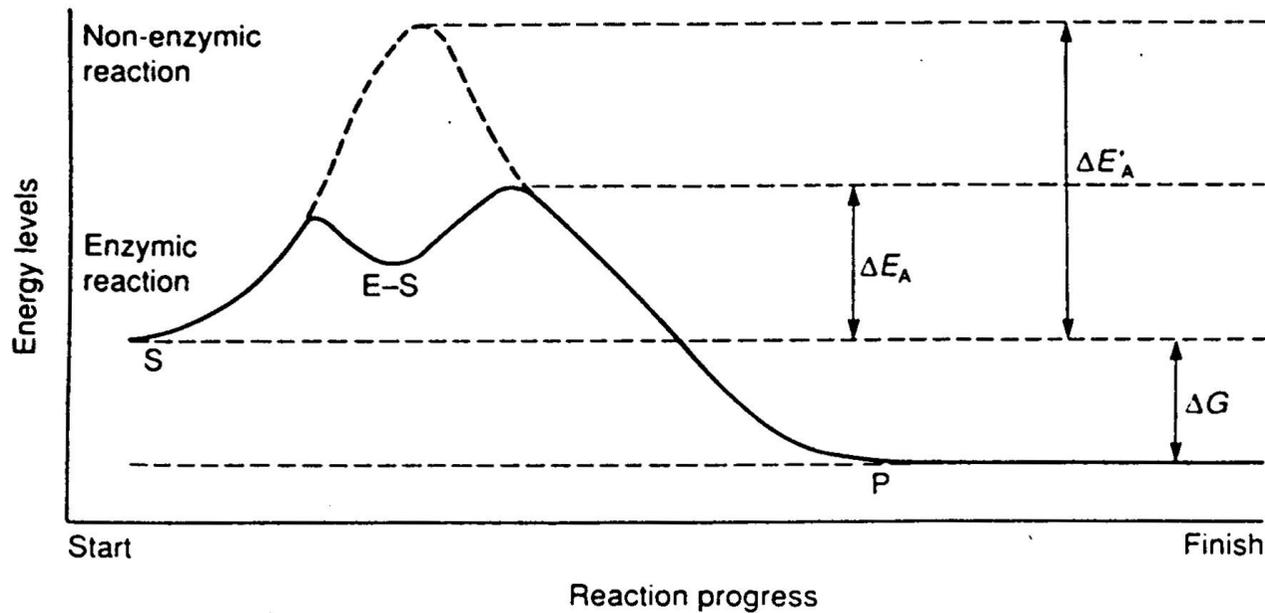
β -GLUCOSIDASE

INIBIZIONE PSEUDOIRREVERSIBILE



Lento! 11 ore circa

ANALOGHI STATO TRANSIZIONE



$$\frac{V_{enzimatica}}{10^{15}} = 10^{10} \div V_{non-enzimatica}$$

Fig. 2.2 The effect of enzyme catalysis on activation energy. ΔE_A is the activation energy for the enzyme-catalysed reaction and $\Delta E'_A$ for the non-enzymic reaction. ΔG is the free energy of the reaction.

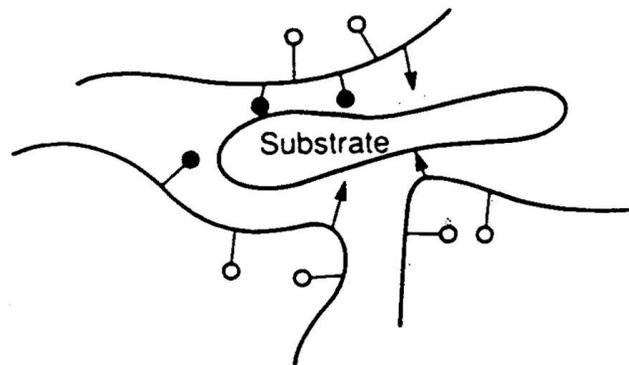
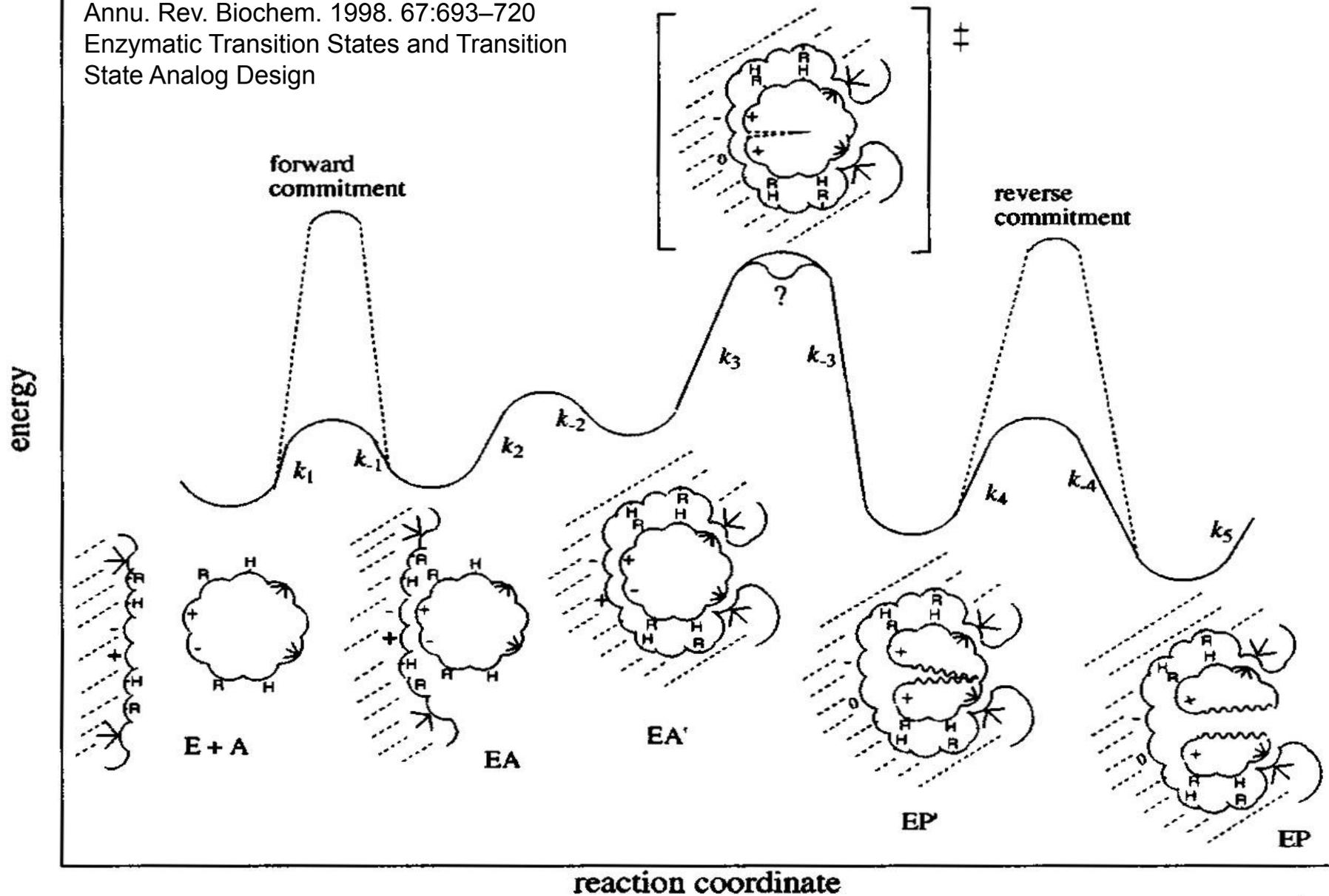


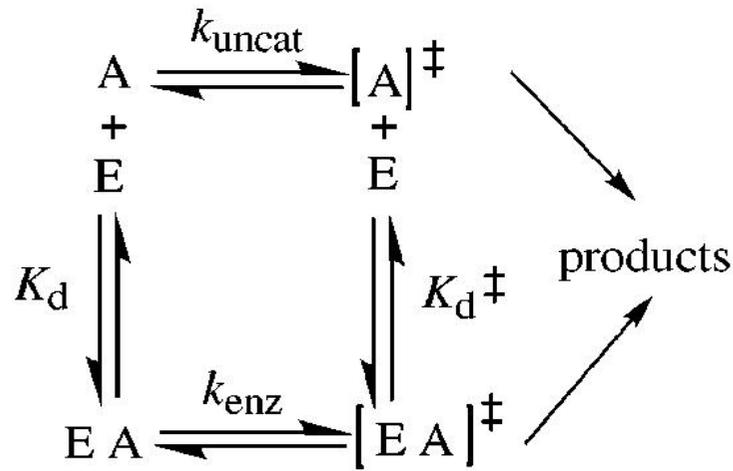
Fig. 2.3 Active site of an enzyme: —●, amino acids involved in binding site; —●→, amino acids involved in catalytic site; —○, amino acids not directly involved in active site.

ANALOGHI STATO TRANSIZIONE

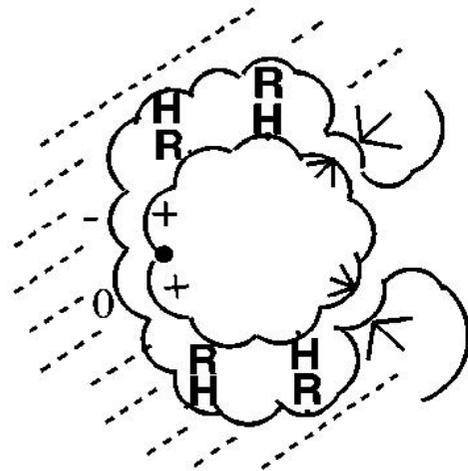
Vern L. Schramm
Annu. Rev. Biochem. 1998. 67:693–720
Enzymatic Transition States and Transition
State Analog Design



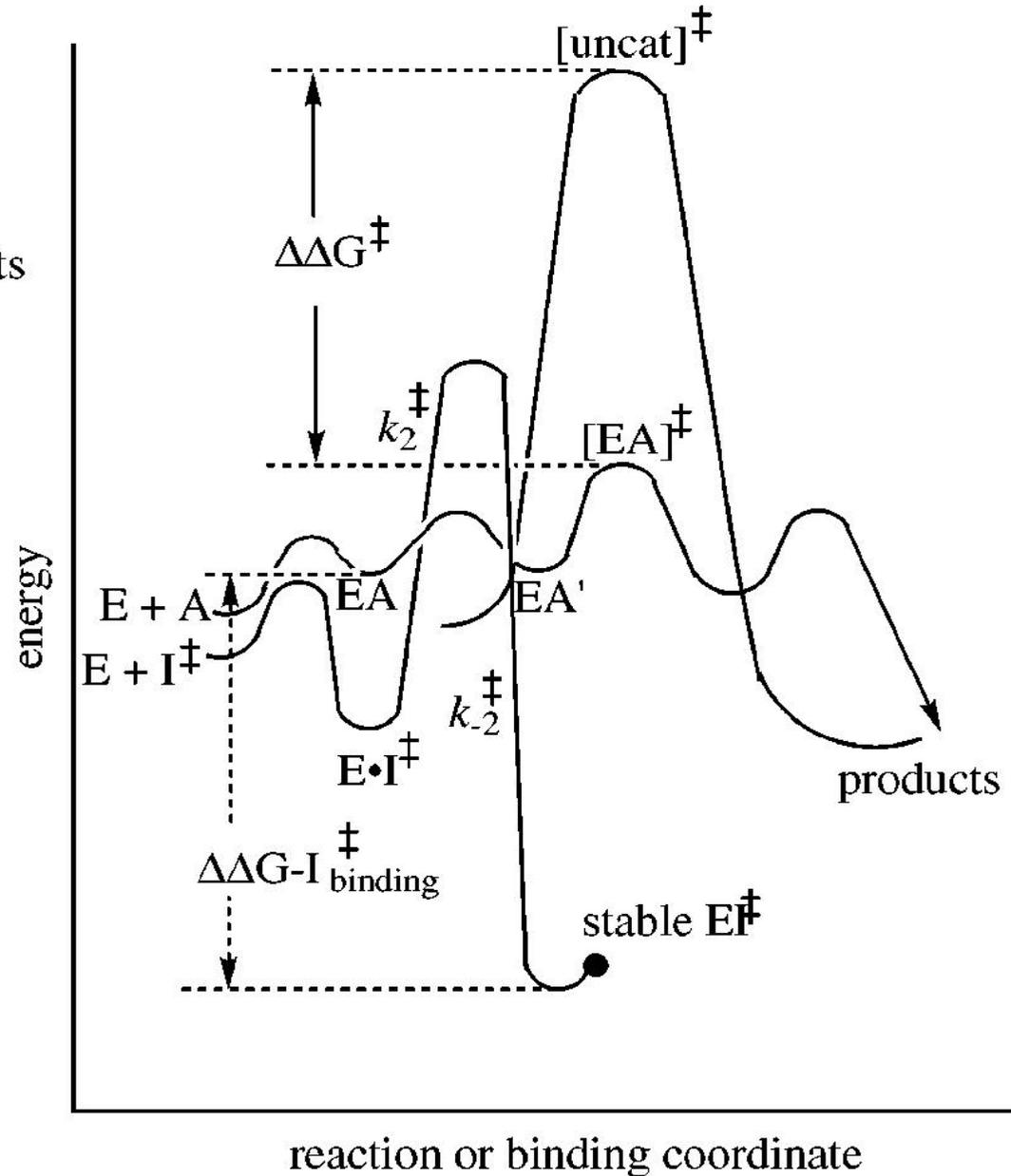
ANALOGHI STATO TRANSIZIONE



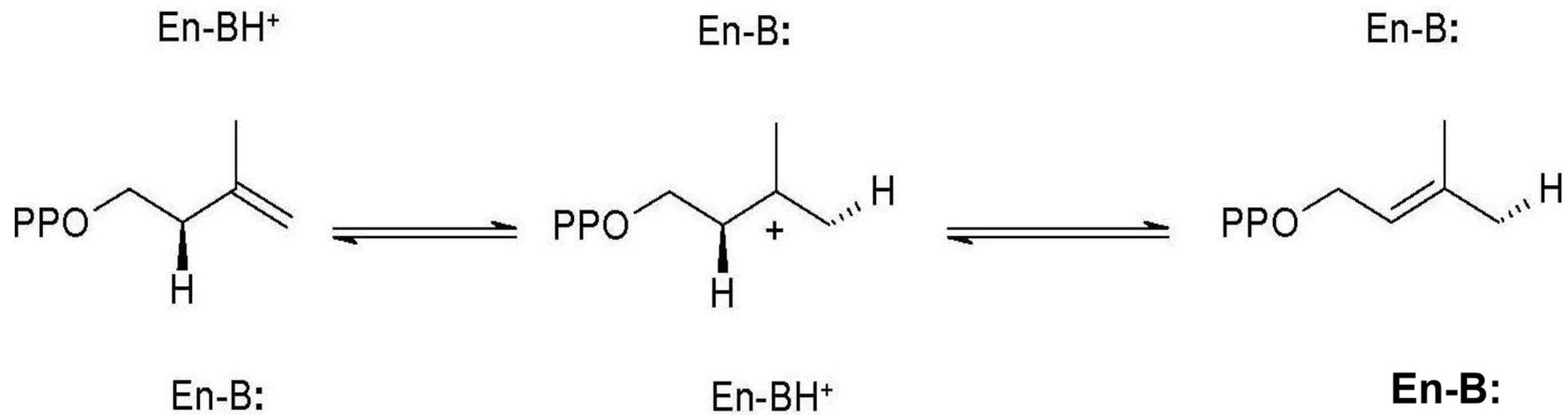
$$K_d^{\ddagger} = K_d \frac{k_{\text{uncat}}}{k_{\text{enz}}}$$



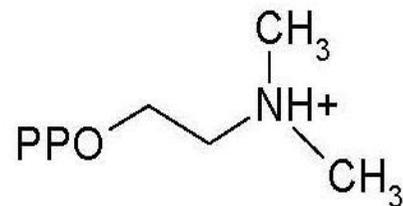
transition state inhibitor



ANALOGHI STATO TRANSIZIONE



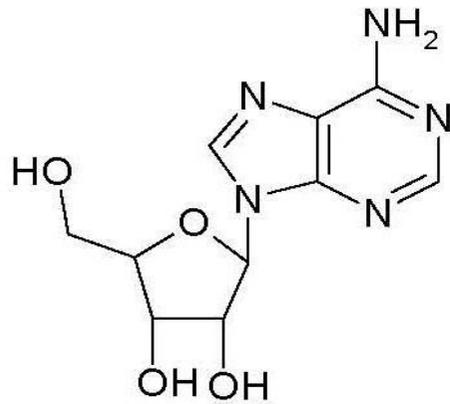
ISOPENTENILDIFOSFATO ISOMERASE



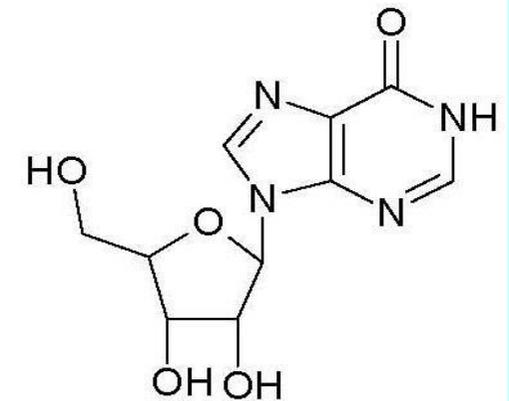
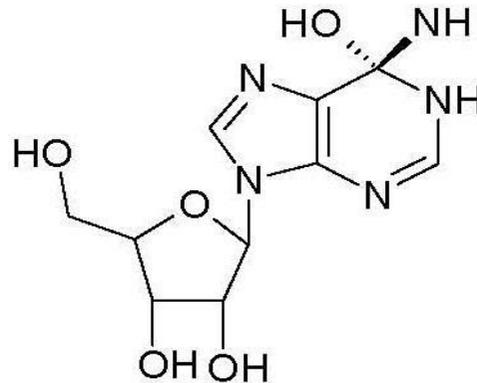
2-dimetilammino-1-etildifosfato

ANALOGHI STATO TRANSIZIONE

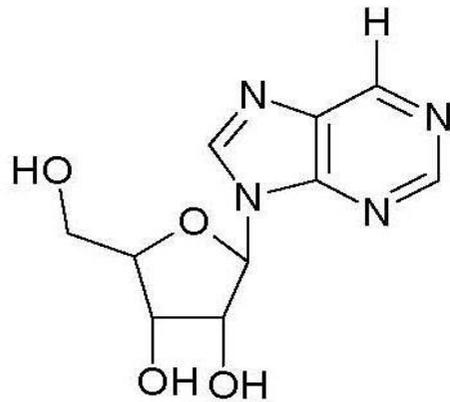
ADENOSINA DEAMINASE



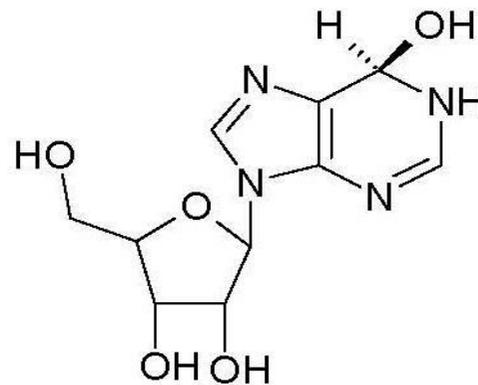
Adenosina



Inosina

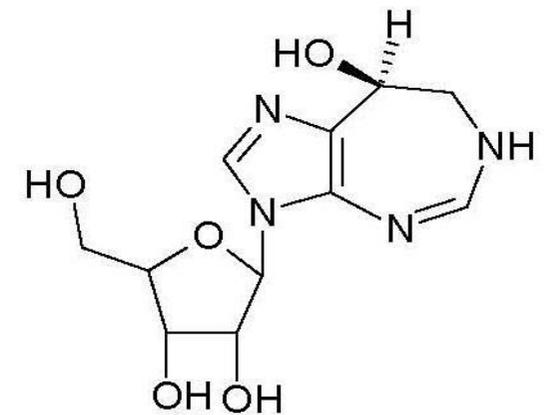


Nebularina



Nebularina 1,6-idrato

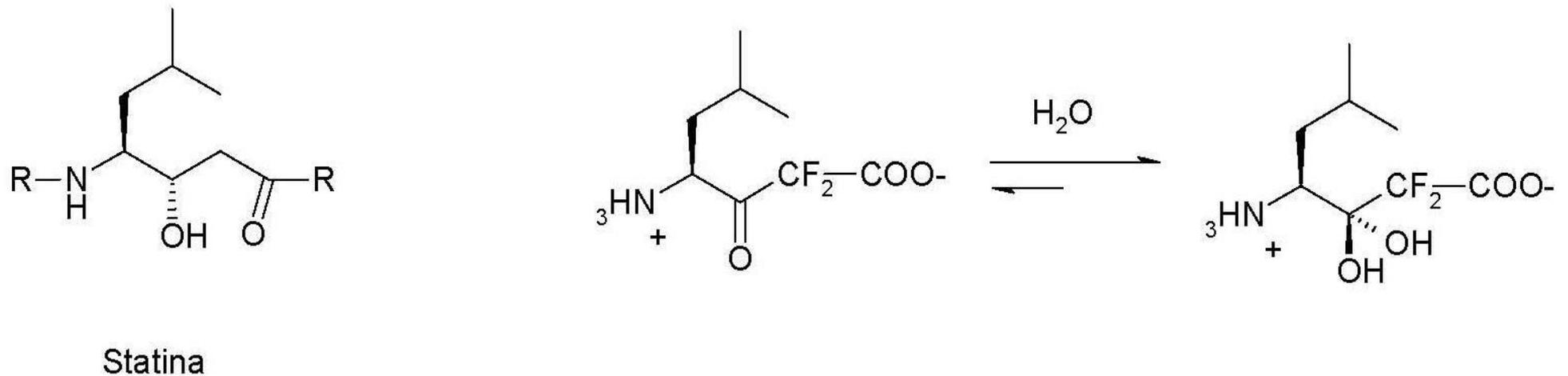
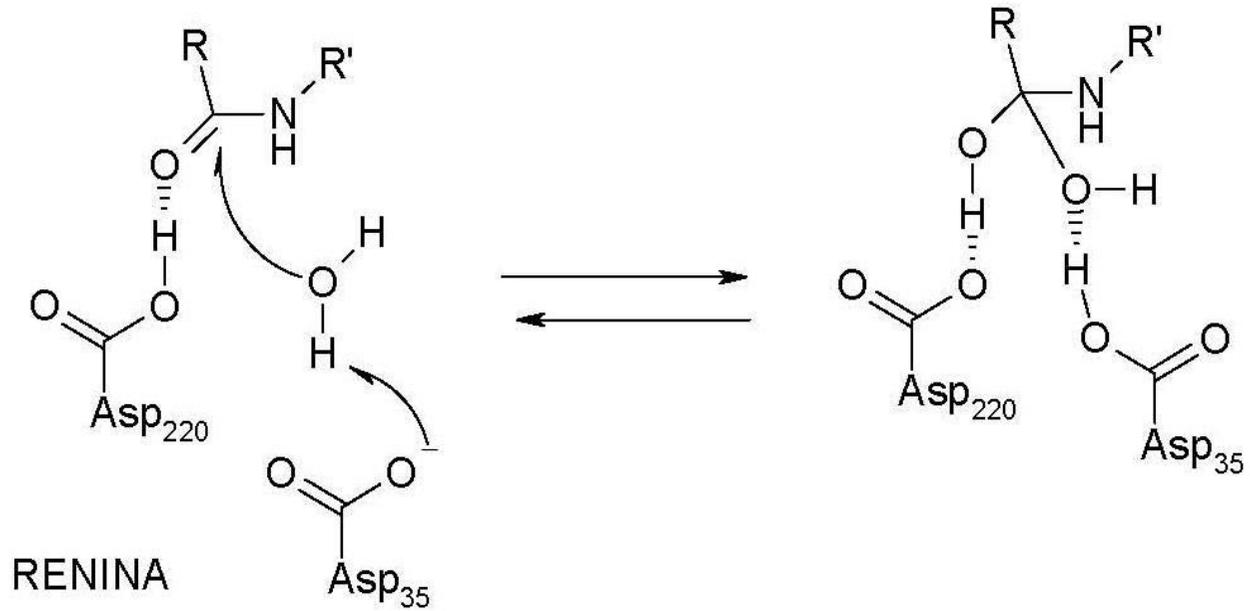
$K_i = 0.3 \mu\text{M}$



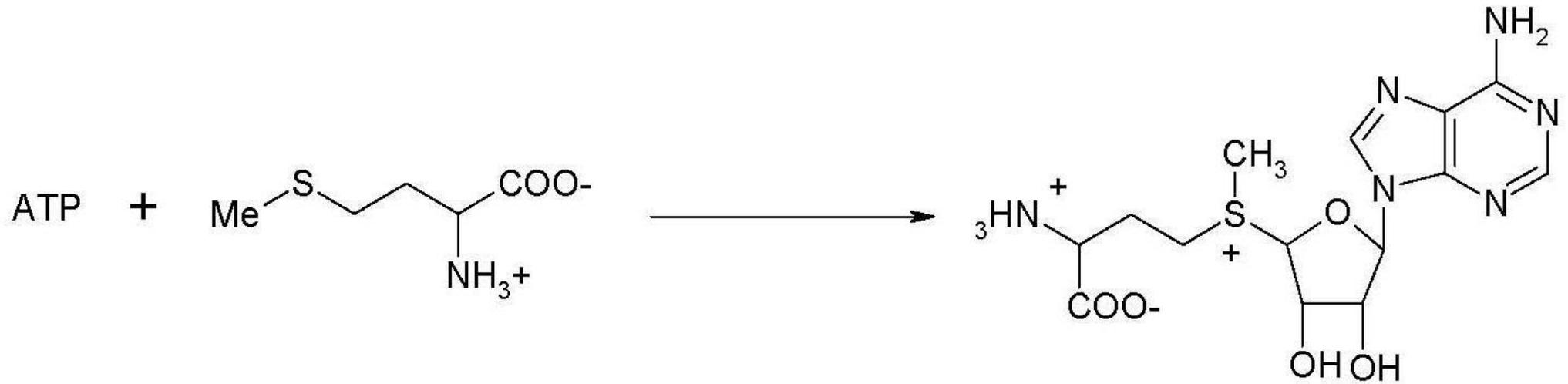
2-desossicoformicina

$K_i = 2.5 \mu\text{M}$

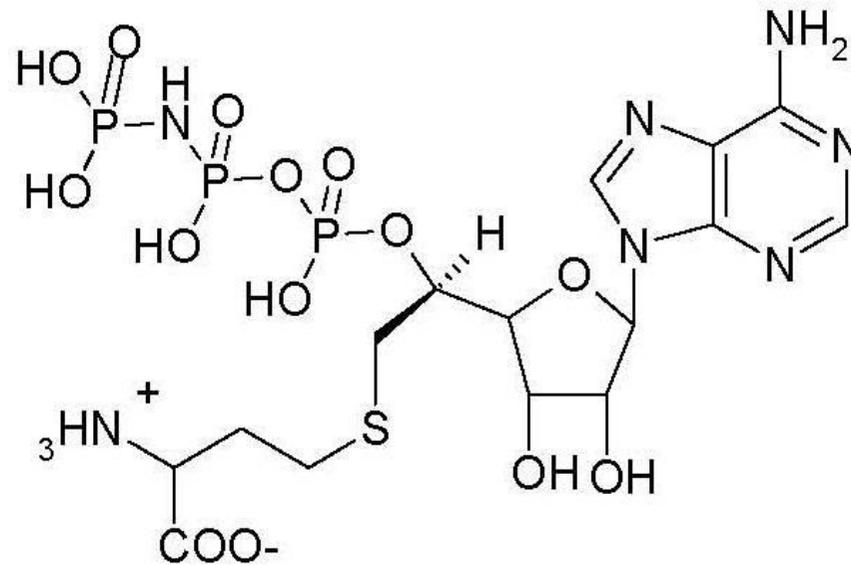
ANALOGHI STATO TRANSIZIONE



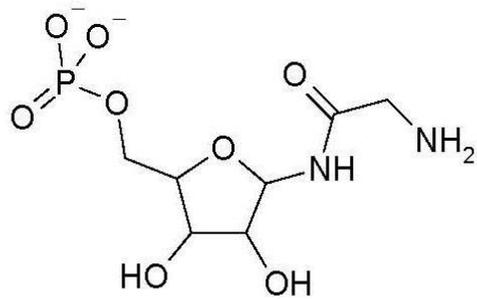
ANALOGHI MULTISUBSTRATO



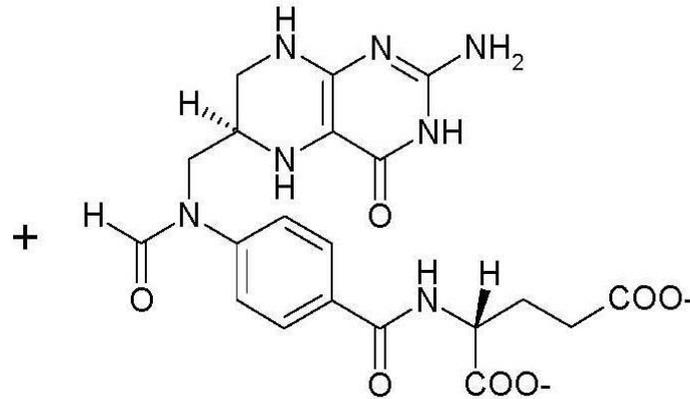
Metionina adenosiltransferase



ANALOGHI MULTISUBSTRATO

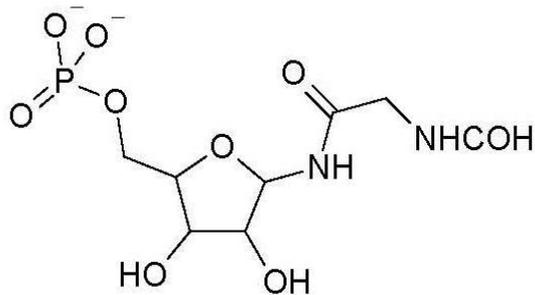


Glicinamide ribonucleotide

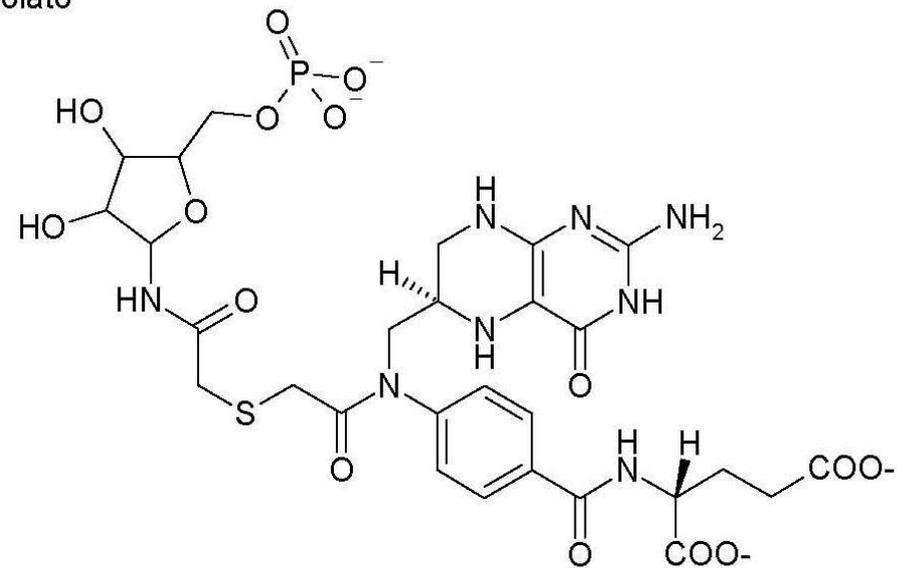
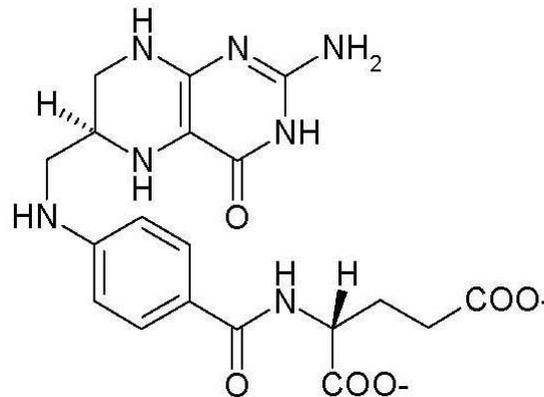


(6R, α S)-10-formiltetraidrofolato

Glicinamide ribonucleotide transformilase



+



$K_i = 250 \text{ pm}$