

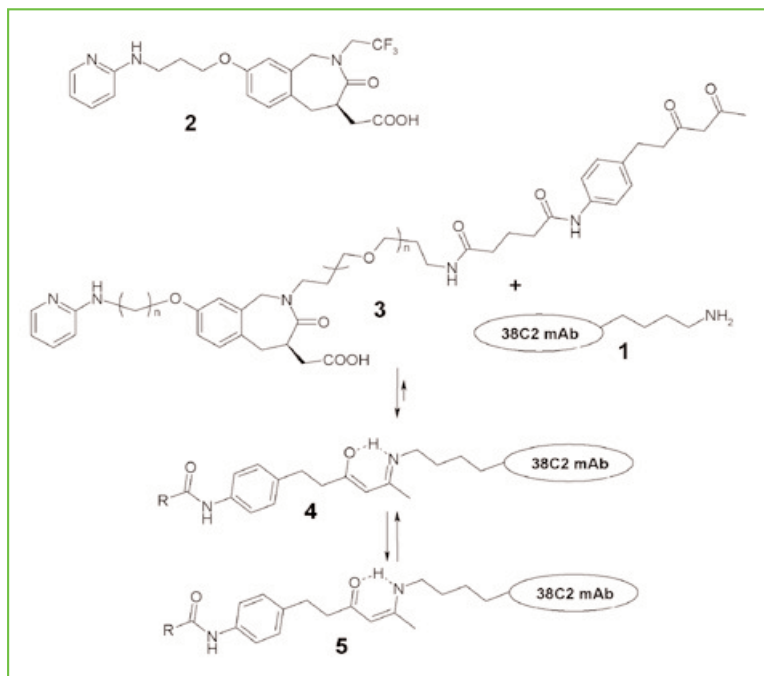
● L'uso di anticorpi monoclonali (mAb) come farmaci in varie aree terapeutiche è dimostrato dallo status, per alcuni di essi, di farmaci già registrati od in fase di sviluppo e registrazione; essi hanno, per così dire, già conquistato una fetta di mercato ed il loro utilizzo si va espandendo. D'altra parte non si può negare che le cosiddette "small organic molecules" abbiano un potenziale farmaceutico molto superiore: tra le altre cose, la loro diversità chimica è molto più alta e sinteticamente accessibile, la loro ottimizzazione strutturale può portare a composti molto più attivi, e possono raggiungere siti attivi "ingombrati" di vari target biologici che sono poco accessibili a macromolecole come i mAbs. Spesso, però, queste piccole molecole hanno una ridotta biodisponibilità ( $t_{1/2}$  dell'ordine di minuti o di ore, mentre i mAbs arrivano facilmente a settimane) e non sono in grado di inibire le cosiddette protein-protein interactions (superfici di interazione grandi, dove un mAb, a causa della sua dimensione, può essere più efficace).

piccola molecola organica allo scopo di formare un legame covalente reversibile; fra i legami possibili, è stato prescelto quello con una funzione 1,3-dichetonica.

Vediamo in dettaglio l'approccio sintetico utilizzato in Figura. Recentemente la struttura **2** è stata riportata come potente antagonista di alcuni membri della famiglia delle integrine (importanti in signal transduction e in cell adhesion, quindi come target per farmaci anticancro). Essendo nota una certa libertà di sostituzione del gruppo  $\text{CF}_3$  pur mantenendo una buona attività biologica, nel lavoro oggi descritto è stato preparato il derivato **3**. Esso contiene la struttura responsabile per l'attività, ma possiede anche un gruppo 1,3-dichetonico collegato al nucleo originale attraverso un complesso linker etereo-ammidico-aromatico. La molecola **3** mantiene un'ottima affinità per vari target integrinici. Quando **1** e **3** sono incubati insieme, si assiste alla formazione degli addotti reversibili **4** e **5** (rispettivamente imminico ed enaminico) in equilibrio fra loro.

Il composto **2**, pur essendo molto attivo, mostra un'emivita in siero (indicativa della sua stabilità in vivo) di circa 15 minuti, un tempo troppo ridotto per applicazioni farmacologiche. L'anticorpo 38C2 (composto **1**) invece, da solo, ha un'emivita di circa 4 giorni in siero. Il coniugato reversibile **4/5** mostra, come determinato attraverso misurazione specifica di fluorescenza (capace di discriminare ognuna delle specie **1**, **3** e **4/5**), un'emivita intorno ai 3 giorni.

Il coniugato **4/5** mostra anche una forte attività su modelli in vivo di cancro al colon (topo nudo xenografato con linee cellulari dal sarcoma di Kaposi). In questi modelli è osservata una significativa espressione delle integrine  $\alpha_v\beta_3$  ed  $\alpha_v\beta_5$ ; come detto, l'esposizione a **4/5** provoca una marcata riduzione della crescita del tumore, mentre sia esposizione ad **1** (non attivo) che a **3** (non sufficientemente stabile in vivo) non provoca effetti significativi. Gli stessi autori hanno paragonato l'azione di **4/5** con quella dell'mAb JC-7U, da loro precedentemente preparato attraverso "in vitro evolution" ed ottimizzato verso questi target: il nuovo coniugato reversibile si è dimostrato migliore, provando quindi che la specificità impartita dalla piccola molecola organica ottimizzata supera quella ottenibile per evoluzione del mAb. Per concludere, la biodisponibilità del



Vari gruppi in passato hanno cercato di combinare i vantaggi delle due classi strutturali sintetizzando dei coniugati, più o meno specifici, dove la piccola molecola organica e il mAb sono legati covalentemente in maniera irreversibile. Alcuni lavori hanno prodotto risultati interessanti, ma in generale l'additività sperata (vantaggi delle piccole molecole e dei mAbs contemporaneamente presenti nelle nuove entità) non è stata ottenuta; spesso, in più, la coniugazione ha provocato una diminuzione nell'affinità per il target biologico desiderato.

Oggi vorrei parlarvi di un approccio innovativo nel disegno e nella somministrazione di nuovi farmaci, ottenuti da "ibridi" coniugati costituiti da una piccola molecola organica legata reversibilmente con un anticorpo monoclonale (Rader *et al.*, Proc. of the National Academy of Sciences USA, 2003, **100**, 5396).

I ricercatori in questione hanno deciso di utilizzare come macromolecola il mAb 38C2 (**1**, Figura 1), appartenente alla categoria degli anticorpi catalitici (reazioni aldoliche e retro-aldoliche) attraverso reazioni promosse dall' $\epsilon$ -ammino gruppo di un residuo lisinico. La funzione amminica libera di questo residuo lisinico è stata scelta come gruppo interagente con una

coniugato è divenuta simile a quella di un mAb pur mantenendo tutte le caratteristiche positive della piccola molecola organica **3**; ciò è logico se pensiamo che **4/5** agisce anche come "slow-release prodrug" di **3**, rilasciandolo nell'arco dei 3 giorni in piccola quantità e permettendogli di essere sempre presente per inibire la crescita tumorale. Un analogo approccio "classico" con **3** richiederebbe la somministrazione in alte dosi e con strumenti complessi (pompe di erogazione in continuo) per ottenere gli stessi risultati terapeutici.

Ancora più significativa è la generalità di questo metodo. Il mAb 38C2, infatti, non ha alcuna attività sui target biologici qui considerati ed è quindi utilizzato come carrier/effettore del principio attivo **3**. Lo stesso approccio può essere quindi adottato per un qualsiasi composto organico che rechi la funzione 1,3-dichetonica. Si tratta quindi di inserire quest'appropriata funzione in aree strutturali di principi attivi conosciuti così che essi mantengano l'attività desiderata, per poi ottimizzarne le proprietà in vivo attraverso coniugazione reversibile. A mio modesto parere è probabile che questo e simili approcci divengano molto popolari in ricerca farmaceutica nel prossimo futuro.