

# APTUIT: DRUG DISCOVERY & DEVELOPMENT AL SERVIZIO DELLA RICERCA FARMACEUTICA

APTUIT-VERONA È UNA SOCIETÀ LEADER NEL SETTORE DELLE CROs (CONTRACT RESEARCH ORGANISATIONS), IN GRADO DI OFFRIRE IN UN UNICO SITO TUTTI I SERVIZI NECESSARI PER SOSTENERE SIA PROGETTI INTEGRATI SIA SINGOLE ATTIVITÀ DI R&S IN AMBITO FARMACEUTICO. L'ESPERIENZA DEI RICERCATORI NEL CAMPO ANTIBATTERICO È UNO DEI PUNTI DI FORZA DI APTUIT-VERONA, RENDENDOLA IN GRADO DI CONTRIBUIRE EFFICACEMENTE ALLO SVILUPPO DEI PROGETTI IN QUESTO CAMPO

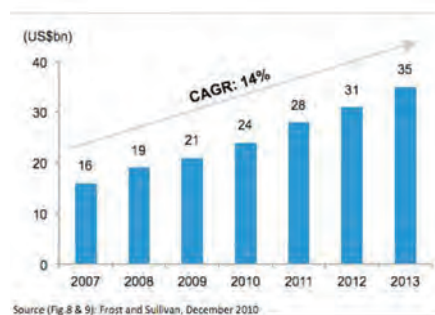


Fig. 1  
Global CRO Market size

Negli ultimi anni, l'esternalizzazione da parte di aziende operanti nel settore R&D farmaceutico di attività progettuali a Contract Research Organisations (CROs) è una prassi sempre più comune. Questo perché molte delle CROs presenti sul mercato offrono un servizio di qualità in grado di rispondere alle esigenze di flessibilità richieste dalle industrie farmaceutiche. A dimostrazione di questo il mercato delle CROs è un settore in forte crescita (CAGR<sup>1</sup> del 14%) (Fig. 1).

Aptuit è una CRO fortemente impegnata nella ricerca farmaceutica, con un organico di circa 700 persone, delle quali circa 400 operano presso il Centro di Verona.

Il Centro Aptuit di Drug Discovery & Development di Verona nasce nel 2010 a seguito del trasferimento delle attività del centro ricerche GlaxoSmithKline ad Aptuit. Il Centro ospita, in oltre 65.000 m<sup>2</sup> di laboratori, le più avanzate tecnologie, impianti e attrezzature scientifiche, inoltre i ricercatori

che lavorano in questo sito possono vantare competenze in biologia, farmacologia, chimica medicinale e computazionale, valutazione della sicurezza del farmaco, sviluppo chimico, chimica analitica, sviluppo farmaceutico, bioanalitica, farmacocinetica, metabolismo e scienze cliniche. Il Centro di Verona svolge attività di ricerca scientifica per conto degli operatori del settore farmaceutico ed è in grado di fornire ai propri clienti una piattaforma completa ed integrata di competenze, tecnologie e servizi a supporto dell'intero processo di Drug Discovery & Development di nuovi farmaci, fino alla produzione del prodotto e alla sua distribuzione per la sperimentazione clinica (Fig. 2).

Negli ultimi quattro anni il Centro Aptuit di Drug Discovery & Development di Verona ha stabilito rapporti commerciali con oltre 150 aziende impegnate nel settore farmaceutico e non solo. A dimostrazione degli ottimi

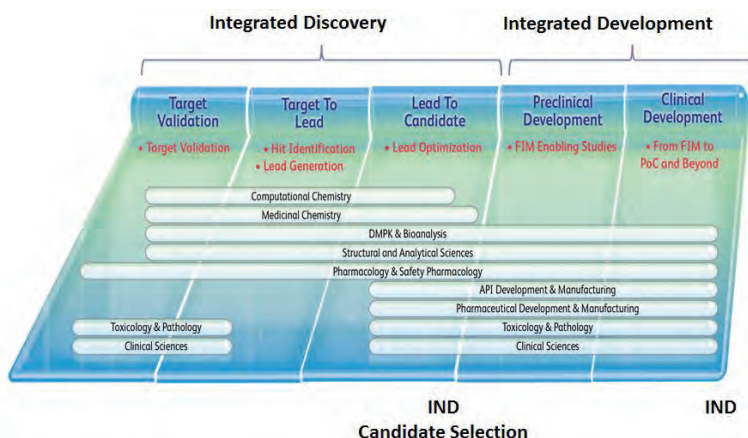


Fig. 2

Il Centro Aptuit di Drug Discovery & Development di Verona Integrated Discovery & Development Approaches

standard di qualità della ricerca svolta in questo centro va sottolineata l'alta percentuale di fidelizzazione dei suoi clienti, che continuano a mantenere rapporti di collaborazione, espandendo, ove possibile, il loro volume di business in Aptuit. Con il consenso e la co-partecipazione dei suoi clienti, in questi anni il Centro Aptuit di Verona ha potuto contribuire alla divulgazione scientifica con oltre 100 pubblicazioni.

In particolare, il gruppo di Drug Design & Discovery (DDD), che costituisce una delle tre business unit presenti nel Centro di Verona<sup>2</sup>, è focalizzato nell'attività di drug discovery in alcune importanti aree terapeutiche specifiche, quali quelle degli antibatterici, del sistema nervoso centrale e delle malattie respiratorie ed oncologiche.

L'area antibatterica, in particolare, sta rivestendo sempre maggiore importanza. Grazie al network internazionale di contatti accademici ed ospedalieri e al know-how accumulato in tanti anni, in particolare nel campo di  $\beta$ -lattamici<sup>3</sup>, macrolidi<sup>4</sup>, inibitori delle topoisomerasi batteriche, tetracicline, solo per citare alcuni esempi, il Centro Aptuit di Verona si presenta come un valido partner per lo sviluppo di progetti di ricerca in questo campo.

Molto spesso quando pensiamo o parliamo di microorganismi li rappresentiamo come entità dannose da eliminare e combattere, quando in realtà senza di essi molte attività (dalla fermentazione alcolica all'agricoltura, dalla produzione di farmaci a quella dei formaggi) non sarebbero altrimenti fattibili. Solo una minoranza dei batteri conosciuti (3-5%) sono patogeni per l'uomo. La quasi totalità dei batteri con cui condividiamo il nostro corpo, sebbene rappresentino solo lo 0,1%

del peso di un uomo medio, a causa delle loro dimensioni sono 10 volte più numerosi delle cellule presenti nel corpo umano. Dobbiamo prendere atto che i batteri sono "intelligenti", rispondono molto efficacemente e rapidamente allo stress rimodellando il loro patrimonio genetico per adattarsi all'ambiente che li circonda, traendone ove possibile profitto. Pelle e intestino sono gli ambienti più popolati da questi microorganismi, dove partecipano attivamente ai processi digestivi in una relazione simbiotica e mutualistica con l'ospite.

Il naturale processo evolutivo è una macchina all'opera da miliardi di anni; microorganismi unicellulari appartenenti a batteri, funghi e sistemi più complessi come piante sono in continua lotta tra di loro per sopravvivere. Una lotta basata sulla produzione di sostanze chimiche reciprocamente letali da utilizzare

come armi per la conquista di spazio vitale e di cibo per la riproduzione. A volte, fortunatamente, questa guerra si trasforma in una strategica alleanza simbiotica tra specie diverse, come accade nel caso dell'uomo e della sua flora batterica.

Nell'ultimo secolo più o meno inconsapevolmente l'uomo ha preso parte a questa battaglia chimica con il suo limitato arsenale colpendo, il più delle volte, in modo indiscriminato batteri "alleati e nemici". Le ripercussioni di questo approccio ad ampio spettro non hanno tardato a manifestarsi, infatti la distruzione della flora batterica amica lascia campo libero alla colonizzazione da parte di altri ceppi batterici che vanno ad alterare il delicato equilibrio tra ospite e ospitante. Un esempio per tutti: oggi il 25% delle diarree associate all'uso di antibiotici è causato dal *Clostridium difficile*, un batterio normalmente presente nella nostra flora intestinale ma che non risponde ai normali antibiotici. La condizione predisponente principale che permette il suo sviluppo è legata alla distruzione della normale flora microbica del colon, a causa dell'assunzione di chemioterapici, antitumorali ed antimicrobici ad ampio spettro; in particolare fluoro-chinoloni (ciprofloxacina, norfloxacina, ofloxacina), alcuni  $\beta$ -lattamici (per esempio cefalosporine di II e III generazione, ampicillina/amoxicillina) e

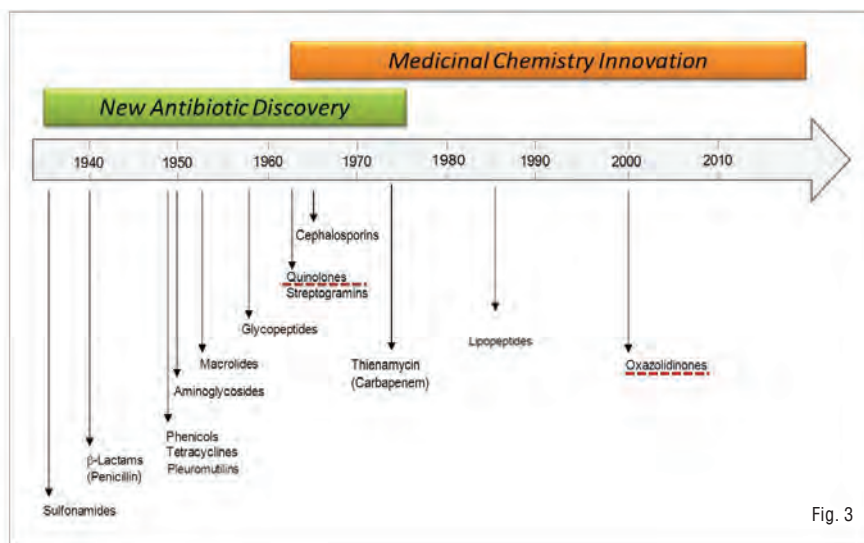


Fig. 3

clindamicina, lasciando così spazio al *C. difficile* che, non trovando più competitori che possono contenerlo, è libero di svilupparsi oltre misura, causando gravi infezioni con conseguenze spesso letali.

Il periodo storico che va dal 1940 al 1960 (Fig. 3), a seguito del successo ottenuto con la scoperta della penicillina, fu caratterizzato da un intenso lavoro di ricerca che portò alla scoperta della maggior parte delle classi antibatteriche ancora oggi in uso: questo periodo è anche conosciuto come "The golden age of antibiotics discovery". Successivamente a questo periodo particolarmente produttivo e prolifico per la ricerca farmaceutica ci furono alcuni eventi che portarono ad una prima crisi della ricerca di nuovi antibiotici: i primi segnali della diffusione della resistenza batterica e la difficoltà nell'identificare nuovi antibiotici naturali. Questo primo periodo di crisi fu superato grazie allo sforzo e alla creatività della chimica farmaceutica non solo nel migliorare il profilo di prodotti naturali già noti ma anche nello scoprire alcune classi chimiche totalmente sintetiche, come ad esempio chinoloni ed ossazolidinoni.

### Il mercato degli antibatterici

Nonostante la sua importanza strategica, basti solo pensare che senza antibiotici praticamente ogni tipo di intervento chirurgico sarebbe pressoché impossibile da eseguire con successo, il mercato degli antibatterici si aggira tra il 5 e il 10% (valore stimato di 44 miliardi di dollari nel 2012) dell'intero mercato farmaceutico globale con una crescita media negli ultimi 5 anni del 4% annuo (Fig. 4).

La ricerca nel campo degli antibiotici per circa un decennio (1995-2005) ha visto un forte ridimensionamento degli investimenti da parte di molte case farmaceutiche, principalmente perché, in modo erroneo (ma lo si è capito solo dopo), si riteneva che l'arsenale di antibiotici a disposizione fosse più che sufficiente per rispondere alle esigenze del mercato. In generale, molti degli antibatterici che nell'ultimo ventennio del secolo scorso entrarono nel mercato farmaceutico si differenziavano relativamente poco rispetto a quelli già presenti, con il risultato di frammentare il mercato invece che espanderlo verso nuove indicazioni terapeutiche.

Beta-lattamici (>50%), macrolidi (10%) e chinoloni (8%), con percentuali variabili, rappresentano le tre principali classi chimiche di antibiotici maggiormente utilizzate, mentre ossazolidinoni, tetracicline, glicopeptidi, aminoglicosidi e fenicoli hanno un mercato più limitato (Fig. 4). In genere, ognuna di queste classi di farmaci è suddivisa in sottoclassi, come ad esempio nel caso dei  $\beta$ -lattamici dove troviamo penicilline, cefalosporine, monobattamici e carbapenemici.

Sono oltre 40 le cefalosporine che troviamo sul mercato, suddivise a loro volta in cinque generazioni a seconda del loro profilo terapeutico, contro batteri Gram-positivi, Gram-negativi (aerobi ed anaerobi), e farmacocinetico. Non c'è da sorprendersi, quindi, se solo in questa categoria possiamo trovare più composti con profili e indicazioni terapeutiche simili tra loro. La conseguenza di questo approccio "copiativo" ha portato verso la fine degli anni Novanta ad un pesante calo non solo in termini di numero di prodotti

ma anche in termini di qualità ed innovazione. A seguito dei preoccupanti dati epidemiologici sulla diffusione della resistenza batterica e grazie ad iniziative che vedono il sostegno di organizzazioni e fondazioni, come ad esempio Innovative Medicines Initiative e Bad Bugs Need Drugs 10x20 Initiative, nonché il supporto da parte di alcune industrie farmaceutiche che sono ritornate sui loro passi, gli investimenti in quest'area stanno tornando. Vengono incoraggiati approcci innovativi che prestano maggiore attenzione al controllo della resistenza batterica e che sono in grado di colpire i patogeni resistenti più difficili da trattare, *E. faecium*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa* ed Enterobacteriaceae (ESKAPE).

### Principali strategie della ricerca antibatterica

#### Vaccini

L'azione preventiva dei vaccini ha contribuito in modo significativo a migliorare la salute e la longevità degli esseri umani, riducendo in modo drastico l'incidenza delle infezioni invasive causate da alcuni tra gli agenti patogeni più letali; come *Mycobacterium tuberculosis* (tubercolosi) e *Haemophilus influenza b* (meningite). Progressi in quest'area sono rivolti sia ad ampliare l'attuale ristretta cerchia di agenti patogenici per cui è possibile sviluppare un vaccino sia contro batteri con un diverso fenotipo che non rispondono più al vaccino.

#### Peptidi

I peptidi antimicrobici (defensine) rappresentano un affascinante punto di partenza per lo sviluppo di nuovi antibiotici. In natura, gli insetti, non possedendo un sistema immunitario, si difendono dalle infezioni batteriche grazie ad un ampio arsenale di peptidi endogeni con attività antimicrobica. Il numero di peptidi antimicrobici riportati in letteratura è di svariate centinaia. Tra i più interessanti ed avanzati:

- AA139 (Adenium Biotech), un peptide di 21 amminoacidi prodotto da *Arenicola marina*. Il composto è caratterizzato dalla presenza di due ponti disolfuro che irrigidiscono la

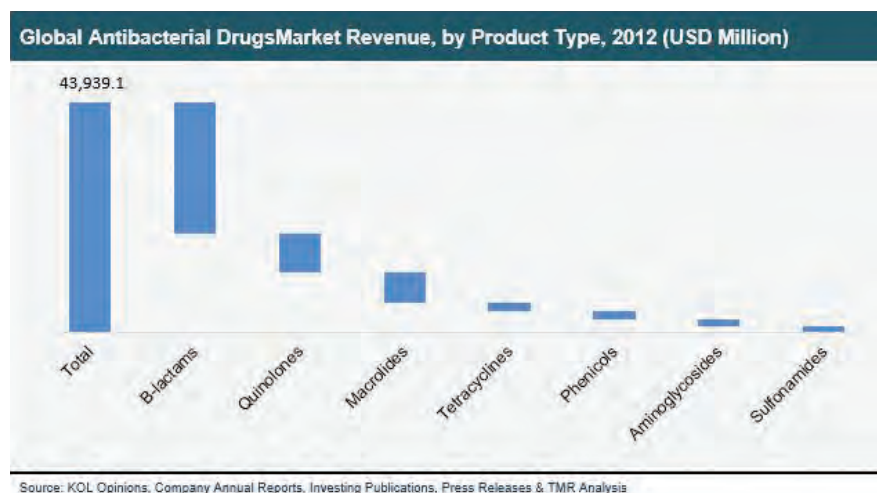


Fig. 4



struttura (Fig.5). Grazie ad un meccanismo d'azione duale in grado di interferire con la formazione della outer-membrane batterica l'AA139 presenta un profilo antibatterico *in vitro* and *in vivo* particolarmente efficace contro Gram-negativi<sup>5</sup>;

- LTX-109, un tri-peptide completamente di sintesi<sup>6</sup>, attualmente in Fase II per il trattamento topico anche pediatrico delle infezioni della pelle (impetigine)



Fig. 5  
Sequenza peptidica di AA139

e colonizzazioni nasali. Il composto è caratterizzato da un nuovo meccanismo di rapida lisi della membrana batterica in grado di agire efficacemente anche nei confronti di microorganismi altamente resistenti agli antibiotici. A causa dell'alto peso molecolare di questi composti la somministrazione per via orale non è generalmente utilizzabile.

### Small molecules

Queste molecole rappresentano ancora un terreno fertile per lo sviluppo di nuove idee. Con le conoscenze di oggi possiamo spiegare come mai  $\beta$ -lattamici e fluoro-chinoloni sono tra gli antibiotici di maggior successo. I  $\beta$ -lattamici sono inibitori delle PBPs (Penicillin Binding Proteins), enzimi batterici ubiquitari ed essenziali per la costruzione della parete batterica, mentre i fluoro-chinoloni hanno come targets GyrA e ParC, due enzimi entrambi coinvolti nella replicazione del DNA batterico. Per entrambe queste classi di antibiotici il loro meccanismo d'azione è multiplo e sullo stesso *path* biochimico, essenziale nei procarioti ma assente negli eucarioti.

In questi ultimi anni la maggiore comprensione dei processi biologici e dei meccanismi coinvolti nello sviluppo della resistenza dei batteri agli antibiotici ha permesso di esplorare sia nuove strategie che di rivalutarne alcune già esplorate in passato, con un più corretto approccio nel disegno di nuovi antibatterici che possono ritardare quello che ormai sappiamo essere l'inevitabile sviluppo della resistenza batterica.

Tra le più investigate:

1. nuovi antibiotici, o combinazioni in grado di colpire simultaneamente più di un target;
2. riduzione dei fattori di virulenza coinvolti nello sviluppo dell'infezione;
3. nuovi antibiotici con uno spettro d'azione selettivo.

Il concetto di incorporare in una singola molecola affinità per due o più target biologici di per sé non è completamente nuovo; in passato era conosciuto come "dual action", dove due molecole con attività antibatterica venivano legate chimicamente tra di loro con risultati che ripagavano solo

in parte gli sforzi fatti. Allo scopo di ridurre le probabilità dello sviluppo della resistenza, questo approccio viene ripreso ma con una filosofia diversa, più mirata. Infatti, da un lato si cerca di combinare target biologici con forti omologie strutturali tra di loro<sup>7</sup>, possibilmente sullo stesso *path* biochimico (GyrA/ParC, GyrB/ParE, PBPs/D-Ala-D-Ala), dall'altro si cerca il modo ottimale di unire due composti che si legano in prossimità l'uno all'altro nella stessa tasca recettoriale con l'idea di aumentare il *binding* (anche se non necessariamente aumenta la *ligand efficiency* della molecola). Ad esempio, nella subunità 50S del ribosoma batterico macrolidi e cloramfenicoli occupano zone prossime l'una all'altra. Utilizzando informazioni strutturali è stato possibile legarli attraverso l'azoto della desosamina<sup>8</sup>, ottenendo risultati interessanti. Lo stesso approccio viene investigato anche per altri sistemi. In generale, questo approccio porta ad un sostanziale aumento del peso molecolare, che può trasformarsi in un limite per l'assorbimento orale. La disponibilità di informazioni strutturali dei target biologici è un requisito fondamentale per affrontare al meglio questo approccio.

L'associazione di un agente antibatterico con un "potenziatore", ovvero di una seconda entità chimica in grado di sacrificarsi per permettere al primo di svolgere la sua azione antibatterica appieno anche contro ceppi che altrimenti sarebbero resistenti, è un'ulteriore strategia che ha preso particolarmente vigore nel settore dei  $\beta$ -lattamici, con la scoperta degli acidi boronici e dell'avibactam come inibitori delle  $\beta$ -lattamasi<sup>9</sup>.

Per i batteri patogeni la capacità di nascondersi al nostro sistema immunitario

(che altrimenti li spazzerebbe via) per aggredire liberamente le cellule dell'ospitante ricavandone nutrimento e spazio per riprodursi è d'importanza fondamentale. Una delle strategie adottate consiste nella creazione di un biofilm protettivo, come ad esempio nel caso di *P. aeruginosa*. La creazione di questo ambiente protettivo viene regolato da un meccanismo detto *Quorum Sensing* (QS).

Gli organismi unicellulari come i batteri sono caratterizzati da due modalità principali di comportamento: forma planctonica, nella quale le cellule separate nuotano indipendentemente in un supporto liquido, o una forma aggregata, in cui le cellule sono strettamente attaccate l'una all'altra e in genere ancorate ad una superficie solida. Il passaggio da uno stato all'altro dipende dalle condizioni ambientali e dalla densità di popolazione e viene regolato da un sofisticato meccanismo di scambio di segnali chimici. La natura di questi messaggeri chimici, detti anche autoinduttori, varia al variare della specie batterica. Tra i più noti: lattoni della *N*-acil-omoserina in Gram-negativi, peptidi in Gram-positivi, PQS (*Pseudomonas* Quinolone Signal) in *P. aeruginosa*<sup>10</sup>. Questo tipo di comunicazione è ritenuta essenziale per la costruzione di un biofilm, da parte della popolazione batterica, in grado di offrire una protezione pressoché completa all'attacco degli antibiotici che in altre circostanze sarebbero efficaci.

Interferire con il QS può ridurre la virulenza batterica, permettendo quindi agli antibiotici ed al sistema immunitario di svolgere la propria azione.

Se è vero che la stessa patologia può essere causata da ceppi batterici diversi e altresì vero che lo stesso ceppo batterico può causare patologie diverse. Sulla base di questa semplice considerazione la sintomatologia da sola, senza il supporto di strumenti diagnostici, non è in grado di fornire risposte sulla natura dell'agente patogeno responsabile dell'infezione. L'assenza di strumenti diagnostici sino ad ora ha orientato la ricerca verso composti ad ampio spettro, che però colpiscono in modo indiscriminato batteri patogeni e non.

I recenti sviluppi nell'area diagnostici<sup>11</sup> hanno permesso di portare in fase di sviluppo composti, come Fidaxomicin, specifici per il trattamento delle coliti pseudomembranose

causate dalle tossine rilasciate da *C. difficile*. Il focus della ricerca si sta spostando verso l'identificazione di target specifici per i ceppi batterici patogenici, fornendoci armi selettive che ci permetteranno di combattere batteri patogeni più efficacemente al fianco dei nostri "alleati".

## BIBLIOGRAFIA

<sup>1</sup>CAGR = Cumulative Average Growth Rate.

<sup>2</sup>[www.apuit.com](http://www.apuit.com)

<sup>3</sup>EP416952, EP502464, WO9513278, WO9821210.

<sup>4</sup>WO2002050091, WO2002050092, WO2003042228, WO2014049356.

<sup>5</sup>54<sup>th</sup> ICAAC, 5-9 settembre 2014, Washington DC, Poster F-256.

<sup>6</sup>J. Isaksson *et al.*, *J. Med. Chem.* 2011, **54**(16), 5786.

<sup>7</sup>H. Broetz-Oesterhelt *et al.*, *Current Opinion in Pharmacology*, 2008, **8**, 564; H.B. Thomaides *et al.*, *J. Bacteriol.*, 2007, **189**(2), 591.

<sup>8</sup>WO2008106226, WO2008143730.

<sup>9</sup>L.L. Silver, *Clin. Microbiol. Rev.*, 2011,

**24**(1), 71; J. Chen *et al.*, *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 2013, **13**, 1846.

<sup>10</sup>B. Lasarre, *et al.*, *MMBR*, 2013, **77**(1), 73;

M. Boyer *et al.*, *FEMS Microbiol. Ecol.*, 2009, **70**, 1; WO2012116010.

<sup>11</sup>J.G. Bartlett, *et al.*, *CID*, 2008, **46**(1), S12-S18; L. Monty *et al.*, *Nature Comm.*, 2013, **4**, 1752.

## Aptuit: Drug Discovery & Development at Service of Pharmaceutical Research

Aptuit LLC provides the most complete set of integrated early discovery to mid-phase drug development services in the pharmaceutical industry, including Drug Design & Discovery, Preclinical Biosciences, API Development and Manufacture, Solid State Chemistry, Pharmaceutical Sciences and Aptuit INDiGO® (a fixed-cost program that accelerates drug development). The experience and expertise in the antibacterial field available in Verona enable Aptuit to efficaciously progress projects in this area and respond to the current medical needs related to bacterial resistance.

DANIELE ANDREOTTI

DIRECTOR AND HEAD OF MEDICINAL CHEMISTRY II  
APTUIT, VERONA

[DANIELE.ANDREOTTI@APTUIT.COM](mailto:DANIELE.ANDREOTTI@APTUIT.COM)



## Divisione di Chimica Farmaceutica

### Estratto dal bando per i Premi Divisione di Chimica Farmaceutica per le migliori tesi di Dottorato

Alla pagina "News" del sito <http://www.soc.chim.it/it/divisioni/farmaceutica/home> è pubblicato il bando della Divisione di Chimica Farmaceutica (DCF) della Società Chimica Italiana (SCI) per l'attribuzione di due premi per le migliori tesi di Dottorato di Ricerca in discipline relative alla Chimica Farmaceutica. I requisiti ed i titoli richiesti per l'attribuzione dei Premi sono di seguito riportati:

- 1) I/Le candidati/e non devono avere superato l'età di trenta (30) anni alla data del 31 Marzo 2015 (cioè nati/e dopo il 31 Marzo 1985).
- 2) I/Le candidati/e devono aver superato l'esame finale di Dottorato entro il periodo compreso tra il 1° Gennaio ed il 31 Dicembre 2014. L'argomento della tesi di Dottorato dovrà essere coerente con quanto specificato nella parte introduttiva del presente bando (v. sopra).
- 3) I/Le candidati/e dovranno essere iscritti/e o aderenti alla Divisione di Chimica Farmaceutica della Società Chimica Italiana alla data del 28 Febbraio 2015.

I/Le candidati/e dovranno inviare al Presidente della DCF una lettera di candidatura contenente i dati anagrafici personali, un breve curriculum, inclusivo della lista di pubblicazioni, ed una dichiarazione d'impegno ad illustrare i risultati della ricerca con comunicazione orale durante la cerimonia di conferimento del premio. Alla lettera di candidatura dovrà inoltre essere allegata la seguente documentazione:

- 1) Breve riassunto del lavoro svolto durante la tesi di Dottorato. Il riassunto dovrà essere presentato in formato pdf ed avere una

lunghezza massima di 3 pagine formato A4, con testo in font size 11.

2) Almeno una pubblicazione scientifica (o un articolo accettato per la pubblicazione, con relativa documentazione) relativa al lavoro svolto durante la tesi di Dottorato.

3) Una lettera di referenza del relatore della tesi di Dottorato. Nel caso di più relatori, ciascuno di essi dovrà produrre una lettera di referenza. Le domande dovranno pervenire al Presidente della DCF, Prof. Girolamo Cirrincione, via posta elettronica, entro e non oltre il 31 MARZO 2015, all'indirizzo: [girolamo.cirrincione@unipa.it](mailto:girolamo.cirrincione@unipa.it).

Oggetto del messaggio: BANDO TESI DOTTORATO.

Il Premio sarà assegnato ai/alle vincitori/vincitrici in occasione del convegno Spanish-Italian Joint Meeting on Medicinal Chemistry, che si terrà a Barcellona dal 12 al 15 Luglio 2015.

### Indirizzo a cui spedire la documentazione:

Prof. Girolamo Cirrincione

Presidente DCF della S.C.I.

Università degli Studi di Palermo

Dipartimento di Scienze e Tecnologie Biologiche Chimiche e Farmaceutiche (STEBICEF)

Via Archirafi, 32 - 90123 Palermo

Fax 09123860854

e-mail [girolamo.cirrincione@unipa.it](mailto:girolamo.cirrincione@unipa.it)