

▼ MEDICINA, SCIENZA E RICERCA

UNO STRUMENTO LOW COST PER VERIFICARE LA CHIRALITÀ E AVERE FARMACI PIÙ SICURI

Un anno e 150 mila euro per trasformare un progetto di ricerca in una startup: è la scommessa dei ricercatori del **Politecnico di Milano** che hanno appena brevettato un innovativo dispositivo per la caratterizzazione chimica di farmaci e proteine

▲ **Cristina Tognaccini**
AboutPharma and Medical Devices
ctognaccini@aboutpharma.com

Fu negli anni '50 che grazie al tragico caso della talidomide la chiralità delle molecole acquistò – per forza di cose – un certo interesse per i ricercatori e le aziende farmaceutiche. Iniziò a essere studiata con sempre maggiore attenzione per la sicurezza dei destinatari finali del farmaco; ma anche a essere sfruttata dalle industrie per l'estensione del brevetto. Tanto che ancora oggi è oggetto di discussione per gli enti regolatori e i produttori sono alla ricerca di metodi sempre più veloci, efficienti ed economici per ottenere i singoli enantiomeri di una molecola chirale, che in natura esiste in due forme identiche chimicamente ma non sovrapponibili. Esattamente come le mani di un essere umano.

La vivacità della ricerca in questo settore di recente ha portato anche i ricercatori italiani del dipartimento di Fisica del **Politecnico di Milano** a brevettare un innovativo strumento in grado di verificare la chiralità di farmaci e proteine. Ancora in fase di sviluppo, il device po-

trebbe entrare a far parte dei processi di controllo qualità delle aziende farmaceutiche, nonché diventare parte di uno strumento diagnostico clinico. “Abbiamo inventato un dispositivo più rapido ed economico per testare la chiralità di una molecola grazie alla luce. Per lo sviluppo di un medicinale è un passaggio sempre più importante, perché in molti casi una delle due forme è meglio dell'altra” spiega Dario Polli, professore associato presso il Dipartimento di fisica del **Politecnico di Milano** e Principal Investigator del progetto Chimera (Chiral Measurements by Heterodyne Amplification) finanziato dall'Unione europea. La scoperta che in natura alcune molecole esistono in due configurazioni identiche ma speculari fra loro, si deve in realtà a Louis Pasteur. Nel 1848 il chimico e biologo francese per la prima volta separò i due isomeri del sodio ammonio tartrato: molecole con la stessa struttura chimica ma orientate in maniera diversa nello spazio (chiamate anche enantiomeri o stereoisomeri).

Quello che al tempo non si sapeva, e restò ignoto per alcuni decenni ancora, era che molte forme chirali possono interagire in maniera differente con gli organismi viventi e avere diversa attività farmacologica, tossicità, farmacocinetica e metabolismo. Perciò non è detto che se la forma levogira (in grado cioè di deviare verso sinistra un fascio di luce fatto passare all'interno di un polarimetro contenente una soluzione dell'enantiomero) è innocua ed efficace, lo sia anche la forma destrogira o la miscela delle due forme, il racemo (un altro sistema per nominare gli enantiomeri è utilizzare la R- dal latino rectus per la forma destra e S- dal latino sinister per la sinistra o “L” in ambito anglosassone). Per tornare alla talidomide per esempio, al tempo veniva somministrata proprio come racemo. Se assunta dalle donne incinte però, una delle due forme chirali possedeva i voluti effetti ansiolitici e sedativi, mentre l'altra provocava gravi malformazioni ai feti. Il problema in questo caso era aggravato dal fatto che



anche l'enantiomero "buono" poteva essere convertito in quello nocivo all'interno dell'organismo. Per questo, come la storia insegna, nel 1961 il medicinale fu ritirato dal commercio e l'anno dopo s'introdusse l'obbligo di sperimentazione anche sugli animali gravidi.

Va da sé la sempre maggior importanza per il settore farmaceutico di promuovere la distinzione e l'analisi delle due forme isomeriche, per eliminare quelle nocive e identificare prodotti sicuri per i pazienti. Senza contare l'interesse delle aziende verso il "chiral switch": una procedura usata soprattutto in vista della scadenza del brevetto, che consente di passare dalla "vecchia" miscela racemica – già in commercio – a una nuova formulazione contenente un solo enantiomero. Il prodotto "nuovo" avrà così una protezione brevettuale aggiuntiva. In alcuni casi il chiral switch è stato giustificato da una maggiore efficacia clinica del singolo enantiomero (com'è accaduto per la levofloxacina rispetto alla forma racemica origina-

le ofloxacina); ma non in altri, per cui tale vantaggio non è stato supportato da evidenze scientifiche (come nel caso di esomeprazolo, levosalbutamolo, dexmetilfenidato ed escitalopram).

Oggi oltre la metà dei farmaci in commercio presenta proprietà chirali, e di questi la maggior parte è disponibile come racemo, cioè con una miscela equimolare delle due forme. La Food and Drug Administration (Fda) però continua a spingere perché venga sempre più valutata l'attività dei singoli enantiomeri e, se possibile, sviluppati prodotti con elevata purezza enantiomerica. Cresce dunque l'interesse da parte del mondo del pharma per i singoli stereoisomeri ma restano alcuni ostacoli, come i processi di separazione spesso complicati e costosi. Tanto che oggi una delle maggiori sfide della ricerca accademica è trovare nuovi sistemi più semplici ed economici che facilitino lo studio e il confronto tra le singole forme e il racemo; nonché il progresso dei processi industriali.

Che la chiralità sia oggi al centro di numerose ricerche accademiche e nello sviluppo industriale lo dimostra anche il premio Nobel del 2001 per la Chimica andato a tre scienziati che hanno scoperto un innovativo sistema di separazione degli enantiomeri. Al momento esistono diversi metodi per distinguere le due forme chirali contenute in un racemo. L'approccio classico, che prevede l'utilizzo di reazioni chimiche e quello moderno che si basa sulle nuove tecnologie, come la cromatografia liquida. Una volta isolati i due enantiomeri, poi entrambi vengono sottoposti a test clinici per valutare quale sia più efficace, meno tossico, con l'effetto più rapido e così via. E se si dimostra statisticamente che una forma è meglio dell'altra, si cercherà di brevettare solo quella. "Nel mondo farmaceutico oggi non è ancora richiesto un controllo qualità ottico sulla chiralità – aggiunge Polli – ma gli enti regolatori in America ed Europa iniziano a parlarne. Il nostro strumento serve proprio per testare l'identità

▼ **MEDICINA, SCIENZA E RICERCA**

Che cos'è il Chiral Switch e il "caso" esomeprazolo

Per chiral switch si intende lo sviluppo di un singolo enantiomero a partire da una miscela racemica già presente sul mercato. È una delle strategie utilizzate per migliorare la sicurezza e/o efficacia di molecole esistenti, che ha portato a numerose alternative più sicure per una vasta gamma di farmaci. Ma è anche un sistema utilizzato dalle aziende farmaceutiche per allungare la vita del brevetto in scadenza, specie nel caso di farmaci best-seller e di conseguenza ottenere un vantaggio nei confronti dei concorrenti generici. Generalmente viene infatti lanciato prima del termine di un brevetto e prima dell'immissione sul mercato degli equivalenti. Negli ultimi vent'anni c'è stato un incremento costante del numero di prodotti venduti come singoli enantiomeri. Secondo un lavoro pubblicato nel 2014 sul *The American Journal of Managed Care*, tra il 2001 e il 2011 la Fda ha approvato nove prodotti contenenti un singolo enantiomero: dexlansoprazolo, levoleucovorin, levocetirizina, arformoterolo, eszopiclone, escitalopram, dexamethylphenidate e esomeprazolo. "Di questi nove – scrivono i ricercatori – solo tre avevano alle spalle almeno uno studio clinico randomizzato che aveva utilizzato il racemo come confronto, ma non vi era nessuna prova di superiorità del singolo enantiomero rispetto a esso. Tra il 2001

e il 2011, il programma americano Medicaid ha speso circa 6,3 miliardi di dollari per questi nove singoli enantiomeri".

Il caso più eclatante è forse quello dell'esomeprazolo, approvato dalla Fda nel 2001. Al tempo il mercato degli inibitori di pompa protonica era dominato dall'omeprazolo (miscela racemica dell'esomeprazolo), in commercio dal 1989 dalla stessa ditta che avrebbe poi brevettato la forma levogira. Il brevetto stava per scadere e il prodotto vantava un mercato di sei miliardi di dollari l'anno solo negli Usa. Così l'azienda scoprì che solo l'enantiomero S-omeprazolo era responsabile delle proprietà cliniche del farmaco mentre la forma R-omeprazolo era inattiva. In seguito all'approvazione della Fda, mise sul mercato il nuovo prodotto che sarebbe diventato la nuova "pillola d'oro" anche rispetto all'omeprazolo. Eppure l'esomeprazolo 40 mg risultò superiore all'omeprazolo 20 mg solo in uno studio ma non lo fu in altri due. Inoltre le due dosi farmacologicamente attive del racemo e del singolo enantiomero non erano confrontabili. Se questo caso può essere citato come uno spreco di risorse sanitarie lo stesso non si può dire però per altri. Ci sono anche esempi positivi, che hanno portato dei reali benefici perché spesso gli eventi avversi associati a un farmaco sono dovuti a una sola delle due forme chirali. (C.Tog.)

del singolo enantiomero alla fine del processo. Questi strumenti in realtà esistono già e usano una tecnologia ben nota, ma sono molto cari e non tutte le aziende se li possono permettere. Noi abbiamo inventato un processo che funziona in maniera completamente diversa. Sfrutta sempre la luce, ma lo fa in maniera più economica, i componenti sono più semplici e meno costosi e il sistema è meno complesso. È un sistema "low cost" insomma ma anche più rapido nella misura, per cui si riescono a fare più prove nello stesso arco di tempo". La caratterizzazione della chiralità delle molecole è di fondamentale importanza anche nello studio della struttura di alcune proteine, dal cui comportamento dipendono malattie degenerative come l'Alzheimer e il Parkinson. Tanto che lo strumento sviluppato dai ricercatori italiani ha una grande importanza anche durante la fase di sperimentazione nei laboratori. "Anche le proteine, come molti farmaci, hanno una forma chirale ben nota dovuta alla loro struttura secondaria che è responsabile dell'orientamento nello spazio" afferma Fabrizio Preda, un altro ricer-

catore coinvolto nel progetto Chimera, che sta seguendo in prima persona lo sviluppo del prototipo al **Politecnico di Milano** per la sua futura commercializzazione. "Parkinson e Alzheimer, per esempio, sono entrambe associate a uno 'srotolamento' delle proteine e alla perdita di alcune proprietà. Verificarne la chiralità può servire a capire se una proteina si disgrega e perde la sua struttura secondaria in funzione di certi parametri, come temperatura o pH. O ancora può servire per testare l'attività di un farmaco o di una procedura nell'evitare lo sfaldamento della proteina".

Lo strumento per ora è solo un prototipo ancora in fase di sviluppo presso i laboratori del **Politecnico**, ma Polli proprio per questo progetto ha ottenuto un finanziamento di 150 mila euro dall'European Research Council (ERC-Proof of Concept) che dovrebbe consentirgli di portare l'idea fuori dai laboratori e immetterla sul mercato nel giro di un anno. "Noi viviamo al 90% di fondi europei, per cui attualmente l'Italia contribuisce in una frazione maggiore rispetto a quanto riceveva indietro" conclude Polli. "Per questo siamo an-

che contenti di riportare in Italia parte dei soldi dedicati dal Paese alla ricerca. L'Unione europea finanzia una sorta di ponte tra il mondo della ricerca universitaria e il mondo dell'industria: il nostro compito ora è fare studi di mercato e sviluppare il nostro prototipo cercando di portarlo il più possibile verso una forma funzionante; magari lasciandolo in prova ai potenziali clienti per verificarne l'efficacia anche rispetto ad altri strumenti già in uso. Ora siamo ancora nella fase di perfezionamento dello strumento ma l'obiettivo è arrivare tra un anno con un dispositivo finito e i primi clienti, per far partire la startup o uno spinoff del **Politecnico**. Sarebbe un vantaggio per le aziende e i laboratori di ricerca, che potrebbero comprarlo a un prezzo molto più basso rispetto quelli attualmente sul mercato, che si aggirano intorno ai 50-100 mila euro". ▲

Parole chiave

Chiralità, stereoisomeria, controllo qualità, enantiomero

Aziende/Istituzioni

Politecnico di Milano, Food and drug administration, Fda, European Medicines Agency, Ema