

MODELLAZIONE MOLECOLARE DELLA COMPLESSAZIONE DI FANS IN CICLODESTRINE MODIFICATE

Sabrina Pricl, Maurizio Fermeglia, Alessandra Mazzurco

Dipartimento di Ingegneria Chimica, dell'Ambiente e delle Materie Prime, Università degli Studi di Trieste,
Piazzale Europa 1, 34127 Trieste

INTRODUZIONE

Al fine di progettare un sistema per rilascio dei farmaci (DDS) sono attualmente allo studio numerosi tipi di materiali ad elevate prestazioni in grado di depositare il principio attivo al sito target per il tempo necessario, espletando tali azioni in maniera efficiente e precisa. Le ciclodestrine (CD) sono molecole potenzialmente candidate a svolgere un tal ruolo, in virtù della loro capacità di alterare le proprietà fisiche, chimiche e biologiche delle sostanze ospiti, attraverso la formazione di complessi di inclusione sia allo stato solido che in soluzione.

Le ciclodestrine alfa, beta e gamma sono CD naturali composte, rispettivamente, da sei, sette e otto residui glucopiranosidici legati da legami glicosidici alfa-1,4 a formare un macrociclo. Ciascuna CD è caratterizzata da una propria capacità a formare complessi di inclusione con molecole ospiti specifiche, e tale abilità dipende dalla possibilità di complessate in maniera ottimale la molecola ospite all'interno della cavità idrofobica della CD stessa. I vantaggi principali che le CD offrono come carrier di molecole farmaceutiche si possono riassumere al seguente modo: 1) possiedono strutture chimiche ben definite e molti siti potenzialmente suscettibili di derivatizzazione controllata; 2) sono disponibili in una vasta gamma di ampiezza di cavità in cui includere il principio attivo; 3) sono caratterizzate da tossicità ed attività farmacologica basse e 4) esercitano un'azione protettiva rispetto alla biodegradazione sul farmaco in esse incluso. Le CD naturali sono state largamente usate nel settore farmaceutico come agenti complessati o come componenti ausiliari quali diluenti e solubilizzanti. Tuttavia, la principale applicazione delle CD naturali è nello sfruttamento del proprietà che tali sostanze hanno di aumentare la solubilità, la stabilità e la biodisponibilità della principio farmacologico, ed allo stato attuale sono presenti sul mercato 10 formulazioni industriali a riguardo. Inoltre, un effetto di non secondaria importanza in tale settore è che, attraverso l'inclusione in una CD, il farmaco vede molte volte potenziata la sua attività, resa più selettiva la sua azione e, soprattutto, ridotti i suoi effetti collaterali. La formazione del complesso farmaco-CD viene generalmente formato al di fuori dell'organismo e, dopo la sua somministrazione, si dissocia rilasciando il farmaco in maniera rapida e sostanzialmente uniforme (1).

I salicilati ed altre sostanze, usate nel trattamento delle malattie reumatiche, hanno in comune la capacità di sopprimere i segni ed i sintomi dell'infiammazione. Alcuni di questi farmaci esercitano anche effetti antipiretici ed analgesici, ma sono le loro proprietà antinfiammatorie che li rendono utili nel trattamento dei disturbi nei quali il dolore è correlato all'intensità del processo infiammatorio. L'aspirina ed i più nuovi farmaci antinfiammatori non steroidei (FANS) sono chimicamente affini, in quanto sono acidi organici deboli che esercitano un ruolo attivo nell'inibizione delle prostaglandine. Nonostante il loro popolare impiego (aspirina, ibuprofen e naproxen sono autorizzati, negli USA, alla vendita come farmaci da banco), i FANS presentano una serie di effetti collaterali indesiderati, tra i quali possiamo ricordare 1) una considerevole intolleranza gastrica (che nei casi peggiori e per

dosaggio elevato e prolungato può sfociare in ulcera gastrica e/o, in casi minori, ulcera duodenale); 2) effetti sul sistema nervoso centrale (SNC) (che includono diminuzione dell'udito, vertigini, iperpernea e alcalosi respiratoria) e 3) altri effetti che vanno dalla depressione della funzione cardiaca alla vasodilatazione alle varie reazioni di ipersensibilità (2).

In virtù della scarsa solubilità, della relativa biodisponibilità e degli effetti collaterali appena descritti dei farmaci antinfiammatori non steroidei, in questo lavoro sono state considerate una serie di ciclodestrine (beta, idrossipropil-beta, trifluorometiltio-beta e feniltio-beta-CD) e i loro possibili complessi di inclusione con alcuni classici FANS (naproxen, nabumetone, ibuprofen, diclofenac, etc.) con lo scopo di verificare la relativa stabilità. Le energie di binding e le caratteristiche strutturali dei complessi sono state caratterizzate mediante esperimenti di dinamica molecolare sia *in vacuo* che in ambiente acquoso, e, dove disponibili, i risultati ottenuti sono stati confrontati con i dati sperimentali.

DETTAGLI COMPUTAZIONALI

Tutte le simulazioni sono state eseguite su una Silicon Graphics Origin 200 usando il software *Cerius²* (v.4.2) e *Materials Studio*, entrambi della Molecular Simulations Inc. (san Diego, USA). La struttura di partenza della beta-ciclodestrina (BCD) usata nelle simulazioni era quella cristallografica (3). Tale struttura è stata quindi rilassata via meccanica molecolare usando il force field COMPASS (4). L'ottimizzazione iniziale della posizione degli atomi di idrogeno è stata condotta attraverso l'uso di una tecnica combinata di minimizzazione dell'energia dell'intera BCD di tipo steepest descent/Newton-Raphson, ponendo come criterio di convergenza 0.00001 kcal/mole/Å. Le interazioni di non-legame a lungo raggio sono state trattate applicando opportune distanze di cut-off e, per evitare discontinuità indotte dalla presenza dei cut-off, è stato usato il metodo delle spline cubiche. I parametri delle distanze e delle energie di van der Waals per le interazioni di non legame tra atomi eteronucleari sono stati calcolati con la regola di combinazione di tipo 6th-power proposta da Walman e Hagler (5). Le strutture delle altre CD considerate sono state ottenute, a partire da quella della BCD, via modellazione molecolare. I dettagli strutturali delle molecole isolate sono stati ottenuti da simulazioni di dinamica molecolare (MD) nell'insieme canonico (NVT) a 35, 37 e 39 C. Per il calcolo delle energie in ambiente acquoso, 300 molecole d'acqua sono state confinate, assieme a una molecola di complesso (o di farmaco o di BCD), in una cella cubica alla quale sono state applicate le condizioni periodiche al contorno (PBC). Come modello rappresentativo dell'acqua è stato preso il modello simple 3-point charge (SPC), che si è dimostrato particolarmente valido nel descrivere le proprietà di bulk dell'acqua a temperature ordinarie (6). Per minimizzare l'artificialità della periodicità, la distanza di cut-off è stata posta uguale a metà della lunghezza della cella. Le strutture risultanti sono state rilassate ancora con l'uso del COMPASS; in questo caso, per il calcolo delle interazioni di non legame è stata impiegata la tecnica di Ewald. Ogni simulazione MD è stata iniziata assegnando un set di velocità atomiche iniziali in accordo con una distribuzione di tipo Maxwell-Boltzmann a 2xT, essendo T la temperatura della simulazione. La temperatura è stata controllata con un accoppiamento debole ad un bagno (7), con costante di accoppiamento $\tau_T=0.01$ ps. Le equazioni Newtoniane del moto sono state integrate usando l'algoritmo di leapfrog Verlet (8), usando un intervallo di integrazione pari a 1 fs. Il tempo totale di simulazione era pari a 300 ps.

RISULTATI E DISCUSSIONE

La Figura 1 riporta, a titolo di esempio, i modelli molecolari dei complessi di inclusione

tra la BCD e il FANS nabumetone (o 4-[6-metossi-2-naftil]-2-butanone).

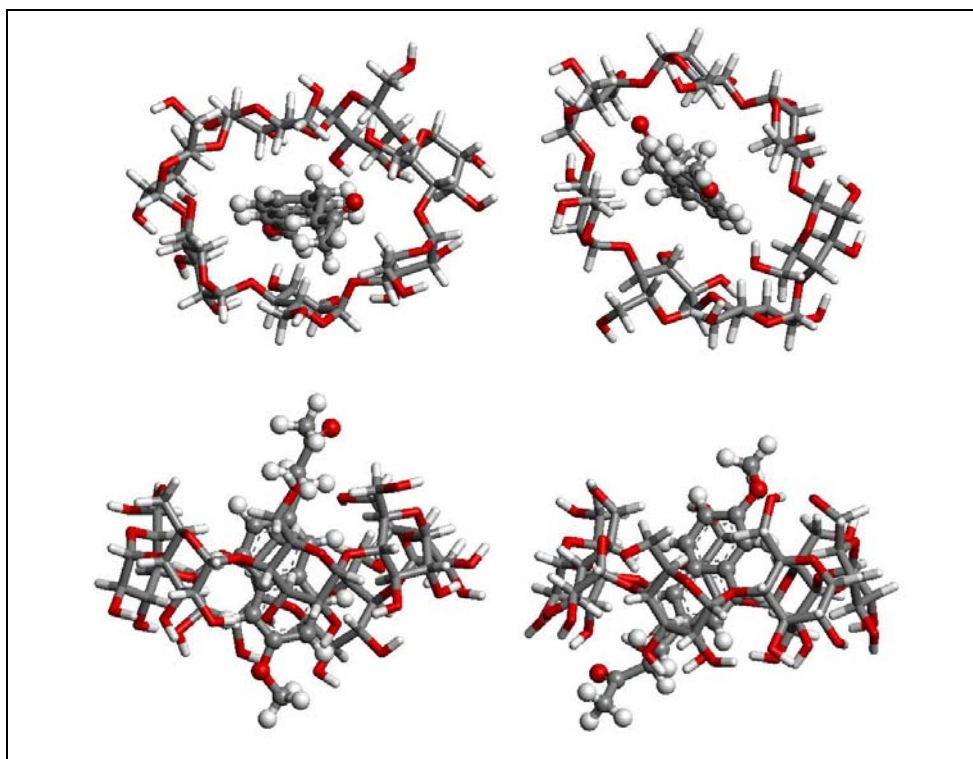


Figura 1: Modelli molecolari ottimizzati dei complessi di inclusione tra la BCD ed il FANS nabumetone a 37C: visione assiale (sopra) e visione laterale (sotto).

I risultati della simulazione dinamica su tale complesso hanno dimostrato che, nel vuoto entrambi i possibili complessi di inclusione cui il sistema BCD-nabumetone può teoricamente dar luogo sono stabili (vedi Tabella 1). Le energie di complessazione sono state calcolate a partire dalle componenti dell'energia ottenute dalla simulazione dinamica per il complesso, la BCD ed il farmaco usando la seguente relazione: $E_{\text{compl}} = E_{\text{BCD-farmaco}}^{\text{nonleg}} - E_{\text{BCD}}^{\text{nonleg}} - E_{\text{farmaco}}^{\text{nonleg}}$. La Tabella 1 riporta inoltre i valori dell'energia di complessazione per un set di altri farmaci considerati quali il naproxen e l'ibuprofen.

Farmaco	$E_{\text{compl}}^{\text{vuoto}}$ (kcal/mole)
nabumetone CO_OHprim	-15.6
nabumetone CO_OHsec	-29.0
naproxen COONa_OH_prim	-49.5
naproxen COONa_OH_sec	-42.0
ibuprofen COOH_OH_prim	-23.7
ibuprofen COOH_OH_sec	-9.2

Tabella 1: Valori dell'energia di complessazione per alcuni FANS nella BCD a 37C.

Prima di commentare ulteriormente i dati riportati in Tabella 1, dobbiamo osservare che tutti i farmaci i cui dati sono riportati in Tabella 1 non sono molecole simmetriche. Pertanto, sono state considerate le geometrie ottimizzate relative alle due possibili orientazioni del farmaco nel complesso. Per semplicità, l'orientazione in cui un determinato gruppo funzionale puntava verso il perimetro degli OH primari è stata denominata nomegruppo_OH_prim mentre nell'altro caso è stato denominata nomegruppogruppo_OH_sec. Il confronto dei dati in Tabella 1 è estremamente significativo. Nel caso del nabumetone e dell'ibuprofen, possiamo osservare come, dal punto di vista energetico, le due topologie di inclusione non siano affatto equivalenti. Nel primo caso, la geometria favorita è quella in cui il gruppo il nucleo aromatico è perfettamente inserito nella cavità, mentre il gruppo chetonico del principio attivo è rivolto verso gli ossidrili secondari della BCD. Questo è in ottimo accordo con i disponibili dati sperimentali (9), secondo i quali i protoni aromatici esibiscono un robusto shift all'NMR mentre i protoni metilenici risentono molto meno della complessazione. Nel caso dell'ibuprofen, viceversa, la situazione termodinamicamente favorita è quella che vede l'anello aromatico del farmaco ben circondato dagli anelli glucopiranosidici della ciclodestrina mentre il gruppo isopropile è avvolto dagli OH secondari. L'analisi dell'evoluzione del modello molecolare durante la simulazione rivela infatti che, nel caso sfavorito, il nucleo aromatico si trova per la maggior parte del tempo al margine della cavità, limitando in questo modo sia le interazioni idrofobiche che i legami idrogeno. Anche tale risultato è confermato dai dati sperimentali, relativi ad analisi NMR e di spettroscopia di fluorescenza (10). gruppo carbossilico rivolto verso gli OH primari della BCD.

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

- (1) Hyrayama, F., Uekama, K., *Adv. Drug Del. Rev.*, 36, 125 (1999).
- (2) Katzung, B.G., *Basic and Clinical Pharmacology*, 7a edizione, Appleton & Lange, Stamford (CT, USA) (1998).
- (3) Manor, P.C., Saenger, W., *J. Am. Chem. Soc.*, 96, 3639 (1974).
- (4) Sun, H., *J. Phys. Chem.*, 102, 7338 (1998).
- (5) Waldman, M. and Hagler, A. T., *J. Comput. Chem.*, 14, 1077 (1993).
- (6) Berendsen, H.J.C., Postma, J.P.M., Di Nola, A., van Gunsteren, W.F. and Hermans, J., in *Intermolecular Forces*, B. Pullman Ed., Reidel Dordrecht, The Netherlands, pp. 331-342 (1981).
- (7) Berendsen, H.J.C., Postma, J.P.M., Di Nola, A., van Gunsteren, W.F. and Haak, J.R., *J. Chem. Phys.*, 81, 3684 (1984).
- (8) Verlet, L., *Phys. Rev.*, 159, 98 (1967).
- (9) Valero, M., Costa, S.M.B., Ascenso, J.R., Velazquez, M.M., Rodriguez, L.J., *J. Incl. Phenom. Macroc.Chem.*, 35, 663 (1999).
- (10) Oh, I., Lee, M.-Y., Lee, Y.-B., Shin, S.-C., Park, I., *Intl. J. Pharm.*, 175, 215 (1998).