

● **Eccoci di nuovo ad esaminare** la capacità aggregante di molecole a potenziale attività farmacologica, proseguendo l'analisi iniziata nello scorso numero. Il primo lavoro, proveniente dallo stesso gruppo di autori (Mc Govern and Shoichet, *J. Med. Chem.*, 2003, **46**, 1478), valida l'ipotesi di inibitori non specifici macroaggreganti in una classe molto considerata a livello terapeutico di enzimi bersaglio: le chinasi. Gli autori hanno selezionato 15 inibitori di chinasi, noti per essere aspecifici ma chinasi-specifici (attivi su molte chinasi) e ne hanno verificato la capacità in vitro di formare macroaggregati (dynamic light scattering, DLS) e di inibire enzimi diversi dalle chinasi (β -lattamasi, β -L, chimotripsina, CT, e malatodeidrogenasi, MDH). Otto dei quindici inibitori si sono rivelati inibitori macroaggreganti, attivi a livello micromolecolare sui tre enzimi sopracitati e formanti macroparticelle di diametro fra i 100 e i 1.000 nanometri; fra essi troviamo chemiotipi considerati chinasi-specifici (Figura 1), per i quali questi risultati non sono incoraggianti. Un secondo lavoro (Mc Govern *et al.*, *J. Med. Chem.*, 2003, **46**, 4265) studia il meccanismo di inibizione di questi inibitori (da qui il titolo "A specific mechanism of non-specific inhibition" che mi aveva interessato). Utilizzando soprattutto la microscopia elettronica, vista la dimensione delle particelle, gli autori evidenziano l'assorbimento di molte molecole di enzima/target presente in soluzione sulla superficie dell'aggregato macromolecolare; tale interazione è reversibile,

e, ad esempio, dei detergenti cancellano l'effetto inibitorio; una reversione parziale può anche essere ottenuta aggiungendo una proteina qualsiasi che compete con il target per l'assorbimento sulla superficie dell'aggregazione macromolecolare.

L'ultimo lavoro di questo gruppo (Seidler *et al.*, *J. Med. Chem.*, 2003, **46**, 4477) mira alla generazione di un modello informatico predittivo per distinguere a priori un non-aggregante (specifico, drug lead) da un aggregante (aspecifico, da scartare come drug lead). Gli autori hanno testato 50 farmaci in uso, fra cui hanno identificato quattro forti aggreganti a concentrazione micromolecolare. Uno di essi, l'azolo antifungino clotrimazolo (**1**, Figura 2) è stato usato insieme a suoi analoghi (composti **2-6**, Figura 2) per uno studio SAR dell'attività aggregante/inibitoria di questi composti.

I composti **1-4** hanno confermato di essere inibitori aspecifici a concentrazioni analoghe a quelle terapeuticamente efficaci (Figura 2), facendo pensare ad una aspecificità generalizzata. I farmaci fluconazolo e chetoconazolo **5** e **6**, al contrario, non mostrano effetto aggregante aspecifico nonostante appartengano alla stessa classe (Figura 2). Un parametro da valutare è la lipofilia dei composti: i composti **1-4** hanno un coefficiente di partizione elevato ($\log P > 5$), e quindi sono molto lipofili, mentre sia **5** sia **6** hanno una lipofilia meno marcata ($\log P$ molto inferiore a 5). Gli autori hanno poi studiato un gruppo di 111 molecole con programmi chemoinformatici ed analisi

multivariate per determinare quali parametri potessero ripartire le molecole in classi aggreganti o non-aggreganti "in silico", riflettendo i dati di DLS ed inibizione enzimatica dei tre enzimi. Modelli semplici, dove la lipofilia e la solubilità acquosa sono essenziali, hanno permesso di classificare correttamente 104 dei 111 composti, cioè il 93,7% degli individui esaminati. Dei 7 restanti, 3 sono "borderline" fra i due insiemi. Un modello predittivo ad alta probabilità di successo è stato quindi messo a punto per la determinazione di capacità aggregante/inibente aspecifica di candidati farmaceutici.

Merita di essere citato il lavoro di ricercatori di GlaxoSmithKline (Ryan *et al.*, *J. Med. Chem.*, 2003, **46**, 3448), che hanno analizzato i precedenti lavori per mettere a punto un test di laboratorio per determinare rapidamente la natura aggregante di composti attivi da screening. Utilizzando cinque composti, tre dei quali aggreganti inclusi nei set analizzati dagli autori precedenti e due specifici sull'enzima β -lattamasi, gli autori si sono concentrati sull'effetto di vari detergenti sull'aggregazione/inibizione specifica. Hanno così identificato condizioni sperimentali nelle quali l'aggregazione nei composti studiati è totalmente soppressa, a concentrazioni del detergente vicine alla sua concentrazione micellare critica, o CMC (ad esempio 65% di CMC per acido colico e 36% per Tween-20); in queste condizioni è osservabile solo un ipotetico effetto specifico del composto allo stato monomero, mentre l'aspecificità macromolecolare è eliminata. È concepibile immaginare uno strumento "virtuale" ed un altro "sperimentale" che permettano di focalizzare gli sforzi dei chimici medicinali verso l'ottimizzazione di strutture specifiche, senza perdere tempo e denaro con inibitori aspecifici e non sufficientemente potenti, da eliminare da una collezione di screening.

Figura 1

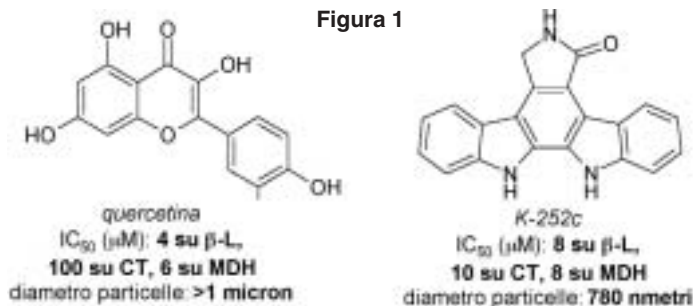


Figura 2

