



HIGHLIGHTS TECNOLOGIE INNOVATIVE

a cura di Pierfausto Seneci - Dipartimento di Chimica organica - Università di Milano

Vorrei tornare a parlare di screening di attività, trattando di una tecnica emersa negli ultimi 10 anni e basata solidamente sulle scienze chimiche. Il concetto base è evidenziato nella Fig. 1 tratta da un lavoro recente (P.D. Edwards *et al.*, *J. Med. Chem.*, 2007, **50**, 5912). Quale fra le tre molecole non peptidiche **1-3** in Fig. 1 è interessante per le sue potenzialità come BACE-1 (beta-secretasi) inibitore?

Il 2,5-pirazolo **1** e il 2,5-ossadiazolo **2** sono inibitori nanomolari, mentre l'isocitosina **3** ha "potenza" superiore al 100 micromolare. Chi sceglierebbe quest'ultima molecola?

Parliamo più in dettaglio di **1** e **2**. Se le aveste scoperte da una collezione di composti da voi utilizzati per una campagna HTS su BACE-1 avreste ottenuto due molecole potenti ed innovative, da caratterizzare biologicamente e farmacologicamente. Supponiamo che poi emergano controindicazioni al loro uso, che richiedano ulteriori modifiche strutturali: come vi muovereste? Il peso molecolare (MW) di una "piccola molecola organica" è importante nel precluderle, se troppo alto, lo sviluppo; essendo intorno a 500 sia per **1** che per **2**, si dovrebbero rimpiazzare alcuni gruppi funzionali piuttosto che aggiungerne, determinando dove e come le molecole possono essere modificate senza perdere affinità per BACE-1. In una parola: anche fossero uscite così (potenti, innovative ecc.) da una campagna di HTS, le molecole **1** e **2** richiederebbero molti sforzi per un loro ulteriore sviluppo.

Parliamo ora invece di **3**. A fronte di un'attività risibile, la molecola è semplice, di basso peso e di semplice sintesi; qui la decorazione con aumento di peso è concepibile ed infatti, come riportato nell'articolo citato, la sua ottimizzazione porta al composto **4**, a potenza simile ai composti **1** e **2** ma con peso inferiore e potenziale maggiore di ulteriore sviluppabilità. Come si arriva da **3** a **4**? Come si riesce ad evidenziare

un frammento a bassa affinità come **3**, visto che i saggi biologici non leggono costanti di affinità/inibizione millimolari?

L'FBDD, o "fragment-based drug discovery", trae spunto da una collezione per screening non composta da centinaia di migliaia di molecole "mature" più o meno drug-like, come nell'HTS, ma da collezioni ridotte (alcune centinaia) di frammenti rappresentanti chemiotipi diversi (MW intorno a 200, eterocicli ricorrenti in farmaci di sintesi o da prodotti naturali, alta accessibilità sintetica). Una volta identificato come attivo, un frammento può essere "arricchito" di altri gruppi funzionali sempre restando all'interno dei limiti definiti dalla "Lipinski rule of 5", per ottenere un farmaco biodisponibile per via orale. Potremmo dire che lo screening HTS classico produce molecole potenti, che però devono venire "destrutturate" per capire come e dove modificarle per ottimizzarne le proprietà; dalla struttura complessa iniziale, si ricava con fatica un modello di relazioni struttura-attività (SAR) che permette il lavoro successivo. I progetti ispirati a FBDD, invece, partono da un frammento semplice e da qui, seguendo un processo più logico, si aggiunge per rendere più complesso e più attivo il nucleo iniziale. Nella Fig. 1 compare per ogni molecola un valore chiamato LE, o ligand efficiency, che misura se un programma di ottimizzazione si sta muovendo sulla buona o cattiva strada. Il valore di LE è derivato dal rapporto fra l'energia di legame di una molecola e il numero di atomi pesanti in essa contenuti. Avevate notato il peptidomimetico **OM99-2**? A fronte di un IC_{50} di circa 1 nM, l'efficienza di legame è molto bassa (0,19), poiché il composto contiene molti atomi pesanti; ciò preclude ulteriori ottimizzazioni strutturali verso composti drug-like. Le molecole attive **1** e **2** hanno una LE intorno a 0,3, considerato accettabile (buon compromesso fra potenza e numero di atomi pesanti); la molecola **3**, pur quasi inattiva, ha una LE di 0,28 che, attraverso modifiche e decorazioni mirate, produce il composto **4** a LE 0,37, indicante una interazione quasi ottimale col sito attivo di BACE-1 nonostante il basso peso molecolare/numero di atomi pesanti.

Come si misura l'affinità di frammenti come **3** nell'intervallo millimolare-alto micromolare? Ciò è essenziale, poiché i frammenti iniziali sono sempre poco attivi. Un test biologico "classico" non è così sensibile, mentre invece metodi biofisici (NMR, SPR, cristallografia ecc.) sono più adatti. In futuro spiegheremo come funziona lo screening e l'ottimizzazione strutturale guidata da metodi biofisici, e come si possa assemblare una collezione di frammenti adeguati al FBDD; per ora, soddisfacendo lo scopo di questa Rubrica, vorrei segnalare alcune review di interesse per espandere il concetto di LE: C.H. Reynolds *et al.*, *J. Med. Chem.*, 2008, **51**, 2432; M.L. Verdonk, D.C. Rees, *ChemMedChem*, 2008, **3**, 1179 e un lavoro essenziale per apprendere di più sulla fragment-based drug discovery, D.C. Rees *et al.*, *Nat. Rev. Drug Discovery*, 2004, **3**, 660.

