



In questo numero voglio parlarvi di *fragment-based drug discovery*, o *FBDD*, ma lo farò (dopo una breve introduzione) da un originale punto di vista, recentemente apparso in letteratura.

La FBDD è una tecnica che (soprattutto a livello di ricerca industriale) sta guadagnando "quote di mercato scientifico". Nel rimandarvi ad una recente *review* introduttiva sull'argomento [D.A. Erlanson, *Top. Curr. Chem.*, 2012, **317**, 1], ecco un breve riassunto: invece di effettuare delle campagne di *screening* su *target*/bersagli molecolari con collezioni di composti decorati (a peso molecolare fra 500 e 600 Dalton), si possono usare collezioni di frammenti, cioè piccole molecole a peso inferiore - anche di molto a volte - a 300 Dalton. Tali frammenti esercitano ridotte interazioni con un *target*, viste le piccole dimensioni; quindi, per misurare legami così deboli, servono metodi come l'NMR e la cristallografia. Parliamo di quest'ultima: se una proteina *target* è cristallizzabile, e se un frammento si lega ad essa, un cristallo dello stesso *target* contenente il frammento ci mostrerà come quest'ultimo si lega nel sito attivo, e ci permetterà di "decorare razionalmente" il frammento per introdurre gruppi che vadano ad interagire con altre parti del sito. Guardate in Fig. 1: a sinistra trovate un frammento **1** con poca (ma specifica!) attività sulla chinasi p38 α , che - attraverso ottimizzazione strutturale razionale guidata dalla cristallografia - conduce rapidamente alla molecola **2** estremamente potente, e ancora adatta per essere somministrata per via orale.

Trovate molti esempi di "decorazione" rapida ed efficiente in D.E. Scott *et al.*, *Biochemistry*, 2012, **51**, 4990: un frammento capace di legarsi ad un bersaglio spesso può essere convertito

in un *lead* potente in brevissimo tempo. Qui sta però la (legittima) domanda di un recentissimo lavoro [D. Kozakov *et al.*, *PNAS*, 2015, **112**, E2585]: siamo sicuri che l'FBDD sia in grado di operare in qualsiasi caso? Altresì detto, ogni frammento debolmente attivo può essere considerato come "bloccato" nel sito attivo del bersaglio, così che le decorazioni a seguire - razionalmente pensate a partire dal frammento "incardinato" - si traducano in un aumento di affinità? Altresì detto, non è che la debole interazione frammento-*target* può essere facilmente "spiazzata" da una decorazione che sposti il frammento decorato nel sito attivo, o addirittura ne destabilizzi il legame nel sito attivo?

A questa domanda già esistevano risposte contrastanti. Qualcuno rivendicava come la "decostruzione" di 18 *lead* strutturali in piccoli frammenti attraverso un processo graduale porti appunto ad un processo inverso all'FBDD ed a frammenti attivi che si legano al *target* nella stessa orientazione mantenuta dal *lead* "decorato" [P.J. Hajduk, *J. Med. Chem.*, 2006, **49**, 6972]. Altri mostravano l'inverso - 22 frammenti derivanti da 9 composti attivi non legano il proprio *target* nell'orientazione dei composti originali [S. Barelier *et al.*, *J. Med. Chem.*, 2010, **53**, 2577]. Come capire se un *target* è adatto all'FBDD, o se una collezione di frammenti lo è?

Il lavoro qui presentato identifica una (forse) ovvia, ma sicuramente interessante connessione tra frammenti che mantengono l'orientamento di un potente *lead* nel sito attivo e i cosiddetti *hot spot*. Questi ultimi sono zone di una proteina molto "sensibili": se mutate, portano ad un'inattivazione/perdita di funzionalità della stessa, e sono spesso responsabili delle interazioni fisio- e patologiche della stessa proteina con altre proteine. I ricercatori hanno

osservato che, se un frammento si lega in corrispondenza di un *hot spot* ($\geq 80\%$ di sovrapposizione fra un *hot spot* e l'orientazione con cui un frammento si lega ad una proteina), la successiva decorazione del frammento non altererà il modo di *binding* - determinato appunto dall'interazione con lo *hot spot*; se invece il frammento lega in zone meno rilevanti per l'intera proteina, oppure con una sovrapposizione inferiore rispetto allo *hot spot*, l'orientamento nel sito di legame dei composti di decorazione a partire dal frammento originario potrebbe variare molto, o addirittura potrebbe variare il sito di legame. Vi invito ad osservare le due strutture **3** e **4** (ed i frammenti **5** e **6-8** relativi) in Fig. 2: chi potrebbe a priori prevedere che la coppia **3-5** sia solida (mantenimento del *binding* osservato in **3** nel frammento **5**), mentre invece nessuno fra i frammenti **6-8** si lega in corrispondenza dello spazio occupato dalla simile porzione strutturale del *lead* **4**?

Quindi, effettuando uno screening di centinaia o migliaia di frammenti usando la cristallografia e l'NMR (sempre che si abbiano competenze e strumentazione adeguata a disposizione...), è consigliabile controllare se e quanto il *binding* osservato per ognuno dei frammenti "positivi" in prima battuta si sovrapponga con *hot spot* noti nella proteina: questo servirà a concentrarsi da subito su frammenti adatti all'ottimizzazione mirata ed efficiente.

PIERFAUSTO SENECI

DIPARTIMENTO DI CHIMICA
UNIVERSITÀ DI MILANO

PIERFAUSTO.SENECI@UNIMI.IT

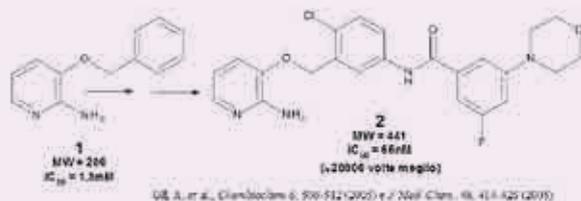


Fig. 1

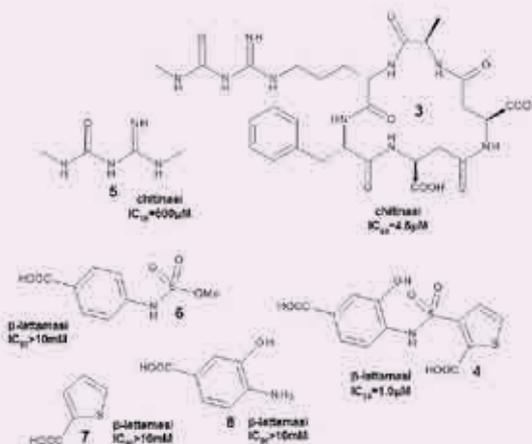


Fig. 2