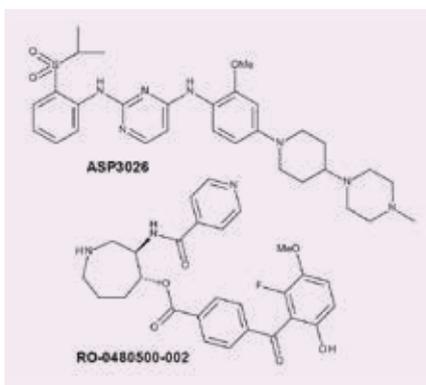




L'articolo di cui vi parlo [H. Al-Ali *et al.*, *ACS Chem. Biol.*, 2015, **10**, 1939] mi ha colpito per due motivi. Il primo è la parte iniziale del titolo: *Rational polypharmacology*. Per chi non lo sapesse, la poli-farmacologia è (anche, se non soprattutto) ciò che un tempo chiamavamo effetti collaterali, e che sfuggivamo come l'acqua santa è sfuggita dal demonio, inseguendo il miraggio del farmaco totalmente specifico. Oggi si sa che la specificità assoluta non esiste: molti articoli identificano *target*/bersagli molecolari aggiuntivi per farmaci in commercio (a volte scoprendo che questi *target* secondari contribuiscono all'effetto terapeutico), e la riscoperta/*repurposing* di farmaci noti per altre indicazioni è pure di moda.



È il *rational* che mi colpisce: pur con le informazioni accumulate attraverso le *high throughput technologies* (se preferite, *the -omics world/genomica, proteomica, metabolomica, trascrittomica* etc. etc.) siamo lontani dal poter comporre il profilo farmacologico desiderato (un pizzico di chinasi, con una punta di proteasi, un cespo di *heat shock proteins*, e per finire due o tre *protein-protein interactions* fresche; suona più come una ricetta che come un approccio razionale, purtroppo). Il secondo elemento che mi ha colpito sta nei gruppi di ricerca a cui afferiscono gli autori. La multinazionale farmaceutica GlaxoSmithKline è garanzia di impegno solido e di attenzione a risultati utili e non di facciata. Ancor più mi ha sorpreso trovare il *Core Machine Learning Science Team* di Amazon: segno dei tempi che cambiano, o meglio della (da me tanto amata) interdisciplinarietà scientifica.

Nel lavoro si tratta di una delle famiglie più numerose, ed ahimè più promiscue in termini di inibitori, di enzimi: le chinasi. Spesso si parla di *kinase polypharmacology*, quasi sempre a posteriori: si ottimizza un composto terapeuticamente utile per l'inibizione di una chinasi bersaglio, salvo poi profilarlo su un gran pannello di chinasi dopo averne constatato l'efficacia preclinica, o addirittura oltre. Esistono pochissimi esempi di *collage* scientifico che richiedono una conoscenza estremamente approfondita del processo patologico da modulare razionalmente: anche questo capita molto di rado.

Gli autori hanno scelto un fenotipo terapeuticamente rilevante (la crescita-rigenerazione dei neuriti/*neurite outgrowth* nel sistema nervoso centrale a seguito di eventi traumatici), per il quale inibitori di varie chinasi hanno mostrato efficacia, ma per cui non è chiaro come scegliere le più terapeuticamente rilevanti. Il lavoro inizia con l'identificazione di 77 composti (da una libreria di 1.606 inibitori di chinasi) capaci di almeno raddoppiare la velocità di crescita neuritica.

Fra essi, si sono scelti i 5 più dissimili in termini di struttura, e di chinasi inibite (a dimostrare come varie influiscano sulla ricrescita); questi 5 sono stati testati in varie combinazioni, osservando un effetto sinergico fra 3 di essi.

Fin qui, tutto molto "classico": identificazione di inibitori attivi, *cocktail* potente, ma nessun chiarimento su quali fra le chinasi inibite dai composti siano più rilevanti. Qui entrano in gioco il *machine learning* ed Amazon.

Con un *software* intelligente, dopo l'introduzione dei dati sperimentali per alcuni composti (*training set*) e la valutazione *in silico* di composti attivi e non attivi, si stabilisce quali composti siano rilevanti per il *neurite outgrowth*, e quali chinasi (da essi inibite) siano le più rilevanti. Il tutto è seguito da un raggruppamento/*clustering* delle chinasi più promettenti, ed, in ultima analisi, dalla selezione di 15 sotto-famiglie popolate da 52 chinasi contenenti sia le più promettenti (*target* potenziali) che quelle più "nocive" per l'attività pro-ricrescita neuritica (*anti-target* potenziali). Ora si torna al reale/laboratorio.

In uno sforzo titanico, vengono effettuate 52(!!!) serie di esperimenti cellulari in presenza di sequenze di RNA interferenti (siRNA) specifiche per ognuna delle 52 chinasi. Ciò conferma i dati *in silico*, e - dopo ulteriori *clustering*/selezioni di *target* potenziali più attraenti - permette di selezionare ROCK2, PRKCG e RPS6KA4 (famiglie di chinasi note per effetto benefico su ricrescita neuritica), TNK2, PIK3CD, PRKG1 e PRKX (non note come stimolatrici di crescita neuritica), e p38, MAPKAP3 e CDK5 (identificate come *anti target proteins*).

Tali risultati hanno permesso la selezione di due composti attivi sulle 7 chinasi *target* (ASP3026 su PIK3CD e TNK2, RO-0480500-002 su ROCK2, PRKCG, RPS6KA4, PRKG1 e PRKX) e non interferenti con le 3 chinasi *target* (V. Figura).

La somministrazione in combinazione di ASP3026 e RO-0480500-002 in neuroni *in vitro* porta ad una crescita neuritica superiore ad ognuno fra i composti precedentemente testati, o ad ogni combinazione fra loro. Inoltre, RO-0480500-002 è stato testato con successo in un modello murino di lesione e successiva ricrescita assonale corticospinale: pur dovendo effettuare una somministrazione complessa (la stabilità del composto è minima), l'effetto di RO-0480500-002 dopo 4 settimane di trattamento è significativo ($\approx 200\%$ di assoni in crescita rispetto ad un controllo non trattato). Se il composto non può essere definito *drug-like* (ma può servire da punto di partenza per un'ottimizzazione strutturale), l'approccio (utilizzato dagli autori anche per l'identificazione di *target* ed *anti-target* proteins contro il tumore al seno) sembra promettente, spero ne conveniate.

PIERFAUSTO SENECI

DIPARTIMENTO DI CHIMICA
UNIVERSITÀ DI MILANO

PIERFAUSTO.SENECI@UNIMI.IT