

L'appuntamento odierno sarà dedicato ad un tipo particolare di librerie combinatoriali, chiamate librerie "dinamiche", che stanno attualmente ricevendo una grande attenzione da parte di laboratori accademici e industriali all'avanguardia e sono potenzialmente adatte per la scoperta rapida di nuovi farmaci. Il principio ispirante queste librerie, che al tempo stesso le differenzia dalle normali librerie sintetiche, è illustrato in Figura 1.

Consideriamo la sintesi di una libreria combinatoriale molto semplice, costituita da 100 individui derivanti dal coupling fra 10 monomeri A e 10 monomeri B e realizzata in miscela, cioè in un unico reattore contenente l'intera libreria. Nel caso di una libreria sintetica classica in fase solida (Caso 1) la metodologia "mix and split" e la "ridondanza", cioè l'alto numero di copie per ogni monomero rispetto al numero totale di prodotti nella libreria, permette la formazione di quantità approssimativamente equimolecolari dei 100 prodotti (step a). Ogni componente la libreria risulta dalla formazione di un legame covalente irreversibile fra i due partner di reazione. La libreria viene poi testata su un target biologico di interesse (step b) e, attraverso deconvoluzione o decoding (steps c o d), la struttura del (o dei) prodotto attivo viene identificata. Sia la sintesi sia la determinazione dell'attività della libreria, e anche la caratterizzazione strutturale dei suoi positivi, avvengono in maniera "statica", cioè senza influenzare la composizione della libreria stessa e senza privilegiare in alcun modo i composti attivi rispetto ai non attivi.

Consideriamo invece il caso in cui la reazione prodcente la libreria sia un equilibrio (Caso 2) in cui il prodotto di reazione può, nelle condizioni sperimentali utilizzate, riequilibrarsi con i due monomeri di partenza, i quali possono poi a loro volta reagire con altri monomeri; una volta raggiunto l'equilibrio favorito termodinamicamente la libreria stessa è effettivamente ottenuta (step e) ed è composta da una miscela non-equimolecolare di prodotti (alcuni dei quali potrebbero pure

essere assenti a causa del loro essere termodinamicamente sfavoriti). Un'analisi della libreria compiuta di solito con tecniche analitiche (HPLC, MS ecc., step f) permette di determinare il rapporto relativo di ogni componente presente nella libreria stessa.

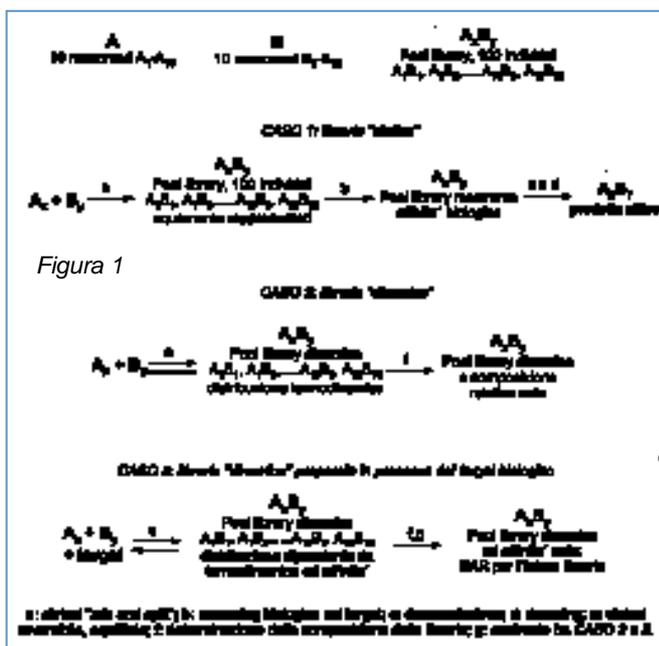
Così stando le cose, non ci sarebbero particolari vantaggi nel preparare una libreria dinamica rispetto ad una statica. Se invece durante la sintesi della libreria si aggiunge alla miscela dei monomeri il target biologico in esame (Caso 3, step e) la composizione finale della libreria dipende anche dall'affinità per il target di ogni componente: infatti molecole a più alta affinità si legano al target e perciò più difficilmente riequilibrano coi monomeri di partenza, venendo quindi prodotte in preferenza rispetto a molecole con poca o nessuna affinità. Una nuova analisi della libreria, seguita dalla comparazione dei rapporti relativi fra componenti della libreria in assenza (Caso 2) e in presenza (Caso 3) del target permettono infine di identificare i componenti maggioritari in presenza del target, ma anche di ottenere immediatamente una SAR (struttura-attività) grezza per l'intera libreria (step f, g).

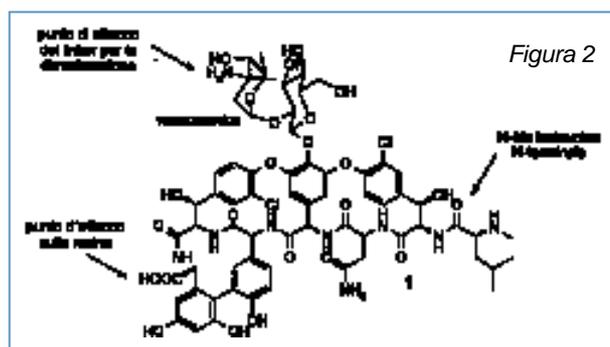
La descrizione appena riportata dovrebbe aver già evidenziato i due più importanti nodi da sciogliere per quanto riguarda la sintesi e l'utilizzo di librerie dinamiche, e cioè:

- l'uso di trasformazioni chimiche reversibili e compatibili con la presenza di un target biologico nel mezzo di reazione;
- la preparazione di librerie contenenti più di un punto di diversità, cioè derivanti da due o più trasformazioni reversibili e biocompatibili.

Per quanto riguarda il primo punto, mi preme citare alcuni lavori molto recenti che dimostrano come varie trasformazioni siano effettivamente adatte alla generazione di librerie dinamiche. La formazione di basi di Schiff a partire da aldeidi aromatiche e ammine (I. Huc, J.-M. Lehn, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1997, **94**, 2106) e di acilidrazoni a partire da aldeidi e idrazidi (T.

Bunyapaiboonsri *et al.*, *ChemBiochem*, 2001, **2**, 438), entrambe in presenza di acetilcolinesterasi allo scopo di determinare la struttura di potenziali inibitori, sono state ampiamente caratterizzate dal gruppo di Lehn a Strasburgo; lo stesso gruppo ha anche riportato la formazione di legami disolfuro a partire da tioli (O. Ramstroem, J.M. Lehn, *ChemBiochem*, 2000, **1**, 41). Sanders a Cambridge ha studiato in dettaglio reazioni di macrociclizzazione (transesterificazione, transacilazione, formazione di acilidrazoni) allo scopo di preparare librerie di recettori (target artificiali) sottoposte a selezione in presenza di leganti a rilevanza biologica (ad esempio P.A. Brady, J.K.M. Sanders, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, 1997, 3237 e R.L.E. Furlan *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, 2001, **123**, 8876). Eliseev a Pittsburgh ha riportato esempi di isomerizzazioni *cis-trans* di doppi legami atte alla generazione di librerie dinamiche (A.V. Eliseev, M.I. Nelen, *J. Am. Chem. Soc.*, 1997, **119**,





1147), mentre anche l'uso di reazioni di scambio di leganti in complessi di coordinazione è stato riportato da Miller a Rochester, NY (C. Karan, B.L. Miller, *J. Am. Chem. Soc.*, 2001, **123**, 7455). Per quanto concerne il secondo punto, Eliseev e Lehn hanno recentemente riportato (V. Goral, *et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2001, **98**, 1347) la sintesi di librerie dinamiche "ortogonali", dove cioè due reazioni reversibili e indipendenti l'una dall'altra generano librerie contenenti due punti di diversità; nello specifico, la formazione di immine o acilidrazoni da aldeidi aromatiche e ammine o idrazidi, e la loro complessazione con ioni metallici.

La ricerca nel campo prosegue spedita, e ulteriori esempi di nuove reazioni e/o nuove combinazioni di reazioni sono da attendersi; mi piace però concludere con un eccellente esempio integrato di ricerca di nuovi principi attivi che, fra gli altri strumenti, usa anche librerie dinamiche per accelerare il progetto. Il gruppo di Nicolaou allo Scripps Research Institute di San Diego ha riportato recentemente un cosiddetto esempio di "target-accelerated combinatorial synthesis" (K.C. Nicolaou *et al.*, *Chem. Eur. J.*, 2001, **7**, 3798 e 3824) applicato alla ricerca di nuovi analoghi attivi della vancomicina, un ben noto antibiotico glicopeptidico (**1**, Figura 2).

Nel primo lavoro Nicolaou ha messo a punto una strategia sintetica in fase solida che permettesse 1) di ancorare solidamente **1** attraverso il gruppo carbossilico, proteggendo ognuno dei gruppi alcoolici o fenolici, 2) di funzionalizzare selettivamente l'ammina della vancosamina con aldeidi aromatiche sostituite, 3) di ottenere deglicosilazione parziale o totale del glicopeptide eptaamminoacidico, 4) di degradare **1** selettivamente fino a perdere la *N*-metilsoleucina *N*-terminale (Figura 2).

Nel secondo lavoro le metodiche sopra citate sono state utilizzate per preparare alcune piccole librerie dinamiche di dimeri della vancomicina (da 2 a 36 componenti), composte sia da omo- sia da eterodimeri, attraverso derivati recanti sulla funzione amminica della vancosamina spaziatori aromatici funzionalizzati con gruppi tiolici oppure etilenici terminali. Nel primo caso la reazione reversibile sfruttata è stata la formazione di dimeri a ponte disolfuro, nel secondo a ponte etilenico derivante da reazione di metatesi (anch'essa reversibile); entrambe le metodiche sono risultate compatibili con la presenza nel mezzo di reazione di un analogo del target biologico della vancomicina, cioè il tripeptide Ac₂-L-lisina-D-alanina-d-alanina. Le risultanze della sintesi e della successiva caratterizzazione analitica (MS) hanno permesso di identificare motivi di attività estremamente interessanti, sintetizzati in maggior quantità a causa della presenza del target, da subito utilizzabili per la sintesi di derivati stabili ad attività antibatterica.