

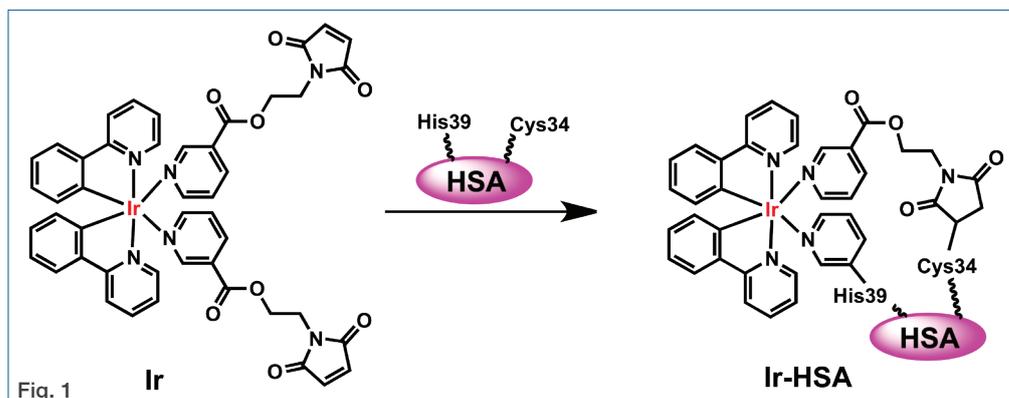


A CURA DI SILVIA CAUTERUCCIO E MONICA CIVERA  
 DIPARTIMENTO DI CHIMICA  
 UNIVERSITÀ DI MILANO  
 SILVIA.CAUTERUCCIO@UNIMI.IT  
 MONICA.CIVERA@UNIMI.IT

## Nuovi fotosensibilizzatori in terapia fotodinamica

La terapia fotodinamica (*Photodynamic Therapy, PDT*) è utilizzata ormai da diversi anni nel trattamento di numerose patologie, tra cui malattie virali locali, infezioni locali batteriche o fungine, nonché come terapia non invasiva per la cura di diversi tipi di tumori. La PDT sembra infatti combinare in sé i vantaggi della chemioterapia e della radioterapia, mostrando una bassa tossicità sistemica e minori effetti collaterali. Essa è un tipo di fototerapia che prevede l'impiego di tre componenti chiave: una sostanza chimica fotosensibile (fotosensibilizzatore), una sorgente di luce e l'ossigeno presente nei tessuti. L'assorbimento della luce di opportuna lunghezza d'onda da parte del fotosensibilizzatore genera degli stati eccitati che a loro volta provocano la trasformazione dell'ossigeno tripletto ( $^3\text{O}_2$ , generalmente presente nelle cellule) in ossigeno singoletto ( $^1\text{O}_2$ ), che è una specie ossidante molto reattiva ed altamente tossica. Quest'ultima è in grado di innescare reazioni a catena che danneggiano irreversibilmente la membrana cellulare portando alla morte della cellula stessa [H. Abrahamse, *J. Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2009, **96**, 1]. Un buon fotosensibilizzatore dovrà possedere quindi le seguenti proprietà: intenso assorbimento nella regione del vicino infrarosso (600-850 nm dove è generalmente massimo l'assorbimento per i tessuti viventi), bassa tossicità al buio ma elevata citotossicità in presenza di luce, buona stabilità in condizioni fisiologiche, fotostabile e non ossidabile da parte dell'ossigeno singoletto ( $^1\text{O}_2$ ), e, molto importante, deve accumularsi selettivamente nei tessuti malati e deve essere

facilmente eliminato da quelli sani. Ad oggi sono stati sviluppati molteplici fotosensibilizzatori, costituiti da cromofori di natura organica (ematoporfirine naturali e porfirine sintetiche), complessi a base di metalli di transizione, semiconduttori e sistemi fotosensibilizzanti coniugati a biomolecole o a nanostrutture. Lo studio di questi ultimi sta suscitando notevole interesse, come riportato in un lavoro di Sadler [P.J. Sadler, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2019, **58**, 2350], dove è stato sintetizzato un sistema luminescente formato da un complesso di Ir(III) coordinato alla siero albumina umana (HSA), che è tra le proteine più abbondanti nel plasma sanguigno, ed è ampiamente utilizzata nel *delivery* di farmaci antitumorali. La coniugazione del complesso Ir (Fig. 1) a HSA attraverso i residui His39 e Cys34 incrementa notevolmente la fosforescenza del coniugato **Ir-HSA** rispetto al complesso Ir. Inoltre, **Ir-HSA** possiede elevata fotostabilità e ottima capacità di generare  $^1\text{O}_2$  (resa quantica  $\Phi(^1\text{O}_2)=0,83$ ), risulta fotocitotossico nei confronti di numerose linee di cellule tumorali (*light IC*<sub>50</sub>:0,8-5  $\mu\text{M}$ ; indice di fotocitotossicità  $PI=40-60$ , con  $PI=\text{dark IC}_{50}/\text{light IC}_{50}$ ), e non mostra una significativa tossicità nelle cellule sane anche in seguito a fotoirradiazione. Tutte queste caratteristiche lo rendono un fotosensibilizzatore molto promettente per potenziali applicazioni cliniche in PDT.





### Ligandi covalenti: il ritorno

Circa il 30% dei farmaci venduti come inibitori enzimatici funziona legandosi covalentemente al recettore. Di questa classe di composti fanno parte i principali antibiotici  $\beta$ -lattamici, alcuni farmaci antitumorali, quelli utilizzati per il trattamento di disturbi gastrointestinali, malattie cardiocircolatorie ed infine anche per colpire il sistema nervoso [H.M. Kumalo, *Molecules*, 2015, **20**, 1984].

Formando un legame covalente con il recettore, i *targeted covalent inhibitors* (TCIs), sono ligandi molto potenti, infatti, oltre ad avere elevata affinità per il recettore, hanno un'azione biologica più duratura nel tempo, ma, a causa degli effetti di *off-targeting*, spesso elevate tossicità. Per queste ragioni richiedono una maggiore selettività, raggiunta grazie all'ottimizzazione delle interazioni non covalenti. Il legame covalente si forma solitamente tra un gruppo elettrofilo del ligando (*warhead*) ed un residuo nucleofilo della proteina, spesso una cisteina. Il legame che si forma può essere reversibile o irreversibile in funzione della natura del gruppo elettrofilo [A. Scarpino, *J. Chem. Inf. Model.*, 2018, **58**, 1441]. Diversi software di docking sono stati recentemente aggiornati ed integrati con nuovi *tools* (Fig. 2) in grado di fare docking covalente, ancora per ora limitato allo studio di pochi composti alla volta (difficile fare screening di librerie visto che la formazione del legame covalente richiede calcoli quanto meccanici molto *time-consuming*, soprattutto se si utilizzano ligandi con diversi *warhead*). I calcoli di *virtual screening* sono limitati allo studio di *warhead* si-

mili tra loro in modo da poter approssimare per tutti i ligandi una simile energia di formazione del legame. In aggiunta a valutazione e ottimizzazione delle interazioni di non legame, in un calcolo di docking covalente la 'posa' del ligando nel sito deve essere ottimizzata per favorire la formazione del legame covalente. Nel lavoro di Scarpino, vari software di *covalent docking* vengono valutati e confrontati in base alla capacità di riprodurre le pose cristallografiche di circa 207 complessi ligando-proteina. Gli errori più frequenti riguardano sia la valutazione della posa cristallografica in termini di *score* (stima dell'energia di legame) che il campionamento conformazionale del ligando, in particolare del cambio conformazione che avviene per il gruppo elettrofilo quando si forma il legame covalente. Anche la dimensione del ligando ha un effetto sul risultato del docking, e, aumentando, il numero di legami ruotabili aumenta l'errore. Inoltre, c'è una dipendenza dal tipo di *warhead*: tutto i *tools* esaminati riproducono meglio ligando che si lega tramite un'addizione di Michael o elettrofila, una sostituzione nucleofila piuttosto che una reazione di apertura di un anello e la formazione di un ponte disolfuro. Anche l'accessibilità di cisteine nel sito di legame e la tipologia di proteina possono influenzare il risultato.

