

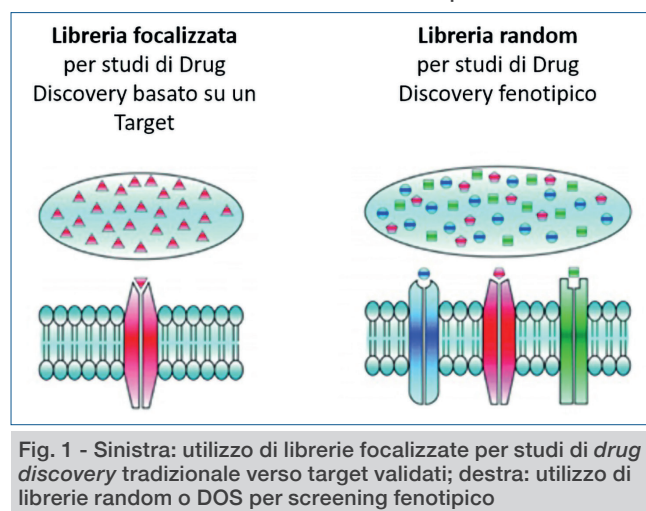


L'IMPORTANZA DELLA SINTESI ORIENTATA ALLA DIVERSITÀ E DELLA CHEMOINFORMATICA PER LA GENERAZIONE DI LIBRERIE DI MOLECOLE DI ALTA QUALITÀ

Lo screening fenotipico di librerie random è un approccio strategico per il drug discovery, soprattutto se le molecole sono tridimensionalmente complesse e strutturalmente diverse. Nel nostro gruppo di ricerca, nuovi eterocicli complessi, caratterizzati da elementi glico- e/o peptido-mimetici, vengono generati combinando approcci di Sintesi Orientata alla Diversità e di chemoinformatica.

La probabilità che una molecola dai primi stadi del *drug discovery* riesca a raggiungere le fasi finali di sperimentazione clinica è molto bassa. Per questo risulta chiaro come l'industria farmaceutica non possa basare le sue ricerche su poche strutture, ma abbia bisogno di poter produrre e testare ogni giorno un enorme numero di molecole, con metodi rapidi, semplici e poco costosi. Queste collezioni di molecole, chiamate *librerie*, si distinguono principalmente in due grandi gruppi, a seconda del tipo di drug discovery in cui vengono applicate. Nel primo approccio tradizionale, i chimici sintetici preparano delle *librerie focalizzate*, caratterizzate da molecole che condividono un chemotipo generale, progettato razionalmente sulla base dei dati cristallografici del target di interesse (Fig. 1, sinistra). Questo metodo ha permesso la sintesi di un enorme numero di farmaci ed è tuttora uno strumento fondamentale, soprattutto quando sono noti molti dati strutturali.

Il secondo approccio consiste nello screening fenotipico di *librerie random*, ovvero collezioni di molecole diverse tra loro, che vengono saggiate su sistemi complessi, come cellule tumorali o interi microorganismi, alla ricerca di un effetto fenotipico di interesse,



Elena Lenci è risultata vincitrice del Premio Junior alla ricerca Chimica Organica per le Scienze della Vita 2021 promosso dalla Divisione di Chimica Organica della SCI.



come l'arresto della crescita cellulare o la morte del microorganismo (Fig. 1, destra). Questo metodo non convenzionale sta ricevendo sempre più successo sia dall'industria farmaceutica che in accademia, in particolare per lo sviluppo di farmaci verso quelle patologie dove la ricerca biomedica non ha ancora individuato i target molecolari responsabili dello stato patologico. Per aumentare le probabilità che una molecola interagisca con uno dei target presenti nel sistema studiato, è importante che le molecole siano quanto più possibile diverse tra loro, ovvero che differiscano non solo per i pendagli (come nel caso delle librerie focalizzate), ma soprattutto anche per lo *scaffold* centrale, ovvero che siano in grado di esplorare aree molto vaste dello spazio chimico. Per ottenere librerie di questo tipo, agli inizi degli anni Duemila Stuart Schreiber ha sviluppato la Sintesi Orientata alla Diversità (DOS) [1]. In contrapposizione alla tradizionale sintesi orientata al target, questo tipo di strategia sintetica opera in modo da generare la massima diversità e complessità strutturale a partire da pochi semplici prodotti di partenza. Dato che gli sforzi sintetici non sono diretti verso un target ben validato, è importante che queste strategie siano caratterizzate da non più di 4-5 step sintetici, siano versatili (applicabili a un gran numero di substrati diversi) ed efficienti (con reazioni ad alte rese ed economicamente convenienti).

Nel gruppo di ricerca del Prof. Trabocchi, la DOS viene studiata a partire da zuccheri e amminoacidi, che vengono funzionalizzati in modo da poter essere applicati nella strategia chiamata Build/Couple/Pair. Questa consiste in: 1) una fase iniziale in cui vengono preparati i *building block* chirali, progettati con l'opportuno set di gruppi funzionali utili per i successivi passaggi, 2) una fase intermedia di *coupling* dove i prodotti di partenza vengono assemblati insieme e 3) una fase finale di *pairing* in cui vengono indotte sull'intermedio di coupling diverse reazioni di ciclizzazione intramolecolare in modo da generare strutture con scaffold molecolare diverso. L'utilizzo di derivati di zuccheri e amminoacidi come

building block si è rivelato un approccio vincente per la DOS, non solo perché queste molecole sono ricche di gruppi funzionali sinteticamente utili, ma anche perché possiedono un intrinseco valore biologico che permette di portare nelle strutture finali elementi in grado di interagire con i target presenti in natura. Ad esempio, l'utilizzo del mannosio in una strategia Build/Couple/Pair ha permesso di generare in pochi passaggi sintetici sei scaffold molecolari diversi, tridimensionalmente complessi e caratterizzati da un gran numero di gruppi ossidrilici. Dall'applicazione di questa piccola libreria in un saggio fenotipico su cellule MDAMB231 è stata individuata la molecola fuossazinica, che è in grado di arrestare il ciclo cellulare nella fase G0 (Fig. 2) [2, 3]. Questo è un risultato molto promettente perché le cellule MDAMB231 sono un modello per lo studio del carcinoma mammario triplo-negativo, un tipo di cancro molto aggressivo, che si sviluppa anche in giovane età e che non risponde alla terapia farmacologica attualmente disponibile. Per poter valutare la qualità delle librerie ottenute mediante sintesi DOS, sia in termini di diversità sia di complessità strutturale dei composti sintetizzati, è importante utilizzare studi di tipo chemoinformatico, che possono essere sfruttati non solo per classificare e valutare le molecole sintetizzate, ma anche per decidere quale strada sintetica intraprendere, dopo aver valutato lo spazio chimico coperto da strutture di interesse. Il gruppo di ricerca del Prof. Trabocchi, in collaborazione con il Prof. Medina-Franco della National Autonomous University of Mexico [4], utilizza la chemoinformatica per:

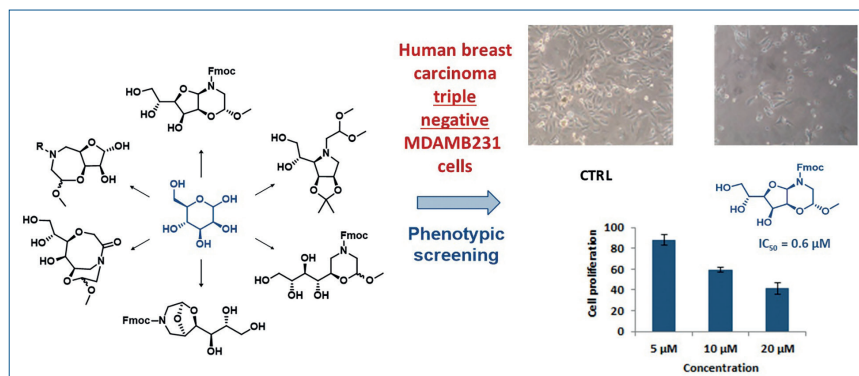


Fig. 2 - Identificazione della molecola fuossazinica come induttore del blocco della crescita in cellule di carcinoma mammario triplo-negativo, mediante screening di tipo fenotipico di una libreria DOS derivante dal mannosio

- 1) analizzare sistematicamente database chimici alla ricerca di composti che contengono un certo chemotipo strutturale (come ad esempio il lattame o l'acetale), per definire e classificare lo spazio chimico che esse ricoprono;
 - 2) correlare chemotipi ricorrenti con una precisa attività biologica osservata nelle molecole che li contengono;
 - 3) implementare nuovi algoritmi per generare librerie virtuali seguendo precise strategie sintetiche, come la sintesi DOS, per aumentare la complessità tridimensionale e la diversità dei prodotti finali.
- La chemoinformatica, nata nel campo del drug design, si sta sempre più affermando come strumento a sostegno della progettazione e sintesi di molecole, anche grazie al fatto che molti di questi strumenti sono ormai *user-friendly* e accessibili gratuitamente

sul web [5]. Con l'avvento dell'intelligenza artificiale e dei big data, non è difficile immaginare come questa disciplina si dimostrerà un valido sostegno alla chimica sintetica di laboratorio.

BIBLIOGRAFIA

- [1] S.L. Schreiber, *Science*, 2000, **287**, 1964.
- [2] E. Lenci, G. Menchi, A. Guarna, A. Trabocchi, *J. Org. Chem.*, 2015, **80**, 2182.
- [3] E. Lenci, G. Menchi, A. Trabocchi, *Org. Biomol. Chem.*, 2016, **14**, 808.
- [4] F.I. Saldivar-Gonzalez, E. Lenci, A. Trabocchi, J.L. Medina-Franco, *RSC Advances*, 2019, **9**, 27105.
- [5] E. Lenci, R. Innocenti, G. Menchi, A. Trabocchi, *Front. Chem.*, 2018, **6**, 522.

The Importance of the Diversity-Oriented Synthesis and Chemoinformatics for the Generation of High Quality Molecules Libraries

Phenotypic screening of random libraries is a winning approach in drug discovery, especially if molecules within the library are three-dimensionally complex and structurally different. In our research group, new complex heterocycles, containing glyco- and/or peptidomimetic moieties, are generated through a combination of Diversity Oriented Synthesis and chemoinformatics.