



SINTESI DI AMMINOACIDI FUNZIONALIZZATI CON SALICILALDEIDE PER LO SVILUPPO DI LIGANDI PEPTIDICI COVALENTI-REVERSIBILI

L'articolo premiato dall'EurJOC-SCI Award 2026 descrive la sintesi ottimizzata di due α -amminoacidi non naturali funzionalizzati con salicilaldeide, progettati per formare legami covalenti reversibili con residui di lisina. La strategia, scalabile e riproducibile, ha portato a due isomeri compatibili con la sintesi peptidica standard.

I peptidi si sono ormai affermati come strumenti terapeutici di straordinario interesse, capaci di unire la selettività tipica dei farmaci biologici alla flessibilità sintetica delle piccole molecole organiche, offrendo nuove opportunità per modulare bersagli farmacologici complessi e interazioni proteina-proteina finora considerati difficilmente attaccabili.

Per potenziare ulteriormente l'affinità di legame e l'efficacia di questi costrutti, una delle strategie più promettenti consiste nell'introdurre sulle catene peptidiche dei gruppi funzionali elettrofili capaci di reagire in modo mirato con i residui amminoacidici nucleofili presenti sulla superficie della proteina target. In questo ambito, la salicilaldeide (SA) possiede una reattività di eccezionale interesse grazie alla sua capacità di interagire selettivamente con ammine primarie,

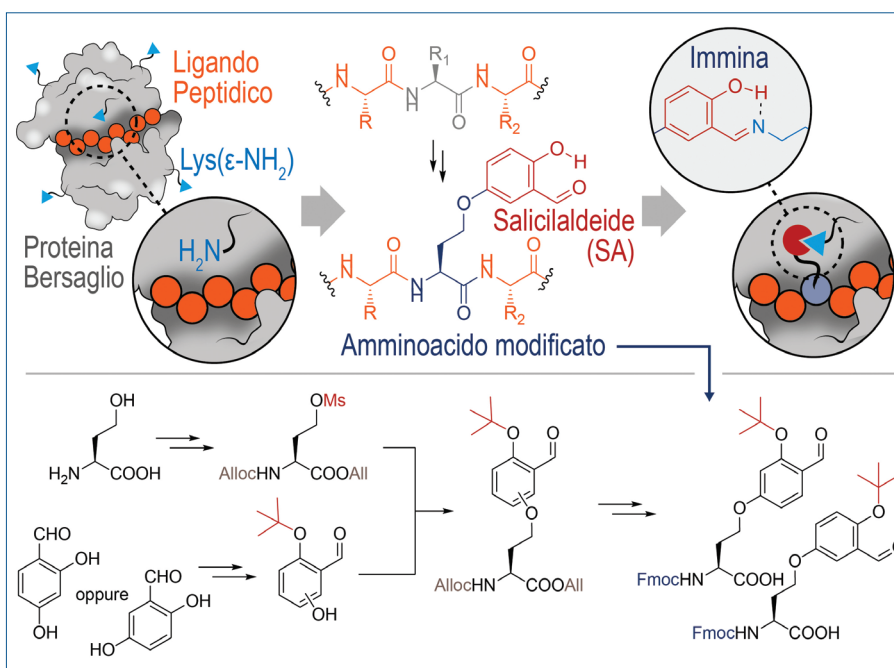


Fig. 1 - Sopra: rappresentazione schematica di un ligando peptidico in complesso con la proteina bersaglio. Qualora fosse nota la vicinanza di un residuo di lisina ad uno degli amminoacidi del peptide, la sostituzione di quest'ultimo con un α -amminoacido non-naturale, recante una salicilaldeide (SA) sulla catena laterale, si propone come strategia per la creazione di un addotto imminico con la proteina, finalizzato a stabilizzare il complesso proteina:ligando e migliorare potenza e selettività. Sotto: schema sintetico proposto per la sintesi di due amminoacidi-SA, funzionalizzati con gruppi protettivi ortogonali utili all'assemblaggio di ligandi peptidici covalenti-reversibili



che nelle proteine si trovano nei residui N-terminali e nelle catene laterali dei residui di lisina [1]. La reazione tra la salicilaldeide e questi gruppi amminici porta alla formazione di un legame imminico che, nonostante sia un gruppo reversibile e suscettibile ad idrolisi, risulta straordinariamente stabile in ambiente acquoso fisiologico, in quanto il protone fenolico della salicilaldimmina è coinvolto in un legame a idrogeno con l'atomo di azoto. I gruppi ϵ -amminici dei residui di lisina risultano essere i gruppi potenzialmente nucleofili più diffusi nel proteoma, e mostrano una preferenziale espressione sulle zone superficiali delle proteine [2]. Per queste ragioni, l'inserimento di residui di SA in strutture peptidiche di piccole/medie dimensioni rappresenta un approccio molto generale allo sviluppo di ligandi peptidici covalenti, in grado di legare ed inibire proteine d'interesse con un'affinità comparabile a quella dei farmaci biologici, come gli anticorpi monoclonali.

In questi ultimi anni, il gruppo del prof. Alberto Dal Corso, del Dipartimento di Chimica dell'Università degli Studi di Milano, è stato molto attivo nello sviluppo dei derivati di SA mirati allo studio di ligandi covalenti reversibili [3]. Sebbene il gruppo avesse già esplorato l'inserimento del tag salicilaldeide alle estremità N- o C-terminali di sequenze peptidiche [4], l'installazione del gruppo elettrofilo su una posizione interna della catena rappresenta un salto di qualità fondamentale per poter ingaggiare con maggior versatilità e precisione millimetrica le lisine situate nelle immediate vicinanze del sito di legame. In questo lavoro, pubblicato sulla rivista *European Journal of Organic Chemistry* e inserito nella tesi di dottorato del Dr. Mattia Mason, viene descritta la progettazione e la sintesi ottimizzata di due nuovi α -amminoacidi non-naturali che integrano la tag di SA direttamente sulla propria catena laterale [5].

La strategia sintetica, concepita per essere robusta, scalabile e riproducibile su scala multi-grammo, vede la L-omoserina come prodotto di partenza, preferita alla L-serina per conferire maggiore flessibilità allo scheletro molecolare ed evitare reazioni di eliminazione durante la derivatizzazione dell'alcol. Attraverso una sequenza di reazioni mirate, tra cui la protezione selettiva dei gruppi fenolici di due diidrossibenzaldeidi regioisomeriche, la produzione di un etere fenolico e la deprotezione simultanea dei gruppi amminico e acido tramite reazione di Tsuji-Trost, sono stati ottenuti due isomeri costituzionali,

recanti il gruppo Fmoc sul gruppo amminico per renderli perfettamente compatibili con le metodologie standard della sintesi peptidica in fase solida o in soluzione. La reattività e l'effettiva capacità del tag SA di formare il legame imminico con la lisina sono state confermate mediante spettroscopia NMR in ambiente idroalcolico a pH fisiologico. Successivamente, uno degli amminoacidi sintetizzati è stato incorporato con successo all'interno di un tripeptide modello attraverso una sintesi in soluzione, dimostrando l'applicabilità pratica di questi building block nella costruzione di sequenze peptidiche più complesse. La disponibilità di due differenti isomeri costituzionali, in cui la posizione reciproca dell'aldeide e del fenolo varia leggermente, fornirà uno strumento prezioso per valutare come l'orientamento spaziale e la geometria del tag influenzino la cinetica di formazione del legame covalente-reversibile con la proteina target, aprendo la strada al disegno su misura di peptidi ad alta affinità e selettività per le proteine bersaglio.

BIBLIOGRAFIA

- [1] A. Dal Corso, M. Catalano *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2018, **57**, 17178.
- [2] M. Mason, L. Belvisi *et al.*, *ChemBioChem*, 2023, e202300743.
- [3] G. Sacco, S. Stammwitz *et al.*, *Eur. J. Org. Chem.* 2021, **2021**, 1763; b) M. Mason, K. Pegini *et al.*, *RSC Chem. Biol.*, 2026, **7**, 195; c) S. Pollastri, C. Delaunay *et al.*, *ChemistryEurope*, 2026, **4**, e202500485.
- [4] G. Sacco, D. Arosio *et al.*, *Chem. Eur. J.*, 2023, e202203768.
- [5] M. Mason, B. Nava *et al.*, *Eur. J. Org. Chem.* 2024, **27**, 202400229.

Synthesis of Salicylaldehyde-Functionalized Amino Acids for the Development of Covalent-Reversible Peptide Ligands

The article awarded the EurJOC-SCI Award 2026 describes the optimized synthesis of two non-natural α -amino acids functionalized with salicylaldehyde, designed to form reversible covalent bonds with lysine residues. The scalable and reproducible strategy yielded two isomers compatible with standard peptide synthesis.