



# MACROCICLI PEPTIDICI IN DRUG DISCOVERY

**Più di 100 macrocicli sono stati approvati clinicamente. Un macrociclo fornisce una complessità stereochimica in una struttura con una conformazione definita. Nonostante tali preziose caratteristiche, questa classe strutturale è stata scarsamente esplorata in drug discovery. Ciò è in parte dovuto a preoccupazioni riguardo le difficoltà sintetiche e le proprietà non simili alle piccole molecole organiche. In questo articolo, discuteremo gli effetti della macrociclizzazione su potenza e stabilità dei peptidi lineari, focalizzando l'attenzione sulle strategie sintetiche condotte per la realizzazione dei macrocicli peptidici.**

La prevalenza dei macrocicli biologicamente attivi nella letteratura di *medicinal chemistry* è in aumento negli ultimi anni. I macrocicli stanno emergendo come un'area entusiasmante della complessità chimica dei farmaci, con diversi esempi recenti che evidenziano i cambiamenti favorevoli nelle proprietà biologiche e fisico-chimiche che la macrociclizzazione può offrire [1, 2]. Molti prodotti naturali sono dei macrocicli con stereochimiche e strutture complesse. A causa delle loro dimensioni e complessità, possono interagire con i target biologici occupando più spazio nel sito di legame, aumentando in questo modo sia l'affinità di legame che la selettività. L'applicazione dei macrocicli per ingaggiare target biologici impegnativi (ad esempio: recettori accoppiati a proteina-G, interazioni proteina-proteina ed alcuni enzimi) ha suscitato molto interesse in questa classe strutturale [2]. Di conseguenza, recentemente sono diventati di fondamentale importanza nel processo di *drug discovery*, in quanto essi, dal punto di vista di proprietà chimico-fisiche, occupano uno spazio intermedio tra le piccole molecole organiche e le macromolecole (Fig. 1). I macrocicli sono delle archi-

tetture molecolari che contengono uno o più anelli di almeno 12 atomi, possono essere divisi in due principali gruppi: peptidici e non peptidici. In questo articolo, abbiamo trattato i macrocicli peptidici basandoci sulla nostra ricerca condotta in questo campo. I macrocicli peptidici consentono di superare i limiti relativi ai peptidi lineari, ad esempio, la scarsa permeabilità cellulare e la stabilità metabolica non ottimale. Ecco perché, ad oggi, sono stati clinicamente approvati oltre 100 farmaci come macrocicli tra quelli peptidici e non peptidici.

Le strategie sintetiche adottate con successo per la ciclizzazione dei peptidi comprendono l'introduzione di un lattame, lattone, di un ponte disolfuro, cicloaddizioni azide-alchino, metatesi per la chiu-

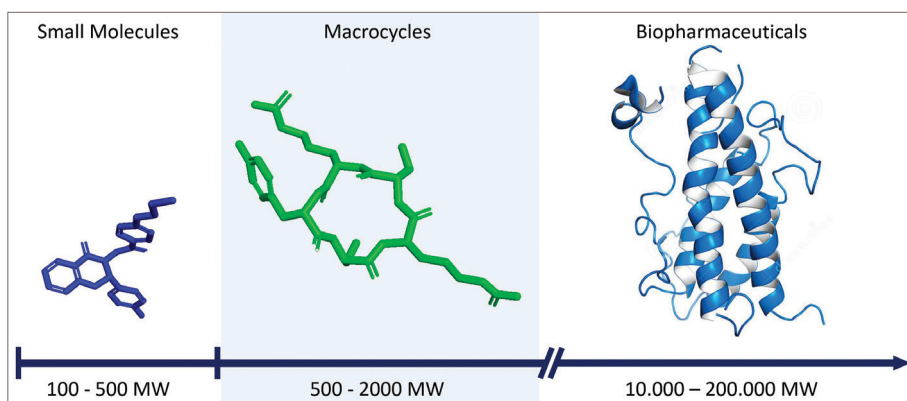


Fig. 1 - I macrocicli completano lo spazio chimico tra le piccole molecole e prodotti biofarmaceutici

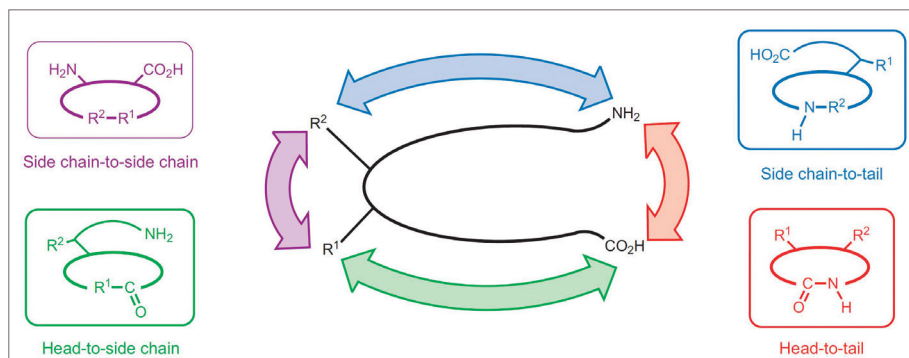


Fig. 2 - Quattro possibili modi in cui un peptide può essere ciclizzato

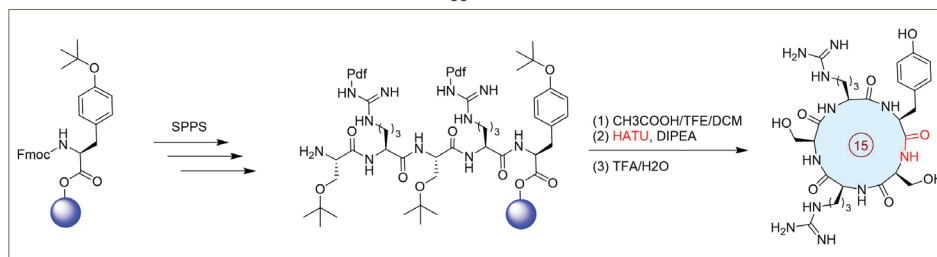
sura dell'anello e reazioni multicomponente. A seconda dei gruppi funzionali, un peptide può essere ciclizzato in quattro modi diversi: da testa a coda (da C-terminale a N-terminale), da testa a catena laterale, da catena laterale a coda o da catena laterale a catena laterale (Fig. 2) [3].

La nostra attenzione si è focalizzata principalmente su due aspetti della macrociclizzazione intramolecolare: la lattamizzazione e la formazione di un ponte disolfuro [4-8]. Sono stati usati diversi target biologici come prova del concetto, ad esempio il Formyl Peptide Receptor-1 (FPR1) e il recettore della urotensina-II (UTR-II).

Data l'importanza della lattamizzazione nello sviluppo clinico di peptidi ciclici (ad esempio, gli stretti analoghi della ciclosporina A: Voclosporin e SCY-635 [2]), abbiamo dimostrato che questo tipo di ciclizzazione può apportare notevoli miglioramenti in termini di potenza adottando diverse conformazioni su alcuni peptidi lineari [4, 5]. In questo contesto, la ciclizzazione da testa a coda tramite la lattamizzazione di un pentapeptide lineare, Ser-Arg-Ser-Arg-Tyr, agonista endogeno del FPR1, ha generato un nuovo potente e stabile inibitore [4]. La scoperta che il macrociclo peptidico,  $c[\text{Ser-Arg-Ser-Arg-Tyr}]$ , inibisce la migrazione cellulare ( $IC_{50} = 10 \text{ pM}$ ) an-

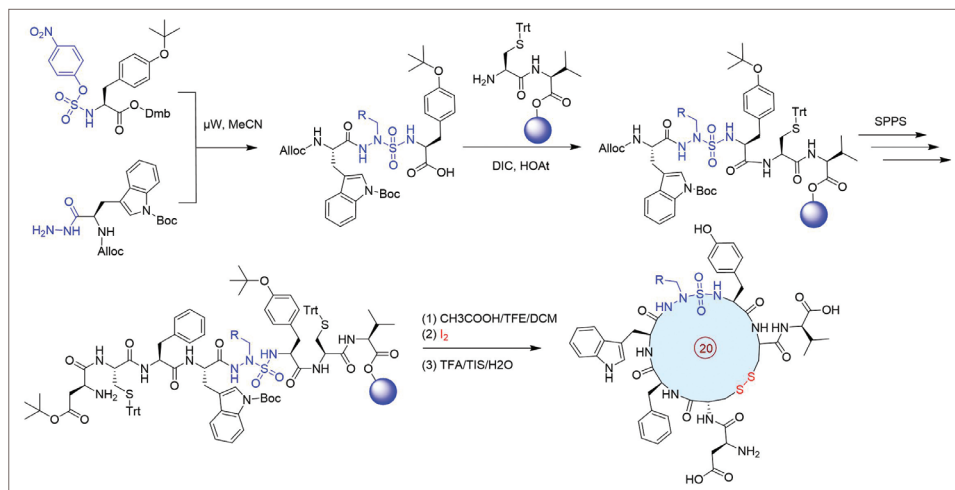
tagonizzando l'attività biologica mediata dal FPR1, può portare alla generazione di nuove cure farmacologiche per malattie sostenute da un eccesso del traffico dei monociti, come le malattie infiammatorie croniche e il cancro [5]. Questi studi costituiscono un approccio innovativo allo sviluppo di macrocicli peptidici come inibitori di FPR1.

Le strategie sintetiche adottate sono rappresentate da una combinazione di sintesi organica in soluzione ed in fase solida su resina SPPS (Schema 1) [4, 5]. Per la realizzazione di queste librerie di pentapeptidi ciclici, è stata utilizzata una resina 2-clorotritilica. Dopo aver costruito le sequenze dei peptidi lineari, questo tipo di resina ci ha permesso di distaccare il peptide lineare con i gruppi ammino- e carbossi-terminale liberi, mantenendo le catene laterali ancora protette. Di conseguenza, il passaggio successivo era quello di sottoporre il peptide lineare ancora protetto ad una ciclizzazione di tipo da testa a coda tramite lattamizzazione per avere dei macrocicli di 15 atomi. I macrocicli descritti in questo studio forniscono degli strumenti importanti per ampliare le nostre conoscenze sulle relazioni struttura-attività su peptidi inibitori della migrazione cellulare. In effetti, i dati pubblicati dimostrano che il fattore più importante che determina la capacità inibitoria è la conformazione e, in particolare, il passare di un peptide da lineare a ciclico, e l'orientamento delle catene laterali. In più, è stato proposto un nuovo modello farmacoforico di inibitori di migrazione cellulare innescata da FPR1, che aiuterà a sviluppare nuovi analoghi peptidici e non peptidici in grado di bloccare condizioni patologiche sostenute da un'alterata migrazione cellulare [4, 5].



Schema 1 - Lattamizzazione da testa a coda con un anello di 15 atomi

Altro aspetto interessante risulta l'ottenimento di strutture conformazionalmente definite tramite la macrociclizzazione via ponti disolfuro che conducano ad una stretta correlazione tra conformazione e attività biologica. In effetti, questi macrocicli rappresen-



Schema 2 - Macrocielo con ponte disolfuro di 20 atomi contenente una porzione *N*-amminosulfamidica. La macrociclizzazione è di tipo da catena laterale a catena laterale tra due residui di cisteina

nella scoperta di farmaci nel campo di urotensina-II. In conclusione, affrontare obiettivi biologici impegnativi che richiedono estese interazioni nel sito di legame diventa difficile con piccole molecole organiche. Poiché più obiettivi di questo tipo continuano ad essere convalidati come bersagli per l'intervento terapeutico, ci sarà sempre una crescente domanda di molecole con dimensioni più grandi come i macrocicli trattati in questo articolo.

tano la sottoclasse più grande approvata clinicamente (ad esempio argipressin e lanreotide [2]). A questo riguardo, abbiamo sviluppato gli *aza-sulfurylpeptides* (AsPep), una nuova classe di peptidomimetici con una porzione *N*-amminosulfamidica, in cui il carbonio alfa degli amminoacidi e il carbonile sono rispettivamente sostituiti da un atomo di azoto e un gruppo solfonilico [6]. Gli AsPep combinano le caratteristiche di peptidi aza- e  $\alpha$ -sulfonamidici, offrendo in questo modo la possibilità di modificare la geometria dello scheletro peptidico. Questa porzione *N*-amminosulfamidica è stata introdotta nella sequenza principale della urotensina-II, un macrociclo peptidico vasocostrittore di 11 amminoacidi. La chimica in soluzione è stata sviluppata per preparare un insieme di blocchi di tripeptidi AsPep, che sono stati incorporati nella sequenza di U-II mediante sintesi di peptidi in fase solida su resina (Schema 2). Questa strategia sintetica costituisce un nuovo metodo per l'introduzione di una porzione *N*-amminosulfamidica in vari peptidi bioattivi. La macrociclizzazione in questo studio è di tipo da catena laterale a catena laterale, tra due residui amminoacidici di cisteina. La ciclizzazione via ponte disolfuro applicata su questa classe strutturale ha generato dei macrocicli di 20 atomi, con una sequenza endociclica di sei amminoacidi, c[Cys-Phe-Trp-AsPep-Tyr-Cys], e due residui di aspartato e valina esociclici. Questo studio ha riportato un nuovo scaffold macrociclico che può essere un mezzo importante

## BIBLIOGRAFIA

- [1] J. Mallinson *et al.*, *Future Medicinal Chemistry*, 2012, **4**(11), 1409.
- [2] F. Giordanetto *et al.*, *Journal of Medicinal Chemistry*, 2014, **57**, 278.
- [3] C.J. White *et al.*, *Nature Chemistry*, 2011, **3**, 509.
- [4] A.M. Yousif *et al.*, *PLoS ONE*, 2015, **10**(5), e0126172.
- [5] A.M. Yousif *et al.*, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2018, **143**, 348.
- [6] S. Turcotte *et al.*, *Organic Letters*, 2012, **14**, 1318.
- [7] A.M. Yousif *et al.*, *Journal of Medicinal Chemistry*, 2016, **59**, 4740.

## Peptidic Macrocycles in Drug Discovery

More than 100 macrocycles have been clinically approved. A macrocycle provides stereochemical complexity in a structure with a defined conformation. Despite these valuable features, this structural class has been poorly explored in drug discovery. This is partly due to concerns about synthetic difficulties and properties not similar to organic small molecules. In this article, we will discuss the effects of macrocyclization on the potency and stability of linear peptides, focusing on the synthetic strategies carried out for the realization of peptide macrocycles.