

## PREMIO NOBEL PER LA CHIMICA 2022

assegnato a

*Barry Sharpless, Carolyn Bertozzi, Morten Meldal*

“per lo sviluppo della click chemistry e della chimica bioortogonale”

di *Laura Sola\**



\* Ricercatore presso il Consiglio Nazionale delle Ricerche, Istituto di Scienze e Tecnologie Chimiche “G. Natta” Milano



L'Accademia reale svedese delle Scienze ha assegnato il premio Nobel per la chimica a tre scienziati, gli statunitensi Karl Barry Sharpless e Carolyn Ruth Bertozzi, e il danese Morten Meldal «per lo sviluppo della click chemistry e della chimica bioortogonale». Grazie alle loro ricerche, molecole organiche di grande complessità possono essere assemblate in modo rapido ed efficiente con importanti applicazioni in molteplici campi come quello farmaceutico, quello della nanomedicina, quello dei sistemi diagnostici. Karl Barry Sharpless era già stato insignito del Nobel per la Chimica nel 2001, «per il suo lavoro sulle reazioni di ossidazione attivate da catalisi chirale».

Il premio Nobel 2022 per la Chimica è stato assegnato a Carolyn Ruth Bertozzi (1966 -...), Morten Meldal (1954 - ...) e Karl Barry Sharpless (1941 - ...) per lo sviluppo di un innovativo approccio sintetico che ha rivoluzionato la ricerca scientifica facilitando la sintesi di enormi librerie di nuovi composti organici con applicazioni che spaziano in diversi ambiti: farmaceutico, nanomedicina, sistemi diagnostici non invasivi ed estremamente sensibili e sviluppo di materiali innovativi.

In particolare, Sharpless, insieme al suo gruppo di ricerca presso lo *Scripps Research Institute* (CA, USA) è stato il primo, intorno agli anni Duemila, a introdurre questo nuovo approccio da



*Barry Sharpless, Carolyn Bertozzi, Morten Meldal*

lui definito *click chemistry*, ovvero un insieme di reazioni il cui nome stesso spiega perfettamente le loro caratteristiche principali: sono reazioni che avvengono velocemente, spontaneamente, proprio in un *click!* Nell'articolo originale del 2001<sup>1</sup>, Sharpless afferma che l'idea è nata dall'osservazione della struttura chimica di molecole di origine naturale, come gli acidi nucleici, le proteine e i polisaccaridi, costituite da subunità ripetitive unite tra loro da legami carbonio-eteroatomo che sono estremamente più frequenti rispetto ai legami carbonio-carbonio.

Il suo obiettivo era quindi quello di copiare *Madre Natura* e sviluppare un sistema che permettesse di ottenere dei «blocchi» o «unità» selettivi e modulari che reagiscano velocemente tra loro per ottenere molecole ben più complesse di interesse farmaceutico e/o biologico.

Per essere definite *click*, le reazioni chimiche devono avere queste caratteristiche: essere modulari, essere termodinamicamente favorite, generare, con altissime rese, prodotti unici stereospecifici (ma non necessariamente enantioselettivi) oppure sottoprodotti facilmente rimovibili tramite metodi di purificazione preferibilmente non cromatografici (cristallizzazione o distillazione). Queste reazioni, inoltre, devono avvenire in condizioni semplici, preferibilmente usando acqua come solvente organico e in presenza di ossigeno.

Le reazioni che rispondono a queste caratteristiche sono le seguenti:

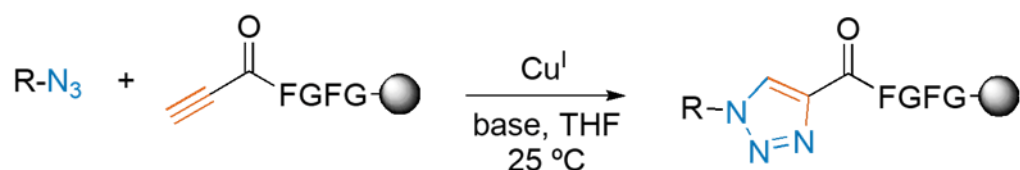
- *cicloaddizioni, come per esempio le reazioni 1,3-dipolari o le reazioni di Dies-Alder;*
- *reazioni di sostituzione nucleofila, in particolare reazioni di apertura di anelli eterociclici tensionati come epossidi, aziridine, ioni aziridinio e ioni episulfonio;*
- *reazioni di condensazione al carbonile di tipo non aldolico, come la formazione di urea, tiourea, eterocicli aromatici, idrazoni e ammidi;*
- *addizione ai doppi legami come epossidazione, diidrossilazione, aziridinazione e addizioni di Michael.*

Tra le categorie elencate, sicuramente le cicloaddizioni, sono le reazioni *click* più utilizzate. In particolare la cicloaddizione 1,3-dipolare tra azidi e alchini catalizzata da rame (Cu<sup>I</sup>) è considerata, la reazione *click* per eccellenza. Questa reazione è stata introdotta, sempre all'inizio degli anni Duemila, da Meldal e dal suo team di ricerca presso l'Università di Copenhagen in Danimarca.<sup>2</sup>

In realtà, la reazione tra gruppi azidi e alchini per ottenere anelli triazolici era nota da tempo, tuttavia veniva generalmente condotta in condizioni abbastanza estreme (toluene a refluxo) e pertanto poco favorevoli nel caso di molecole biologiche e/o prodotti poco stabili. La vera svolta apportata da Meldal è stato l'utilizzo di sali di rame come catalizzatori della reazione (Figura 1). Il rame, ipotizzano gli autori, interagisce con il gruppo alchino formando un complesso intermedio rame-acetilide a cui segue l'addizione dell'azide a dare l'anello triazolico diversamente sostituito (a seconda dei prodotti di partenza). La reazione così catalizzata dà origine a prodotti estremamente puri (grado di purezza intorno al 75-99%) con rese altissime, in condizioni estremamente blande e pertanto compatibili anche con diversi gruppi protettori dei gruppi amminici e carbossilici degli amminoacidi, normalmente utilizzati nella sintesi di peptidi. La reazione azide-alchino catalizzata da rame (CuAAC) ha infatti segnato una svolta nella sintesi peptidica. Oltre alle peculiari caratteristiche già descritte, questa reazione *click* ha un ulteriore vantaggio: è estremamente regiospecifica e pertanto può essere

utilizzata per ottenere il solo regioisomero di interesse ed evitare pertanto difficili (e a volte impossibili) separazioni dei due isomeri.

a)



b)

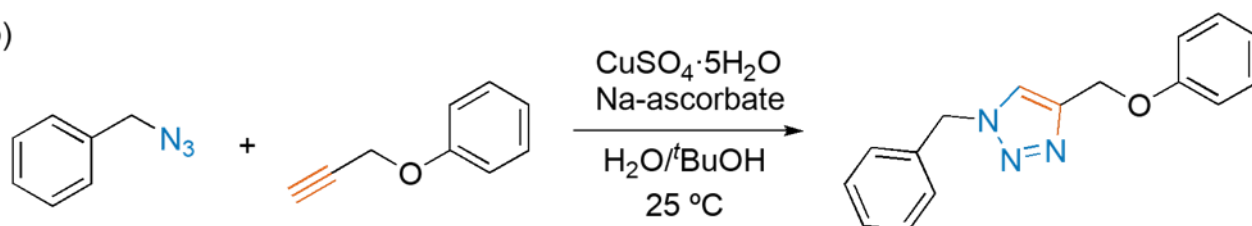


Figura 1- La reazione click più sfruttata, ovvero la reazione di cicloadizione 1,3-dipolari così come descritto da a) Meldal e b) Sharpless

La reazione CuAAC è stata sfruttata enormemente negli ultimi 20 anni nel campo della chimica organica per ottenere sia piccole molecole sia macromolecole più o meno complesse con applicazioni in campo farmaceutico. Infatti, per esempio, i triazoli sono eccellenti mimetici dei legami peptidici che possono fornire efficaci inibitori di proteasi di mammiferi, batteri e virus. In altri casi, molecole di interesse farmaceutico di origine naturale sono state modificate con triazoli per migliorare la solubilità o la biodisponibilità, oppure per legare facilmente un biomarcatore e/o un fluoroforo e seguirne quindi il metabolismo o l'incorporazione dentro le cellule. La stessa reazione è risultata fondamentale per la sintesi e successiva coniugazione di dendrimeri che hanno un ruolo nello sviluppo di nuovi nanomateriali<sup>3</sup>. La reazione CuAAC ha segnato una svolta anche nella chimica dei polimeri, in particolare nella sintesi di copolimeri definiti *graft*-, a stella e a blocchi e il loro utilizzo per l'immobilizzazione di molecole su diverse superfici per lo sviluppo di biosensori<sup>4,5,6</sup>.

Svariati sono i sali di  $Cu^I$  utilizzabili per la reazione CuAAC: la condizione *sine qua non* è che la concentrazione di  $Cu^I$  resti sempre sufficientemente alta per catalizzare la reazione. In termini pratici, si preferisce utilizzare un pre-catalizzatore, ovvero un sale  $Cu^{II}$  (solitamente  $CuSO_4$ ) insieme a un agente riducente (ascorbato di sodio) per generare *in situ* la forma  $Cu^I$ , la cui concentrazione non subisce variazioni e pertanto la resa della reazione non ne risente.

L'utilizzo di  $CuSO_4$  e acido ascorbico è estremamente utile nel caso in cui si debba utilizzare la reazione in ambiente acquoso, situazione tipica delle reazioni che coinvolgono molecole biologiche come peptidi o proteine. In alcuni casi però, gli eventuali residui di rame possono influenzare negativamente i sistemi biologici, essendo il rame tossico sia per le cellule batteriche sia per quelle di mammifero, precludendo così applicazioni in cui le cellule devono rimanere vitali.

Per ovviare a questo problema, Bertozzi della *Stanford University* (CA, USA) ha introdotto un sistema alternativo di reazione tra azidi e alchini che non richiede l'utilizzo di catalizzatori. La reazione in questione viene definita *Strain-Promoted Azide-Alkyne Cycloaddition* (SPAAC) e utilizza tripli legami inseriti all'interno di anelli in modo tale che risultino più tensionati (e quindi più reattivi) rispetto agli alchini lineari (Figura 2). In particolare, Bertozzi ha introdotto l'utilizzo di un anello a 8 atomi di carbonio (diversamente sostituito a seconda delle necessità) in quanto il cicloottino è il più piccolo dei cicloalchini stabili. Con questa strategia è riuscita a marcare con successo delle cellule vive senza modificare in alcun modo la loro vitalità. Infatti, il gruppo

alchino inserito all'interno dell'anello è estremamente reattivo e non necessita di alcun catalizzatore per reagire con il gruppo azide a formare, sempre con rese altissime, l'anello triazolico.

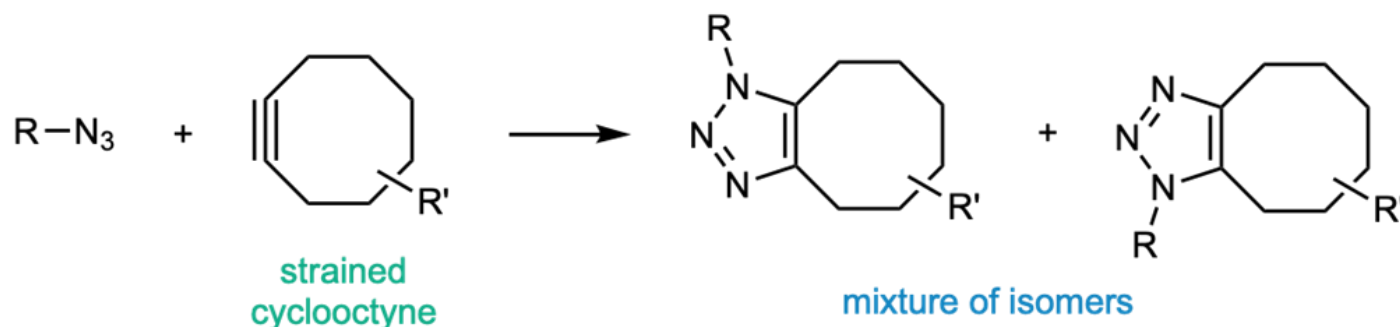


Figura 2 - Reazione click Strain-Promoted Azide-Alkyne Cycloaddition (SPAAC). Questa reazione non necessitando di catalizzatori è perfetta per applicazioni in campo biologico.

In generale, i risultati proposti da Bertozzi, Meldal e Sharpless hanno avuto un enorme successo e influenza nel mondo scientifico. A oggi sono migliaia gli articoli scientifici che sfruttano queste reazioni per le applicazioni più svariate, per esempio (solo per citarne alcune) sviluppo di inibitori enzimatici e ligandi recettoriali specifici, farmaci (agenti antitumorali, antimicrobici, eccetera), erbicidi, fotostabilizzatori, sistemi diagnostici, (bio)sensori, ritardanti di corrosione, modifica di biomolecole tramite reazioni di coniugazione, matrici di rigenerazione tissutale, materiali vari per applicazioni bioanalitiche (gel, polimeri, eccetera), mappatura di processi biologici complessi.

Come giustamente sottolineato dalla *Royal Swedish Academy of Sciences*, la *click chemistry* ha portato la chimica nell'era del funzionalismo, giovando enormemente all'intera umanità.

Laura Sola (Ricercatore presso il Consiglio Nazionale delle Ricerche, Istituto di Scienze e Tecnologie Chimiche "G. Natta" Milano)

#### Indicazioni bibliografiche

- <sup>1</sup> Kolb H.C., Finn M.G., Sharpless K.B., *Click chemistry: diverse chemical function from a few good reactions*, *Angew. Chem., Int. Ed., Engl.* 2001;40:2004–2021.
- <sup>2</sup> Christian W. Tornøe, Caspar Christensen, and Morten Meldal, *Peptidotriazoles on Solid Phase: [1,2,3]-Triazoles by Regiospecific Copper(I)-Catalyzed 1,3-Dipolar Cycloadditions of Terminal Alkynes to Azides*, *J. Org. Chem.* 2002, 67, 9, 3057–3064.
- <sup>3</sup> Liyuan Liang and Didier Astruc, *The copper(I)-catalyzed alkyne-azide cycloaddition (CuAAC) "click" reaction and its applications. An overview*, *Coordination Chemistry Reviews*, 2011, 255, 2933-2945.
- <sup>4</sup> Brambilla D., Sola L., Chiari M., *Advantageous antibody microarray fabrication through DNA-directed immobilization: A step toward use of extracellular vesicles in diagnostics*, *Talanta*, 2021, 222, 121542.
- <sup>5</sup> Finetti C., Sola L., Elliott J., Chiari M., *Synthesis of hydrogel via click chemistry for DNA electrophoresis*, *Journal of Chromatography A*, 2017, 1513, pp. 226–234.
- <sup>6</sup> Sola L., Damin F., Gagni P., Consonni R., Chiari M., *Synthesis of clickable coating polymers by postpolymerization modification: Applications in microarray technology*, *Langmuir* 2016, 32(40), pp. 10284–10295.

