



CICLODESTRINE E FARMACI IN TERAPIE INNOVATIVE

Le ciclodestrine sono anelli di glucosio idrofilici e biocompatibili, utilizzati in ambito farmaceutico per solubilizzare in acqua, proteggere e trasportare farmaci idrofobici, in seguito alla formazione di complessi supramolecolari. Il loro utilizzo è stato dimostrato efficace sia per ri-potenziare antibiotici attualmente in uso che per lo sviluppo di nuove terapie mirate per il cancro.

Le ciclodestrine (CD) sono oligosaccaridi macrociclici, idrofilici e biocompatibili, industrialmente prodotti per via enzimatica da amido naturale [1]. Esse sono costituite da molteplici unità di α -D-glucopiranosio (glucosio) collegate da legami α (1-4) glicosidici a formare anelli a forma di tronco di cono (Fig. 1A). L'apertura più stretta è contraddistinta dalla presenza di gruppi ossidrilici (-OH) primari (uno per glucosio, posizione 6), mentre l'apertura più larga è caratterizzata da -OH secondari (due per glucosio, posizioni 2 e 3), che creano una rete di legami a idrogeno fra loro conferendo rigidità all'anello e mantenendo la cavità aperta. I derivati maggiormente noti di CD sono costituiti da 6, 7 o 8 molecole di glucosio e sono denominati rispettivamente α CD, β CD e γ CD. La presenza di numerosi gruppi ossidrilici conferisce alle molecole un'ottima solubilità in acqua e la rende un substrato molto versatile dal punto di vista sintetico. Grazie alla reattività specifi-

ca di ciascun -OH, con opportuno design sintetico è possibile modificare selettivamente le proprietà chimico-fisiche delle molecole quali solubilità, carica elettrostatica, flessibilità e dimensione della cavità. Quest'ultima, inoltre, nonostante la generale idrofilia delle CD, presenta uno spiccato carattere idrofobico, per via dei numerosi legami C-H che la popolano. E proprio in questa caratteristica risiede la peculiarità delle CD: molecole idrofobiche di dimensioni idonee possono interagire supramolecolarmente con l'interno della cavità, formando dei complessi *host-guest* in grado di solubilizzare in acqua, proteggere e trasportare numerosi target idrofobici (Fig. 1B). Questa capacità di formare complessi non covalenti, ha permesso alle CD di essere impiegate in diverse tecnologie, ma, grazie al loro profilo altamente biocompatibile e non tossico, le CD hanno espresso il massimo potenziale in ambito farmaceutico. Infatti, derivati di questa famiglia sono stati approvati

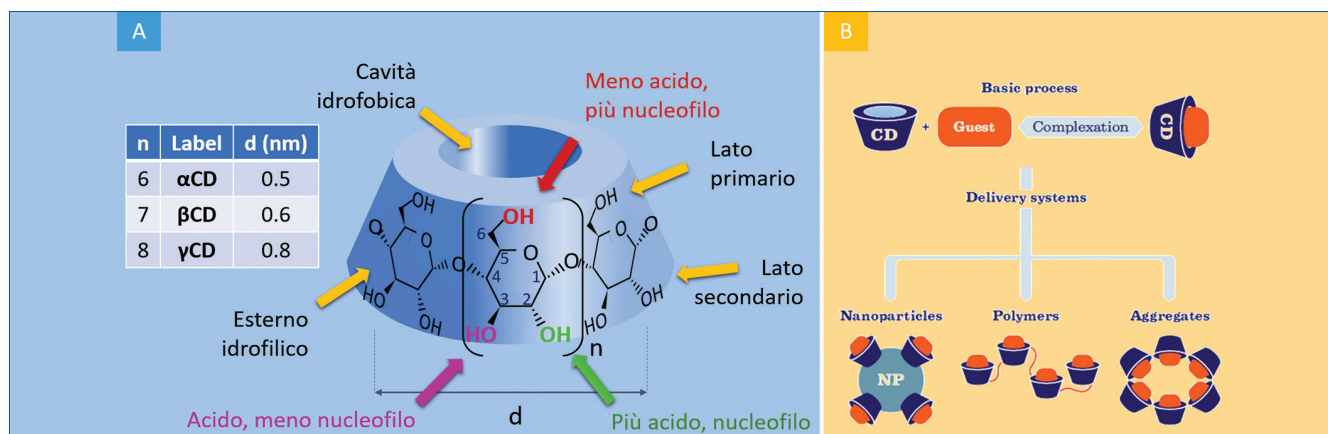


Fig. 1 - A) Struttura chimica e caratteristiche principali di α CD, β CD e γ CD; B) processo base di complessazione *host-guest* supramolecolare fra CD (*host*) e molecole idrofobiche (*guest*)

A Marco Agnes è stato conferito il premio 'Chimica organica per le scienze dalla vita junior' 2023 dalla Divisione di Chimica organica della SCI.

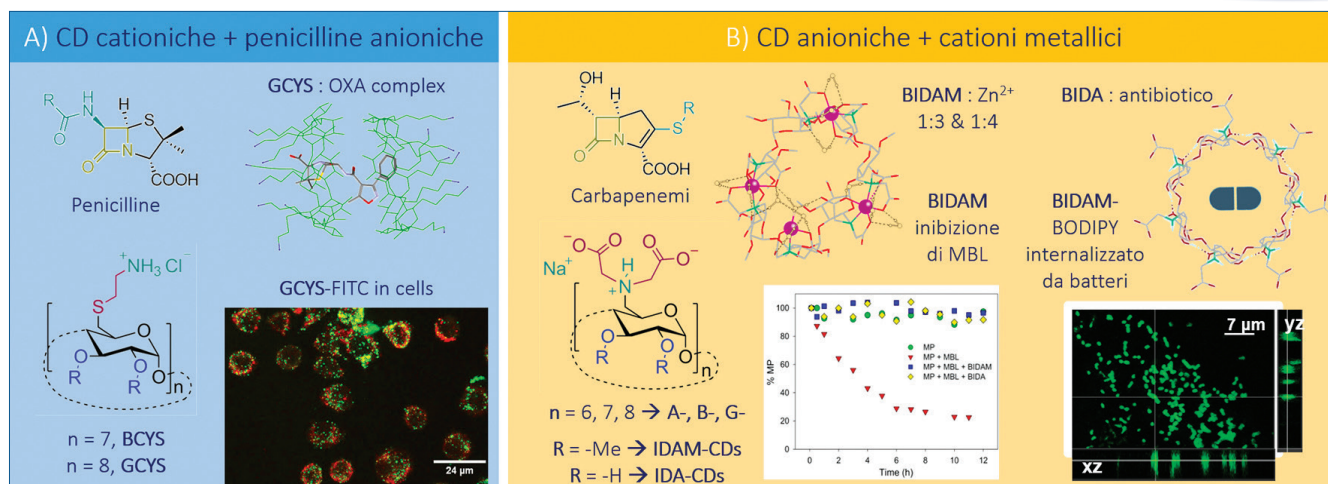


Fig. 2 - A) Struttura chimica di penicilline e BCYS/GCYS, modello di complesso 1:2, OXA:GCYS e immagine confocale di GCYS-FITC fluorescente internalizzata da macrofagi; B) struttura chimica di carbapenemi e A-, B-, G-IDAM-CD/IDA-CD; struttura ottimizzata di complesso 1:4, BIDAM:Zn²⁺ e BIDA:antibiotico; immagine confocale di BIDAM-BODIPY fluorescente internalizzata da cellule batteriche: nel grafico si può osservare l'efficacia delle CD nel contrastare l'azione idrolitica di MBL su carbapenemi

da diverse farmacopee (USA, Giappone, Europa) e sono stati formulati e commercializzati sia come eccipienti di farmaci instabili e insolubili in acqua, sia come veri e propri agenti terapeutici. Di seguito, verranno descritti alcuni esempi di come queste molecole duttili ed innocue possano essere ingegnerizzate *ad hoc* per lo sviluppo di terapie mirate ed efficaci.

Nell'ambito del progetto **Cyclon Hit**, un consorzio europeo composto da enti pubblici e privati finanziato dalla Commissione Europea (CE) per poco meno di 4 milioni di euro nel periodo 2014-2018, diversi derivati di CD sono stati preparati e testati come possibili rinforzi per il trattamento di infezioni batteriche. L'abuso di trattamenti antibiotici in ambito umano, veterinario e agricolo ha indotto lo sviluppo e il proliferare di ceppi batterici resistenti ai più comuni farmaci, con la conseguenza che, ad oggi, non esistono formulazioni che non ne soffrano. La tragicità di questa situazione è stata sottolineata dall'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) nel **2016** prima e poi nel **2021** avviando delle *Call for Action* per sollecitare il mondo della ricerca a dedicarsi a questo problema. In tutta risposta, buona parte di questo progetto si è focalizzata sugli antibiotici β-lattamici e, in particolare, nelle due sotto-classi Penicilline e Carbapenemi.

Penicilline [2]

Le penicilline sono la prima classe di antibiotici scoperti e quella tuttora maggiormente presente sul mercato. Il meccanismo di resistenza più specifico sviluppato nei loro confronti consiste nella produzione da parte dei batteri di enzimi chiamati β-latt-

amasi (BL) che disattivano la molecola idrolizzando l'anello β-lattamico caratteristico di queste molecole. Sono state quindi prodotte delle CD cariche positivamente grazie a catene cisteaminiche opportunamente funzionalizzate sul lato primario di βCD (BCYS) e γCD (GCYS) (Fig. 2A). Dopo averne valutato le proprietà chimico-fisiche con spettroscopia NMR (grado di protonazione e conformazione delle catene laterali in soluzioni acquose neutre), si sono studiate le interazioni fra CD e diverse penicilline, utilizzando sia NMR che Calorimetria Isotermica di Titolazione (ITC). I parametri termodinamici hanno mostrato una forte interazione fra oxacillina (OXA) e GCYS e il complesso si è dimostrato efficace nello stabilizzare OXA in presenza di BL (*oxa-1*) riuscendo anche a penetrare in cellule sane senza essere tossico.

Carbapenemi [3]

I carbapenemi sono antibiotici β-lattamici ad ampio spettro, efficaci anche contro molti batteri resistenti ad altri trattamenti. Sono però suscettibili ad alcuni enzimi specifici, le metallo-β-lattamasi (MBL) che riescono ad agire grazie alla presenza nel loro sito attivo di due cationi metallici di Zn²⁺. È stato quindi ottimizzato un processo per produrre CD funzionalizzate con gruppi imminodiacetici in grado di legare (*chelare*) i cationi metallici e disattivare le MBL (Fig. 2B). Le CD-chelanti sono state prodotte sia con gruppi metossilici in posizione 2 e 3, aumentando la flessibilità della molecola, ma compromettendone le capacità di complessazione *host-guest*, sia lasciando i gruppi ossidrilici sul lato secondario, mantenendo le molecole più rigide, ma in grado di

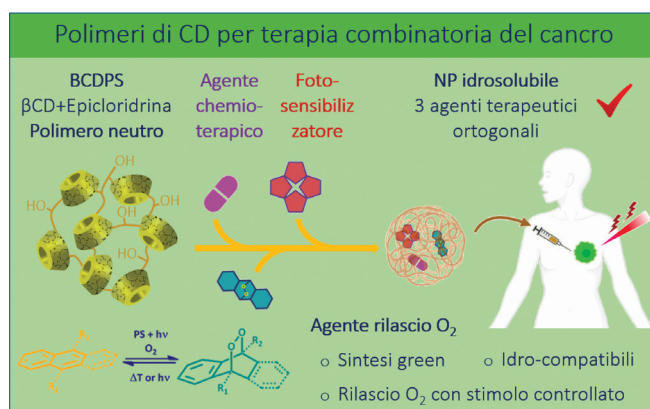


Fig. 3 - Schematica rappresentazione dell'idea sviluppata all'interno del progetto HypoCyclo

ospitare molecole idrofobiche all'interno della cavità. Questo set di molecole è stato testato sia *in vitro*, dando risultati molto promettenti come inibitori di MBL, sia *in vivo*, dimostrando assoluta biocompatibilità e atossicità. Queste CD sono state brevettate e in attesa di sviluppo futuro.

Antitumorali

Il progetto Europeo **HypoCyclo** (2020-2023) era indirizzato allo sviluppo di nuove terapie tumorali. I trattamenti attualmente in uso sono invasivi e spesso non risolutivi e sia la **CE** che l'**OMS** hanno lanciato programmi di sviluppo per cure nuove e mirate. In questo progetto è stato utilizzato un polimero altamente idrosolubile costituito da diverse CD connesse tra loro da catene idrossipropiliche (BCDPS) [4] e in grado di formare nanoparticelle (NP) in acqua per lo sviluppo di terapie combinatoriali selettive [5]. L'obiettivo era di ottenere delle NP che potessero combinare un agente chemioterapico con un fotosensibilizzatore che permettesse di effettuare la terapia fotodinamica quando irraggiato con luce rossa in grado di penetrare l'epidermide. Essendo però noto che queste terapie riducono la loro efficacia in condizioni di ipossia (mancanza di ossigeno molecolare, O₂, tissutale), caratteristica dei tumori solidi, si è lavorato per aggiungere un terzo agente terapeutico che avesse lo scopo di rilasciare O₂ in maniera controllata (Fig. 3). Il progetto ha sviluppato degli endoperossidi aromatici ottimizzando un processo di sintesi *green* [6] in grado di rilasciare O₂ per termolisi. La complessazione all'interno di BCDPS è stata dimostrata spettroscopicamente per tutti e tre gli agenti anche in combinazione fra loro, risultando possibile senza impattare sulle proprietà chimico-fisiche di ciascun componente. Attualmente sono in corso test biologici per valutarne tossicità ed efficacia dei dosaggi.

Conclusioni

I risultati delle ricerche fin qui presentati descrivono il grande potenziale delle CD nell'ambito dello sviluppo di terapie efficaci e mirate e della medicina personalizzata. Il futuro di queste molecole è ancora da scrivere, ma la loro estrema versatilità lascia presagire il grande impatto multidisciplinare che avranno in vari ambiti di ricerca.

Ringraziamenti

Questo lavoro è stato finanziato dai progetti europei CyclonHit (#608407) e HypoCyclo (#894942), mentre il lavoro attuale di MA è finanziato da MUR, PNRR e UE (NextGenerationEU) all'interno del progetto **Eco-sister**. L'autore ringrazia la Società Chimica Italiana e, in particolare, il Presidente e tutto il Direttivo della Divisione di Chimica Organica per il **Premio alla Ricerca Junior** conferito nel 2023 nell'ambito della Chimica Organica per le Scienze della Vita. Si ringrazia la Dr.ssa E. Bandini per la candidatura e il Dr. N. Armaroli, la Dr.ssa I. Manet, il Dr. P. Dambruoso, il Prof. D. Pasini e il prof. M. Calvaresi per il sostegno. Inoltre, l'autore ringrazia il Dr. M. Malanga e la Dr.ssa K. Yannakopoulou per le proficue supervisioni e collaborazioni, oltre a tutti i membri del gruppo di ricerca PHEEL dell'istituto ISOF-CNR di Bologna.

BIBLIOGRAFIA

- [1] G. Crini, *Chem. Rev.*, 2014, **114**, 21, 10940, DOI: <https://doi.org/10.1021/cr500081p>
- [2] M. Agnes *et al.*, *Int. J. Pharm.*, 2017, **531**(2), 480, DOI: [10.1016/j.ijpharm.2017.04.080](https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.04.080)
- [3] a) M. Agnes *et al.*, *Carbohydr. Polym.*, 2023, **321**, 121323, DOI: [10.1016/j.carbpol.2023.121323](https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2023.121323);
b) M. Agnes *et al.*, *European Patent*, **EP3714904A1**, 2023.
- [4] M. Agnes *et al.*, *Macromol. Biosci.*, 2022, **22**, 2200090, DOI: [10.1002/mabi.202200090](https://doi.org/10.1002/mabi.202200090)
- [5] E. Pancani *et al.*, *RSC Adv.*, 2023, **13**, 10923, DOI: [10.1039/D3RA01782F](https://doi.org/10.1039/D3RA01782F)
- [6] M. Agnes *et al.*, *Chem. Eur. J.*, 2023, e202300511, DOI: [10.1002/chem.202300511](https://doi.org/10.1002/chem.202300511)

Cyclodextrins and Drugs As Innovative Therapies

Cyclodextrins are hydrophilic, biocompatible macrocycles consisting of glucose units, used in the pharmaceutical field to solubilize in water, protect and deliver hydrophobic drugs upon formation of supramolecular complexes. Their use has been demonstrated to be effective both in the re-activation of current antibiotic formulations and in the development of novel combinatorial cancer therapies.