



Stereochimica Innovazione italiana per determinare la chiralità delle molecole

Il progetto Chimera è stato sviluppato dal Politecnico di Milano e si propone di sviluppare una nuova strumentazione, più compatta e trasportabile, per la determinazione della chiralità molecolare. Ne parliamo con uno dei suoi inventori, Dario Polli

Come spesso capita, l'innovazione segue strade inattese che all'improvviso aprono prospettive a cui non si era fino ad allora minimamente pensato. È ciò che è successo anche a **Dario Polli**, che al Politecnico di Milano insegna Fisica sperimentale e conduce ricerche nel campo della generazione d'impulsi ultra-brevi (dell'ordine dei femtosecondi) applicati allo

studio delle macromolecole biologiche coinvolte nel processo della visione umana e di spettroscopia e microscopia Raman coerente. «Il progetto Chimera è nato per serendipità – racconta Polli a NCF. – Stavamo presentando a un congresso la nostra tecnica innovativa per applicazioni di spettroscopia risolta in tempo e una persona esperta di chimica chirale ci ha avvicinato chiedendoci perché non l'avessimo applicata an-

che a questo mondo». Gli elementi interessanti emersi dalla chiacchierata che ne è seguita hanno spinto il gruppo di ricerca guidato da Polli a investire tempo e risorse nella messa a punto di un primo prototipo di strumentazione su cui meglio valutare l'effettiva applicabilità del metodo. È nato così il progetto *Chiral measurements by heterodyne amplification* (Chimera), che nelle intenzioni dei suoi inventori dovrebbe por-

UN UNIVERSO CHIRALE

La chiralità di una molecola è la proprietà per cui i suoi due enantiomeri sono l'immagine speculare uno dell'altro, e pertanto non sono sovrapponibili, proprio come le due mani dell'essere umano, con un'operazione di traslazione lungo una retta.

La chiralità è parte intrinseca della vita: sono chirali l'elica destrorsa del Dna, le proteine formate solo da L-amminoacidi, le molecole dei carboidrati e innumerevoli altre piccole sostanze e grandi macromolecole d'interesse biologico. La chiralità è alla base di molti processi di riconoscimento molecolare, in quanto solo la "chiave" giusta riesce ad aprire una certa "serratura"-recettore del corpo umano; processi che, qualora alterati, sono alla base di varie malattie.

La storia dei farmaci chirali è molto lunga, e caratterizzata anche da episodi tragici come quello della talidomide, che negli anni '50-'60 del secolo scorso ha provocato gravi malformazioni in molti neonati. Proprio a seguito di tale vicenda, le autorità regolatorie mondiali hanno iniziato a chiedere informazioni sempre più dettagliate sulle due forme delle molecole chirali di nuovo sviluppo.

Per molti farmaci "storici" giunti a scadenza di brevetto la risoluzione dei due enantiomeri rispetto al prodotto originario commercializzato come racemo ha permesso di prolungarne la vita utile (processo noto come "chiral switch").

tare all'ingegnerizzazione e commercializzazione di un nuovo strumento per la misura della chiralità molecolare che presenti molti vantaggi rispetto agli standard attuali del settore, sia in termini di compattezza, semplicità di funzionamento e velocità di misura che di quantità delle informazioni misurabili.



Dario Polli, Politecnico di Milano

Lo stato di sviluppo e i prossimi step

Il nuovo dispositivo è stato premiato nell'ambito della conferenza *Materials 2016* con il premio *Research Ideas for the Market*. Il suo sviluppo è nato come costola da un finanziamento *ERC-Consolidator* di 2 milioni di euro che il professor Polli ha ottenuto dallo European Research Council due anni fa per lo sviluppo di un microscopio Raman innovativo. «Abbiamo attualmente un prototipo funzionante in laboratorio, che si colloca circa al livello 4 del *technology readiness level* (Trl). È la codifica internazionale che identifica lo stadio di avanzamento di un progetto. Quando il nuovo prodotto è pronto per essere immesso sul mercato si è al livello 9. Contiamo di arrivare al livello 5-6 nel giro dei prossimi sei mesi, ovvero a un prototipo trasportabile presso vari laboratori che ne testeranno la funzionalità», spiega Polli a proposito delle prossime tappe del progetto.

La richiesta dei ricercatori del Politecnico ai vari gruppi che collaboreranno a questa fase sarà quella di valutare in parallelo le performance di Chimera rispetto alle analisi condotte coi metodi attuali per misurare il dicroismo circolare, metodi consolidati basati sull'uso degli spettropolarimetri. «In questo modo potremo ottenere un riscontro diretto sulle migliori da apportare, anche in quanto

a rapidità e accuratezza della misura. In altri sei mesi vogliamo arrivare il più possibile vicino al livello 9, che implica la creazione di pezzi ad hoc, del manuale d'uso e del software dedicato».

L'obiettivo finale è quello di costituire

una start-up dell'ateneo milanese attraverso cui commercializzare il prodotto definitivo. Il gruppo ha appena ricevuto un nuovo finanziamento europeo *ERC-Proof of Concept* di 150 mila euro dallo stesso European Research Council che, a partire dal 1° aprile 2017 e nell'arco di diciotto mesi, dovrebbe permettere di portare l'idea sul mercato. «Il nuovo finanziamento supporta anche la scrittura del business plan e l'analisi di mercato. Presenteremo la nostra tecnologia in occasione di alcuni congressi sulla chiralità, di modo da poter avere un confronto diretto con i maggiori player del settore sia dal punto di vista della ricerca scientifica che del mercato. Stiamo cercando anche i finanziamenti per la start-up e i partner commerciali», racconta ancora Polli.

Il razionale scientifico

Solo **Jan Helbing** dell'Università di Zurigo, che ha portato al gruppo l'idea iniziale, è addentro alle problematiche della chiralità tra i cinque inventori che hanno firmato il brevetto (tra cui figurano anche **Giulio Cerullo**, **Fabrizio Preda** e **Julien Réhault**); gli altri quattro, tutti ingegneri del Politecnico milanese, hanno affrontato il problema partendo dalla sua soluzione piuttosto che dal problema stesso. «Ci stiamo muovendo un po' da neofiti nel mondo della stereo chimica. Mi piace spa-



LO SVILUPPO DEI FARMACI CHIRALI

A partire dagli anni '90 le agenzie regolatorie internazionali hanno emanato numerose linee guida che normano tutte le fasi di sviluppo di nuovi farmaci chirali. In Europa, ad esempio, la linea guida "Investigation of chiral active substances" (3CC29A) relativa ai principi attivi è in vigore dal 1994. Quando si ha a che fare con molecole chirali è importante valutare l'attività farmacologica di entrambi gli enantiomeri e il loro profilo farmacodinamico e farmacocinetico; ciò permette di decidere se sia accettabile anche l'uso del racemo o se le due forme vadano risolte per prevenire effetti indesiderati. Nel caso in cui il farmaco venga sviluppato come singolo enantiomero, l'altra forma del prodotto va a tutti gli effetti trattata come un'impurezza, e adeguatamente caratterizzata e quantificata, anche dal punto di vista della purezza enantiomerica del principio attivo in accordo alle linee guida relative alla caratterizzazione e quantificazione delle impurezze. Il mercato offre anche banche dati che raccolgono i profili analitici di molecole chirali d'interesse farmacologico, come ad esempio la banca dati ChirBase che ha raccolto in 25 anni di attività oltre 220 mila profili HPLC/SFC

ziare e incrociare diversi domini della scienza e della tecnica e imparare cose nuove», commenta Polli a proposito dei primi passi all'interno del nuovo mondo. Anche il metodo sviluppato dai ricercatori del Politecnico, come gli attuali strumenti commerciali per misurare il dicroismo circolare, sfrutta la proprietà dei due enantiomeri delle molecole chirali d'interagire in modo diverso con la luce polarizzata. Il nuovo metodo si basa su un processo di analisi della luce mediante trasformata di Fourier che il gruppo di Dario Polli aveva già sviluppato per applicazioni di spettroscopia tradizionale. Invece di misurare il segnale un colore alla volta, come avviene oggi negli strumenti commerciali, il campione viene investito dalla luce policromatica di una lampada. «Un interferometro crea due identiche repliche della luce e le ritarda temporalmente. Il foto-rivelatore posto in fondo all'apparato di misura sarà così investito da un'intensità luminosa che oscilla rapidamente al variare del ritardo tra le due repliche. Una trasformata di Fourier di questo segnale fornisce direttamente lo spettro del segnale di dicroismo circolare, come avviene negli spettrometri FTIR generalmente utilizzati per fare l'analisi della luce infrarossa – spiega Polli. – In funzione del ritardo imposto alle due repliche della luce, il sistema ottico ge-

nera polarizzazioni circolari destra e sinistra, che sono assorbite in quantità diverse se la molecola in esame è chirale: in particolare, la luce è assorbita in quantità maggiore quando la chiralità di luce e materia è la stessa. I vantaggi del metodo che abbiamo sviluppato, rispetto agli attuali strumenti, consistono nella rimozione di alcune componentistiche complesse, costose e ingombranti, con il risultato di un prodotto più piccolo e più facilmente trasportabile».

Il prototipo attuale occupa circa un quarto dello spazio occupato da uno strumento tradizionale, aggiunge uno dei suoi inventori, e il minor ricorso a sofisticati componenti elettronici potrebbe aiutare ad abbattere i prezzi di vendita. La speranza del gruppo dell'ateneo milanese è che il loro strumento possa trovare applicazione anche in campo farmaceutico, dove potrebbe entrare a far parte dei controlli di qualità per la determinazione della purezza enantiomerica dei farmaci chirali.

«La nostra tecnologia può venire applicata anche alle macromolecole biologiche, ad esempio per studiare il *misfolding* o la denaturazione delle proteine in modo più semplice ed economico rispetto ai raggi X.

Si possono distinguere, ad esempio, le alfa-eliche o i foglietti beta, le variazioni che avvengono a causa di cambiamenti di pH o temperatura o in seguito all'interazione con un farmaco. Per vedere una proteina all'ultravioletto si devono usare lunghezze d'onda attorno ai 200 nm, che richiedono lampade speciali allo xeno. Questo tipo di applicazioni potrebbe rendere utile il nostro strumento anche in campo diagnostico, ad esempio per la determinazione diagnostica di proteine coinvolte nella comparsa di malattie quali l'Alzheimer o il Parkinson», conclude Dario Polli.

© RIPRODUZIONE RISERVATA