



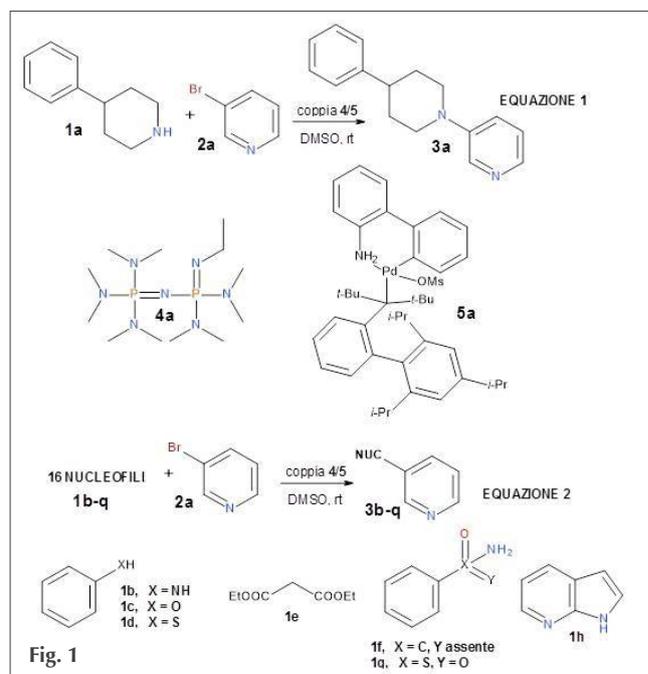
A CURA DI PIERFAUSTO SENECI
 DIPARTIMENTO DI CHIMICA
 UNIVERSITÀ DI MILANO
 PIERFAUSTO.SENECI@UNIMI.IT

Questo mese parliamo di *nanoscale organic synthesis*, di *high throughput experimentation*, e di ottimizzazione di composti attivi da *high throughput screening/HTS*; per farlo useremo due recenti lavori di un gruppo di chimici della multinazionale Merck, ad assicurarci della rilevanza applicativa del loro approccio.

Nel 2015 [A. Buitrago Santanilla *et al.*, *Science*, 2015, **347**, 49] è stata pubblicata la sintesi ad alta capacità miniaturizzata, applicata a trasformazioni chimiche complesse e di rilevanza farmacologica. Analizzando il Database Merck riguardo a reazioni conclusive di “assemblaggio” di molecole finali da due intermedi avanzati e costosi per accoppiamento C-N, gli autori riportano che il 55% (più della metà!) di tali *coupling* fallisce. In altre parole, reazioni ottimizzate su substrati semplici falliscono spesso quando applicate a substrati complessi.

I ricercatori hanno scelto un C-N *coupling* standard (eq. 1, Fig. 1), e ne hanno ottimizzato le condizioni sperimentali usando 96 combinazioni fra 6 basi organiche (solubili in molti solventi) e 16 complessi catalitici Pd-ligando (scelti anche per l'ingombro, a schermare il Pd da complessazione con solventi coordinanti). Le 96 reazioni sono state condotte prima in micropiastra (*microscala*) a 96 pozzetti, contenenti una *vial* di vetro, con ≈ 1 mg di composto in 25 μ L di DMSO (solvente “universale”) a temperatura ambiente; in seguito in nanopiastra (*nanoscala*) a 1536 pozzetti di plastica, con ≈ 20 μ g di composto in ≈ 1 μ L. In ambo i casi, con l'appropriata automazione e miniaturizzazione, si è eseguita la reazione, si è valutata la resa e si sono caratterizzati i prodotti; la coppia base **4a**/complesso catalitico **5a** ha dato i migliori risultati in resa di **3a** (Fig. 1). La scala nano/1536 pozzetti ha permesso di ripetere lo schema a 96 combinazioni per il coupling fra l'aril bromuro **2a** e 16 diversi nucleofili (**1b-q**, eq. 2; alcu-

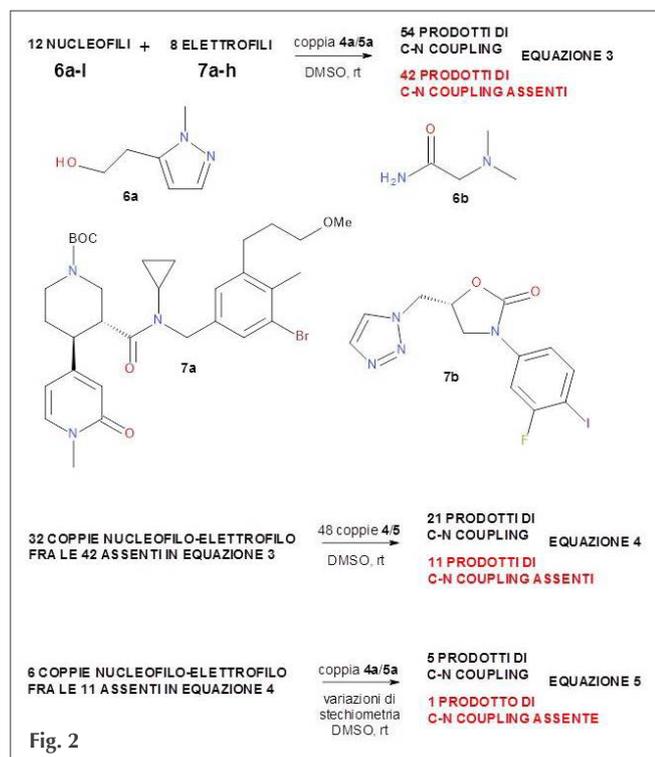
ni esempi di nucleofili/**1b-g** sono mostrati in Fig. 1); si sono identificate alcune coppie base-complesso catalitico a dare il prodotto di reazione per la maggioranza dei 16 composti **3b-q**.



Gli autori hanno poi affrontato un set di composti complesso: 12 nucleofili (fra cui **6a** e **6b**) e 8 elettrofili (fra cui **7a** e **7b**, eq. 3, Fig. 2). Le 96 combinazioni sono state testate usando in micropiastra/96 pozzetti la coppia base **4a**/complesso catalitico **5a** e le migliori condizioni sperimentali. 54 dei 96 prodotti attesi si sono formati, con rese variabili; ben 42 ($\approx 45\%$), a dimostrazione della poca “universalità” di reattività per substrati diversi, non sono stati ottenuti. Gli autori hanno scelto 32 fra i 42 *coupling* “falliti”, e li hanno effettuati in nanopiastra/1536 pozzetti in 48 condizioni di reazione diverse (eq. 4, 8 basi, 6 complessi catalitici), ottenendo 21 fra i 32 composti

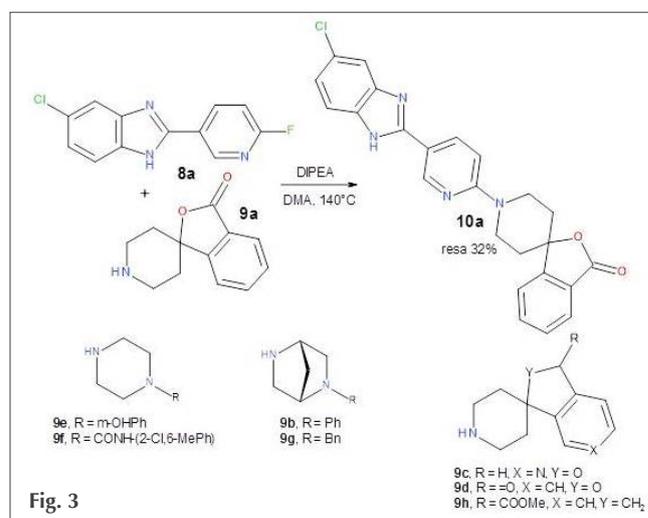


attesi; infine, scegliendo 6 degli 11 *coupling* ancora "falliti" e sottoponendoli a 48 condizioni diverse (eq. 5, diverse stechiometrie di reagenti, basi e catalizzatori, Fig. 2) in 3 micropiastre/96 pozzetti, 5 fra i 6 prodotti attesi sono stati ottenuti.



Bassissimo consumo di reattivi, rapida messa a punto di condizioni di reazione, librerie di analoghi per acquisire relazioni struttura-attività per una classe di composti. Quest'ultimo punto in particolare è l'argomento di un recentissimo lavoro dello stesso gruppo [T. Cernak *et al.*, *J. Med. Chem. ASAP Articles*, DOI: 10.1021/acs.jmedchem.6b01543] in cui la metodologia (in versione micropiastre, ≈ 1 mg scala di reazione) è applicata ad un progetto *hit-to-lead*. A partire dal benzimidazolo **10a** (Fig. 3), inibitore della diacilglicerolo ariltransferasi 1 (DGAT1) sintetizzato dall'aril cloruro **8a**/elettrofilo e dalla spiro-piperidina **9a**/nucleofilo, gli autori hanno il nucleofilo (sette composti **9b-g**, Fig. 3); utilizzando le condizioni di sintesi usate per **10a** (dimetilacetammide/DPA come solvente, DIPEA come base). Ben 4 reazioni su 7 (composti **9d-f**) non hanno prodotto il composto desiderato, impedendo l'acquisizione di una SAR preliminare.

L'uso di *high throughput experimentation* su scala micropiastre/96 pozzetti ha permesso di identifica-



re le migliori condizioni di reazione attraverso 48 esperimenti (elettrofilo **8b** + 6 nucleofili **9i-n**, eq. 6, Fig. 4; nucleofilo **9a** + 6 elettrofili **8a,8c-g**, eq. 7; 4 coppie solvente-base per ogni esperimento), con solo due reazioni fra **9a** e due elettrofili fallite sulle 12 effettuate. La coppia N-Me-pirrolidone (NMP)-sodio bicarbonato è stata poi usata per ottenere una libreria di analoghi con buon successo (35 prodotti ottenuti su 43 previsti, 30 mg di composto **8a** usati in totale, eq. 8, Fig. 4); la loro caratterizzazione ha permesso agli autori di ottimizzare strutturalmente la serie degli inibitori benzimidazolici di DGAT1, fino a giungere alla struttura del *lead* **10b** (Fig. 4), dotato di attività *in vivo* ed in corso di caratterizzazione ulteriore.

