

DIPARTIMENTO DI CHIMICA ORGANICA

PROGETTO

Immunostimolanti gangliosidici. Sintesi di analoghi tioeterei del ganglioside GM3 lattone stabili all'idrolisi e loro incapsulamento in liposomi per la realizzazione di vaccini anti-tumorali

RESPONSABILE SCIENTIFICO: Prof. Cristina Nativi

COLLABORATORI: B. Richichi, C. Lunghi, S. Ristori, L. Toma

Il GM3 ganglioside e' il ganglioside extraneurale strutturalmente piu' semplice, caratterizzato principalmente dal presentare una sola unita' di acido N-Acetil neuramminico. Recentemente studi sulla reattivita' di un anticorpo monoclonale anti-melanoma (M2590) nei confronti di cellule di varia natura che presentavano concentrazioni diverse di GM3 ganglioside alla loro superficie, hanno mostrato che quest'ultimo rappresenta un TAA (tumor associated antigen) per le cellule di melanoma e in particolare che: 1) la reattivita' dell'anticorpo dipende dalla concentrazione del GM3 ganglioside presente sulla superficie delle cellule, 2) esiste una concentrazione di soglia che e' riconosciuta dall'anticorpo e che al di sotto della quale il riconoscimento e' totalmente assente, 3) l'anticorpo reagisce anche con il GM3-lattone (che si forma per lattonizzazione del GM3 ganglioside) e l'affinita' di legame del GM3-lattone e' sensibilmente piu' elevata rispetto a quella del GM3 ganglioside. Una immunizzazione di cavie BALB/c condotta in parallelo con il GM3 ganglioside e il GM3-lattone ganglioside ha dimostrato senza ombra di dubbio che il GM3-lattone e' un immunogeno assai piu' potente (almeno 10 volte) rispetto al GM3 ganglioside. Un'altra evidenza importante e' che risposte immunitarie piu' significative si osservano utilizzando GM3 ganglioside e GM3-lattone incorporati in liposomi. I liposomi, infatti, pur essendo scarsamente immunogeni come tali, sono degli eccellenti vettori di farmaci non tossici, assai utili per permettere l'interazione tra l'antigene (incapsulato o assorbito sulla superficie del liposoma) e il sistema immunitario.

Nel caso specifico di trasporto di farmaci verso le cellule tumorali, è stato inoltre dimostrato che i liposomi di diametro non superiore a 100-200 nm possono attraversarne con facilità la membrana esterna. Infatti, questa presenta numerosi



pori e imperfezioni strutturali, perché la rapida proliferazione cellulare non consente la formazione di strutture compatte e sostanzialmente prive di difetti, come invece avviene nelle cellule sane.

I lattoni sono però instabili in condizioni di pH fisiologico e la concentrazione all'equilibrio del GM3-lattone, a pH vicini alla neutralità, è bassa e questo rende quest'ultimo un immunogeno inefficiente. Poiché una elevata concentrazione dell'immunogeno è necessaria per poter osservare una forte risposta immunitaria, analoghi del GM3-lattone stabili all'idrolisi rappresentano un obiettivo sintetico importante per avere efficaci immunogeni. Argomento di questo progetto è proprio la sintesi di analoghi tioeterei, stabili all'idrolisi, dell'antigene GM3-lattone. Studi conformazionali eseguiti sul lattone e sui derivati tioeterei confermano la corretta scelta dei mimetici. La sintesi che stiamo sviluppando presenta strategie originali per la costruzione diastereoselettiva della porzione tricyclica spiranica, caratteristica del GM3-lattone e dei mimetici desiderati.

Il progetto è stato selezionato per l'assegnazione di tempo macchina presso la Large Scale Facility Europea di Saclay (Francia).



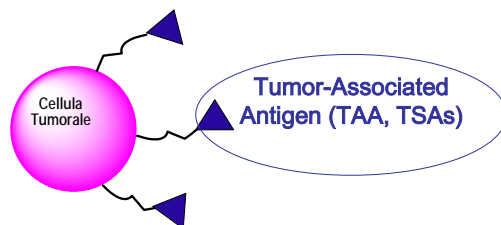
Dipartimento di Chimica Organica "Ugo Schiff"
Università degli Studi di Firenze



**Immunostimolanti Gangliosidici:
Sintesi della Porzione Tricyclica di un Analogo
Idroliticamente Stabile dell'Antigene GM₃-lattone**



Patologie Tumorali e Glicosilazione

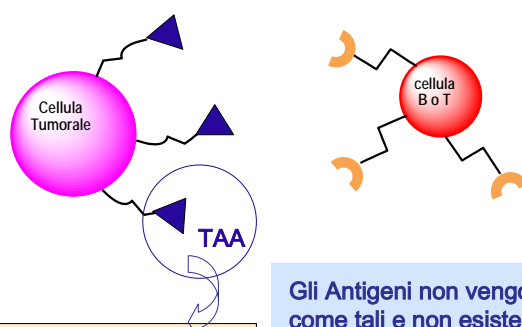


Le cellule tumorali sono caratterizzate da ANOMALIE (TAA) che si possono produrre per cause diverse:

- Nuove informazioni genetiche causate da un virus
- 2) Induzione di geni normalmente non espressi
- 3) Fuoriuscita di antigeni normalmente nascosti sotto la membrana cellulare
- 4) Rilascio in seguito alla necrosi di una cellula neoplastica di antigeni normalmente sequestrati nella cellula



Patologie Tumorali e Glicosilazione



Recentemente e' stato possibile l'isolamento e la caratterizzazione dei TAAs.

Gli Antigeni non vengono però individuati come tali e non esiste riconoscimento molecolare tra cellula tumorale e cellule B o T; non esiste cioè risposta immunitaria da parte dell'individuo ospite.



Terapia Biologica per il Trattamento del Cancro

Il trattamento dell'ospite col solo TAA rende possibile il riconoscimento da parte del sistema immunitario e quindi la risposta anticorpale mirata verso le cellule tumorali

IMMUNOTERAPIA ➡ Indurre immunità cellulare terapeutica

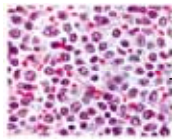


- Stimolare la produzione di cellule effettrici
- Ridurre i meccanismi immuno-soppressori
- Alterare le cellule tumorali per renderle più facilmente aggredibili



Gangliosidi come TAAs

Molti TAAs sono di natura carboidratica e in particolare gangliosidica!



GM₂, GD₃,
GD₂, GT₃,
9-OAc-GD₃

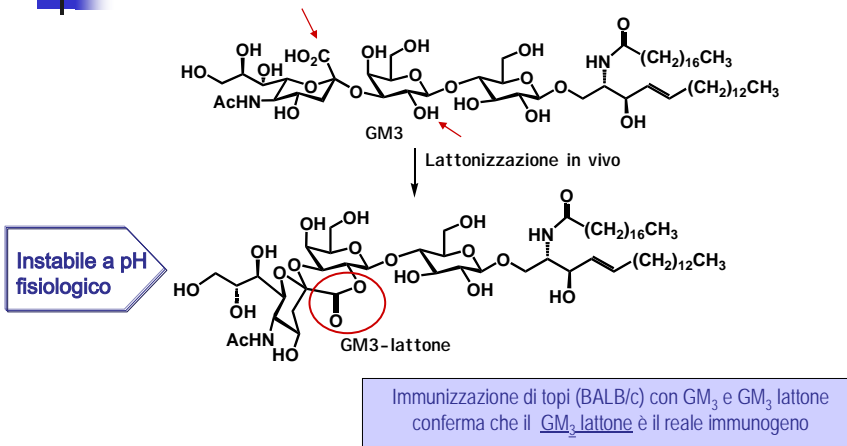


L'anticorpo monoclonale M2590 ottenuto da immunizzazione di topi (C57BL/6) con melanoma B16 sembra diretto verso il

GM₃

GM₃ ganglioside iperespresso in cellule di melanoma reagisce con proteine di membrana formando il GM₃-lattone

GM₃ e GM₃-Lattone



Analoghi Idroliticamente Stabili del GM₃-lattone

Analoghi strutturali del GM-3 lattone che siano droliticamente stabili a pH fisiologici.

Inserimento degli analoghi in liposomi quali veicolanti e adiuvanti