



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SALERNO



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SALERNO
Dipartimento di Farmacia

Dottorato di ricerca
in Scienze Farmaceutiche
Ciclo XII NS — Anno di discussione 2014

Coordinatore: Chiar.mo Prof. *Gianluca Sbardella*

***DESIGN AND SYNTHESIS OF PEPTIDES THAT
MODULATE APOPTOTIC PROCESS***

settore scientifico disciplinare di afferenza: CHIM/08

Dottorando

Dott. *Ermelinda Vernieri*

Tutore

Chiar.mo Prof. *Pietro Campiglia*

L'attivazione oncogenica di tirosin-chinasi è una caratteristica comune nel cancro, e la sua regolamentazione rappresenta un ottimo bersaglio antitumorale. La fosforilazione di tirosine è controllata anche da tirosin protein fosfatasi (PTPs).

Recenti evidenze hanno mostrato che le PTPs possono funzionare come soppressori tumorali. Un' aumentata conoscenza di come questi enzimi funzionano e di come sono regolati potrebbero aiutare lo sviluppo di nuovi agenti anticancro.

È stato dimostrato che la cross-regolazione delle chinasi / fosfatasi e caspasi consente la messa a punto della soglia apoptotica, così come la possibilità di amplificare i segnali apoptotici.

Il pathway del segnale coinvolto nel controllo della proliferazione cellulare, adesione e migrazione sono governati da un equilibrio tra tirosin protein chinasi (PTK) e tirosin protein fosfatasi (PTP).

Per questa ragione la mia tesi di dottorato focalizza l'attenzione su tre target diversi: PTPRJ, una protein tirosin fosfatasi recettoriale, GRK2, recettore accoppiato a protein chinasi di tipo 2, CaMKII, proteina chinasi di tipo II Ca^{2+} /Calmodulina dipendente.

PTPRJ è down regolata nelle cellule tumorali e una sua over espressione sopprime la crescita di tali cellule, sia in vivo che in vitro, concomitante con la riduzione dell'attività delle MAP-chinasi (ERK1/2) e fosforilazione di PLC- γ .

Perciò l'identificazione di peptide agonisti potrebbe essere un possibile approccio nella terapia antitumorale. Attraverso uno screening ottenuto con una libreria combinatoriale di fagi abbiamo identificato due peptidi capaci di legare e attivare PTPRJ, [CHHNLTHAC]-OH e [CLHHYHGSC]-OH. Focalizzando l'attenzione su [CHHNLTHAC]-OH il mio progetto di ricerca si è basato sul design di librerie di peptidi usando diversi approcci come alanina scan e modifiche del ponte disolfuro.

GRK2, recettore chinasi di tipo II accoppiato a proteina G è un nodo rilevante del segnale per la rete di trasduzione cellulare, e gioca ruoli importanti nella fisiologia dei vari organi/tessuti, tra cui il cuore ed i vasi sanguigni. Prove emergenti suggeriscono che GRK2 è up regolata in situazioni patologiche come l'insufficienza cardiaca, ipertrofia, ipertensione ed è coinvolta anche nella progressione del ciclo cellulare. Per tale motivo i suoi possibili inibitori potrebbero offrire un potenziale terapeutico per queste malattie.

Durante la mia tesi di dottorato è stato effettuato uno studio di relazione struttura-attività e un'analisi conformazionale NMR dei peptidi derivanti dall'HJ loop di GRK2, capaci di inibire selettivamente tale recettore. Inoltre abbiamo investigato l'attività inibitoria di GRK2 di una libreria di peptidi ciclici derivanti dall'HJ loop di GRK2. Il design di tali composti si è basato sulla conformazione del loop effettuata tramite analisi a raggi X. Uno di questi composti potenzialmente e selettivamente inibisce l'attività di GRK2, essendo più attivo del suo precursore lineare.

CaMKII, protein chinasi Ca^{2+} /Calmodulina-dipendente di tipo famiglia II costituisce una famiglia di chinasi serina/treonina multifunzionali strettamente correlati che trasduce elevati segnali del Ca^{2+} nelle cellule per un certo numero di proteine bersaglio che vanno dai canali ionici agli attivatori trascrizionali. Tra i processi regolati da CaMKII ci sono la crescita neuronale e funzioni correlate allo sviluppo del cervello, la plasticità sinaptica nonché la formazione e il mantenimento della memoria, la proliferazione cellulare e l'apoptosi, il corretto funzionamento del sistema immunitario, e il controllo centrale del bilancio energetico. Le attuali conoscenze sul controllo della CaMKII sulle funzioni fisiologiche o patologiche è in gran parte basata su esperimenti con inibitori farmacologici. Come parte del nostro attuale interesse per lo studio del signaling cellulare CaMKII-dipendente, abbiamo diretto i nostri sforzi verso l'identificazione di nuovi inibitori CaMKII peptidici.

Partendo da un potente inibitore CaMKinase II, CaM-KNtide, abbiamo progettato diversi analoghi di CaM-KNtide e valutato l'attività inibitoria e specificità.