

## ABSTRACT

È stato sperimentalmente dimostrato che un'alterazione dell'attività enzimatica delle Proteina Metiltransferasi (PMTs) è strettamente correlata all'insorgenza e progressione di diverse patologie, tra cui il cancro. Pertanto al fine di identificare nuovi farmaci antitumorale e al tempo stesso ampliare le conoscenze circa il ruolo fisio-patologico di questa classe di enzimi, negli ultimi anni sia da parte del mondo accademico che dalle industrie farmaceutiche, sono stati sviluppati diversi modulatori *small-molecule* selettivi per le diverse isoforme delle Proteina Metiltrasferasi.

Nel presente lavoro di dottorato è riportata la progettazione, la sintesi e la valutazione dell'attività biologica di tre classi di composti, disegnati come inibitori selettivi di specifiche isoforme delle PMTs. (1) Inspirati dalle relazioni struttura-attività (SAR) degli inibitori a struttura pirazolica e indolica, i più potenti inibitori di PRMT4 fino ad ora identificati, è stata sviluppata una serie di composti a struttura pirrolica, progettati come inibitori di PRMT4. I derivati pirrolici mostrano una potente inibizione enzimatica di PRMT4 mediante saggi in vitro (EML438,  $IC_{50} = 2.42 \mu M$ ), tuttavia non mostrano un'apprezzabile attività mediante saggi cellulari per via di una bassa citopermeabilità. Pertanto, al fine di incrementare la citopermeabilità dei derivati pirrolici e supportati da studi computazionali, sono state effettuate delle ottimizzazioni strutturali a questa classe di molecole. Nuovi derivati a struttura pirrolica sono stati selezionati e sintetizzati e ad oggi è in corso uno screening preliminare per valutarne l'attività biologica. (2) Nell'ambito del progetto volto all'identificazione di inibitori selettivi di PRMT4, in collaborazione con il Professore Nathaniel Martin dell'Università di Utrecht, sono stati progettati e sintetizzati nuovi inibitori bisubstrato di PRMT4. Da studi di inibizione enzimatica in vitro emerge che gli inibitori bisubstrato determinano un'inibizione enzimatica di PRMT4 nell'ordine del nanomolare (**P2-C3-unsat**,  $IC_{50} = 43 \text{ nM}$ ) con una selettività per PRMT4 di circa 900 volte superiore rispetto a PRMT1. Questi risultati confermano le nostre ipotesi che una selettiva e potente inibizione enzimatica è ottenuta da composti caratterizzati da porzioni strutturali in grado di riconoscere e legare i siti di legame dei substrati naturali dell'enzima e quindi mimare lo stato di transizione enzimatico. (3) Inoltre come progetto collaterale sono stati progettati e sintetizzati inibitori a struttura indolica di PRMT3. Tre serie di composti sono state sintetizzate e la loro attività biologica è stata valutata mediante un saggio di inibizione enzimatico a dose fissa contro PRMT1, PRMT3 e PRMT4. **EML598** e **EML599** hanno mostrato una selettiva inibizione di PRMT3 (70 % di inibizione enzimatica di PRMT3 ad una concentrazione di  $100 \mu M$ ). Ulteriori esperimenti sono in corso al fine di caratterizzare meglio l'attività biologica di questa classe di composti.