

Abstract

Negli ultimi anni, la chimica computazionale ha giocato un ruolo importante nell'identificazione di nuovi composti con rilevante attività biologica. Alla luce dell'importanza di infiammazione e tumore tra le patologie più comuni e della loro connessione, l'identificazione di nuove molecole in grado di interferire con *target* biologici coinvolti in queste patologie è fortemente richiesta. L'analisi delle interazioni ligando-macromolecola e la valutazione di possibili *binding mode* sono i punti di partenza per la progettazione e l'identificazione di nuovi potenti composti. Il *Virtual Screening* di grandi librerie di molecole su uno specifico *target* permette di selezionare le più promettenti, portando all'identificazione di nuovi *hit*. Inoltre, l'accoppiamento tra approcci sintetici versatili e protocolli computazionali è un potente strumento per ottenere buoni risultati con un'ottimizzazione dei tempi. In questa tesi, sono applicati sia l'approccio sintetico che quello computazionale. Il lavoro di ricerca è stato incentrato principalmente su mPGES-1 (microsomal Prostaglandin E₂ synthase) come promettente bersaglio per il trattamento delle patologie di cui sopra. Questo enzima è una proteina di membrana omotrimerica coinvolta nella cascata dell'acido arachidonico e agisce a valle come sintasi, catalizzando la conversione della prostaglandina H₂ (PGH₂) nella prostaglandina E₂ (PGE₂). Tra le tre diverse isoforme dell'enzima, l'inibizione selettiva di mPGES-1 (isoforma inducibile) può essere considerata un valido approccio terapeutico per inibire la formazione di PGE₂ indotta dall'infiammazione. Tale isoforma è inoltre sovraespressa nelle patologie tumorali. Alla luce di ciò, al fine di identificare nuove piattaforme molecolari in grado di inibire fortemente l'attività dell'enzima, è stato applicato un protocollo di calcolo multi-step basato su uno studio di *structure-based drug*

design accoppiato ad una strategia sintetica. In particolare, sono state generate nuove librerie di molecole a scaffold 2-aminobenzotiazolico, 2-aminotidiazolico e 2-carbossamidepirrolico, che sono state analizzate all'interno della struttura 3D di mPGES-1 (codice PDB: 4BPM) cristallizzata nel 2014. Utilizzando le interazioni con la controparte recettoriale come filtro qualitativo, è stata selezionata, sintetizzata e sottoposta ad indagine biologica una collezione di composti per ogni libreria. Infine, sono stati effettuati saggi *cell-free* e su linee cellulari che hanno confermato alcuni di essi (derivati del benzotiazolo **1**, **3**, **6**, **9** e **13**, derivati del tiadiazolo **18-20** e **22**, derivati della pirrolo **45** e **47**) essere nuovi e promettenti inibitori del mPGES-1.

Inoltre, lo stesso approccio computazionale incentrato su mPGES-1 è stato applicato a N-eterocicli saturi sostituiti, la cui sintesi è stata effettuata presso il Dipartimento di Chimica e Bioscienze Applicate dell'ETH (Zurigo). In dettaglio, in questo caso le librerie sono state analizzate nella struttura cristallina co-cristallizzata con l'inibitore 6PW (codice PDB: 5K0I), portando alla selezione di 21 composti (**62-82**). La sintesi è stata eseguita utilizzando la *SnAP* (*Stannyl Amine Protocol*) chemistry, che consiste in una reazione tra un aminotributilstannano e un'aldeide per formare un'immina come primo step, seguita da una ciclizzazione intramolecolare. Sono in corso analisi biologiche sui composti sintetizzati.

Al fine di combinare i su citati strumenti di calcolo e questo specifico approccio sintetico, è stato creato *in silico* un ampio database di circa 1.300.000 composti sinteticamente accessibili a partire da reagenti iSnAP (Iterative SnAP), una nuova generazione di *SnAP-reagents* caratterizzati da un ulteriore gruppo funzionale. Il database preparato è stato poi sottoposto a studi di *Virtual Screening* su *target* farmacologicamente promettenti (mPGES-

1 fino ad oggi), al fine di selezionare i migliori candidati per la sintesi e la valutazione biologica.

Infine, l'applicazione di protocolli computazionali multi-step che includono approcci *structure-based* e *ligand-based*, ha portato all'identificazione di due nuovi *hit* a scaffold 3-idrossi-3-pirrolin-2-onico (composti **87** e **88**) come promettenti inibitori di mPGES-1, a partire da una vasta libreria di composti disponibili commercialmente.

Un secondo lavoro di ricerca ha riguardato Hsp90, uno *chaperone* molecolare coinvolto nello sviluppo, sopravvivenza e proliferazione di cellule tumorali, che regola l'omeostasi delle oncoproteine. La maggior parte degli inibitori noti di Hsp90 interagisce con il dominio N-terminale, ma questo tipo di modulazione induce problemi di tossicità legati all'induzione della *heat shock response* (HSR). Al contrario, poiché gli inibitori del C-terminali non producono questo effetto e solo alcuni di essi sono stati sviluppati finora, uno degli obiettivi di questo lavoro di ricerca è stato l'individuazione di nuovi ligandi C-terminali. È stato quindi effettuato uno *screening* biologico su una piccola libreria di 48 composti disponibili in commercio e sono stati identificati due nuovi inibitori (composti **100** e **103**) in grado di interagire selettivamente con il dominio C-terminale. Partendo da questi risultati, è stata effettuata una razionalizzazione utilizzando tecniche di chimica computazionale, quali l'*Induced Fit Docking* e simulazioni di Dinamica Molecolare.

In conclusione, col fine di ottimizzarne l'attività, sono state costruite tre grandi librerie di molecole derivanti dal composto **103** utilizzando il protocollo computazionale multi-step citato precedentemente. Da un'attenta analisi, 21 molecole sono state selezionate per la sintesi e la valutazione biologica.

