

Disegno, Sintesi e Studi Farmacologici di Analoghi Strutturali Modellati su Composti Naturali Bioattivi.

L'enzima microsomale prostaglandina E₂ sintasi di tipo 1 (mPGES-1) è responsabile della trasformazione delle prostaglandine (PG)H₂, prodotte dalle cicloossigenasi (COX), in PGE₂. Tale enzima sembra essere coinvolto nell'insorgenza di differenti malattie umane; è stato, infatti, dimostrata una sua *over*-espressione in diverse patologie a carattere infiammatorio^[1] nonché in varie forme tumorali.^[2;3]

L'inibizione dell'mPGES-1 rappresenta un approccio molto promettente per lo sviluppo di farmaci antinfiammatori privi degli effetti collaterali tipici dei classici farmaci antinfiammatori non-steroidi (NSAID) in commercio.^[4] Infatti, l'mPGES-1 è responsabile della biosintesi delle PGE₂ indotte in risposta a stimoli infiammatori,^[5] senza alcun effetto sulle PGE₂ costituzionalmente presenti nel nostro organismo e deputate a importanti funzioni fisiologiche, tra cui la protezione della mucosa gastrica.^[6] Due sono oggi i principali approcci impiegati per inibire l'attività dell'mPGES-1: il blocco dell'espressione dell'enzima e la sua diretta e selettiva inibizione.

Con lo scopo di identificare nuove molecole capaci di inibire l'attività dell'mPGES-1, nella prima parte di questo progetto abbiamo soffermato la nostra attenzione sul disegno e la sintesi di molecole capaci di modulare negativamente l'espressione del nostro *target* enzimatico. In particolare, come prima cosa abbiamo provveduto ad effettuare delle modifiche strutturali sul composto **6**, un derivato semplificato, a nucleo γ -idrossibutenolidico, del composto di origine naturale petrosaspongiolide M (PM) **5**, che si è rivelato un potente inibitore dell'espressione dell'mPGES-1 (IC₅₀ = 1.80 μ M).^[7;8] Nel corso dei nostri studi, abbiamo identificato due nuovi *hits* che hanno rivelato una migliore attività rispetto alla molecola guida **6**, i composti **30** (IC₅₀ = 0.79 μ M) e **31e** (IC₅₀ = 0.85 μ M).^[9] Incoraggiati da questi risultati, per amplificare la diversità chimica dello *scaffold* γ -

idrossibutenolidico ed identificare nuove strutture *lead* capaci di inibire l'espressione dell'mPGES-1, abbiamo pensato di sviluppare una nuova collezione di derivati del PM, caratterizzati dalla presenza di una porzione ammidica legata allo *scaffold* γ -idrossibutenolidico. Tali composti sono al momento in corso di studio ed i risultati forniti potranno servire da linee guida utili per lo sviluppo di molecole più attive.

Come secondo scopo, abbiamo valutato la possibilità di sviluppare molecole capaci di inibire direttamente l'mPGES-1. A causa dell'assenza in banca dati (PDB) della struttura cristallografica del nostro *target*, abbiamo deciso di prendere in considerazione come modello per i nostri studi, il glutatione transferasi microsomale di tipo 1 (MGST-1), un enzima appartenente, insieme all'mPGES-1, alla famiglia delle proteine di membrana associate al metabolismo degli eicosanoidi e del glutatione (MAPEG), che mostra una elevata omologia di sequenza con il *target* considerato.^[10] Tenendo conto delle caratteristiche richieste dal sito attivo e dell'accessibilità sintetica, abbiamo provveduto a disegnare una collezione di potenziali inibitori dell'mPGES-1, caratterizzati da un anello triazolico 1,4-disostituito, uno *scaffold* ampiamente impiegato nei processi di *drug discovery* che può essere facilmente ottenuto mediante reazioni di *click chemistry*. Il *virtual screening* delle molecole disegnate ci ha permesso di identificare e, successivamente, sintetizzare quelle che, almeno a livello teorico, mostravano i migliori risultati. I saggi biologici ci hanno dato la possibilità di individuare tre nuovi potenti molecole con attività antinfiammatoria: (I) il composto **54**, che si è rivelato selettivo per l'mPGES-1 con IC₅₀ pari a 3.2 μ M, (II) il composto **70**, capace di inibire contemporaneamente 5-lipossigenasi (5-LO) e mPGES-1, e (III) il composto **57**, che agisce come inibitore della proteina attivante la 5-LO (FLAP) con IC₅₀ pari a 0.4 μ M.^[11]

Sulla base di questi risultati, alla fine di questo progetto, abbiamo concentrato la nostra attenzione sul nuovo *hit* **54**, emerso come interessante inibitore selettivo dell'mPGES-1. In particolare, sulla base dei suggerimenti provenienti sia dallo

screening biologico sia dal modello 3D di interazione con l'MGST-1, per cercare di implementare la sua attività biologica, abbiamo effettuato modifiche razionali sulla molecola guida che potessero potenziarne il legame con l'enzima *target*. È stata così disegnata e sintetizzata una nuova collezione di derivati triazolici, la cui attività biologica è in corso di studio.

Bibliografia

- [1.] D. Claveau, M. Sirinyan, J. Guay, R. Gordon, C. C. Chan, Y. Bureau, D. Riendeau, J. A. Mancini, *J.Immunol.* **2003**, *170* 4738-4744.
- [2.] K. Yoshimatsu, D. Golijanin, P. B. Paty, R. A. Soslow, P. J. Jakobsson, R. A. DeLellis, K. Subbaramaiah, A. J. Dannenberg, *Clin.Cancer Res.* **2001**, *7* 3971-3976.
- [3.] K. Yoshimatsu, N. K. Altorki, D. Golijanin, F. Zhang, P. J. Jakobsson, A. J. Dannenberg, K. Subbaramaiah, *Clin.Cancer Res.* **2001**, *7* 2669-2674.
- [4.] H. F. Cheng, R. C. Harris, *Curr.Pharm.Des* **2005**, *11* 1795-1804.
- [5.] M. Murakami, H. Naraba, T. Tanioka, N. Semmyo, Y. Nakatani, F. Kojima, T. Ikeda, M. Fueki, A. Ueno, S. Oh, I. Kudo, *J.Biol.Chem.* **2000**, *275* 32783-32792.
- [6.] W. L. Smith, *Biochem.J.* **1989**, *259* 315-324.
- [7.] M. D. Guerrero, M. Aquino, I. Bruno, M. C. Terencio, M. Paya, R. Riccio, L. Gomez-Paloma, *J.Med.Chem.* **2007**, *50* 2176-2184.
- [8.] M. D. Guerrero, M. Aquino, I. Bruno, R. Riccio, M. C. Terencio, M. Paya, *Eur.J.Pharmacol.* **2009**, *620* 112-119.
- [9.] De Simone R., R. M. Andres, M. Aquino, I. Bruno, M. D. Guerrero, M. C. Terencio, M. Paya, R. Riccio, *Chem.Biol.Drug Des* **2010**, *76* 17-24.
- [10.] S. Thoren, R. Weinander, S. Saha, C. Jegerschold, P. L. Pettersson, B. Samuelsson, H. Hebert, M. Hamberg, R. Morgenstern, P. J. Jakobsson, *J.Biol.Chem.* **2003**, *278* 22199-22209.
- [11.] De Simone R., M. G. Chini, I. Bruno, R. Riccio, D. Mueller, O. Werz, G. Bifulco, *J.Med.Chem.* **2011**, *54* 1565-1575.