

Relazione della Dott.ssa ANNA CARBONE sul progetto di ricerca svolto durante il congedo per motivi di studio e di ricerca dal 03-09-2018 al 02-09-2019

presso la linea di ricerca D3-PharmaChemistry dell'Istituto Italiano di Tecnologia (IIT), Genova

Identificazione di piccole molecole attivatrici del segnale delle proteine BMP

L'attività di ricerca della Dott.ssa Anna Carbone, durante il periodo di congedo, si è svolta presso i laboratori della D3-PharmaChemistry Line (D3-P) di IIT, sotto la supervisione del Dott. Tiziano Bandiera, nell'ambito del progetto volto all'identificazione di piccole molecole attivatrici del segnale delle BMP ("Bone morphogenetic proteins") utili come potenziali agenti antifibrotici.

La fibrosi è un processo patologico associato a diverse malattie croniche a carico di diversi organi e caratterizzata dalla deposizione di matrice extracellulare (ECM) che comporta la distruzione della normale architettura dei tessuti con conseguente mancato funzionamento degli organi coinvolti. [1,2] Il trattamento della fibrosi rappresenta un problema ad alto interesse sociale poichè solo pochi agenti antifibrotici sono stati approvati dalla "Food and Drug Administration (FDA)" e circa il 45% della mortalità nei paesi industrializzati è legata a complicazioni dovute a malattie fibroproliferative croniche. [3-5]

Un importante regolatore di fibrosi tissutale è la citochina "Transforming Growth Factor- β (TGF- β)" il cui effetto pro-fibrotico *in vivo* è stato studiato poichè risulta sovraespressa in molti tessuti fibrotici. [6,7]. Inoltre è stato dimostrato, in diversi modelli di fibrosi d'organo, come il suo effetto pro-fibrotico sia antagonizzato dall'attivazione del pathway delle "Bone Morphogenetic Proteins (BMPs)", appartenenti alla superfamiglia dei fattori di crescita e differenziazione. [8] Pertanto, risulta evidente come il trattamento con piccole molecole attivatrici del segnale delle BMP possa rappresentare un valida strategia per il trattamento delle diverse fibrosi d'organo.

Nell'ambito di una collaborazione tra la linea di ricerca D3-PharmaChemistry dell'Istituto Italiano di Tecnologia (IIT) e il laboratorio U.O.C. Genetica Medica dell'Istituto Giannina Gaslini (IGG) di Genova, è stato precedentemente condotto un high throughput screening (HTS) di una libreria di composti di IIT (ca 11.000) utilizzando un saggio messo a punto nei laboratori IGG. [9] Tale screening ha portato alla identificazione di composti (hits) in grado di attivare il segnale delle BMPs. Inoltre test in saggi secondari hanno portato alla identificazione di hits "confermati". In particolare, sono stati identificati quattro hits attivatori appartenenti a chemotipi diversi tra i quali, per ragioni di fattibilità chimica, attività biologica e copertura brevettuale, uno è stato scelto come punto di partenza per la sintesi di analoghi più attivi. Contemporaneamente ai saggi precedentemente descritti è stato messo a punto, presso il laboratorio D3-P di IIT, un nuovo saggio di screening [10,11] che ha permesso di evidenziare un'attività antifibrotica dell'hit attivatore selezionato. L'attività di disegno e sintesi dei nuovi analoghi dell'hit è stata condotta, durante il periodo di congedo dalla Dott.ssa Carbone. In particolare, la Dott.ssa Carbone si è inizialmente occupata

della risintesi dell'hit selezionato in maniera da confermarne la struttura chimica. Successivamente l'attenzione si è focalizzata sulla sintesi di analoghi dell'hit di riferimento ottenendo un set di circa 100 composti. Tutti i nuovi analoghi sono stati testati, con il saggio precedentemente descritto, per evidenziarne la loro potenziale attività antifibrotica. I composti risultati più interessanti sono stati ulteriormente testati in dose-risposta ed è stata valutata la loro potenziale citotossicità. Tra i composti testati, un derivato ha mostrato il miglior profilo di attività e assenza di tossicità ed è stato selezionato come "lead compound" per una ulteriore estensione della relazione struttura-attività (SAR) e per migliorare le proprietà "drug-like". A tale scopo, un altro set di circa 60 analoghi sono stati disegnati e sintetizzati dalla Dott.ssa Carbone. Alcuni tra questi nuovi derivati hanno mostrato un'attività antifibrotica nettamente superiore al "lead compound" a dosi più basse. Ulteriori studi funzionali sono attualmente in corso per caratterizzare il profilo biologico dei composti più interessanti. Inoltre i composti più promettenti come antifibrotici verranno testati per evidenziarne la loro potenziale attività come attivatori delle BMP.

References

- 1) Wynn, T. A., et al. *Nat. Med.* **2012**, *18*, 1028-1040.
- 2) Juillerat-Jeanneret, L., et al. *J. Med. Chem.* **2018**, *61*, 9811-9840.
- 3) Li, X., et al. *Front. Pharmacol.* **2017**, *8*, article 855.
- 4) Rosenbloom, J., et al. *Biochim. Biophys. Acta* **2013**, *1832*, 1088-1103.
- 5) Wynn, T. A. *J. Pathol.* **2008**, *214*, 199-210.
- 6) Ignatz, R. A., et al. *J. Biol. Chem.* **1986**, *261*, 4337-4345.
- 7) Branton M. H., et al. *Microbes Infect.* **1999**, *1*, 1349-1365.
- 8) McVicker, B., et al. *Front. Pharmacol.* **2017**, *8*, article 318.
- 9) Cappato, S., et al. *Dis. Model. Mech.* **2016**, *9*, 685-696.
- 10) Xu, Q., Et al. *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* **2007**, *293*, F631-F640.
- 11) Hu, Q., et al. *Nephrol. Dial. Transplant.* **2009**, *24*, 3033-304.

Il lavoro svolto durante il periodo di congedo è stato oggetto di un contributo scientifico al congresso "XXVI National Meeting in Medicinal Chemistry. XII Young Medicinal Chemists' Symposium. Milano, 16-19 Luglio 2019.