

Abstract

La chimica computazionale rappresenta un valido e rapido strumento per l'identificazione di nuovi potenziali composti bioattivi. L'analisi delle interazioni ligando-target macromolecolare e la valutazione di un possibile "binding mode" sono cruciali per il design e lo sviluppo di nuovi potenziali farmaci. Il *Virtual Screening* di grandi librerie di composti (fragments o drug-like) condotto *in silico* su uno specifico recettore può permettere la selezione di composti dalla promettente attività, e parallelamente l'identificazione di nuovi scaffolds molecolari. L'analisi accurata dei modelli di interazione ligando-recettore e il confronto di tali modelli con quelli di composti dalla già nota attività permette la costruzione di un modello farmacoforico, punto di partenza per successivi studi di potenziamento dell'attività farmacologica.

Parallelamente, un altro aspetto fondamentale della ricerca farmacologica è rappresentato dall'identificazione dei targets di interazione per composti dalla nota bioattività, e questo risulta particolarmente interessante per i composti di origine naturale. Infatti, per tale classe di molecole sarebbe molto utile effettuare tests biologici su un elevato numero di recettori, ma ciò risulta spesso proibitivo a causa della scarsa quantità di composto disponibile.

Partendo da tali presupposti, nella presente tesi è descritto approfonditamente un nuovo metodo computazionale definito Inverse Virtual Screening. I vari lavori basati su questo nuovo tipo di approccio sono stati effettuati considerando pannelli composti da diversi targets coinvolti nello sviluppo del cancro, portando all'identificazione della specifica attività antitumorale dei vari composti naturali investigati.

Gli studi basati sull'Inverse Virtual Screening sono stati effettuati attraverso calcoli di Molecular Docking utilizzando diversi composti naturali, raggruppati in piccole librerie o studiati singolarmente. In primo luogo, è stato proposto un metodo matematico con l'obiettivo di escludere i falsi positivi e i falsi negativi applicando una normalizzazione delle affinità di legame predette (esprese in kcal/mol). Successivamente, tale approccio è stato applicato su una libreria di 10 composti di origine naturale, validando l'applicabilità di tale metodo attraverso tests biologici *in vitro*. Successivamente, un ulteriore studio è stato incentrato su un ciclopeptide definito namalide, la cui attività biologica su Carbossipeptidasi A era in totale accordo con i dati provenienti dallo studio di Inverse Virtual Screening condotto.

Il *Virtual Screening* è stato inoltre studiato anche analizzando l'efficacia dei metodi per il calcolo accurato delle affinità di legame basati su simulazioni di Dinamica Molecolare. Tale studio è stato condotto su una libreria di 1588 composti (44 ligandi + 1544 decoys, estratti dal DUD database) sul target tripsina, utilizzando il metodo LIE (Linear Interaction Energy) attraverso un elevato numero di simulazioni di Dinamica Molecolare. Sono stati ottenuti quattro differenti scale di affinità

predetta (attraverso quattro combinazioni di differenti *scaling factors*) e sono stati confrontati con i risultati derivanti dai calcoli di Molecular Docking, valutando e confrontando curve ROC e di enrichment. Attraverso il metodo LIE sono stati ottenuti risultati non incoraggianti, e quindi ulteriori analisi attraverso metodi MM-GBSA e MM-PBSA sono in corso di studio.

Inoltre, *screenings in silico* sono stati effettuati anche per lo studio dettagliato di altri composti naturali la cui attività era nota a priori. Attraverso questa procedura, sono stati proposti diversi modelli di binding di una libreria di composti sul target PXR, e per tali composti è stata razionalizzata l'attività/inattività confrontando il loro binding mode con quello del Solomonsterol A, utilizzato come composto di riferimento su tale target. La presenza/assenza di attività biologica è stata descritta a livello molecolare per un'altra classe di composti estratti dalla spugna *Plakinastrella Mamillaris* sul target PPAR- γ e sul diterpene oridonina sul target HSP70 1A attraverso esperimenti combinati di Molecular Docking e Molecular Dynamics.

Sono stati proposti e descritti approfonditamente modelli di binding di tali composti, valutando come specifiche interazioni ligando-target macromolecolare (di natura idrofobica, elettrostatica o caratterizzata dalla presenza di specifici legami ad idrogeno) possano influenzare l'attività biologica.