

DISEÑO Y SÍNTESIS DE INHIBIDORES DE INTERACCIÓN PROTEÍNA-PROTEÍNA COMO POTENCIALES AGENTES ANTITUMORALES

M. Ciarlantini,¹ L. Defelipe,² L. Gandolfi Donadío,¹ E. Elhalem,¹ A. Turjanski,² S. Rotemberg,³ J. Ramirez,² M. J. Comin¹

¹Laboratorio de Síntesis Orgánica-INTI Química, ²FCEN-UBA, ³CUNY- USA.
matiasc@inti.gov.ar

Introducción

Las Interacciones Proteína-Proteína (PPIs) son centrales en todos los procesos biológicos y están muy a menudo desreguladas durante las enfermedades, es por esto que en los últimos años han cobrado relevancia como blancos moleculares a pesar de que representan un desafío mayor para el diseño de drogas que los blancos tradicionales.

En trabajos previos describimos el diseño y la síntesis de **1A-116** (Fig. 1), una nueva diarilguanidina que inhibe la interacción entre Rac1, una pequeña GTPasa involucrada en diversos procesos tumorales, y sus activantes GEFs (Factores intercambiadores de nucleótidos de guanina) (Cardama et al., 2014). Actualmente **1A-116** se encuentra en estudios pre-clínicos para el tratamiento de gliomas agresivos (Laboratorio *ELEA SA-UNQ*).

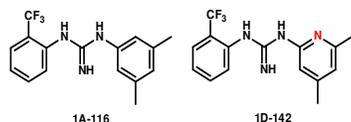


Figura 1. Estructuras de compuestos en estudios preclínicos para el tratamiento de gliomas agresivos y patologías hepáticas que actualmente carecen de tratamientos efectivos.

Más recientemente desarrollamos **1D-142**, que está siendo estudiado para el tratamiento de hepatocarcinoma y otras enfermedades hepáticas (Universidad Austral). En este trabajo presentamos los avances en el desarrollo de inhibidores novedosos y más potentes con potencial uso como agentes antitumorales.

Objetivo

Objetivo general. Mediante un enfoque multidisciplinario se pretende generar nuevos candidatos a drogas para el tratamiento del cáncer y patologías relacionadas.

Objetivo específico: Síntesis de pequeñas bibliotecas de moléculas empleando reacciones multicomponente (RMC) para la búsqueda de nuevos inhibidores de PPIs, entre Rac1 y sus

activantes (GEFs), que presenten actividad antitumoral.

Descripción

Elección del blanco molecular: Rac1 es una proteína validada como blanco molecular que se encuentra sobreexpresada e hiperactivada en tumores de mama, colon-rectal, gástricos, testiculares, pulmonares y cerebrales. (Fritz et al., 2006).

Diseño de Bibliotecas: Seleccionamos las reacciones multicomponente (RMC) que son una herramienta poderosa para la búsqueda de nuevas drogas dada su alta capacidad de generar complejidad y diversidad molecular con una topología adecuada para la interacción con superficies de proteínas. Mediante dos estrategias complementarias, seleccionamos dos “anclas” (estructuras o fragmentos de moléculas que interactúan con Rac1) que se ensamblaron con otros fragmentos a través de RMC para aumentar la afinidad del ancla por Rac1 (Fig 2).

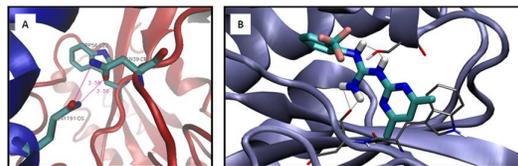


Figura 2. Diseño de anclas. A. Derivado de aminoácidos presentes en zona clave de la interacción Rac1-Tiam1. B. Derivado de inhibidores conocidos como 1A-116.

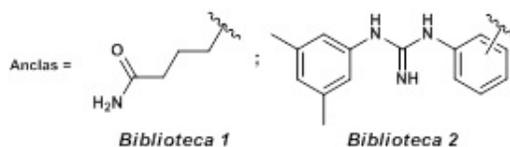
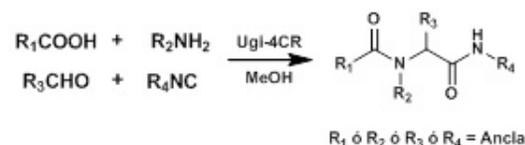


Figura 3. Esquema general de la reacción de Ugi de 4 componentes empleada para el diseño de las bibliotecas

1 y 2. Cada compuesto presenta en al menos una de las posiciones Rn el “ancla”.

Para cada tipo de ancla se diseñó una biblioteca virtual de miles de compuestos sintetizables por la RMC de Ugi (Fig 3). Las bibliotecas se filtraron por *docking* (técnica computacional que busca aquellos compuestos capaces de interactuar con la proteína blanco) con la finalidad de seleccionar para su síntesis a los compuestos más promisorios.

Resultados

A partir de los resultados del *docking* de la biblioteca 1 sobre la estructura de Rac1 se seleccionaron para sintetizar, en primera instancia, dos sub-bibliotecas: “Biblioteca1-Gln-Iso” y “Biblioteca1-Gln-Al” (Fig. 4) que presentan el ancla en las posiciones R4 y R3, respectivamente. Las estrategias sintéticas para la obtención de los compuestos se representan en la figura 4.

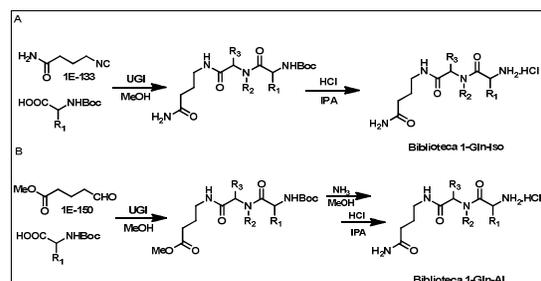


Figura 4. Estrategia sintética general para la obtención de las sub-bibliotecas de la biblioteca 1.

En el caso de la biblioteca 2, luego de un estudio de factibilidad sintética, se decidió tener en cuenta únicamente los compuestos en los que el ancla se encuentra en la posición R1. De los resultados del *docking* se seleccionaron dos sub-bibliotecas: “Biblioteca2-Orto” y “Biblioteca2-Meta” (Fig. 5) que presentan el ancla en la posición R1 con sustituciones Orto y Meta respectivamente.

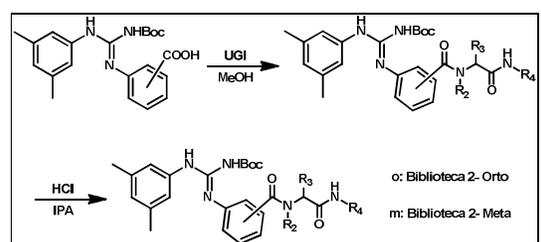


Figura 5. Estrategia sintética general para la obtención de las sub-bibliotecas de la biblioteca 2.

Los compuestos de la biblioteca 1 fueron sintetizados y actualmente están siendo testeados en busca de actividad biológica. En la figura 6 se pueden observar resultados preliminares de ensayos de proliferación celular sobre la línea celular MDA-MB-231 de cáncer de mama para los compuestos de la Biblioteca1-Gln-Iso. Actualmente, estamos sintetizando los

productos de partida para la preparación de la biblioteca 2.

En la figura 7 se muestran, a modo de ejemplo, estructuras de compuestos de la biblioteca 1 ya sintetizados y de compuestos de la biblioteca 2 seleccionados para ser sintetizados próximamente.

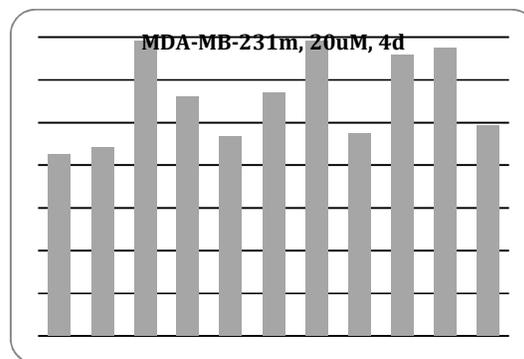


Figura 6: Actividad antiproliferativa sobre células MDA-MB-231 de la biblioteca1-Gln-Iso.

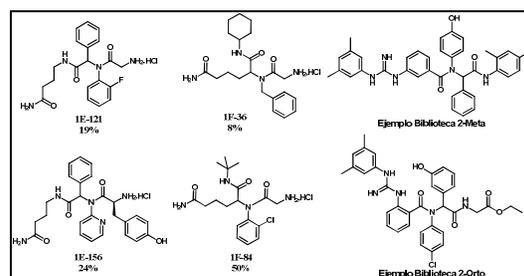


Figura 7. Compuestos seleccionados para ser sintetizados de las bibliotecas 1 y 2.

Conclusiones

- Se diseñaron bibliotecas virtuales de compuestos novedosos empleando la reacción de Ugi y anclas convenientes para generar diversidad molecular y así aumentar la probabilidad de hallar un Hit.
- Se sintetizaron 19 nuevas moléculas promisorias pertenecientes a la biblioteca 1 que están siendo testeadas en ensayos *in vitro* en células.
- En los ensayos sobre células MDA-MB-231 presentados, algunos compuestos de la Biblioteca1-Gln-Iso muestran comportamiento similar al inhibidor conocido de Rac1 **ZINC69391**, y aún deben ser evaluados en otras líneas celulares. Este resultado establece un buen punto de partida para el desarrollo de nuevos inhibidores más efectivos.

Bibliografía

- Cardama, G.; Gonzalez, N.; Ciurlantini, M.; Gandolfi Donadio, L.; Comin, M.J.; Alonso, D. F.; Lorenzano Menna, P.; Gomez, D. E. (2014). Proapoptotic and antiinvasive activity of Rac1 small molecule inhibitors on malignant glioma cells. *Oncotargets and Therapy*, 7, 2021-2033.
- Fritz, G.; Kaina, B. (2006). RhoGTPases: Promising cellular targets for novel anticancer drugs. *Current Cancer Drug Targets*, 6(1), 1–14.