Modellazione molecolare e progettazione di nuovi inibitori della serin proteasi NS3 del virus dell'HCV

Pier Giuseppe De Nardi, Maurizio Fermeglia, Marco Ferrone, Vladimir Frecer, Martin Kabelac, Stanislav Miertuš e Sabrina Pricl

Computer-aided Systems Laboratory - CASLAB, Dipartimento di Ingegneria Chimica, dell'Ambiente e delle Materie Prime, Università degli Studi di Trieste, Piazzale Europa 1, 34127 Trieste e ICS-UNIDO, Area di Ricerca, Padriciano 99, 34100 Trieste

L'infezione da virus dell'epatite C (HCV) è una delle cause primarie dell'epatite cronica, della cirrosi e del carcinoma epatico. Le terapie farmacologiche classiche approvate a tutt'oggi sono basate sostanzialmente sull'interferone-α; tuttavia, tali trattamenti hanno un'efficacia alquanto limitata e presentano di frequente numerosi effetti collaterali.

L'HCV è un piccolo virus contenente un genoma a RNA a singolo filamento, che codifica per un'unica poliproteina, precursore di quattro proteine strutturali e sei proteine non strutturali (NS) con attività di proteasi, elicasi e polimerasi. Le proteine strutturali vengono processate per via proteolitica dagli enzimi NS. Nel gruppo delle proteine NS, la serin proteasi NS3 sembra essere il target più promettente per nuovi farmaci antivirali. Tale enzima è caratterizzato da due attività principali: il dominio C-terminale ha un'attività elicasica, mentre il dominio N-terminale media la proteolisi alle giunzioni NS3/4A, NS4A/4B, NS4B/5A e NS5A/5B.

La struttura tridimensionale dedotta dai raggi X[1] ha dimostrato che la proteasi NS3 adotta una conformazione simile a quella della più nota protease chimotripsina. Un'immagine del modello molecolare del dominio N-terminale dell'NS3 è riportato in Figura 1.

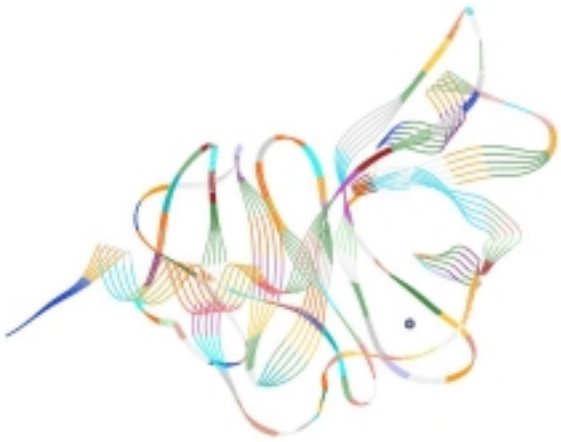

Figura 1. Modello molecolare del dominio N-terminale della proteasi NS3 dell'HCV.

Recentemente, è stato scoperto che i prodotti di idrolisi di substrati peptidici da parte

del dominio N-terminale costituiscono degli inibitori competitivi dell'attività di questo enzima.[2,3] Per la maggior parte, si tratta di esapeptidi, mentre peptidi di lunghezza inferiore si sono rivelati meno attivi.

Scopo principale del lavoro che qui proponiamo è la progettazione di nuovi, potenti inibitori a base peptidica e pseudopeptidica ad elevata specificità nei confronti della proteasi NS3 ricorrendo al design molecolare basato su accurate tecniche di modellazione molecolare e sulla chimica combinatoriale assistita al calcolatore.
I principali risultati ottenuti si possono così brevemente riassumere:

- esiste una buona correlazione tra i valori delle energie di interazione enzima-inibitore calcolare tramite simulazione e i corrispondenti valori sperimentali[4] di pKi per 16 inibitori noti a base peptidica;
- limitando l'analisi ai composti esapeptidici, le posizioni che risultano più influenzare l'interazione NS3/inibitore sono quelle che vanno da P3 a P6;
- all'interno dei possibili, nuovi composti derivanti dalla sostituzione in dette posizioni di vari gruppi funzionali, tra i più efficaci troviamo, ad esempio, la difenilalanina in P4, l'acido D-glutammico in P5 e la presenza di un gruppo acetile sull'aminoacido nativo in P6.

Ringraziamenti
Gli autori ringraziano il MIUR (PRIN 2001 a S.P. su *Ricerca, Selezione e Meccanismo di Azione di agenti a Potenzialità Terapeutica contro i Virus della Famiglia Flaviviridae*) e l' Università di Trieste (*Fondo Speciale per la Ricerca Scientifica* a S.P. e M.F.) per il sostegno economico della ricerca.

Bibliografia

1. Love, R. A., Parge, H. E., Wickersham, J. A., Hostomsky, Z., Habuka, N.,Moomaw, E. W., Adachi, T. and Hostomska, Z. (1996) *Cell* **87,** 331–342.

2. Llina`s-Brunet, M., Bailey, M., De´ziel, R., Fazal, G., Gorys, V., Goulet, S., Halmos, T., Maurice, R., Poirier, M., Poupart, M.-A., Rancourt, J., Thibeault, D., Wernic, D. and Lamarre, D. (1998) *Bioorg.&Med. Chem.Lett.* **8,** 2719–2724.

3. Ingallinella, P., Altamura, S., Bianci, E., Taliani, M., Ingenito, R., Cortese, R., De Francesco, R., Steinkűhler, C. and Pessi., A. (1998) *Biochemistry* **37,**8906–8914.

4. Ingallinella, P., Bianci, E., Ingenito, R., Koch, U., R., Steinkűhler, C., Altamura, S., and Pessi., A. (2000) *Biochemistry* **39,** 12898-12906.