

OGGETTO DELLA TESI.

L'attività di ricerca descritta in questa tesi si inserisce nell'ambito di uno studio delle relazioni struttura-attività dell'Acetilcolinesterasi, un enzima *target* nella terapia sintomatica del morbo di Alzheimer.

Studi di *docking* tra l'AChE e ligandi, hanno spesso rivelato di non essere affidabili nel prevedere correttamente l'orientamento degli inibitori nella cavità enzimatica. Per questo motivo, nonostante siano ormai disponibili un numero significativo di strutture tridimensionali di complessi AChE-inibitore (ca. 30), la determinazione della struttura cristallografica rimane ancora un approccio obbligato per un'analisi accurata delle modalità di interazione tra l'AChE ed i suoi inibitori.

La determinazione della struttura tridimensionale di quattro complessi tra questo enzima ed i rispettivi inibitori, selezionati sulla base del loro potenziale interesse terapeutico, rappresenta la principale attività sperimentale svolta nell'ambito di questa tesi. L'analisi strutturale ed in particolare l'elucidazione delle specifiche interazioni tra i residui amminoacidici dell'enzima e ciascuno degli inibitori studiati hanno permesso non solo di interpretare i dati farmacologici ma anche di comprenderne i rispettivi meccanismi d'azione.

Dei quattro inibitori studiati, due appartengono alla classe degli inibitori carbammici "*mechanism-based*" e due sono derivati della galantamina, un farmaco già in commercio per la terapia sintomatica dell'Alzheimer con il nome di Reminyl®.

Gli inibitori carbammici, la ganstigmina e l' N^1,N^8 -bisnorcimserina, sono stati studiati in virtù del buon profilo farmacodinamico mostrato. La determinazione delle strutture cristallografiche dei complessi della *TcAChE* con la ganstigmina e con la nor-eserolina (gruppo uscente della N^1,N^8 -bisnorcimserina) ed il successivo studio delle principali interazioni dei ligandi con i residui amminoacidici che delimitano la cavità enzimatica, non solo hanno permesso di spiegare i valori delle IC_{50} delle due molecole, ma hanno consentito anche di ottenere la fotografia di due stadi importanti del complesso *pathway* di inibizione e riattivazione dell'acetilcolinesterasi: enzima acilato (complesso *TcAChE*-ganstigmina) ed enzima in complesso con il gruppo uscente della reazione di acilazione (complesso *TcAChE*-nor-eserolina). Queste importanti informazioni strutturali costituiscono una solida base per possibili futuri studi di simulazione mediante metodi della dinamica molecolare classica o della dinamica molecolare *ab initio*

finalizzati alla ricostruzione dei vari stadi del complesso meccanismo di azione dell'Acetilcolinesterasi.

L'analisi cristallografica dei complessi tra la *TcAChE* ed i composti SPH-1371 ed SPH-1373, derivati della galantamina, rappresenta il naturale proseguimento di uno studio precedentemente iniziato dal nostro gruppo di ricerca in stretta collaborazione con la *Sanochemia Pharmazeutika*, Vienna, Austria. Le finalità infatti sono state quelle di progettare derivati della galantamina che presentassero sia una migliore attività inibitoria che una selettività verso l'Acetilcolinesterasi. I due inibitori SPH-1371 ed SPH-1373, tra i molti progettati, disegnati e sintetizzati sulla base dell'analisi della struttura cristallografica della *TcAChE* in complesso con la galantamina, hanno in effetti mostrato un aumento significativo del potere inibente oltre che un migliore profilo farmacodinamico. Per questo motivo sono stati selezionati per l'indagine cristallografica con l'obiettivo di confermare il loro posizionamento/orientamento nella cavità enzimatica e dunque razionalizzare i valori dell'attività (IC_{50}) osservate.

I risultati ottenuti in questo caso sono stati in parte inaspettati, confermando, ancora una volta, la necessità di un'indagine cristallografica per comprendere la disposizione delle molecole all'interno della cavità catalitica dell'Acetilcolinesterasi.