

## **Analisi strutturale dei meccanismi di attivazione del recettore nucleare peroxisome proliferator activated receptor $\gamma$**

Andrea Galmozzi<sup>1</sup>, Giorgio Pochetti<sup>2</sup>, Cristina Godio<sup>1</sup>, Nico Mitro<sup>1</sup>, Donatella Caruso<sup>1</sup>, Samuele Scurati<sup>1</sup>, Fulvio Loiodice<sup>3</sup>, Giuseppe Fracchiolla<sup>3</sup>, Paolo Tortorella<sup>3</sup>, Antonio Laghezza<sup>3</sup>, Antonio Lavecchia<sup>4</sup>, Ettore Novellino<sup>4</sup>, Fernando Mazza<sup>5</sup>, Maurizio Crestani<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio "Giovanni Galli" di Biochimica e Biologia Molecolare dei Lipidi e di Spettrometria di Massa, Dipartimento di Scienze Farmacologiche, Università degli Studi di Milano, Milano; <sup>2</sup>Istituto di Cristallografia, Consiglio Nazionale delle Ricerche, Montelibretti, Roma; <sup>3</sup>Dipartimento Farmacochimico, Università degli Studi di Bari; <sup>4</sup>Dipartimento di Chimica Farmaceutica, Università degli Studi di Napoli; <sup>5</sup>Dipartimento di Chimica, Ingegneria Chimica e dei Materiali, Università di L'Aquila

I peroxisome proliferator activated receptors (PPARs) sono regolatori trascrizionali del metabolismo lipidico e del glucosio e sono bersaglio di farmaci antidiabetici e ipolipidemizzanti. Usando saggi cellulari e di reclutamento di coattivatori trascrizionali, abbiamo studiato le proprietà di due composti enantiomerici. Le costanti di legame al recettore PPAR $\gamma$  dell'enantiomero R, (*R*)-1, e dell'enantiomero S, (*S*)-1 sono rispettivamente di 180 nM e 1780 nM. L'efficacia di attivazione e di reclutamento del coattivatore da parte di (*S*)-1 è minore di quella dell'agonista completo di PPAR $\gamma$ , rosiglitazone. Quando concentrazioni crescenti di (*S*)-1 sono coincubate con concentrazioni saturanti di rosiglitazone, l'efficacia dell'agonista completo scende fino al 25%, indicando che (*S*)-1 è un agonista parziale, mentre (*R*)-1 è un agonista completo di PPAR $\gamma$ . Queste due molecole influenzano specificamente l'attività trascrizionale di PPAR $\alpha$  e PPAR $\gamma$  lasciando inalterata l'attività di altri recettori nucleari. L'espressione genica valutata in colture di cellule epatiche e di adipociti conferma che le molecole analizzate regolano i livelli di mRNA di tipici geni bersaglio di PPAR $\alpha$  e PPAR $\gamma$ . Abbiamo inoltre elaborato una spiegazione molecolare per giustificare il differente comportamento di (*R*)-1 e (*S*)-1 come agonista completo e parziale di PPAR $\gamma$ , riportando le strutture cristallografiche del sito di legame del recettore legato con le due molecole. Tale analisi mostra che il differente grado di stabilizzazione dell'elica 12 indotto dal ligando determina il suo comportamento come agonista parziale o completo. Mentre (*R*)-1 induce la canonica conformazione dell'elica 12 capace di attivare la trascrizione, il complesso PPAR $\gamma$ /*S*-1 mostra una conformazione distorta di questa elica che potrebbe essere responsabile del comportamento di (*S*)-1 come agonista parziale. L'analisi di mutazioni selettive corrobora l'importanza dei residui L465, L469 e I472 nell'attivazione mediata da (*R*)-1 e sottolinea il ruolo chiave del residuo Q286 nell'attività di PPAR $\gamma$ . In conclusione, l'analisi dell'attività di ligandi sintetici di PPAR $\gamma$  accoppiata allo studio cristallografico ha consentito di ottenere nuove informazioni sulle modificazioni della struttura recettoriale indotta dai ligandi, che potranno essere di ausilio per il disegno mirato di nuove molecole in grado di modulare il metabolismo lipidico e del glucosio mediante il recettore PPAR $\gamma$ .