

**RAPPORTO FINALE SUI RISULTATI DEL PROGETTO COMUNE DI RICERCA
FINAL REPORT ON RESULTS OF JOINT RESEARCH PROJECT**

1. Accordo /Agreement CNR / SRNSF. anni/ years: TWO	
2. Titolo del progetto Nucleopeptidi per strategie biomediche 2. Title of the project Nucleopeptides for biomedical strategies	
Parole chiave (massimo 3) Key words (max. 3) nucleobase, peptide, RNA	
(solo per parte italiana) Area scientifica / Scientific area (tabella 1/ table1) Progettazione Molecolare / Molecular design	
3. Responsabili del progetto; Dr. Giovanni Roviello; Prof.ssa Marina Pirtskhalava Project leaders; Dr. Giovanni Roviello; Prof.ssa Marina Pirtskhalava	
Responsabile italiano Dr. Giovanni Roviello	Georgian project leader Prof. Marina Pirtskhalava
istituto di appartenenza IBB CNR – UOS Napoli Centro indirizzo Via Mezzocannone 16 Napoli	affiliation Geomedi University address 3 Krtsanisi str. 0114. Georgia, Tbilisi

4. Obiettivi del progetto

- 1) Studio delle proprietà di *binding* di nucleopeptidi verso biomolecole
- 2) Investigare l'interazione con RNA di importanza biologica
- 3) Investigare la possibile inibizione di enzimi di significato biomedico, specialmente nell'ambito della terapia antivirale

4. Aims of the project

- 1) to study peptides derivatized with DNA nucleobases, also referred as nucleopeptides (Roviello GN, et al. Amino Acids. 2010, 39:45-57), for their interesting binding properties towards biomolecules (for example proteins or nucleic acids) of medical importance.
- 2) to study the interaction of nucleopeptides with RNA of biological importance
- 3) to investigate the possibility to inhibit by nucleopeptides the activity of biologically relevant enzymes (mainly involved in viral events)

5. Risultati ottenuti per obiettivo (1 pagina)

1-Durante il biennio 2012-2013 la collaborazione tra i ricercatori coinvolti nel presente progetto di ricerca internazionale ha portato alla realizzazione di un sistema molecolare di natura ibrida contenente uno scheletro peptidico funzionalizzato con basi azotate del DNA. Tale costrutto è stato caratterizzato dal punto di vista chimico e strutturale ed ha mostrato una buona solubilità in mezzo acquoso, aspetto necessario per poter effettuare studi di ibridazione con *target* biochimici

2-A tal punto è stato effettuato (principalmente nel primo anno) un accurato studio di *binding* con un RNA di interesse biomedico, il poly rA, noto per il significato biologico che le code poliadeniliche rivestono nella protezione e funzionalità molecolare degli mRNA ed anche per la sua abbondante produzione in cellule tumorali umane nelle quali essa si accompagna alla concomitante sovraespressione di una specifica poly rA polimerasi (PAP) detta neoPAP. Queste osservazioni hanno portato ad indicare il poly rA come un possibile *target* per innovative strategie terapeutiche antitumorali basate su molecole che, come nel caso rilevato nel presente lavoro di ricerca, siano in grado di ibridare il poly rA e che quindi fungano da potenziali modulatori delle funzioni dell'mRNA in cellule tumorali. Il legame è stato caratterizzato non solo dal punto di vista spettroscopico seguendo variazioni delle proprietà spettroscopiche dovute all'RNA in conseguenza di aggiunte di quantità crescenti di nucleopeptide (studi effettuati dal Dr. Giovanni Roviello), ma anche mediante simulazioni modelling effettuate dal gruppo della prof. Pirtskhalava che hanno permesso di evidenziare le possibili interazioni tra il nucleopeptide ed il poly rA.

3-Un altro aspetto di sicuro interesse biomedico riguarda lo sviluppo di nuovi antivirali basati su nucleopeptidi e, più in particolare, uno studio di inibizione di un enzima essenziale per la sopravvivenza del virus che determina l'AIDS, ossia HIV RT, è stato condotto (soprattutto durante il secondo anno di progetto) utilizzando quale inibitore la molecola nucleopeptidica realizzata nell'ambito del presente progetto di ricerca bilaterale. Da saggi biologici condotti presso l'IBB è stato evidenziato che il nucleopeptide è in grado di modulare l'attività retrotrascrittica di HIV RT ed in particolare che l'aggiunta al mezzo contenente l'enzima di quantità crescenti di nucleopeptide sortisce come effetto un'inibizione dose-dipendente dell'attività dell'enzima con una IC50 con valori inferiori al micromolare.

5. Achieved results (one page)

1-In the previous project, a chiral nucleopeptide was synthesized by solid phase synthesis and subsequently studied for its ability to interact with molecules of biomedical significance. More in detail, the nucleopeptide, which was realized by insertion of both positively-charged monomers and nucleobase-bearing units, was characterized by a chemical-structural point of view. This molecular tool proved to be well-soluble in water, which is a point of great importance in view of the biological investigation of its properties.

2-The nucleopeptide was proven by spectroscopical techniques (such as circular dichroism and UV) to interact with poly rA RNA molecules by forming complexes in which the nucleic acid underwent a drastic modification of its secondary structure. The importance of this molecular recognition, which was object of study during the first year of project, resides in the possibility to modulate biological processes influenced by poly rA-binding. Indeed, such RNA molecule was suggested as a possible target for anticancer approaches due to its implication in cancer development testified also by the abundance of poly rA and poly rA polymerases (PAP enzymes) in cancer with respect to normal cells. Interestingly, overexpression of a specific poly rA polymerase, known as neo-PAP, exclusively in cancer cells was demonstrated and reinforces the hypothesized importance of poly rA in cancer. Regarding the RNA-binding ability of the chiral nucleopeptide, modelling studies conducted by georgian researchers of Pirtskhalava's group threw light on the mechanism of such molecular recognition occurring between the two different classes of nucleobase-bearing molecules. Indeed, a clear phosphate-NH₃⁺ interaction, as well as an Adenine-Thymine complementary recognition were evidenced in such computer-assisted study that confirmed the importance of sequential cationic nucleopeptides in nucleic-binding experiments.

3-Another biological activity investigated (mainly during the second year of the project) concerns the possibility to use nucleopeptides in antiviral strategies. Indeed, the nucleopeptide was studied in biological assays in which the reverse transcription of HIV retrotranscriptase, also referred to as HIV RT, was modulated by use of different amounts of nucleopeptide solution added to the medium during the experiment. Very interestingly, a dose-dependent inhibition of HIV RT activity was found with a low micromolar IC₅₀ value. Such inhibition activity could be justified on the basis of the RNA complexation associated to the cationic nature of the nucleopeptide causing the arrest of the HIV RT activity. Nevertheless, an inhibition of the enzyme due to a direct interaction of nucleopeptide with regions of HIV RT able to influence the overall activity of the retrotranscriptase can not be excluded. Indeed, as ascertained by the research team in Naples, nucleopeptides are able to bind hydrophobic sites of RTs probably due to the binding of aromatic aminoacids.

6. Prodotti del progetto / Results obtained

Publicaz. scient. su riviste internaz./ scientific publications on international reviews con IF----- senza IF	n./no.
Publicaz. in atti congressi internaz./ publications in international congress proceedings	1
Publicazioni in atti congressi nazionali / publications in national congress proceedings	
Publicazione libri nazionali / Publication of national books	
Publicazione libri internazionali / Publication of international books	

Altre pubblicazioni / other publications	
Brevetti / Patents	1
Prototipi / Prototypes	
Strumentazione / Equipment and /or Devices	
Programmi software / Software	1
Banche dati / Data bases	
Protocolli / Protocols	
Nuovi Materiali / New Materials	
Nuovi processi / New processes	
Cataloghi/inventari/repertori / Catalogues/Inventories	
Atlanti/Carte/Mappe / Atlases/Charts/Maps	
Progetti di ricerca / Reserch project	
Trasferimento innovazioni / Knowledge transfer	
Laboratori congiunti / Joint laboratories	
Alta formazione / Training	
Altro / Other	1

7. Informazioni dettagliate sui risultati indicati sub 6

Comunicazione a convegno (poster) e *proceeding* su atti di convegno (internazionale) avente tra gli autori ricercatori italiani e georgiani coinvolti nel presente progetto di ricerca:

Nucleoamino acid-based compounds: from chemical synthesis to biomedical applications **Giovanni N. Roviello**, Domenica Musumeci, Enrico M. Bucci; Carlo Pedone; Antonella Di Napoli; **Marina Pirtskhalava; Merab Mirtskhulava**

“Chemistry Today“ Conference

21-23 April 2012 – Tbilisi – Georgia

Ringraziamenti su rivista scientifica internazionale (con IF) per il finanziamento ottenuto dal programma di ricerca bilaterale CNR, Italy—SRNSF, Georgia (2012–2013):

Roviello et al. Synthesis of a diaminopropanoic acid-based nucleoamino acid and assembly of cationic nucleopeptides for biomedical applications. *Amino Acids*. 2012 43:2537–2543

Grazie al finanziamento ricevuto col presente progetto di ricerca è stato possibile acquistare un termoblocco Accublock D110 utile per la deprotezione acida della protezione BOC da diamminoacidi, necessaria per la sintesi di nucleoamminoacidi e quindi di nucleopeptidi

Training course presso la Geomedi University, Tblisi (Georgia) tenuto dal Dr. Roviello nella primavera 2012.

7. Detailed information on results indicated under point 6

Poster presentation and publication in international congress proceedings having among authors both italian and georgian researchers involved in the project:

Nucleoamino acid-based compounds: from chemical synthesis to biomedical applications **Giovanni N. Roviello**, Domenica Musumeci, Enrico M. Bucci; Carlo Pedone; Antonella Di Napoli; **Marina Pirtskhalava; Merab Mirtskhulava**

“Chemistry Today“ Conference

21-23 April 2012 – Tbilisi – Georgia

Aknowledgements on an international scientific journal (with IF) of the financial support received by CNR, Italy—SRNSF, Georgia (2012–2013):

Roviello et al. Synthesis of a diaminopropanoic acid-based nucleoamino acid and assembly of cationic nucleopeptides for biomedical applications. *Amino Acids*. 2012 43:2537–2543

By using the financial support received by CNR, Italy—SRNSF, Georgia (2012–2013), it was possible to buy an heating block (thermoblock) Accublock D110 useful for the acidic deprotection of BOC protecting groups in diamino acids necessary to synthesize nucleoamino acids and, thus, nucleopeptides

A training course was held by Dr. Roviello during spring 2012 in Georgia, at Geomedi University.

8. Formazione di giovani ricercatori Training of young researchers

Il dottor. Roviello nell'ambito del presente progetto di ricerca bilatelare ha tenuto un *training course* sulla *Medicinal Chemistry* in Georgia, presso l'Università Geomedi di Tbilisi nella primavera 2012 al quale hanno partecipato giovani ricercatori della stessa università.

A training course on Medicinal Chemistry was held at the Geomedi University of Tbilisi (Georgia) by Dr. Roviello during spring 2012 which was attended by young researchers of Geomedi University.

9. Motivazione degli sviluppi della collaborazione negli anni successivi

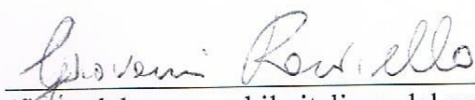
(eventuali estensione ad altri paesi, collaborazioni multilaterali, contratti nazionali o internazionali)

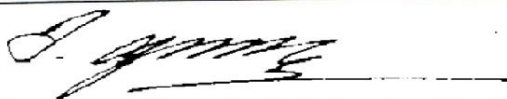
E' auspicabile un rinnovo per il prossimo biennio del finanziamento del progetto "Nucleopeptidi per strategie biomediche" per permettere ai *team* del Dr Roviello e della prof.ssa Pirtskhalava di proseguire nel percorso di ricerca scientifica già iniziato, con la prospettiva di effettuare pubblicazioni scientifiche su riviste internazionali, allargare la partecipazione anche a soggetti provenienti da altre nazioni e progettare assieme la partecipazione a bandi internazionali per accedere a finanziamenti europei o di altra natura, utili per supportare la propria attività di ricerca e per finanziare contratti di ricerca per giovani ricercatori in Italia e Georgia.

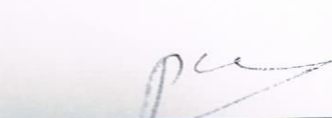
9. Reasons for cooperative project developments in the following years, if any

(extension to other countries, multilateral collaboration, national or international contracts)

We hope to have our bilateral project approved for further two years (2014-2015) in order to better investigate the scientific points whose study was already started thanks to the joint efforts of the italian and georgian teams. Nevertheless, a prosecution of the "Nucleopeptides for biomedical strategies" project could lead to new scientific publications on international journals, also involving scientific teams from other countries and, not less importantly, to the participation to future calls for obtaining european (and not only) funds useful to support our scientific research activities giving also opportunities of research contracts for young investigators from both Italy and Georgia.


(firma del responsabile italiano del progetto)


(signature of the georgian project leader)


(firma del direttore)

 Consiglio Nazionale delle Ricerche
Istituto di Biostrutture e Bioimmagini
Il Direttore
Dott. Bruno Alfano

date: 23rd July 2013

TABELLA 1

1 – Dipartimento Terra e Ambiente	7 – Dipartimento Materiali e Dispositivi
2 – Dipartimento Energia e Trasporti	8 – Dipartimento Sistemi di Produzione
3 – Dipartimento Agroalimentare	9 – Dipartimento Tecnologie dell'Informazione e delle Comunicazioni
4 – Dipartimento Medicina	10 – Dipartimento Identità Culturale
5 – Dipartimento Scienze della Vita	11 – Dipartimento Patrimonio Culturale
6 – Dipartimento Progettazione Molecolare	