Consiglio Nazionale delle Ricerche
Istituto di Chimica Biomolecolare
Sassari

Sassari, 12 Febbraio 2009

Consiglio Nazionale Ricerche

Direzione Generale - Ufficio Paesi Industrializzati e Organismi Internazionali
Programma Mobilità di breve durata
Piazzale Aldo Moro, 7

00185 Roma

Oggetto. STM 2009-relazione finale Delogu Giovanna (matricola 04814)

Relazione scientifica finale sull'attività svolta dalla Dr. Giovanna Delogu (matricola 04814) presso la Rothamsted Research Centre (UK) dal 21 novembre al 12 dicembre 2009 nell'ambito del programma Short-Term Mobility 2009.

Istituzione ospitante: Rothamsted Research Centre, Harpenden, UK

Titolo del programma di ricerca: Evaluation of novel insect esterase inhibitors from natural sources and development of sustained release approaches to enhance their activity. *(Valutazione di nuovi inibitori di esterasi di insetti di origine naturale e sviluppo di metodologie di rilascio ecosostenibili al fine di aumentarne e prolungarne l'attività).*

Macrolinea di afferenza : 06 Progettazione molecolare

L'attività di ricerca ha riguardato l'individuazione e valutazione di prodotti naturali e naturali-simili capaci di inibire il meccanismo di difesa degli insetti, meccanismo correlato principalmente ad una superproduzione/superattività di esterasi e di P450 monossigenasi. Una volta individuata la molecola con attività inibitoria nei confronti degli enzimi interessati, l'obiettivo successivo era aumentare e prolungare l'attività dell'inibitore mediante metodologie chimiche ecosostenibili in grado di rilasciare nel tempo il principio attivo e/o di proteggerlo dalla temperatura, luce e processi ossidativi.

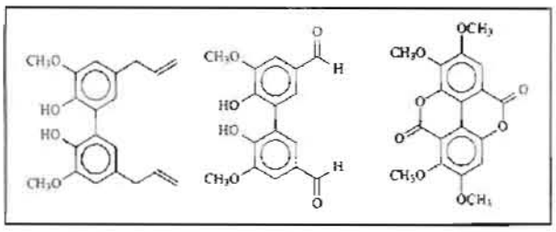
L'attività di ricerca della Dr. Delogu presso i laboratori della Rothamsted è stata svolta in stretto contatto con il Dr. Graham Moores, responsabile del <Insect Biochemistry Biological Chemistry Dept> con il quale

Trav. La Crucca, 3 – reg. Baldinca – Li Punti, 07100 Sassari tel +39 0792841220 fax +39 0792841299 e-mail: giovanna.delogu@icb.cnr.it

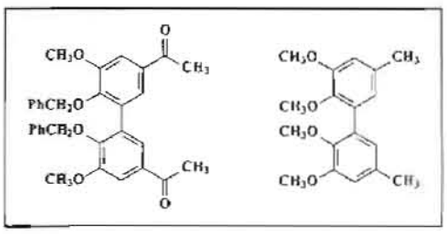
Consiglio Nazionale delle Ricerche
Istituto di Chimica Biomolecolare
Sassari

la Dr. Delogu ha una collaborazione da alcuni anni. Con l'ausilio dei collaboratori del Dr. Moores, la Dr. Delogu ha partecipato attivamente alla valutazione biologica di una serie di composti naturali e naturali-simili preparati precedentemente presso i laboratori dell'Istituto CNR di Chimica Biomolecolare di Sassari dal gruppo della Dr. Delogu. Parte dei composti era stati complessati con biomatrici quali la beta-ciclodestrina al fine di migliorare la biodisponibilità, proteggere il principio attivo e, eventualmente, prolungarne il rilascio nel tempo.

La maggior parte dei composti naturali e naturali-simili utilizzati appartengono alla famiglia dei fenoli naturali e dei loro dimeri naturali a simmetria C2 quali i bifenili idrossilati.



esempi di bifenili naturali



esempi di bifenili di reminiscenza naturale

E' in continua crescita l'utilizzo della struttura bifenilica come *building block* nella preparazione di *biomolecole*. Questo utilizzo è giustificato dal fatto che l'isolamento, la purificazione e la caratterizzazione di estratti di piante e organismi marini hanno evidenziato composti con strutture atropisomeriche ed in particolare bifenili idrossilati ai quali sono attribuiti importanti attività farmacologiche, antimicrobiche e insetticide. Malgrado le importanti attività biologiche e l'ampia diffusione in natura, la struttura bifenilica idrossilata non è ampiamente indagata come altre strutture naturali.
Nell'ottica di preparare nuovi insetticidi e sinergici ecosostenibili, questa classe di molecole potrebbe trovare utile applicazione in campo agrochimico.
Haraguchi, H. et al. *Planta Medica,* **1996**, *62*, 217-221. Ward, R. S. *Nat Prod. Rep.* **1996**, *13*, 43-74. Quideau, S.; Feldman, K. S. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 8809-8813. Nicolau, K. C.; Boddy, . N. C.; Brase, S. et al *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 2096-2152. Li, G.-H. *et al. J. Phytopathol.* **2009**, *157*, 390-302.

Il programma di ricerca, interattivo tra i due gruppi di ricerca (ICB-Sassari e Rothamsted), ha permesso la discussione e l'approfondimento del tema di ricerca e ha posto le basi per il proseguo dell'attività e lo scambio di ricercatori tra i due gruppi di ricerca.

L'esperienza maturata durante lo svolgimento della STM ha permesso alla Dr. Delogu, chimico organico di sintesi, di apprendere le più moderne metodiche di analisi biologiche e di approfondire i meccanismi biologici legati alla resistenza degli insetti, due aspetti non presenti nell'<espertise> della Dr. Delogu e di

Trav. La Crucca. 3 – reg. Baldinca – Li Punti. 07100 Sassari tel. +39 0792841220 fax +39 0792841299 e-mail: giovanna.delogu@icb.cnr.it

Consiglio Nazionale delle Ricerche
Istituto di Chimica Biomolecolare
Sassari

interesse per l'individuazione e la sintesi di nuove molecole ad attività inibitoria. Contestualmente, l'esperienza della Dr. Delogu sulla progettazione, sintesi e caratterizzazione di fenoli e polifenoli di origine naturale ha permesso al gruppo del Dr. Moores di comprendere i meccanismi di difesa dell'insetto dal punto di vista struttura-attività e di valutare l'attività di nuove molecole di origine naturale sia nella forma <neat> sia complessata con biomatrici quali la beta-ciclodestrina, biomatrice non tossica e accessibile commercialmente a prezzi contenuti.

Durante la permanenza presso la Rothamsted Research Centre, la Dr. Delogu ha avuto la possibilità di discutere con altri gruppi di ricerca della Rothamsted appartenenti al <Biological Chemistry Division> e al <Centre for Sustainable Pest and Disease Management> e confrontarsi su tematiche di ricerca multidisciplinari e di interesse per entrambi. Questo interscambio di opinioni ha posto le basi per eventuali collaborazioni e progetti in comune tra il CNR e il Biotechnology& Biological Sciences Research Council (B&BSCR) al quale la Rothamsted Research Centre fa parte.

L'attività si è articolata nel seguente modo:

1. Scelta degli enzimi coinvolti nei meccanismi di difesa ed in particolare esterasi provenienti da artropodi resistenti e con resistenze incrociate (es *Myzus persicae*, *B-type whitefly*), acetilcolinesterasi proveniente da ceppi resistenti di *Musca domestica*, P450 monoossigenasi.
2. Preparazione degli estratti enzimatici attraverso estrazione e determinazione dell'attività
3. Ricerca bibliografica al fine di individuare il sito/siti catalitici degli enzimi interessati e il loro comportamento in presenza di molecole esogene e/o endogene capaci di alterare l'attività.
4. Studio e comprensione dei possibili meccanismi molecolari che coinvolgono l'attività degli enzimi in insetti resistenti.
5. Valutazione biologica in vitro. Determinazione dell'attività inibitoria delle esterasi in presenza di potenziali inibitori naturali e naturali-simili. Determinazione dell'attività inibitoria alla ossidasi microsomale.
6. Valutazione biologica delle molecole con attività inibitoria elevata e complessate in beta-ciclodestrina al fine di valutare l'effetto matrice.
7. Correlazione dei dati, discussione e valutazione per le prove in vivo.

Sono state identificate una serie di molecole con attività inibitoria nei confronti delle esterasi e del P450 monoossigenasi superiore ai sinergici commerciali (es. piperonilbutossido). Sono state individuate molecole selettive per una sola classe di enzimi ed applicabili in presenza di insetti non litofagi (es. api). E' stata valutata una variazione in attività degli inibitori complessati in beta-ciclodestrina rispetto al principio

Trav. La Crucca, 3 – reg. Baldinca – Li Punti, 07100 Sassari tel. +39 0792841220 fax +39 0792841299 e-mail: giovanna.delogu@icb.cnr.it

Consiglio Nazionale delle Ricerche
Istituto di Chimica Biomolecolare
Sassari

attivo nella forma non complessata. E' in corso la stesura di una pubblicazione dove verrà citato il CNR quale organismo promotore.

La presenza del prof. Oktay GÜrkan del Biotechnology Institute di Ankara, ospite della Rothamsted durante il periodo della STM della Dr. Delogu, ha permesso la discussione su temi di ricerca correlabili all'attività di ricerca tra la Dr. Delogu ed il Dr. Moores e porre le basi su nuove strategie utili al controllo della resistenza degli insetti. Sono stati individuati strumenti finanziari per sottoporre un progetto di ricerca comune.

Il Fruitore
Dr. Giovanna Maria Delogu

Per presa visione, il Proponente e
Direttore dell'Istituto CNR di Chimica Biomolecolare
Dr. Agata Gambacorta

Trav. La Crucca, 3 – reg. Baldinca – Li Punti, 07100 Sassari tel. +39 0792841220 fax +39 0792841299 e-mail: giovanna.delogu@icb.cnr.it