

# DEFENSA DE TESIS

Lunes 30 de septiembre de 2024, 11 hs.

AULA SEMINARIO DQO – 3º piso – PAB. II – CIUDAD UNIVERSITARIA

AULA VIRTUAL DQO: <https://zoom.us/my/qo.aula01> - Clave: exactas20

La charla se transmitirá en vivo:

YouTube: <https://www.youtube.com/channel/UCyLYRdx196IH55Do6PVMzXA>

"Diseño y síntesis de ligandos fluorescentes específicos para la detección de blancos proteicos".

## Lic. Nicolás Arrupe

Centro de investigaciones en BioNanociencias (CIBIONCONICET)

Directora de Tesis: Dra. Luciana Giordano

Consejero de Estudios: Dr. Fernando Duran

Las técnicas basadas en fluorescencia constituyen una herramienta fundamental en el proceso de desarrollo de nuevos fármacos. Son métodos robustos y económicos, que permiten evaluar en forma eficiente un gran número de compuestos siendo adecuados para llevar a cabo ensayos de Cribado de Alta Capacidad. Para el desarrollo de procedimientos convenientes de screening, se necesita un método simple donde se evalúe la unión del ligando a la proteína con alta sensibilidad. El desarrollo de este método comienza con el diseño y la síntesis de sondas fluorescentes que se conjugan a ligandos específicos de blancos proteicos.

Una de las aproximaciones para desarrollar sondas fluorescentes, involucra la incorporación de fluoróforos sensibles al entorno del tipo solvatocrómicos y rotores moleculares. Éstos exhiben comúnmente una fluorescencia muy débil en ambientes polares y próticos pero muestran una fuerte fluorescencia en ambientes hidrofóbicos. Por lo tanto, se espera que la unión del ligando en el sitio de unión a la proteína blanco acerque al fluoróforo al bolsillo hidrofóbico y cause un aumento en la emisión de fluorescencia. En contraste, en ausencia de la proteína blanco, la sonda permanecerá en un buffer acuoso y exhibirá una fluorescencia débil. Este enfoque es novedoso ya que no implica una reacción enzimática para que el cambio en la señal ocurra y por ende se puede aplicar a cualquier blanco proteico que tenga un sitio de unión.

En esta tesis se sintetizaron sondas fluorescentes a partir fluoróforos sensibles al entorno del tipo solvatocrómicos basados en 3-hidroxicromonas y rotores moleculares basados en BODIPYs. Para esto se sintetizaron los fluoróforos incluyendo un halogenuro de arilo en su estructura. Por otro lado, se obtuvieron ligandos específicos para los blancos proteicos a estudiar funcionalizados con alquinos terminales. De esta manera se generaron las sondas fluorescentes específicas usando la reacción de acoplamiento de Sonogashira.

En segundo lugar, se desarrolló un ensayo de unión ligando proteína que permitió calcular las constantes de unión de los sensores a las proteínas. A partir de esto, también se implementó un ensayo de desplazamiento que permite calcular constantes de disociación de ligandos específicos de la proteína blanco.

Finalmente se realizaron diversos estudios computacionales que permitieron profundizar en la dinámica de la unión de las sondas a los distintos sistemas proteicos, entender la reactividad de los fluoróforos usados respecto a la reacción de Sonogashira, y como anexo, comprender el efecto electrónico que tienen los sustituyentes en distintas 3-hidroxicromonas.