



“Laboratorio di Sintesi Organica e di Studi Enzimatici sul Rilascio *In Vitro* di Farmaci e Agrofarmaci da Coniugati”

Coordinatore: Prof.ssa Silvia Gazzola – Prof. Umberto Piarulli

Contatti: s.gazzola@uninsubria.it – umberto.piarulli@uninsubria.it

Keywords: Drug-Conjugates; AgroDrug-Conjugates; cleavable linkers; Organic Synthesis; Peptide Synthesis

Finalità: La ricerca svolta nel Laboratorio di Sintesi Organica e Studi Enzimatici di Rilascio *In Vitro* di Farmaci e Agrofarmaci da Coniugati è finalizzata alla progettazione, sintesi chimica e caratterizzazione di coniugati contenenti principi attivi di interesse farmaceutico e agrochimico, nonché allo studio dei meccanismi di rilascio controllato dei corrispondenti farmaci e agrofarmaci mediante processi di scissione enzimatica *in vitro*. L'obiettivo finale è quello di sviluppare sistemi pro-attivi e strategie di delivery innovative, valutandone stabilità, selettività e profili di attivazione enzimatica in condizioni controllate. **Localizzazione:** Dipartimento di Scienza e Alta Tecnologia – Cubo dei Chimici, via Valleggio 9 – Como.

Organizzazione: La facility è coordinata interamente dal gruppo di ricerca SynthMedChem group (prof.ssa Gazzola – Prof. Piarulli), il quale gestisce gli strumenti e le attrezzature necessari alla sintesi organica e agli studi enzimatici di rilascio *in vitro* di farmaci e agrofarmaci da Coniugati

Collegamento con le Piattaforme Tecnologiche del CRIETT e le Piattaforme Scientifiche di Ateneo:

- 1) Piattaforma *Sostenibilità* nell'ambito della tematica 7: *Sostenibilità e Tutela delle Risorse Naturali* – “Agricoltura sostenibile”
- 2) Piattaforma *Piattaforma Tecnologie per energia, salute e ambiente* nell'ambito della tematica 3: *Tecnologie, metodi ed approcci per l'indagine biomedica* – “Drug Design”

Breve descrizione: La facility è composta da:

- 1) **Per la sintesi organica:** due laboratori di sintesi organica fully equipped (cappe aspiranti, rotavapors, rampe azoto/vuoto, vetreria classica e Schlenk, bilance analitiche e tecniche, pompe da vuoto, ecc). Inoltre, è presente uno strumento di cromatografia flash automatica e un sintetizzatore peptidico automatico (*vedi “Facility di Sintesi Organica”*).
- 2) **Per la caratterizzazione delle molecole sintetizzate e per i test enzimatici:** due centrifughe, un Thermo-shaker, un freezer -80°C per la conservazione di enzimi, e uno strumento LC-MS singolo quadrupolo per analisi semplici (*vedi “Facility di caratterizzazione molecolare e test enzimatici”*).

Publicazioni:

1. Synthesis and biological evaluation of a novel Dual-Targeting Small Molecule Drug Conjugate Modulating the crosstalk between $\alpha 5\beta 1$ Integrin and MDM2 in Glioblastoma. Arrigoni F., Ferrari, Ana, Prpić, H., Markeviciute, E., Muzi, A., Roscilli, G., Gazzola, S., Piarulli, U. -ACS MedChem Lett. 2026, DOI: 10.1021/acsmchemlett.5c00669.
2. AgroDrug Conjugates for Sustainable Crop Protection: Molecular Architectures, Mechanisms, and Critical Perspectives. Cazzaniga, G., Orru, R., Barber, D.M., Gazzola S. - Top Curr Chem, 2026, 384, 1 <https://doi.org/10.1007/s41061-025-00531-x>.
3. Comparative Enzymatic and Stability Assays Reveal GPLG as an Effective Cathepsin B Cleavable Linker for Tumor-Targeting Drug Conjugates. Cazzaniga, G., Zambra, M., Bongioiolo, S., Prpić, H., Fasola, E., Arrigoni, F., Piarulli, U.*, Gazzola, S.* - ACS Omega, 2025, 10, 36, 41783-41798.
4. Impairing protein–protein interactions in an essential tRNA modification complex: An innovative antimicrobial strategy against *Pseudomonas aeruginosa*. Bollati, M., Fasola, E., Pieraccini, Freddi, F., Cocomazzi, P., Oliva, F., Klußmann, M., Maspero, A., Piarulli, U., Ferrara, S., Pellegrino, S. Bertoni, G.,* Gazzola, S.* - J. Pep. Sci., 2025, 31:e3658.
5. Design, Synthesis and Preliminary In-Vitro Activity of 6-Hydroxyalkyl β -Carboline Derivatives for the Development of Drug Conjugates Targeting MDM2. Arrigoni, F., Prpic, H., Ferrari, A., Zambra, M., Roscilli, G., Gazzola, S.,* Piarulli. U.*- Eur. J. Org. Chem., 2024, e202400915.
6. Optimizing the Enzymatic Release of MMAE from isoDGR-based Small Molecule Drug Conjugate by Incorporation of a GPLG-PABC Enzymatically Cleavable Linker. Zambra, M., Randelović, I., Talarico, F., Borbély, A., Svajda, L., Tóvári, J., Mező, G., Boderó, L. A., Colombo, S., Arrigoni, F., Fasola, E., Gazzola, S.,* Piarulli. U.*- Front. Pharmacol., 2023, 14, 1215694.
7. Conformational switch and multiple supramolecular structures of a newly identified self-assembling protein-mimetic peptide from *Pseudomonas aeruginosa* YeaZ protein. Fasola, E., Alboreggia, G., Pieraccini, S., Oliva, F., Agharbaoui, F. E., Bollati, M., Bertoni, G., Recchia, S., Marelli, M., Piarulli, U., Pellegrino, S. Gazzola, S.* Front. Chem., 2022, 10, 1038796.
8. A combined fragment-based virtual screening and STD-NMR approach for the identification of Ecadherin ligands. Vasile, F., Lavore, F., Gazzola, S., Vettraiño, C., Parisini, E., Piarulli, U., Belvisi, L., Civera, M. - Front. Chem., 2022, 10, 946087.
9. Synthesis and Biological Evaluation of an isoDGR-Paclitaxel Conjugate Containing a Cell Penetrating Peptide to Promote Cellular Uptake. Boderó L., Parente S., Arrigoni F., Klimpel A., Neundorf I., Gazzola S.,* Piarulli U.* – Eur. J. Org. Chem., 2021, 17, 2383.

• **A) Facility di Sintesi Organica**



Interchim puriFlash: strumento di flash cromatografia automatica con frazionatore e detector UV per la purificazione di molecole organiche. Lo strumento prevede la possibilità di lavorare sia in fase normale che in fase inversa a seconda delle necessità.



Sintetizzatore peptidico a microonde Biotage® Initiator+ Alstra™ è un sintetizzatore a microonde completamente automatizzato, a canale singolo, progettato per la sintesi di peptidi su scala piccola e grande. Il riscaldamento a microonde accelera le reazioni, migliorando resa e purezza e riducendo i tempi di sintesi. Il sistema supporta peptoidi, PNA e peptidomimetici, con scale flessibili da 5 μmol fino a 2 mmol.

• **A) Facility di caratterizzazione molecolare e test enzimatici**



LC-MS: Spettrometro Compact Mass Spectrometer con range di massa da 10 a 1200 m/z a singolo quadrupolo con sistema di introduzione diretta di campioni liquidi tramite sorgente ESI, e interfacciato con sistema HPLC Jasco serie 900/1500 con:

1. Pompa binaria con flussi da 0,001 a 10 ml/min Pmax. 500 bar
2. Autocampionatore a 50 posizioni e volume variabile
3. Rivelatore UV/Vis



Freezer -80 °C a pozzetto per piccoli campioni biologici (es. enzimi).



Thermo-shaker BioSan: L'agitatore termico TS-100C fornisce miscelazione intensa e controllo della temperatura dei campioni in piastre PCR o provette per microtest. Questo modello di agitatore termico ha la possibilità di raffreddare i campioni fino a una temperatura di +4°C. Le funzioni di riscaldamento e miscelazione possono essere effettuate sia simultaneamente che indipendentemente. Sono disponibili 13 blocchi riscaldanti e raffreddanti, incluso un blocco con coperchio in plastica per piastre PCR. Tutti i blocchi sono intercambiabili e possono essere facilmente installati sull'agitatore.



Centrifuga per eppendorf e centrifuga per Falcon 15 mL



Sonicator da laboratorio (FREQ. 30 kHz) Con punta di titanio D. 2 mm per volumi da 2 a 50 mL