



# Strategie computazionali per la scoperta di molecole bioattive nell'ambito della piattaforma VITALITY

Dott. Gian Marco Elisi

Campus Enrico Mattei  
Università degli Studi di Urbino  
17 dicembre 2024



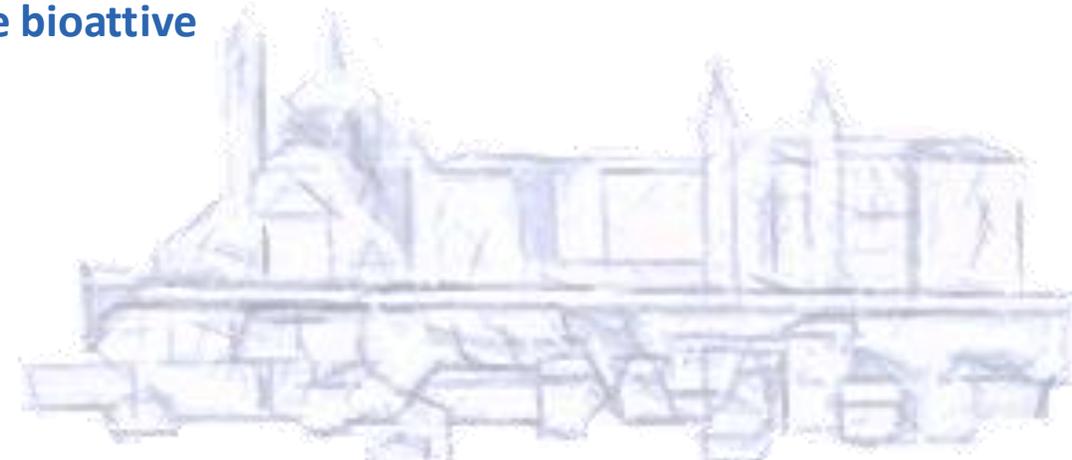


## Progetti VITALITY che beneficiano di protocolli per l'identificazione di molecole bioattive

- **Screening di composti covalenti:** inibitori enzimatici di APS reduttasi
- **Identificazione di composti con azione duale:** composti duali agonisti parziali del recettore  $D_3$  e inibitori enzimatici reversibili di GSK-3 $\beta$
- **Identificazione di modulatori allosterici:** composti con azione *biased* sulla via di segnalazione delle  $\beta$ -arrestine per il recettore 5-HT $_{2A}$
- **Progetti di *drug discovery* senza un target identificato:** inibitori della proliferazione di *Leishmania infantum* in screening fenotipico



Sviluppo di workflow rapidi e generalizzabili per progetti accademici e industriali volti all'identificazione di molecole bioattive



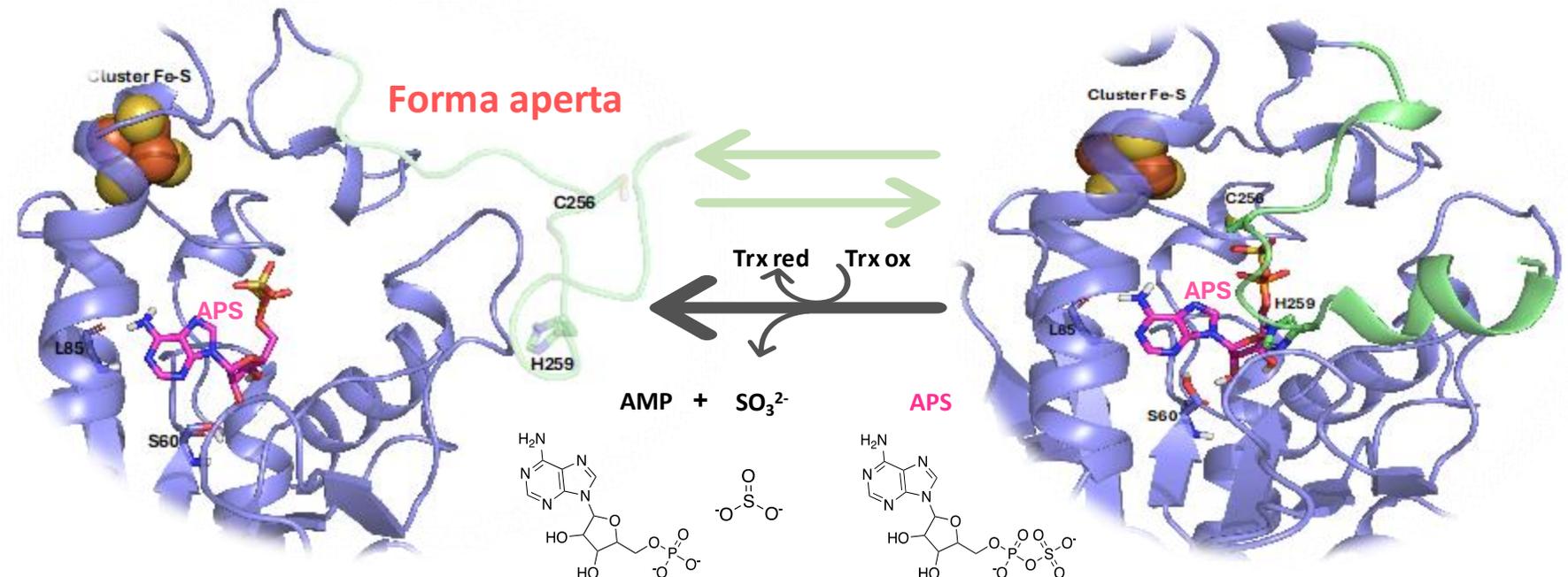


## Strategie per combattere l'antibiotico-resistenza

- La **riduzione del solfato inorganico**, dovuta all'attività enzimatica dell'APS reduttasi è necessaria per la biosintesi della cisteina
- Il meccanismo è mediato dalla cisteina catalitica 256, localizzata nella **porzione C-terminale non risolta**.

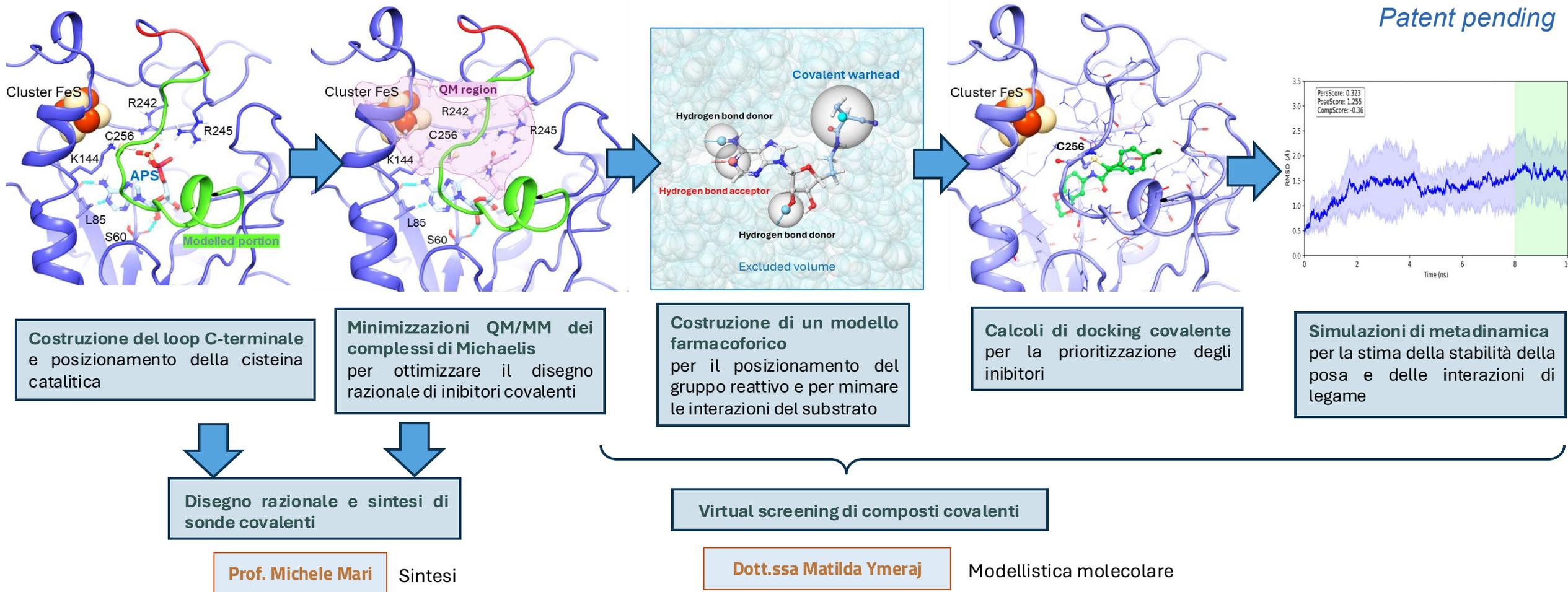
*Patent pending*

**Forma chiusa**  
cataliticamente competente



Chartron J. et al.,  
*J. Mol Biol.* **2006**, 364, 152-69

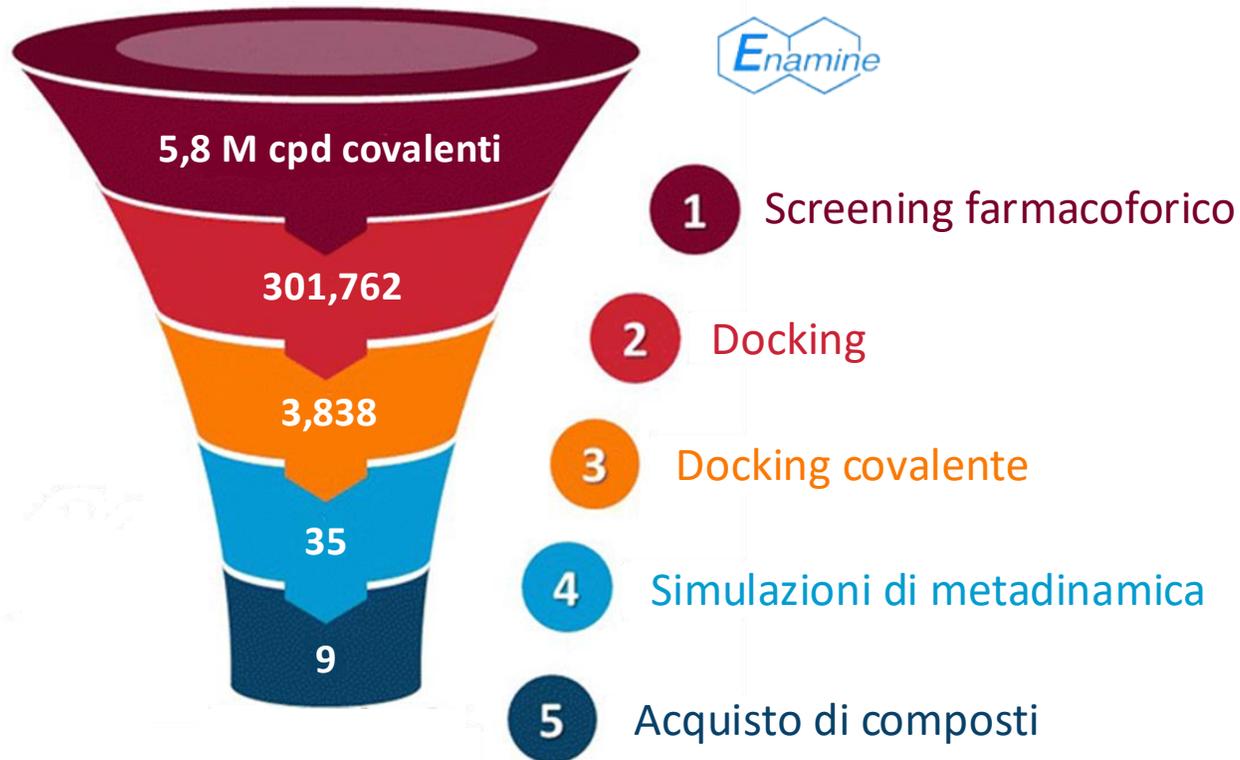
## Workflow per l'identificazione di composti covalenti





## Risultati dello screening virtuale

*Patent pending*



- Due composti sono risultati attivi in saggi enzimatici con costante di inibizione nel micromolare.
- Uno dei due composti è stato in grado di inibire la proliferazione di *Pseudomonas aeruginosa*.

Prof.ssa Barbara Campanini  
Prof.ssa Maria Laura Marchetti

Saggi biochimici



Prof.ssa Emanuela Frangipani  
Dott. Gianmarco Mangiaterra  
Dott.ssa Sara Hijazi

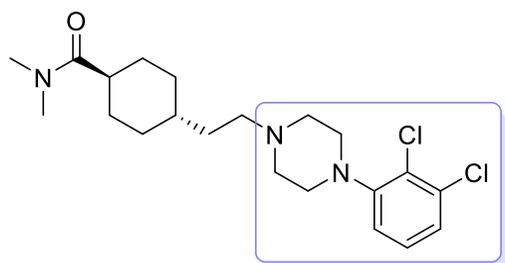
Saggi *in vivo*



- Analoghi dei due hits verranno testati per uno studio delle relazioni struttura-attività.
- Studio del meccanismo di reazione e inibizione enzimatica (in collaborazione con Prof. Mulholland, *University of Bristol*)



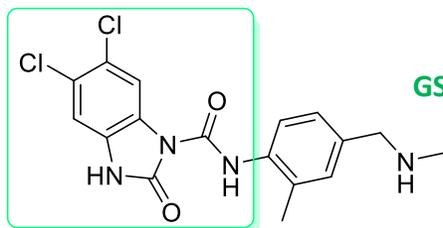
## Identificazione di composti duali con azione sul recettore D<sub>3</sub> e su GSK-3β



D<sub>3</sub>R partial agonist

Cariprazine

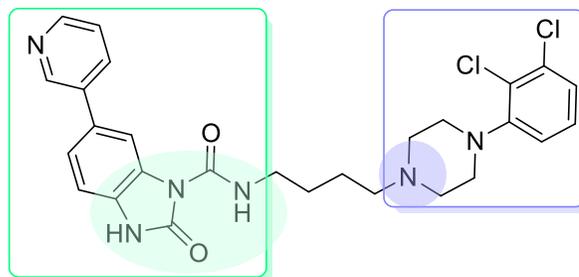
D<sub>3</sub>R: EC<sub>50</sub> = 2.09 nM (70.9% Emax)



GSK-3β enzyme inhibitor

GSK-3β: IC<sub>50</sub> = 8 nM

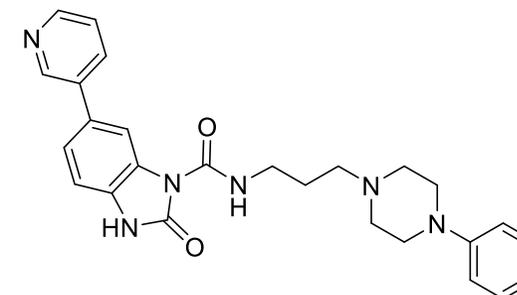
La modulazione contemporanea di due target contribuisce alla regolazione del signaling dopaminergico e può essere una strategia nel trattamento del **disordine bipolare** e della **dipendenza**.



ARN24161

D<sub>3</sub>R: EC<sub>50</sub> = 10.1 nM (26.3% Eff.)

GSK-3β: IC<sub>50</sub> = 561 nM



ARN25657

D<sub>3</sub>R: EC<sub>50</sub> = 15.2 nM (37.7% Eff.)

GSK-3β: IC<sub>50</sub> = 19.7 nM

Di Martino R. M. C. et al.,  
*ChemMedChem.* **2020**, 15, 949-54

Dott. Vittorio Lembo

Modellistica molecolare

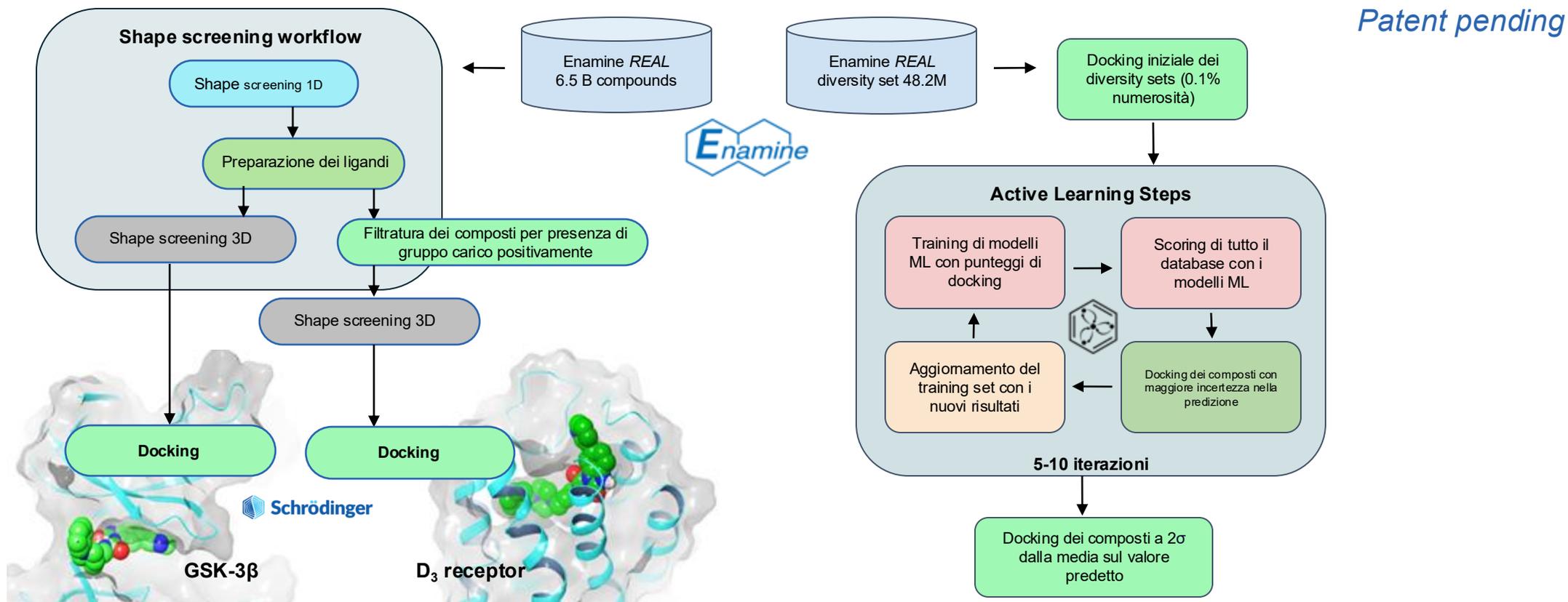
Dott.ssa Rita Scarpelli (IIT, Genova)

Test *in vitro*





## Approcci di screening di librerie ultra-large per l'identificazione di composti con azione duale



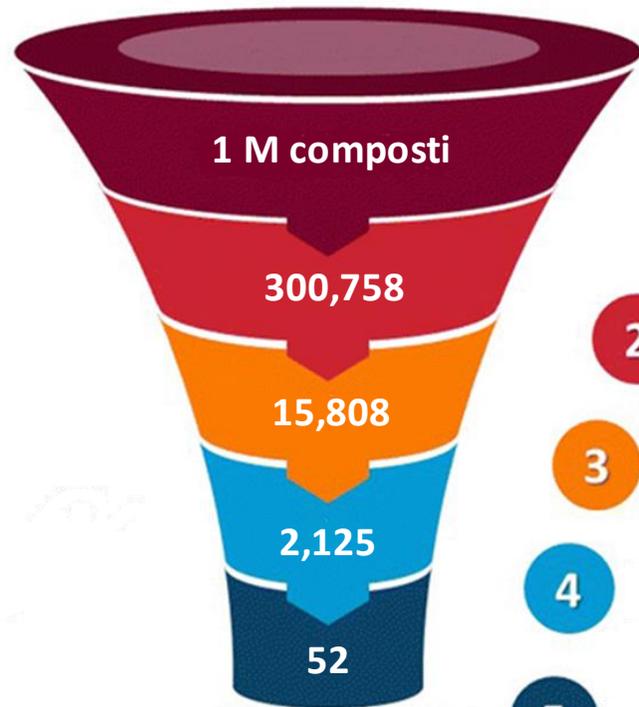
I due approcci combinati hanno portato all'acquisto di 9 composti, dei quali quattro hanno registrato un'attività di inibizione enzimatica su GSK-3β. Il migliore ha un  $IC_{50} = 955$  nM.



## Identificazione di modulatore allosterico

- Identificazione di ligandi bitopici e agonisti biased verso il pathway delle  $\beta$ -arrestine al fine di ottenere agenti anti-depressivi

6,5 B Enamine REAL



1 Screening 1D

2 Selezione di composti con presenza di gruppo ammonio a pH fisiologico

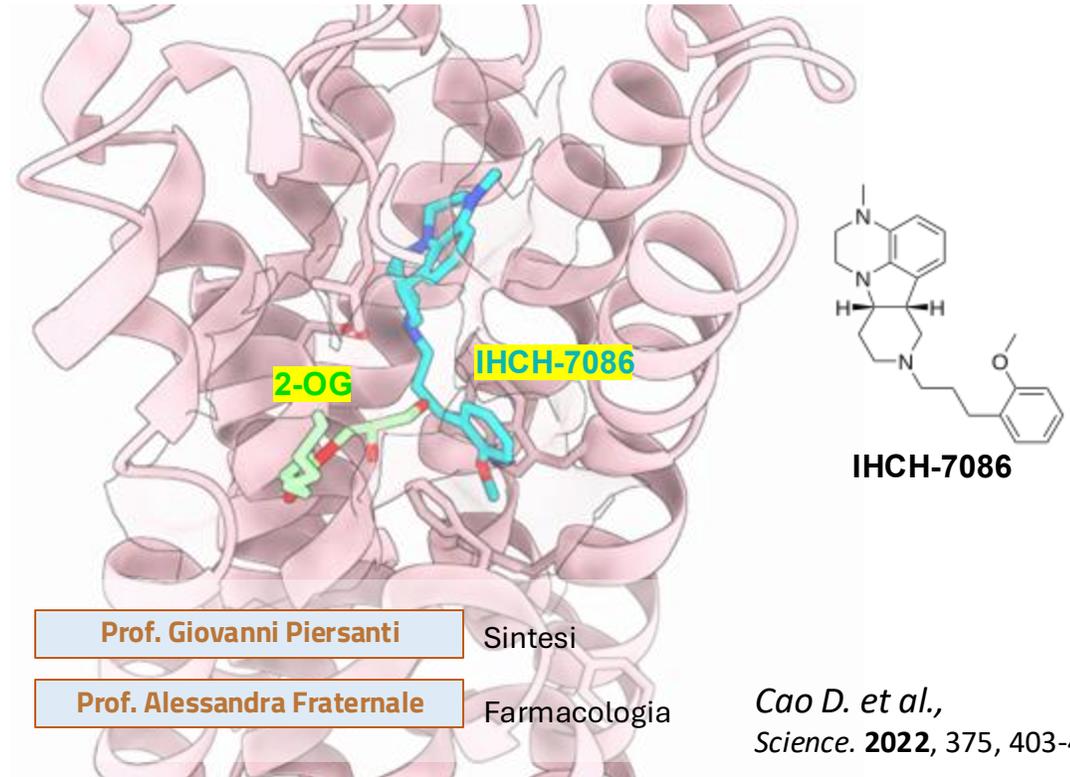
3 Docking

4 Calcoli MM-GBSA

5 Simulazioni di metadinamica

10 composti comprati

## 5-HT<sub>2A</sub> receptor





## Progetti di *drug discovery* senza un target molecolare definito

### Selezione di nuove molecole

Protocollo di *shape screening*

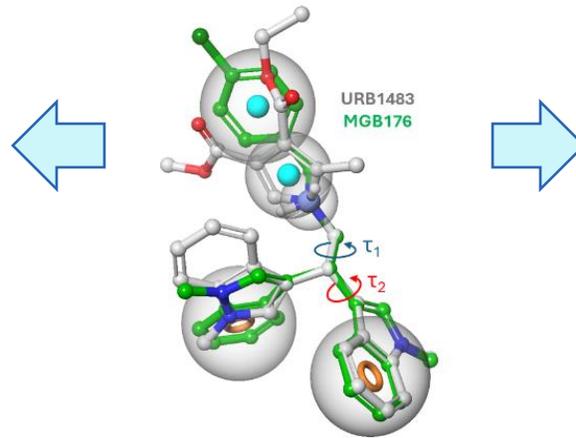
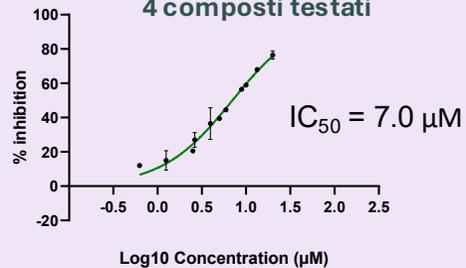
Proprietà library



Composti con migliore score farmacoforico  
Z-score > 1  
e filtratura per proprietà chimico-fisiche  
 $0.5 \leq \log P \leq 4$   
Max 1 stereocentro

Clustering dei risultati

4 composti testati



Analisi conformazionale  
&  
Modello farmacoforico

Prof. Simone Lucarini

Sintesi

Prof. Luca Galluzzi  
Dott.ssa Aurora Diotallevi

Saggi *in vitro*

Prof. Andrea Ilari

Saggi biochimici



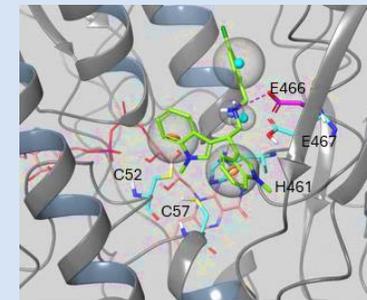
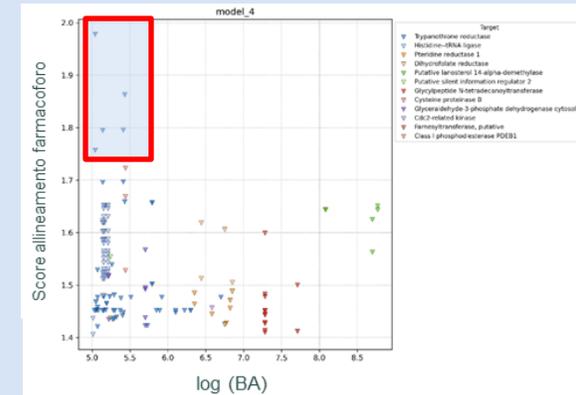
### Target fishing

Screening di molecole con azione target-specifica  
Library di 508 composti per una selezione di target di  
*Leishmania* spp.

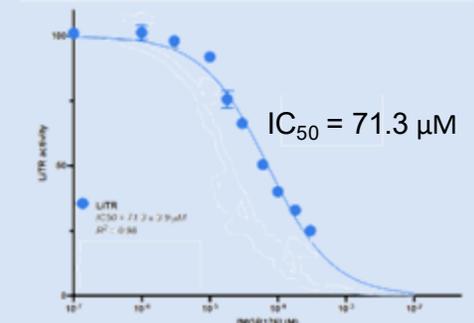


Analisi delle molecole con  
migliore score del farmacoforo

Proposta di un meccanismo  
d'azione dei bisindoli



Docking

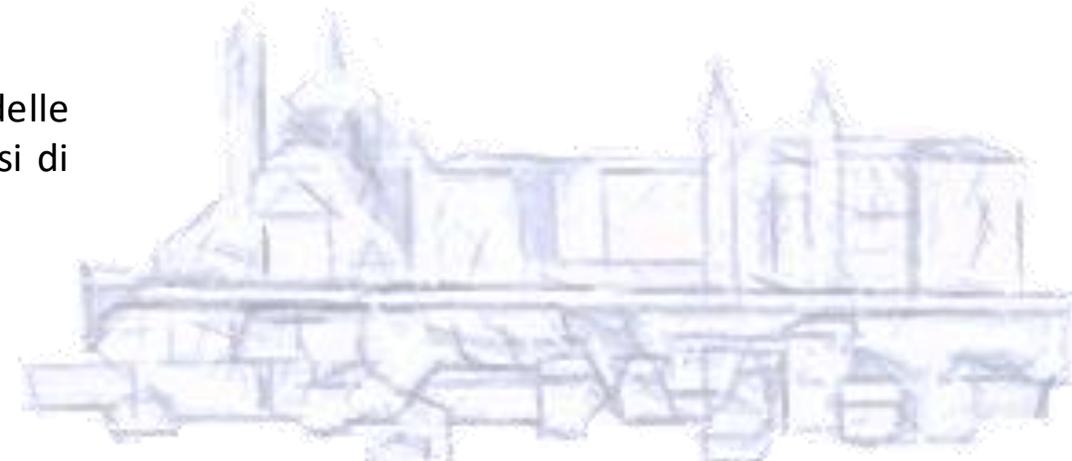


Inibizione enzimatica



## Conclusioni

- **Sviluppo di diversi protocolli per l'identificazione di biomolecole attive**
  - Screening di composti covalenti
  - Identificazione di composti con azione duale
  - Identificazione di modulatori allosterici
  - Progetti di *drug discovery* senza un target identificato
- Alcuni protocolli consentono lo **screening di librerie ultra-larghe**
- I metodi computazionali consentono il risparmio di risorse attraverso la selezione di un minore numero di composti per le fasi sperimentali
- Gli hit recuperati con queste strategie necessitano di ulteriori espansioni delle relazioni struttura-attività mediante l'acquisto di nuovi composti o la sintesi di analoghi del composto di partenza





**Grazie per l'attenzione**