

**UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MILANO**

Procedura di selezione per la chiamata a professore di I fascia da ricoprire ai sensi dell'art. 18, comma 1, della Legge n. 240/2010 per il settore concorsuale 03/D1 - Chimica e Tecnologie Farmaceutiche, Tossicologiche e Nutraceutico-Alimentari (settore scientifico-disciplinare settore scientifico-disciplinare CHIM/08 - Chimica Farmaceutica) presso il Dipartimento di Dipartimento di Scienze Farmaceutiche, (avviso bando pubblicato sulla G.U. n. 59 del 26/07/2022) - Codice concorso 5038

## **Alessandro Pedretti**

### **CURRICULUM VITAE**

**INFORMAZIONI PERSONALI**

COGNOME	PEDRETTI
NOME	ALESSANDRO
DATA DI NASCITA	23/01/1970

**TITOLI****TITOLO DI STUDIO**

- Laurea in "Chimica e Tecnologia Farmaceutiche", Università degli Studi di Milano, 07/11/1995, votazione 110/110 e lode.

**TITOLO DI DOTTORE DI RICERCA O EQUIVALENTI, OVVERO, PER I SETTORI INTERESSATI, DEL DIPLOMA DI SPECIALIZZAZIONE MEDICA O EQUIVALENTE, CONSEGUITO IN ITALIA O ALL'ESTERO**

- Dottore di ricerca in "Chimica del Farmaco" (XIII ciclo), Università degli Studi di Milano, 14/12/2000.

**ALTRI TITOLI CONSEGUITI**

- Assegnista di ricerca, Istituto di Chimica Farmaceutica e Tossicologica, Università degli Studi di Milano, dal 01/10/2000 al 30/09/2001.
- Ricercatore universitario per il settore scientifico-disciplinare CHIM/08 - Chimica Farmaceutica, Facoltà di Farmacia, Università degli Studi di Milano, dal 01/10/2001 al 30/09/2004.
- Ricercatore confermato per il settore scientifico-disciplinare CHIM/08 - Chimica Farmaceutica, Facoltà di Farmacia, Università degli Studi di Milano, dal 01/10/2004 al 28/02/2015.
- Professore universitario di ruolo di II fascia per il settore scientifico-disciplinare CHIM/08 - Chimica Farmaceutica, Dipartimento di Scienze Farmaceutiche, Università degli Studi di Milano, dal 01/03/2015 ad oggi.
- Abilitazione scientifica nazionale come professore di I fascia per il settore concorsuale 03/D1 Chimica e Tecnologie Farmaceutiche, Tossicologiche e Nutraceutico-Alimentari, art. 16, comma 1, Legge 240/10, validità dal 15/01/2020 al 15/01/2029.

## ATTIVITÀ DIDATTICA

### INSEGNAMENTI E MODULI

- **A.A. 2001/2002** (dal 01/10/2001 al 30/09/2002)
  - Laboratorio di Modellistica Molecolare (35 ore), modulo del C.I. in Metodologie Avanzate in Chimica Farmaceutica, per Chimica e Tecnologie Farmaceutiche, Università degli Studi di Milano.
  - Farmaci Biotecnologici (35 ore), modulo del C.I. in Biotecnologie Farmaceutiche per Chimica e Tecnologie Farmaceutiche, Università degli Studi di Milano.
- **A.A. 2002/2003** (dal 01/10/2002 al 30/09/2003)
  - Laboratorio di Modellistica Molecolare (35 ore), modulo del C.I. in Metodologie Avanzate in Chimica Farmaceutica, per Chimica e Tecnologie Farmaceutiche, Università degli Studi di Milano.
  - Farmaci Biotecnologici (35 ore), modulo del C.I. in Biotecnologie Farmaceutiche per Chimica e Tecnologie Farmaceutiche, Università degli Studi di Milano.
- **A.A. 2003/2004** (dal 01/10/2003 al 30/09/2004)
  - Laboratorio di Modellistica Molecolare (35 ore), modulo del C.I. in Metodologie Avanzate in Chimica Farmaceutica, per Chimica e Tecnologie Farmaceutiche, Università degli Studi di Milano.
  - Farmaci Biotecnologici (35 ore), modulo del C.I. in Biotecnologie Farmaceutiche per Chimica e Tecnologie Farmaceutiche, Università degli Studi di Milano.
- **A.A. 2004/2005** (dal 01/10/2004 al 30/09/2005)
  - Laboratorio di Modellistica Molecolare (35 ore), modulo del C.I. in Metodologie Avanzate in Chimica Farmaceutica, per Chimica e Tecnologie Farmaceutiche, Università degli Studi di Milano.
  - Analisi dei Medicinali (28 ore, 3,5 CFU), modulo del C.I. in Chimica Analitica + Analisi dei Medicinali + Laboratorio di Analisi dei Medicinali per Chimica e Tecnologie Farmaceutiche, Università degli Studi di Milano.
  - Laboratorio di Analisi dei Medicinali (40 ore, 2,5 CFU), modulo del C.I. in Chimica Analitica + Analisi dei Medicinali + Laboratorio di Analisi dei Medicinali per Chimica e Tecnologie Farmaceutiche, Università degli Studi di Milano.
- **A.A. 2005/2006** (dal 01/10/2005 al 30/09/2006)
  - Farmaci Biotecnologici (35 ore), modulo del C.I. in Biotecnologie Farmaceutiche per Chimica e Tecnologie Farmaceutiche, Università degli Studi di Milano.
  - Analisi dei Medicinali (28 ore, 3,5 CFU), modulo del C.I. in Chimica Analitica + Analisi dei Medicinali + Laboratorio di Analisi dei Medicinali per Chimica e Tecnologie Farmaceutiche, Università degli Studi di Milano.
  - Laboratorio di Analisi dei Medicinali (40 ore, 2,5 CFU), modulo del C.I. in Chimica Analitica + Analisi dei Medicinali + Laboratorio di Analisi dei Medicinali Chimica e Tecnologie Farmaceutiche, Università degli Studi di Milano.
- **A.A. 2006/2007** (dal 01/10/2006 al 30/09/2007)
  - Analisi dei Medicinali (28 ore, 3,5 CFU), modulo del C.I. in Chimica Analitica + Analisi dei Medicinali + Laboratorio di Analisi dei Medicinali per Chimica e Tecnologie Farmaceutiche, Università degli Studi di Milano.
  - Laboratorio di Analisi dei Medicinali (40 ore, 2,5 CFU), modulo del C.I. in Chimica Analitica + Analisi dei Medicinali + Laboratorio di Analisi dei Medicinali per Chimica e Tecnologie Farmaceutiche, Università degli Studi di Milano.
- **A.A. 2007/2008** (dal 01/10/2007 al 30/09/2008)
  - Analisi dei Medicinali (28 ore, 3,5 CFU), modulo del C.I. in Chimica Analitica + Analisi dei Medicinali + Laboratorio di Analisi dei Medicinali per Chimica e Tecnologie Farmaceutiche, Università degli Studi di Milano.

- Laboratorio di Analisi dei Medicinali (40 ore, 2,5 CFU), modulo del C.I. in Chimica Analitica + Analisi dei Medicinali + Laboratorio di Analisi dei Medicinali per Chimica e Tecnologie Farmaceutiche, Università degli Studi di Milano.
- **A.A. 2008/2009** (dal 01/10/2008 al 30/09/2009)
  - Analisi dei Medicinali (28 ore, 3,5 CFU), modulo del C.I. in Chimica Analitica + Analisi dei Medicinali + Laboratorio di Analisi dei Medicinali per Chimica e Tecnologie Farmaceutiche, Università degli Studi di Milano.
  - Laboratorio di Analisi dei Medicinali (40 ore, 2,5 CFU), modulo del C.I. in Chimica Analitica + Analisi dei Medicinali + Laboratorio di Analisi dei Medicinali per Chimica e Tecnologie Farmaceutiche, Università degli Studi di Milano.
- **A.A. 2009/2010** (dal 01/10/2009 al 30/09/2010)
  - Analisi dei Medicinali I (36 ore, 4,5 CFU), modulo del C.I. in Analisi dei Medicinali I + Laboratorio di Analisi dei Medicinali I per Farmacia, Università degli Studi di Milano.
  - Laboratorio di Analisi dei Medicinali I (40 ore, 2,5 CFU), modulo del C.I. in Analisi dei Medicinali I + Laboratorio di Analisi dei Medicinali I per Farmacia, Università degli Studi di Milano.
- **A.A. 2010/2011** (dal 01/10/2010 al 30/09/2011)
  - Analisi dei Medicinali (24 ore, 3 CFU), modulo del C.I. in Analisi dei Medicinali + Laboratorio di Analisi dei Medicinali per Chimica e Tecnologie Farmaceutiche, Università degli Studi di Milano.
  - Laboratorio di Analisi dei Medicinali (48 ore, 3 CFU), modulo del C.I. in Analisi dei Medicinali + Laboratorio di Analisi dei Medicinali per Chimica e Tecnologie Farmaceutiche, Università degli Studi di Milano.
- **A.A. 2011/2012** (dal 01/10/2011 al 30/09/2012)
  - Analisi dei Medicinali (24 ore, 3 CFU), unità didattica del corso di Analisi dei Medicinali + Laboratorio di Analisi dei Medicinali per Chimica e Tecnologie Farmaceutiche, Università degli Studi di Milano.
  - Laboratorio di Analisi dei Medicinali (48 ore, 3 CFU), unità didattica del corso di Analisi dei Medicinali + Laboratorio di Analisi dei Medicinali per Chimica e Tecnologie Farmaceutiche, Università degli Studi di Milano.
- **A.A. 2012/2013** (dal 01/10/2012 al 30/09/2013)
  - Analisi delle Sostanze Inorganiche di Impiego Farmaceutico (32 ore, 4 CFU), unità didattica del corso di Analisi delle Sostanze Inorganiche di Impiego Farmaceutico e Laboratorio di Analisi Qualitativa per Farmacia, Università degli Studi di Milano.
  - Laboratorio di Analisi Qualitativa (48 ore, 3 CFU), unità didattica del corso di Analisi delle Sostanze Inorganiche di Impiego Farmaceutico e Laboratorio di Analisi Qualitativa per Farmacia, Università degli Studi di Milano.
- **A.A. 2013/2014** (dal 01/10/2013 al 30/09/2014)
  - Analisi delle Sostanze Inorganiche di Impiego Farmaceutico (32 ore, 4 CFU), unità didattica del corso di Analisi delle Sostanze Inorganiche di Impiego Farmaceutico e Laboratorio di Analisi Qualitativa per Farmacia, Università degli Studi di Milano.
  - Laboratorio di Analisi Qualitativa (48 ore, 3 CFU), unità didattica del corso di Analisi delle Sostanze Inorganiche di Impiego Farmaceutico e Laboratorio di Analisi Qualitativa per Farmacia, Università degli Studi di Milano.
- **A.A. 2014/2015** (dal 01/10/2014 al 30/09/2015)
  - Analisi delle Sostanze Inorganiche di Impiego Farmaceutico (32 ore, 4 CFU), unità didattica del corso di Analisi delle Sostanze Inorganiche di Impiego Farmaceutico e Laboratorio di Analisi Qualitativa per Farmacia, Università degli Studi di Milano.
  - Laboratorio di Analisi Qualitativa (48 ore, 3 CFU), unità didattica del corso di Analisi delle Sostanze Inorganiche di Impiego Farmaceutico e Laboratorio di Analisi Qualitativa per Farmacia, Università degli Studi di Milano.

- [illegible]

- **A.A. 2019/2020** (dal 01/10/2019 al 30/09/2020)
  - Analisi delle Sostanze Inorganiche di Impiego Farmaceutico (40 ore, 5 CFU), unità didattica del corso di Analisi delle Sostanze Inorganiche di Impiego Farmaceutico e Laboratorio di Analisi Qualitativa per Farmacia, Università degli Studi di Milano.
  - Laboratorio di Analisi Qualitativa (32 ore, 2 CFU), unità didattica del corso di Analisi delle Sostanze Inorganiche di Impiego Farmaceutico e Laboratorio di Analisi Qualitativa per Farmacia, Università degli Studi di Milano.
  - Principi di Analisi Farmaceutica Quantitativa (48 ore, 6 CFU), unità didattica del corso di Principi di Analisi Farmaceutica Quantitativa e Laboratorio di Analisi Quantitativa per Farmacia, Università degli Studi di Milano.
- **A.A. 2020/2021** (dal 01/10/2020 al 30/09/2021)
  - Analisi delle Sostanze Inorganiche di Impiego Farmaceutico (40 ore, 5 CFU), unità didattica del corso di Analisi delle Sostanze Inorganiche di Impiego Farmaceutico e Laboratorio di Analisi Qualitativa per Farmacia, Università degli Studi di Milano.
  - Laboratorio di Analisi Qualitativa (32 ore, 5 CFU), unità didattica del corso di Analisi delle Sostanze Inorganiche di Impiego Farmaceutico e Laboratorio di Analisi Qualitativa per Farmacia, Università degli Studi di Milano.
  - Principi di Analisi Farmaceutica Quantitativa (48 ore, 6 CFU), unità didattica del corso di Principi di Analisi Farmaceutica Quantitativa e Laboratorio di Analisi Quantitativa per Farmacia, Università degli Studi di Milano.
- **A.A. 2021/2022** (dal 01/10/2021 al 30/09/2022)
  - Analisi delle Sostanze Inorganiche di Impiego Farmaceutico (40 ore, 5 CFU), unità didattica del corso di Analisi delle Sostanze Inorganiche di Impiego Farmaceutico e Laboratorio di Analisi Qualitativa per Farmacia, Università degli Studi di Milano.
  - Laboratorio di Analisi Qualitativa (32 ore, 2 CFU), unità didattica del corso di Analisi delle Sostanze Inorganiche di Impiego Farmaceutico e Laboratorio di Analisi Qualitativa per Farmacia, Università degli Studi di Milano.
  - Chimica Farmaceutica e Tossicologia 1 (80 ore, 10 CFU) per Chimica e Tecnologie Farmaceutiche, Università degli Studi di Milano.

### **ATTIVITÀ DI DIDATTICA INTEGRATIVA E DI SERVIZIO AGLI STUDENTI**

#### **ATTIVITÀ DI RELATORE DI ELABORATI DI LAUREA, DI TESI DI LAUREA MAGISTRALE, DI TESI DI DOTTORATO E DI TESI DI SPECIALIZZAZIONE**

##### **Attività di relatore di elaborati di tesi di laurea dell'Università degli Studi di Milano:**

- **A.A. 2019/2020**
  - Relatore di n. 3 tesi di laurea in Farmacia.
- **A.A. 2017/2018**
  - Relatore di n. 5 tesi di laurea in Farmacia.
- **A.A. 2016/2017**
  - Relatore di n. 1 tesi di laurea in Farmacia.
- **A.A. 2015/2016**
  - Relatore di n. 2 tesi di laurea in Farmacia.
- **A.A. 2013/2014**
  - Relatore di n. 2 tesi di laurea in Chimica e Tecnologia Farmaceutiche.
  - Relatore di n. 1 tesi di laurea in Farmacia.

- **A.A. 2011/2012**
  - Relatore di n. 2 tesi di laurea in Chimica e Tecnologia Farmaceutiche.
- **A.A. 2010/2011**
  - Relatore di n. 2 tesi di laurea in Chimica e Tecnologia Farmaceutiche.
- **A.A. 2008/2009**
  - Relatore di n. 1 tesi di laurea in Biotecnologie Farmaceutiche.
- **A.A. 2007/2008**
  - Relatore di n. 1 tesi di laurea in Chimica e Tecnologia Farmaceutiche.
- **A.A. 2006/2007**
  - Relatore di n. 1 tesi di laurea in Chimica e Tecnologia Farmaceutiche.
- **A.A. 2005/2006**
  - Relatore di n. 2 tesi di laurea in Chimica e Tecnologia Farmaceutiche.
- **A.A. 2003/2004**
  - Relatore di n. 2 tesi di laurea in Chimica e Tecnologia Farmaceutiche.
- **A.A. 2002/2003**
  - Relatore di n. 2 tesi di laurea in Chimica e Tecnologia Farmaceutiche.

**Docente guida del Corso di Dottorato di Ricerca in Chimica del Farmaco dell'Università degli Studi di Milano:**

1. Emanuela Sabato, "Artificial intelligence (AI) approaches in drug discovery: development and validation of new strategies in virtual screening campaigns", XXXVII ciclo (titolo di PhD non ancora conseguito).
2. Silvia Gervasoni, "Development and validation of computational approaches to study and to characterize metalloproteins", XXXIII ciclo, A.A. 2019/2020.
3. Federica Porta, "Design, synthesis and biological evaluation of novel antiproliferative compounds as potential anticancer agents", XXIX ciclo, A.A. 2015/2016.
4. Paolo Rocco, "Development of alternative methods to in vivo and in vitro assays for the determination of skin permeability of chemical compounds", XXVIII ciclo, A.A. 2014/2015.

**SEMINARI**

1. Coordinatore assieme al Prof. Carlo Pirola dell'Università degli Studi di Milano del progetto 4EU+ "VIRTCHEM project: The VIRtual Immersive Education for CHEMistry and Chemical Engineering" per l'Anno Accademico 2021/2022 che ha previsto un ciclo di seminari on-line e in presenza oltre che delle esercitazioni di laboratorio per 27 studenti dell'Università degli Studi di Milano, della Univerzita Karlova (Praga) e della Sorbonne Université (Parigi):
  - Presentation of VIRTCHEM, on-line, 2 ore, 10/12/2022.
  - Introductory lesson on Qualitative Inorganic Analysis and LabSim, on-line, 3 ore, 21/01/2022.
  - VEGA ZZ: a brief overview, in presenza, 2 ore, Milano, 21/02/2022.
  - LabSim Virtual Laboratory, in presenza, 18 ore, Milano, dal 21/02/2022 al 24/02/2022.
  - The complexity of drug discovery, in presenza, 3 ore, Praga, 12/05/2022.
2. Coordinatore del ciclo di lezioni "Chemometrics and data analysis" e incarico di insegnamento di "QSAR and QSPR made easy by VEGA ZZ: a practical session", Dottorato di Ricerca in "Scienze Farmaceutiche", Università degli Studi di Milano (03/06/2015).
3. Incarico di insegnamento, Dottorato Internazionale di Ricerca in "Biomedicina Traslazionale", XXVII ciclo, Università di Catania, dal 22/02/2011 al 31/12/2011.

4. Seminario "Impiego di metodiche computazionali nella progettazione di molecole bioattive", Dottorato di Ricerca in Tecnologie Fitosanitarie, Università di Catania, 19/06/2008.
5. Seminario "Analisi dell'interazione ligando-recettore mediante molecular docking", Dottorato di Ricerca in Chimica del Farmaco, Università degli Studi di Milano, 31/05/2000.

## **ATTIVITÀ DI RICERCA SCIENTIFICA**

### **DESCRIZIONE DELL'ATTIVITÀ**

L'attività di ricerca del Prof. Alessandro Pedretti è iniziata nel 1997 e si è concretizzata in 101 articoli pubblicati su riviste internazionali, 7 monografie in volume, una traduzione di contributo in volume, 15 comunicazioni orali, di cui 10 su invito, in congressi nazionali ed internazionali. I 101 articoli hanno un numero di citazioni medio pari a 28,6 secondo Scopus, a 16,9 secondo Web of Science e a 23,9 secondo Google Scholar. Il suo indice di Hirsch è di 24 secondo Scopus, 19 secondo Web of Science e di 29 secondo Google Scholar (dati aggiornati al 1/09/2022).

Le principali tematiche di ricerca del Prof. Alessandro Pedretti possono essere così riassunte:

- a) Ricerche sulle proprietà interattive di ligandi.
- b) Ricerche sulla modellazione per omologia di proteine.
- c) Ricerche sui meccanismi enzimatici mediante studi di dinamica molecolare.
- d) Ricerche relative all'idropaticità molecolare e all'effetto del solvente sulle proprietà conformazionali.
- e) Ricerche sul metabolismo di farmaci e xenobiotici.
- f) Ricerche sui meccanismi alla base processi chimico-fisici e biologici.
- g) Ricerche relative ad agenti sequestranti di specie carboniliche reattive.
- h) Ricerche di carattere metodologico relative al software per il *molecular modelling*.
- i) Ricerche di bioinformatica finalizzate all'identificazione di domini funzionali di proteine.
- j) Ricerche didattico-divulgative e review.

#### **a) Ricerche sulla proprietà interattive di ligandi.**

L'enzima *farnesil transferasi* (FTasi) gioca un ruolo fondamentale nel processo di modificazione post-traslazionale delle proteine RAS che, una volta attivate, inducono la proliferazione cellulare. Per questo motivo, la FTasi costituisce un possibile bersaglio da parte di molecole antitumorali in grado di inibirne l'attività catalitica. La conoscenza della struttura cristallografica dell'enzima e l'applicazione di metodiche di docking molecolare ha consentito lo studio dell'interazione di ligandi con struttura riferibile ai substrati naturali (attivatori ed inibitori) e di inibitori non correlati a tali substrati (*Internet Journal Of Chemistry*. 1999, vol. 2, Art. 8 e [nota 18](#), *J.Med.Chem.* 2002, vol. 45, 1460). Tali ricerche hanno consentito di evidenziare negli inibitori la presenza di tre requisiti strutturali comuni e di razionalizzare il diverso grado di capacità inibitoria dei ligandi considerati. Tali acquisizioni, applicate alla FTasi, hanno permesso non solo di identificare le sottostrutture fondamentali costituenti il farmacoforo, ma anche di studiare ed ottimizzare con successo nuovi inibitori. Infatti, partendo dal tetrapeptide CAAX, che costituisce la sottostruttura fondamentale per il riconoscimento delle proteine RAS, è stato possibile sintetizzare una serie di derivati peptidomimetici contenenti i nuclei 2-idrossimetil- e 2-amminometil-piridodiossanici. I derivati 2-idrossimetilpiridodiossanici sono risultati in grado di inibire la FTasi a concentrazioni dell'ordine del nanomolare e studi di docking hanno evidenziato significative differenze nella modalità di binding rispetto ai derivati 2-idrossimetilpiridodiossanici (*Bioorg.Med.Chem.Lett.* 2007, vol. 17, 6192).

L'*adenosina deaminasi* (ADA) è un enzima chiave nel metabolismo dei nucleotidi poiché catalizza la deaminazione dell'adenosina convertendola in inosina. Confrontando i risultati di studi cinetici con quelli di docking molecolare, è stata analizzata l'influenza delle sostituzioni in 1'-C- e 2',3'-O- del ribosio rispetto all'attività catalitica di ADA. In particolare, si è visto che la tasca dell'enzima è sufficientemente ampia per alloggiare i derivati 2',3'-O-sostituiti, mentre, introducendo un metile in posizione 1'-C-, si viene a creare una collisione col residuo Ala180, che induce una distorsione nel sito tale da impedire il processo catalitico, come dimostrato da dati sperimentali (*Bioorg.Med.Chem.Lett.* 2009, vol. 19, 2877).

La proteina *Signal Transducer and Activator of Transcription 3* (STAT3) è un bersaglio molto interessante per potenziali farmaci antitumorali in quanto, una volta fosforilata a livello della Tyr705 da parte delle giano chinasi (JAK), va incontro a dimerizzazione e quindi a traslocazione all'interno del nucleo cellulare. Qui, attivando opportune sequenze promoter, causa la trascrizione del DNA. È stato visto che in numerose patologie tumorali si ha una iperattivazione di STAT3 e ciò suggerisce che degli inibitori potrebbero essere utilizzati nella terapia anticancro. Per questo motivo, una serie 1,2,5-ossadiazoli 3,4-bisostituiti sono stati sintetizzati e alcuni di essi si

sono dimostrati attivi nei test biologici. Non essendo ancora noto a quale livello della cascata di attivazione di STAT3 si espliciti la loro azione, è stato effettuato uno studio *in silico* mediante calcoli *ab initio* che hanno permesso di caratterizzare le diverse popolazioni conformazionali. I risultati ottenuti si sono rivelati in accordo con quelli sperimentali di <sup>1</sup>H-NMR e diffrattometria di raggi X (**MedChemComm. 2010, vol. 1, 156**). Ulteriori sviluppi nella progettazione di molecole attive sulla STAT3 si sono concretizzati in un derivato ossadiazolico originale chiamato MD77, che si è dimostrato in grado non solo di legare il dominio SH2 in modo dose-dipendente, ma anche di inibire la crescita di numerose linee cellulari tumorali. Per comprendere meglio come questa molecola possa esplicare la sua azione, sono stati condotti degli studi di docking sulla struttura cristallografica di STAT3 e, in particolare, a livello del dominio SH2. In questo modo, si è visto che MD77 è in grado di mimare la Tyr-705 fosforilata della seconda subunità di STAT3 e quindi, occupandone il sito di legame, sembrerebbe capace di bloccare il processo di dimerizzazione (**MedChemComm. 2012, vol. 3, 592**).

Sempre con l'intento di sviluppare nuovi inibitori di STAT3, è stata sintetizzata una serie di derivati a struttura piridazinonica, ritenendola una sottostruttura in grado di mimare al meglio lo *scaffold* di molecole già note quali il cryptotanshinone, CDDO-Me, HCJ0123 e STA-21. Sebbene non sia stato possibile effettuare studi di docking per via del fatto che non è noto a quale livello della cascata di attivazione di STAT3 queste molecole possano intervenire, sono stati eseguiti calcoli *ab initio* il cui confronto coi dati cristallografici ha permesso di identificare la popolazione conformazionale più rappresentativa e presumibilmente più probabile per l'interazione col target biologico (**MedChemComm. 2013, vol. 4, 1181**).

Eseguito una campagna di *virtual screening* di tipo structure-based sul dominio SH2 di STAT3, utilizzando i dataset AKos, ChemPDB, ChemBank, KEGG, NCI's Anti-HIV, NCI di *Ligand.info* per un totale di circa un milione di molecole, è stato possibile identificare alcuni potenziali inibitori tra cui il più interessante si è rivelato il 5,6-dimetil-1H,3H-2,1,3-benzotiadiazolo-2,2-diossido (composto 1), molecola in grado di avere una buona attività dal punto di vista sperimentale. Per questo motivo, sono stati sintetizzati alcuni suoi derivati per i quali si è rilevata un'apparentemente inspiegabile riduzione di attività. Contrariamente a quanto ipotizzato inizialmente, composto 1 non è inibitore della dimerizzazione di STAT3 avendo pensato che fosse un mimetico della PTR-705, ma bensì è un inibitore covalente in grado di legarsi a specifici residui di cisteina del dominio SH2. Ciò è stato dimostrato sperimentalmente mediante tecniche di spettrometria di massa, cromatografia liquida, NMR e spettroscopia UV. È stato anche possibile ipotizzare un meccanismo di reazione in grado di spiegare la perdita di attività dei derivati in cui non è presente almeno un metile sull'anello aromatico (**Molecules. 2020, vol. 25, 3509**).

Come già dimostrato in precedenti lavori, l'attività di un enzima può essere predetta mediante studi di docking, quando la fase di riconoscimento del substrato costituisce il *rate limiting step* dell'intero processo catalitico. In particolare, nel caso della coniugazione con solfato dei due enantiomeri della *normetanefrina*, metabolita delle catecolamine, catalizzata da *SULT1A3*, sono stati determinati sperimentalmente i valori delle costanti cinetiche ( $K_M$ ,  $V_{max}$  e  $k_{cat}$ ). I risultati ottenuti si sono rivelati molto simili e hanno richiesto un ulteriore approfondimento mediante studi di docking e di dinamica molecolare sulla struttura cristallografica di *SULT1A3*, che non hanno evidenziato sostanziali differenze nella modalità di legame dei due enantiomeri. Ciò si è rivelato un'ulteriore conferma che l'enzima è insensibile alla stereochimica del substrato (**Chirality. 2013, vol. 25, 28**).

La malaria è una patologia ancora molto diffusa nel mondo e la comparsa di ceppi di plasmodio resistenti ai normali trattamenti farmacologici richiede un ampliamento degli strumenti a disposizione dei medici per poter curare efficacemente questa malattia. Il *serine repeat fragment 5* (SERA5) di *Plasmodium falciparum* è una proteina con attività proteolitica che gioca un ruolo fondamentale nella fuoriuscita dei merozoiti dagli eritrociti. Vaccini contro SERA5 sono già stati messi a punto con incoraggianti risultati, lasciando intendere l'importanza di questo bersaglio per lo sviluppo di nuovi farmaci antimalarici. Siccome in precedenza è stata dimostrata la presenza di una sequenza nella *falcipaina-2* in grado di bloccare l'attività delle proteasi cisteiniche del parassita, si è pensato di cercare un analogo segmento in SERA5. Considerando l'intera sequenza, sono stati sintetizzati nove diversi peptidi, di cui due si sono dimostrati capaci di inibire l'invasione dei merozoiti in modo significativo. Per comprendere meglio questo risultato, è stato condotto uno studio di docking dei peptidi sulla struttura cristallografica di SERA5, che ha rivelato l'importanza dei residui Glu638 e Ser640/Ser641 nell'interazione per avere un'elevata attività inibitoria. Inoltre, i due peptidi più attivi hanno anche il più alto valore di volume condiviso nel sito di legame, indicando un'elevata similarità nel *binding mode* (**BBA-GEN SUBJECTS. 2013, vol. 1840, 2765**).

La *plasmepsina V* (PmV) è una proteasi plasmodica essenziale ed è un bersaglio antimalarico molto promettente anche se ancora manca di caratterizzazione molecolare e di inibitori specifici. PmV è in grado di scindere in modo specifico il motivo *PEXEL* che, una volta secreto, svolge un ruolo fondamentale nel processo infettivo. Tramite una sostituzione sistematica delle posizioni P e P' del motivo *PEXEL*, sono stati evidenziati i requisiti fondamentali per l'inibizione di PmV. Per meglio razionalizzare i risultati, è stata modellata per omologia la struttura di PmV ed è stato eseguito uno studio di docking con i peptidi precedentemente individuati. Un ulteriore studio QSAR che ha visto l'impiego dello score del docking, ha permesso di realizzare un modello in grado di predire l'affinità per PmV, dimostrando la validità della struttura ottenuta per modellazione per omologia che potrà essere utilizzata in ulteriori studi (**PLoS ONE. 2015, vol. 10, 1**).

La possibilità di eseguire campagne di *virtual screening* su larga scala in tempi accettabili ha permesso di espanderne il campo applicativo anche per studi riposizionamento di farmaci (*drug repurposing*) ed è proprio questa strategia che è stata applicata per evidenziare in farmaci già noti l'attività di ligandi allosterici e/o ortosterici del recettore muscarinico umano *M2*. Grazie alla sua struttura co-cristallizzata con un noto modulatore allosterico, è stato condotto una campagna di *virtual screening* utilizzando la libreria di farmaci *DrugBank*. Per valutare correttamente i risultati ottenuti, un analogo studio è stato condotto con un set di modulatori allosterici noti e grazie all'approccio dell'ottimizzazione del fattore di arricchimento (EFO) è stato creato un modello in grado di



discriminare fra molecole attive ed inattive. Tale modello è stato applicato allo screening di *DrugBank* e, in questo modo, sono state identificate 6 molecole che sono state valutate sperimentalmente. 4 di esse hanno dimostrato un'interessante affinità per il recettore  $M_2$  e, fra queste, la *decalina* si è dimostrata la migliore (Int.J.Mol.Sci. 2020, 21, 5961).

Nell'ambito del progetto H2020 *EXaScale smArt pLatform Against paThogEns for Corona Virus - EXSCALATE4CoV*, finalizzato all'identificazione di nuovi antivirali attivi contro il virus SARS-CoV-2, sono state mappate le strutture di tutti i possibili target proteici noti fino a quel momento con una innovativa tecnica basata su un approccio combinato di ricerca delle cavità e docking molecolare. Tale tecnica è stata implementata nella plug-in *Pockets 2.0* del programma VEGA che permette di effettuare ricerche esaustive in tempi ridotti ed in modo completamente automatico. In questo modo, è stato possibile identificare i siti di legame più probabili che verranno sfruttate nelle future campagne di *virtual screening* (Nota 3, Int.J.Mol.Sci. 2020, vol. 21, 5152).

La proteasi 3CL è un promettente target per lo sviluppo di farmaci anti-SARS-CoV-2 e la disponibilità di numerose strutture cristallografiche ha spinto numerosi ricercatori a focalizzarsi su questa proteina, sebbene non si disponga ancora di inibitori specifici per la validazione dei modelli e delle simulazioni. L'idea alla base di questo studio è quella di usare gli inibitori della 3CL-Pro di SARS-CoV come *training set* per validare le campagne di *virtual screening*. A tale scopo, sono stati considerati quattro diversi programmi di docking (*Fred*, *Glide*, *LiGen* e *PLANTS*), considerando sia i diversi binding mode (*binding space*) sia i diversi isomeri (*isomeric space*) di ciascun ligando. Gli score di docking sono stati utilizzati per sviluppare modelli di consenso che hanno permesso di confrontare le prestazioni dei diversi programmi. I diversi motori di docking hanno rivelato una diversa sensibilità al binding space e all'*isomeric space*. In particolare, *Glide* e *LiGen* beneficiano maggiormente del binding space e dell'*isomeric space*, mentre *Fred* è il programma più insensibile. I risultati ottenuti sottolineano come la combinazione di diversi strumenti di docking possano aumentare le prestazioni predittive (Nota 2, *Molecules*. 2021, vol. 26, 796).

#### b) Ricerche sulla modellazione per omologia di proteine.

Un approccio computazionale di tipo *structure-based* è indubbiamente in grado di fornire informazioni qualitativamente e quantitativamente superiori rispetto ad uno di tipo *ligand-based*, sia per l'identificazione di *hit* sia per l'ottimizzazione di *lead compound*. Sebbene il numero di modelli sperimentali di proteine sia in continuo aumento, frequentemente si ha la necessità di dover studiare nuovi bersagli farmacologici, la cui struttura tridimensionale non è ancora disponibile. In questo caso, sarebbe impossibile applicare metodiche *structure-based* se non si ricorresse alla modellazione per omologia.

Grazie alla disponibilità della struttura 3D della rodopsina bovina, è stato possibile modellare per omologia il recettore  $\alpha_{1a}$  adrenergico nella sua interezza. La struttura così ottenuta è stata completata inserendola in un doppio strato fosfolipidico al fine di ottenere un modello maggiormente aderente alla realtà biologica. Si è quindi proceduto allo studio delle sottostrutture implicate nell'interazione con un agonista (*norepinefrina*) e con un antagonista (*WB4101*) mediante docking molecolare. I risultati ottenuti hanno evidenziato i residui chiave coinvolti nell'interazione ligando-recettore, confermando i dati sperimentali di mutagenesi e fornendo nuovi spunti per lo sviluppo razionale di ligandi selettivi (*Biochem.Bioph.Res.Comm.* 2004, vol. 319, 493). Eseguendo una lunga simulazione di dinamica molecolare di entrambi i complessi è stato possibile analizzare i movimenti dei domini del recettore indotti dalla presenza rispettivamente dell'attivatore e dell'inibitore. In particolare, si è visto un maggiore spostamento del dominio citoplasmatico 2 per il complesso con l'agonista rispetto a quello con l'antagonista. Questo dominio sembra essere responsabile della trasduzione del segnale, essendo esso stesso accoppiato alla proteina G. Parallelamente, sono stati eseguiti studi di QSAR classico per la progettazione e la sintesi di nuovi naftil- e tetraidronaftil- analoghi omochirali del WB4101 che, una volta valutati *in vitro* mediante saggi di binding, si sono rilevati più selettivi del capostipite per il sottotipo  $\alpha_{1a}$  piuttosto che per il recettore serotoninergico 5-HT<sub>1A</sub> (*Bioorgan.Med.Chem.* 2004, vol. 12, 4937). Analogamente, sono stati studiati mediante QSAR e successivamente sintetizzati dei derivati orto- mono e bisostituiti analoghi del WB4101 (*Bioorgan.Med.Chem.* 2005, vol. 13, 2547 e *Eur.J.Med.Chem.* 2006, vol. 41, 1025). Inoltre, è stata progettata e sintetizzata una serie di derivati 1H-pirrolpiridin-2,4-dionici in grado di interagire con i recettori  $\alpha_1$ -adrenergici. Siccome lo scopo della ricerca era quello di ottenere molecole selettive, sono stati effettuati degli studi di docking molecolare sui recettori  $\alpha_{1a}$  e 5-HT<sub>1A</sub>, che hanno permesso non solo di definire due modalità d'interazione diverse per i due tipi recettoriali sulla base della complementarità idrofila/idrofoba, ma anche di ottenere una robusta correlazione fra la costante di affinità ottenuta sperimentalmente e lo score del docking (*Bioorg.Med.Chem.* 2011, vol. 19, 5260).

Nella modellazione per omologia, il rischio di ottenere cloni strutturali di proteine diverse risulta elevato soprattutto quando si dispone di un esiguo numero di proteine *template*, come nel caso dei GPCR. Per superare questo problema, si può ricorrere ad un approccio frammentale che, esaltando le omologie locali, permette di utilizzare un numero superiore di *template*, riducendo la possibilità di ottenere modelli troppo simili fra loro. Questa metodica è stata applicata alla modellazione del recettore per l'ormone *greline* (*hGHS-R1a*), bersaglio farmacologico di notevole interesse, poiché i suoi ligandi possono trovare impiego in tutte quelle patologie correlate al rilascio del GH come l'obesità, il diabete, l'ipertiroidismo e l'ipertensione. La struttura del modello è stata validata mediante studi di docking molecolare che hanno evidenziato una buona correlazione fra *score* e attività biologica, dimostrando l'efficacia dell'approccio applicato (Nota 13, *J.Med.Chem.* 2006, vol. 49, 3077). Per valutare il ruolo del recettore della greline nel suo stato chiuso, si è pensato di utilizzare lo stesso approccio frammentale applicato al precedente modello, considerando però la rodopsina bovina come *template* che, avendo dei loop estremamente corti, favorisce una struttura chiusa (*Bioorgan. Med.Chem.* 2007, vol. 15, 3054). Studi di docking effettuati con il tetrapeptide che costituisce la parte centrale della greline e con 50 agonisti, hanno

permesso non solo di validare il modello, ma anche di caratterizzare i sottotipi di legame in grado di stabilizzare i complessi, molti dei quali sono risultati già noti da esperimenti di mutagenesi. Inoltre, è stato possibile ottenere una buona correlazione fra score del docking e attività sperimentale delle molecole considerate, facendo supporre che anche la forma chiusa del recettore possa giocare un ruolo importante nel legame e nel processo di attivazione.

I recettori colinergici muscarinici, al pari di quelli nicotinici, mediano l'effetto dell'acetilcolina nel sistema nervoso centrale ed in quello periferico, trovando localizzazione in numerosi organi. Nei mammiferi sono stati identificati e clonati cinque sottotipi recettoriali muscarinici ( $M_1 - M_5$ ) e visto l'importante ruolo rivestito, si è provveduto a modellarne la struttura tridimensionale a partire da quella cristallografica della rodopsina bovina (Chem.Biodivers. 2006, vol. 3, 481). Ottenuti i modelli, è stato eseguito il docking dell'acetilcolina che ha permesso di confermare i dati di mutagenesi sito-diretta noti in letteratura. L'analisi del *folding* e del sito di legame dei cinque modelli, ha evidenziato maggiori similarità fra  $M_1/M_3$  e fra  $M_2/M_4$ , mentre il recettore  $M_5$  risulta più simile a  $M_1/M_3$  malgrado globalmente sia quello più differente rispetto a tutti gli altri, confermando così gli studi di filogenesi. Sulla base di queste considerazioni, sono state eseguite delle simulazioni di dinamica molecolare dei complessi acetilcolina - recettore, focalizzando l'attenzione sui recettori  $M_1$ ,  $M_2$  e  $M_5$  (Arch. Biochem. Biophys. 2007, vol. 464, 112). L'analisi dei risultati ha evidenziato che l'acetilcolina non rimane "congelata" in una particolare conformazione per ciascuno dei tre sottotipi recettoriali, ma mantiene una certa libertà conformazionale. Inoltre, è stato possibile evidenziare che, nel caso del recettore  $M_1$ , l'acetilcolina assume esclusivamente la conformazione *trans*, nel caso dell' $M_2$ , assume conformazioni *trans* e *gauche* in egual misura, mentre nel caso dell' $M_5$  assume esclusivamente la conformazione *gauche*. Studi di binding hanno evidenziato un'affinità dell'acetilcolina per il recettore  $M_2$  dieci volte superiore rispetto a  $M_1$  e  $M_5$ . Non è stato possibile confermare questo dato dal punto di vista computazionale, perché lo score di docking non considera il fattore entropico che sembra essere fondamentale nel determinare la selettività dei recettori muscarinici, come dimostrato dal calcolo dell'entropia di Shannon per i risultati delle dinamiche molecolari, dove il fattore entropico è predominante nel recettore  $M_2$  rispetto a  $M_1$  e  $M_5$ . Ulteriori studi di docking sui modelli dei recettori muscarinici con un set di 30 ligandi noti in letteratura hanno permesso di individuare diverse modalità di legame per i sottotipi  $M_1$ ,  $M_2$  e  $M_5$  caratterizzate da una differente disposizione delle interazioni polari e apolari. Più in dettaglio, il recettore  $M_1$  è quello che possiede la tasca di legame più grande,  $M_2$  presenta invece un'ampia cavità asimmetrica capace di alloggiare la testa ammoniacale del ligando e infine  $M_5$  ha nel suo sito di legame un secondo residuo di aspartato, non presente negli altri recettori. Inoltre, è stata trovata una significativa correlazione fra gli score dei docking e le attività valutate sperimentalmente, permettendo di validare ulteriormente i modelli e di evidenziare l'importante ruolo della flessibilità molecolare nel caso del riconoscimento dei ligandi da parte dei recettori muscarinici (Bioorg.Med.Chem. 2008, vol. 16, 3049).

Restando sempre nell'ambito delle proteine transmembrana, l'approccio della modellazione frammentale dei GPCR è stato applicato al trasportatore del glutammato EAAT1 umano. Le sue capacità interattive sono state analizzate mediante studi di docking applicati a 32 ligandi noti, evidenziando due differenti modalità di legame a seconda si tratti di substrati o di bloccanti del trasporto. La coerenza fra risultati di docking e i modelli farmacoforici realizzati comprova la qualità del modello ottenuto e la possibilità di applicare l'approccio frammentale non solo ai GPCR, ma anche in modo generico a tutti i recettori transmembrana (ChemMedChem 2008, vol. 3, 79).

Rispetto ai casi precedenti, la modellazione del recettore nicotinic  $\alpha 4 \beta 2$  ha presentato ulteriori difficoltà per via del fatto che si tratta di un canale ionico etero-pentamerico. Ciò significa che non solo si è dovuto modellare separatamente le due subunità  $\alpha 4$  e  $\beta 2$ , ma anche è stato necessario assemblare il canale con la corretta stechiometria, ricorrendo ad una procedura di docking proteina-proteina. In particolare, è stata utilizzata una versione appositamente modificata e parallelizzata del programma ESCHER (ECHER NG). Il modello risultante è stato validato con una serie di studi di docking i cui risultati sono stati confermati da dati sperimentali. Inoltre, si è visto che la parte carica dei ligandi interagisce con i residui apolari maggiormente conservati della subunità  $\alpha 4$ , mentre i gruppi accettori di legami d'idrogeno si inseriscono nella tasca meno conservata e più eterogenea della subunità  $\beta 2$  (Biochem. Biophys. Res. Commun. 2008, vol. 369, 648). Al fine di evidenziare il ruolo delle sottostrutture e dei centri chirali nell'interazione col recettore, il modello è stato anche utilizzato per studi di docking di molecole originali con struttura 5-(2-pirrolidinil)-ossazolidinonica e 2-(2-pirrolidinil)-benzodiossanic con attività agonista submicromolare (Bioorg.Med.Chem.Lett. 2009, vol. 19, 854).

Ulteriori conferme della validità della modellazione frammentale applicata a proteine transmembrana è stato possibile ottenerle dai trasportatori hPepT1 e hPepT2 che sono di notevole interesse per il loro ruolo nell'assorbimento di farmaci peptidici e peptidomimetici a livello dell'intestino (hPepT1) e a livello cerebrale, tubulare e polmonare (hPepT2). Gli studi di docking hanno permesso di identificare non solo i requisiti ottimali di un substrato perché sia trasportato efficientemente, ma anche i fattori che determinano la selettività hPepT1 / hPepT2 (ChemMedChem 2008, Vol. 3, 1913 e Bioorg.Med.Chem. 2011, vol. 19, 4544).

La stessa procedura frammentale di modellazione per omologia è stata applicata al canale cationico umano TRPM8 implicato nella percezione del freddo. Anche in questo caso, studi di docking hanno permesso di validare la struttura tridimensionale, risultando in accordo con i dati sperimentali di mutagenesi. L'analisi della struttura quaternaria ha consentito di ipotizzare un plausibile meccanismo di attivazione del canale ionico, confermando il ruolo del dominio S4 e del linker S4-S5 nell'attivazione del canale (Nota 11, BBA-Biomembranes 2009, vol. 1788, 973).

Il modello così ottenuto è stato utilizzato in un approccio combinato ligand- e structure-based atto all'identificazione di nuovi e potenti antagonisti del TRPM8. Più in dettaglio, è stato mappato il farmacoforo permettendo di codificare le relazioni struttura-attività in stringhe SMARTS che sono state utilizzate per lo screening ligand-based. Lo screening structure-based, invece, è stato eseguito col programma di docking LiGen. I due approcci

hanno dimostrato di essere in grado di esplorare spazi chimici diversi dello stesso set di 124.107 molecole e quindi in grado di fornire risultati sinergici. I risultati dello screening sono poi stati confermati sperimentalmente mediante HTS selezionando un subset di 11.725 molecole. Fra queste sono state identificate 1.030 molecole con attività interessante e sono state sottoposte alla determinazione dell'IC<sub>50</sub>. 21 di esse si sono dimostrate dei potenti bloccanti del TRPM8 con attività submicromolare e la più interessante in termini di percentuale di inibizione è stata caratterizzata farmacologicamente (Sci.Rep. 2017, vol. 7, 1).

Un ulteriore studio è stato condotto sul recettore TRPM8 umano completamente assemblato ed è consistito in una simulazione di dinamica molecolare della durata di 1  $\mu$ s che ha permesso di generare conformazioni multiple della proteina. Tali strutture sono state utilizzate per una serie di campagne di *virtual screening* che hanno visto l'utilizzo di differenti programmi di docking molecolare con noti ligandi TRPM8 e un set di decoy. Grazie ad una funzione di consenso, è stato possibile non solo di tener conto degli score di tutti i programmi considerati ma anche delle modalità di binding leggermente diverse per i quattro monomeri che costituiscono il canale. La buona capacità della funzione di discriminare fra molecole attive ed inattive ha permesso di validare il modello che potrà essere così utilizzato in futuri studi finalizzati all'identificazione di nuovi ligandi del TRPM8 (Int.J.Mol.Sci. 2020, vol. 21, 2265).

La struttura del recettore TRPM8 nella sua forma tetramerica è stata oggetto anche di uno studio di dinamica molecolare che ha visto il campionamento sistematico di 50 frame della traiettoria risultante dalla simulazione di 1,25  $\mu$ s. Ciascun frame è stato ottimizzato con il programma SCRWL 4.0 e quindi ciascuno dei quattro monomeri è stato oggetto di docking con un set di 1.000 molecole di cui 20 note per essere modulatori del recettore. Grazie all'approccio dell'ottimizzazione del fattore di arricchimento (EFO) sono stati realizzati i corrispondenti modelli predittivi. In questo modo, è stato possibile evidenziare che i frame ottimizzati portano a modelli con potere predittivo migliore e che esiste una correlazione tra potere predittivo e volume delle tasche esplorate. Infine, la combinazione mediante una funzione di consenso dei modelli più performanti derivanti da frame diversi consente di sviluppare modelli con prestazioni ancora superiori (Int.J.Mol.Sci. 2022, vol. 23, 7558).

L'attività di ricerca sul recettore TRPM8 ha portato ad un'attiva collaborazione con l'azienda Dompé S.p.A. che è iniziata nel 2010 e continua tutt'oggi.

Un problema che si presenta frequentemente nella modellazione per omologia, specialmente nel caso dei GPCR, è costituito dal fatto che la struttura che si ottiene può essere in uno stato conformazionale inadatto ad ospitare i ligandi che si intende studiare (stato *apo* anziché *holo*). Inoltre, il meccanismo dinamico che permette il passaggio da uno stato conformazionale ad un altro è al più ignoto, sebbene siano state individuate delle sottostrutture implicate in queste transizioni, che, nel caso dei GPCR, corrispondono a residui di prolina posti a livello delle eliche transmembrana. Variando opportunamente l'asse delle eliche in corrispondenza dei residui di prolina, è possibile realizzare una serie di chimere conformazionali, come è stato fatto nel caso del recettore Cys-LTR1. Studi di docking sulle diverse chimere conformazionali hanno rivelato che gli agonisti considerati prediligono legare il recettore in uno stato aperto ed inattivo, evidenziando un comportamento da agonisti inversi (ChemMedChem 2011, vol. 6, 1217).

Oltre a studi su molecole bioattive sull'uomo, a seguito di una collaborazione col Parco Scientifico e Tecnologico della Sicilia (PSTS), è stata presa in considerazione la possibilità di identificare nuovi fitofarmaci in grado di contrastare il *Citrus Tristeza virus* (CTV) che è responsabile di una patologia irreversibile delle piante di agrumi. Il processo replicativo del virus vede l'intervento di una *RNA polimerasi RNA dipendente* (RdRp), che da numerosi Autori è stata indicata come un possibile bersaglio contro i retrovirus. Sulla base di questa considerazione, è stata modellata per omologia la struttura tridimensionale di RdRp di CTV che, successivamente, è stata utilizzata per uno studio di *virtual screening* di tipo *structure-based*. In particolare, sono stati considerati più di un milione di composti provenienti dal *Ligand.info Small Molecule Meta-Database*, fra i quali 30 si sono rivelati dei potenziali ligandi di RdRp. Purtroppo, non è stato possibile validare l'approccio poiché non sono ancora noti inibitori di RdRp di CTV, tuttavia il fatto che molte delle molecole identificate fossero già note come inibitori della transcriptasi inversa dell'HIV fa ben sperare sulla capacità discriminante del metodo. Saggi *in vivo* hanno confermato che due dei più promettenti candidati, rispettivamente a struttura  $\beta$ -lattamica e solfonica, sono in grado di ridurre in modo significativo la replicazione del virus (Acta Horticulturae. 2011, vol. 892, 257).

Le eliche dei GPCR presentano della "cerniera" in corrispondenza di specifici residui di prolina che sono responsabili di importanti cambiamenti conformazionali spesso coinvolti nel meccanismo di trasduzione del segnale. Pertanto, è stato fatto uno studio sulla flessibilità conformazionale di queste eliche focalizzando l'attenzione sul recettore mAChR1 umano che è stato generato per modellazione omologica con un approccio convenzionale. 16 chimere conformazionali sono state generate combinando fra loro le diverse conformazioni delle 4 eliche contenenti prolina. I 16 modelli risultanti sono stati sottoposti ad altrettante campagne di *virtual screening* al fine di valutare quale fosse quello in grado di meglio discriminare fra ligandi attivi ed inattivi. Inoltre, utilizzando una funzione di consensus in grado di tener conto dei risultati del docking con tutte e 16 le chimere, è stato possibile ottenere risultati nettamente migliori rispetto al modello omologico normale ed anche alle singole chimere (Mol.Inform. 2015, vol. 34, 216).

La *leishmaniosi* è una patologia cronica causata da protozoi del genere *Leishmania* trasmesso da flebotomi del genere *Phlebotomus* e *Lutzomyia*. Tra i fattori molecolari che contribuiscono alla virulenza e alla patogenesi della *Leishmania* ci sono metalloproteasi come *glicoproteina 63* (gp63) anche nota come *leishmanolisina*. Per questo motivo, è stata modellata per omologia la sua struttura tramite il servizio on-line *Swiss-Model* che è stato opportunamente validato ed utilizzato per una campagna di *virtual screening* che ha portato all'identificazione del *lanaroflavone* come potenziale inibitore della *leishmanolisina* (ACS Omega. 2020, vol. 5 14741).

### c) Ricerche sui meccanismi enzimatici mediante studi di dinamica molecolare.

Uno studio di docking che ha richiesto la messa a punto di opportune metodiche è stato quello del complesso *DNA-integrasi HIV-1* (*Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2003, vol. 310, 1083). L'integrasi HIV è un enzima che gioca un ruolo fondamentale nella fase di replicazione del genoma del virus HIV, catalizzando l'inserimento del DNA retrotrascritto del virus in quello umano. Da ciò risulta evidente che, bloccando l'attività dell'integrasi, si possa inibire anche il processo di replicazione del virus. Lo studio si è svolto in tre fasi distinte: 1) costruzione del modello dell'integrasi; 2) docking DNA-integrasi; 3) docking di inibitori noti in letteratura sul complesso DNA-integrasi. Nella seconda fase della ricerca, è stato necessario creare un apposito strumento che consentisse di effettuare il docking DNA-proteina e ciò è stato reso possibile modificando la funzione di score del programma *ESCHER* perché potesse tener conto dell'interazione fra aminoacidi e basi azotate. I risultati ottenuti in questa prima fase hanno evidenziato la necessità di studiare il profilo dinamico del processo catalitico al fine di acquisire informazioni per la progettazione di nuovi ligandi. Per questo motivo, è stata eseguita una simulazione di dinamica molecolare dell'integrasi HIV-1 in presenza ed in assenza del DNA virale (*Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2005, vol. 336, 1010). In particolare, si è visto che la Tyr143 gioca un ruolo cruciale nell'integrazione del DNA esogeno a livello del cromosoma dell'ospite, confermando i dati sperimentali noti in letteratura.

A partire dalla struttura tridimensionale della *carnosinasi serica* umana ottenuta per modellazione per omologia, sono stati condotti sia studi di docking per caratterizzare il sito di legame dei substrati e del modulatore allosterico citrato sia studi di dinamica molecolare che hanno evidenziato come il legame del citrato induca variazioni conformazionali tali da incrementare l'affinità di legame per la carnosina, permettendo così di studiare il meccanismo di modulazione allosterica (*Nota 14, J.Med.Chem.* 2006, vol. 49, 3269).

L'enzima *DHCR24*, anche noto col nome di *Seladin-1*, catalizza l'ultimo passaggio della biosintesi del colesterolo ed è importante nei processi di neuroprotezione, poiché può modulare il contenuto di colesterolo della membrana cellulare. In questo studio, si è proceduto alla modellazione per omologia della proteina e all'esecuzione di simulazioni di dinamica molecolare della durata di 10 ns, ancorando l'enzima ad un modello semplificato di membrana cellulare ed inserendo nella struttura alternativamente il substrato (*desmosterolo*) e il prodotto della reazione (*colesterolo*). Le due molecole hanno dimostrato un comportamento estremamente diverso durante la simulazione: il substrato rimanere saldamente nel sito di legame mantenendo le interazioni fondamentali con l'enzima, mentre il prodotto si allontana progressivamente dal sito catalitico (*Steroids*, 2008, vol. 73, 708).

La lipasi di *Burkholderia cepacia* (BCL) è in grado di catalizzare la transesterificazione di alcol primari aromatici con esteri vinilici di differente lunghezza. Considerando il 2-metil-3-fenil-1-propanolo con esteri vinilici, è possibile ottenere un'alta enantioselettività indipendentemente dalla lunghezza della catena acilica, mentre con il 2-fenil-1-propanolo la reazione procede con una bassa enantioselettività. Per cercare di razionalizzare questo comportamento, è stato fatto uno studio di docking sulla struttura cristallografica di BCL seguito da simulazioni di dinamica molecolare in cloroformio. I risultati hanno dimostrato che la stereoselettività non è tanto influenzata dalla lunghezza della catena acilica, ma dalle caratteristiche strutturali dell'alcol come la posizione dell'anello benzenico rispetto al centro chirale che determina la stereoselettività mediante interazioni  $\pi$ - $\pi$  con i residui aromatici del sito catalitico (*Tetrahedron-Asymmetry*, 2009, vol. 20, 1833).

Studi di dinamica molecolare sono stati condotti anche su complessi del canale TRPM8 con agonisti ed antagonisti al fine di comprendere il meccanismo di attivazione del recettore. Essendo il TRPM8 una proteina multimerica di grandi dimensioni, le simulazioni hanno riguardato il solo modulo sensore voltaggio-dipendente in modo da ridurre sensibilmente i tempi di calcolo. Le simulazioni hanno permesso di evidenziare che gli agonisti sono in grado di promuovere l'avvicinamento del dominio S3 a quello S4 che a sua volta si allunga con conseguente apertura del canale. L'inibitore considerato (*AMTB*), invece, sembra essere in grado di stabilizzare la struttura del dominio S3, rendendo impossibile l'avvicinamento a dominio S4 (*Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2011, vol. 414, 1419).

La metilazione del DNA è alla base dell'attività di certe proteine che sono in grado di riconoscere i nucleotidi così modificati. La proteina *MECP2* ha la capacità di attivare o disattivare l'espressione di certi geni legandosi espressamente a regioni del genoma metilate o non metilate. Mutazioni di questa proteina sono alla base della *sindrome di Rett*, una patologia che porta ad un ritardo mentale nei giovani soggetti femminili. Per meglio capire i fenomeni molecolari alla base di questa patologia, sono stati considerati i mutanti più comuni di *MECP2* i quali sono stati sottoposti a simulazioni di dinamica molecolare e le risultanti traiettorie sono state analizzate con un nuovo strumento implementato nel programma *VEGA* chiamato *Rescore+* che calcola una serie di score d'interazione per ciascun frame. I risultati hanno rivelato che la perdita di attività di *MECP2* è dovuta ad un effetto eccessivamente stabilizzante o destabilizzante del legame col DNA (*Nota 8, Mol.Inf.* 2016, vol. 35, 424).

La *butirilcolinesterasi* (BChE) è un enzima che gioca un ruolo fondamentale nel metabolismo umano e, pertanto, la possibilità di prevederne l'attività risulterebbe particolarmente utile nella predizione della stabilità dei farmaci. A tale scopo, è stato introdotto il concetto di *spazio di legame* (*binding space*) in cui si tiene conto del fatto che un ligando può assumere diverse pose favorevoli nella medesima tasca di legame e che globalmente il legame è dato da un insieme di microstati di interazione in continuo interscambio. Per tener conto di ciò, lo *spazio di legame* è stato concettualizzato alla stessa stregua dello *spazio di proprietà* e cioè tenendo conto della media, del range e della sensibilità degli score calcolati per ciascuna posa considerata nella tasca. In questo modo, è stato possibile predire l'attività della BChE in modo decisamente migliore rispetto ad un approccio tradizionale (*Nota 7, J.Chem.Inf.Model.* 2017, vol. 57, 1691).



Le  $\beta$ -lattamasi sono la principale causa della resistenza batterica nei confronti degli antibiotici  $\beta$ -lattamici. Sebbene esistano da tempo inibitori delle  $\beta$ -lattamasi con sito catalitico riferibile strutturalmente alle *penicillin binding protein* (PBP), a tutt'oggi non sono ancora disponibili inibitori specifici per le metallo- $\beta$ -lattamasi (MBL). L'identificazione di questi inibitori è resa difficile dal fatto che le interazioni di coordinazione con i metalli sono inadeguatamente parametrizzate dai campi di forza utilizzati in meccanica molecolare alla base delle simulazioni di dinamica e di docking. Per questo motivo, è stato messo a punto un approccio multiscale per modellare il sito di legame di IMP-1, una MBL rilevante dal punto di vista clinico, che contiene due atomi di zinco. A tale scopo, è stato considerato l'inibitore 2-mercaptometil-tiazolidina (MMTZ) che è stato oggetto di uno studio di docking con diverse strutture cristallografiche di IMP-1 e con differenti programmi di al fine di trovare la combinazione migliore. I migliori complessi sono stati sottoposti a dinamica molecolare ed infine ottimizzati mediante calcoli QM/MM DFT. Questa procedura è in grado di riprodurre la posa cristallografica di due strutture di MMTZ in IMP-1 ed è stata applicata per la predizione del binding di una struttura di MMTZ impossibile da co-cristallizzare (*Proteins*. 2022, vol. 90, 372).

#### d) Ricerche relative all'idropaticità molecolare e all'effetto del solvente sulle proprietà conformazionali.

Il coefficiente di ripartizione è indubbiamente una delle proprietà molecolari fra le più importanti in ambito biologico, poiché è in grado di influenzare in maniera significativa i processi alla base dell'ADME di un farmaco. Siccome la predizione di tale proprietà in modo preciso ed affidabile con metodi computazionali è di notevole rilevanza, è stato sviluppato un nuovo metodo per il calcolo e la rappresentazione grafica dell'idropaticità molecolare. Per tener conto della flessibilità, si è pensato di utilizzare simulazioni di dinamica molecolare in cui la molecola da analizzare è solvatata in una sfera d'acqua di opportune dimensioni. La durata della simulazione deve essere tale da consentire il raggiungimento di uno stato di equilibrio del sistema in cui vengono massimizzate le interazioni attrattive e minimizzate quelle repulsive tra soluto e solvente. Conseguentemente, le molecole d'acqua andranno a distribuirsi più vicino alle porzioni idrofile del soluto e più lontane da quelle idrofobiche. La media delle distanze tra i centri di massa delle molecole del solvente e gli atomi del soluto può essere calcolata ed espressa come *ILM* (Indice di Lipofilia Molecolare). Questo parametro può essere utilizzato come descrittore molecolare bidimensionale, oppure come mappa di indici di idropaticità locali. La metodica è stata applicata all'analisi del profilo di idropaticità di derivati ad azione modulatore allosterico sulla subpopolazione recettoriale muscarinica  $M_2$  (*Analisis*, 1999, vol. 27, 32) e di una serie di derivati del WB-4101 dotati di attività antagonista al livello del sistema recettoriale  $\alpha_1$ -adrenergico (*Internet Journal of Chemistry*. 2000).

L'idropaticità molecolare può essere determinata con diverse tecniche sperimentali tra le quali va annoverata l'HPLC con colonne IAM (*Immobilized Artificial Membrane*) la cui fase stazionaria è costituita da fosfatidilcolina o da suoi derivati. Utilizzando un insieme di 205 misure sperimentali, sono stati messi a punto due modelli *QSPR* per predire il  $\log k_w^{IAM}$  per colonne MG e DD2 sulla base di soli descrittori molecolari che sono stati resi disponibili nel programma VEGA ed attraverso un servizio on-line accessibile a chiunque (*Eur.J.Pharm.Sci.* 2017, vol. 99, 173).

Lo studio dell'effetto del solvente sulla popolazione conformazionale di un soluto è di notevole rilevanza soprattutto alla luce del fatto che biomolecole e farmaci devono assumere una determinata conformazione per poter svolgere la propria azione. Pertanto, è stata presa in considerazione l'acetilcolina, molecola di notevole importanza dal punto di vista biologico. Simulazioni di dinamica molecolare nel vuoto, acqua, metanolo e ottanolo hanno permesso di identificare sette cluster di conformeri le cui popolazioni relative sono fortemente influenzate dal tipo di solvente. Inoltre, aumentando la complessità del solvente, si assiste ad una notevole riduzione della libertà conformazionale del soluto con indubbie conseguenze a livello biologico soprattutto se si considerano sistemi complessi come le membrane cellulari (*Nota 20*, *J.Am.Chem.Soc.* 2002, vol. 124, 7472). Questi studi sono stati completati analizzando l'effetto di solventi isotropici e di complessi sistemi strutturati, quali la membrana cellulare, sulle proprietà chimico-fisiche influenzate dal profilo conformazionale, introducendo il concetto di *spazio di proprietà* (*J.Med.Chem.* 2005, vol. 48, 6926). In particolare, nel caso di solventi isotropici, simulazioni di dinamica molecolare, sempre con l'acetilcolina, hanno evidenziato che le variazioni di proprietà come la superficie accessibile al solvente (SAS), l'area polare superficiale (PSA), il momento dipolare e il *virtual logP* sono estremamente ampie malgrado la semplicità della molecola e che i solventi polari inducono delle limitazioni conformazionali tali da favorire i conformeri maggiormente polari, mentre quelli apolari promuovono un comportamento opposto (*Nota 15*, *J.Med.Chem.* 2005, vol. 48, 1759). Confrontando le dinamiche molecolari nel vuoto, in cloroformio, in acqua, in ottanolo e in un modello semplificato di membrana cellulare, è stato possibile classificare i solventi in tre gruppi sulla base degli effetti di selezione conformazionale: solventi disordinanti come l'acqua e il cloroformio che sono isotropici perché costituiti da piccole molecole, solventi più ordinanti come l'ottanolo che a livello atomico può essere considerato anisotropico, e solventi ordinanti come la membrana cellulare.

La valutazione delle proprietà chimico-fisiche di una molecola durante una simulazione di dinamica molecolare può essere effettuata in termini di *range*, ossia di ampiezza della variazione della proprietà in esame per una determinata variazione conformazionale. Se piccole variazioni conformazionali comportano un'ampia variazione della proprietà considerata, si parla di *molecole sensibili*, viceversa se piccole variazioni comportano una modesta variazione, si parla di *molecole poco sensibili o insensibili*. Utilizzando un set di 36 molecole in grado di legare i recettori adrenergici  $\alpha_{1a}$ ,  $\alpha_{1b}$  e  $\alpha_{1d}$ , si è visto che il range e la sensibilità molecolare sono dei buoni descrittori soprattutto nel caso in cui il comportamento dinamico delle molecole gioca un ruolo cruciale come per i sistemi particolarmente flessibili (*Nota 16*, *J.Med.Chem.* 2005, vol. 48, 4947).

Uno degli aspetti più importanti nello studio delle relazioni struttura - attività (SAR) è l'interpretazione del significato statistico dei risultati in relazione al problema che si sta esaminando poiché si possono generare delle correlazioni casuali, empiriche, fortuite e tautologiche che possono trarre in inganno il ricercatore soprattutto quando si vuole eseguire una corretta predizione dell'ADME (Chem.Biodivers. 2005, vol. 2, 1411). Molti dei concetti espressi in questi studi sono stati riassunti ed organizzati in una mini-review (Chem.Biodivers. 2009, vol. 6, 1145) con l'intenzione di rendere più chiari termini quali diversità atomica, molecolare, macromolecolare e spazio di proprietà.

Nei precedenti lavori, è già stato messo in evidenza il ruolo della conformazione nell'influencare le proprietà di una molecola, tuttavia si è pensato di focalizzare l'attenzione su quelle proprietà strettamente correlate all'ADME. Pertanto, 125 molecole sono state sottoposte ad analisi conformazionale e, per ciascun conformero non ridondante, sono stati calcolati: virtual logP, area polare (PSA), area apolare (ASA), e superficie accessibile al solvente (SAS). Per ciascuno di questi parametri e per ciascuna molecola, è stato determinato il valore minimo e massimo, e il risultante range è stato diviso per il numero di angoli di torsione rotabili che può essere considerato un indice di flessibilità molecolare. I parametri così ottenuti si sono dimostrati scarsamente correlati fra loro, indicando che contengono un nuovo tipo di informazione che è stata chiamata *molecular sensitivity*. Le molecole possono essere così classificate in due gruppi: *sensitive*, molecole il cui range della proprietà varia sensibilmente al variare della conformazione, e *insensitive*, molecole il cui range della proprietà è poco suscettibile al variare della conformazione (Chem.Biodivers. 2009, vol. 6, 1152).

Il concetto di *drug-likeness* è di notevole aiuto qualora si debbano ottimizzare non solo le proprietà farmacocinetiche, ma anche quelle farmaceutiche quali la solubilità, la stabilità, la biodisponibilità, ecc. Per determinare se una molecola è *drug-like* o meno sono stati messi a punto diversi metodi basati sulle proprietà molecolari come, per esempio, la *rule of five*. Tuttavia, molti di essi non tengono conto della flessibilità molecolare e tendono a considerare erroneamente le molecole come oggetti statici, sebbene vengano considerate proprietà dipendenti dalla conformazione. Per superare questi limiti, è necessario utilizzare la *molecular sensitivity* che, invece, è in grado di tenere conto delle variazioni di una determinata proprietà in funzione della libertà conformazionale. L'acetilcolina rappresenta il caso più eclatante di come possa essere influenzato lo spazio di proprietà di una molecola così piccola da parte di un solvente. Infatti, solventi isotropici (vuoto, acqua e cloroformio) non influenzano in modo significativo il suo spazio conformazionale, mentre solventi anisotropici (membrana, recettori) hanno effetti sostanziali sulla popolazione conformazionale. Tutto questo rientra nel concetto di *molecular sensitivity*, che tiene conto del valore massimo e minimo in cui oscilla una proprietà in funzione della popolazione conformazionale selezionata dal solvente (Nota 12, Drug.Discov.Today. 2008, vol. 13, 285).

Il ruolo della flessibilità nello studio delle proprietà ha avuto un ruolo via via crescente nella definizione dello spazio di proprietà inteso come variabilità molecolare, ovverosia come la capacità di una specie chimica di adattarsi in termini conformazionali all'ambiente che la circonda (*plasticità molecolare* o *molecular plasticity*). Un esempio tipico è costituito dallo spazio di lipofilia e da come esso possa essere influenzato dalla natura e dall'organizzazione del solvente. Ciò si ripercuote sui processi di riconoscimento molecolare come l'interazione ligando-biomacromolecola. L'analisi di questi aspetti consente di ottenere descrittori molecolari utili non solo per studiare relazioni struttura-attività in termini quantitativi, ma anche per estrarre importanti informazioni dallo studio di eventi simulati mediante la dinamica molecolare. Molte di queste informazioni vengono perse quando si ricorre ai comuni descrittori che non includono le informazioni relative al comportamento dinamico sia dei ligandi sia delle macromolecole bersaglio. Concetti come *spazio di proprietà*, *molecular sensitivity* e *molecular plasticity* possono essere di notevole aiuto nella comprensione dei meccanismi biologici, fornendo dei descrittori che possono essere utilizzati nell'identificazione di nuove molecole bioattive (Future.Med.Chem. 2011, vol. 3, 995).

Restando sempre nell'ambito dell'effetto del solvente sulle proprietà conformazionali di una molecola, è stata effettuata una simulazione di dinamica molecolare della durata di 1  $\mu$ s della lattoglobulina bovina in urea al fine di studiare l'effetto destrutturante di questo solvente sul *folding* proteico. In particolare, è stato possibile evidenziare che il processo di *unfolding* indotto dall'urea è dovuto principalmente alla sua capacità di interferire a livello delle interazioni intramolecolari, indebolendo non solo la rete di legami d'idrogeno, ma anche le interazioni idrofobiche che, nel loro insieme, stabilizzano la struttura secondaria e terziaria della proteina (J.Mol.Graph.Model. 2011, vol. 30, 24).

Uno studio volto ad enfatizzare il ruolo della libertà conformazionale sullo spazio di proprietà ha visto la sintesi di 20 dipeptidi diastereoisomerici contenenti istidina e la misurazione potenziometrica della lipofilia e delle costanti di ionizzazione. Dal punto di vista computazionale, sono state eseguite delle simulazioni di dinamica molecolare nel vuoto, in acqua e in cloroformio, che sono servite per calcolare la *molecular sensitivity* dei dipeptidi presi in considerazione in termini di PSA, lipofilia e raggio di girazione. A partire da questi dati, sono state messe a punto una serie di equazioni in grado di correlare le proprietà calcolate non solo con la lipofilia, ma anche con le pK, suggerendo l'importante ruolo che ha lo spazio di proprietà anche per lo stato di ionizzazione. Inoltre, questo metodo ha dimostrato di essere in grado di tener conto efficacemente delle differenze fra diastereoisomeri, sebbene sia ancora da verificare la possibilità di ottenere equazioni di generica applicabilità (Chirality. 2012, vol. 24, 566).

#### e) Ricerche sul metabolismo di farmaci e xenobiotici.

Il metabolismo dei farmaci rappresenta un aspetto che il chimico farmaceutico deve sempre tener conto nel processo di *drug discovery*, mediante il quale si auspica di trovare molecole bioattive con un buon profilo ADME e ridotti effetti avversi. Alla luce di ciò, è stato preso in considerazione l'enzima *carbossilesterasi 1 umana* (hCES1),

poiché implicato nell'attivazione metabolica di numerosi profarmaci. Sono stati condotti calcoli di docking unitamente a simulazioni di dinamica molecolare che hanno permesso di studiare il differente comportamento dei substrati e dei prodotti all'interno del sito catalitico dell'enzima. In un primo momento, è stata focalizzata l'attenzione su come lo stato di ionizzazione di una molecola come il *temocapril*, profarmaco che viene attivato da hCES1, possa influenzare il meccanismo catalitico (Chem.Biodivers. 2009, vol. 6, 2092). Partendo da studi sperimentali, è stato possibile determinare i valori di pK che sono in accordo col fatto che il *temocapril* possa sussistere in soluzione in forma anionica, zwitterionica e cationica. Per ciascuna delle tre forme, è stata eseguita una simulazione di dinamica molecolare della durata di 5 ns, le cui traiettorie hanno rivelato che le forme cationica e zwitterionica rimangono vicine al residuo di Glu255 grazie ad una forte interazione ionica, comportandosi quasi come degli inibitori, mentre la forma anionica rimane correttamente orientata nel sito catalitico. Lo stesso tipo di calcolo è stato ripetuto per il *temocaprilato*, ovvero il prodotto dell'idrolisi catalizzata da hCES1. La simulazione ha dimostrato che solo la forma di-anionica viene espulsa dal sito catalitico perché attratta dai residui di lisina posti all'imboccatura del canale d'accesso.

Al fine di predire l'attività idrolitica di hCES1, sono state realizzate delle equazioni in grado di correlare la costante d'idrolisi con un'apposita funzione di score del docking che tiene conto della complementarità idrofila/idrofoba dei partner dell'interazione (MLPInS), (Bioorg.Med.Chem. 2010, vol. 18, 320). Analoghi studi condotti sull'isoforma hCES2, questa volta modellata per omologia perché la sua struttura non era disponibile sperimentalmente, hanno confermato l'importanza dello score MLPInS nel predire l'attività idrolitica di questa famiglia di enzimi (Nota 10, J.Comput.Aided.Mol.Des. 2010, vol. 24, 771).

Sebbene il nostro organismo abbia un corredo enzimatico in grado di svolgere un ampio numero di biotrasformazioni, nel caso dei farmaci, esistono reazioni metaboliche maggiormente ricorrenti rispetto ad altre che, per questo motivo, vanno tenute in maggior conto. Inoltre, l'informazione statistica sulle biotrasformazioni più frequenti può essere di notevole aiuto nella previsione del profilo metabolico di molecole nelle primissime fasi del processo di *drug discovery*, con indubbi vantaggi qualora si evidenziassero metaboliti tossici o con attività *off-target*. Per questo motivo, si è pensato di svolgere uno studio di meta-analisi focalizzato sulle superfamiglie di enzimi che hanno particolare rilevanza per il metabolismo dei farmaci. In particolare, è stata effettuata un'analisi delle biotrasformazioni di farmaci e xenobiotici note in letteratura pubblicate nel quinquennio 2004-2009, utilizzando come fonte le riviste *Chemical Research in Toxicology*, *Drug Metabolism and Disposition* e *Xenobiotica*. Dall'analisi di 903 articoli, sono stati considerati 1.171 substrati per un totale di 6.767 metaboliti. Globalmente, le reazioni più ricorrenti si sono dimostrate rispettivamente le ossidoriduzioni, le coniugazioni e le idrolisi. Se si considerano le generazioni metaboliche, le idrolisi restano sempre le meno frequenti, le red-ox sono più ricorrenti per la prima generazione, infine le coniugazioni acquisiscono importanza al crescere della generazione. Inoltre, si è visto che le idrolisi e le ossidazioni del carbonio  $sp^3$  sono reazioni che danno più frequentemente metaboliti attivi, mentre le ossidazioni del carbonio  $sp^2$  e  $sp$  e la formazione di chinoni sono reazioni che ricorrono maggiormente quando vengono prodotti metaboliti reattivi e/o tossici (Nota 9, Drug.Discov.Today. 2012, vol. 17, 549). L'analisi delle reazioni metaboliche pubblicate nelle sopra menzionate riviste si è protratta negli anni e, per una migliore organizzazione dei dati, non solo sono state classificate in 101 classi ma è anche stato messo a punto un'applicazione (MetaQSAR) per gestire al meglio le informazioni e per consentirne una rapida analisi. Più in dettaglio, l'applicazione si presenta come una plug-in del programma VEGA e si appoggia ad un database di 1.890 substrati ottenuti dall'analisi della letteratura fino al 2015 (Nota 6, J.Med.Chem. 2018, vol. 61, 1019).

L'elevata qualità dei dati che distingue MetaQSAR dagli altri database di reazioni metaboliche ha consentito di mettere a punto due modelli per la predizione del metabolismo mediato da UGT entrambi basati su descrittori molecolari di cui uno in grado di discriminare fra O- ed N- glucuronidazioni (ACS Med. Chem. Lett. 2019, vol. 10, 633).

Le reazioni metaboliche contenute in MetaQSAR sono state utilizzate anche come *training set* per la realizzazione di FAME 3, un programma Java basato su intelligenza artificiale e finalizzato alla predizione dei siti di metabolismo di fase 1 e 2 (J.Chem.Inf.Model. 2019, vol. 59, 3400).

Un'altra applicazione di MetaQSAR è stata quella che ha permesso lo sviluppo di *MetaClass*, un sistema per la predizione di reazioni metaboliche che può dare una molecola. Per fare ciò, sono stati estratti da MetaQSAR i dati di 3.788 reazioni metaboliche di prima generazione che uniti ad un set di descrittori molecolari, sono stati utilizzati per realizzare modelli predittivi mediante l'utilizzo dell'algoritmo di *machine learning random forest*. I modelli così ottenuti hanno mostrato prestazioni soddisfacenti, soprattutto per le reazioni di idrolisi e di coniugazione, mentre il potere predittivo per le reazioni redox si è dimostrato inferiore. Ciò è ragionevole alla luce del fatto che dipendono spesso dalla reattività intrinseca del substrato che non è adeguatamente codificata dai descrittori considerati. MetaClass è incluso nel package di VEGA ZZ e consente la predizione delle reazioni metaboliche sia di una singola molecola sia di una libreria di molecole (Molecules. 2021, vol. 26, 5857).

Siccome l'accuratezza dei dati si è dimostrata un elemento chiave nell'ottenimento di modelli predittivi dai dati contenuti in MetaQSAR, si è pensato di compiere un ulteriore passo in avanti focalizzandosi solo sulle pubblicazioni che riportano in modo esauriente gli alberi metabolici. In questo modo, si dovrebbe ridurre il numero di falsi negativi, aumentando l'accuratezza. A tale scopo, è stato realizzato un nuovo database (*MetaTREE*) dal quale sono stati estratti i dati relativi alla reazione di coniugazione col glutatone che sono stati utilizzati per lo sviluppo di modelli di classificazione basati sull'algoritmo *random forest*. I modelli così ottenuti sono stati confrontati con gli analoghi ottenuti con le informazioni estratte da MetaQSAR e si sono dimostrati non solo maggiormente predittivi, ma anche con un dominio di applicabilità maggiore (Molecules. 2021, vol. 26, 2098).

**f) Ricerche sui meccanismi alla base di processi chimico-fisici e biologici.**

I vaccini rappresentano gli strumenti più efficaci ed economici contro un'ampia gamma di malattie, tuttavia spesso gli antigeni dei vaccini sono dotati di una scarsa attività immunogenica se somministrati da soli. Per potenziare la risposta immunitaria, sono somministrati in associazione con adiuvanti e, siccome molti di essi sono responsabili di reazioni avverse, si è alla ricerca costante di nuove molecole con tale tipo di attività. Per questo motivo, è stato sviluppato un completo *framework* computazionale in grado di predire quali siano i migliori adiuvanti contenuti dagli agrumi per migliorare la risposta del sistema immunitario, utilizzando l'infezione da influenza A come modello di malattia. Più in dettaglio, utilizzando il modello cristallografico del complesso TLR4/MD-2/LPS è stato eseguito uno studio di docking con una libreria di 148 molecole presenti nell'olio essenziale della buccia dell'arancia. I migliori candidati sono stati sottoposti ad un simulatore di risposta immunitaria *SimFluAdj* (SFA). In questo modo, è stato possibile individuare il 8-sitosterolo la cui attività adiuvante è stata dimostrata anche da studi *in vivo* (Bioinformatics. 2016, vol. 32, 2672).

La predizione della permeabilità cutanea ha innumerevoli applicazioni che vanno dal *drug delivery* alla predizione della tossicità. Per superare i limiti dei precedenti metodi basati su semplici descrittori molecolari, è stato messo a punto un modello computazionale di struttura della membrana a doppio strato di cellula epiteliale tenendo conto della presenza di ceramidi, acidi grassi liberi e colesterolo. Questo modello è stato utilizzato per eseguire simulazioni di *Steered Molecular Dynamics* con un insieme di molecole il cui valore di  $\log k_p$  è noto sperimentalmente (*Flynn's set*). È stato così possibile simulare l'attraversamento della membrana e ricavare il coefficiente di diffusione con cui calcolare il valore di  $\log k_p$ . I risultati ottenuti si sono dimostrati migliori dei metodi precedentemente utilizzati (Eur.J.Pharm.Sci. 2017, vol. 106 e Data in Brief. 2017, vol. 14, 291).

Sempre rimanendo nell'ambito della tecnologia farmaceutica, le prestazioni dei sistemi di rilascio basati sull'*acido poli(lattico-co-glicolico)* sono influenzate da interazioni intermolecolari che si stabiliscono tra il farmaco e la matrice polimerica, nonché dallo stato fisico del farmaco stesso. Per questo motivo, è stato condotto uno studio finalizzato alla razionalizzazione delle interazioni tra la matrice e il *ketoprofene*, molecola nota per avere un effetto plastificante sui polimeri idrofili quando il suo rapporto in peso è prossimo a 0,25. La spettroscopia Brillouin e i dati ottenuti da simulazioni dinamica molecolare hanno suggerito che la solubilità del ketoprofene aumenta con la temperatura e le interazioni apolari sono responsabili di questo fenomeno (Int.J.Pharm. 2020, vol. 580, 119235).

**g) Ricerche relative ad agenti sequestranti di specie carboniliche reattive.**

Le *specie reattive carboniliche* (RCS) sono agenti citotossici che si generano dall'ossidazione di lipidi polinsaturi e possono essere l'effetto o la causa dell'insorgenza di numerose malattie come il diabete, l'aterosclerosi, l'invecchiamento tissutale e di tutta una serie di patologie a livello renale, epatico e neuronale. In conseguenza a ciò, le RCS possono essere considerate dei biomarker in grado di indicare la presenza di un danno ossidativo come pure degli importanti target farmacologici. È noto che la *carnosina* ( $\beta$ -alanil-L-istidina) è una molecola naturale con capacità detossificanti nei confronti delle RCS, però presenta l'inconveniente di essere rapidamente idrolizzata nel siero per opera dell'enzima carnosinasi. Pertanto, si è pensato di sviluppare dei derivati della carnosina maggiormente stabili nei confronti della carnosinasi e con capacità sequestranti delle RCS superiori. Come riferimento è stata presa la D-carnosina ( $\beta$ -alanil-D-istidina), nota per essere maggiormente stabile rispetto alla L-carnosina, da cui sono state ottenute molecole con attività tre volte superiore. Siccome si presume che le RCS reagiscano con la carnosina formando un addotto di Michael, è stata eseguita un'approfondita analisi conformazionale che ha permesso di selezionare quei composti in grado di assumere una conformazione tale da orientare l'istidina in modo da favorire lo stato intermedio ciclico della reazione (ChemMedChem. 2009, vol. 4, 967).

La D-carnosina, sebbene sia un buon agente sequestrante delle RCS e piuttosto stabile nei confronti della carnosinasi, è scarsamente assorbita a livello dell'apparato gastrointestinale e, quindi, si è pensato di modificarne opportunamente la struttura convertendola in un profarmaco con aumentata lipofilia. La strategia ha visto la modifica di una o di entrambe le estremità: quella C- terminale mediante esterificazione, e quella N- terminale mediante formazione di amidi o carbammati. La scelta delle modifiche è stata fatta con studi computazionali sulla base del contributo idrofobico dei sostituenti e della predizione della stabilità idrolitica nei confronti della carbossilesterasi 1 umana. Fra i composti così ottenuti, l'ottilestere si è dimostrato il più interessante, poiché si idrolizza rapidamente liberando la specie attiva. Inoltre, studi *in vivo* sul ratto hanno evidenziato un'attività 2,6 volte superiore rispetto alla D-carnosina, mentre su un modello di ratto obeso hanno mostrato una riduzione dell'ipertensione e della dislipidemia con ripristino della funzionalità renale (ChemMedChem. 2011, vol. 6, 1269).

Traendo spunto dal precedente studio (Chirality. 2012, vol. 24, 566), è stata sintetizzata una serie di dipeptidi contenenti istidina capaci di sequestrare in modo efficace le specie reattive carboniliche che sono alla base del processo di formazione di addotti con le proteine, alterandone la funzionalità. Utilizzando un metodo basato sullo studio dello spazio di proprietà, sono state ottenute delle equazioni in grado di predire la capacità di sequestrare RCS quali il 4-idrossi-2-nonenale (HNE) e il piridossale (PYR). Inoltre, i risultati hanno evidenziato come la capacità *carbonyl quencher* nei confronti di HNE sia influenzata dalla flessibilità dei dipeptidi, probabilmente per via del fatto che molecole troppo rigide non sono in grado di disporre l'anello imidazolico dell'istidina in modo ottimale per poter formare l'addotto di Michael con la specie reattiva (Eur.J.Med.Chem. 2013, vol. 66, 153).

La carbonilazione delle proteine è uno dei processi ossidativi più importanti che vede coinvolti aminoacidi nucleofili e che porta ad una alterazione del *folding* e, conseguentemente, della funzionalità. L'inibizione della



carbonilazione può giocare un ruolo di notevole importanza in numerose patologie in cui sono coinvolti fenomeni ossidativi. Pertanto, l'impiego di specie chimiche *carbonyl quencher* può rappresentare un valido aiuto dal punto di vista terapeutico. Per questo motivo, è stato condotto uno studio computazionale mediante DFT e metodo semi-empirico PM7 della L-carnosina e di alcuni suoi derivati come quencher specifici per il 4-idrossi-2-nonenale. I risultati ottenuti sono stati confrontati con quelli sperimentali HPLC e MS e, risultando in accordo, hanno dimostrato la validità dell'approccio computazionale (*Future Med.Chem.* 2016, vol. 8, 14).

Siccome il processo di carbonilazione è dovuto a specie elettrofile che reagiscono in modo altamente selettivo solo con specifici residui proteici, è stata focalizzata l'attenzione sui fattori che possono modulare la reattività di cisteina, istidina e lisina con specie carboniliche  $\alpha$ ,  $\beta$  insature. Tenendo conto di fattori quali l'esposizione, la nucleofilia e i residui vicinali, è stato possibile evidenziare che la carbonilazione della cisteina è un processo modulato da diversi parametri, mentre quella della lisina e dell'istidina è pressoché casuale (*Biophys.Chem.* 2017, vol. 230, 20).

I prodotti finali della glicazione (AGE) e della lipossidazione (ALE) quali la carbossimetillisina (CML) sono noti per essere coinvolti nell'insufficienza cardiaca. Nonostante questa evidenza, non sono stati ancora completamente identificati e caratterizzati gli AGE/ALE plasmatici coinvolti in questa patologia. Per superare questo problema, è stato messo a punto un metodo basato sulla spettrometria di massa ad alta risoluzione (HR-MS) *ex vivo* per mappare la presenza AGE/ALE nell'albumina serica umana (HSA), la quale, disponendo di numerosi siti nucleofili, si presta particolarmente ad essere il bersaglio proteico per la formazione di AGE/ALE. Sono stati così rilevati una serie di addotti AGE/ALE in campioni di HSA di soggetti con insufficienza cardiaca e sono stati anche determinati semiquantitativamente per selezionare quelli che sono presenti in quantità maggiore rispetto al controllo. In questo modo, sono stati identificati dei derivati della CML (più precisamente su Lys12, Lys378 e Lys402) e un derivato desossifruuttosidico sulla Lys389. La natura degli addotti è stata infine confermata utilizzando metodi immunologici e la produzione *in vitro* di tali addotti ulteriormente confermata dalla spettrometria di massa (*Antioxidants.* 2021, vol. 10, 358).

#### h) Ricerche di carattere metodologico relative al software per il *molecular modelling*.

Il docking automatico rappresenta uno strumento particolarmente utile non solo per lo studio delle sottostrutture coinvolte nell'interazione di un ligando con la sua macromolecola target, ma anche per una migliore comprensione dei meccanismi alla base di un processo biologico. Quando ancora il numero di programmi di docking disponibile era assai limitato e le loro prestazioni erano piuttosto ridotte, è stato sviluppato *BioDock*. Questo programma è in grado di generare un elevato numero di complessi casuali mediante un algoritmo di tipo *MonteCarlo - Metropolis*, escludendo, in una fase preliminare, quelli stericamente proibiti o ridondanti. Mediante un potenziale semplificato, vengono selezionate le strutture ad energia più bassa che sono sottoposte automaticamente ad una minimizzazione per generare i complessi ligando-recettore più probabili. Un primo test è stato eseguito su una serie di inibitori selettivi della PGHS-2 sulla struttura cristallografica della PGHS-1, ottenendo una buona correlazione fra attività sperimentale e score del docking (*Il Farmaco*, 1997, Vol. 52, 487).

La disponibilità di software facilmente espandibile nelle funzionalità risulta di notevole importanza qualora si debbano effettuare analisi non convenzionali difficilmente realizzabili con programmi proprietari. Sulla base di queste premesse, è stato sviluppato il programma VEGA (*Nota 19, J. Mol. Graph. Model.* 2002, Vol 21, 47), la cui architettura a *plug-in* e la programmabilità mediante *script* consente di aggiungere nuove funzionalità senza essere necessariamente degli utenti esperti (*Nota 17, J.Comput.Aided.Mol.Des.* 2004, Vol. 18, 167). Grazie alla sua facilità d'uso, questo programma, giunto alla versione 3.2, vanta un grande numero di utenti registrati (25.149, dato aggiornato al 07/09/2022) che vanno dai ricercatori di università ed aziende, agli studenti che si affacciano per la prima volta al mondo della modellistica molecolare. Inoltre, la possibilità di accedere a database di grandi dimensioni senza degrado di prestazioni e di utilizzare numerosi script di interfaccia con altri software, fa di VEGA un potente strumento per il QSAR e per il *virtual screening*.

Uno dei problemi che frequentemente si presenta in tutti i casi in cui si debba eseguire un calcolo di meccanica molecolare, è quello della corretta attribuzione dei tipi atomici richiesti dal campo di forze per il calcolo del potenziale. Frequentemente si ricorre a librerie di topologie che però hanno il limite di non essere universali, ovverosia con esse non è possibile tipizzare gli atomi di molecole non contemplate dalla libreria. Per questo motivo, è stato messo a punto un linguaggio chiamato ATDL (*Atom Type Description Language*) che, grazie alla sua sintassi semplificata, permette di descrivere qualsiasi atomo di una specifica sottostruttura (*Theor.Chem.Acc.* 2003, Vol. 109, 229). Infine, questo linguaggio permette al programma VEGA di gestire un grande numero di campi di forze mediante semplici file di *template*.

Sempre con l'intento di creare programmi di facile utilizzo, è stato realizzato il programma *GriDock* che permette di eseguire *structure-based virtual screening* su sistemi di calcolo ad alte prestazioni senza ricorrere a script e a *database engine* esterni. Sebbene il motore di calcolo sia basato su *AutoDock 4*, noto per non essere particolarmente efficiente in termini di velocità, grazie alla sua architettura parallela e alla possibilità di utilizzare sistemi di calcolo basati sulla tecnologia GRID, *GriDock* è in grado di eseguire lo screening di grandi librerie di composti in tempi assai ridotti (*J.Comput.Aided.Mol.Des.* 2010, Vol. 24, 771).

Sebbene al giorno d'oggi esistano metodiche analitiche estremamente potenti che consentono caratterizzare miscele complesse come la spettrometria di massa ad alta risoluzione, frequentemente ci si scontra col problema dell'attribuzione del dato sperimentale ad una data specie chimica. Per questo motivo, è stata sviluppata un'apposita *plug-in* per il programma VEGA chiamata *MassTools* che, interfacciandosi ad un database di strutture, permette una rapida identificazione di una molecola sulla base della massa esatta e della distribuzione isotopica

ottenuta sperimentalmente. Tale strumento è stato utilizzato per l'identificazione di polifenoli a partire da estratti vegetali (*J.Chromatogr.A.* 2011, vol. 1218, 2856).

Gli effetti collaterali dei farmaci sono dovuti ad interazioni off-target spesso non di facile identificazione sia perché non si conosce la proteina responsabile sia perché il sito di legame risulta conformazionalmente inaccessibile. Un normale programma di docking non è in grado di identificare siti di legame in queste condizioni e, pertanto, in collaborazione col Dott. Alessandro Di Domizio è stato sviluppato il software SPILLO-PBSS. Esso è in grado di cercare potenziali siti di legame sfruttando un sito di legame di riferimento opportunamente descritto mediante sfere e vettori. L'applicazione del programma su esempi noti ha dato dei risultati soddisfacenti soprattutto se confrontati con quelli ottenuti con altri programmi sviluppati con analoghe finalità (*J.Comput.Chem.* 2014, vol 35, 2005).

La tipologia di calcoli che sono alla base della modellistica computazionale si dividono principalmente in due categorie: 1) quelli molto complessi ed onerosi come quelli *ab initio* e le simulazioni di dinamica molecolare di grandi sistemi; 2) quelli relativamente più semplici come il docking molecolare che però se applicati a grandi librerie possono diventare estremamente onerosi. Per venire incontro alle esigenze dei piccoli laboratori di ricerca in cui le risorse computazionali non sono "concentrate" in un centro di calcolo, ma sono frazionate in un certo numero di sistemi non configurati per il calcolo parallelo, è stata messa a punto la tecnologia *WarpEngine* integrata nel programma VEGA. Questa tecnologia permette di distribuire un calcolo su di una serie di nodi non specializzati sui quali è sufficiente aver installato il programma VEGA. In questo modo, è possibile eseguire grandi campagne di *virtual screening* senza ricorrere ad un centro di calcolo e senza particolari conoscenze informatiche. La stessa tecnologia espandibile mediante scripts consente anche di operare rescoring di pose su larga scala come pure la preparazione di librerie di molecole (*J.Chem.Inf. Model.* 2018, vol. 58).

Negli ultimi anni si è assistito ad un grande sviluppo delle tecnologie di *intelligenza artificiale* (AI) che trovano applicazioni nei più svariati campi tra cui anche il *drug discovery* nella predizione non solo dell'attività di potenziali molecole bioattive, ma anche del loro metabolismo e degli effetti tossici. Il *machine learning*, nella fase iniziale di apprendimento, richiede un *training set* che viene sfruttato per creare il modello predittivo. Il *training set* contiene esempi per le diverse classi ed è fondamentale fornirne un numero più simile possibile per ciascuna classe per non creare un bias che favorisca la predizione di una classe rispetto ad un'altra. Sfortunatamente, nel campo del *drug discovery* non sempre si dispone di *training set* bilanciati (basti pensare al numero delle molecole attive su un target rispetto alle inattive). Per questo motivo, è stato messo a punto un algoritmo basato sull'ottimizzazione del fattore di arricchimento (*Enrichment Factor Optimization, EFO*) che permette di generare modelli predittivi anche quando il *training set* è molto sbilanciato. L'algoritmo è stato incluso sia nel programma VEGA sia in un programma a sé stante ed è stato applicato con successo nella predizione di metaboliti reattivi (*Nota 5, Molecules.* 2018, vol. 23, 2955).

Il metodo *EFO* in combinazione con *Rescore+*, uno script basato sulla tecnologia *WarpEngine* implementata in VEGA, permette di ottenere risultati decisamente buoni se applicati nelle campagne di *virtual screening* come è stato dimostrato quando applicato all'intera *Directory of Useful Decoys* (DUD), dataset comunemente utilizzato per la validazione dei programmi di docking (*Nota 4, Int.J.Mol.Sci.* 2019, vol. 20, 2060).

Un problema molto comune dei modelli ottenuti con tecniche *machine learning* è il *deployment*, ovvero la loro incorporazione in applicazioni *stand-alone* o di tipo web in modo che risultino fruibili da qualsiasi utente, eliminando la dipendenza dal programma che li hanno generati. Per superare questo problema, è stata creata l'applicazione *Tree2C* che svolge il compito di convertire gli alberi decisionali in codice sorgente (C/C++, Fortran 90, Java, JavaScript, JScript, Lua, PHP, Python, REBOL and VBScript e C-Script) che può essere incorporato direttamente nelle applicazioni o utilizzato direttamente nel programma VEGA (*Appl.Sci.* 2020, vol. 10, 7704).

Il programma VEGA attraverso gli anni ha subito costanti migliorie e l'implementazione di nuove funzionalità che lo hanno reso un programma assai versatile diverso rispetto al progetto originale rendendolo un valido strumento per innumerevoli campi applicativi (*Nota 1, Bioinformatics.* 2020, vol. 37, 1174).

#### i) Ricerche di bioinformatica finalizzate all'identificazione di domini funzionali di proteine.

Mediante lo screening differenziale di librerie di cDNA, è stato possibile identificare nuove isoforme del gene ZNF162 che è implicato nella neoplasia endocrina multipla (MEN1). Pertanto, è stato necessario caratterizzarne i domini dal punto di vista strutturale e funzionale con studi bioinformatici di allineamenti multipli di sequenze. In particolare, l'allineamento delle isoforme del gene ZNF162 con CW17R di topo e di *Saccharomyces cerevisiae*, ha permesso l'identificazione del dominio KH, noto per essere in grado di legare l'RNA a singola catena (*Genomics.* 1997, Vol. 42, 268).

#### j) Ricerche didattico-divulgative e review.

Al fine di divulgare concetti non banali a lettori non particolarmente esperti, sono state curate una serie di review in cui la stereochimica dei farmaci rappresenta l'aspetto centrale. Per rendere il tutto più facilmente fruibile, le tematiche sono state sviluppate in forma di schemi con estese didascalie, cercando di dare un'impronta didattica simile a quella delle presentazioni usate nelle lezioni universitarie. Più in dettaglio, sono stati introdotti i concetti generali sulla stereochimica quali gli elementi e le operazioni di simmetria, la classificazione degli isomeri e dei frammenti molecolari, la definizione di enantiomero e diastereoisomero (*Helv.Chim.Acta.* 2013, vol. 96, 4). In una seconda parte, l'attenzione è stata focalizzata sull'isomeria dovuta alla rotazione di singoli legami e su quella degli anelli carbociclici, eterociclici e dei sistemi ciclici condensati, introducendo il concetto di *isomeria conformazionale* (*Helv.Chim.Acta.* 2013, vol. 96, 564). Tutte queste nozioni sugli elementi stereogenici sono state poi applicate al campo biofarmaceutico e, più in dettaglio, al processo di riconoscimento molecolare e alla

farmacocinetica con l'intenzione di porre in particolare risalto l'importanza della stereoselettività nei processi biologici (**Helv.Chim.Acta. 2013, vol. 96, 747**). Infine, sempre restando nell'ambito della *stereoselettività*, è stato considerato l'aspetto farmacodinamico delle molecole bioattive e di come questo sia influenzato dall'asimmetria introdotta dalla chiralità, tramite il confronto con strutture a conformazione bloccata (**Helv.Chim.Acta. 2013, vol. 96, 1005**).

Un altro aspetto che è stato affrontato è quello relativo ai meccanismi alla base della isomerizzazione e le conseguenze che si possono avere a livello farmaceutico. Una molecola, infatti, comprende una parte inalterabile che può essere descritta tramite *core properties* ed una parte soggetta all'isomerizzazione che può essere identificata nelle *fluctuating properties*. Conseguentemente, le sue proprietà globali possono essere influenzate in maniera più o meno marcata a seconda della sua tendenza all'isomerizzazione e del peso delle *fluctuating properties*. Per meglio comprendere il concetto, sono stati presi in esame una serie di esempi in cui sono implicati diversi meccanismi di isomerizzazione (**Eur.J.Pharm.Sci. 2016, vol. 88, 101**).

Il diabete mellito è una patologia cronica multifattoriale che colpisce numerosi soggetti e, secondo l'Organizzazione Mondiale della Sanità, si prevede che il numero di adulti affetti da questa malattia tenderà ad aumentare nei prossimi anni. Siccome il diabete mellito di tipo 2 è quello più frequente nei pazienti diabetici (intorno al 90-95%) e spesso la terapia mono-target non riesce a controllare correttamente i livelli di glucosio nel sangue, si è pensato di focalizzarsi sui potenziali farmaci che agiscono con meccanismo multi-bersaglio per trattare di questo tipo di diabete. In particolare, sono considerati i principali sistemi direttamente coinvolti nel diabete di tipo 2, così come gli agonisti che agiscono sui sistemi di incretina, glucagone e sui recettori attivati dalla proliferazione del perossisoma. Inoltre, sono stati presi in considerazione gli inibitori che agiscono sull'aldosoreduttasi e sulla tirosinafosfatasi 1B o sui trasportatori sodio-glucosio di tipo 1 e 2. Infine, sono stati analizzati anche alcuni fitocomplessi (**Molecules. 2020, vol. 25, 1987**).

## PUBBLICAZIONI SCIENTIFICHE

### Articoli su rivista:

1. S. Vittorio, C. Manelfi, S. Gervasoni, A.R. Beccari, A. Pedretti, G. Vistoli, C. Talarico (2022). Computational insights into the sequence-activity relationships of the NGF(1-14) peptide by molecular dynamics simulations. CELLS, (accepted), ISSN: 2073-4409.
2. S. Gervasoni, C. Talarico, C. Manelfi, A. Pedretti, G. Vistoli, A.R. Beccari (2022). Extensive sampling of molecular dynamics simulations to identify reliable protein structures for optimized virtual screening studies: The case of the hTRPM8 channel. INTERNATIONAL JOURNAL OF MOLECULAR SCIENCES, vol. 23(14), p. 7558. ISSN: 1661-6596, doi: 10.3390/ijms23147558.
3. S. Gervasoni, J. Spencer, P. Hinchliffe, A. Pedretti, F. Vairoletti, G. Mahler, A.J. Mulholland (2022). A multiscale approach to predict the binding mode of metallo beta-lactamase inhibitors. PROTEINS: STRUCTURE, FUNCTION AND BIOINFORMATICS, vol. 90(2), p. 372-384. ISSN: 0887-3585, doi: 10.1002/prot.26227.
4. A. Altomare, G. Baron, M. Balbinot, A. Pedretti, B. Zoanni, M. Brioschi, P. Agostoni, M. Carini, C. Banfi, G. Aldini (2021). In-Depth AGE and ALE profiling of human albumin in heart failure: ex vivo studies. ANTIOXIDANTS, vol. 10(3), p. 358. ISSN 2076-392, doi: 10.3390/antiox10030358.
5. A. Mazzolari, A. Scaccabarozzi, G. Vistoli, A. Pedretti (2021). MetaClass, a comprehensive classification system for predicting the occurrence of metabolic reactions based on the MetaQSAR database. MOLECULES, vol. 26(19), p. 5857. ISSN: 1420-3049, doi: 10.3390/molecules26195857.
6. A. Pedretti, A. Mazzolari, S. Gervasoni, L. Fumagalli, G. Vistoli (2021). The VEGA suite of programs: an versatile platform for cheminformatics and drug design projects. BIOINFORMATICS, vol. 37(8), p. 1174-1175. ISSN: 1367-4803, doi: 10.1093/bioinformatics/btaa774.
7. C. Manelfi, J. Gossen, S. Gervasoni, C. Talarico, S. Albani, B.J. Philipp, F. Musiani, G. Vistoli, G. Rossetti, A.R. Beccari, A. Pedretti (2021). Combining different docking engines and consensus strategies to design and validate optimized virtual screening protocols for the sars-cov-2 3cl protease. MOLECULES, vol. 26(4), p. 797. ISSN: 1420-3049, doi: 10.3390/molecules26040797.
8. A. Artasensi, A. Pedretti, G. Vistoli, L. Fumagalli (2021). Regioselective, efficient and sustainable bromination process for the synthesis of the antimicrobial agent bromiphen bromide. ORGANIC PREPARATIONS AND PROCEDURES INTERNATIONAL, vol. 53(5), p. 493-497. ISSN: 1945-5453, doi: 10.1080/00304948.2021.1956849.
9. A. Mazzolari, L. Sommaruga, A. Pedretti, G. Vistoli G (2021). MetaTREE, a novel database focused on metabolic trees, predicts an important detoxification mechanism: The glutathione conjugation. MOLECULES, vol. 26(7), p. 2098. ISSN: 1420-3049, doi: 10.3390/molecules26072098.
10. A. Pedretti, A. Mazzolari, S. Gervasoni, G. Vistoli (2020). Tree2C: A flexible tool for enabling model deployment with special focus on cheminformatics applications. APPLIED SCIENCES, vol. 10(21), p. 7704, ISSN 2076-3417, doi: 10.3390/app10217704.

11. M. Mori, E. Gilardoni, L. Regazzoni, A. Pedretti, D. Colombo, G. Parkinson, A. Asai, F. Meneghetti, S. Villa, A. Gelain (2020). Towards the Inhibition of Protein-Protein Interactions (PPIs) in STAT3: Insights into a new class of Benzothiadiazole Derivatives. *MOLECULES*, vol. 25, p. 3509, ISSN: 1420-3049, doi: 10.3390/molecules25153509.
12. A. Mazzolari, S. Gervasoni, A. Pedretti, L. Fumagalli, R. Matucci, G. Vistoli (2020). Repositioning dequalinium as potent muscarinic allosteric ligand by combining virtual screening campaigns and experimental binding assays. *INTERNATIONAL JOURNAL OF MOLECULAR SCIENCES*, vol. 21(17), p. 5961, ISSN: 1661-6596, doi: 10.3390/ijms21175961.
13. S. Gervasoni, G. Vistoli, C. Talarico, C. Manelfi, A.R. Beccari, G. Studer, G. Tauriello, A.M. Waterhouse, T. Schwede, A. Pedretti (2020). A comprehensive mapping of the druggable cavities within the SARS-CoV-2 therapeutically relevant proteins by combining pocket and docking searches as implemented in Pockets 2.0. *INTERNATIONAL JOURNAL OF MOLECULAR SCIENCES*, vol. 21(14), p. 5152, ISSN: 1661-6596, doi: 10.3390/ijms21145152.
14. J. Mercado-Camargo, L. Cervantes-Ceballos, R. Vivas-Reyes, A. Pedretti, M.L. Serrano-García, H. Gómez-Estrada (2020). Homology modeling of leishmanolysin (gp63) from leishmania panamensis and molecular docking of flavonoids. *ACS OMEGA*, vol. 5(24), p. 14741-14749, ISSN: 2470-1343, doi: 10.1021/acsomega.0c01584.
15. A. Artasensi, A. Pedretti, G. Vistoli, L. Fumagalli (2020). Type 2 diabetes mellitus: A review of multi-target drugs. *MOLECULES*, vol. 25(8), p. 1987, ISSN: 1420-3049, doi: 10.3390/molecules25081987.
16. C. Talarico, S. Gervasoni, C. Manelfi, A. Pedretti, G. Vistoli, A.R. Beccari (2020). Combining molecular dynamics and docking simulations to develop targeted protocols for performing optimized virtual screening campaigns on the hTRPM8 channel, *INTERNATIONAL JOURNAL OF MOLECULAR SCIENCES*, vol. 21(7), p. 2265, ISSN: 1661-6596, doi: 10.3390/ijms21072265.
17. P. Blasi, S. Casagrande, A. Pedretti, D. Fioretto, G. Vistoli, S. Corezzi (2020). Ketoprofen poly(lactide-co-glycolide) physical interaction studied by Brillouin spectroscopy and molecular dynamics simulations. *INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACEUTICS*, vol. 580, p. 119235, ISSN: 0378-5173, doi: 10.1016/j.ijpharm.2020.
18. M. Šicho, C. Stork, A. Mazzolari, C. de Bruyn Kops, A. Pedretti, B. Testa, G. Vistoli, D. Svozil, J. Kirchmair (2019). FAME 3: predicting the sites of metabolism in synthetic compounds and natural products for phase 1 and phase 2 metabolic enzymes. *JOURNAL OF CHEMICAL INFORMATION AND MODELING*, vol. 59(8), p. 3400-3412, ISSN: 1549-9596, doi: 10.1021/acs.jcim.9b00376.
19. A. Pedretti, A. Mazzolari, S. Gervasoni, G. Vistoli (2019). Rescoring and linearly combining: a highly effective consensus strategy for virtual screening campaigns. *INTERNATIONAL JOURNAL OF MOLECULAR SCIENCES*, vol. 20(9), p. 2060, ISSN: 1661-6596, doi: 10.3390/ijms20092060.
20. A. Mazzolari, A.M. Afzal, A. Pedretti, B. Testa, G. Vistoli, A. Bender (2019). Prediction of UGT-mediated metabolism using the manually curated MetaQSAR database. *ACS MEDICINAL CHEMISTRY LETTERS*, vol. 10, p. 633-638, ISSN: 1948-5875, doi: 10.1021/acsmmedchemlett.8b00603.
21. A. Pedretti, A. Mazzolari, G. Vistoli, B. Testa (2018). MetaQSAR: an integrated database engine to manage and analyze metabolic data. *JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY*, vol. 61, p. 1019-1030, ISSN: 0022-2623, doi: 10.1021/acs.jmedchem.7b01473.
22. A. Mazzolari, G. Vistoli, B. Testa, A. Pedretti (2018). Prediction of the formation of reactive metabolites by a novel classifier approach based on enrichment factor optimization (EFO) as implemented in the VEGA program. *MOLECULES*, vol. 23(11), p. 2955, ISSN: 1420-3049, doi: 10.3390/molecules23112955.
23. A. Pedretti, A. Mazzolari, G. Vistoli (2018). WarpEngine, a flexible platform for distributed computing implemented in the VEGA program and specially targeted for virtual screening studies. *JOURNAL OF CHEMICAL INFORMATION AND MODELING*, vol. 58, p. 1154-1160, ISSN: 1549-9596, doi: 10.1021/acs.jcim.8b00086.
24. G. Vistoli, C. Mantovani, S. Gervasoni, A. Pedretti, G. Aldini (2017). Key factors regulating protein carbonylation by  $\alpha$ ,  $\beta$  unsaturated carbonyls: a structural study based on a retrospective meta-analysis. *BIOPHYSICAL CHEMISTRY*, vol. 230, p. 20-26, ISSN: 0301-4622, doi: 10.1016/j.bpc.2017.08.002.
25. G. Russo, L. Grumetto, F. Barbato, G. Vistoli, A. Pedretti (2017). Prediction and mechanism elucidation of analyte retention on phospholipid stationary phases (IAM-HPLC) by in silico calculated physico-chemical descriptors. *EUROPEAN JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES*, vol. 99, p. 173-184, ISSN: 0928-0987, doi: 10.1016/j.ejps.2016.11.026.
26. G. Vistoli, A. Mazzolari, B. Testa, A. Pedretti (2017). Binding space concept: a new approach to enhance the reliability of docking scores and its application to predicting butyrylcholinesterase hydrolytic activity. *JOURNAL OF CHEMICAL INFORMATION AND MODELING*, vol. 57, p. 1691-1702, ISSN: 1549-9596, doi: 10.1021/acs.jcim.7b00121.
27. P. Rocco, F. Cilurzo, P. Minghetti, G. Vistoli, A. Pedretti (2017). Simulation data for an estimation of the maximum theoretical value and confidence interval for the correlation coefficient. *DATA IN BRIEF*, vol. 14, p. 291-294, ISSN: 2352-3409, doi: 10.1016/j.dib.2017.07.045.

28. P. Rocco, F. Cilurzo, P. Minghetti, G. Vistoli, A. Pedretti (2017). Molecular dynamics as a tool for in silico screening of skin permeability. *EUROPEAN JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES*, vol. 106, p. 328-335, ISSN: 0928-0987, doi: 10.1016/j.ejps.2017.06.020.
29. A. R. Beccari, M. Gemei, M. L. Monte, N. Menegatti, M. Fanton, A. Pedretti, S. Bovolenta, C. Nucci, A. Molteni, A. Rossignoli, L. Brandolini, A. Taddei, L. Za, C. Liberati, G. Vistoli (2017). Novel selective, potent naphthyl TRPM8 antagonists identified through a combined ligand-and structure-based virtual screening approach. *SCIENTIFIC REPORTS*, vol. 7, p. 1-15, ISSN: 2045-2322, doi: 10.1038/s41598-017-11194-0.
30. B. Testa, G. Vistoli, A. Pedretti (2016). Mechanisms and pharmaceutical consequences of processes of stereoisomerisation: A didactic excursion. *EUROPEAN JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES*, vol. 88, p. 101-123, ISSN: 0928-0987, doi: 10.1016/j.ejps.2016.04.007.
31. A. Pedretti, C. Granito, A. Mazzolari, G. Vistoli (2016). Structural effects of some relevant missense mutations on the MECP2-DNA binding: a MD study analyzed by Rescore+, a versatile rescoring tool of the VEGA ZZ program. *MOLECULAR INFORMATICS*, vol. 35, p. 424-433, ISSN: 1868-1743, doi: 10.1002/minf.201501030.
32. G. Vistoli, M. Colzani, A. Mazzolari, D. De Maddis, G. Grazioso, A. Pedretti, M. Carini, G. Aldini (2016). Computational approaches in the rational design of improved carbonyl quenchers: focus on histidine containing dipeptides. *FUTURE MEDICINAL CHEMISTRY*, vol. 8, p. 1721-1737, ISSN: 1756-8919, doi: 10.4155/fmc-2016-0088.
33. F. Pappalardo, E. Fichera, N. Paparone, A. Lombardo, M. Pennisi, G. Russo, M. Leotta, F. Pappalardo, A. Pedretti, F. De Fiore, S. Motta (2016). A computational model to predict the immune system activation by citrus derived vaccine adjuvants. *BIOINFORMATICS*, vol. 32, p. 2672-2680, ISSN: 1367-4803, doi: 10.1093/bioinformatics/btw293.
34. L. Gambini, L. Rizzi, A. Pedretti, O. Taglialatela-Scafati, M. Carucci, A. Pancotti, C. Galli, M. Read, E. Giurisato, S. Romeo, I. Russo (2015). Picomolar inhibition of Plasmepsin V, an essential malaria protease, achieved exploiting the prime region. *PLOS ONE*, vol. 10, p. 1-35, ISSN: 1932-6203, doi: 10.1371/journal.pone.0142509.
35. A. Pedretti, A. Mazzolari, C. Ricci, G. Vistoli (2015). Enhancing the reliability of GPCR models by accounting for flexibility of their pro-containing helices: The case of the human mAChR1 receptor. *MOLECULAR INFORMATICS*, vol. 34, p. 216-227, ISSN: 1868-1743, doi: 10.1002/minf.201400159.
36. B. Testa, G. Vistoli, A. Pedretti (2014). Small molecules as exemplars of emergent properties and diversification into the 'adjacent possible'. *CHEMISTRY & BIODIVERSITY*, vol. 11, p. 1309-1329, ISSN: 1612-1872, doi: 10.1002/cbdv.201400177.
37. S. Kanodia, G. Kumar, L. Rizzi, A. Pedretti, A.N. Hodder, S. Romeo, P. Malhotra (2014). Synthetic peptides derived from the C-terminal 6 kDa region of Plasmodium falciparum SERA5 inhibit the enzyme activity and malaria parasite development. *BIOCHIMICA ET BIOPHYSICA ACTA - GENERAL SUBJECTS*, vol. 1840, p. 2765-2775, ISSN 0304-4165, doi: 10.1016/j.bbagen.2014.04.013.
38. A. Di Domizio, A. Vitriolo, G. Vistoli, A. Pedretti (2014). SPILLO-PBSS: detecting hidden binding sites within protein 3D-structures through a flexible structure-based approach. *JOURNAL OF COMPUTATIONAL CHEMISTRY*, vol. 35, p. 2005-2017, ISSN: 0192-8651, doi: 10.1002/jcc.23714.
39. E. Grouzmann, J.B. Gualtierotti, S. Gerber-Lemaire, K. Abid, N. Brakch, A. Pedretti, B. Testa, G. Vistoli (2013). Lack of enantioselectivity in the SULT1A3-catalyzed sulfoconjugation of normetanephrine enantiomers: an *in vitro* and computational study. *CHIRALITY*, vol. 25, p. 28-34, ISSN: 0899-0042, doi: 10.1002/chir.22108.
40. B. Testa, G. Vistoli, A. Pedretti (2013). Organic Stereochemistry. Part 1. Symmetry elements and operations, classification of stereoisomers. *HELVETICA CHIMICA ACTA*, vol. 96, p. 4-30, ISSN: 1522-2675, doi: 10.1002/hlca.201200469.
41. B. Testa, G. Vistoli, A. Pedretti (2013). Organic Stereochemistry. Part 4. Isomerisms about single bonds and in cyclic systems. *HELVETICA CHIMICA ACTA*, vol. 96, p. 564-623, ISSN: 1522-2675, doi: 10.1002/hlca.201200472.
42. B. Testa, G. Vistoli, A. Pedretti, J. Caldwell (2013). Organic Stereochemistry. Part 5. Stereoselectivity in molecular and clinical pharmacology. *HELVETICA CHIMICA ACTA*, vol. 96, p. 747-798, ISSN: 1522-2675, doi: 10.1002/hlca.201200473.
43. B. Testa, G. Vistoli, A. Pedretti (2013). Organic Stereochemistry. Part 6. The conformation factor in molecular pharmacology. *HELVETICA CHIMICA ACTA*, vol. 96, p. 747-798, ISSN: 1522-2675, doi: DOI: 10.1002/hlca.201200474.
44. D. Masciocchi, A. Gelain, F. Porta, F. Meneghetti, A. Pedretti, G. Celentano, D. Barlocco, L. Legnani, L. Toma, B.M. Kwon, A. Asai, S. Villa (2013). Synthesis, structure-activity relationships and stereochemical investigations of new tricyclic pyridazinone derivatives as potential STAT3 inhibitors. *MEDCHEMCOMM*, vol. 4, p. 1181-1188, ISSN: 2040-2503, doi: 10.1039/c3md00095h.
45. G. Vistoli, D. De Maddis, V. Straniero, A. Pedretti, M. Pallavicini, E. Valoti, M. Carini, B. Testa, G. Aldini (2013). Exploring the space of histidine containing dipeptides in search of novel efficient RCS sequestering

- agents. *EUROPEAN JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCE*, vol. 66, p. 153-160, ISSN: 0928-0987, doi: 10.1016/j.ejmech.2013.05.009.
46. G. Vistoli, V. Straniero, A. Pedretti, L. Fumagalli, C. Bolchi, M. Pallavicini, E. Valoti, B. Testa (2012). Predicting the physicochemical profile of diastereoisomeric histidine-containing dipeptides by property space analysis. *CHIRALITY*, vol. 24, p. 566-576, ISSN: 0899-0042, doi: 10.1002/chir.22056.
  47. B. Testa, A. Pedretti, G. Vistoli (2012). Reactions and enzymes in the metabolism of drugs and other xenobiotics. *DRUG DISCOVERY TODAY*, vol. 17, p. 549-560, ISSN: 1359-6446, doi: 10.1016/j.drudis.2012.01.017.
  48. D. Masciocchi, S. Villa, F. Meneghetti, A. Pedretti, D. Barlocco, L. Legnani, L. Toma, B.M. Kwon, S. Nakano, A. Asai, A. Gelain (2012). Biological and computational evaluation of an oxadiazole derivative (MD77) as a new lead for direct STAT3 inhibitors. *MEDCHEMCOMM*, p. 592-599, ISSN: 2040-2503, doi: 10.1039/C2MD20018J.
  49. M. Orioli, G. Vistoli, L. Regazzoni, A. Pedretti, A. Lapolla, G. Rossoni, R. Canevotti, L. Gamberoni, M. Previtali, M. Carini, G. Aldini (2011). Design, synthesis, ADME properties, and pharmacological activities of  $\beta$ -alanyl-D-histidine (D-carnosine) prodrugs with improved bioavailability. *CHEMMEDCHEM*, vol. 6, p. 1269-1282, ISSN: 1860-7179, doi: 10.1002/cmdc.201100042.
  50. A. Pedretti, L. De Luca, C. Marconi, L.G. Regazzoni, G. Aldini, G. Vistoli (2011). Fragmental modeling of hPepT2 and analysis of its binding features by docking studies and pharmacophore mapping. *BIOORGANIC & MEDICINAL CHEMISTRY*, vol. 19, p. 4544-4551, ISSN: 0968-0896, doi: 10.1016/j.bmc.2011.06.027.
  51. I. Eberini, A. Emerson, C. Sensi, L. Ragona, P. Ricchiuto, A. Pedretti, E. Gianazza, A. Tramontano (2011). Simulation of urea-induced protein unfolding: a lesson from bovine  $\beta$ -lactoglobulin. *JOURNAL OF MOLECULAR GRAPHICS & MODELLING*, vol. 30, p. 24-30, ISSN: 1093-3263, doi: 10.1016/j.jmgm.2011.06.004.
  52. G. Aldini, L.G. Regazzoni, A. Pedretti, M. Carini, S.M. Cho, K.M. Park, K.J. Yeum (2011). An integrated high resolution mass spectrometric and informatics approach for the rapid identification of phenolics in plant extract. *JOURNAL OF CHROMATOGRAPHY A*, vol. 1218, p. 2856-2864, ISSN: 0021-9673, doi: 10.1016/j.chroma.2011.02.065.
  53. A. Pedretti, A. Labozzetta, M. Lo Monte, A. R. Beccari, A. Moriconi, G. Vistoli (2011). Exploring the activation mechanism of TRPM8 channel by targeted MD simulations. *BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS*, vol. 414, p. 14-19, ISSN: 0006-291X, doi: 10.1016/j.bbrc.2011.08.134.
  54. V. Pittalà, M.A. Siracusa, M.N. Modica, L. Salerno, A. Pedretti, G. Vistoli, A. Cagnotto, T. Mennini, G. Romeo (2011). Synthesis and molecular modeling of 1H-pyrrolopyrimidine-2,4-dione derivatives as ligands for the  $\alpha$ 1-adrenoceptors. *BIOORGANIC & MEDICINAL CHEMISTRY*, vol. 19 (17), p. 5260-5276, ISSN: 0968-0896, doi: 10.1016/j.bmc.2011.06.043.
  55. I. Bettinelli, D. Graziani, C. Marconi, A. Pedretti, G. Vistoli (2011). The approach of conformational chimeras to model the role of proline-containing helices on GPCR mobility: the fertile case of Cys-LTR1. *CHEMMEDCHEM*, vol. 6, p. 1217-1227, ISSN: 1860-7179, doi: 10.1002/cmdc.201100037.
  56. G. Vistoli, A. Pedretti, B. Testa (2011). Chemodiversity and molecular plasticity: recognition processes as explored by property spaces. *FUTURE MEDICINAL CHEMISTRY*, vol. 3, p. 995-1010, ISSN: 1756-8919, doi: 10.4155/fmc.11.54.
  57. A. Lombardo, G. Licciardello, A. Bertuccio, G. Vistoli, A. Pedretti (2011). Virtual screening approach for the identification of potential Citrus tristeza virus inhibitors. *ACTA HORTICULTURAE*, vol. 892, p. 257-264, ISSN: 0567-7572.
  58. D.S. Shin, D. Masciocchi, A. Gelain, S. Villa, D. Barlocco, F. Meneghetti, A. Pedretti, Y.M. Han, D.C. Han, M.Y. Han, B.M. Kwon, L. Legnani, L. Toma (2010). Synthesis, modeling, and crystallographic study of 3,4-disubstituted-1,2,5-oxadiazoles and evaluation of their ability to decrease STAT3 activity. *MEDCHEMCOMM*, vol. 1, p. 156-164, ISSN: 2040-2503, doi: 10.1039/c0md00057d.
  59. G. Vistoli, A. Pedretti, A. Mazzolari, B. Testa (2010). In silico prediction of human carboxylesterase-1 (hCES1) metabolism combining docking analyses and MD simulations. *BIOORGANIC & MEDICINAL CHEMISTRY*, vol. 18, p. 320-329, ISSN: 0968-0896, doi: 10.1016/j.bmc.2009.10.052.
  60. G. Vistoli, A. Pedretti, A. Mazzolari, B. Testa (2010). Homology modeling and metabolism prediction of human carboxylesterase-2 using docking analyses by GriDock: a parallelized tool based on AutoDock 4.0. *JOURNAL OF COMPUTER-AIDED MOLECULAR DESIGN*, vol. 24, p. 771-787, ISSN: 0920-654X, doi: 10.1007/s10822-010-9373-1.
  61. E. Santaniello, S. Casati, P. Ciuffreda, G. Meroni, A. Pedretti, G. Vistoli (2009). A molecular modelling approach to rationalize the stereochemical outcome of the Burkholderia cepacia lipase-catalyzed transesterification of aromatic primary alcohols with vinyl esters with different chain lengths in chloroform. *TETRAHEDRON-ASYMMETRY*, vol. 20, p. 1833-1836, ISSN: 0957-4166, doi: 10.1016/j.tetasy.2009.07.024.
  62. G. Vistoli, M. Orioli, A. Pedretti, L. Regazzoni, R. Canevotti, G. Negrisoni, M. Carini, G. Aldini (2009). Design, synthesis, and evaluation of carnosine derivatives as selective and efficient sequestering agents of cytotoxic reactive carbonyl species. *CHEMMEDCHEM*, vol. 4, p. 967-975, ISSN: 1860-7179, doi: 10.1002/cmdc.200800433.

63. G. Vistoli, A. Pedretti, B. Testa (2009). Partition coefficient and molecular flexibility: the concept of lipophilicity space. *CHEMISTRY & BIODIVERSITY*, vol. 6 (8), p. 1152-1169, ISSN: 1612-1872, doi: 10.1002/cbdv.200900072.
64. G. Vistoli, A. Pedretti, A. Mazzolari, C. Bolchi, B. Testa (2009). Influence of ionization state on the activation of temocapril by hCES1: a molecular-dynamics study. *CHEMISTRY & BIODIVERSITY*, vol. 6 (11), p. 2092-2100, ISSN: 1612-1872, doi: 10.1002/cbdv.200900174.
65. B. Testa, G. Vistoli, A. Pedretti, A.J. Bojarski (2009). Atomic diversity, molecular diversity, and chemical diversity: the concept of chemodiversity. *CHEMISTRY & BIODIVERSITY*, vol. 6 (8), p. 1145-1151, ISSN: 1612-1872, doi: 10.1002/cbdv.200900071.
66. A. Pedretti, C. Marconi, I. Bettinelli, G. Vistoli (2009). Comparative modeling of the quaternary structure for the human TRPM8 channel and analysis of its binding features. *BIOCHIMICA ET BIOPHYSICA ACTA-BIOMEMBRANES*, vol. 1788, p. 973-982, ISSN: 0005-2736, doi: 10.1016/j.bbamem.2009.02.007.
67. M. Pallavicini, C. Bolchi, M. Binda, A. Cilia, F. Clementi, R. Ferrara, L. Fumagalli, C. Gotti, M. Moretti, A. Pedretti, G. Vistoli, E. Valoti (2009). 5-(2-Pyrrolidinyl)oxazolidinones and 2-(2-pyrrolidinyl)benzodioxanes: Synthesis of all the stereoisomers and  $\alpha 4\beta 2$  nicotinic affinity. *BIOORGANIC & MEDICINAL CHEMISTRY LETTERS*, vol. 19 (3), p. 854-859, ISSN: 0960-894X, doi: 10.1016/j.bmcl.2008.12.002.
68. G. Vistoli, A. Pedretti, L. Alessandrini, S. Casati, P. Ciuffreda, G. Meroni, E. Santaniello (2009). Enhanced activity or resistance of adenosine derivatives towards adenosine deaminase-catalyzed deamination: influence of ribose modifications. *BIOORGANIC & MEDICINAL CHEMISTRY LETTERS*, vol. 19 (10), p. 2877-2879, ISSN: 0960-894X, doi: 10.1016/j.bmcl.2009.03.084.
69. A. Pedretti, L. De Luca, C. Marconi, G. Negrisoli, G. Aldini, G. Vistoli (2008). Modeling of the intestinal peptide transporter hPepT1 and analysis of its transport capacities by docking and pharmacophore mapping. *CHEMMEDCHEM*, vol. 3 (12), p. 1913-1921, ISSN: 1860-7179, doi: 10.1002/cmdc.200800184.
70. A. Pedretti, L. De Luca, C. Sciarillo, G. Vistoli (2008). Fragmental modeling of human glutamate transporter EAAT1 and analysis of its binding modes by docking and pharmacophore mapping. *CHEMMEDCHEM*, vol. 3 (1), p. 79-90, ISSN: 1860-7179, doi: 10.1002/cmdc.200700197.
71. A. Pedretti, E. Bocci, R. Maggi, G. Vistoli (2008). Homology modelling of human DHCR24 (seladin-1) and analysis of its binding properties through molecular docking and dynamics simulations. *STEROIDS*, vol. 73, p. 708-719, ISSN: 0039-128X, doi: 10.1016/j.steroids.2008.02.007.
72. A. Pedretti, C. Marconi, C. Bolchi, L. Fumagalli, R. Ferrara, M. Pallavicini, E. Valoti, G. Vistoli (2008). Modelling of full-length human  $\alpha 4\beta 2$  nicotinic receptor by fragmental approach and analysis of its binding modes. *BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS*, vol. 369, p. 648-653, ISSN: 0006-291X, doi: 10.1016/j.bbrc.2008.02.080.
73. G. Vistoli, A. Pedretti, S. Dei, S. Scapecchi, C. Marconi, M.N. Romanelli (2008). Docking analyses on human muscarinic receptors: unveiling the subtypes peculiarities in agonists binding. *BIOORGANIC & MEDICINAL CHEMISTRY*, vol. 16, p. 3049-3058, ISSN: 0968-0896, doi: 10.1016/j.bmc.2007.12.036.
74. G. Vistoli, A. Pedretti, B. Testa (2008). Assessing drug-likeness: what are we missing? *DRUG DISCOVERY TODAY*, vol. 13, p. 285-294, ISSN: 1359-6446, doi: 10.1016/j.drudis.2007.11.007.
75. L.M. Espinoza-Fonseca, A. Pedretti, G. Vistoli (2008). Structure and dynamics of the full-length M-1 muscarinic acetylcholine receptor studied by molecular dynamics simulations. *ARCHIVES OF BIOCHEMISTRY AND BIOPHYSICS*, vol. 469, p. 142-150, ISSN: 0003-9861, doi: 10.1016/j.abb.2007.09.002.
76. C. Bolchi, M. Pallavicini, C. Rusconi, L. Diomedea, N. Ferri, A. Corsini, L. Fumagalli, A. Pedretti, G. Vistoli, E. Valoti (2007). Peptidomimetic inhibitors of farnesyltransferase with high in vitro activity and significant cellular potency. *BIOORGANIC & MEDICINAL CHEMISTRY LETTERS*, vol. 17, p. 6192-6196, ISSN: 0960-894X, doi: 10.1016/j.bmcl.2007.09.015.
77. G. Vistoli, A. Pedretti, B. Testa, R. Matucci (2007). The conformational and property space of acetylcholine bound to muscarinic receptors: an entropy component accounts for the subtype selectivity of acetylcholine. *ARCHIVES OF BIOCHEMISTRY AND BIOPHYSICS*, vol. 464 (1), p. 112-121, ISSN: 0003-9861, doi: 10.1016/j.abb.2007.04.022.
78. A. Pedretti, G. Vistoli (2007). Modeling of human ghrelin receptor (hGHS-R1a) in its close state and validation by molecular docking. *BIOORGANIC & MEDICINAL CHEMISTRY*, vol. 15, p. 3054-3064, ISSN: 0968-0896, doi: 10.1016/j.bmc.2007.01.057.
79. A. Pedretti, M. Villa, M. Pallavicini, E. Valoti, G. Vistoli (2006). Construction of human ghrelin receptor (hGHS-R1a) model using a fragmental prediction approach and validation through docking analysis. *JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY*, vol. 49 (11), p. 3077-3085, ISSN: 0022-2623, doi: 10.1021/jm058053k.
80. G. Vistoli, A. Pedretti, M. Cattaneo, G. Aldini, B. Testa (2006). Homology modeling of human serum carnosinase, a potential medicinal target, and MD simulations of its allosteric activation by citrate. *JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY*, vol. 49 (11), p. 3269-3277, ISSN: 0022-2623, doi: 10.1021/jm0602099.



81. M. Pallavicini, L. Fumagalli, M. Gobbi, C. Bolchi, S. Colleoni, B. Moroni, A. Pedretti, C. Rusconi, G. Vistoli, E. Valoti (2006). QSAR study for a novel series of ortho disubstituted phenoxy analogues of  $\alpha_1$ -adrenoceptor antagonist WB4101. *EUROPEAN JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY*, vol. 41 (9), p. 1025-1040, ISSN: 0223-5234, doi: 10.1016/j.ejmech.2006.04.004.
82. A. Pedretti, G. Vistoli, C. Marconi, B. Testa (2006). Muscarinic receptors: a comparative analysis of structural features and binding modes through homology modelling and molecular docking. *CHEMISTRY & BIODIVERSITY*, vol. 3 (5), p. 481-501, ISSN: 1612-1872, doi: 10.1002/cbdv.200690052.
83. G. Vistoli, A. Pedretti, L. Villa, B. Testa (2005). Solvent constraints on the property space of acetylcholine. I. Isotropic solvents. *JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY*, vol. 48 (6), p. 1759-1767, ISSN: 0022-2623, doi: 10.1021/jm040823p.
84. G. Vistoli, A. Pedretti, L. Villa, B. Testa (2005). Range and sensitivity as descriptors of molecular property spaces in dynamic QSAR analyses. *JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY*, vol. 48 (15), p. 4947-4952, ISSN: 0022-2623, doi: 10.1021/jm0408969.
85. G. Vistoli, A. Pedretti, L. Villa, B. Testa (2005). Solvent constraints on the property space of acetylcholine. 2. Ordered media. *JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY*, vol. 48 (22), p. 6926-6935, ISSN: 0022-2623, doi: 10.1021/jm0580306.
86. L. Fumagalli, C. Bolchi, S. Colleoni, M. Gobbi, B. Moroni, M. Pallavicini, A. Pedretti, L. Villa, G. Vistoli, E. Valoti (2005). QSAR study for a novel series of ortho monosubstituted phenoxy analogues of  $\alpha_1$ -adrenoceptor antagonist WB4101. *BIOORGANIC & MEDICINAL CHEMISTRY*, vol. 13, p. 2547-2559, ISSN: 0968-0896, doi: 10.1016/j.bmc.2005.01.034.
87. L. De Luca, G. Vistoli, A. Pedretti, M.L. Barreca, A. Chimirri (2005). Molecular dynamics studies of the full-length integrase-DNA complex. *BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS*, vol. 336, p. 1010-1016, ISSN: 0006-291X, doi: 10.1016/j.bbrc.2005.08.211.
88. B. Testa, G. Vistoli, A. Pedretti (2005). Musings on ADME predictions and structure-activity relations. *CHEMISTRY & BIODIVERSITY*, vol. 2 (11), p. 1411-1427, ISSN: 1612-1872, doi: 10.1002/cbdv.200590115.
89. A. Pedretti, L. Villa, G. Vistoli (2004). VEGA - An open platform to develop chemo-bio-informatics applications, using plug-in architecture and script programming. *JOURNAL OF COMPUTER-AIDED MOLECULAR DESIGN*, vol. 18, p. 167-173, ISSN: 0920-654X, doi: 10.1023/B:JCAM.0000035186.90683.f2.
90. C. Bolchi, P. Catalano, L. Fumagalli, M. Gobbi, M. Pallavicini, A. Pedretti, L. Villa, G. Vistoli, E. Valoti (2004). Structure-affinity studies for a novel series of homochiral naphtho and tetrahydronaphtho analogues of  $\alpha_1$  antagonist WB-4101. *BIOORGANIC & MEDICINAL CHEMISTRY*, vol. 12 (18), p. 4937-4951, ISSN: 0968-0896, doi: 10.1016/j.bmc.2004.06.040.
91. A. Pedretti, M.E. Silva, L. Villa, G. Vistoli (2004). Binding site analysis of full-length  $\alpha_1$  adrenergic receptor using homology modeling and molecular docking. *BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS*, vol. 319, p. 493-500, ISSN: 0006-291X, doi: 10.1016/j.bbrc.2004.04.149.
92. A. Pedretti, L. Villa, G. Vistoli (2003). Atom-Type Description Language: a universal language to recognize atom types implemented in the VEGA program. *THEORETICAL CHEMISTRY ACCOUNTS*, vol. 109, p. 229-232, ISSN: 1432-881X, doi: 10.1007/s00214-002-0402-6.
93. L. De Luca, A. Pedretti, G. Vistoli, M.L. Barreca, L. Villa, P. Monforte, A. Chimirri (2003). Analysis of the full-length integrase DNA complex by a modified approach for DNA docking. *BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS*, vol. 310, p. 1083-1088, ISSN: 0006-291X, doi: 10.1016/j.bbrc.2003.09.120.
94. A. Pedretti, L. Villa, G. Vistoli (2002). VEGA: a versatile program to convert, handle and visualize molecular structure on windows-based PCs. *JOURNAL OF MOLECULAR GRAPHICS & MODELLING*, vol. 21, p. 47-49, ISSN: 1093-3263, doi: 10.1016/S1093-3263(02)00123-7.
95. G. Vistoli, A. Pedretti, L. Villa, B. Testa (2002). The solute-solvent system: solvent constraints on the conformational dynamics of acetylcholine. *JOURNAL OF THE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY*, vol. 124, p. 7472-7480, ISSN: 0002-7863, doi: 10.1021/ja0119999
96. A. Pedretti, L. Villa, G. Vistoli (2002). Modelling of binding modes and inhibition mechanism of some natural ligands of farnesyl transferase using molecular docking. *JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY*, vol. 45 (7), p. 1460-1465, ISSN: 0022-2623, doi: 10.1021/jm011075w.
97. A. Pedretti, A.M. Villa, L. Villa, G. Vistoli (2000). Lipophilicity profile of WB-4101 analogues using the ILM approach. *INTERNET JOURNAL OF CHEMISTRY*, vol. 3. art. 13, ISSN: 1099-8292.
98. A. Pedretti, G. Vistoli, A.M. Villa, L. Villa (1999). Modelling of the interactions of some inhibitors with the farnesyl protein transferase by BioDock - Stochastic approach to automated docking of ligands to biomacromolecules. *INTERNET JOURNAL OF CHEMISTRY*, vol.2, art. 8, ISSN: 1099-8292.
99. G. Vistoli, A. Pedretti, A.M. Villa, L. Villa, U. Holzgrabe, A. Cambareri (1999). Molecular Hydropathicity Index: application to a series of allosteric modulators of the  $M_2$  receptors. *ANALYSIS*, vol. 27, p. 32-37, ISSN: 0365-4877.



100. C. Casalini, O. Spinelli, G. Cazzaniga, J. Golay, L. De Gioia L., A. Pedretti, F. Breviario, R. Amaru, T. Barbui, A. Biondi, M. Introna, A. Rambaldi (1997). Identification of two novel isoforms of the ZNF162 gene: a growing family of signal transduction and activator of RNA (STAR) proteins. GENOMICS, vol. 42, p. 268-277, ISSN: 0888-7543, doi: 10.1006/geno.1997.4705.
101. A. Pedretti, A.M. Villa, L. Villa, G. Vistoli (1997). Interactions of some PGHS-2 selective inhibitors with the PGHS-1: an Automated Docking Study by BioDock. IL FARMACO, vol. 52, p. 487-491, ISSN: 0014-827X.

#### **Monografie in volume:**

1. G. Vistoli, A. Pedretti, A. Mazzolari, B. Testa (2018). Approaching pharmacological space: Events and components. In: (a cura di): O. Nicolotti, Computational Toxicology: Methods and Protocols. METHODS IN MOLECULAR BIOLOGY, vol. 1800, p. 245-274, Humana Press Inc., ISBN: 9781493978984, ISSN: 1064-3745, doi: 10.1007/978-1-4939-7899-1\_12.
2. B. Testa, G. Vistoli, A. Pedretti (2008). A fresh Look at molecular structure and properties. In: Molecular drug properties: measurement and prediction, p. 1-23, Wiley-Vch, Weinheim, ISBN 9783527317554.
3. G. Vistoli, A. Pedretti (2007). Molecular fields to assess recognition forces and property spaces. In: (a cura di): J.B. Taylor, D.J. Triggle, Comprehensive medicinal chemistry II, p. 577-588, Elsevier, Amsterdam, ISBN 9780080445137.
4. G. Vistoli, A. Pedretti, B. Testa (2006). "Molecular fields to assess recognition forces and property spaces", In: (a cura di): B. Testa, L. Turski, Virtual ADMET assessment in target selection, p. 119-132, IOS Press, Amsterdam, ISBN 9781586037031.
5. B. Testa, G. Vistoli, A. Pedretti (2006). Musings on ADME predictions and molecular structure. In: (a cura di): B. Testa, L. Turski, Virtual ADMET assessment in target selection, p. 29-42, IOS Press, Amsterdam, ISBN 9781586037031.
6. G. Vistoli, A. Pedretti, Villa L., B. Testa (2006). The concept of property space: the case of the acetylcholine. In: (a cura di): B. Testa, S.D. Krämer, H. Wunderli-Allenspach, G. Folkers, Pharmacokinetic profiling in drug research, p. 353-365, Verlag Helvetica Chimica Acta, Basel, ISBN 3906390357.
7. A. Pedretti, A.M. Villa, L. Villa, G. Vistoli (1997). Modelling of the interactions of some inhibitors with the PGHS-1 by BIODOCK - a stochastic approach to the automated docking of ligands to biomacromolecules. In: (a cura di): H. van de Waterbeemd, B. Testa, G. Folkers, Computer-assisted lead finding and optimization, p. 487-495, Verlag Helvetica Chimica Acta, Basel, ISBN 3906390160.

#### **Traduzione di contributi in volume:**

1. D.G. Watson, Pharmaceutical analysis. A textbook for pharmacy students and pharmaceutical chemists, edizione italiana cura di E. Cesarotti, M. Pallavicini, "Analisi Farmaceutica - Terza edizione", EDRA LSWR (2014), ISBN 9788821437496.  
Capitoli tradotti a cura di A. Pedretti:
  - Capitolo 1 - Controllo di qualità dei metodi analitici.
  - Capitolo 6 - Spettrofotometria atomica.
  - Capitolo 14 - Elettroforesi capillare ad alte prestazioni.

### **ORGANIZZAZIONE, DIREZIONE E COORDINAMENTO DI CENTRI O GRUPPI DI RICERCA NAZIONALI E INTERNAZIONALI O PARTECIPAZIONE AGLI STESSI**

#### **Partecipazione a progetti di ricerca di rilevanza nazionale e internazionale:**

1. Partecipazione al Piano Nazionale di Ripresa e Resilienza (PNRR): "Centro Nazionale per lo sviluppo di terapia genica e farmaci con tecnologia a RNA", Spoke 5 - "Innovative strategies to counteract novel antimicrobial resistant bacteria and viral infections", coordinatore scientifico d'ateneo: Stefano Centanni (dal 01/07/2022 al 30/06/2025).
2. Responsabile del progetto: "Multitarget ligands for the treatment of T2DM", Piano di Sostegno alla Ricerca - Linea 2 2021-22 (dal 01/01/2022 al 31/12/2022).
3. Partecipazione al programma di ricerca Horizon 2020: "EXaSCale smArt pLatform Against paThogEns for Corona Virus", EXSCALATE4CoV, 101003551, coordinato da Dompé Farmaceutici S.p.A. (dal 01/04/2020 al 30/09/2021).

4. Responsabile del progetto: LISA-Devel Project HPL13DW64V, "High throughput virtual screening and data analysis", CINECA, in collaborazione con Dompé Farmaceutici S.p.A. (dal 25/07/2016 al 25/01/2017).
5. Responsabile del progetto: PICO, "Drug Design as a Services (DDaaS): Integrated high performance cloud platform for in silico drug discovery", CINECA, in collaborazione con Dompé Farmaceutici S.p.A. (dal 01/02/2015 al 31/01/2016).
6. Promotore della convenzione fra l'Università degli Studi di Milano e l'Università di Belgrado al fine di incentivare attività congiunte di ricerca, didattica e mobilità di studenti e docenti, approvata con decreto rettorale 000182 del 08/01/2010 (dal 08/01/2010 al 08/01/2015).
7. Partecipazione al programma di ricerca PRIN 2009: "Progettazione e sintesi di inibitori della farnesil transferasi e sviluppo di metodologie bioanalitiche per lo studio delle interazioni ligando-proteina e dei meccanismi coinvolti nella proliferazione cellulare", area 05, coordinatore scientifico: Alberto Corsini, responsabile scientifico: Ermanno Valoti, ateneo: Università degli Studi di Milano, durata 24 mesi (dal 17/10/2011 al 17/10/2013).
8. Partecipazione al programma di ricerca PRIN 2005: "Progettazione, sintesi e valutazione farmacologica di farmaci antiaterosclerotici e ipolipemizzanti", area 03, coordinatore scientifico: Carlo Franchini, responsabile scientifico: Ermanno Valoti, ateneo: Università degli Studi di Milano, durata 24 mesi (dal 30/01/2006 al 29/01/2008).
9. Partecipazione al programma di ricerca PRIN 2004: "Metodologie avanzate in spettrometria di massa per lo sviluppo di inibitori dei processi degenerativi da stress carbonilico: peptidi/peptoidi come agenti detossificanti di aldeidi citotossiche", area 03, coordinatore scientifico: Vanni Cavrini, responsabile scientifico: Roberto Maffei Facino, ateneo: Università degli Studi di Milano, durata 24 mesi (dal 30/11/2004 al 29/11/2006).
10. Partecipazione al programma di ricerca PRIN 2003: "Progettazione, sintesi e valutazione farmacologica di farmaci antiaterosclerotici e ipolipemizzanti", area 03, coordinatore scientifico: Vincenzo Tortorella, responsabile scientifico: Ermanno Valoti, ateneo: Università degli Studi di Milano, durata 24 mesi (dal 20/11/2003 al 19/11/2005).

**Responsabilità di studi e ricerche scientifiche affidati da qualificate istituzioni pubbliche o private:**

1. Responsabile del contratto di servizio: "Studi computazionali su tossine naturali attive sul canale ionico Kv 1.3", Axxam S.p.A. (dal 20/05/2015 al 20/07/2015).
2. Responsabile del contratto di servizio: "Valutazione delle attività immunostimolanti di molecole bioattive estratte da agrumi", Parco Scientifico e Tecnologico della Sicilia S.C.P.A. (dal 26/07/2013 al 28/02/2014).
3. Responsabile Scientifico del contratto di ricerca fra Dompé Farmaceutici S.p.A. e Consorzio Milano Ricerche dal titolo "Impiego di metodologie computazionali per la progettazione e lo screening virtuale di molecole attive sul recettore TRPM8" (dal 15/06/2011 al 31/12/2012).
4. Responsabile Scientifico del contratto di ricerca fra Dompé Farmaceutici S.p.A. e Consorzio Milano Ricerche dal titolo "Analisi delle proprietà interattive di ligandi attivi sul recettore TRPM8 mediante metodiche computazionali" (dal 01/03/2010 al 28/02/2011).

**Partecipazione alle attività di un gruppo di ricerca caratterizzato da collaborazioni a livello nazionale o internazionale:**

1. Collaborazione scientifica pluriennale col Prof. Bernard Testa (Università di Losanna) che si è concretizzata in 25 pubblicazioni in extenso. Tale collaborazione si è rivolta principalmente allo studio della lipofilia molecolare, con lo sviluppo del concetto di spazio di proprietà (doi: 10.1016/j.drudis.2007.11.007), e alla predizione del metabolismo (doi: 10.1016/j.drudis.2012.01.017).

2. Collaborazioni extradipartimentali che hanno portato ad almeno una pubblicazione scientifica in estenso.

- Prof. Andreas Bender (Università di Cambridge), studio in silico del metabolismo mediato da UGT (doi: 10.1021/acsmchemlett.8b00603).
- Prof. Harold Gómez-Estrada (Università di Cartagena), modellazione per omologia della leishmanolisina e studi di docking (doi: 10.1021/acsomega.0c01584).
- Prof. Johannes Kirchmair (Università di Vienna), sviluppo di software per la predizione del metabolismo (doi: 10.1021/acs.jcim.9b00376).
- Prof. Adrian Mulholland (Università di Bristol); sviluppo di funzioni di score per il docking molecolare ed applicazione alle metallo beta-lattamasi (doi: 10.1002/prot.26227).
- Prof. Francesco Barbato (Università Federico II di Napoli); predizione del coefficiente di ritenzione delle colonne IAM per HPLC (doi: 10.1016/j.ejps.2016.11.026).
- Prof. Laura De Luca (Università di Messina); studio dell'enzima integrasi (doi: 10.1016/j.bbrc.2003.09.120).
- Prof. Ivano Eberini (Università degli Studi di Milano); simulazione dell'unfolding indotto dall'urea (doi: 10.1016/j.jmngm.2011.06.004).
- Prof. Roberto Maggi (Università degli Studi di Milano); studio dell'enzima seladin-1 (doi: 10.1016/j.steroids.2008.02.007).
- Prof. Francesco Pappalardo (Università degli Studi di Catania); approccio computazionale per la predizione dell'attivazione del sistema immunitario mediante adiuvanti presenti nel limone (doi: 10.1093/bioinformatics/btw293).
- Prof. Valeria Pittalà (Università degli Studi di Catania); studio di ligandi del recettore adrenergico alfa1a (doi: 10.1016/j.bmc.2011.06.043).
- Prof. Ilaria Russo (Università di Manchester); progettazione di inibitori della plasmepsina V come antimalarici (doi: 10.1371/journal.pone.0142509).
- Prof. Enzo Santaniello (Università degli Studi di Milano); studio in silico della catalisi enzimica (doi: 10.1016/j.tetasy.2009.07.024 e doi: 10.1016/j.bmcl.2009.03.084).

#### ATTIVITÀ QUALI LA DIREZIONE O LA PARTECIPAZIONE A COMITATI EDITORIALI DI RIVISTE SCIENTIFICHE

- Membro dell'editorial board della sezione "Computational and Theoretical Chemistry" della rivista Molecules, ISSN 1420-3049, MDPI AG, Basel, Switzerland, dal 01-03-2000 a oggi.

#### TRASFERIMENTO TECNOLOGICO

- **VEGA - Programma per la modellistica molecolare.**  
Per soddisfare le esigenze del gruppo di ricerca, negli anni è stato sviluppato il programma VEGA (J.Comput.Aided.Mol.Des. 2004, Vol. 18, 167) che viene anche distribuito a terzi tramite il sito Web [www.vegazz.net](http://www.vegazz.net). Apprezzato in ambito accademico per la sua versatilità e semplicità di utilizzo (25.149 utenti registrati e 35.822 installazioni, dato aggiornato al 07/09/2022), trova estimatori anche in ambito industriale. Fra le aziende che supportano economicamente lo sviluppo del programma vanno annoverate:
  - Bayer AG, Engineering & Technology Division, Process & Plant Safety, Leverkusen, Germania.
  - Dompè Farmaceutici S.p.A., L'Aquila, Italia.

- Institut de Recherches Servier, Croissy Sur Seine, Francia.
- Recordati S.p.A., Milano, Italia.

- **LabSim - Simulatore di laboratorio di analisi qualitativa inorganica.**

Per fronteggiare la situazione emergenziale relativa alla didattica in presenza durante la pandemia, è stato sviluppato questo simulatore basato su tecnologia HTML che consente anche l'utilizzo di visori 3D per un'esperienza didattica innovativa e più possibile aderente alla realtà. Pensato per un uso sia universitario sia a livello di scuola superiore, vanta centinaia di accessi giornalieri ed è stato utilizzato proficuamente nell'ambito del progetto 4EU+ VIRTChem finanziato dall'Unione Europea. LabSim è accessibile al sito: <https://nova.disfarm.unimi.it/labsim>

## PARTECIPAZIONE IN QUALITÀ DI RELATORE A CONGRESSI E CONVEGNI DI INTERESSE INTERNAZIONALE

1. Relatore della keynote su invito: A. Pedretti, "The complexity of drug metabolism: from experimental data to *in silico* models", 4th CC&B Workshop, University of Milan, Milan, Italy, October 2, 2018.
2. Relatore della keynote su invito: A. Pedretti, "From Library Preparation to Ligand-based and Structure-based Virtual Screening", eChemInfo - Training and Innovation Course in Drug Design, University of Milan, Milan, Italy, July 16-20, 2018.
3. Relatore della keynote su invito: A. Pedretti, "The complexity of drug discovery", Statistical Challenges in Big Data & Complex Systems CLADAG 2017 Satellite Meeting, University of Milan, Milan, Italy, September 12, 2017.
4. Relatore della keynote su invito: A. Pedretti, "The complexity of drug discovery", Statistical Challenges in Big Data & Complex Systems CLADAG 2017 Satellite Meeting, University of Milan, Milan, Italy, September 12, 2017.
5. Relatore della keynote su invito: A. Pedretti, "From Library Preparation to Ligand-based and Structure-based Virtual Screening", eChemInfo - Training and Innovation Course in Drug Design, University of Milan, Milan, Italy, July 17-21, 2017.
6. Relatore della keynote su invito: A. Pedretti, "From Library Preparation to Ligand-based and Structure-based Virtual Screening", eChemInfo - Training and Innovation Course in Drug Design, University of Milan, Milan, Italy, July 18-22, 2016.
7. Relatore della keynote su invito: A. Pedretti, "From Library Preparation to Ligand-based and Structure-based Virtual Screening", eChemInfo - Training and Innovation Course in Drug Design, University of Milan, Milan, Italy, July 18-22, 2016.
8. Relatore della comunicazione orale: A. Pedretti A., G. Vistoli, A. Mazzolari, B. Testa, "Prediction of metabolite toxicity by meta-analysis", XIII National Meeting in Medicinal Chemistry, Salerno, September 6-9, 2015.
9. Relatore della keynote su invito: A. Pedretti, G. Vistoli, A. Mazzolari, B. Testa, "Predizione della reattività di metaboliti mediante meta-analisi", 17° Congresso Nazionale SITOX Società Italiana di Tossicologia, Milan, March 17-20, 2015.
10. Relatore della keynote su invito: A. Pedretti, "Virtual screening and collaborative computing: a new frontier in drug discovery", XI Congresso Venezolano de Química, Caracas, Venezuela, June 17-20, 2013.
11. Relatore della comunicazione orale: A. Pedretti, G. Vistoli, "WarpEngine: a new distributed paradigm for parallel computing", Computationally Driven Drug Discovery Meeting, Genova, February 4-6, 2013.
12. Relatore della comunicazione orale: A. Pedretti, G. Vistoli, B. Testa, "MetaPies, an annotated database for metabolism analysis and prediction: results and future perspectives", Computationally Driven Drug Discovery Meeting, L'Aquila, November 21-23, 2011.
13. Relatore della comunicazione orale: A. Pedretti, A. Labozzetta, A.R. Beccari, A. Moriconi, G. Vistoli, "Exploring the interaction capacities of TRPM8 channel by docking analyses and MD simulations", XXIV Congresso Nazionale della Società Chimica Italiana, Lecce, September 11-16, 2011.

14. Relatore della keynote su invito: A. Pedretti, G. Vistoli, "Protein modelling by fragmental approach: connecting global homologies with local peculiarities", 47th Meeting of Serbian Chemical Society, Belgrade, Serbia, March 21, 2009.
15. Relatore della keynote su invito: A. Pedretti, C. Marconi, G. Vistoli, "GriDock: An MPI-based software for virtual screening in drug discovery", Grid OpenDays on New frontiers in Drug Discovery: Models & Grid Computing, Catania, Italy, January 22-23, 2009.
16. Relatore della keynote su invito: A. Pedretti, A. Mazzolari, G. Vistoli, "VEGA ZZ: a versatile toolkit for drug design and protein modelling", Il Congreso de Fisicoquímica Teórica y Computacional, Choroni - Aragua, Venezuela, December 2-4, 2008.
17. Relatore della flash communication: A. Pedretti A., G. Vistoli, "Modelling the folding of transmembrane proteins using a novel fragmental approach: the human ghrelin receptor and the glutamate transporter EAAT1", Euro QSAR2006, Civitavecchia (Italy), September 10-17, 2006.

## **ATTIVITÀ GESTIONALI, ORGANIZZATIVE E DI SERVIZIO**

**INCARICHI DI GESTIONE E AD IMPEGNI ASSUNTI IN ORGANI COLLEGIALI E COMMISSIONI, PRESSO RILEVANTI ENTI PUBBLICI E PRIVATI E ORGANIZZAZIONI SCIENTIFICHE E CULTURALI, OVVERO PRESSO L'ATENEO O ALTRI ATENEI**

- Referente per l'assicurazione della Qualità del CdS in Farmacia dell'Università degli Studi di Milano (dal 01/01/2017 ad oggi).
- Membro del Collegio dei Docenti del Dottorato in Scienze Farmaceutiche (DOT1315771) dell'Università degli Studi di Milano (dal 09/09/2013 a oggi).
- Membro della Commissione per il Riordino del CdS in Chimica e Tecnologia Farmaceutiche dell'Università degli Studi di Milano (dal 01/01/2022 ad oggi).
- Docente tutor per gli studenti dei primi due anni del CdS in Farmacia dell'Università degli Studi di Milano (dal 01/10/2011 ad oggi).
- Membro della Commissione esaminatrice per l'ammissione nell'Anno Accademico 2017/2018 (XXXII ciclo) al corso di dottorato di ricerca in Scienze Farmaceutiche, Università degli Studi di Milano (dal 07/09/2017 al 15/09/2017).
- Membro della commissione giudicatrice del concorso pubblico, per titoli ed esami, a n. 1 posto di categoria D, posizione economica D1 - Area Tecnica, Tecnico-Scientifica ed Elaborazione Dati, tecnico di laboratorio con rapporto di lavoro subordinato a tempo indeterminato, full time, presso il Dipartimento di Scienze Farmaceutiche - codice 19228 dell'Università degli Studi di Milano (dal 20/04/2018 al 03/05/2018).
- Membro della commissione giudicatrice per gli esami di Stato per l'abilitazione alla professione di Farmacista per l'anno 2019.
- Presidente della commissione giudicatrice del concorso pubblico, per titoli ed esami, a n. 1 posto di categoria C, posizione economica C1 - Area Tecnica, Tecnico-Scientifica ed Elaborazione Dati, con rapporto di lavoro subordinato a tempo indeterminato, full time, Sistemista di rete, presso la Direzione Ict - codice 22133 dell'Università degli Studi di Milano (dal 08/06/2022 al 18/07/2022).
- Membro della Commissione esaminatrice per l'ammissione nell'Anno Accademico 2022/2023 (XXXVIII ciclo) al corso di dottorato di ricerca in Scienze Farmaceutiche, Università degli Studi di Milano (dal 05/09/2022 al 16/09/2022).
- Membro del Comitato Scientifico di Unitech-INDACO dell'Università degli Studi di Milano (da 16/12/2015 a 28/02/2018).
- Membro della commissione COSP di Scienze del Farmaco (da 01/09/2008 a 31/05/2013).

- Rappresentante dei ricercatori presso la giunta di Dipartimento (da 01/07/2010 al 30/06/2011).
- Responsabile del sito Web FA.RE. di Scienze del Farmaco (da 01/01/2006 al 30/09/2018).
- Membro del Comitato di Gestione di W4 (da 01/03/2007 a 31/12/2009).

Data

07/09/2022

Luogo

Sedriano