

**Progetto e Piano formativo per due assegni di ricerca dal titolo: “Design and synthesis of proteolysis targeting chimeras (PROTACs) directed to trypanothione reductase enzyme” – Tutor: Prof.ssa Maria Laura Bolognesi**

L'attività prevista per i due assegni di ricerca rientra nell'ambito del progetto FISR2019\_03796 dal titolo: “*PROLEISH (proteolysis targeting chimeras (PROTACs) to treat leishmaniasis)*”, Responsabile scientifico e titolare dei fondi: Prof.ssa Maria Laura Bolognesi.

PROLEISH ha come obiettivo quello di sviluppare strumenti terapeutici completamente innovativi per il trattamento farmacologico della leishmaniosi. La leishmaniosi è una malattia protozoaria con alti tassi di morbilità e mortalità.<sup>1</sup> La malattia è endemica nelle aree tropicali e subtropicali ma anche nell'Europa meridionale, rappresentando una minaccia anche per l'Italia.<sup>2</sup> Un ulteriore fattore d'allarme è il fatto che la leishmaniosi è una malattia zoonotica. L'obiettivo è l'eradicazione, anche se ad oggi questo risulta ancora poco realistico. Infatti, ci sono pochissimi farmaci disponibili, tutt'altro che ottimali. L'efficacia limitata, gli effetti collaterali tossici, le modalità di somministrazione inadeguate e lo sviluppo di resistenza, costituiscono i limiti principali per le terapie attuali e accrescono l'esigenza di sviluppare nuovi farmaci.<sup>3</sup>

In questo contesto, PROLEISH propone lo sviluppo di una serie di *Proteolysis Targeting Chimeras* (PROTAC) per la prima volta applicati alla leishmaniosi. In particolare, PROLEISH mira a sviluppare delle chimere dirette all'enzima tripanotione reductasi (TR), come target anti-leishmania ben validato e ampiamente studiato.<sup>4</sup>

I PROTACs sono piccole molecole bifunzionali che coinvolgono simultaneamente una ubiquitina ligasi E3 e una proteina di interesse (POI). La formazione di un complesso ternario tra POI-PROTAC-E3 induce l'ubiquitinazione della POI mediata dalla ligasi-E3 e la conseguente degradazione selettiva della POI da parte del proteasoma.

Mentre l'approccio PROTAC è già stato ampiamente esplorato nel campo dell'oncologia, dove nel 2019 è stata presentata la prima molecola in fase clinica,<sup>5</sup> questo non è mai stato applicato al campo della leishmaniosi, né tantomeno esistono chimere dirette all'enzima TR. Il tripanotione è utilizzato da *Leishmania* nel mantenimento dell'equilibrio redox. Il tripanotione viene ridotto dalla tripanotione reductasi (TR). Sia il tripanotione che l'enzima TR sono essenziali per la sopravvivenza dei parassiti: il sistema tripanotione/TR sostituisce il glutatione/GR presente nell'ospite umano. Le strutture a raggi X della TR di *Leishmania infantum* e *Trypanosoma brucei* sono disponibili sia nella forma apo che nella forma complessata con l'inibitore, così come una serie di inibitori della TR basati su *scaffold* chimici differenti.

All'interno del progetto FISR2019\_03796 l'Unità dell'Università di Bologna è deputata alla progettazione e sintesi di PROTACs diretti all'enzima tripanotione reductasi (TR).

Gli assegnisti saranno coinvolti in uno degli obiettivi di PROLEISH, cioè quello riguardante lo sviluppo di PROTACs aventi come target la TR. Partendo da dei derivati fenotiazinici, e dalla loro struttura ad alta risoluzione complessata con la TR si individueranno siti di attacco idonei per il legame con la porzione di reclutamento della E3. In parallelo, sfruttando studi computazionali, strutturali e di chimica farmaceutica, verranno progettati e sintetizzati i frammenti che interagiscono con la ligasi E3. Attraverso cicli di chimica farmaceutica, supportata dall'analisi della struttura ai raggi X, verrà sintetizzato un set di PROTACs combinando questi due frammenti tramite un opportuno *linker*.

Alla progettazione e sintesi delle molecole seguiranno i saggi per valutare (a) la loro capacità di legarsi sia alla ligasi E3 che alla TR; (b) la loro attività contro i promastigoti/amastigoti di diversi ceppi di *Leishmania* c) causare l'ubiquitinazione e la degradazione di TR. Questi saggi saranno effettuati dagli altri gruppi di ricerca partecipanti al progetto con cui gli assegnisti collaboreranno attivamente.

Risulta necessario attivare due assegni di ricerca per la progettazione e sintesi delle molecole nell'ambito del progetto sopra descritto, come del resto già previsto nel piano finanziario del progetto stesso.

---

## Bibliografia

<sup>1</sup> Alvar, J.; Vélez, I. D.; Bern, C.; Herrero, M.; Desjeux, P.; Cano, J.; Jannin, J.; den Boer, M.; Team, W. L. C. *Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. PLoS One* **2012**, 7 (5), e35671.

<sup>2</sup> Gramiccia, M.; Scalone, A.; Di Muccio, T.; Orsini, S.; Fiorentino, E.; Gradoni, L. *The burden of visceral leishmaniasis in Italy from 1982 to 2012: a retrospective analysis of the multi-annual epidemic that occurred from 1989 to 2009. Euro Surveill* **2013**, 18 (29), 20535.

<sup>3</sup> Field, M. C.; Horn, D.; Fairlamb, A. H.; Ferguson, M. A. J.; Gray, D. W.; Read, K. D.; De Rycker, M.; Torrie, L. S.; Wyatt, P. G.; Wyllie, S. et al. *Anti-trypanosomatid drug discovery: an ongoing challenge and a continuing need. Nat Rev Microbiol* **2017**, 15 (7), 447.

<sup>4</sup> Battista, T.; Colotti, G.; Ilari, A.; Fiorillo, A. *Targeting trypanothione reductase, a key enzyme in the redox trypanosomatid metabolism, to develop new drugs against Leishmaniasis and Trypanosomiasis. Molecules* **2020**, 25(8), 1924.

<sup>5</sup> <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03888612>.