



UNA START-UP TECNOLOGICAMENTE AVANZATA NEL CUORE VERDE D'ITALIA

Nell'articolo viene descritto il progetto di nascita di una start-up in Umbria, "cuore verde d'Italia", regione comunemente associata alla bellezza della natura, alla ricchezza culturale e alle prelibatezze eno-gastronomiche, con l'obiettivo di creare un centro di ricerche e servizi altamente tecnologico in cui il know-how di scienziati altamente qualificati sia usato a fini progettuali, di servizio e per innovazione in collaborazione con altre realtà regionali, nazionali e internazionali.

Molecular Horizon Srl (in seguito, più brevemente anche "MH") si costituisce nell'ottobre 2016 iscrivendosi presso il Registro delle Imprese di Perugia in qualità di Start-Up Innovativa. L'azienda stabilisce la sua sede nelle campagne umbre, in un luogo unico in cui tradizione e innovazione convivono sinergicamente. Nel 2022 MH raggiunge lo status di piccola-media impresa innovativa (PMI), superando le prospettive di vita media delle start-up in Italia.

Le principali attività di MH riguardano:

- 1) la progettazione di composti chimici, di materiali biochimici e biologici;
- 2) la ricerca e lo sviluppo di software per la progettazione e lo studio dell'impatto nell'uomo, negli animali e nell'ambiente di entità chimiche e biologiche;
- 3) la ricerca e consulenza nei settori della chemiometria, progettazione di farmaci, lipidomica e metabolomica.

L'attività di ricerca e sviluppo software si articola ulteriormente in due linee di ricerca, che verranno descritti nei prossimi paragrafi:

- sviluppo di software e di database integrati su cloud per dati sperimentali, modelli QSAR per predizioni *in silico*, metadati;
- progettazione e sviluppo di soluzioni IT per la lipidomica e metabolomica.



Il team di 10 dipendenti è composto in prevalenza da donne e da dottori di ricerca. Per realizzare queste attività, inoltre, MH si avvale della collaborazione con numerose università (prima fra tutte, la vicina Università degli Studi di Perugia, attraverso le collaborazioni di ricerca attualmente in atto con il Dipartimento di Chimica, Biologia e Biotecnologie), con centri di ricerca e aziende leader in questi settori.

Unitamente alle attività di ricerca e sviluppo industriale, MH è attiva nell'organizzazione di workshop ed eventi di formazione per i giovani ricercatori e le giovani ricercatrici, non solo nell'ambito degli specifici settori di interesse, ma anche di *soft skills*, competenze trasversali, possibilità di carriera nel mondo delle start-up e PMI.



Strategie computazionali nella ricerca farmaceutica: identificazione e progettazione di molecole terapeutiche

Il processo di scoperta e sviluppo di un nuovo farmaco inizia comunemente con l'identificare il potenziale bersaglio farmacologico, cioè l'elemento o il meccanismo biologico su cui intervenire per modificare il corso di una malattia. Inoltre, è necessario individuare nuove molecole che siano attive sui bersagli biologici stessi, al fine di esercitare l'effetto terapeutico desiderato. Per questi scopi, l'industria farmaceutica si serve spesso di metodi computazionali per identificare e progettare molecole. L'utilizzo di strumenti di calcolo computazionale per la ricerca composti iniziali (*hits*) e l'ottimizzazione dei composti principali (*leads*) durante lo sviluppo di un farmaco è, infatti, cruciale per rendere queste fasi efficienti, specialmente in termini di rapporto costi-benefici.

Da sempre la protagonista indiscussa di questi processi è l'interazione farmaco-recettore, vista come l'evento molecolare iniziatore di una serie di eventi biochimici volti al miglioramento della malattia, o in caso contrario, all'insorgenza di un effetto collaterale o di una tossicità.

La Molecular Horizon affronta quotidianamente queste sfide servendosi di GRID [1], uno degli strumenti leader nel *drug design* per la valutazione del tipo, dell'energia e della direzione delle interazioni che una proteina target è in grado di realizzare con una molecola.

In questo modo, il team di MH ha creato un database interno di circa 1 milione di cavità, calcolate e caratterizzate a partire da tutte le strutture proteiche depositate nel Protein Data Bank [2]. Questo database di cavità è stato usato per svariati tipi di approcci sia di ricerca interna che al servizio di industrie farmaceutiche o alimentari. MH combina questi metodi con approcci statistici multivariati, intelligenza artificiale e simulazione al computer usando un cluster di *cloud computing* iperveloce, al servizio di diversi progetti di ricerca e sviluppo, in tutti gli aspetti della scoperta di farmaci e della tossicologia predittiva.

Ad esempio, in uno studio del 2019 [3] abbiamo applicato questo approccio per effettuare un confronto più ampio tra il bisfenolo A (BPA) (sostanza chimica per imballaggi alimentari e noto interferente

endocrino) e l'estrogeno endogeno 17β -estradiolo (EST), eseguendo uno screening *in silico* sull'intero proteoma. La forte correlazione tra le previsioni *in silico* e i dati *in vitro* disponibili dimostra l'elevato potere predittivo del metodo utilizzato. Il risultato più sorprendente, per esempio, è che il BPA può legarsi a molte più proteine di quelle già note, la maggior parte delle quali comuni alle EST, fornendo una nuova interpretazione della tossicità della molecola. Uno dei primi progetti messi in campo da MH è la "Piattaforma Integrata per la Ricerca e lo Sviluppo di Farmaci Innovativi per le Malattie Oncologiche e Metaboliche", un programma strategico presentato da un consorzio composto da MH e altre tre aziende. L'obiettivo è unire le diverse ma complementari competenze delle aziende partecipanti per sviluppare molecole innovative che possano aprire nuovi orizzonti terapeutici nel campo delle malattie oncologiche e metaboliche. Questo programma ha coinvolto tre aziende umbre: Molecular Horizon Srl, Sterling SpA e TES Pharma Srl, insieme all'esperienza e alla competenza di Dompé Farmaceutici SpA, che ha svolto il ruolo di coordinatore. La strategia di base del programma si focalizza sulla creazione di una Discovery Platform, una nuova ed efficiente piattaforma di comunicazione e di ricerca e sviluppo collaborativo. Questa piattaforma unisce

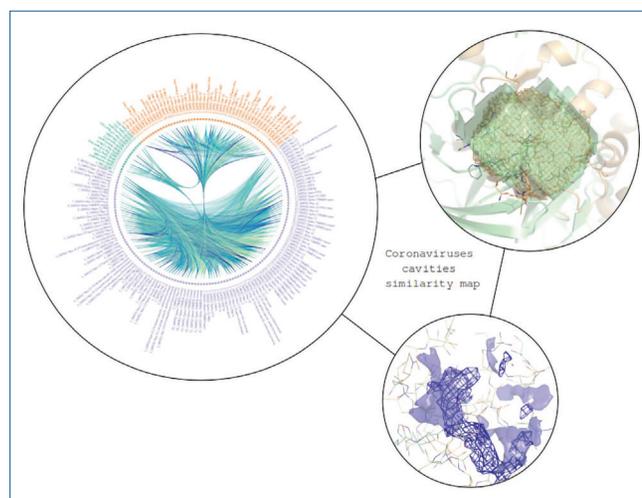


Fig. 1 - A sinistra, la mappa di relazioni incrociate tra pocket di proteine dei Coronavirus (MERS-CoV in verde, SARS-CoV in arancione, SARS-CoV-2 in viola). A destra, un esempio di similarità fra pocket di proteine riportato come campi di interazione molecolare (forma e accettori di legami ad idrogeno). Le proteine riportate sono SARS-CoV-2 M^{pro} e PL^{pro} che rappresentano un punto di partenza ottimale per lo sviluppo di terapie multi-target

le competenze dei partner per sviluppare nuove molecole farmacologicamente attive, per rispondere alle esigenze mediche legate al trattamento delle malattie oncologiche e metaboliche.

Nel 2020, invece, il progetto di ricerca PRO-CURA, promosso da Molecular Horizon Srl e supervisionato scientificamente da Lydia Siragusa, ha proposto un approccio innovativo e sinergico mirato a combattere le infezioni da coronavirus patogeni (CoVs, Fig. 1). Obiettivo principale del progetto è quello di sviluppare candidati farmaci innovativi e potenti anti-SARS-CoV-2 basati sulla tecnologia farmaceutica emergente PROTAC (PROteolytic TARgeting Chimeras) e dotati sia di attività anti-coronavirus ad ampio spettro che di un'elevata barriera contro l'insorgenza di potenziali resistenze ai farmaci. Nuovi farmaci PROTAC verranno sviluppati con lo scopo di distruggere le principali proteine virali come la proteasi (Mpro) e il complesso nsp12 della RNA polimerasi RNA-dipendente (RdRP), partendo da una ricerca già effettuata nella nostra società mediante intelligenza artificiale, e che ha fornito dei risultati molto interessanti (alcuni PROTAC con dimostrate proprietà antivirali [4, 5]).

Questo studio sarà fondamentale per identificare le interazioni più conservate in diversi CoVs e garantire la progettazione di composti con effetto antivirale ad ampio spettro.

Negli ultimi anni, la MH ha anche lavorato nell'ambito del metabolismo di fase I e di fase II al fine di prevedere se avvengano reazioni di biotrasformazione, dove avvengono e per quale motivo strutturale avvengono. Il metodo è anche in grado di prevedere le regioni di una molecola che contribuiscono in larga misura all'esposizione di un determinato gruppo chimico nel centro reattivo dell'enzima considerato.

Competenze analitiche e computazionali per soluzioni innovative nel campo dell'analisi dati omici

La linea di ricerca e sviluppo in ambito di soluzioni IT per analisi dati *omici* nasce dall'incontro sinergico tra esperienza e competenza in ambito chemiometrico e chemioinformatico propri del team di MH e dalla collaborazione con il laboratorio sperimentale LC-MS/MS per la lipidomica e il metabolismo del Dipartimento di Chimica, Biologia e Biotecnologie dell'Università degli Studi di Perugia.

Grazie all'incontro piuttosto unico di competenze analitiche e computazionali, rapidamente l'azienda

si è proposta sul mercato con soluzioni innovative e altamente funzionali. Tra queste, un software *vendor-neutral* ad alta produttività che supporta efficacemente sia la lipidomica LC-MS *targeted* che *untargeted*, implementando l'acquisizione dei dati grezzi, un'analisi multivariata *user-friendly* (utilizzata per la generazione di modelli e previsioni su nuovi campioni), e protocolli avanzati di identificazione dei lipidi e dei metaboliti dei farmaci (MetID), fondamentale nelle applicazioni di efficacia e sicurezza dei farmaci e negli studi traslazionali [6].

Tra i progetti di ricerca in cui MH è coinvolta, menzioniamo il progetto europeo CHOKO-AGE <https://chokoage.eu/> (ERA-NET Cofund ERA-HDHL, GA N° 696295 del Programma di Ricerca e Innovazione EU Horizon 2020). Utilizzando una combinazione di approcci multidisciplinari, CHOKO-AGE si impegna a comprendere i meccanismi biologici dell'invecchiamento e a sviluppare strategie innovative, come, ad esempio, l'integrazione di cioccolato arricchito con vitamina E e l'esercizio fisico mirato, per promuovere un invecchiamento sano [7].

Più recentemente, MH ha esteso i suoi interessi nella direzione delle *omiche* spaziali [8], cioè dei dati di lipidomica e metabolomica acquisiti tramite spettrometria di massa per immagini (MSI). Anche in questo caso, fondamentale è stata la capacità di MH di creare un network internazionale di partner sperimentali con cui lavorare per sviluppare soluzioni davvero efficaci ed innovative.

La MSI è una tecnica analitica avanzata che combina la potenza della spettrometria di massa con la capacità di mappare la distribuzione spaziale delle molecole all'interno di un campione. Questa tecnica è ampiamente utilizzata in vari settori, inclusi la ricerca farmaceutica, la biologia molecolare, la medicina forense e la scienza dei materiali. In un esperimento di MSI, il campione integro viene scansionato e analizzato pixel per pixel (fino a risoluzione subcellulare) e per ogni posizione viene acquisito uno spettro di massa. Questi spettri possono essere elaborati per generare mappe di distribuzione spaziale delle molecole di interesse all'interno del campione.

A grandi linee, la metodologia di ricerca utilizzata si basa su diversi algoritmi, dall'"Analisi d'immagini multivariata" (MIA) fino alle più recenti soluzioni di segmentazione interattiva che fanno uso di *deep learning* e intelligenza artificiale, e ha come obiettivo quello di estrapolare correlazioni spaziali tra *pixel* (o *voxel*), al fine di fornire informazioni utili per interpre-



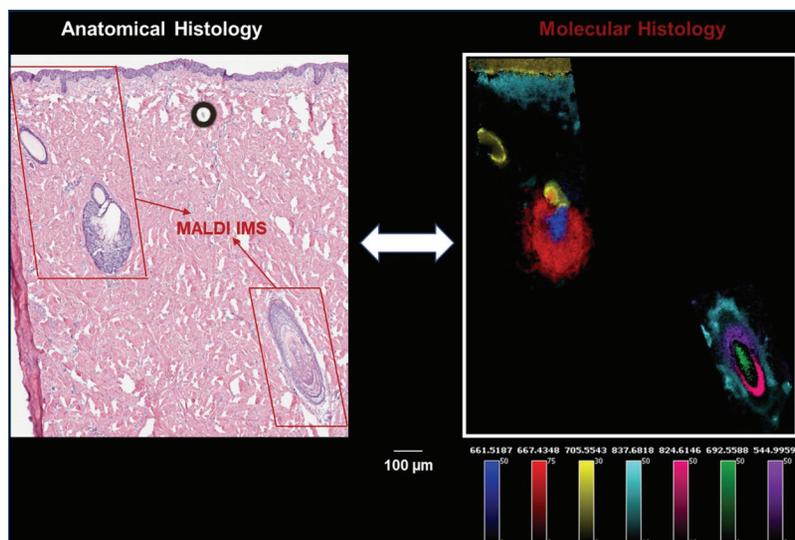


Fig. 2 - Esempio di analisi di spettrometria di massa per immagini (MALDI FT-ICR), tratto dal lavoro [9]. A sinistra, un'immagine di tessuto di pelle dopo colorazione istologica, dove si apprezzano follicoli e altre compartimentalizzazioni caratteristiche. A destra, una mappa molecolare che evidenzia la distribuzione di diversi lipidi nelle diverse strutture. Questi risultati forniscono una base per l'indagine dei percorsi biochimici così come dei meccanismi delle malattie e della farmacologia della pelle, che sono cruciali per la scoperta di farmaci e lo studio delle malattie di interesse dermatologico

tare l'immagine ed identificare regioni simili/dissimili a livello di composizione molecolare.

L'MSI ha una vasta gamma di applicazioni. Ad esempio, può essere utilizzata per mappare la distribuzione di farmaci all'interno di tessuti biologici, identificare biomolecole in campioni biologici, analizzare campioni ambientali per tracciare inquinanti, e molto altro ancora (Fig. 2, Fig. 3). La sua capacità di combinare informazioni spaziali e molecolari la rende una potente tecnica analitica per la caratterizzazione di una vasta gamma di campioni complessi.

Una delle applicazioni più originali a cui attualmente MH sta lavorando riguarda un progetto di ricerca in collaborazione con il gruppo della Prof.ssa Simona Francese della Sheffield Hallam University (UK), centrato sull'uso della tecnica MSI per analizzare le impronte digitali, consentendo una valutazione più dettagliata e approfondita rispetto alle tecniche convenzionali. In **questo TEDtalk** la Prof.ssa Francese spiega in maniera chiara i benefici e le potenzialità di questa ricerca.

Infine, per sottolineare nuovamente la versatilità e il carattere multidisciplinare che contraddistingue l'azienda, l'esperienza maturata nell'ambito di analisi multivariata di immagini hanno permesso a MH di proporre soluzioni innovative non solo nell'ambito delle scienze omiche, ma anche in quello della diagnostica per immagini.

Ne è un esempio il progetto AiD3 (Artificial Intelligence for 3D Digital medical imaging, POR FESR 2014-2020. Asse I Azione 1.3.1), supervisionato scientificamente dalla Dott.ssa Sara Tortorella, realizzato in collaborazione con i Dipartimenti di Ingegneria e di Medicina dell'Università degli Studi di Perugia.

Il progetto ha avuto come obiettivo la realizzazione di un software di Intelligenza Artificiale (AI) che permette di supportare, validare, velocizzare e quindi abbattere i costi del processo di interpretazione di file DICOM in medicina (Digital Imaging and Communications in Medicine, immagini e comunicazione digitali in medicina) quali TAC, RMI, Ecografie 3D, al fine di venire incontro alle necessità mediche legate alla diagnosi di varie patologie, nonché allo sfruttamento di innovative tecnologie digitali e stampa 3D in ambito medico che portano nei processi sanitari risparmi mi-

surabili e significativi, un outcome medico superiore e sono orientate verso la terapia personalizzata.

Hard e soft skills per il terziario

Lavorare in una start-up/PMI innovativa richiede una combinazione di *hard* e *soft skills*.

Tra le *hard skills*, sicuramente annoveriamo le competenze tecniche, le capacità di *problem solving* (essere in grado di identificare i problemi e proporre soluzioni innovative è essenziale per affrontare le sfide quotidiane), la conoscenza del settore, in quanto la comprensione approfondita del mercato in cui opera la start-up è fondamentale per guidare le decisioni strategiche.

Non possono poi mancare capacità di pianificare, organizzare e gestire progetti complessi per raggiungere obiettivi definiti. Strettamente legato a questo aspetto, menzioniamo le capacità finanziarie: comprendere i principi di base della gestione finanziaria e sapere come leggere bilanci, fare previsioni finanziarie e gestire le risorse finanziarie della start-up.

Per le *soft skills*, sulla base della nostra esperienza, sono fondamentali:

- creatività: essere in grado di pensare in modo creativo e innovativo per generare nuove idee e soluzioni;
- adattabilità: le start-up possono essere dinamiche e in rapida evoluzione, quindi è importante essere flessibili e adattabili ai cambiamenti;

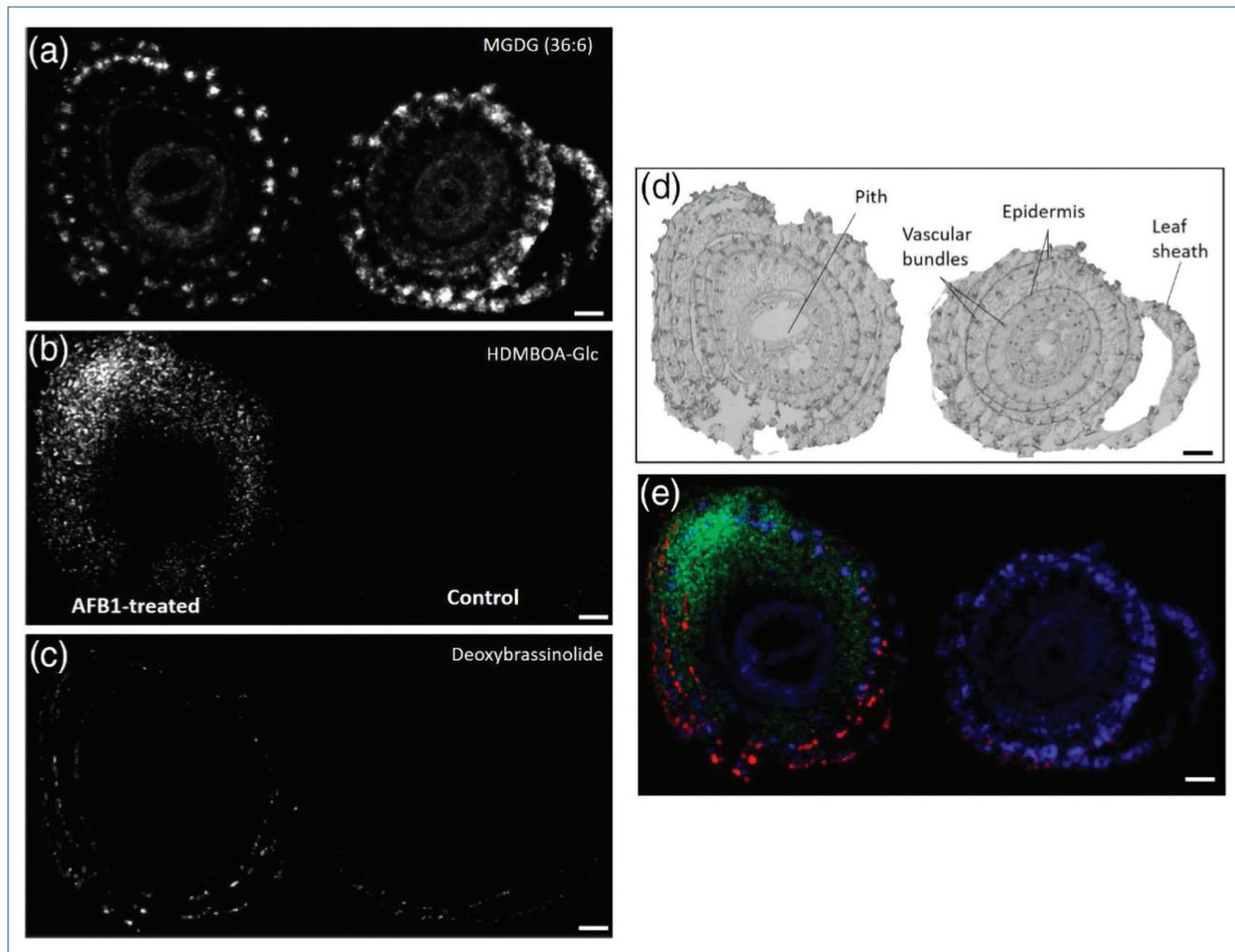


Fig. 3 - Analisi AP-SMALDI di metaboliti correlati alla difesa indotti da AFB1 nel fusto di mais, dall'articolo [10]. Alcuni metaboliti sono risultati diffusi sia nei fusti di controllo (a destra) che nei fusti trattati (a sinistra) (a). Altri sono stati trovati solo nella guaina esterna del fusto trattato (b, c). d) Immagine ottica delle sezioni del fusto di mais trattato con AFB1 rispetto al controllo, con le principali caratteristiche morfologiche etichettate. (e-f) Immagine sovrapposta di MGDG (36:6), m/z 813,4914 (blu), HDMBOA-Glc [M + H]⁺, m/z 388,1234 (verde), e deoxybrassinolide [M + K]⁺, m/z 503,3133 (rosso)

- spirito imprenditoriale: avere una mentalità imprenditoriale, essere orientati ai risultati e disposti a assumersi rischi;
- capacità di comunicazione: essere in grado di comunicare in modo chiaro ed efficace con il team interno, i clienti, gli investitori e altri stakeholder;
- spirito di collaborazione: lavorare bene in team e avere la capacità di collaborare con persone provenienti da diverse aree di competenza.

La domanda è: come maturare le *soft skills* necessarie?

Sara Tortorella: "La mia carriera accademica è stata caratterizzata da numerose esperienze all'estero presso gruppi di ricerca di eccellenza, tra cui la Northwestern University (US), l'University of York (UK), il Barcellona Biomedical Research Park (ES), la Gla-

xoSmithKline (US) e la Wageningen University and Research (NL). Grazie alle mie esperienze di ricerca internazionale, ho sviluppato competenze nella divulgazione della scienza e della ricerca, che mi hanno portato a collaborare con enti pubblici, privati, associazioni culturali e di volontariato.

Condivido questo excursus perché non ho alcuna difficoltà ad ammettere che gran parte delle competenze, soprattutto quelle di natura *soft*, che mi consentono oggi di svolgere serenamente e con successo il mio ruolo in MH, sono state acquisite attraverso percorsi ed esperienze di apprendimento non formali e informali, al di fuori dei tradizionali canali di formazione. Sebbene la formazione accademica ricevuta durante i corsi di laurea in chimica sia stata indispensabile, essa da sola non sarebbe stata sufficiente. Da



un lato, mi auguro che, in futuro, questi corsi evolvano nella direzione di una maggiore diversificazione dell'offerta formativa, includendo discipline non strettamente legate alla chimica e alla ricerca accademica. Dall'altro, vorrei incoraggiare tutti i/le giovani a coltivare le proprie passioni, anche quando sembrano distanti dalla formazione accademica che si è scelto di seguire: non si sa mai che un giorno questi due mondi si incontrino...e magari sarete proprio voi a immaginare come!

Sono profondamente convinta che la chimica sia la scienza chiave per affrontare le sfide complesse della modernità, ma per farlo è essenziale essere dotati di un bagaglio più ampio di competenze e di una visione multidisciplinare. Esistono numerose opportunità di successo per i giovani chimici e le giovani chimiche, che attendono solo di essere colte. Siate pronti e coraggiosi!”

E come si arriva a lavorare in un contesto così multidisciplinare? C'è un percorso lineare da seguire, oppure...?

Lydia Siragusa: “Posso affermare con certezza che la mia storia in questo ambito inizia molti anni fa durante il corso universitario di Chimica Farmaceutica. Il professore ordinario era assente e al suo posto arrivò un ricercatore che, anziché proseguire con le lezioni del programma, ci parlò di chimica computazionale, di topografia del sito attivo di proteine, di docking e di approcci di drug design basati sui ligandi. Tutti concetti che allora non erano così noti come oggi, e soprattutto non erano parte dei percorsi di studio canonici. Mi innamorai di quella lezione e, contrastando dubbi e incertezze della maggior parte di amici e professori del corso universitario, decisi di preparare la mia tesi di laurea sperimentale proprio in chimica computazionale, con quel ricercatore. Durante quel periodo ho letto un libro sui campi di interazione molecolare, una tecnica che tutt'oggi utilizzo nei miei studi. Anche in quel caso me ne innamorai e cercai sul web dove poter incontrare l'autore del libro. Scoprii con grande gioia che era un professore che teneva lezioni in un master universitario. Così, utilizzando i fondi della Regione Puglia che permettevano agli studenti di seguire percorsi di formazione in altre regioni, sono partita. Il tirocinio pratico del master era però previsto in realtà lavorative che a me interessavano meno e, dunque, ho dovuto insistere affinché potessi farlo proprio con il professore per cui ero andata lì, che peraltro si era mostrato molto disponibile. E poi la mia carriera da ballerina classi-

ca e contemporanea ha aggiunto il giusto pizzico di disciplina e creatività. Grazie a perseveranza e a una forte convinzione, ho ottenuto quello che era il mio obiettivo, che mi ha portato oggi a lavorare nella realtà in cui sono e a collaborare con molte università e aziende private fra cui Università di Trieste, Università “La Sapienza”, Università di Bari, Technologie Servier - Orleans (France), Institute for Research for Biomedicine (IRB) - Barcelona (Spain), Nestlé - Chemical Food Safety - Lausanne (Switzerland), Sosei Heptares (UK), HotSpot Therapeutics (US).

Morale della favola: è necessario innamorarsi di quello che si fa, e battersi per ottenerlo, anche se ci porta al di fuori dei percorsi canonici.”

BIBLIOGRAFIA

- [1] P.J. Goodford, *J. Med. Chem.*, 1985, **28**, 849.
- [2] H.M. Berman, J. Westbrook et al., *Nucleic Acids Research*, 2000, **28**, 235.
- [3] E. Lo Piparo, L. Siragusa et al., *ALTEX - Alternatives to animal experimentation*, 2020, **37**, 85.
- [4] L. Siragusa, G. Menna et al., *J. Chem. Inf. Model.*, 2022, **62**, 2901.
- [5] J. Desantis, B. Mercorelli et al., *Eur. J. Med. Chem.*, 2021, **226**, 113814.
- [6] L. Goracci, S. Tortorella et al., *Analytical Chemistry*, 2017, **89**, 6257.
- [7] A. Pedrinolla, M. Isanejad et al., *BMJ Open*, 2023, **13**, e072291.
- [8] S. Tortorella, P. Tiberi et al., *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, 2020, **31**, 155.
- [9] F. Xie, M.R. Groseclose et al., *Pharmaceuticals*, 2022, **15**, 411.
- [10] L. Righetti, D.R. Bhandari et al., *Plant J.*, 2021, **106**, 185.

A Technologically Advanced Start-Up in the Green Heart of Italy

The article describes the project for the birth of a start-up in Umbria, the “green heart of Italy”, a region commonly associated with the beauty of nature, cultural richness and food and wine delicacies, with the aim of creating a highly technological research and service center in which the know-how of highly qualified scientists is used for design, service and innovation purposes in collaboration with other regional, national and international entities.