



Fondazione per la Ricerca  
sulla Fibrosi Cistica - ETS  
fibrosicisticaricerca.it

## AREA 1

Terapie e approcci innovativi per correggere  
il difetto di base, genetica



### Progetto FFC#9/2021

Ottimizzazione di analoghi del MKT-077 come inibitori  
allosterici della HSP70 combinati con correttori CFTR  
F508del: un approccio multi-farmaco per contrastare la  
fibrosi cistica



#### Chi ha condotto la ricerca:

Responsabile: **Enrico Millo**  
(Dipartimento di Medicina Sperimentale -  
DIMES, Università degli Studi di Genova)



Partner: **Elena Cichero** (Dipartimento  
di Farmacia, Università degli Studi di  
Genova), **Santina Bruzzone** (Dipartimento  
di Medicina Sperimentale, Università degli  
Studi di Genova)



Ricercatori coinvolti: 11



Qual è la durata dello studio: 2 anni



Finanziamento: € 102.000



#### Adottato da:

Delegazione FFC Ricerca di Como Dongo





## Perché è importante

Il recupero della funzionalità del canale CFTR può essere raggiunto con più efficacia quando vengono usati modulatori con diversi meccanismi d'azione. Ciò vale anche per altre proteine coinvolte nella funzionalità del canale CFTR. Una combinazione di correttori e inibitori allosterici della HSP70 (*Heat Shock Protein 70*, proteina coinvolta nell'assemblaggio di complessi proteici come CFTR) potrebbe rappresentare una promettente strategia per ottimizzare e migliorare i trattamenti della FC.



## Che cosa hanno usato i ricercatori

Sono state disegnate nuove classi di inibitori di HSP70 usando approcci di modellistica molecolare e di chimica farmaceutica. Le nuove molecole sono state testate su cellule epiteliali bronchiali primarie con mutazione F508del.



## Che cosa hanno fatto i ricercatori

Partendo dalla struttura di MKT-077, un noto inibitore di HSP70, è stato individuato un nuovo composto attivo chiamato Ia, più stabile del precursore e perciò usato come prototipo per lo sviluppo di ulteriori analoghi.

La molecola è stata progressivamente migliorata attraverso cicli ripetuti di sintesi chimica e valutazione funzionale per ottenere strutture a sempre maggior efficacia.



## Che cosa hanno ottenuto

Sono stati sintetizzati circa cento nuovi composti e la loro attività è stata valutata su cellule con CFTR mutata per identificare la loro azione e migliorarne le proprietà chimiche così da renderle più potenti ed efficaci. Queste molecole hanno mostrato un incremento della funzionalità del canale CFTR se somministrate con il correttore VX-809 (lumacaftor) e suoi analoghi.



## Che cosa succederà ora

Il progetto ha confermato l'efficacia degli inibitori di HSP70 nella FC e permesso di identificare molecole da avviare alla successiva ottimizzazione. Sono in corso analisi su cellule primarie bronchiali per valutare alcune combinazioni tra correttori e nuovi inibitori di HSP70.

## Per saperne di più



### Obiettivi

**L'efficacia dei correttori di CFTR mutata è aumentata se somministrati in combinazione con inibitori della proteina HSP70: sintesi di nuovi inibitori della HSP70 e test della loro efficacia su modelli cellulari**

Recentemente è stato dimostrato che il recupero efficace della funzionalità del canale CFTR può essere raggiunto con correttori quando somministrati in presenza di inibitori allosterici della HSP70 (*Heat Shock Protein 70*), proteina coinvolta nell'assemblaggio di complessi proteici (come CFTR). L'obiettivo di questo progetto è pertanto quello di identificare nuovi inibitori della HSP70. I ricercatori sintetizzeranno nuovi inibitori della HSP70 usando metodi convenzionali di sintesi chimica e, con saggi biochimici e funzionali, testeranno l'efficacia del recupero di CFTR mutata in presenza di correttori. Con metodi bioinformatici, di sintesi chimica e con saggi funzionali, i ricercatori si prefiggono inoltre di generare analoghi di un inibitore noto della HSP70, la rodocianina MKT-077. Le combinazioni di inibitori e correttori (VX-809 e altri) saranno testate su cellule epiteliali bronchiali primarie.



### Risultati

**Sviluppati nuovi inibitori della proteina HSP70 che aumentano la funzionalità dei correttori di CFTR se somministrati in combinazione con essi**

L'uso di modulatori con diversi meccanismi d'azione è efficace nel recupero della funzione del canale CFTR: per esempio, è stata testata la somministrazione di combinazioni tra correttori e inibitori allosterici della *Heat Shock Protein 70* (HSP70), una proteina coinvolta nell'assemblaggio di complessi proteici come CFTR.

Lo scopo del progetto era identificare e ottimizzare nuovi inibitori di HSP70 da associare a correttori tradizionali, come il lumacaftor, per migliorare la funzionalità del canale CFTR.

Partendo dalla struttura di MKT-077, un noto inibitore di HSP70, sono state disegnate nuove molecole tramite approcci bioinformatici e di sintesi chimica. Tra queste è stato individuato un primo composto attivo, con una particolare struttura chimica detta tiazolica, chiamato Ia, con una maggiore stabilità rispetto a MKT-077. Questo composto ha rappresentato il nuovo prototipo per lo sviluppo di nuovi analoghi.

La molecola è stata progressivamente migliorata attraverso cicli ripetuti di sintesi chimica e valutazione funzionale per ottenere strutture a sempre maggior efficacia.

Sono stati sintetizzati circa cento composti a struttura tiazolica, e la loro attività è stata valutata su cellule epiteliali bronchiali primarie con la CFTR mutata con F508del per identificare la loro azione e migliorarne le proprietà chimiche così da renderle più potenti ed efficaci. Queste molecole hanno mostrato un incremento della funzionalità del canale CFTR se somministrate con il correttore VX-809 (lumacaftor) e altri suoi analoghi.

Il progetto ha confermato l'efficacia degli inibitori di HSP70 nella FC e permesso di identificare molecole da avviare alla successiva ottimizzazione. Sono in corso analisi su cellule primarie bronchiali per valutare alcune combinazioni tra correttori e nuovi inibitori di HSP70.

## Publicazioni



### *Cyclic diacyl thioureas enhance activity of corrector Lumacaftor on F508del-CFTR*

*ChemMedChem*, 2024

for updates

ChemMedChem

Research Article  
doi.org/10.1002/cmdc.202300391

 **Chemistry  
Europe**  
European Chemical  
Societies Publishing

www.chemmedchem.org

## Cyclic diacyl thioureas enhance activity of corrector Lumacaftor on F508del-CFTR

Andrea Spallarossa,<sup>\*,[a]</sup> Nicoletta Pedemonte,<sup>[b]</sup> Emanuela Pesce,<sup>[b]</sup> Enrico Millo,<sup>[c]</sup>  
Elena Cichero,<sup>[a]</sup> Camillo Rosano,<sup>[d]</sup> Matteo Lusardi,<sup>[a]</sup> Erika Iervasi,<sup>[d]</sup> and Marco Ponassi<sup>[d]</sup>

### *Acknowledgements*

This research was funded by Università degli Studi di Genova, grant Fondi di Ricerca di Ateneo (FRA) and by [Fondazione Ricerca Italiana Fibrosi Cistica FFC#9/2021](#) to E.M. and E.C. The authors acknowledge Dr. Silvia Sillano and Dr. Douae Meziane for helpful discussions and support.

## Publicazioni



### **Probing Allosteric Hsp70 Inhibitors by Molecular Modelling Studies to Expedite the Development of Novel Combined F508del CFTR Modulators**

Pharmaceuticals (Basel, Switzerland), 2021







pharmaceuticals



Article

### **Probing Allosteric Hsp70 Inhibitors by Molecular Modelling Studies to Expedite the Development of Novel Combined F508del CFTR Modulators**

Roberto Sabbadini <sup>1,†</sup>, Emanuela Pesce <sup>2,†</sup>, Alice Parodi <sup>3</sup>, Eleonora Mustorgi <sup>4</sup>, Santina Bruzzone <sup>3</sup>, Nicoletta Pedemonte <sup>2</sup>, Monica Casale <sup>4</sup>, Enrico Millo <sup>3,\*</sup> and Elena Cichero <sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup> Department of Pharmacy, Section of Medicinal Chemistry, School of Medical and Pharmaceutical Sciences, University of Genoa, Viale Benedetto XV, 3, 16132 Genoa, Italy; sabbadove96@icloud.com

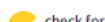
<sup>2</sup> UOC Genetica Medica, IRCCS Istituto Giannina Gaslini, Via Gerolamo Gaslini, 5, 16147 Genova, Italy; emyfish85@yahoo.it (E.P.); nicolettapedemonte@gaslini.org (N.P.)

<sup>3</sup> Department of Experimental Medicine, Section of Biochemistry, University of Genoa, Viale Benedetto XV 1, 16132 Genoa, Italy; alice.parodi1994@gmail.com (A.P.); santina.bruzzone@unige.it (S.B.)

<sup>4</sup> Department of Pharmacy, Section of Chemistry and Food and Pharmaceutical Technologies, University of Genoa, Viale Cembrano, 4, 16148 Genoa, Italy; mustorgi@difar.unige.it (E.M.); casale@difar.unige.it (M.C.)

\* Correspondence: enrico.millo@unige.it (E.M.); cichero@difar.unige.it (E.C.); Tel.: +10-335-3032-3033 (E.M.); +39-010-353-8350 (E.C.)

† These authors contributed equally to this work.



**Author Contributions:** Conceptualization, E.C. and E.M. (Enrico Millo); methodology and validation, E.C. and M.C.; software, E.C.; investigation, E.P., R.S. and A.P.; resources, E.C. and N.P.; writing—original draft preparation, E.C. and E.M. (Enrico Millo); writing—review and editing, E.M. (Enrico Millo) and S.B.; visualization, E.M. (Eleonora Mustorgi) and R.S.; supervision, E.C. and N.P.; project administration, E.M. (Enrico Millo) and E.C. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** This research was funded by Fondazione Ricerca Fibrosi Cistica FFC#9/2021 to E.M. (Enrico Millo), S.B., and E.C.

## Rendiconto economico



### AREA 1

#### Terapie e approcci innovativi per correggere il difetto di base, genetica

##### Progetto FFC#9/2021

### Ottimizzazione di analoghi del MKT-077 come inibitori allosterici della HSP70 combinati con correttori CFTR F508del: un approccio multi-farmaco per contrastare la fibrosi cistica



**Responsabile:**  
**Enrico Millo**

(Dipartimento di Medicina Sperimentale - DIMES, Università degli Studi di Genova)



**Periodo:**

01/09/2021-31/08/2023



**Grant assegnato:**

€ 102.000



**Usato per:**

- Materiale di consumo € 34.250
- Borse di studio € 46.000
- Pubblicazioni scientifiche € 2.206
- Equipment/software € 4.270

€ 86.726



**Saldo (usato per altri progetti):**

€ 15.274