



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

AREA 1

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



**Progetto Strategico FFC Ricerca 2021-2023.
Molecole 3.0 per la fibrosi cistica. Fasi 1 e 2**

**Nuovi modulatori farmacologici per il recupero della
proteina CFTR mutata**



Chi ha condotto la ricerca:

Responsabili: Paola Barraja
(STEBICEF - Laboratorio di sintesi degli eterocicli, Università di Palermo),
Luis Galiotta (Istituto Telethon di Genetica e Medicina - TIGEM, Pozzuoli, Napoli)



Qual è la durata dello studio: 2 anni

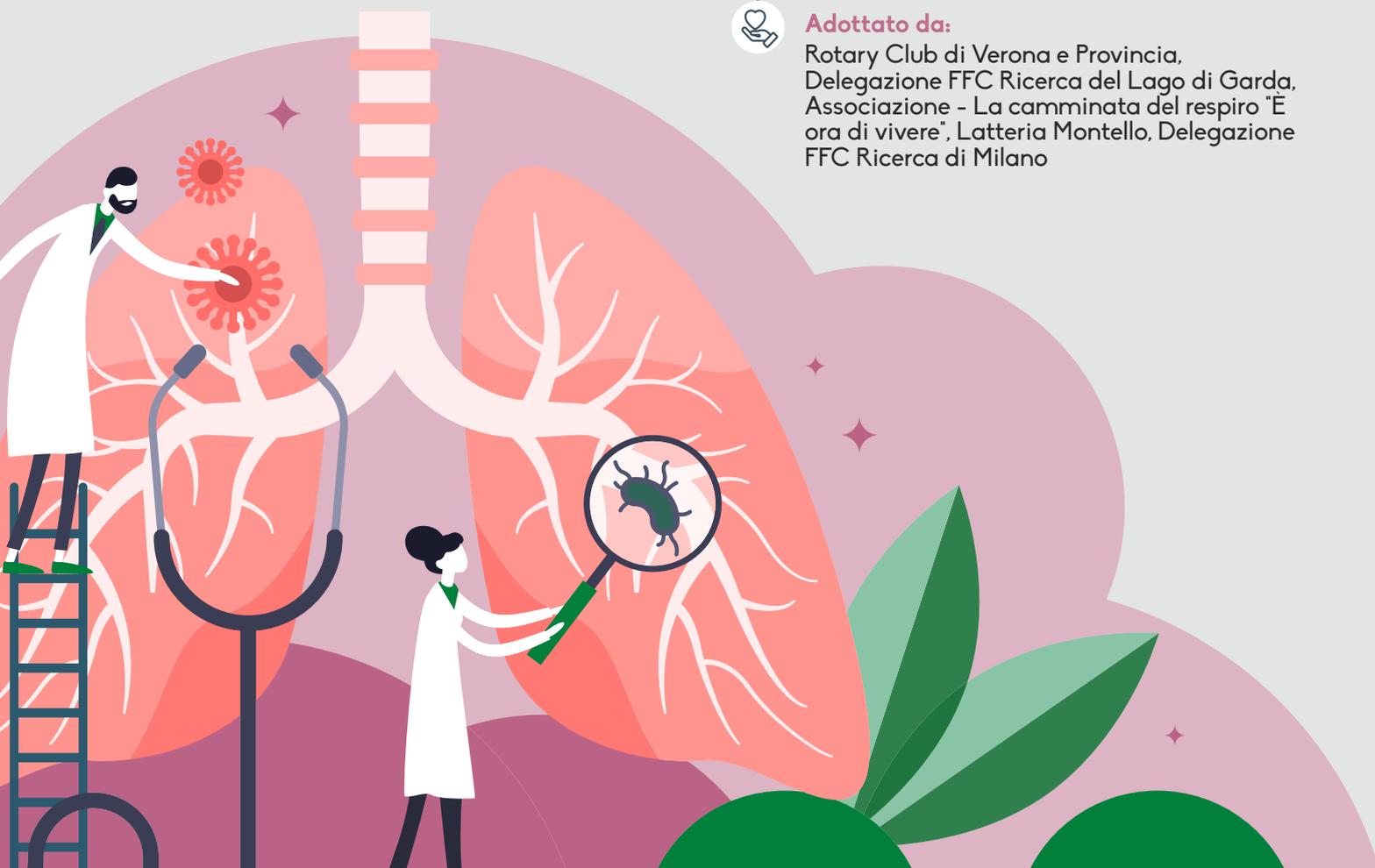


Finanziamento: € 460.000



Adottato da:

Rotary Club di Verona e Provincia,
Delegazione FFC Ricerca del Lago di Garda,
Associazione - La camminata del respiro "È
ora di vivere", Latteria Montello, Delegazione
FFC Ricerca di Milano





Perché è importante

Con la recente approvazione di Kaftrio, farmaco che contiene due correttori (tezacaftor ed elxacaftor) e un potenziatore (ivacaftor), sono stati fatti numerosi progressi nel trattamento della fibrosi cistica (FC). Tuttavia, la scoperta di nuovi modulatori per il recupero della proteina CFTR rimane fondamentale, sia per coloro che hanno mutazioni attualmente prive di un trattamento farmacologico, sia per coloro che, pur avendo mutazioni come la F508del per le quali un farmaco già c'è, manifestano effetti collaterali o problemi di tollerabilità ai modulatori disponibili. Grazie a precedenti finanziamenti di FFC Ricerca, i ricercatori hanno individuato un gruppo di molecole particolarmente promettenti, chiamati composti PP. Partendo dalla molecola capostipite, attraverso varie modifiche chimiche e ottimizzazioni, è stata generata la molecola PP028, particolarmente attiva come correttore della proteina CFTR con mutazione F508del.



Che cosa hanno usato i ricercatori

Si sono usate diverse metodiche, quali la strategia di *scaffold hopping* e simulazioni al computer, per sintetizzare molecole con diverse modifiche della struttura chimica di base e così migliorare e ottimizzare le proprietà chimiche e biologiche di PP028. L'efficacia e la selettività dei composti derivati è stata valutata sia in cellule immortalizzate con espressione della proteina CFTR mutata sia in cellule bronchiali primarie ottenute da persone con FC.



Che cosa hanno fatto i ricercatori

Sono stati condotti ripetuti cicli di sintesi chimica e valutazione funzionale che hanno coinvolto circa 10-20 composti per volta. I risultati ottenuti dalle valutazioni funzionali su cellule sono serviti per orientare le fasi successive di sintesi chimica.



Che cosa hanno ottenuto

Sono stati ottenuti nuovi composti chiamati SH con attività di correzione simile ai composti PP. I composti SH sono stati testati con successo *in vitro* su cellule epiteliali bronchiali provenienti da persone con FC e mutazione F508del. Per quanto riguarda PP, è stato identificato il derivato attivo PP244 che può aprire la strada all'esplorazione di una nuova sottofamiglia di composti PP. I risultati hanno anche indicato il tipo di modificazioni della struttura chimica più idonee per raggiungere il miglior effetto. Inoltre, studi biochimici hanno permesso di identificare la regione della proteina CFTR in cui avviene il legame dei composti attivi.



Che cosa succederà ora

Il lavoro procederà per sviluppare composti dotati di maggiore attività e con proprietà (biodisponibilità, solubilità, stabilità, assenza di tossicità) idonee per il possibile uso come farmaci *in vivo*. La collaborazione tra Fondazione per la Ricerca sulla Fibrosi Cistica, Telethon e Università di Palermo ha portato a un brevetto italiano e internazionale con domande estese a 5 Paesi.

Per saperne di più



Obiettivi

Creazione e test di una nuova classe di modulatori per una futura valutazione preclinica e clinica

Il progetto ha l'obiettivo di sviluppare una nuova classe di modulatori attivi anche su mutazioni rare di CFTR. La prima fase del progetto si è focalizzata sullo studio delle caratteristiche del composto PP028. Gli esperimenti condotti hanno mostrato che PP028 potrebbe agire come correttore di classe 3, come per esempio l'elexacaftor (VX-445). Inoltre, tramite la strategia denominata *scaffold hopping* (SH) e simulazioni computazionali, si sono ottenuti nuovi composti chiamati SH a partire dalle strutture già note dei composti PP.



Risultati

I composti PP e SH hanno mostrato una rilevante attività di correttori della funzionalità della proteina CFTR mutata

Con la recente approvazione di Kaftrio, farmaco che contiene due correttori (tezacaftor ed elexacaftor) e un potenziatore (ivacaftor), sono stati fatti numerosi progressi nel trattamento della fibrosi cistica (FC). Tuttavia, la scoperta di nuovi modulatori per il recupero della proteina CFTR rimane fondamentale, sia per coloro che hanno mutazioni attualmente prive di un trattamento farmacologico, sia per coloro che, pur avendo mutazioni come la F508del per le quali un farmaco già c'è, manifestano effetti collaterali o problemi di tollerabilità ai modulatori disponibili. Grazie a precedenti finanziamenti di FFC Ricerca, i ricercatori hanno individuato un gruppo di molecole particolarmente promettenti, chiamati composti PP. Partendo dalla molecola capostipite, attraverso varie modifiche chimiche e ottimizzazioni, è stata generata la molecola PP028, particolarmente attiva come correttore della proteina CFTR con mutazione F508del.

Per migliorare e ottimizzare progressivamente l'attività di PP028 si sono usati cicli ripetuti di sintesi chimica e valutazione funzionale di 10-20 composti per volta sia su cellule immortalizzate con espressione della proteina CFTR mutata sia su cellule bronchiali primarie ottenute da persone con FC. Sono state usate la strategia di analisi chimica chiamata *scaffold hopping* e una serie di simulazioni al computer.

I risultati ottenuti di volta in volta sono serviti per orientare le fasi successive di sintesi chimica. Sono stati ottenuti nuovi composti chiamati SH con attività di correzione simile ai composti PP. I composti SH sono stati testati con successo *in vitro* su cellule epiteliali bronchiali da persone con FC e mutazione F508del. Per quanto riguarda PP, è stato identificato il derivato attivo PP244 che può aprire la strada all'esplorazione di una nuova sottofamiglia di composti PP.

I composti PP e SH sono stati testati *in vitro* e i risultati ottenuti sembrano suggerire che PP e SH sono promettenti per lo sviluppo di trattamenti combinatori.

I risultati hanno indicato, inoltre, il tipo di modificazioni della struttura chimica più idonee per raggiungere il miglior effetto. Studi biochimici hanno permesso di identificare la regione della proteina CFTR in cui avviene il legame dei composti attivi.



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

Molecole 3.0 per la fibrosi cistica. Fasi 1 e 2
**Terapie e approcci innovativi per correggere
il difetto di base, genetica**

Per saperne di più



Il lavoro procederà per sviluppare composti dotati di maggiore attività e con proprietà (biodisponibilità, solubilità, stabilità, assenza di tossicità) idonee per il possibile uso come farmaci *in vivo*.

La collaborazione tra Fondazione per la Ricerca sulla Fibrosi Cistica, Telethon e Università di Palermo ha portato a un brevetto italiano e internazionale con domande estese a 5 Paesi.

Pubblicazioni



Novel tricyclic pyrrolo-quinolines as pharmacological correctors of the mutant CFTR chloride channel

Scientific reports, 2023

www.nature.com/scientificreports

scientific reports

 Check for updates

OPEN Novel tricyclic pyrrolo-quinolines as pharmacological correctors of the mutant CFTR chloride channel

Mario Renda^{1,7}, Marilia Barreca^{2,7}, Anna Borrelli¹, Virginia Spanò², Alessandra Montalbano²,
Maria Valeria Raimondi², Roberta Bivacqua², Ilaria Musante^{3,4}, Paolo Scudieri^{3,4},
Daniela Guidone¹, Martina Buccirosi¹, Michele Genovese¹, Arianna Venturini¹,
Tiziano Bandiera⁵, Paola Barraja^{2,3} & Luis J. V. Galietta^{1,6}✉

Acknowledgements

This study was supported by FFC#4/2018, FFC#3/2020 and Molecules 3.0 grants from Italian Foundation for Cystic Fibrosis (Fondazione Italiana per la Ricerca sulla Fibrosi Cistica, FFC). Grant FFC#4/2018 was adopted by: "Associazione Trentina Fibrosi Cistica", "Delegazione FFC di Vercelli", "Gruppo di Sostegno FFC di Acqui Terme", and "Gruppo di Sostegno FFC di Nichelino". Grant FFC#3/2020 was adopted by: "Delegazione FFC di Tradate Gallarate" and "Fondazione Corrado e Bruno Maria Zaini". Grant Molecules 3.0 was adopted by: "Delegazione FFC Ricerca di Milano", "Rotary Club Verona Distretto 2060", and "Delegazione FFC Ricerca del Lago di Garda". The study was also supported by Telethon Foundation (grant TMLGCBX16TT) and by European Union co-funding FSE REACT-EU, "PON Ricerca e Innovazione 2014-2020 DM 1062/2021". The Italian Foundation for Cystic Fibrosis provided human bronchial epithelial cells through its "Servizio Colture Primarie". We thank Prof. Gergely Lukacs (McGill University, Montreal, Canada) and Dr. Debora Baroni (Istituto di Biofisica, CNR, Genova) for kindly giving us the constructs for CFTR fragments. We also thank Diego Medina and Sandro Montefusco (High Content Facility, TIGEM) and Roman Polishchuk and Roberta Crispino (Advanced Microscopy Facility).

Brevetti



- **Telethon-UniPa-FFC. PCT Int. Appl. (2020), Preparation of heterocyclic compounds for medical use WO 2020104558 A1 20200528, PCT/EP2019/081988.**

La domanda è stata estesa a 5 paesi (United States N°17295728, Canada N°3120739, Australia N° 2019382862, Israele N° 283315, Europa N°198087553)

- **Telethon-UniPa-FFC. PCT Int. Appl. (2020), Preparation of heterocyclic compounds for medical use WO 2020104558 A1 20200528, PCT/EP2019/081988.**

The application was extended to five countries (United States N°17295728, Canada N°3120739, Australia N° 2019382862, Israel N° 283315, Europe N°198087553)

Rendiconto economico



AREA 1

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

Progetto Strategico FFC Ricerca 2021-2023. Molecole 3.0 per la fibrosi cistica. Fasi 1 e 2

Nuovi modulatori farmacologici per il recupero della proteina CFTR mutata



Responsabili:

Paola Barraja

(STEBICEF - Laboratorio di sintesi degli eterocicli, Università di Palermo)

Luis Galiotta (Istituto Telethon di Genetica e Medicina – TIGEM, Pozzuoli, Napoli)



Periodo:

01/10/2021 – 30/09/2023



Grant assegnato:

€ 460.000



Usato per:

- Materiale di consumo € 139.711,9
- Spese viaggio/convegni € 1.662,8
- Borse di studio € 160.832,8
- Servizi scientifici e utilizzo facilities € 103.648,9
- Spedizioni € 334,05

€ 406.190,53



Saldo (usato per altri progetti):

€ 53.809,47