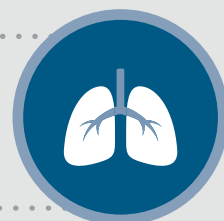




**Fondazione per la Ricerca
sulla Fibrosi Cistica - ETS**
fibrosicisticaricerca.it

AREA 4

Terapie dell'infiammazione polmonare



Progetto FFC #10/2022

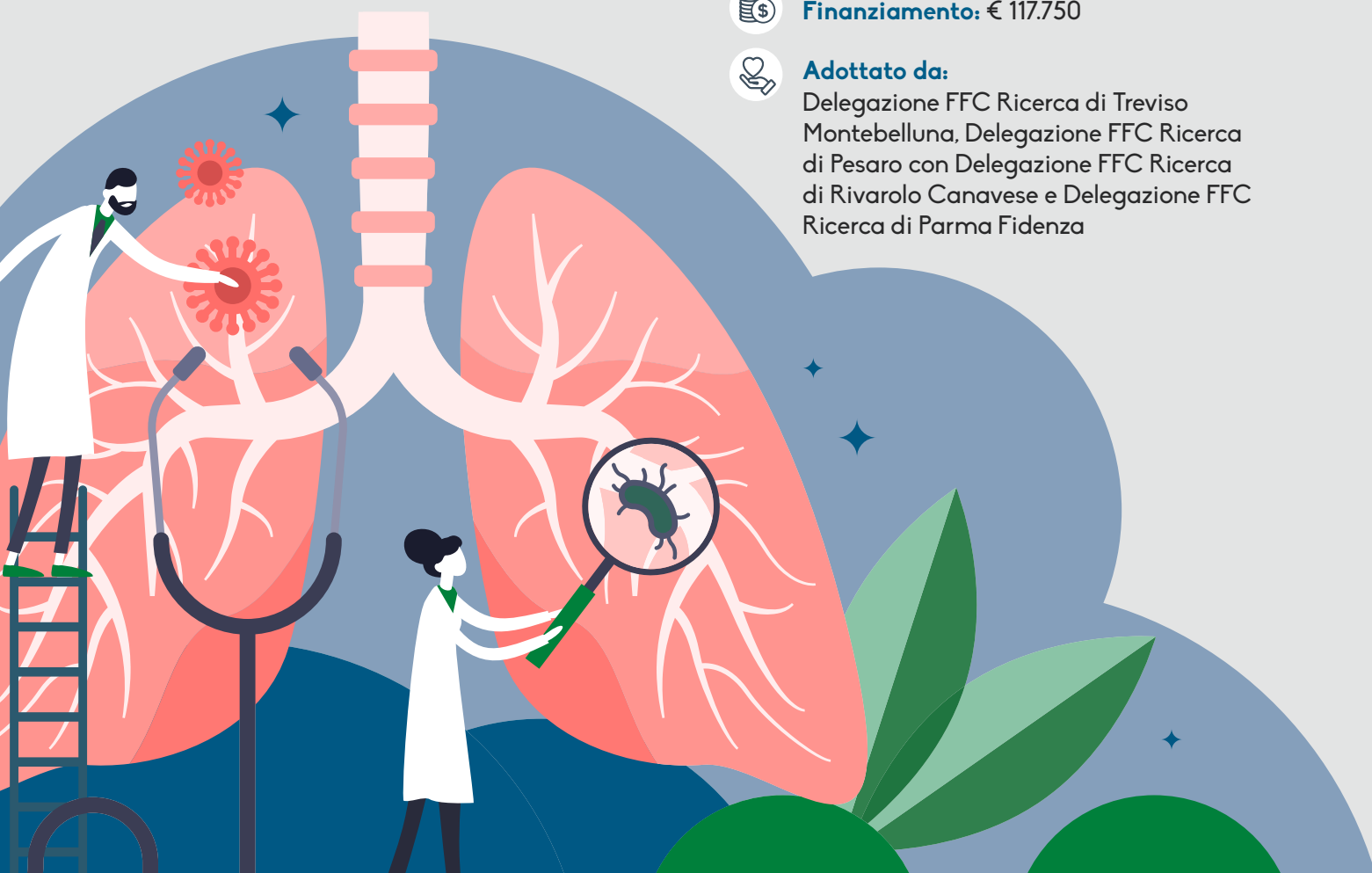
Verso lo sviluppo del composto GY971a come farmaco antinfiammatorio per la fibrosi cistica

**Chi ha condotto la ricerca:**

Responsabile: Ilaria Lampronti
(Dipartimento di Scienze della vita e
biotecnologie, Università degli Studi di
Ferrara)

**Ricercatori coinvolti: 12****Qual è la durata dello studio: 2 anni****Finanziamento: € 117.750****Adottato da:**

Delegazione FFC Ricerca di Treviso
Montebelluna, Delegazione FFC Ricerca
di Pesaro con Delegazione FFC Ricerca
di Rivarolo Canavese e Delegazione FFC
Ricerca di Parma Fidenza





Perché è importante

Grazie a studi precedenti, la molecola GY971a (sale mesilato di GY971) è stata selezionata all'interno di una vasta libreria di composti derivati della 4,6,4' trimetilangelicina (TMA) e ha dimostrato di essere efficace come agente antinfiammatorio. Per questo, può essere un ottimo candidato allo sviluppo preclinico per il trattamento della malattia polmonare della fibrosi cistica (FC).



Che cosa hanno usato i ricercatori

Sono stati usati modelli *in vitro* di linee cellulari epiteliali bronchiali e modelli *ex vivo* di cellule bronchiali derivate da persone con FC con la mutazione F508del su entrambe le copie del gene CFTR. Queste cellule sono state fornite dal Servizio Colture Primarie di FFC Ricerca. Gli studi *in vivo* sono invece stati condotti su modelli animali grazie al servizio CFaCore di FFC Ricerca.



Che cosa hanno fatto i ricercatori

Le cellule sono state trattate con diverse concentrazioni di GY971a, ibuprofene, antibiotico Tobramicina e Kaftrio, per studiare l'efficacia della molecola messa a confronto e/o in associazione con ciascuno di questi farmaci usati in terapia, e sono stati monitorati diversi marcatori di infiammazione polmonare. GY971a è stato poi somministrato attraverso aerosol a topi con infiammazione polmonare indotta.



Che cosa hanno ottenuto

I dati ottenuti dimostrano in tutti i modelli biologici usati che GY971a possiede attività antinfiammatoria e non determina effetti citotossici (cioè tossici sulle cellule) *in vitro* ed *ex vivo*, o epatotossicità *in vivo*. Inoltre, non interferisce con l'azione dei farmaci modulatori di CFTR. I risultati ricavati dagli esperimenti effettuati sui modelli *ex vivo* confermano quelli ottenuti sulle più semplici linee cellulari, e dimostrano che anche sulle cellule derivate da persone con FC il composto in studio possiede una rilevante efficacia, nonostante sia stata riscontrata una certa variabilità di risposta. Anche *in vivo*, nel modello di infiammazione animale acuta, GY971 è risultato efficace nel diminuire la concentrazione di neutrofili (cellule del sistema immunitario coinvolte nell'infiammazione) e di specifici marcatori di infiammazione.



Che cosa succederà ora

La ricerca proseguirà con il nuovo progetto FFC#11/2024, durante il quale si dovranno verificare efficacia e potenziali effetti indesiderati di GY971, da solo o veicolato in opportuna forma farmaceutica, attraverso analisi *in silico* (cioè al computer), *in vitro*, *ex vivo* su cellule bronchiali e nasali, e *in vivo* su topi e zebrafish.

A novembre, l'Agenzia Europea per i Medicinali (EMA) ha concesso la designazione di farmaco orfano per la fibrosi cistica a GY971a, presupposto fondamentale per avviare l'eventuale sviluppo industriale farmaceutico di GY971 per la cura della fibrosi cistica.

Per saperne di più



Obiettivi

Valutare l'efficacia antinfiammatoria e di correzione di CFTR mutata dell'analogo della trimetilangelicina, GY971a, attraverso test *ex vivo* e *in vivo*

Il gruppo di ricerca continua lo studio di composti analoghi della trimetilangelicina (TMA), sostanza naturale con proprietà antinfiammatorie, a seguito dei promettenti risultati ottenuti dal progetto pilota FFC#22/2019. La molecola GY971a è un composto analogo alla TMA che, oltre ad avere attività antinfiammatoria, è in grado di correggere il difetto a carico di CFTR. L'obiettivo del progetto è procedere con l'analisi preclinica di GY971a come potenziale agente antinfiammatorio e correttore della CFTR mutata. GY971a sarà valutato in cellule primarie derivate da persone con fibrosi cistica (epiteli ottenuti dal Servizio Colture Primarie) e in modelli animali di infiammazione cronica (trattamenti e analisi condotti in collaborazione con CFaCore). Con lo sviluppo preclinico di un nuovo farmaco antinfiammatorio, il progetto vuole contribuire ad aumentare le possibilità terapeutiche per contrastare l'infiammazione in fibrosi cistica.



Risultati

GY971a ha dimostrato attività antinfiammatoria, senza mostrare tossicità né su cellule *in vitro* né su modelli *in vivo*

Grazie a studi precedenti, la molecola GY971a (sale mesilato di GY971) è stata selezionata all'interno di una vasta libreria di composti derivati della 4,6,4' trimetilangelicina (TMA) e ha dimostrato di essere efficace come agente antinfiammatorio. Per questo, può essere un ottimo candidato allo sviluppo preclinico per il trattamento della malattia polmonare della fibrosi cistica (FC). Per testare il composto, sono stati usati modelli *in vitro* di linee cellulari epiteliali bronchiali e modelli *ex vivo* di cellule bronchiali derivate da persone con FC con la mutazione F508del su entrambe le copie del gene CFTR. Queste cellule sono state fornite dal Servizio Colture Primarie di FFC Ricerca. Gli studi *in vivo* sono invece stati condotti su modelli animali grazie al servizio CFaCore di FFC Ricerca.

Le cellule sono state trattate con diverse concentrazioni di GY971a, ibuprofene, antibiotico Tobramicina e Kaftrio, per studiare l'efficacia della molecola messa a confronto e/o in associazione con ciascuno di questi farmaci utilizzati in terapia, e sono stati monitorati diversi marcatori di infiammazione polmonare.

Gli studi *in vivo* sono invece stati condotti dal servizio CFaCore su modelli animali: GY971a è stato somministrato attraverso aerosol a topi con infiammazione polmonare indotta.

I dati ottenuti dimostrano in tutti i modelli biologici usati che GY971a possiede attività antinfiammatoria e non determina effetti citotossici (cioè tossici sulle cellule) *in vitro* ed *ex vivo*, o epatotossicità *in vivo*. Inoltre, non interferisce con l'azione dei farmaci modulatori di CFTR.

I risultati ricavati dagli esperimenti effettuati sui modelli *ex vivo* confermano quelli ottenuti sulle più semplici linee cellulari, e dimostrano che anche sulle cellule derivate da persone con FC il composto in studio possiede una rilevante efficacia, nonostante sia stata riscontrata una certa variabilità di risposta.

Anche *in vivo*, nel modello di infiammazione animale acuta, GY971 è risultato efficace nel diminuire la concentrazione di neutrofili (cellule del sistema immunitario coinvolte nell'infiammazione) e di specifici marcatori di infiammazione.

La ricerca proseguirà con il nuovo progetto FFC#11/2024, durante il quale si dovranno verificare efficacia e potenziali effetti indesiderati di GY971, da solo o veicolato in forma farmaceutica, attraverso analisi *in silico*, *in vitro*, *ex vivo* su cellule bronchiali e nasali, e *in vivo* su topi e zebrafish. A ottobre, l'Agenzia Europea per i Medicinali (EMA) ha concesso la designazione di farmaco orfano per la fibrosi cistica a GY971a, presupposto fondamentale per avviare l'eventuale sviluppo industriale farmaceutico di GY971 per la cura della fibrosi cistica.

Pubblicazioni



New TMA (4,6,4'-Trimethyl angelicin) Analogues as Anti-Inflammatory Agents in the Treatment of Cystic Fibrosis Lung Disease *International Journal of Molecular Sciences*, 2022



International Journal of
Molecular Sciences



Article

New TMA (4,6,4'-Trimethyl angelicin) Analogues as Anti-Inflammatory Agents in the Treatment of Cystic Fibrosis Lung Disease

Chiara Tupini ¹, Adriana Chilin ^{2,3}, Alice Rossi ⁴, Ida De Fino ⁴, Alessandra Bragonzi ⁴, Elisabetta D'Aversa ¹, Lucia Carmela Cosenza ¹, Christian Vaccarin ⁵, Gianni Sacchetti ¹, Monica Borgatti ^{1,3}, Anna Tamanini ⁶, Maria Cristina Dehecchi ⁶, Francesca Sanvito ⁷, Roberto Gambari ^{1,3}, Giulio Cabrini ^{1,3} and Ilaria Lampronti ^{1,3,*}

- ¹ Department of Life Sciences and Biotechnology, University of Ferrara, Via Fossato di Mortara 74, 44121 Ferrara, Italy
 - ² Department of Pharmaceutical and Pharmacological Sciences, University of Padova, Via Marzolo 5, 35131 Padova, Italy
 - ³ Center of Innovative Therapies for Cystic Fibrosis (InnThera4CF), University of Ferrara, 44121 Ferrara, Italy
 - ⁴ Infections and Cystic Fibrosis Unit, Division of Immunology, Transplantation and Infectious Diseases, IRCCS San Raffaele Scientific Institute, Via Olgettina 60, 20132 Milano, Italy
 - ⁵ Center for Radiopharmaceutical Sciences ETH-PSI-USZ, Paul Scherrer Institute, 5232 Villigen, Switzerland
 - ⁶ Department of Neurosciences, Biomedicine and Movement, Section of Clinical Biochemistry, University of Verona, Piazzale Stefani 1, 37126 Verona, Italy
 - ⁷ Pathology Unit, Division of Experimental Oncology, Histopathology Laboratory of GLP Test Facility, San Raffaele Telethon Institute for Gene Therapy (SR-Tiget), IRCCS San Raffaele Scientific Institute, 20132 Milan, Italy
- * Correspondence: lmi@unife.it; Tel.: +39-0532-974-509



Citation: Tupini, C.; Chilin, A.; Rossi, A.; De Fino, I.; Bragonzi, A.; D'Aversa, E.; Cosenza, L.C.; Vaccarin, C.; Sacchetti, G.; Borgatti, M.; et al. New TMA (4,6,4'-Trimethyl angelicin) Analogues as Anti-Inflammatory Agents in the Treatment of Cystic Fibrosis Lung Disease. *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, *23*, 14483. <https://doi.org/10.3390/ijms232214483>

Academic Editors: Robert Bucki and Ivano Condò

Received: 27 September 2022

Accepted: 17 November 2022

Published: 21 November 2022

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Abstract: A series of new-generation TMA (4,6,4'-trimethyl angelicin) analogues was projected and synthesized in order to ameliorate anti-inflammatory activity, with reduced or absent toxicity. Since the NF- κ B transcription factor (TF) plays a critical role in the expression of IL-8 (Interleukin 8), a typical marker of lung inflammation in Cystic Fibrosis (CF), the use of agents able to interfere with the NF- κ B pathway represents an interesting therapeutic strategy. Through preliminary EMSA experiments, we identified several new TMA derivatives able to inhibit the NF- κ B/DNA complex. The selected active molecules were then analyzed to evaluate the anti-inflammatory effect using both *Pseudomonas aeruginosa* (PAO1) infection and TNF- α stimulus on the CF IB3-1 cell line. It was demonstrated that mainly two TMA analogues, GY971a mesylate salt (6-*p*-minophenyl-4,4'-dimethyl-angelicin) and GY964 (4-phenyl-6,4'-dimethyl-angelicin), were able to decrease the IL-8 gene expression. At the same time, these molecules were found to have no pro-apoptotic, mutagenic and phototoxic effects, facilitating our decision to test the efficacy in vivo by using a mouse model of acute *P. aeruginosa* lung infection. The anti-inflammatory effect of GY971a was confirmed in vivo; this derivative was able to deeply decrease the total number of inflammatory cells, the neutrophil count and the cytokine/chemokine profile in the *P. aeruginosa* acute infection model, without evident toxicity. Considering all the obtained and reported in vitro and in vivo pre-clinical results, GY971a seems to have interesting anti-inflammatory effects, modulating the NF- κ B pathway, as well as the starting lead compound TMA, but without side effects.

Publicazioni



Improved Trimethylangelicin Analogs for Cystic Fibrosis: Design, Synthesis and Preliminary Screening *International Journal of Molecular Sciences*, 2022



International Journal of
Molecular Sciences



Article

Improved Trimethylangelicin Analogs for Cystic Fibrosis: Design, Synthesis and Preliminary Screening

Christian Vaccarin ^{1,2,†}, Daniela Gabbia ^{1,†}, Erica Franceschinis ¹, Sara De Martin ¹, Marco Roverso ³, Sara Bogioli ³, Gianni Sacchetti ⁴, Chiara Tupini ⁴, Iliana Lampronti ^{4,5}, Roberto Gambari ^{4,5}, Giulio Cabrini ^{4,5}, Maria Cristina Dececchi ⁶, Anna Tamanini ⁶, Giovanni Marzaro ¹ and Adriana Chilin ^{1,5,*}

¹ Department of Pharmaceutical and Pharmacological Sciences, University of Padova, Via Marzolo 5, 35131 Padova, Italy

² Center for Radiopharmaceutical Sciences ETH-PSI-USZ, Paul Scherrer Institute, 5232 Villigen, Switzerland

³ Department of Chemical Sciences, University of Padova, Via Marzolo 1, 35131 Padova, Italy

⁴ Department of Life Sciences and Biotechnology, University of Ferrara, Via Fossato di Mortara 74, 44121 Ferrara, Italy

⁵ Center of Innovative Therapies for Cystic Fibrosis (InnThera4CF), University of Ferrara, Via Fossato di Mortara 74, 44121 Ferrara, Italy

⁶ Department of Neurosciences, Biomedicine and Movement, Section of Clinical Biochemistry, University of Verona, Piazzale Stefani 1, 37126 Verona, Italy

* Correspondence: adriana.chilin@unipd.it

† These authors contributed equally to this work.



Citation: Vaccarin, C.; Gabbia, D.; Franceschinis, E.; De Martin, S.; Roverso, M.; Bogioli, S.; Sacchetti, G.; Tupini, C.; Lampronti, I.; Gambari, R.; et al. Improved Trimethylangelicin Analogs for Cystic Fibrosis: Design, Synthesis and Preliminary Screening. *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, *23*, 11528. <https://doi.org/10.3390/ijms231911528>

Abstract: A small library of new angelicin derivatives was designed and synthesized with the aim of bypassing the side effects of trimethylangelicin (TMA), a promising agent for the treatment of cystic fibrosis. To prevent photoreactions with DNA, hindered substituents were inserted at the 4 and/or 6 positions. Unlike the parent TMA, none of the new derivatives exhibited significant cytotoxicity or mutagenic effects. Among the synthesized compounds, the 4-phenyl derivative **12** and the 6-phenyl derivative **25** exerted a promising F508del CFTR rescue ability. On these compounds, preliminary in vivo pharmacokinetic (PK) studies were carried out, evidencing a favorable PK profile *per se* or after incorporation into lipid formulations. Therefore, the selected compounds are good candidates for future extensive investigation to evaluate and develop novel CFTR correctors based on the angelicin structure.

Keywords: trimethylangelicin; synthesis; CFTR; pharmacokinetics; SEDDS

Publicazioni



Revisiting Host-Pathogen Interactions in Cystic Fibrosis Lungs in the Era of CFTR Modulators

International Journal of Molecular Sciences, 2023



International Journal of
Molecular Sciences



Review

Revisiting Host-Pathogen Interactions in Cystic Fibrosis Lungs in the Era of CFTR Modulators

Carla M. P. Ribeiro ^{1,2,3,*} , Matthew G. Higgs ^{1,4} , Marianne S. Muhlebach ^{1,5}, Matthew C. Wolfgang ^{1,4} ,
Monica Borgatti ^{6,7} , Ilaria Lampronti ^{6,7}  and Giulio Cabrini ^{6,7,*}

¹ Marsico Lung Institute/Cystic Fibrosis Research Center, The University of North Carolina at Chapel Hill, Chapel Hill, NC 27599, USA

² Department of Medicine, The University of North Carolina at Chapel Hill, Chapel Hill, NC 27599, USA

³ Department of Cell Biology and Physiology, The University of North Carolina at Chapel Hill, Chapel Hill, NC 27599, USA

⁴ Department of Microbiology and Immunology, The University of North Carolina at Chapel Hill, Chapel Hill, NC 27599, USA

⁵ Department of Pediatrics, The University of North Carolina at Chapel Hill, Chapel Hill, NC 27599, USA

⁶ Department of Life Sciences and Biotechnology, University of Ferrara, 44121 Ferrara, Italy

⁷ Innatera4CF, Center on Innovative Therapies for Cystic Fibrosis, University of Ferrara, 44121 Ferrara, Italy

* Correspondence: carla_ribeiro@med.unc.edu (C.M.P.R.); giulio.cabrini@unife.it (G.C.)

Abstract: Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) modulators, a new series of therapeutics that correct and potentiate some classes of mutations of the CFTR, have provided a great therapeutic advantage to people with cystic fibrosis (pwCF). The main hindrances of the present CFTR modulators are related to their limitations in reducing chronic lung bacterial infection and inflammation, the main causes of pulmonary tissue damage and progressive respiratory insufficiency, particularly in adults with CF. Here, the most debated issues of the pulmonary bacterial infection and inflammatory processes in pwCF are revisited. Special attention is given to the mechanisms favoring the bacterial infection of pwCF, the progressive adaptation of *Pseudomonas aeruginosa* and its interplay with *Staphylococcus aureus*, the cross-talk among bacteria, the bronchial epithelial cells and the phagocytes of the host immune defenses. The most recent findings of the effect of CFTR modulators on bacterial infection and the inflammatory process are also presented to provide critical hints towards the identification of relevant therapeutic targets to overcome the respiratory pathology of pwCF.

Keywords: cystic fibrosis; airway epithelia; airway infection; airway inflammation; *Pseudomonas aeruginosa*; *Staphylococcus aureus*; CFTR modulators



Citation: Ribeiro, C.M.P.; Higgs, M.G.; Muhlebach, M.S.; Wolfgang, M.C.; Borgatti, M.; Lampronti, I.; Cabrini, G. Revisiting Host-Pathogen Interactions in Cystic Fibrosis Lungs in the Era of CFTR Modulators. *Int. J. Mol. Sci.* **2023**, *24*, 5010. <https://doi.org/10.3390/ijms24055010>



Altre informazioni



Designazione di ODD da parte di EMA, 11 ottobre 2024

Rendiconto economico



AREA 4

Terapie dell'infiammazione polmonare

Progetto FFC #10/2022

Verso lo sviluppo del composto GY971a come farmaco antinfiammatorio per la fibrosi cistica



Responsabile:

Ilaria Lampronti

(Dipartimento di Scienze della vita e biotecnologie, Università degli Studi di Ferrara)



Periodo:

01/09/22 - 31/08/24



Grant assegnato:

€ 117.750,00



Usato per:

- Materiale di consumo	€ 61.043,4
- Spese viaggio/convegni	€ 13.695,6
- Borse di studio	€ 10.000,0
- Servizi scientifici	€ 8.592,4
- Spedizioni	€ 908,1
- Utilizzo Facilities FFC Ricerca	€ 20.000,0
- Pubblicazioni	€ 1.855,9

€ 116.095,4



Saldo (usato per altri progetti):

€ 1.654,6