



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

PROGETTO STRATEGICO

Molecole 3.0 per la fibrosi cistica. Fase 3



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 J. V. Galletta (Istituto Telethon di Genetica e Medicina - TIGEM, Pozzuoli, Napoli)



Qual è la durata dello studio: 1 anno



Finanziamento: € 182.700



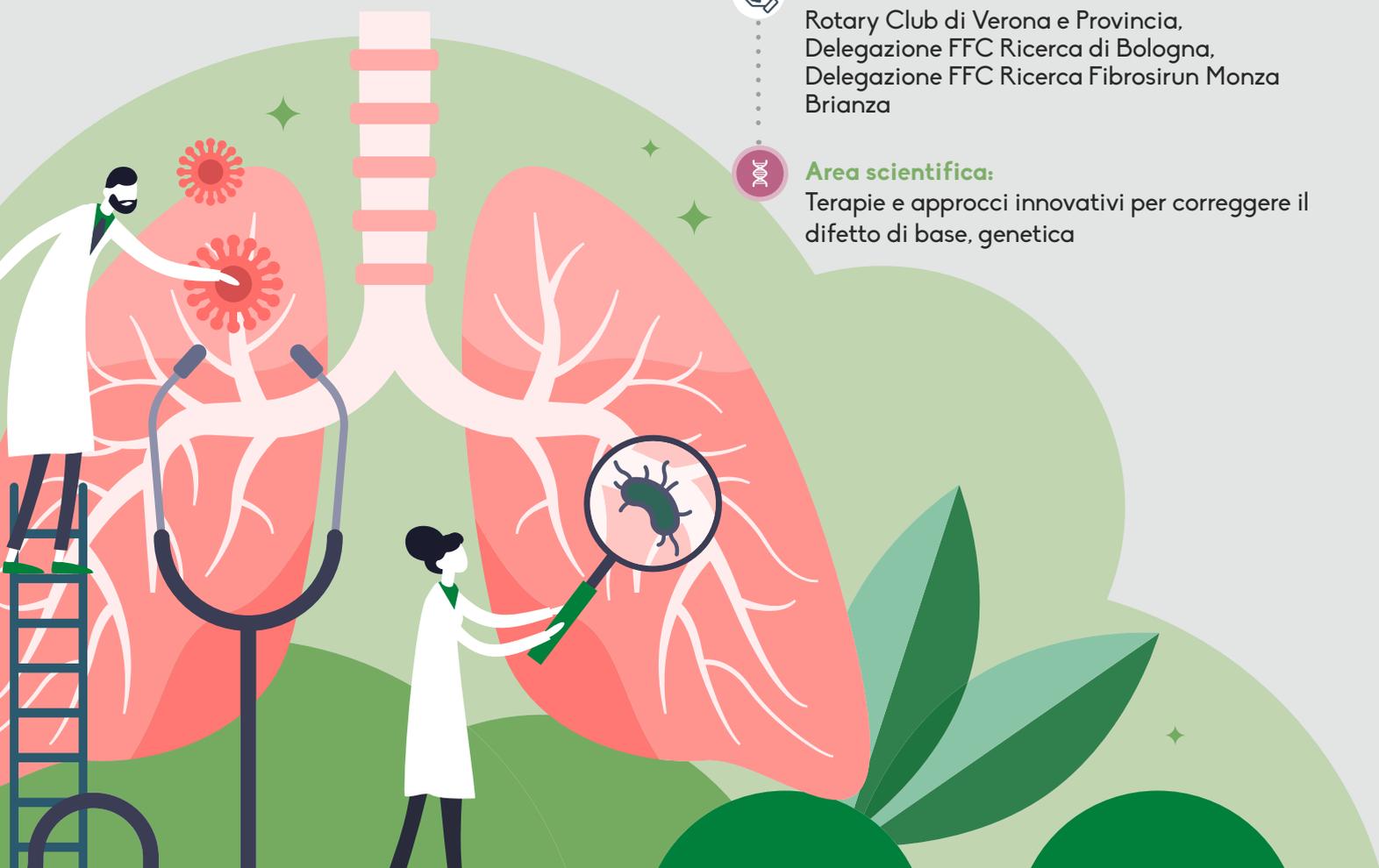
Adottato da:

Rotary Club di Verona e Provincia,
Delegazione FFC Ricerca di Bologna,
Delegazione FFC Ricerca Fibrosirun Monza Brianza



Area scientifica:

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





Perché è importante

La recente approvazione di Kaftrio, farmaco che contiene due correttori (tezacaftor ed elexacaftor) e un potenziatore (ivacaftor), ha rappresentato un importante progresso 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, dette composti PP, che hanno alta efficacia nel recupero della proteina CFTR mutata; inoltre sono stati scoperti nuovi composti, chiamati SH, con attività di correzione simile ai composti PP. In questa terza fase del progetto, i ricercatori hanno continuato il lavoro di ottimizzazione dei composti PP e SH.



Che cosa hanno usato i ricercatori

Sono state applicate tecniche di sintesi chimiche e di analisi funzionale per migliorare l'interazione tra i nuovi composti e la proteina CFTR. Per valutare l'attività di correzione, gli esperimenti sono stati condotti su cellule appartenenti alla linea cellulare CFBE41o- e su colture primarie di epitelio bronchiale di persone con FC (grazie al Servizio Colture Primarie di FFC Ricerca).



Che cosa hanno fatto i ricercatori

È stata fatta un'esplorazione approfondita delle famiglie di composti PP e SH che ha portato a identificare le caratteristiche strutturali più promettenti in termini di attività verso CFTR. Per i migliori derivati, l'attività di correzione è stata confermata su colture primarie di epitelio bronchiale di persone con FC.



Che cosa hanno ottenuto

I ricercatori hanno ottenuto finora 450 nuovi composti delle due famiglie PP e SH. Tre composti, PP028, PP209, SH157A, sono stati selezionati per successivi studi *in vivo* su topi, utili per stabilire la dose efficace per una futura applicazione sull'essere umano. Infine, nel corso dell'esplorazione sono stati identificati dei composti che sorprendentemente hanno mostrato attività potenziatrice.



Che cosa succederà ora

Il lavoro prosegue nella quarta fase del progetto con lo scopo di identificare molecole sempre più attive non solo su F508del ma anche su altre mutazioni. Sono in corso anche studi di farmacocinetica su un modello animale propedeutici per possibili sperimentazioni future nell'uomo.

Per saperne di più



Obiettivi

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

Il lavoro svolto durante i primi due anni di attività (fase 1 e fase 2) ha fornito risultati promettenti sulle due famiglie di composti, PP e SH, che hanno mostrato una rilevante attività di correttori della funzionalità della proteina CFTR mutata. Tali composti necessitano però di ulteriori ottimizzazioni per migliorarne le proprietà farmacocinetiche e di tossicità (ADMET, Assorbimento, Distribuzione, Metabolismo, Escrezione, Tossicità) e per rimuoverne attività non specifiche su altri bersagli biologici indesiderati.

Nelle prime fasi del progetto, l'identificazione del composto attivo PP244 ha aperto la strada all'esplorazione di una nuova sottofamiglia di composti PP. In parallelo, l'esplorazione dei composti denominati SH può aumentare le possibilità di trovare composti dotati di proprietà farmacologiche per il recupero di CFTR mutata. Nelle prossime fasi del progetto, i ricercatori propongono di continuare il processo di ottimizzazione dei composti PP e SH, seguendo il percorso adottato finora basato su cicli di sintesi chimica e successiva valutazione funzionale. L'obiettivo è quello di eseguire una ottimizzazione multiparametrica sulle due famiglie di composti PP e SH, che al termine dei due anni potrebbe portare al raggiungimento delle caratteristiche necessarie per accedere alla fase preclinica.

Per queste attività i ricercatori prevedono di sfruttare il Servizio Colture Primarie della Fondazione per eseguire test su cellule ottenute da persone con FC con mutazioni di classe II come la F508del e N1303K e anche su mutazioni stop come la W1282X. Alcune dei test previsti per la valutazione preclinica dei composti verranno esternalizzati a una Contract Research Organization (CRO) che assicura gli standard qualitativi delle analisi, requisito fondamentale per un futuro sviluppo clinico dei composti.



Risultati

Selezionati alcuni composti PP e SH per la loro attività di correttori e potenziatori della proteina CFTR mutata

La recente approvazione di Kaftrio, farmaco che contiene due correttori (tezacaftor ed elexacaftor) e un potenziatore (ivacaftor), ha rappresentato un importante progresso 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, dette composti PP, che hanno alta efficacia nel recupero della proteina CFTR mutata; inoltre sono stati scoperti nuovi composti, chiamati SH, con attività di correzione simile ai composti PP. In questa terza fase del progetto, i ricercatori hanno continuato il lavoro di ottimizzazione dei composti PP e SH.



Sono state applicate tecniche di sintesi chimiche e di analisi funzionale per migliorare l'interazione tra i nuovi composti e la proteina CFTR. Per valutare l'attività di correzione, gli esperimenti sono stati condotti su cellule appartenenti alla linea cellulare CFBE41o- e su colture primarie di epitelio bronchiale di persone con FC (grazie al Servizio Colture Primarie di FFC Ricerca).

I ricercatori hanno condotto un'esplorazione approfondita delle famiglie di composti PP e SH che ha portato a identificare le caratteristiche strutturali più promettenti in termini di attività verso CFTR. Per i migliori derivati, l'attività di correzione è stata confermata su colture primarie di epitelio bronchiale di persone con FC.

I ricercatori hanno ottenuto finora 450 nuovi composti delle due famiglie PP e SH.

Tre composti, PP028, PP209, SH157A, sono stati selezionati per successivi studi *in vivo* su topi, utili per stabilire la dose efficace per una futura applicazione sull'essere umano. Infine, nel corso dell'esplorazione sono stati identificati dei composti che sorprendentemente hanno mostrato attività potenziatrice.

Nella quarta fase del progetto il lavoro prosegue con lo scopo di identificare molecole sempre più attive non solo su F508del ma anche su altre mutazioni. Sono in corso anche studi di farmacocinetica (branca della farmacologia che studia il comportamento dei farmaci una volta introdotti nell'organismo) su un modello animale propedeutici per possibili sperimentazioni future nell'uomo.

Publicazioni



Novel tricyclic pyrrolo-quinolines as pharmacological correctors of the mutant CFTR chloride channel
Scientific Reports, 2023

scientific reports



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^{2,6} & Luis J. V. Galietta^{1,6}✉

F508del, the most frequent mutation in cystic fibrosis (CF), impairs the stability and folding of the CFTR chloride channel, thus resulting in intracellular retention and CFTR degradation. The F508del defect can be targeted with pharmacological correctors, such as VX-809 and VX-445, that stabilize CFTR and improve its trafficking to plasma membrane. Using a functional test to evaluate a panel of chemical compounds, we have identified tricyclic pyrrolo-quinolines as novel F508del correctors with high efficacy on primary airway epithelial cells from CF patients. The most effective compound, PP028, showed synergy when combined with VX-809 and VX-661 but not with VX-445. By testing the ability of correctors to stabilize CFTR fragments of different length, we found that VX-809 is effective on the amino-terminal portion of the protein that includes the first membrane-spanning domain (amino acids 1–387). Instead, PP028 and VX-445 only show a stabilizing effect when the second membrane-spanning domain is included (amino acids 1–1181). Our results indicate that tricyclic pyrrolo-quinolines are a novel class of CFTR correctors that, similarly to VX-445, interact with CFTR at a site different from that of VX-809. Tricyclic pyrrolo-quinolines may represent novel CFTR correctors suitable for combinatorial pharmacological treatments to treat the basic defect in CF.

Pubblicazioni



Identification of 6,9-dihydro-5H-pyrrolo[3,2-h]quinazolines as a new class of F508del-CFTR correctors for the treatment of cystic fibrosis *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2024

European Journal of Medicinal Chemistry 276 (2024) 116691



Contents lists available at ScienceDirect

European Journal of Medicinal Chemistry

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ejmech



Research paper

Identification of 6,9-dihydro-5H-pyrrolo[3,2-h]quinazolines as a new class of F508del-CFTR correctors for the treatment of cystic fibrosis

Marilia Barreca^{a,1}, Mario Renda^{b,1}, Virginia Spanò^a, Alessandra Montalbano^a,
Maria Valeria Raimondi^a, Stefano Giuffrida^a, Roberta Bivacqua^a, Tiziano Bandiera^c, Luis J.
V. Galletta^{b,d}, Paola Barraja^{a,*}

^a Department of Biological, Chemical, and Pharmaceutical Sciences and Technologies (STABCEP), University of Palermo, Via Archirafi 32, 90129 Palermo, Italy

^b Telethon Institute of Genetics and Medicine (TIGEM), Via Campi Nigri 34, 80078 Pozzuoli, NA, Italy

^c IIT PharmChemistry, Istituto Italiano di Tecnologia (IIT), Via Morego 30, I6103 Genoa, Italy

^d Department of Translational Medical Sciences (DTSMET), University of Naples "Federico II", Via Sergio Pansini 5, 80131 Naples, Italy

ARTICLE INFO

Keywords:
Cystic fibrosis
F508del-CFTR
CFTR correctors
pyrrolo[3,2-h]quinazolines

ABSTRACT

Although substantial advances have been obtained in the pharmacological treatment of cystic fibrosis (CF) with the approval of Kaftrio, a combination of two correctors (VX-661, VX-445) and one potentiator (VX-770), new modulators are still needed to rescue F508del and other CFTR mutants with trafficking defects. We have previously identified P⁹⁷ compounds based on a tricyclic core as correctors with high efficacy in the rescue of F508del-CFTR on native epithelial cells of CF patients, particularly in combination with class 1 correctors (VX-809, VX-661). Compound PP028 was found as a lead candidate for the high rescue of F508del-CFTR and used for mechanistic insight indicating that PP028 behaves as a class 3 corrector, similarly to VX-445.

From the exploration of the chemical space around the hit structure, based on iterative cycles of chemical synthesis and functional testing, the class of 6,9-dihydro-5H-pyrrolo [3,2-h]quinazolines with corrector activity was discovered. Within a series of 38 analogues, two derivatives emerged as promising candidates and used for further insight to assess the mechanism of action. Both compounds, decorated with a benzensulfonamino group at the pyrimidine moiety, were able to generate a dose-dependent increase in CFTR function, particularly in the presence of VX-809. Half-effective concentrations (EC₅₀) were in the single digit micromolar range and decreased in the presence of VX-809 thus indicating a synergistic interaction with class 1 correctors. Synergy was also observed with coe-4a (class 2 corrector) but not with VX-445 and PP028 (class 3 correctors) indicating that the new compounds behave as class 3 correctors. These results suggest that tricyclic pyrrolo-quinazolines interact with CFTR at a site different from that of VX-809 and represent a novel class of CFTR correctors suitable for combinatorial pharmacological treatments for the basic defect in CF.



Brevetti



(PCT Int. Appl. (2020), Preparation of heterocyclic compounds for medical use WO 2020104558 A1 20200528, Telethon-UniPa-FFC; PCT/EP2019/081988; extended to (UNITED STATES N°17295728, CANADA N°3120739, AUSTRALIA N° 2019382862, ISRAEL N° 283315, EPO N°198087553)

Rendiconto economico



PROGETTO STRATEGICO

Molecole 3.0 per la fibrosi cistica. Fase 3

Nuovi modulatori farmacologici per il recupero della proteina CFTR mutata



Responsabili:

Paola Barraja

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

Luis J. V. Galiotta

(Istituto Telethon di Genetica e Medicina - TIGEM, Pozzuoli, Napoli)



Periodo:

02/10/23 - 30/09/24



Grant assegnato:

€ 174.000,0



Usato per fase 1:

| | |
|-------------------------|-------------|
| -Materiale di consumo | € 102.362,8 |
| -Spese viaggio/convegni | € 1.950,9 |
| -Borse di studio | € 40.857,0 |
| -Spedizioni | € 227,8 |
| -Equipment | € 27.950,2 |

€ 173.348,6



Saldo (usato per altri progetti):

€ 651,4



Al grant assegnato ai ricercatori è stata addizionata una quota del 5% per la gestione amministrativa di FFC Ricerca.