

APPROCCI POLIFARMACOLOGICI INNOVATIVI PER IL TRATTAMENTO DELLA FIBROSI CISTICA



*Il team di ricerca
da sinistra: Daniele Rubini, Matteo Longo, Lisa Giannessi, Francesca Barbieri, Maria Grazia Martina, Marco Radi.*

La fibrosi cistica è una malattia genetica grave molto complessa che colpisce soprattutto l'apparato respiratorio e quello digerente. Sebbene le nuove combinazioni di farmaci abbiano contribuito ad incrementare notevolmente l'aspettativa di vita dei pazienti, un aspetto ancora molto critico è costituito dal complesso regime terapeutico quotidiano (farmacologico e fisioterapico) che male si integra con una buona qualità della vita. Il Laboratorio di Chimica Farmaceutica, guidato dal Prof. Marco Radi, si occupa della progettazione e sintesi di molecole multi-target per lo sviluppo di nuovi approcci polifarmacologici al trattamento della fibrosi cistica. L'idea di fondo si basa sull'assunto che un singolo principio attivo, capace di modulare contemporaneamente più target biologici potrebbe semplificare il pesante regime terapeutico e i conseguenti effetti collaterali.

Prof. Radi, di cosa si occupa il suo gruppo di ricerca e quali sono le principali tematiche su cui state lavorando?

Il gruppo di ricerca da me coordinato al Dipartimento di Scienze degli Alimenti e del Farmaco (Dipartimento di Eccellenza 2023-2027 per le scienze chimiche) si occupa della progettazione e sviluppo di nuove molecole quali potenziali farmaci per il trattamento di patologie croniche e infettive. All'interno del nostro gruppo svolgiamo una vasta gamma di attività: la progettazione razionale delle molecole, la loro sintesi chimica e l'analisi strutturale mediante tecniche spettroscopiche fino alla identificazione di candidati per la valutazione biologica attraverso numerose collaborazioni nazionali e internazionali (Figura 1). Il nostro obiettivo primario è quello

di comprendere e modulare i diversi meccanismi fisiopatologici attraverso la progettazione e lo sviluppo di composti chimici che possano trovare una potenziale applicazione come farmaci per migliorare gli attuali regimi terapeutici o per il trattamento di patologie orfane.

Nello specifico, le linee di ricerca su cui siamo attualmente attivi riguardano lo sviluppo di agenti anti-infettivi a largo spettro d'azione (antivirali e antibatterici), lo studio di nuovi agenti anti-infiammatori per malattie croniche intestinali (modulatori dell'asse CCR6-CCL20), lo sviluppo di nuovi



Figura 1. La sintesi chimica delle nuove molecole.

agenti ipolipidemizzanti (inibitori di PCSK9) e lo sviluppo di approcci polifarmacologici innovativi per il trattamento della fibrosi cistica.

Quale è stato il percorso che ha portato il suo gruppo di ricerca ad occuparsi di fibrosi cistica?

Dopo il mio arrivo a Parma, all'inizio del 2012, ho cercato di mettere a frutto l'esperienza maturata nei diversi laboratori di ricerca italiani ed esteri nei quali ho avuto il piacere di lavorare, in modo da integrarla con il tessuto produttivo del territorio. Parma può vantare infatti una delle prime 50 aziende farmaceutiche al mondo, la Chiesi Farmaceutici, impegnata da sempre sullo sviluppo di farmaci per patologie dell'apparato respiratorio. È stato proprio grazie ad un progetto finanziato dalla Fondazione Chiesi e in collaborazione con il Rega Institute for Medical Research di Lovanio (Belgio) che, nel 2013, abbiamo potuto iniziare ad applicare la nostra esperienza in campo antivirale per sviluppare delle nuove molecole capaci di bloccare la replicazione di alcuni dei più diffusi virus respiratori. Un numero crescente di studi suggerisce infatti che i rinovirus contribuiscono in modo significativo alle esacerbazioni polmonari, all'aumento

dell'ospedalizzazione, alla ridotta funzionalità polmonare e sembrano anche predisporre i polmoni alla colonizzazione batterica. Purtroppo ancora oggi non esistono dei farmaci approvati per il trattamento delle infezioni da rinovirus ed è quindi difficile valutare la rilevanza di queste infezioni nel decorso della fibrosi cistica.

Ci può spiegare cos'è la fibrosi cistica e quali sono i trattamenti oggi disponibili per i pazienti?

La fibrosi cistica è la malattia genetica ereditaria grave più diffusa al mondo, con un'incidenza, solo in Italia, di circa 1 su 2500 nuovi nati. È una malattia multisistemica molto complessa che colpisce principalmente l'apparato respiratorio e intestinale, causando difficoltà nella digestione e perdita progressiva della funzione polmonare. Il gene mutato codifica per una proteina chiamata CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator) che, essendo difettosa, non è più in grado di trasportare gli ioni cloruro all'esterno delle cellule mucipare. Questo porta all'accumulo di muco eccessivamente denso, all'interno del quale si accumulano virus e batteri che non vengono eliminati facilmente, determinando un

circolo vizioso infezione-inflamazione che porta alla perdita irreversibile della funzionalità polmonare (Figura 2).

Ad oggi ci sono diversi farmaci disponibili per il trattamento della fibrosi cistica che hanno drasticamente incrementato l'aspettativa di vita dei pazienti: basti pensare che nel 1980 solo il 2% dei pazienti raggiungeva la maggiore età, mentre oggi si riesce ad arrivare in media ai 50 anni. Tuttavia, la terapia non è risolutiva e richiede la combinazione di diverse classi di farmaci (enzimi pancreatici, antibiotici, mucolitici, broncodilatatori e modulatori del canale CFTR) terapie fisiche e trattamenti di supporto, con un regime terapeutico molto pesante che incide enormemente sulla quotidianità dei pazienti. Un traguardo molto importante nel trattamento della fibrosi cistica è stato il recente sviluppo di farmaci Correttori e Potenzianti in grado di correggere i difetti alla base della fibrosi cistica, ripristinando l'espressione, la funzione e la stabilità della proteina CFTR difettosa. Sono oggi disponibili quattro di questi farmaci, approvati per il trattamento di pazienti con determinate mutazioni di CFTR: Kalydeco (il cui principio attivo

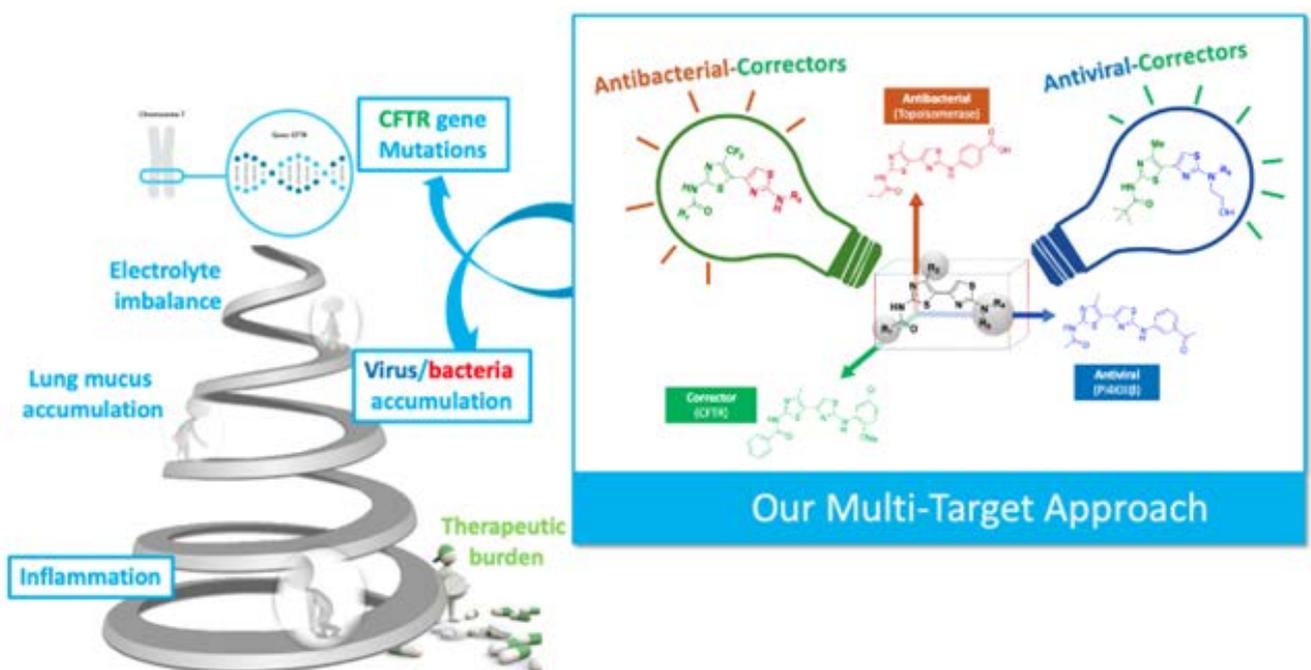


Figura 2. Il circolo patologico vizioso della fibrosi cistica e il nostro approccio polifarmacologico basato su farmaci multi-target. (Immagine riadattata dall'articolo scientifico pubblicato dal gruppo di ricerca sulla rivista scientifica internazionale "ChemMedChem", doi: 10.1002/cmdc.202200277).

è ivacaftor), Orkambi (lumacaftor/ivacaftor), Symkevi (tezacaftor/ivacaftor), Kaftrio (elixacaftor/tezacaftor/ivacaftor). Questi farmaci stanno trasformando la vita di molte persone affette da fibrosi cistica.

Qual è l'aspetto innovativo della vostra ricerca nel campo della fibrosi cistica?

Il nostro approccio è stato quello di affrontare la fibrosi cistica nella sua complessità, partendo dall'esigenza del paziente di integrare il complesso regime terapeutico nella vita quotidiana. Il classico approccio per lo sviluppo di nuovi farmaci da utilizzare prevede lo sviluppo di molecole capaci di modulare selettivamente specifici bersagli biologici con sempre maggiore potenza, siano questi correttori dei vari mutanti CFTR (ad es. Lumacaftor), potenziatori del canale CFTR (ad es. Ivacaftor), antibiotici (ad es. Azitromicina), anti-infiammatori (ad es. prednisone) ecc. È importante però sottolineare

che questi farmaci, presi singolarmente, non sono in grado di migliorare il quadro clinico dei pazienti, mentre la loro combinazione (come nel farmaco Kaftrio associato ad Ivacaftor), secondo un regime ben definito, porta ad un significativo miglioramento dello stato di salute. Costante aderenza alle terapie farmacologiche e fisioterapiche, effetti collaterali e costo dei diversi farmaci hanno però un peso notevole sulla vita dei pazienti.

L'idea che abbiamo cercato di sviluppare nel nostro gruppo di ricerca è stata quindi quella di ridurre la complessità terapeutica con un approccio polifarmacologico (Figura 2), progettando una molecola che potesse contemporaneamente correggere il canale CFTR difettoso e inibire la crescita degli agenti infettivi a livello polmonare, agendo su target per i quali è difficile sviluppare farmacoresistenza in somministrazione cronica. Per fare questo, abbiamo combinato e integrato

all'interno di uno specifico progetto di ricerca finanziato dalla Cystic Fibrosis Foundation americana, la nostra esperienza nella progettazione e sintesi di molecole multi-target con quella biochimica e biofisica dei colleghi Paola Vergani e Guy Moss dell'University College London.

Quali sono i risultati più importanti delle vostre ricerche?

Utilizzando tecniche di modellistica molecolare siamo riusciti a progettare e poi sviluppare chimicamente due classi di molecole multi-target (Figura 3). La prima classe è quella che abbiamo chiamato dei "Correttori-Antivirali", molecole cioè capaci di ripristinare la funzionalità del canale CFTR difettoso portante la mutazione più diffusa tra i pazienti (F508del) e contemporaneamente bloccare la replicazione di una serie di virus appartenenti a diverse famiglie: enterovirus (EV71, CVB3, ECHO11, PV1, EV68, RV02 and RV14), flavivirus (ZIKV) e coronavi-

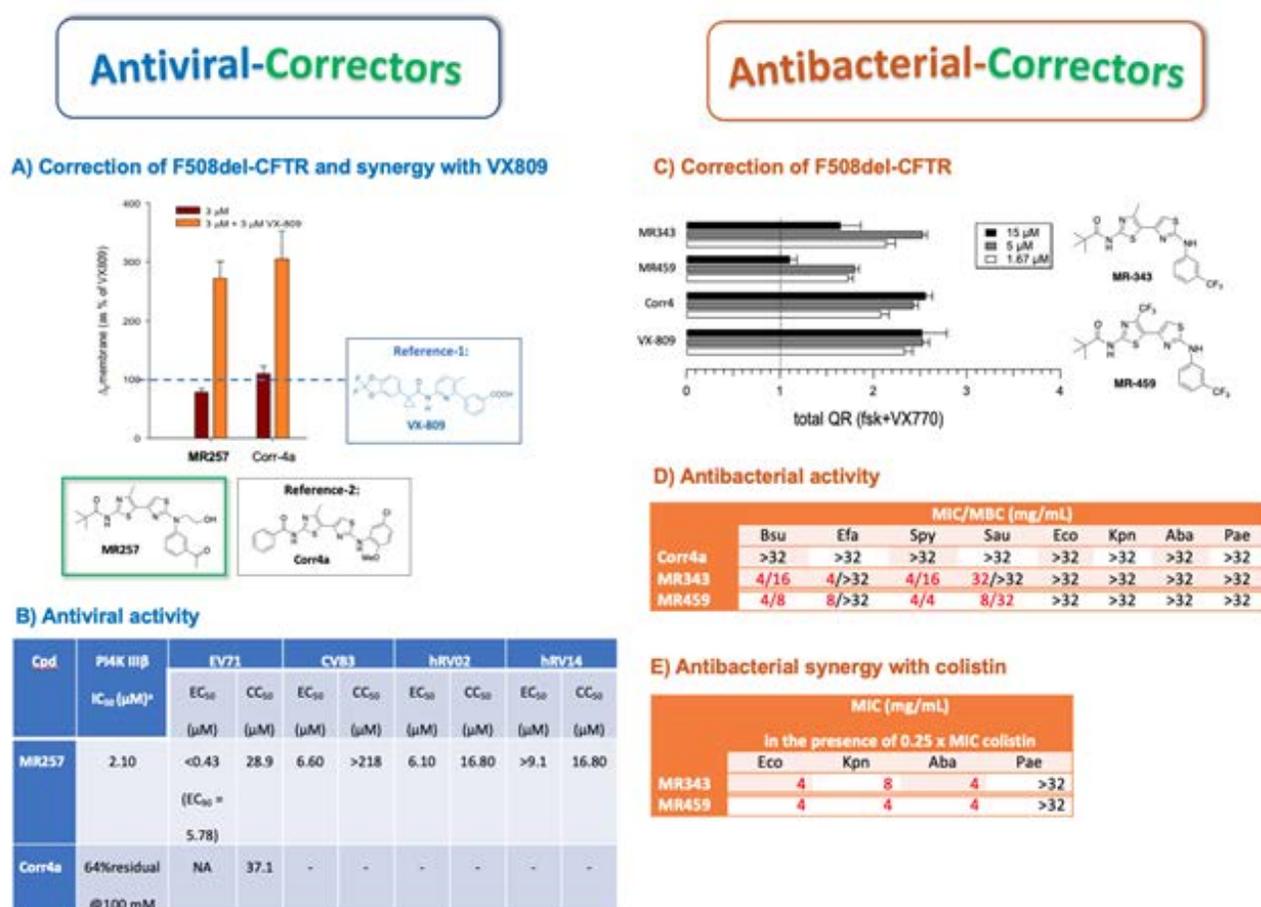


Figura 3. Selezione dei risultati biologici ottenuti per i Correttori-Antivirali (A-B) e per i Correttori-Antibatterici (C-E) estratti dagli articoli scientifici pubblicati dal gruppo di ricerca sulle riviste scientifiche internazionali "Journal of Medicinal Chemistry", doi: 10.1021/acs.jmedchem.9b01416; e "ChemMedChem", doi: 10.1002/cmdc.202200277).

rus (SARS-CoV-2). Uno dei migliori candidati (MR257) ha anche mostrato un effetto sinergico di correzione del canale CFTR in combinazione con Lumacaftor e buona tollerabilità in studi di tossicità acuta su modelli murini. Abbiamo così dimostrato che è possibile progettare e sviluppare una singola molecola in grado di esplicare due diverse azioni farmacologiche e quindi intervenire contemporaneamente su due aspetti patologici caratteristici di una malattia complessa come la fibrosi cistica.

La seconda classe è quella che abbiamo chiamato invece dei "Correttori-Antibatterici", molecole progettate per esercitare, oltre all'effetto correttivo sul canale CFTR F508del, anche un'azione antibatterica duale: questi nuovi derivati sono infatti capaci di inibire l'attività delle topoisomerasi batteriche ma anche di esercitare un effetto indiretto sull'eliminazione meccanica dei batteri (clearance mucociliare) grazie al miglioramento dell'idratazione polmonare mediata da CFTR. Alcuni dei migliori candidati (MR343 e MR459) hanno mostrato un effetto correttivo su CFTR F508del confrontabile a quello del Lumacaftor e attività antibatterica su diversi ceppi Gram-positivi e Gram-nega-

tivi. La collaborazione con i colleghi Nicoletta Pedemonte dell'Ospedale Giannina Gaslini di Genova, Emmanuele Crespan del CNR di Pavia e Jean-Denis Docquier dell'Università di Siena, è stata fondamentale per la valutazione del profilo polifarmacologico dei candidati. Questo nuovo approccio rientra quindi in quella che viene definita "medicina personalizzata" in quanto la piena attività farmacologica si ottiene solo nei pazienti con fibrosi cistica.

Quali sono le maggiori difficoltà che avete incontrato e le prospettive future di questi studi?

Chi lavora nel campo della Chimica Farmaceutica sa bene come questa, in misura maggiore rispetto ad altre discipline, sia per sua natura multidisciplinare e richieda un ulteriore sforzo di collaborazione e integrazione tra le diverse competenze per poter raggiungere il risultato atteso, ovvero un candidato farmaco. Gran parte delle difficoltà sono quindi collegate alla natura intrinseca del lavoro svolto e sono condivise con gli altri colleghi di settore. Nel caso specifico della nostra ricerca sulla fibrosi cistica, le maggiori difficoltà sono derivate dal proporre un nuovo approccio polifarmacologico basato su una singola molecola

multi-target, che si discosta quindi dal classico utilizzo delle combinazioni di diverse classi di farmaci. L'iniziale scetticismo di enti finanziatori e riviste scientifiche è stato poi superato quando, a distanza di anni dalla nostra iniziale proposta, è stato osservato che farmaci specifici comunemente utilizzati come potenziatori correttori o del canale CFTR (Ivacaftor, Lumacaftor and Trikafta), mostravano anche una moderata ma proficua attività antibatterica. Distogliere lo sguardo dal singolo target farmacologico per allargare la prospettiva potrebbe quindi portare a nuove promettenti soluzioni terapeutiche, non solo nel campo della fibrosi cistica.

Dal punto di vista delle prospettive future, abbiamo aperto delle nuove collaborazioni per cercare di trovare delle soluzioni terapeutiche per quelle mutazioni di CFTR meno comuni che non rispondono alle terapie con i farmaci attualmente disponibili. Inoltre, stiamo anche cercando di sviluppare delle nuove molecole multi-target che possano combinare l'effetto di correzione del canale CFTR con il blocco dell'asse CCR6-CCL20, essendo quest'ultimo uno dei pathway coinvolti nel processo di infiammazione polmonare.

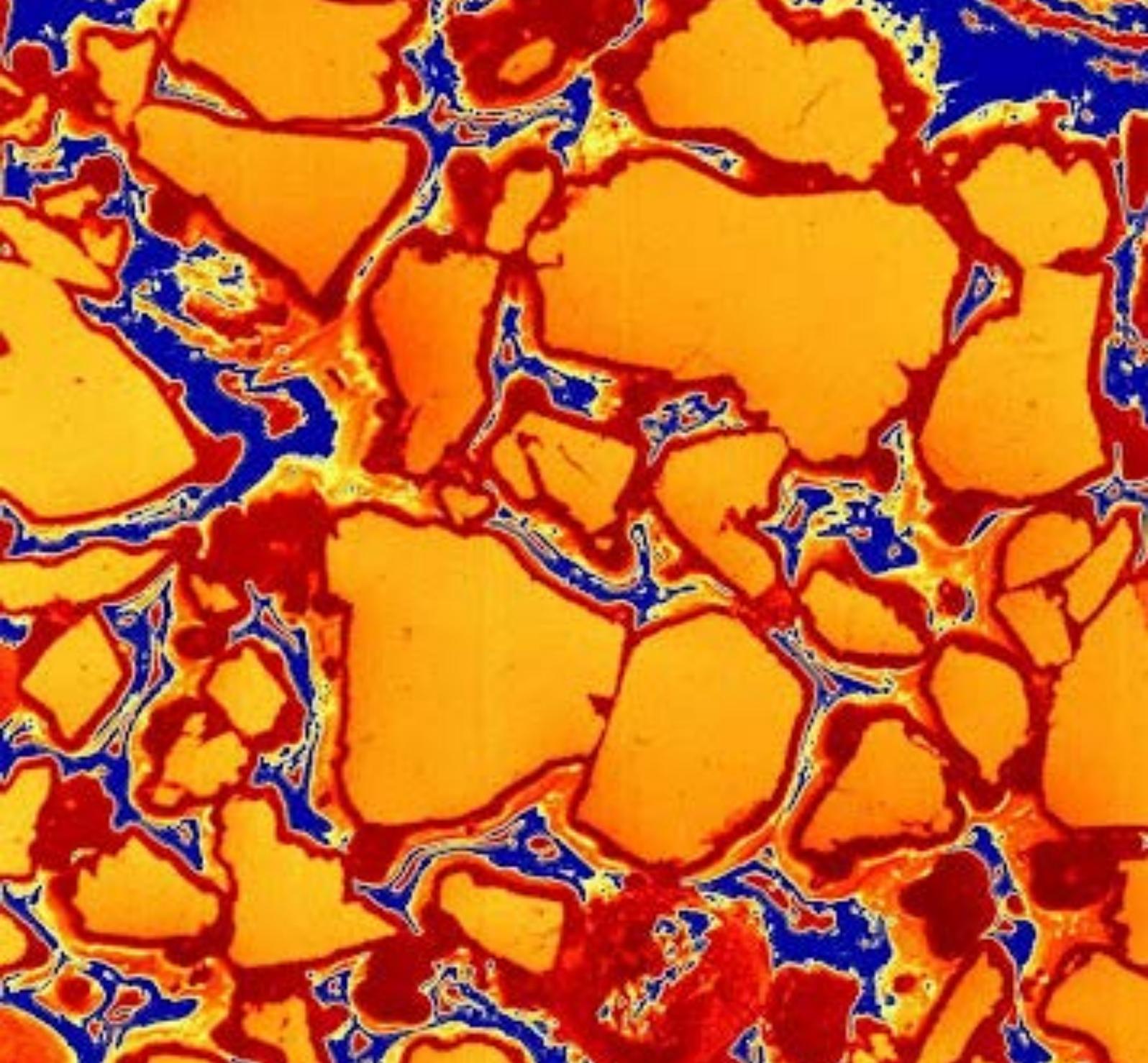
Alcuni articoli sull'approccio poli-farmacologico portato avanti dal gruppo di ricerca

Martina, M. G.; Sannio, F.; Crespan, E.; Pavone, M.; Simoncini, A.; Barbieri, F.; Perini, C.; Pesce, E.; Maga, G.; Pedemonte, N.; Docquier, J-D.; Radi, M.* *Towards Innovative Antibacterial-Correctors for Cystic Fibrosis Targeting the Lung Microbiome with a Multifunctional Effect*, ChemMedChem 2022, 17, e202200277. (<https://chemistry-europe.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/cmdc.202200277>)

Martina, M.G.; Vicenti, I.; Bauer, L.; Crespan, E.; Rango, E.; Boccutto, A.; Olivieri, N.; Incerti, M.; Zwaagstra, M.; Allodi, M.; Bertoni, S.; Dreassi, E.; Zazzi, M.; van Kuppeveld, F. J. M.; Maga, G.; Radi, M.* *Bithiazole Inhibitors of Phosphatidylinositol 4-Kinase (PI4KIII β) as Broad-Spectrum Antivirals Blocking the Replication of SARS-CoV-2, Zika Virus and Human Rhinoviruses*, ChemMedChem 2021, 16, 3548-3552. (<https://chemistry-europe.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cmdc.202100483>)

Tassini S, Langron E, Delang L, Mirabelli C, Lanko K, Crespan E, Kissova M, Tagliavini G, Fontò G, Bertoni S, Palese S, Giorgio C, Ravanetti F, Ragionieri L, Zamperini C, Mancini A, Dreassi E, Maga G, Vergani P, Neyts J, Radi M.* *Multi-Target CFTR Modulators Endowed with Multiple Beneficial Side Effects for Cystic Fibrosis Patients: Toward a Simplified Therapeutic Approach*. J. Med. Chem. 2019, 62, 10833-10847. (<https://chemistry-europe.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/cmdc.202200277>)

Tassini, S.; Sun, L.; Lanko, K.; Crespan, E.; Langron, E.; Falchi, F.; Kissova, M.; Armijos-Rivera, J. I.; Delang, L.; Mirabelli, C.; Neyts, J.; Pieroni, M.; Cavalli, A.; Costantino, G.; Maga, G.; Vergani, P.; Leyssen, P.; Radi, M.* *Discovery of Multi-Target Agents Active as Broad-Spectrum Antivirals and Correctors of Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (CFTR) for Associated Pulmonary Diseases*, J. Med. Chem. 2017, 60, 1400-1416. (<https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/acs.jmedchem.6b01521>)



UNIVERSITÀ
DI PARMA

giugno 2023

UNIPR **Ricerca**

risultati, persone, fatti della ricerca di Ateneo

in evidenza:

Approcci polifarmacologici innovativi per il trattamento della fibrosi cistica

Le cause della ridotta capacità d'esercizio fisico dei pazienti con malattie cardio-polmonari

Raffreddare sfruttando il magnetismo

La catalisi chimica applicata all'utilizzo di CO₂ e per la preparazione di nuove molecole attive nei confronti del virus HIV

Nuovi processi industriali per l'industria alimentare a minor impatto ambientale

Il corpo vivo della forma urbana: per una teoria di rigenerazione della città

Il benessere genera la pace: il ruolo dello sviluppo economico

UNIPR Ricerca
giugno 2023

a cura di:

Coordinamento: Roberto Fornari
Redazione: Barbara Rondelli,
Licia Gambarelli, Giovanna Greci
Grafica e impaginazione:
Nicola Franchini

inviare commenti, segnalazioni e spunti a:

dirigenza.ricerca@unipr.it

archivio:

www.unipr.it/ricerca

in copertina: immagine ottenuta con microscopio elettronico a scansione (dall'articolo a pagina 11)

immagini: fornite e concesse dai docenti autori delle ricerche

Le notizie a pagina 25 sono in parte tratte e riadattate dall'archivio notizie del portale www.unipr.it

UNIPR Ricerca: un nuovo strumento per fare conoscere la nostra migliore ricerca

Gentili lettrici e lettori,

L'Università di Parma si trova nella fase di transizione che prelude all'insediamento del nuovo Rettore e della sua squadra di governo a novembre 2023. Il momento più opportuno, a mio avviso, per valutare la strategia messa in campo negli anni passati in ambito ricerca, trarne qualche insegnamento e nuovi stimoli da passare a chi guiderà l'Ateneo nei prossimi anni. Con la piena consapevolezza che la ricerca è uno dei fattori che maggiormente contribuisce alla reputazione di ogni università, l'attuale amministrazione ha compiuto un grande sforzo, finanziario e organizzativo, per migliorare la performance di ricerca del nostro Ateneo. La strategia attuata si è focalizzata su pochi, ma decisivi, elementi: rafforzamento del personale di ricerca; laboratori e infrastrutture all'altezza dei compiti e dei tempi; finanziamenti interni per lanciare progetti di frontiera destinati a divenire progetti competitivi nazionali e internazionali; efficace supporto tecnico-amministrativo alla progettualità dei docenti; ampia disseminazione dei risultati; costante monitoraggio della produzione scientifica e grande attenzione agli aspetti etici della ricerca. Questa strategia si è concretizzata in una serie di azioni, elaborate con il prezioso contributo della Commissione di Ateneo per la Ricerca e pienamente supportate dal Rettore Andrei e dalla governance, sia a diretto supporto dei gruppi di ricerca che di tipo organizzativo-strutturale:

- i. bandi interni per il finanziamento di progetti e di assegni di ricerca, bandi per acquisizione e manutenzione di attrezzature scientifiche. Complessivamente quasi 14 milioni di euro nei sei bandi annuali più un bando straordinario per progetti su SARS-COV-2
- ii. sei bandi annuali per il finanziamento individuale ai docenti sulla base della loro produttività scientifica, per un totale di 6,6 milioni di euro
- iii. premialità a PI di progetti europei valutati molto positivamente ma non finanziati
- iv. misure per la razionalizzazione e uso ottimale delle infrastrutture di Ateneo (fra le quali ricordiamo la centralizzazione delle biblioteche e degli stabulari del Campus, la piattaforma delle apparecchiature di Ateneo, il potenziamento del Centro di Calcolo Avanzato e di altri centri di servizio)
- v. revisione della rete dei centri interdipartimentali di Ateneo
- vi. riorganizzazione dell'Area Ricerca per un più efficace supporto tecnico-amministrativo ai docenti
- vii. misure a salvaguardia della qualità e dell'etica della ricerca. In questo punto rientrano l'emanazione Linee guida per la Buona Pratica Scientifica e l'istituzione della figura del Garante, la creazione del Comitato Etico per la ricerca non medica, l'uso di strumenti informatici anti-plagio.

A queste azioni si aggiunge la pubblicazione dall'ormai lontano agosto 2018 di *UNIPR Ricerca*, il magazine che periodicamente presenta a colleghi, studenti e loro famiglie, a partner e istituzioni locali, alcuni risultati di ricerca particolarmente significativi, per evidenziare il ruolo giocato dall'Università di Parma nell'avanzamento del sapere e nella concreta risoluzione di problemi in campo tecnologico, scientifico o sociale. Circa settanta gruppi di ricerca hanno avuto modo di presentarsi e di illustrare le loro attività, mettendo anche in risalto l'insostituibile azione formativa verso giovani ricercatori, dottorandi e studenti.

Il costante incremento di pubblicazioni, il buon risultato raggiunto all'ultima tornata VQR, i tre dipartimenti di eccellenza, il successo nella competizione PNRR, e quello che si profila essere un ottimo risultato al primo PRIN 2022, dove il nostro Ateneo vede 134 progetti finanziati sui 292 presentati, sembrano indicare che si sia percorsa la strada giusta. Si poteva fare di meglio per la nostra ricerca? Ce l'abbiamo messa tutta, ma non vi è dubbio che ci siano margini per migliorare e facilitare l'attività dei nostri ricercatori. Auguro di tutto cuore al prossimo Rettore Paolo Martelli e al mio successore di identificare tali margini e di sfruttarli affinché la ricerca dell'Università sia di sempre più alto profilo.

Un cordialissimo saluto,

Roberto Fornari

Prorettore per la Ricerca