

## Sviluppo preclinico di oligonucleotidi

R. Tonelli<sup>1</sup>, L. Montemurro<sup>2</sup>, S. Angelucci<sup>1</sup>, Damiano Bartolucci<sup>1</sup>, C. Amadesi<sup>3</sup>, M. Pecoraro<sup>4</sup>, M. Lauriola<sup>5</sup>, L. Falcioni<sup>5</sup>, G. Nieddu<sup>3</sup>, L. Cerisoli<sup>3</sup>, A. Pession<sup>2</sup>, P. Hrelia<sup>1</sup>, A.L. Scardovi<sup>3</sup>

<sup>1</sup> *Dipartimento di Farmacia e Biotecnologie (FaBit), Università di Bologna, Bologna, Italia*

<sup>2</sup> *Centro Interdipartimentale per la Ricerca sul Cancro, Università di Bologna, Bologna, Italia*

<sup>3</sup> *BIOGENERA SpA, Bologna, Italia; 4 Aptuit, Verona, Italia; 5 GLP Life Test, Bologna, Italia*

Gli oligonucleotidi rappresentano una classe emergente di farmaci con numerose potenziali applicazioni terapeutiche. La recente immissione sul mercato di nuovi farmaci oligonucleotidici, non solo aumenta l'attenzione su questa promettente classe, ma sottolinea anche il bisogno di caratterizzare meglio il loro profilo di efficacia e sicurezza.

Verrà presentata una panoramica delle diverse generazioni di oligonucleotidi terapeutici con particolare attenzione alle modificazioni chimiche che sono state introdotte per ottimizzare i profili farmacologici e tossicologici.

Inoltre, verranno presentati come esempio gli studi preclinici di efficacia e sicurezza, relativi ad un oligonucleotide anti-*MYCN* a PNA (BGA002), che ha ottenuto la designazione di farmaco orfano per il trattamento del Neuroblastoma (NB) (da EMA ed FDA) e per il trattamento dei Sarcomi dei Tessuti Molli (da EMA).

Gli oligonucleotidi Acidi Peptido-Nucleici (PNAs) appartengono alla più recente classe di terapie biotecnologiche basate su analoghi del DNA e possiedono caratteristiche del tutto uniche per il loro impiego in ambito clinico: resistenza alla degradazione, alta stabilità e alta specificità per le sequenze target complementari a DNA e RNA, capacità di legame alla sequenza target e conseguente blocco della trascrizione.

*MYCN* appartiene alla famiglia degli oncogeni *MYC* ed è correlato a molte caratteristiche tipiche dei tumori più aggressivi. *MYCN* è frequentemente espresso e/o amplificato in un rilevante numero di tumori solidi pediatrici tra i quali il Neuroblastoma, il Rhabdomyosarcoma, il Medulloblastoma ed anche in tumori dell'adulto quali il Tumore del Polmone a piccole cellule. *MYCN* è anche un marker di prognosi infausta per i tumori pediatrici e dell'adulto più aggressivi. *MYCN* è altamente espresso in epoca fetale e nelle masse tumorali, mentre presenta un pattern di espressione molto ristretto in tessuti sani dopo la nascita; di conseguenza non sono attesi effetti avversi a seguito di una terapia specifica anti-*MYCN* per Neuroblastomi con *MYCN* amplificato/espresso. E' stata dimostrata efficacia sia in esperimenti *in-vitro* che *in-vivo*, questi ultimi condotti su tre diversi modelli murini tumorali. Sono stati completati in topi juvenile gli studi di tossicologia e di sicurezza in conformità alle BPL. Altri studi (valutazione cardiovascolare in coniglio e test dei canali hERG) sono stati condotti per integrare i dati di sicurezza farmacologica. Le valutazioni di sicurezza farmacologica sul sistema nervoso centrale e sul sistema respiratorio sono state incluse nello studio tossicologico; mentre lo studio del sistema cardiovascolare è stato eseguito in conigli juvenile. Studi di Farmacocinetica/Farmacodinamica *in-vivo* sono stati condotti sul sangue per dimostrare la biodisponibilità in topi juvenile (somministrazione singola e ripetuta) e conigli juvenile (somministrazione singola). Per verificare la distribuzione e la persistenza negli organi è stato eseguito uno studio BPL di biodistribuzione tramite QWBA (Quantitative Whole Body Autoradiography) in topi juvenile. A seguito della somministrazione sistemica di BGA002 in modelli murini xenograft tumorali con *MYCN* amplificato si è registrato un effetto anti-tumorale caratterizzato da una potente dose-dipendenza. La risposta farmacodinamica *in-vivo* è dimostrata

dalla riduzione della quantità di proteina N-Myc tramite analisi di immunistoichimica sulle masse tumorali estratte dagli animali trattati. I profili tossicologico e di sicurezza farmacologica hanno dimostrato che il BGA002 è ben tollerato.

In conclusione, gli studi preclinici dell'oligonucleotide anti-*MYCN* BGA002 hanno dimostrato una potente e specifica attività anti-tumorale *in-vitro* e *in-vivo* su diversi tumori positivi per *MYCN*. Considerando la sua consistente efficacia e il ben tollerato profilo tossicologico, BGA002 prosegue nel suo percorso di sviluppo verso uno studio clinico di Fase I in pazienti affetti da Neuroblastoma con espressione di *MYCN*.