

# **La découverte de médicaments en biotechnologie: de l'idée au produit**

Les relations biotechnologie-Université

# La découverte de médicaments en biotechnologie: de l'idée au produit

- La relation biopharmaceutique - Université
  - au début d'un projet de découverte
  - pendant le projet de recherche
  - après la découverte du médicament
- Conclusions

# La découverte de médicaments

- Point de départ: une idée nouvelle
  - nouvelle **cible moléculaire**
  - nouveau **niveau d'attaque**
  - nouveau **rôle** d'un système connu
  - nouveau **concept**
  - nouveaux **outils thérapeutiques**
- Finalité: des patients
  - un **médicament** nouveau
  - un besoin thérapeutique
- Dans presque tous les cas, le point de départ vient de **l'université**

# La découverte de médicaments

- Point de départ: une idée nouvelle
  - nouvelle **cible moléculaire**
    - nouvelle protéine: Endothéline
    - déorphanization d'un récepteur: oréxine, urotensine

## La découverte de médicaments

- Point de départ: une idée nouvelle
  - nouveau **niveau d'attaque**
    - principe thérapeutique déjà connu: Inhibition de la rénine

## La découverte de médicaments

- Point de départ: une idée nouvelle
  
- nouveau **rôle** d'un système connu
  - Oréxine dans l'insomnie
  - Beta-bloqueurs ou anti-aldostérone dans l'insuffisance cardiaque
  - Thalidomide
  - Rapamycine

## La découverte de médicaments

- Point de départ: une idée nouvelle
  
- nouveau **concept**
  - Tyrosine kinase inhibition dans le cancer
  - Anti-angiogénèse

## La découverte de médicaments

- Point de départ: une idée nouvelle
  
- nouveaux **outils thérapeutiques**
  - siRNA
  - anticorps
  - antisense

# La découverte de médicaments en biotechnologie: de l'idée au produit

- La relation biopharmaceutique - Université
  - au début d'un projet de découverte
  - pendant le projet de recherche
  - après la découverte du médicament
- Conclusions

# La relation biotechnologie - Université - pendant le projet

- Le projet de découverte du médicament:
  - Préparation de librairies
  - Mise au point de tests de criblage
  - Criblage de librairies chimiques
  - Chimie organique
  - Obtention de produits puissants et sélectifs
  - Confirmation de la validité du concept
  - Optimisation vers un médicament
  - Recherche de marqueurs intermédiaires d'efficacité
  - Caractérisation préliminaire de la sécurité
  - Sélection d'un candidat au développement
- A tous les stades, partenariat biotechnologie-université

# La découverte de médicaments en biotechnologie: de l'idée au produit

- La relation biopharmaceutique - Université
  - au début d'un projet de découverte
  - pendant le projet de recherche
  - après la découverte du médicament
- Conclusions

# La relation biotechnologie - Université - après la découverte du médicament

## 1. Le choix de l'indication

- Le rôle du système visé en pathologie
- La congruence entre les effets du système visé et la pathologie
- L'observation des effets des antagonistes (modèles cellulaires, tissulaires, modèles animaux)

# La relation biotechnologie - Université - après la découverte du médicament

## 2. Le développement pré-clinique

- Renforcement des données de pharmacologie
- Pharmacocinétique, caractérisation des métabolites, interactions médicamenteuses potentielles
- Sécurité, toxicologie
- Synthèse chimique à grande échelle
- Formulation

# La relation biotechnologie - Université - après la découverte du médicament

## 3. Le développement clinique

- Collaboration entre le groupe pharmaceutique et les experts:
  - consultants:
    - choix des “end-points”
    - choix du protocole
    - faisabilité
    - interprétation
  - acteurs:
    - patients
    - observations
    - interprétation
    - recherche de biomarqueurs, études satellites
    - rôle dans la surveillance post-marketing

# La découverte de médicaments en biotechnologie: de l'idée au produit

- La relation biopharmaceutique - Université
  - au début d'un projet de découverte
  - pendant le projet de recherche
  - après la découverte du médicament
- Exemples
- Conclusions

# **La relation biotechnologie - Université - au moment de l'idée**

Illustration 1: le projet endothéline

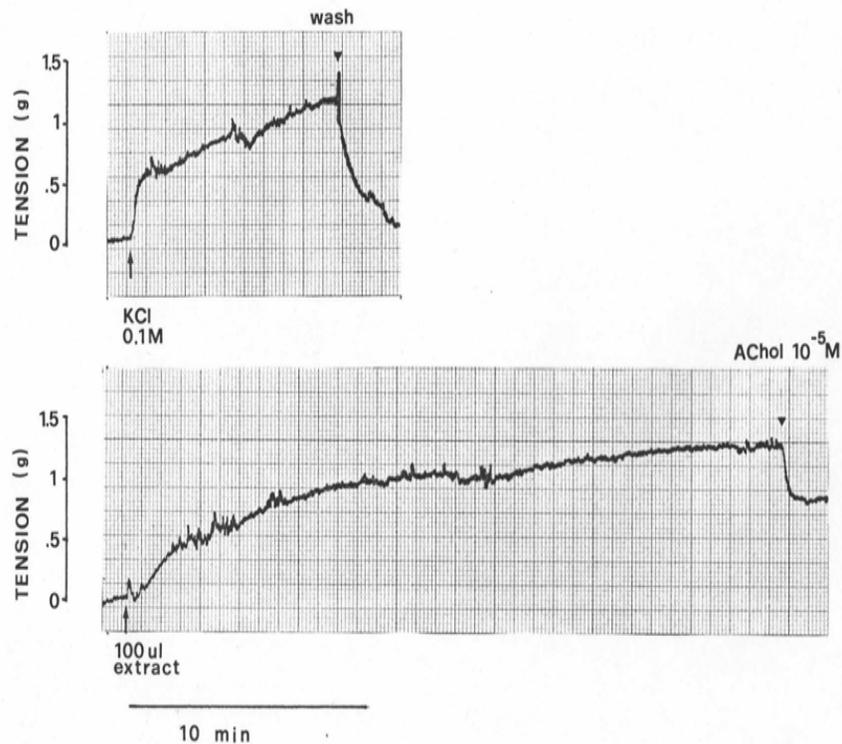
# Endothelial Cells in Culture Produce a Vasoconstrictor Substance

RICHARD F. O'BRIEN,\* RICHARD J. ROBBINS, AND IVAN F. McMURTRY

*Department of Medicine, CVP Research Laboratory, University of Colorado Health Sciences Center, Denver, Colorado 80262*

We report that cultured vascular endothelial cells release into the culture medium a vasoconstrictor peptide, a substance we call an endothelium-derived constricting factor (EDCF). Conditioned medium from cultured bovine aortic and pulmonary artery endothelial cells caused sustained, dose-dependent isometric constriction of vascular rings isolated from bovine coronary and pulmonary arteries and rat and guinea pig pulmonary arteries and aortas. The medium also caused vasoconstriction when infused into isolated, perfused rabbit hearts and rat kidneys. Conditioned medium from bovine

# Le milieu de culture de cellules endothéliales humaines contracte les anneaux d'aorte de rat



# A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells

Masashi Yanagisawa, Hiroki Kurihara<sup>†</sup>, Sadao Kimura, Yoko Tomobe, Mieko Kobayashi<sup>\*</sup>, Youji Mitsui<sup>\*</sup>, Yoshio Yazaki<sup>†</sup>, Katsutoshi Goto & Tomoh Masaki<sup>†</sup>

Institute of Basic Medical Sciences, University of Tsukuba, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan

<sup>\*</sup> Fermentation Research Institute, Agency of Industrial Science and Technology, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan

<sup>†</sup> Third Department of Internal Medicine, University of Tokyo, Hongo, Tokyo 113, Japan

---

*An endothelium-derived 21-residue vasoconstrictor peptide, endothelin, has been isolated, and shown to be one of the most potent vasoconstrictors known. Cloning and sequencing of preproendothelin complementary DNA shows that mature endothelin is generated through an unusual proteolytic processing, and regional homologies to a group of neurotoxins suggest that endothelin is an endogenous modulator of voltage-dependent ion channels. Expression of the endothelin gene is regulated by several vasoactive agents, indicating the existence of a novel cardiovascular control system.*

## Pathophysiological role of endothelin revealed by the first orally active endothelin receptor antagonist

Martine Clozel, Volker Breu, Kaspar Burri, Jean-Marie Cassal, Walter Fischli, Gillian A. Gray, Georges Hirth, Bernd-Michael Löffler, Marcel Müller, Werner Neidhart & Henri Ramuz

Pharma Division, Preclinical Research, F. Hoffmann-La Roche Ltd, Grenzacherstrasse 124, CH-4002 Basel, Switzerland

SINCE its discovery<sup>1</sup>, endothelin-1 has attracted considerable scientific interest because of its extremely potent and long-lasting vasoconstrictor effect and its binding to G-protein-coupled receptors<sup>2</sup>. Plasma concentrations of endothelin-1 are low<sup>3</sup> and its release by endothelial cells is polarized towards the basolateral side<sup>4,5</sup>, suggesting that it is a paracrine factor and not a hormone. Consequently, the effect of injected endothelin-1 may not reflect the effect of endogenous endothelin-1. In contrast, blockade of the action of endogenous endothelin-1 using receptor antagonists should be a valuable means of investigating its physiological and pathological effects. We report here evidence for the pathophysiological role of endothelin-1 as brought by the first synthetic orally active non-peptide antagonist of endothelin receptors, Ro 46-2005.

Our goal was to develop mixed antagonists of all known endothelin (ET) receptors and to use them to assess the potential role of ET-1 in models of focal vasoconstriction. Two subtypes of ET receptors, ET<sub>A</sub> and ET<sub>B</sub>, have been cloned and characterized<sup>6,7</sup>, although there is evidence for other subtypes<sup>8,9</sup>. The ET<sub>A</sub> receptor mediates a major part of the vasoconstriction induced by ET-1 (ref. 10). The ET<sub>B</sub> subtype mediates endothelium-dependent vasodilation<sup>11</sup>, but its stimulation by selective agonists can also induce vasoconstriction<sup>12-15</sup>. In addition, because ET was suspected to play a role in chronic diseases<sup>16-18</sup>, the development

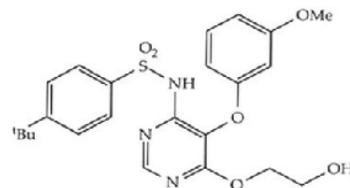


FIG. 1 Structure of Ro 46-2005.

of non-peptidic, small  $M_r$  antagonists that could be orally administered was an important objective. For this purpose several thousands of compounds from a chemical library were screened for their capacity to inhibit specific <sup>125</sup>I-ET-1 binding in a human placenta membrane preparation<sup>19</sup>. This screening led to the identification of a class of pyrimidinyl sulphonamides that had been synthesized as part of an antidiabetic project and were noted to be weak inhibitors of <sup>125</sup>I-ET-1 binding. Structural modification of these compounds by chemical synthesis led to the discovery of Ro 46-2005 (4-tert-butyl-N-[6-(2-hydroxyethoxy)-5-(3-methoxy-phenoxy)-4-pyrimidinyl]-benzenesulphonamide), a potent inhibitor itself devoid of hypoglycaemic activity. Its structure is shown in Fig. 1.

Before testing Ro 46-2005 *in vivo*, it was crucial to assess its binding and functional characteristics, and its selectivity. Ro 46-2005 completely inhibited the specific binding of <sup>125</sup>I-ET-1 to human vascular smooth muscle cells (ET<sub>A</sub> receptor) and rat aortic endothelial cells (ET<sub>B</sub> receptor), with half-maximal inhibition at concentrations of  $2.2 \times 10^{-7}$  M and  $1 \times 10^{-6}$  M, respectively. The *in vitro* functional activity of Ro 46-2005 was examined on vascular preparations carrying ET<sub>A</sub> and ET<sub>B</sub> receptors. In isolated rat aortic rings denuded of their endothelium (ET<sub>A</sub> receptors), Ro 46-2005 had no agonistic effect, but antagonized the contractions induced by ET-1 in a concentration-dependent manner (Fig. 2a). Increasing concentrations of Ro 46-2005 caused a parallel shift to the right of the concentration-response curves of ET-1, without causing a decrease in the maximal response. Analysis of the data<sup>20</sup> yielded

## La pharmacologie supportée par la chimie

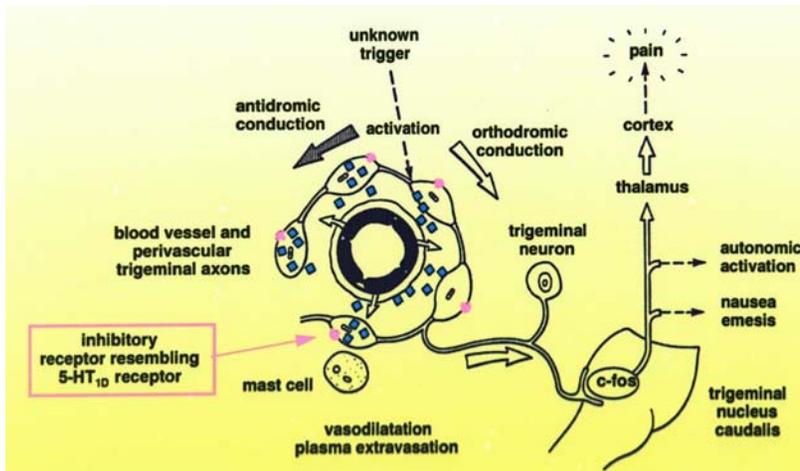
- Ro 46-2005      Dual      Clozel M., *et al*, Nature 1993
- Ro 47-0203      Dual      Clozel M., *et al*, J Pharmacol Exp Ther 1994
- Ro 48-5695      Dual      Neidhart W., *et al*, Biorg Med Chem Lett 1997
- Ro 61-0612      Dual      Clozel M., *et al*, J Pharmacol Exp Ther 1999
- Ro 61-1790      ET<sub>A</sub>      Roux S., *et al*, J Pharmacol Exp Ther 1997
- Ro 46-8443      ET<sub>B</sub>      Breu V., *et al*, FEBS Lett 1996

## La pharmacologie supportée par la chimie

- Ro 46-2005    Dual    Clozel M., *et al*, Nature 1993
- Ro 47-0203 = bosentan
- Ro 48-5695    Dual    Neidhart W., *et al*, Biorg Med Chem Lett 1997
- Ro 61-0612 = tezosentan
- Ro 61-1790 = clazosentan
- Ro 46-8443    ET<sub>B</sub>    Breu V., *et al*, FEBS Lett 1996

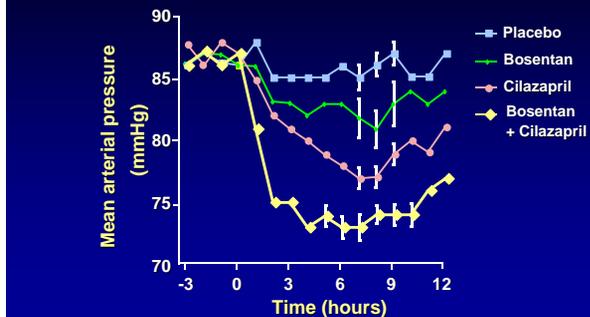
# Les études animales sont décisives

- Hoffmann-LaRoche



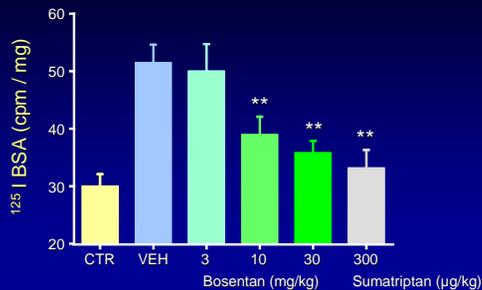
Moskowicz *et al.*, TIPS, 1992; Brändli P. *et al.*, Pain, 1995

## Bosentan, cilazapril et leur combinaison dans l'insuffisance cardiaque



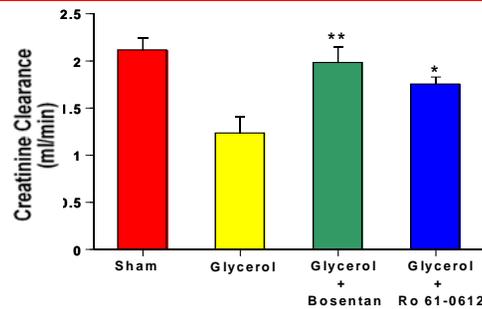
Teerlink *et al.*, *Circulation*, 1994

## Dose-response of Bosentan and Effect of Sumatriptan on Neurogenic Plasma Protein Extravasation in Dura Mater Following Administration of Capsaicin



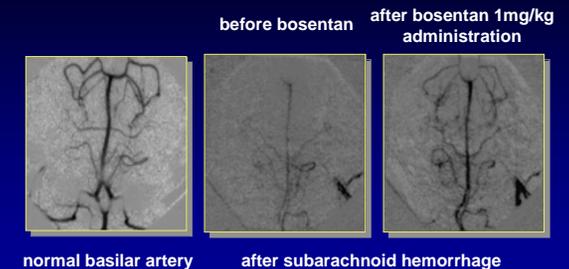
Brändli P. *et al.*, *Pain*, 1996

## Bosentan and tezosentan dans l'insuffisance rénale aiguë du crush syndrome



Karam H. *et al.*, *JPET* 1995

## Effet du bosentan dans l'hémorragie méningée



normal basilar artery      after subarachnoid hemorrhage      after bosentan 1mg/kg administration

Roux S *et al.*, *Neurosurgery*, 1995

# Les études animales sont décisives

- Groupes universitaires

## Effet du bosentan sur les artères pulmonaires de rats avec HTAP

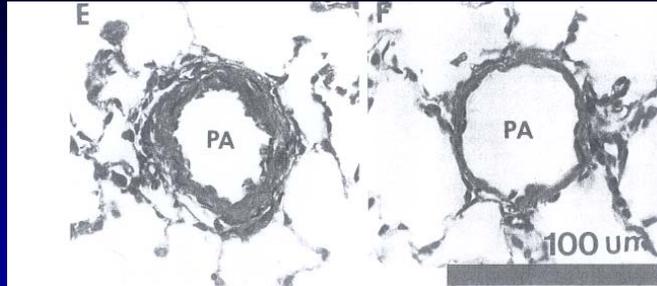
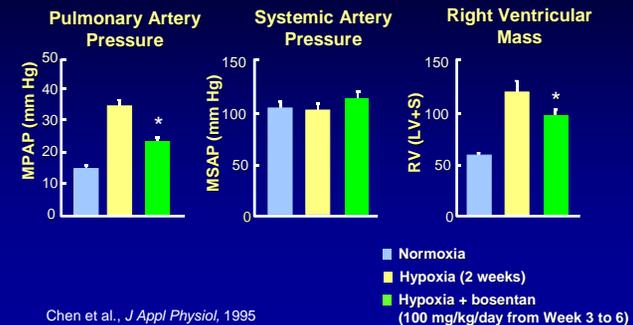


FIG. 7. Representative light micrographs of small (50–100  $\mu\text{m}$ ) pulmonary arteries (PA) from rats exposed to chronic hypoxia (10%  $\text{O}_2$  for 2 or 6 wk) or room air treated with bosentan (100  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{day}$  in food for 2 or 4 wk) or placebo. A: air control plus placebo rats. B: air control plus bosentan rats. C: 2-wk 10%  $\text{O}_2$  plus placebo rats. D: 2-wk 10%  $\text{O}_2$  plus bosentan rats. E: 6-wk 10%  $\text{O}_2$  + 4-wk placebo rats. F: 6-wk 10%  $\text{O}_2$  + 4-wk bosentan rats. Magnification,  $\times 400$ .

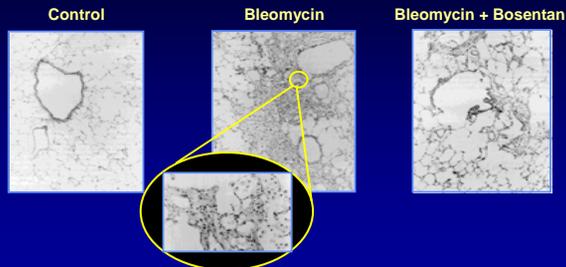
Chen et al., *J Appl Physiol*, 1995

## Effet du bosentan chez le rat avec hypertension pulmonaire hypoxique



Chen et al., *J Appl Physiol*, 1995

## Bosentan attenuates the pulmonary fibrosis induced by bleomycin



Park S-H, et al., *Am J Respir Crit Care Med*, 1997

## Les souris $\text{ET}_B$ k.o. sont blanches

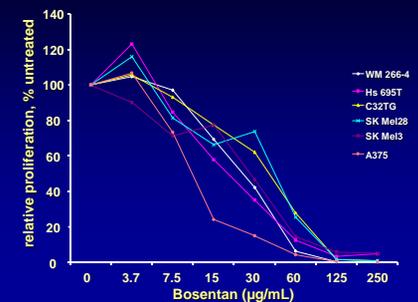
S/S mice



SL/SL mice



## Effet du bosentan sur la prolifération des cellules de mélanomes



Sekulić A. et al

## Bosentan (Tracleer) chez l'homme

- N'a pas montré d'efficacité dans la crise de migraine
- Enregistré dans l'hypertension artérielle pulmonaire (amélioration des symptômes et ralentissement de la progression)
- En cours d'étude clinique dans:
  - la fibrose pulmonaire idiopathique (Phase III)
  - le mélanome malin (Phase II)

## **Tezosentan**

- En cours d'étude clinique (Phase III) dans:  
L'amélioration du temps de sevrage de la CEC dans la chirurgie à coeur ouvert chez des patients qui développent une hypertension pulmonaire

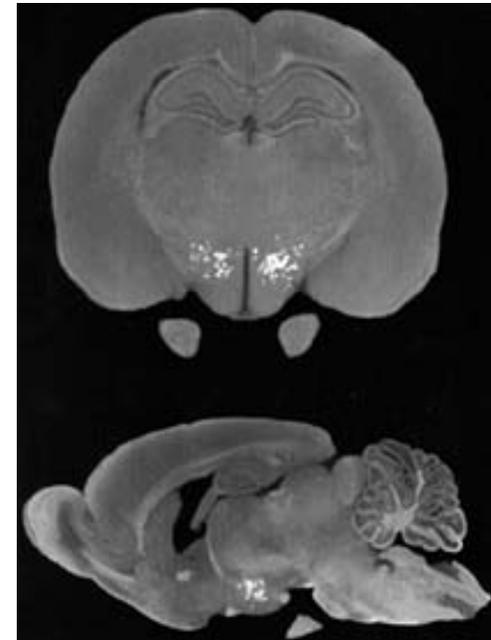
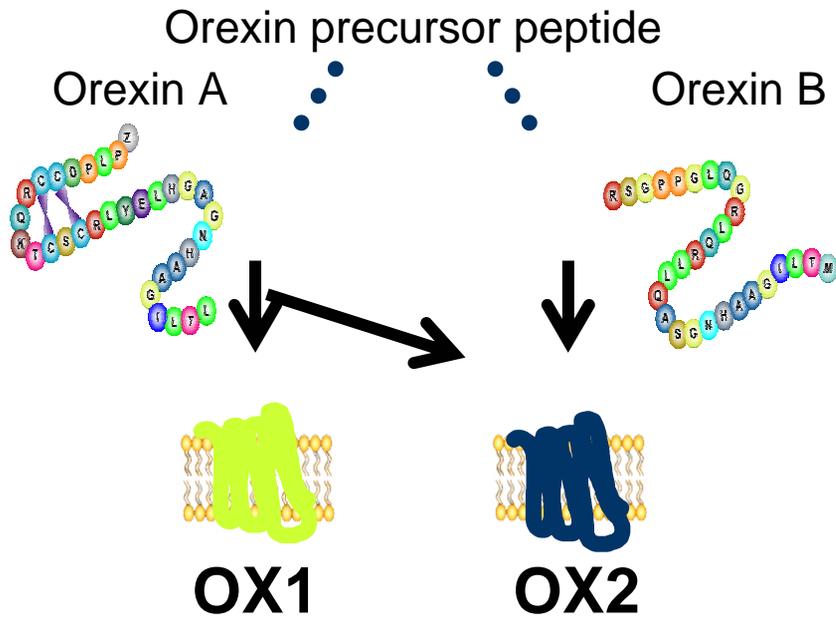
## **Clazosentan**

- En cours d'étude clinique (Phase III) dans:  
La prévention du vasospasme cérébral après hémorragie méningée

# **La relation biotechnologie - Université - au moment de l'idée**

Illustration 2: le projet oréxine

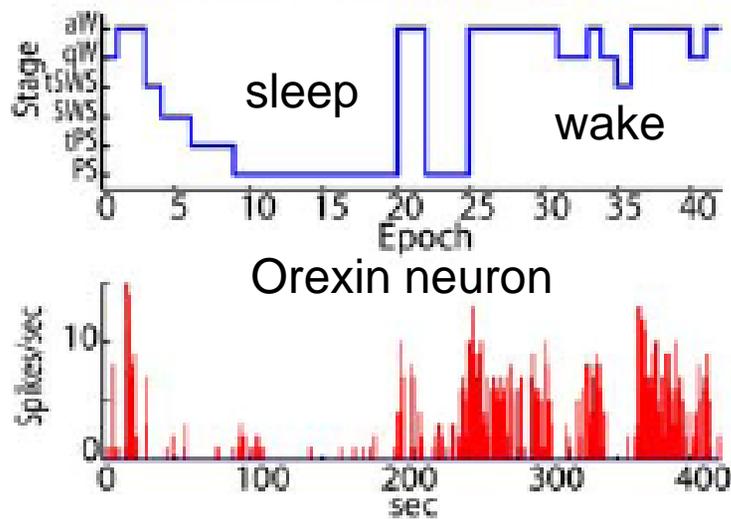
# L'oréxine et ses récepteurs



Sakurai T. *et al.*, Cell, Feb 1998

“... that regulate feeding behavior”

## L'oréxine joue un rôle dans le réveil

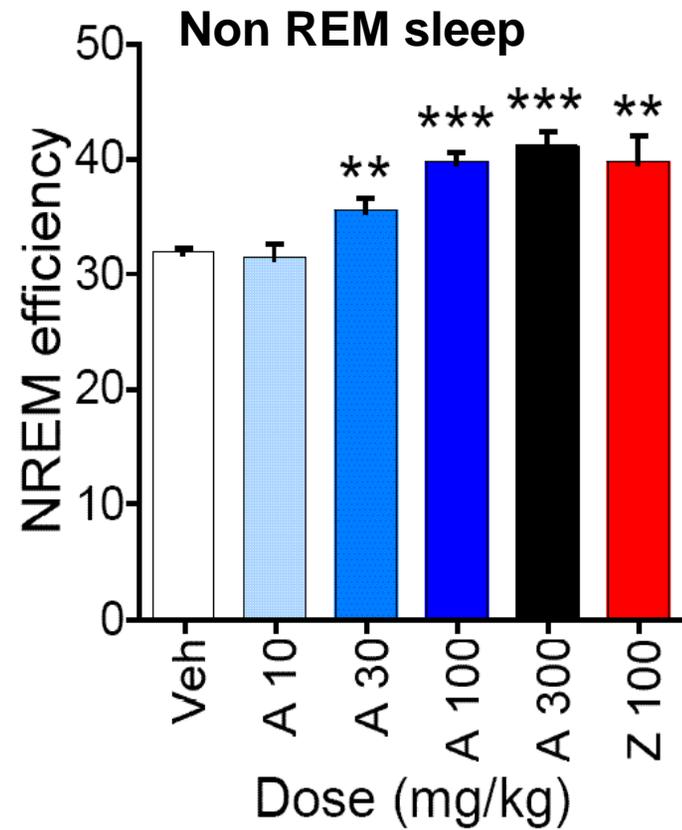
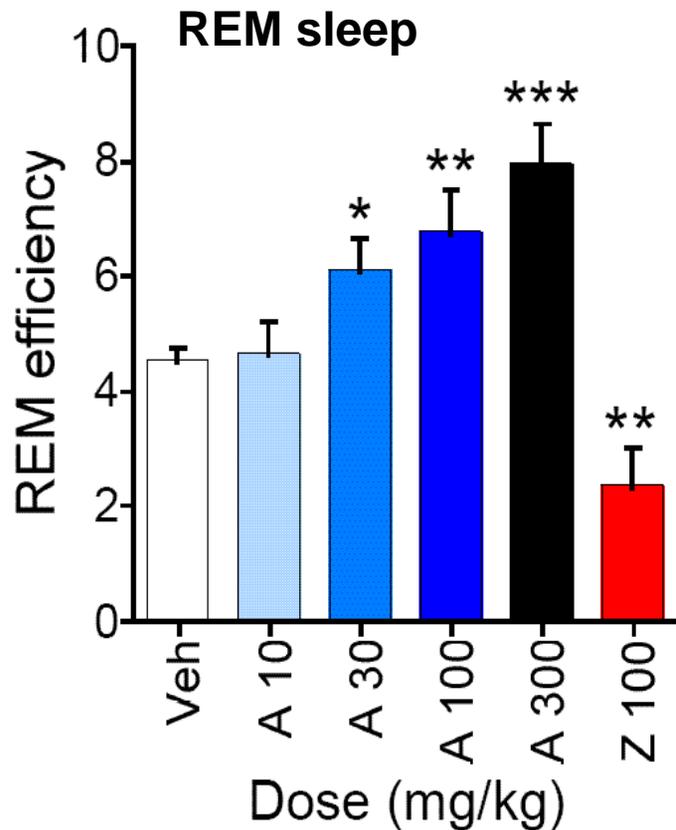
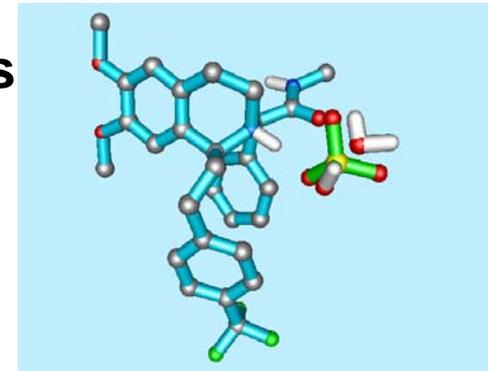


*Lee et al., 2005*

Lin L., *et al.*, Cell, Aug 1999

Nishino S. *et al.*, Lancet, 2000

La découverte d'un antagoniste oral des récepteurs à l'oréxine. ACT-078573 augmente toutes les phases de sommeil chez le rat.



## Promotion of sleep by targeting the orexin system in rats, dogs and humans

Catherine Brisbare-Roch<sup>1</sup>, Jasper Dingemanse<sup>1</sup>, Ralf Koberstein<sup>1</sup>, Petra Hoever<sup>1</sup>, Hamed Aissaoui<sup>1</sup>, Susan Flores<sup>1</sup>, Celia Mueller<sup>1</sup>, Oliver Nayler<sup>1</sup>, Joop van Gerven<sup>2</sup>, Sanne L de Haas<sup>2</sup>, Patrick Hess<sup>1</sup>, Changbin Qiu<sup>3</sup>, Stephan Buchmann<sup>1</sup>, Michael Scherz<sup>1</sup>, Thomas Weller<sup>1</sup>, Walter Fischli<sup>1</sup>, Martine Clozel<sup>1</sup> & François Jenck<sup>1</sup>

Orexins are hypothalamic peptides that play an important role in maintaining wakefulness in mammals. Permanent deficit in orexinergic function is a pathophysiological hallmark of rodent, canine and human narcolepsy. Here we report that in rats, dogs and humans, somnolence is induced by pharmacological blockade of both orexin OX<sub>1</sub> and OX<sub>2</sub> receptors. When administered orally during the active period of the circadian cycle, a dual antagonist increased, in rats, electrophysiological indices of both non-REM and, particularly, REM sleep, in contrast to GABA<sub>A</sub> receptor modulators; in dogs, it caused somnolence and increased surrogate markers of REM sleep; and in humans, it caused subjective and objective electrophysiological signs of sleep. No signs of cataplexy were observed, in contrast to the rodent, dog or human narcolepsy syndromes. These results open new perspectives for investigating the role of endogenous orexins in sleep-wake regulation.

# Conclusions:

## Partenariat et complémentarité biotechnologie – université

- Interaction majeure
- Dirigée par le pragmatisme et non pas forcée
- À concevoir comme la source de l'innovation industrielle et le dessein ultime de la recherche fondamentale
  
- Complications liées à:
  - propriété intellectuelle
  - risque zéro
  - participation financière et conflits d'intérêt
  
- Facteur de motivation au sein de l'industrie (adhésion à un projet innovateur)  
et de l'université (but appliqué et retombées sociales/économiques)