

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

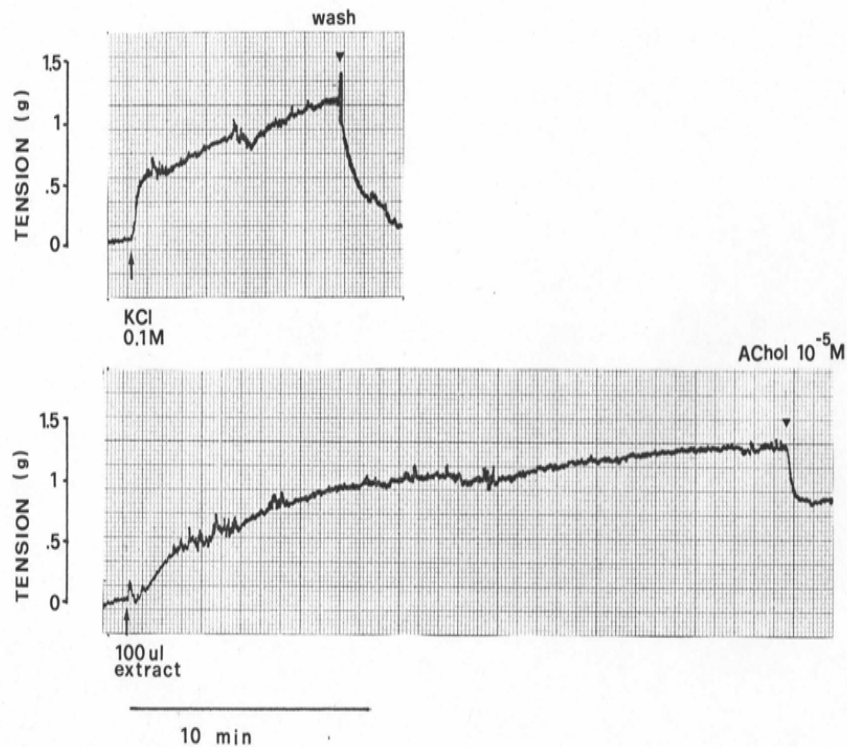
Endothelial Cells in Culture Produce a Vasoconstrictor Substance

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[†], Sadao Kimura, Yoko Tomobe, Mieko Kobayashi^{*}, Youji Mitsui^{*}, Yoshio Yazaki[†], Katsutoshi Goto & Tomoh Masaki[†]

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

^{*} Fermentation Research Institute, Agency of Industrial Science and Technology, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan

[†] 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 discovery¹, endothelin-1 has attracted considerable scientific interest because of its extremely potent and long-lasting vasoconstrictor effect and its binding to G-protein-coupled receptors². Plasma concentrations of endothelin-1 are low³ and its release by endothelial cells is polarized towards the basolateral side^{4,5}, 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_A and ET_B, have been cloned and characterized^{6,7}, although there is evidence for other subtypes^{8,9}. The ET_A receptor mediates a major part of the vasoconstriction induced by ET-1 (ref. 10). The ET_B subtype mediates endothelium-dependent vasodilation¹¹, but its stimulation by selective agonists can also induce vasoconstriction¹²⁻¹⁵. In addition, because ET was suspected to play a role in chronic diseases¹⁶⁻¹⁸, the development

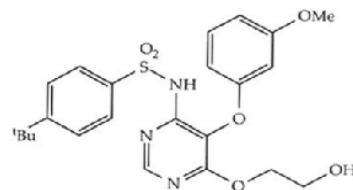


FIG. 1 Structure of Ro 46-2005.

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 ¹²⁵I-ET-1 binding in a human placenta membrane preparation¹⁹. 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 ¹²⁵I-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 ¹²⁵I-ET-1 to human vascular smooth muscle cells (ET_A receptor) and rat aortic endothelial cells (ET_B receptor), with half-maximal inhibition at concentrations of 2.2×10^{-7} M and 1×10^{-6} M, respectively. The *in vitro* functional activity of Ro 46-2005 was examined on vascular preparations carrying ET_A and ET_B receptors. In isolated rat aortic rings denuded of their endothelium (ET_A 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 data²⁰ yielded

La pharmacologie supportée par la chimie

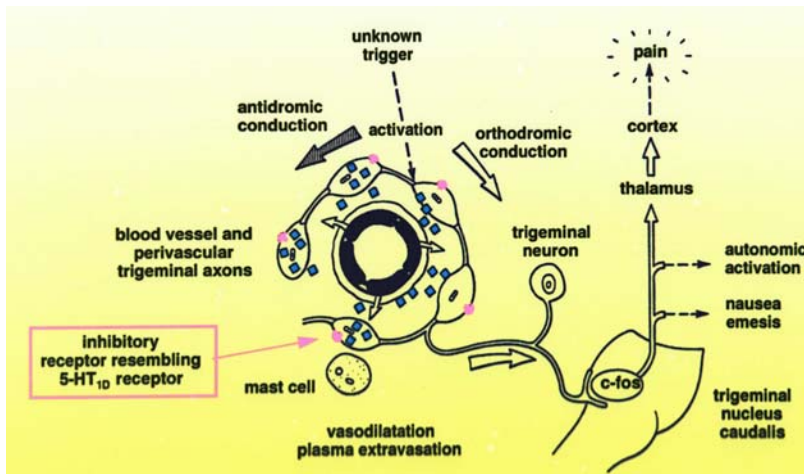
- Ro 46-2005 Dual Clozel M., *et al*, Nature 1993
- Ro 47-0203 Dual Clozel M., *et al*, J Pharmacol Exp Ther 1994
- Ro 48-5695 Dual Neidhart W., *et al*, Biorg Med Chem Lett 1997
- Ro 61-0612 Dual Clozel M., *et al*, J Pharmacol Exp Ther 1999
- Ro 61-1790 ET_A Roux S., *et al*, J Pharmacol Exp Ther 1997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

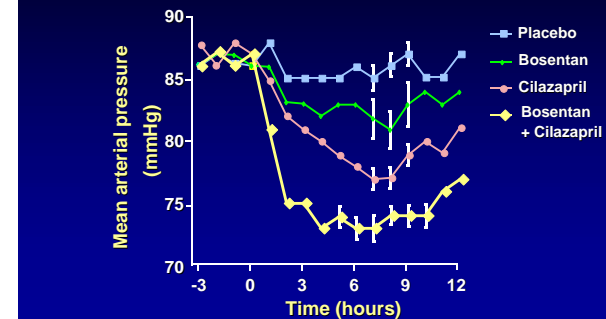
Les études animales sont décisives

- Hoffmann-LaRoche



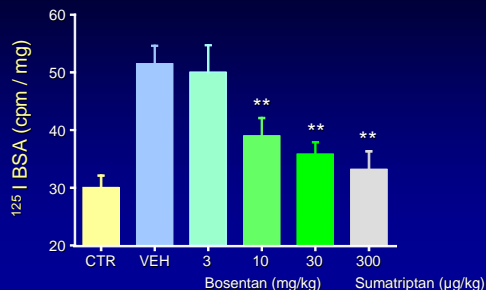
Moskowicz *et al.*, TIPS, 1992; Brändli P. *et al.*, Pain, 1995

Bosentan, cilazapril et leur combinaison dans l'insuffisance cardiaque



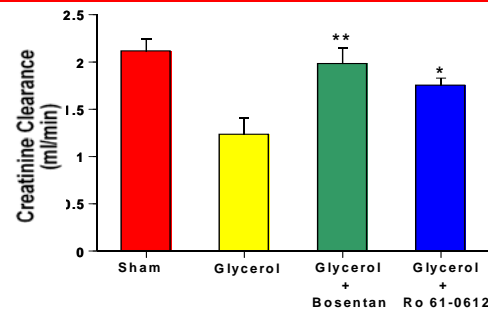
Teerlink *et al.*, *Circulation*, 1994

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



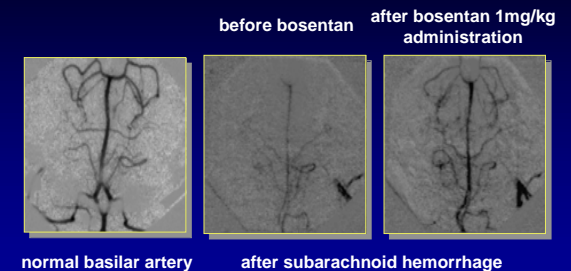
Brändli P. *et al.*, *Pain*, 1996

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



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

Effet du bosentan dans l'hémorragie méningée



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

Les études animales sont décisives

- Groupes universitaires

Effet du bosentan sur les artères pulmonaires de rats avec HTAP

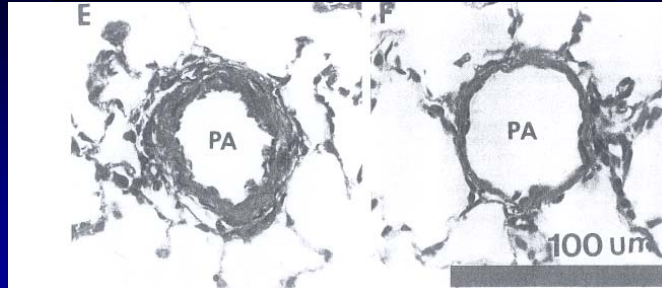
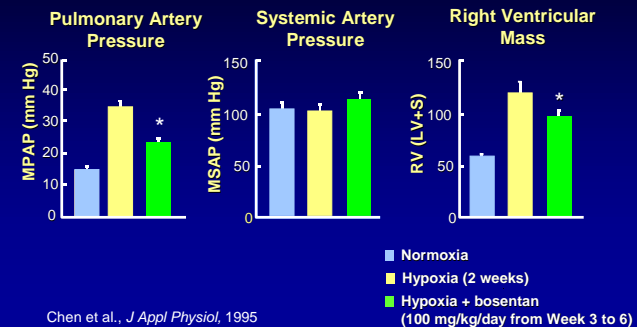


FIG. 7. Representative light micrographs of small (50–100 μm) pulmonary arteries (PA) from rats exposed to chronic hypoxia (10% O_2 for 2 or 6 wk) or room air treated with bosentan (100 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{day}$ in food for 2 or 4 wk) or placebo. A: air control plus placebo rats. B: air control plus bosentan rats. C: 2-wk 10% O_2 plus placebo rats. D: 2-wk 10% O_2 plus bosentan rats. E: 6-wk 10% O_2 + 4-wk placebo rats. F: 6-wk 10% O_2 + 4-wk bosentan rats. Magnification, $\times 400$.

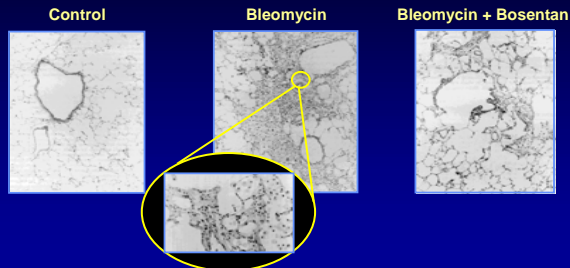
Chen et al., *J Appl Physiol*, 1995

Effet du bosentan chez le rat avec hypertension pulmonaire hypoxique



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

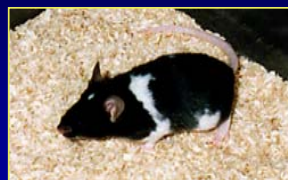
Bosentan attenuates the pulmonary fibrosis induced by bleomycin



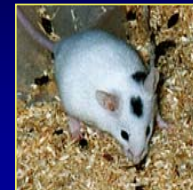
Park S-H, et al., *Am J Respir Crit Care Med*, 1997

Les souris ET_B k.o. sont blanches

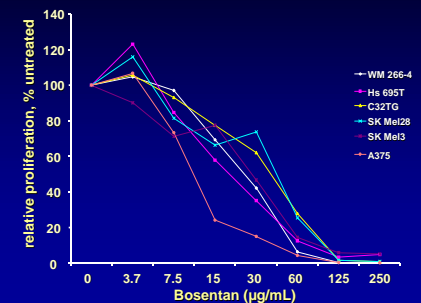
S/S mice



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

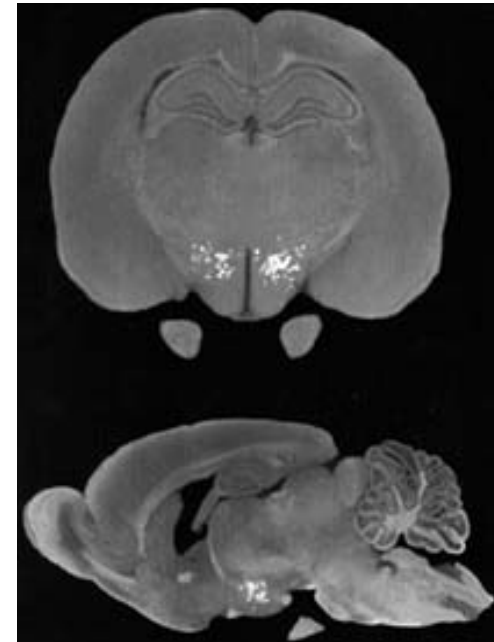
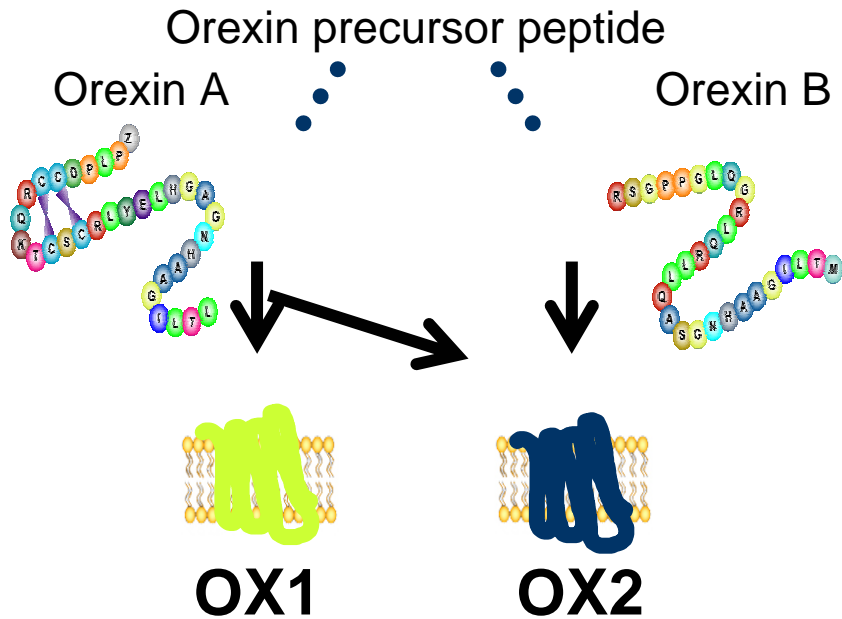
Clazosentan

- 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

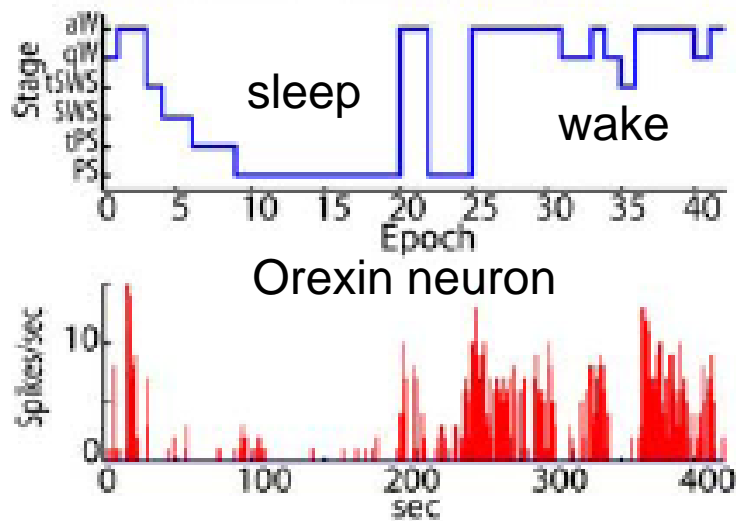
L'oréxine et ses récepteurs



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

“... that regulate feeding behavior”

L'oréxine joue un rôle dans le réveil

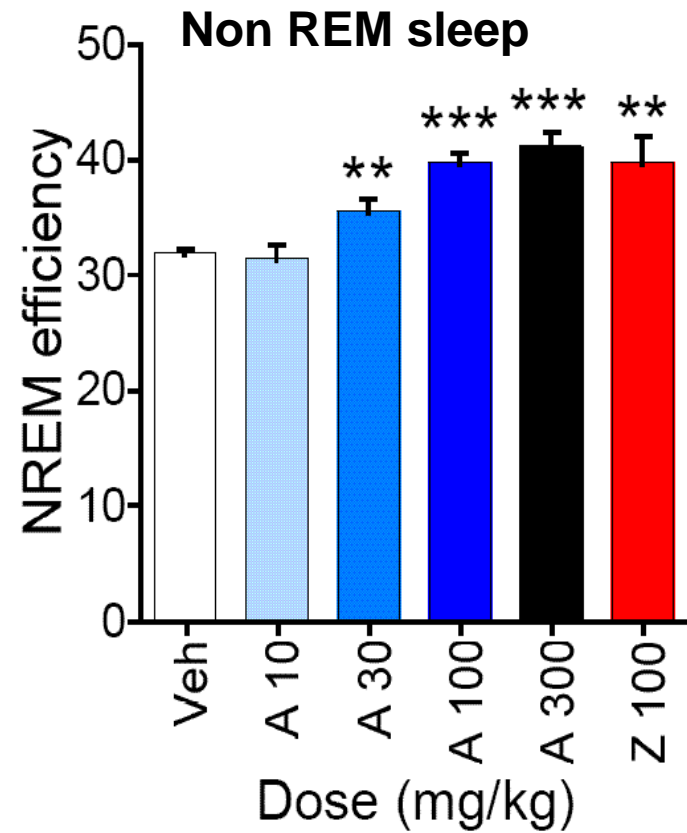
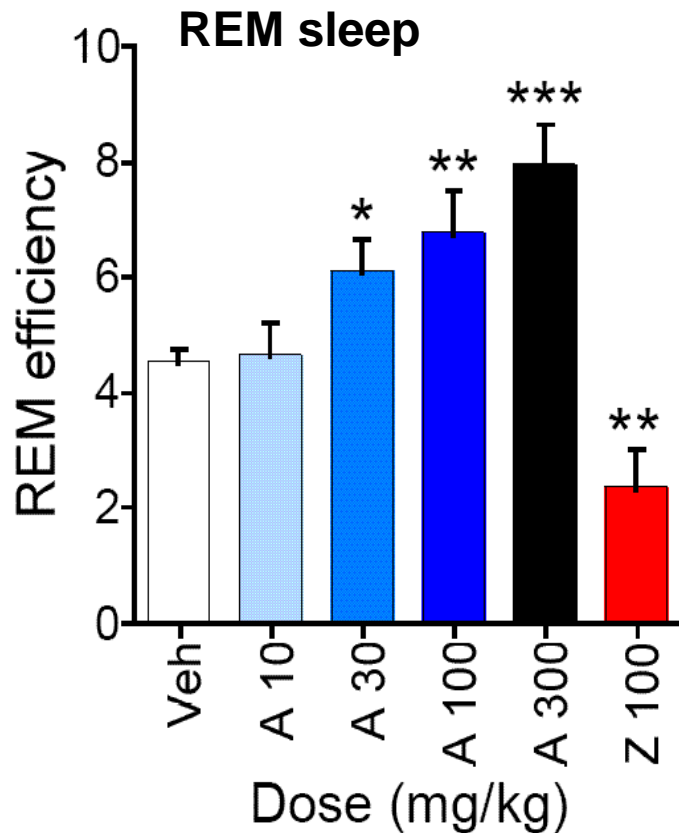
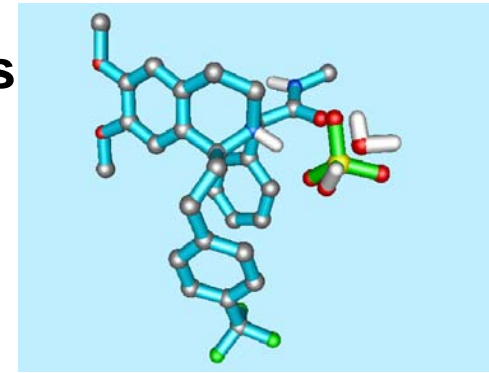


Lee et al., 2005

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-Roch¹, Jasper Dingemanse¹, Ralf Koberstein¹, Petra Hoever¹, Hamed Aissaoui¹, Susan Flores¹, Celia Mueller¹, Oliver Nayler¹, Joop van Gerven², Sanne L de Haas², Patrick Hess¹, Changbin Qiu³, Stephan Buchmann¹, Michael Scherz¹, Thomas Weller¹, Walter Fischli¹, Martine Clozel¹ & François Jenck¹

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 OX₁ and OX₂ 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_A 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)