

Swiss Pharma Science Day 2015, Bern

Die Suche nach verborgenem Potential für innovative Medikamente

Leonie Wagner-Hattler

Am 19. August 2015 haben sich rund 130 Forscherinnen und Forscher in Bern eingefunden, um am Swiss Pharma Science Day, organisiert von der Schweizerischen Akademie der Pharmazeutischen Wissenschaften (SAPhW), teilzunehmen. Die Teilnehmenden kamen sowohl von der Universität als auch von der Fachhochschule und aus der Industrie.

Prof. Dr. Gerrit Borchard und Prof. Dr. Rudolf Brenneisen setzten den Auftakt für einen spannenden Tag; mit Charme und Witz war ihnen auch die Aufmerksamkeit der letzten Reihe sicher.

Kosteneinsparung durch aussagekräftigere Versuche: ein interessanter Ansatz

Die Kostenexplosion der Medikamentenentwicklung durch steigende Sicherheitsanforderung führt zu einer Abnahme von Produkten, die auf dem Markt registriert werden können. Um Kosten zu sparen, zeigte Prof. Dr. Hartmut Derendorf Möglichkeiten auf: Pharmakokinetik und Pharmakodynamik sind dabei die Schlüsselfaktoren. Hat man geeignete Modelle zur Vorhersage dieser zwei Faktoren, können bereits früh in der Entwicklung eines Arzneimittels Voraussagen gemacht werden. Dies erlaubt objektive «go» oder «no-go» Entscheide in frühen Stadien der Entwicklung ohne hohe Kosten.

Um möglichst sichere Voraussagen machen zu können, braucht es aussagekräftige Experimente, die nur wenig Raum zur Interpretation lassen. Die Mikrodialyse ist ein Experiment, womit Wirkstoffkonzentrationen im betroffenen Gewebe aufgenommen werden können. Hierzu wird eine kleine Sonde in das zu untersuchende Gewebe implantiert. Basierend auf dem Prinzip der Dialyse können kleine Moleküle durch die an der Sonde befestigte semipermeable Membran in die darin fließende, wirkstofffreie Lösung diffundieren.

Durch den kontinuierlichen Fluss dieser Lösung wird der Wirkstoff dann zur Probenentnahme transportiert. Bei der Entwicklung von Antibiotika kann die Mikrodialyse eingesetzt und so die Wirkstoffkonzentration am infizierten Ort lokal untersucht werden. Diese Daten sind aussagekräftiger als Serumkonzentrationen, da es sich um eine in situ Messung handelt. Mit diesen Daten können anschließend Aussagen zur Wirksamkeit und Resistenzentwicklung gemacht werden.

Liposome zum Schutz der Zellen

Der zweite Vortrag wurde von Prof. Dr. Annette Draeger gehalten. Sie arbeitet am Anatomischen Institut in Bern und ist Leiterin des Departements für Zellbiologie. Sie studierte Medizin in Deutschland, der Schweiz und Australien und erforscht die Reparatur- und Schutzmechanismen von zellulären Plasmamembranen.

Annette Draeger stellte speziell entwickelte Liposomen vor, die eine Sepsis, hervorgerufen von *Staphylococcus aureus* oder *Staphylococcus pneumoniae*, verhindern sollen. Die beiden genannten Bakterien sondern Toxine aus, die in gesunden Zellen Poren formen und diese zum Absterben bringen. Damit die Wirtszelle nicht mehr attackiert wird, sind die Liposomen so konstruiert, dass die Toxine an die Liposome binden anstatt an die Wirtszelle. So werden die Zellen geschützt.

Es wurde in einem in-vitro Versuch gezeigt, dass Toxine, die an den Liposomen gebunden sind, bei Säugerzellen keine Zellyse induzieren können. Ebenso wurde in einer Tier-Studie gezeigt, dass Mäuse, die innerhalb von 10 Stunden nach Infektion künstliche Liposomen verabreicht bekamen, vor einer Sepsis bewahrt wurden, wobei Mäuse ohne Behandlung innert 24–33 Stunden verstarben. Diese künstlichen Liposomen



Rund 130 Forscherinnen und Forscher haben am Swiss Pharma Science Day 2015 teilgenommen.

© SAPhW

6 können entweder alleine oder in Kombination mit einem angehängten Antibiotikum therapeutisch verwendet werden, um bakterielle Infektionen zu behandeln.

Pharmakognosie – eine abenteuerliche Wissenschaft

Prof. Dr. Lars Bohlin von der Universität Uppsala kann auf 40 Jahre Erfahrung in der Pharmakognosie zurückblicken. Seine Biographie ist reich an Publikationen, Patenten sowie auch Büchern. Als Untergebiet der pharmazeutischen Biologie befasst sich die Pharmakognosie mit der Anwendung und Lehre von pflanzlichen und tierischen Arzneistoffen. [1] Somit verbindet dieses Themengebiet Chemie mit Biologie in mehrerer Hinsicht.

Diese Verbindungen bilden das Fundament, chemische Strukturen aus der Natur zu erkennen und zu beschreiben. Bereits Carl Linné hat mit der Erforschung von neuen bioaktiven Molekülen pflanzlichen Ursprungs mit medizini-

chem Potential angefangen. Durch die Beschreibung und Identifizierung können Moleküle mit medizinischem Nutzen gefunden werden. Die Natur birgt zahlreiche Lead-Strukturen, die man weiter modifizieren kann oder sie bildet die Inspiration zur Synthese von natürlichen Produkten. Lars Bohlin zeigte verschiedene Fotos von Expeditionen, die er mit seinen Kollegen beispielsweise nach Afrika gemacht hat, und liess das Publikum an der Faszination, neue Stoffe zu entdecken, teilhaben.

Natürlich braucht es nicht nur ein Verständnis für Chemie und Biologie, sondern auch die richtigen Bioassays. Mit den geeigneten Bioassays können so in mehreren Schritten aus einer komplexen Biomasse die relevanten Stoffe gefunden und isoliert werden.

Lectine als neue Targets – die Mission

Nach der Postersession hielt Prof. Dr. Beat Ernst von der Universität Basel den Vor-

trag «Drugability of Lectins – Mission possible», was so viel bedeutet wie: «Können Lectine als Angriffspunkt eines Wirkstoffs dienen? – Eine Mission». Die wissenschaftliche Gemeinschaft hält dies nicht für möglich. Trotzdem ist Beat Ernst schon seit längerer Zeit an der Universität Basel mit der Forschung an Lectinen beschäftigt.

Lectine sind Proteine mit spezifischer Struktur, die in der Lage sind, an Zellen zu binden, um somit dann eine Reaktion der Zelle auszulösen. Die Harnwegsinfektion (HWI) ist meistens durch das Bakterium *E. coli* verursacht. Mit Hilfe eines Lectin, das sich beim *E. coli* an den Pili befindet, haftet das Bakterium an einem Glykoprotein des Blasenendotheliums; so wird der Infekt initiiert. Mit einem Lectin-Antagonisten kann man diese Bindung unterbinden und so eine Infektion verhindern.

Verschiedenste potentiell antagonistisch wirkende Moleküle wurden getestet und es stellte sich in einem in vivo Krankheitsmodell heraus, dass der beste Antagonist grosses Potential zeigt in der Therapie und Prävention von Harnwegsinfekten. Dies ist natürlich ein grosser Erfolg von Prof. Dr. Beat Ernst. Er berichtete weiter, dass momentan gerade ein von ihm entwickelter Antagonist in einer klinischen Studie getestet wird.

Im persönlichen Gespräch am Apéro im Haus der Universität erzählte Beat Ernst, dass seine Erfolge nicht möglich gewesen wären ohne die Arbeit zahlreicher Forscher, die in der Generation vor ihm geleistet wurden. Er meinte, man solle nie vergessen, dass man nur «on the shoulders of giants» (Isaac Newton) wirkliche Erfolge erzielen kann.

Radioaktive Therapie

PD Dr. Cristina Müller schloss den Tag mit der Vorstellung ihrer Arbeit über radioaktive Folate ab. Für ihre Forschung bekam sie den Ružička-Preis 2014 (siehe Kasten). Sie leitet zurzeit die Gruppe RadioTheragnostics am Paul Scherrer Institut. Das Ziel der Forschungsgruppe von Cristina Müller ist es, tumor-targeted Radiokonjugate zu finden, die einsetzbar sind in der Bildgebung und in der radio-nuklidischen Therapie von Krebs. Mit anderen Worten werden radioaktive Konjugate gesucht, die spezifisch nur an Krebszellen binden, sie so bei der Tomographie sichtbar machen und gleichzeitig ein Medikament zur Tumorzelle bringen.

Posterpreise

Auch dieses Jahr wurden am Swiss Pharma Science Day sechs Wissenschaftler für ihre Posterbeiträge mit einem Award ausgezeichnet:

- **1. Preis:** «Nanocrystals-Polymer Particles for Efficient Osteoarthritis Treatment», Pierre Maudens, Universität Genf (CHF 1500.–, gesponsert von der AKB-Stiftung zur Förderung des Pharmazeutischen Nachwuchses);
- **2. Preis:** «Pollen Induced Asthma – Could Small Molecules in Pollen Exacerbate the Protein-Mediated Allergic Response?», Alen Bozicevic, Universität Basel (CHF 1000.–, gesponsert von der Gesellschaft der Schweizerischen Industrie-Apotheker(innen) GSIA);
- **3. Preis:** «Dual Functional Nerve Conduits Promote Directional Axonal Outgrowth», Sandhy Ananta, ETH Zürich (CHF 500.–, gesponsert von der Pharmazeutischen Gesellschaft Zürich PharmGZ);

- **Spezialpreis:** «Quantification of Antimirs in RISC by Chemical-Ligation RT-qPCR» Matia Lucic, ETH Zürich (CHF 500.–, gesponsert von Vifor Pharma);
- **Preis für das beste Poster in Pharmazeutischer Technologie:** «Influence of Excipients on Solvent-Mediated Hydrate Formation of Piroxicam Studied by Dynamic Imaging», Wiebke Kirchmeyer, University of Applied Sciences and Arts Northwestern Switzerland (CHF 1000.– gesponsert von der Glatt Group);
- **Preis für das beste Poster in Pharmazeutischer Biologie:** «Bruceantin Controls the Proliferation of Multiple Myeloma Cancer stem Cells In Vitro» Mark Issa, Universität Genf (CHF 1000.–, gesponsert von Max Zeller Söhne AG).



Die sechs Gewinner mit Prof. Dr. Gerrit Borchard (rechts).

© SAPHW

Ihre Forschungsgruppe hat ein Folat mit einem Scandium Nuklid gekoppelt und in einer präklinischen Studie getestet. Scandium wurde ausgewählt, da es in der PET (Positronen-Emissions-Tomographie) gute Signale erzeugt und da das Scandium eine Halbwertszeit von ca. 4 Stunden hat. Dies bedeutet, es zerfällt nicht so schnell, dass es vom Produktionsort bis zum Anwendungsort schon

keine Aktivität mehr hat, aber es zerfällt noch genügend schnell, um in der PET ein Signal zu erhalten.

Das Resultat der erwähnten Studie war, dass die behandelten Mäuse 50% länger überlebten als die unbehandelten. Zudem hat das Folat an keinen anderen Zellen gebunden mit Ausnahme der Nieren. Eine Therapie, die hauptsächlich Krebszellen angreift und nur weniger

Kollateralschäden verursacht, wäre bahnbrechend, und das Projekt klingt vielversprechend. ■

Korrespondenzadresse

Leonie Wagner-Hattler
PhD student
Department of Pharmaceutical Sciences
University of Basel
E-Mail: leonie.hattler@unibas.ch

Ruzička Preis

Der Ruzička-Preis wird jährlich an eine junge Schweizer Forscherin oder einen jungen Schweizer Forscher im In- oder Ausland verliehen für eine herausragende veröffentlichte Arbeit im Bereich der allgemeinen Chemie. [2] Der Preis ist nach dem ETH Professor und Nobelpreisträger Leopold Ruzička benannt und gilt als einer der wichtigsten Nachwuchsförderungspreise in der Schweiz.

Seit der ersten Vergabe im Jahr 1957 hat das Kuratorium mit diesem Preis schon zahlreiche Talente entdeckt. [3] Auch Nobelpreisträger Richard R. Ernst, der im Jahr 2013 am Swiss Pharma Science Day referierte, hat im Jahr 1969 den Ruzička-Preis erhalten.

[1] <http://flexikon.doccheck.com/de/Pharmakognosie> (25.9.2015)

[2] <https://www.ethz.ch/de/forschung/wissenschaftspreise-und-veranstaltungen/ruzicka-preis.html> (22.9.15)

[3] <https://www.chab.ethz.ch/outreach/oeffentlichkeitsarbeit/ruzicka-preis.html> (22.9.2015)

Swiss Pharma Science Day 2015, Berne

Les potentiels cachés de la recherche pharmaceutique

Leonie Wagner-Hattler

Liposomes protecteurs, antagonistes de la lectine ou encore nouveaux traitements radioconjugués, autant de pistes de recherche prometteuses présentées lors du dernier Swiss Pharma Science Day.

Le 19 août dernier, près de 130 chercheuses et chercheurs se sont retrouvés à Berne pour participer au Swiss Pharma Science Day, organisé par l'Académie Suisse des Sciences Pharmaceutiques (ASSPh). Les participants venaient tout aussi bien des universités et des hautes écoles que de l'industrie. Le Prof. Dr Gerrit Borchard et le Prof. Dr Rudolf Brenneisen ont donné le coup d'envoi d'une journée passionnante.

Réduire les coûts grâce à des essais mieux adaptés

Les coûts de recherche et de développement (R&D) des médicaments explosent en raison des exigences croissantes en matière de sécurité. Conséquence: le nombre de produits pouvant être lancés

sur le marché diminue. Lors de la première conférence, le Professeur Dr Hartmut Derendorf a évoqué des possibilités pour réduire les coûts de la R&D, basées sur la pharmacocinétique et la pharmacodynamie. Avec des modèles adaptés per-

mettant d'anticiper ces deux facteurs clés, il est en effet possible d'établir rapidement des prédictions sur un médicament en développement. Ils permettent de décider objectivement de poursuivre ou d'interrompre précocement les essais, et



Plus de 130 chercheurs ont participé au Swiss Pharma Science Day 2015.

© SAPHW

8 ainsi éviter de gaspiller inutilement des ressources.

Afin de rendre les prédictions les plus sûres possibles, des modèles pertinents, laissant le moins de place possible à l'interprétation, ont été mis au point. C'est le cas par exemple de la microdialyse. Sur la base du principe de la dialyse, de petites molécules actives diffusent à travers la membrane semi-perméable d'une petite sonde implantée dans le tissu à étudier. Les molécules sont transportées par un flux continu de l'autre côté de la membrane, là où au départ il n'y avait pas de principe actif.

Lors du développement d'un antibiotique, la microdialyse va permettre de mesurer la concentration de principe actif directement sur le lieu infecté. Ces données sont plus pertinentes que la concentration sérique car il s'agit d'une mesure in situ. Des conclusions peuvent donc être tirées sur l'efficacité réelle de la substance étudiée et le développement des résistances.

Des liposomes qui protègent les cellules

Le deuxième exposé a été présenté par le Prof. Dr Annette Draeger, chef du département de biologie cellulaire à l'Institut d'anatomie de Berne. Après avoir étudié la médecine en Allemagne, en Suisse et en Australie, elle a concentré ses travaux de recherche sur les mécanismes de réparation et de protection des membranes plasmiques des cellules.

Lors du dernier Swiss Pharma Science Day, Annette Draeger a ainsi décrit des liposomes spécialement développés pour empêcher les septicémies causées par *Staphylococcus aureus* ou *Staphylococcus pneumoniae*. Ces deux bactéries produisent des toxines qui vont provoquer des brèches dans la membrane des cellules saines, ce qui provoque leur destruction. Les liposomes ont été conçus de telle sorte que les toxines vont se lier à eux plutôt qu'aux cellules hôtes, les protégeant de fait de l'attaque des staphylocoques.

Un essai in vitro a pu montrer que les toxines liées aux liposomes n'étaient plus capables d'induire la lyse des cellules de mammifères. Un autre essai a montré que des souris qui ont reçu de tels liposomes dix heures après avoir été infectées n'ont pas développé de septicémie, alors que les souris non traitées sont mortes en

l'espace de 24 à 33 heures. Pour lutter contre les infections bactériennes, ces liposomes artificiels peuvent être utilisés soit seuls, soit en association avec un antibiotique.

La pharmacognosie, une science «aventureuse»

Le Prof. Dr Lars Bohlin, de l'Université d'Uppsala, a plus de quarante ans d'expérience dans le domaine de la pharmacognosie. Sa carrière est riche en publications, en livres mais aussi en brevets déposés. Lars Bohlin a également entrepris avec ses confrères de nombreuses expéditions, en Afrique notamment. Une aventure scientifique illustrée par la projection de quelques photos.

Appartenant au champ de la biologie pharmaceutique, la pharmacognosie est la science appliquée traitant des substances médicamenteuses d'origine végétale et animale [1]. Elle constitue donc un pont entre la chimie et la biologie et permet de reconnaître et décrire les structures chimiques de la nature.

Le grand Carl Linné avait déjà commencé à rechercher de nouvelles molécules bioactives d'origine végétale ayant un potentiel médical. Leur description et leur identification a permis et permet encore de trouver de nouvelles molécules utiles sur le plan thérapeutique. La nature recèle également de nombreuses structures que l'on peut modifier ou dont on peut s'inspirer pour synthétiser de nouvelles substances actives d'origine naturelle.

Mais bien connaître la chimie et la biologie ne suffit pas. Des tests biologiques appropriés sont également indispensables. Grâce à eux, les substances intéressantes pour la médecine peuvent être trouvées et isolées d'une biomasse complexe beaucoup plus rapidement.

La lectine, nouvelle cible de recherche

Le Prof. Dr Beat Ernst de l'Université de Bâle a pour sa part présenté un exposé intitulé «Drugability of Lectins – Mission possible». Une affirmation que ne partage pas forcément la communauté scientifique.

Les lectines sont des protéines qui se lient spécifiquement et de façon réversible à certains glucides et peuvent donc déclencher des réactions. Elles interviennent dans divers processus biolo-

Posters primés

Cette année encore, six scientifiques ont reçu un prix lors du Swiss Pharma Science Day pour leur poster:

- **1^{er} prix:** "Nanocrystals-Polymer Particles for Efficient Osteoarthritis Treatment", Pierre Maudens, Université de Genève (CHF 1500.-, sponsorisé par la fondation AKB en faveur de la relève pharmaceutique);
- **2^e prix:** «Pollen Induced Asthma – Could Small Molecules in Pollen Exacerbate the Protein-Mediated Allergic Response?», Alen Bozicevic, Université de Bâle (CHF 1000.-, sponsorisé par la Société suisse des pharmaciens(ne)s d'industrie SSPI);
- **3^e prix:** «Dual Functional Nerve Conduits Promote Directional Axonal Outgrowth», Sandhy Ananta, EPF de Zurich (CHF 500.-, sponsorisé par PharmGZ);
- **Prix spécial:** "Quantification of Antimirs in RISC by Chemical-Ligation RT-qPCR" Matia Lucic, EPF de Zurich (CHF 500.-, sponsorisé par Vifor Pharma);
- **Prix du meilleur poster en technologie pharmaceutique:** «Influence of Excipients on Solvent-Mediated Hydrate Formation of Piroxicam Studied by Dynamic Imaging», Wiebke Kirchmeyer, University of Applied Sciences and Arts Northwestern Switzerland (CHF 1000.- sponsorisé par Glatt Group);
- **Prix du meilleur poster en biologie pharmaceutique:** «Bruceantin Controls the Proliferation of Multiple Myeloma Cancer stem Cells In Vitro», Mark Issa, Université de Genève (CHF 1000.-, sponsorisé par Max Zeller Söhne AG).



Pierre Maudens, de l'Université de Genève, a reçu le prix du meilleur poster.

© SAPHW

giques, au niveau de la reconnaissance entre les cellules (par exemple lors de réponses immunitaires, d'infections).

La majorité des infections urinaires sont causées par *Escherichia coli*. À l'aide d'une lectine qui se trouve sur ses pili (excroissances de la membrane externe de certaines espèces de bactéries), la bactérie

va pouvoir adhérer à une glycoprotéine de l'endothélium vésical, et ainsi initier une infection. Pour le Professeur Ernst, il est possible d'empêcher cette liaison grâce à un antagoniste de la lectine.

Un grand nombre de molécules potentiellement antagonistes ont donc été testées. Le meilleur candidat, testé *in vivo*, présente un grand potentiel dans le traitement et la prévention des infections urinaires. Une substance antagoniste développée par Beat Ernst et son équipe fait actuellement l'objet d'un essai clinique.

En aparté, le professeur nous a confié que ce succès n'aurait pas été possible sans le travail de nombreux chercheurs de la génération qui l'a précédé. Car comme disait Isaac Newton, les vrais succès se font «on the shoulders of giants».

Nouveaux traitements radioactifs

Le PD Dr Cristina Müller a conclu la journée avec la présentation de son travail sur les folates radioactifs pour lequel elle a reçu le prix Ružička 2014 (voir encadré). Elle dirige actuellement le groupe «RadioTheragnostics», de l'Institut Paul Scherrer. L'objectif du groupe de recherche de Cristina Müller est de mettre au point des radioconjugés (association d'anticorps monoclonaux et de substances radioactives).

En d'autres mots, il s'agit de développer des conjugués radioactifs capables à la fois de se lier spécifiquement aux cellules cancéreuses, de les rendre visibles à la tomographie tout en permettant d'apporter un médicament directement au niveau des cellules tumorales.

Son groupe de recherche a ainsi couplé un folate avec un radionucléide du scandium et a testé ce radioconjugé dans le cadre d'une étude préclinique.

Le scandium a été choisi car il génère de bons signaux en tomographie par émission de positrons (TEP). Avec une demi-vie de 4 heures environ, il se dégrade assez rapidement pour obtenir un signal en TEP, mais pas trop vite pour avoir encore une activité anti-tumorale entre le moment de sa production et son arrivée sur le site d'application.

Le résultat de l'étude citée plus haut a montré que les souris traitées ont vécu moitié plus longtemps que les souris non traitées. De plus, le folate ne s'est lié à aucune autre cellule, à l'exception des reins. Un traitement qui s'attaque sélectivement aux cellules cancéreuses tout en ne causant que très peu de dégâts collatéraux représenterait un grand progrès. Ce projet de recherche s'avère donc très prometteur. ■

[1] <http://flexikon.doccheck.com/de/Pharmakognosie> (25.9.2015)

[2] <https://www.ethz.ch/de/forschung/wissenschaftspreise-und-veranstaltungen/ruzicka-preis.html> (22.9.15)

[3] <https://www.chab.ethz.ch/outreach/oeffentlichkeitsarbeit/ruzicka-preis.html> (22.9.2015)

Adresse de correspondance

Leonie Wagner-Hattler
PhD student
Department of Pharmaceutical Sciences
University of Basel
E-mail: leonie.hattler@unibas.ch

Ružička Preis

Le Prix Ružička est décerné chaque année à une jeune chercheuse ou un jeune chercheur suisse pour des travaux remarquables dans le domaine de la chimie effectués en Suisse ou à l'étranger [2]. Ce prix, créé en hommage à Leopold Ružička, professeur à l'EPF de Zurich et prix Nobel, est l'un des prix les plus importants décernés aux jeunes chercheurs en Suisse.

Depuis sa première attribution en 1957, ce prix a permis de découvrir un certain nombre de talents [3]. Le prix Nobel Richard R. Ernst, qui est intervenu lors du Swiss Pharma Science Day 2013, a ainsi reçu le prix Ružička en 1969.

Posterpreise vom 8. Swiss Pharma Science Day

Untersuchung des Einflusses von Hilfsstoffen auf die Hydratbildung von Piroxicam

Wiebke Kirchmeyer^{1,2}, Nicole Wyttenbach³, Jochem Alsenz³, Martin Kuentz¹

Nachfolgende Studie untersucht den Einfluss von Hilfsstoffen und biorelevantem Medium auf die Kinetik der Hydratbildung. Sie konzentriert sich auf Piroxicam, von dem bekannt ist, dass er mehrere polymorphe Formen ausbilden kann.

Viele pharmazeutische Substanzen sind dafür bekannt, dass sie während der Herstellung oder Wirkstofffreisetzung Hydrate bilden. Da die Kristallstruktur eines Hydrats von jener des Anhydrats stark abweichen kann, werden meistens wichtige physikochemische Eigenschaften wie z.B. die Löslichkeit oder die Freisetzungsrates beeinflusst [1]. Es ist daher wichtig, bereits früh in der Arzneistoffentwicklung Hydrate oder Polymorphe der Arzneistoffkandidaten zu identifizieren.

Diese Studie konzentriert sich auf den Wirkstoff Piroxicam (PRX), von dem bekannt ist, dass er mehrere polymorphe Formen ausbilden kann [2]. Das Anhydrat von Piroxicam (PRXAH) hat eine wesentlich andere Kristallform als das Hydrat, was auch optisch durch unterschiedliche Farben der beiden Polymorphen zu erkennen ist.

Ziele

Die Arbeit untersucht den Einfluss von Hilfsstoffen und biorelevantem Medium auf die Kinetik der Hydratbildung. Im Fokus standen dabei v.a. die dynamische Bildgebung und quantitative Bildanalyse, um das mechanistische Verständnis der Hilfsstoffeffekte zu verbessern.

Methoden

Für die Mikroskop-Versuche wurden Presslinge mit einem Durchmesser von 7 mm aus 110 mg PRXAH hergestellt. Die Presslinge wurden in Paraffin eingebettet, wobei eine Oberfläche frei blieb. Die Proben wurden in einer Kristallisationsschale unter dem Mikroskop platziert und mit Medium bedeckt. Über einen Gesamtzeitraum von 24 Std. wurde jede halbe Stunde ein Bild aufgenommen. Diese Aufnahmen wurden in schwarz-weiß (binäre) Bilder umgewandelt.

1 University of Applied Sciences and Arts Northwestern Switzerland, 4032 Muttens

2 University of Basel, 4056 Basel

3 Roche Pharmaceutical Research & Early Development, Small Molecule Research, Roche Innovation Center Basel, F. Hoffmann-La Roche Ltd, 4070 Basel

Ergebnisse

Die Umwandlung von PRXAH zu PRXMH in Wasser zeigte eine erhebliche Variabilität. In der Anwesenheit von den Hilfsstoffen Polysorbat 80 und Hydroxypropylmethylcellulose wurde die Hydratbildung komplett verhindert. Wahrscheinlich verursachte eine Hilfsstoff-Adsorption an der Oberfläche diese Hemmung. Natrium Carboxymethylcellulose verminderte die Umwandlung; allerdings wurde noch eine geringe Menge an Hydrat (ca. 1% der Oberfläche) gebildet. Die Umwandlung von PRXAH in Phosphatpuffer wurde im Vergleich zu Wasser beschleunigt. Simulierte Darmflüssigkeit (FaSSIF) verhinderte Kristallbildung und die polymorphe Umwandlung.

Schlussfolgerungen

In dieser Studie konnte gezeigt werden, dass einige Hilfsstoffe die pseudopolymorphe Umwandlung von Piroxicam in einem Zeitraum von 24 Stunden verhindern. Ausserdem ist es uns gelungen zu belegen, dass die Kristallbildung und die Umwandlungsrate in Wasser variabel waren. Dies liegt vermutlich an Faktoren wie dem pH-Wert, Verunreinigungen, bzw. der Ionenstärke. Mit der Analyse der dynamischen Bildgebung fanden wir eine schnelle und zuverlässige Methode, um die Umwandlungskinetik in Gegenwart von pharmazeutischen Hilfsstoffen zu bestimmen. ■

References

- [1] Ledwith MT, Draper SM, Wilcock DJ, Corrigan OI. *J Pharm Sci* 1996; 85, 16–21
- [2] Sheth AR, Bates S, Muller FX, Grant DJW. *Cryst Growth Des* 2004; 4, 1091–1098



Wiebke Kirchmeyer, University of Applied Sciences and Arts Northwestern Switzerland, hat am diesjährigen Swiss Pharma Science Day den Preis für das beste Poster in Pharmazeutischer Technologie für «Influence of excipients on solvent-mediated hydrate formation of piroxicam studied by dynamic imaging» erhalten. Glatt Group sponserte diesen Award.

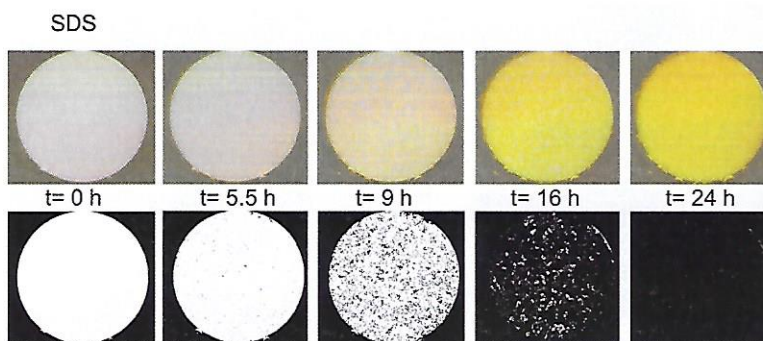


Abbildung: Aufnahmen der Tablettenoberfläche in 0.5% (w/w) nach einer Inkubationszeit von 0, 5.5, 9, 16 und 24 Stunden.

Posterpreise vom 8. Swiss Pharma Science Day

Quantifizierung von Antimirs im RISC mittels chemischer Ligations-qPCR

Matije Lucic¹, Andreas Brunschweiler², Luca Gebert³, Juerg Hunziker⁴, Jonathan Hall¹

Die Robustheit der CL-qPCR-Methode als Nachweisverfahren weist praktisch keine analytischen Einschränkungen bezüglich der chemischen Form des Oligonukleotids auf. Die biologische Aktivität der Antimirs wird vielmehr durch die chemische Modifikation in einer positionsabhängigen Weise beeinflusst.

Die Fähigkeit, Biomakromoleküle zu detektieren und zu quantifizieren, ist eine der wichtigsten Errungenschaften moderner bioanalytischer Analysen. Therapeutische Oligonukleotide werden häufig stark modifiziert, um ihre pharmakokinetischen und pharmakodynamischen Eigenschaften wie Affinität, Spezifität und/oder Nuklease-Resistenz zu verbessern. Der Grad der chemischen Modifizierung stellt jedoch Anforderungen und Einschränkungen an Analysemethoden. Tatsächlich sind chemisch modifizierte Oligonukleotide in der Regel nicht durch herkömmliche Enzym-basierte Verfahren wie Reverse-Transkriptase-quantitative PCR (RT-qPCR) nachzuweisen. Daher haben wir, als Teil unseres Programms zur Entwicklung neuartiger chemisch modifizierter Antimirs (Oligonukleotide, die komplementär zum Target-microRNA sind), eine neu entwickelte chemische Ligations-qPCR (CL-qPCR) Methode implementiert [1], um intrazelluläre Mengen von chemisch modifizierten microRNA-122 Antimirs nach der Transfektion zu quantifizieren und deren Aufnahme in den RISC (RNA-induced silencing complex) zu bestimmen.

Ziele

Mit unserer neuen CL-qPCR-Quantifizierungsmethode wollen wir die Präsenz von Antimirs im RISC bestimmen und überprüfen, ob diese mit der Antimир-Aktivität in biologischen Assays korreliert.

Methoden

In der CL-qPCR-Methode dient das Antimir als eine Art «Brücke», um eine Kopplungs-Ligationsreaktion von zwei DNA-Ligatoresequenzen zu ermöglichen. Bei erfolgreicher Hybridisierung der Ligatoren ans Antimir erfolgt die Ligationsreaktion, wodurch ein DNA-Ligationsprodukt entsteht, welches anschließend durch qPCR quantifiziert werden kann. In Abwesenheit einer «Brücke» (Antimir) erfolgt keine



Matije Lucic, ETH Zürich, hat am diesjährigen Swiss Pharma Science Day den Spezialpreis für seinen Posterbeitrag «Quantification of Antimirs in RISC by Chemical-Ligation RT-qPCR» erhalten. Vifor Pharma sponserte diesen Award.

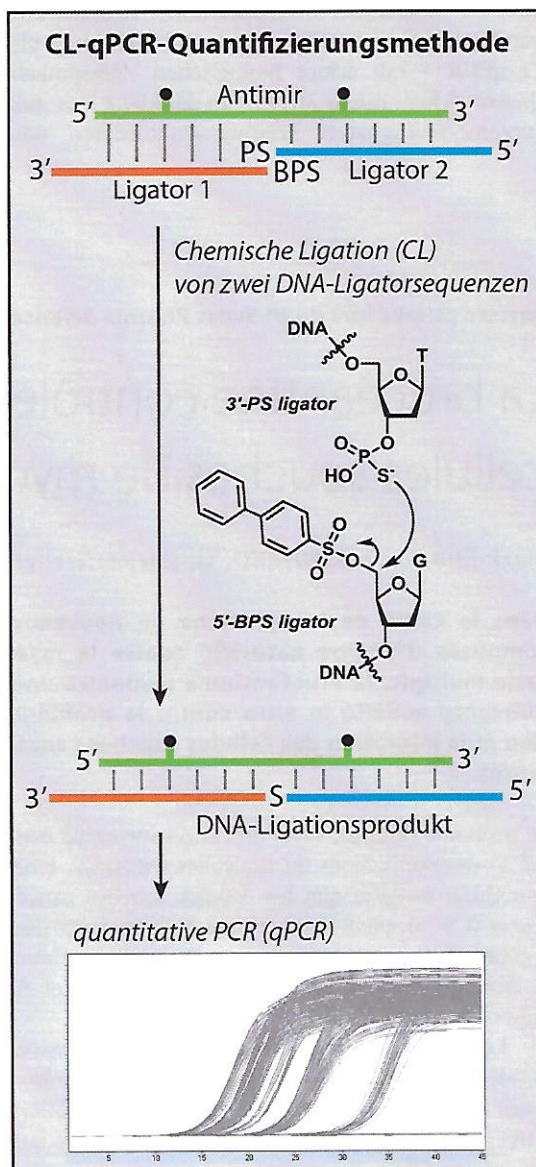


Abbildung: Die CL-qPCR-Quantifizierungsmethode.

1 Institute of Pharmaceutical Sciences, Department of Chemistry and Applied Biosciences, ETH Zürich, 8093 Zürich, Switzerland

2 Faculty of Chemistry and Chemical Biology, TU Dortmund University, Dortmund, Germany

3 Department of Integrative Structural and Computational Biology, The Scripps Research Institute, La Jolla, CA, USA

4 Novartis Institutes for BioMedical Research, Global Discovery Chemistry, Novartis Campus, 4056 Basel, Switzerland

Ligation und somit keine Detektion mittels qPCR. Transfizierte Antimirs wurden in Zelllysaten und nach Immunopräzipitation von AGO2-Protein, welches das Haupteffektor-Protein im RISC darstellt, quantifiziert. Wir haben unsere Quantifizierungsdaten genutzt, um die biologische Aktivität von Antimirs in den zuvor ausgeführten Luziferase-Reporter-Assays zu erklären.

Resultate

Überraschenderweise fanden wir heraus, dass die Position der chemischen Modifikation im Antimir wichtiger zu sein scheint als ihre chemische Struktur. Die inhibitorische Aktivität war in der Regel am besten für Antimirs mit Modifikation an Position N3, während die Aktivität bei einer Änderung an Position N11 massiv abnahm. Wir nehmen an, dass der beobachtete Verlust der biologischen Aktivität mit sterischer Hinderung zwischen den chemischen Substituenten an Position N11 und dem AGO2 Protein im RISC zu erklären ist. Tatsächlich korrelierte die Antimir-Anwesenheit in RISC – quantifiziert durch die CL-qPCR – mit seiner biologischen Wirksamkeit. Unsere Erkenntnisse stehen im Einklang mit seit kurzem verfügbaren Röntgenstrukturdaten von

AGO2 im Komplex mit einer «guide-microRNA» und einer komplementären RNA [2]. Unsere Daten bestätigen die Fähigkeit des CL-qPCR-Verfahrens zur Detektion und Quantifizierung chemisch modifizierter Antimirs in Zelllysaten und RISC.

Schlussfolgerungen

Die Robustheit der CL-qPCR-Methode als Nachweisverfahren weist praktisch keine analytischen Einschränkungen in Bezug auf die chemische Form des Oligonukleotids auf. Die biologische Aktivität der Antimirs wurde hauptsächlich durch die chemische Modifikation in einer positionsabhängigen Weise beeinflusst und wurde mit der Präsenz im RISC korreliert. Diese Ergebnisse haben weitreichende Auswirkungen auf die zukünftige Entwicklung von Antimir-Arzneimitteln. ■

Literatur

- [1] Boos JA et al. *Nucleic Acids Res* 2013; 41: e145.
[2] Schirle NT et al. *Science* 2014; 346: 608–613.

Korrespondenzadresse

Matije Lucic
E-Mail: matije.lucic@pharma.ethz.ch

Posters primés lors du 8^e Swiss Pharma Science Day

La brucéantine contrôle la prolifération de cellules souches de myélome multiple

Mark Elia Issa¹, S. Berndt¹, G. Carpentier² et M. Cuendet¹



Mark Elia Issa, de l'Université de Genève, a reçu lors du Swiss Pharma Science Day 2015 le prix du meilleur poster dans le domaine «Pharmaceutical Biology/Phytomedicine» pour «Bruceantin Controls the Proliferation of Multiple Myeloma Cancer Stem Cells In Vitro». Ce prix était sponsorisé par Max Zeller Söhne AG.

Dans le cadre de la recherche de nouveaux composés d'origine naturelle contre le myélome multiple, la brucéantine a démontré une puissante activité in vitro contre la prolifération et la migration des cellules souches cancéreuses.

Le myélome multiple reste un cancer incurable malgré le développement de nouvelles thérapies. Une hypothèse suggère que les cellules souches cancéreuses (CSCs) soient responsables de la majorité des rechutes de patients atteints par cette maladie. Ceux-ci développent une résistance au traitement et finissent par décéder [1].

Les CSCs sont caractérisées par une division rapide, un manque de différenciation et une résistance aux traitements, ce qui conduit à la formation d'une nouvelle tumeur (figure 1). Les composés qui ciblent les CSCs de myélome multiple pourraient

donc permettre d'améliorer le pronostic des patients atteints.

La brucéantine est un composé d'origine naturelle qui a été isolée pour la première fois à partir de *Brucea antidysenterica*, un arbre de la famille des Simaroubacées. Ce principe actif a déjà montré une activité anticancéreuse dans divers modèles, tant in vitro que in vivo. Dans le cadre de la recherche de nouveaux composés efficaces contre le myélome multiple, l'activité de la brucéantine a été testée sur des CSCs de myélome multiple [1].

¹ Section des sciences pharmaceutiques, Université de Genève,

Université de Lausanne, Quai Ernest-Ansermet 30, 1211 Genève, Suisse

² Laboratoire CRRET, Faculté des Sciences et Technologie, Université Paris Est Créteil, 61 Avenue du Général de Gaulle, 94010 Créteil F-Cedex, France

Effets de la brucéantine sur la prolifération des CSCs

Les CSCs de myélome multiple sont des cellules tumorigéniques qui ont été isolées à partir d'un patient nouvellement diagnostiqué. Afin de mesurer la prolifération des cellules en réponse à la brucéantine, un marqueur de la division cellulaire a été utilisé. Des concentrations nanomolaires de brucéantine ont inhibé la prolifération des cellules après 24 heures de traitement.

Effets de la brucéantine sur la migration des CSCs

L'invasion est une caractéristique déterminante des tumeurs malignes, qui dépend principalement de la capacité de migration des cellules cancéreuses. La migration cellulaire a donc été évaluée en utilisant un scratch test. Ce test permet, en créant un sillon dans un tapis cellulaire, de tester la capacité des cellules à recoloniser cet espace. Suite au traitement avec la brucéantine, le processus de migration cellulaire a été totalement inhibé.

Effets de la brucéantine sur l'angiogenèse

L'angiogenèse, qui est un processus de néovascularisation et qui est notamment impliquée dans la croissance des tumeurs, a été évaluée en utilisant des cellules de la veine de cordon ombilical humain (HUVECs). Un modèle *in vitro* tridimensionnel de l'angiogenèse [2] a montré que la brucéantine était également capable d'inhiber l'angiogenèse (figure 2).

Identification d'un mécanisme d'action possible

Afin d'identifier un mécanisme d'action possible, l'expression de gènes spécifiques des cellules souches a été mesurée par qPCR (Ndlr: méthode permettant de mesurer la quantité initiale d'ADN).

La brucéantine a induit une altération de l'expression de gènes impliqués dans la voie de signalisation de Notch, tels que Notch1, HES1, RUNX1, PBX1. L'utilisation d'un inhibiteur de cette voie de signalisation a montré une diminution des effets antiprolifératifs de la brucéantine sur les CSCs de myélome multiple.

Conclusions

La brucéantine a montré une inhibition de la prolifération des CSCs de myélome multiple en impliquant probablement la voie de signalisation Notch. L'étude de l'effet de la brucéantine sur la migration des cellules et sur l'angiogenèse mérite d'être approfondie dans d'autres modèles de myélome multiple, notamment au travers d'études *in vivo* représentatives de la maladie. ■

Figure 1. Effets d'une thérapie ciblant les cellules souches cancéreuses en comparaison avec une thérapie conventionnelle.

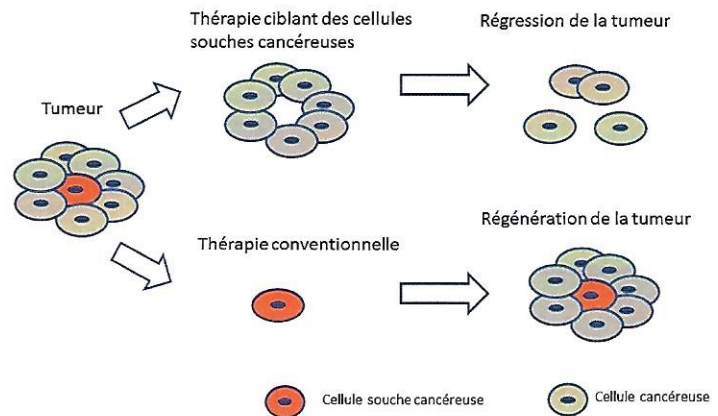
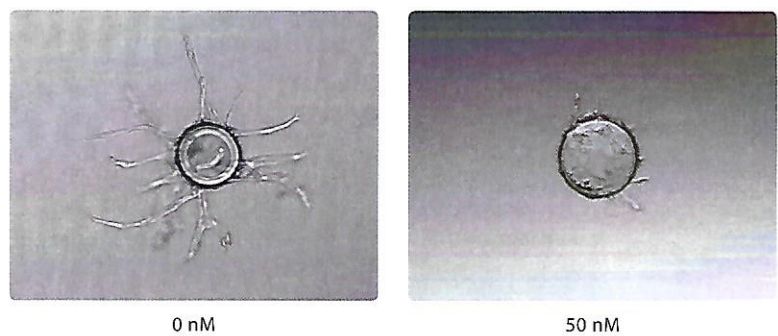


Figure 2. Effets de la brucéantine sur l'angiogenèse.



La brucéantine a significativement diminué le nombre de branches formées par les HUVECs sur une bille.

Littérature

- [1] C. A. Huff, W. Matsui, Multiple myeloma cancer stem cells. *Journal of Clinical Oncology* 26, 2895–900 (2008).
- [2] M. N. Nakatsu, C. C. Hughes, An optimized three-dimensional *in vitro* model for the analysis of angiogenesis. *Methods in Enzymology* 443, 65–82 (2008).

Adresse de correspondance

Mark Elia Issa
Section des sciences pharmaceutiques, Université de Genève
Quai Ernest-Ansermet 30, 1211 Genève 4
E-mail: mark.issa@unige.ch