ANALYSES *in vivo*

Bicalutamide

RD162

Enzalutamide (MDV3100)

ANALYSES *in vivo*

Efficacité anti-tumorale

Development of a Second-Generation Antiandrogen for Treatment of Advanced Prostate Cancer

Chris Tran,[1*] Samedy Ouk,[5*] Nicola J. Clegg,[1] Yu Chen,[1,3] Philip A. Watson,[1] Vivek Arora,[1] John Wongvipat,[1] Peter M. Smith-Jones,[2] Dongwon Yoo,[5] Andrew Kwon,[1] Teresa Wasielewska,[1] Derek Welsbie,[6] Charlie Degui Chen,[6]† Celestia S. Higano,[7] Tomasz M. Beer,[8] David T. Hung,[9] Howard I. Scher,[3] Michael E. Jung,[5]‡ Charles L. Sawyers[1,4]‡

SCIENCE VOL 324 8 MAY 2009

Propriétés pharmacocinétiques chez la souris (Fig 2A):

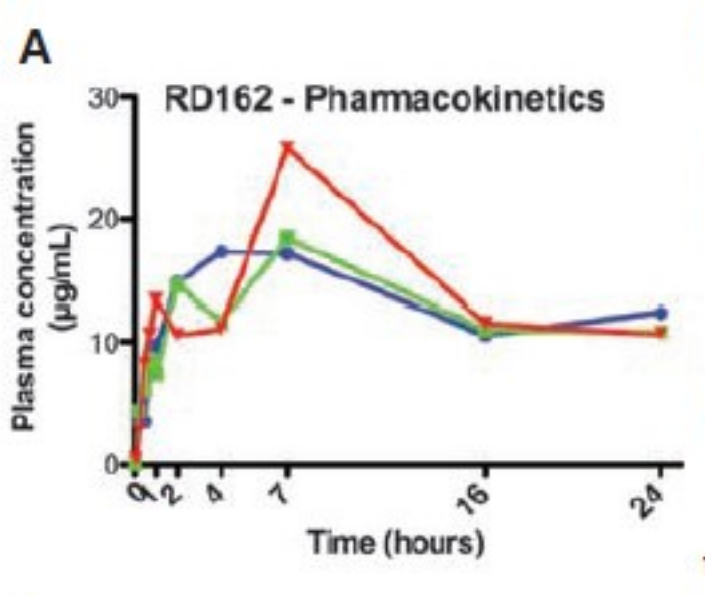


Table S2A

RD162 (20 mg/kg)		
	IV	PO
AUC_{Inf} (hour·µg/mL)	1678.3	795.5
Half-life (hour)	11.6[1]	30.2[2]
Clearance (mL/hour/kg)	12.0	25.5
C_{max} (µg/mL)	320.8	16.5
T_{max} (hour)	0.08	4.6
Bioavailability (%)	-	47.4[3]

[1] $T_{1/2}^{\beta}$, [2] $T_{1/2}^{K10}$, [3]Bioavailability calculated based on $AUC_{0\text{-}Inf}$

Table S2B

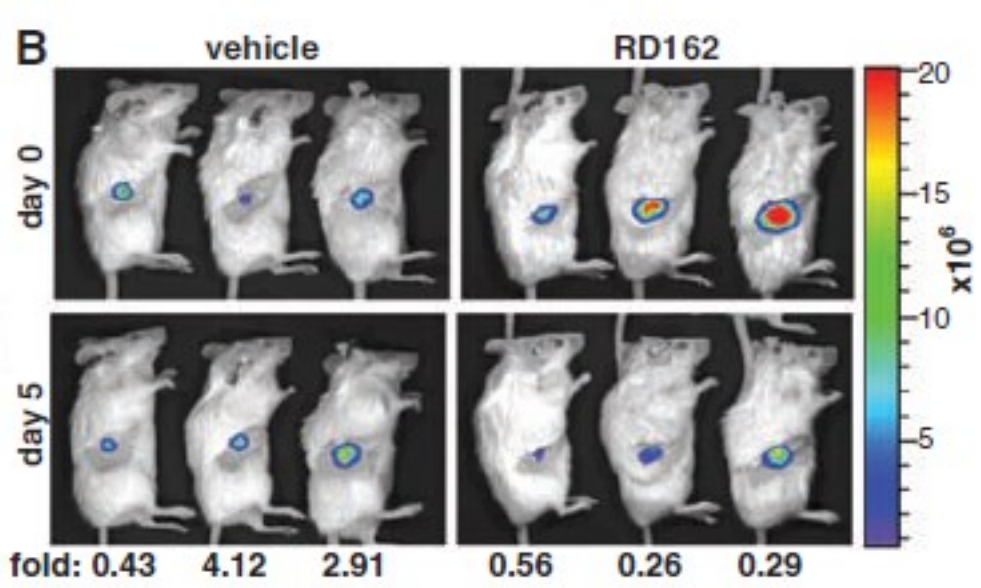
Drug	Serum proteins	Mean % drug bound to serum proteins (n=3)		
		0.4 µg/mL drug	2 µg/mL drug	10 µg/mL drug
RD162	4% HSA + 0.1% AAG	82.88	89.65	75.55
MDV3100	4% HSA + 0.1% AAG	98.63	99.60	99.58
bicalutamide	4% HSA + 0.1% AAG	75.88	57.40	62.12

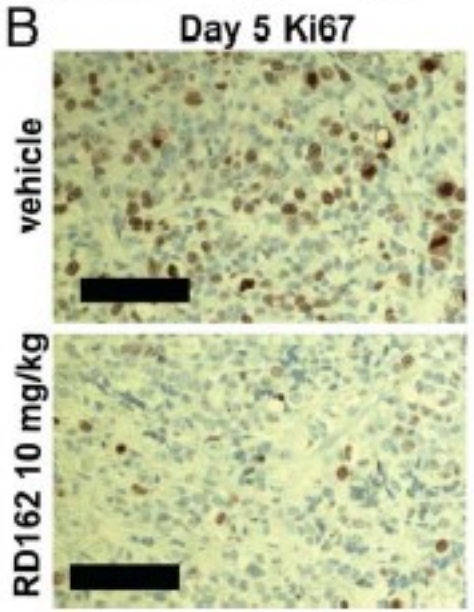
Propriétés pharmacodynamiques:

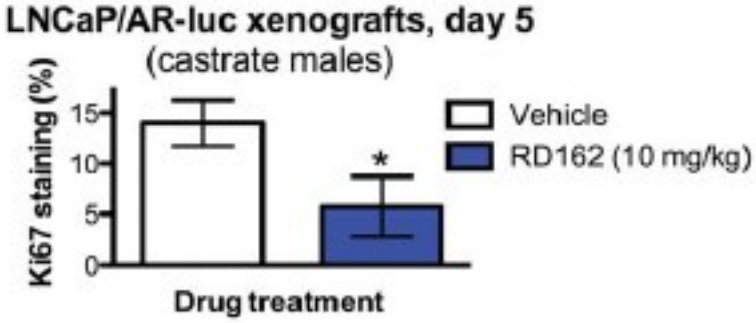
RD162 (10 mg/kg) pendant 5 jours. Oral gavage
Souris mâle castré
Cellules LNCaP/AR: **castration resistant** human prostate cancer cells.
Co-expriment AR et AR-dependent reporter construct (luc)

L'expression du Ki67

-Dans les phases du cycle cellulaire G1, S, G2 et M, alors qu'en G0 son expression est indétectable.
-Ce marquage permet donc d'identifier les cellules en phase de prolifération.



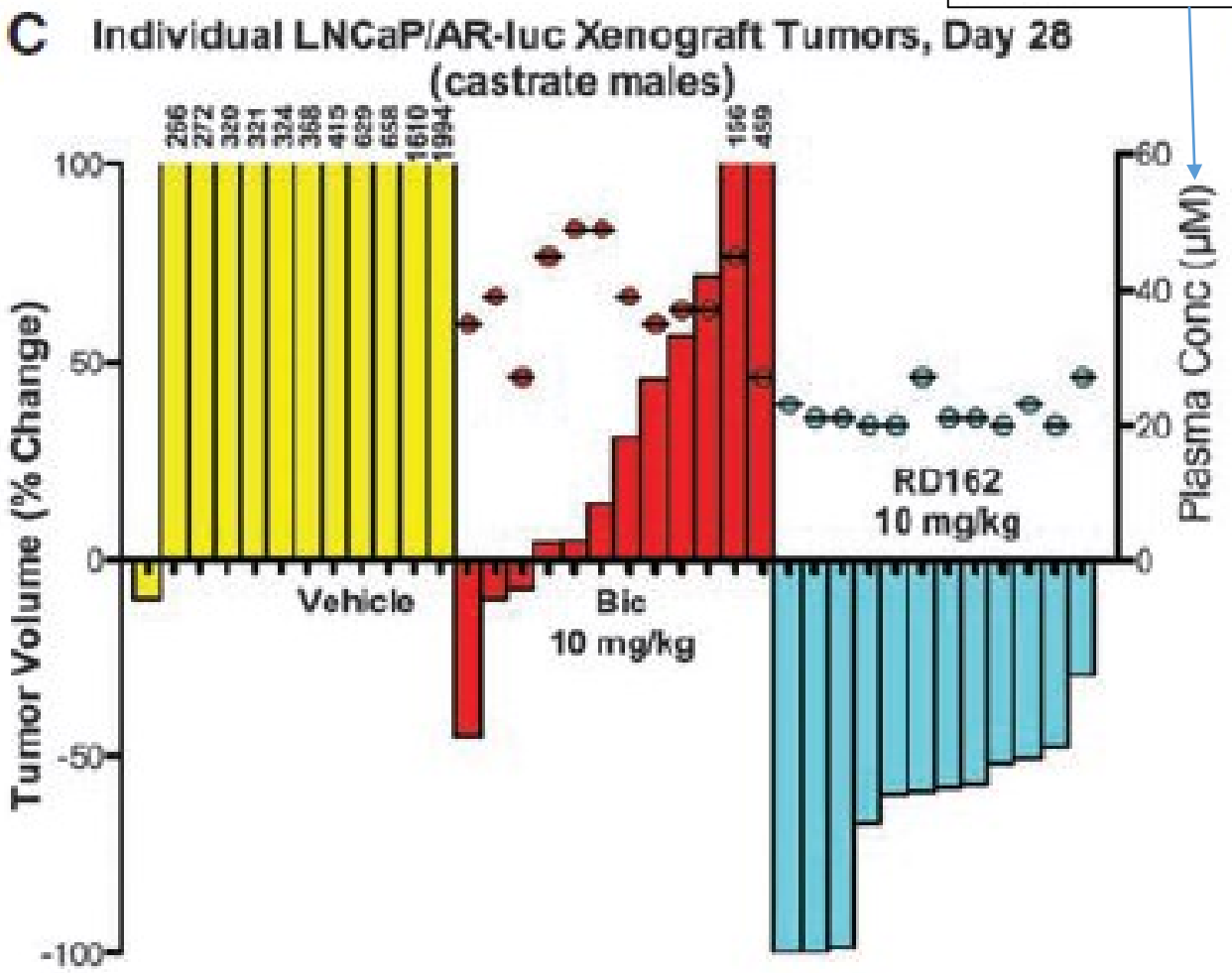


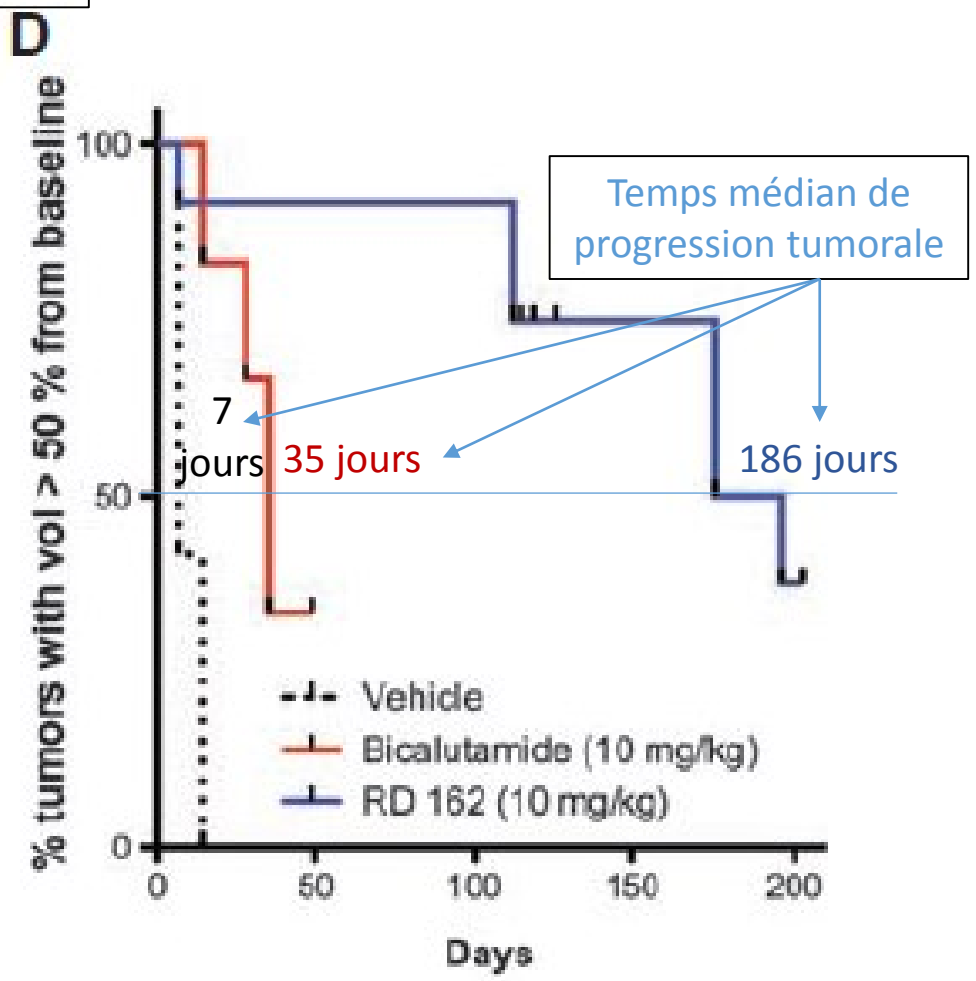


Effets de RD162 et Bicalutamide dans le modèle de xénogreffe de CRPC.
Souris mâles, greffés avec cellules LNCaP/AR. Quand les tumeurs atteignent 100 mm3, les animaux sont traités.

Cellules castration-resistant LNCaP/AR

20 heures après la dernière dose, J28



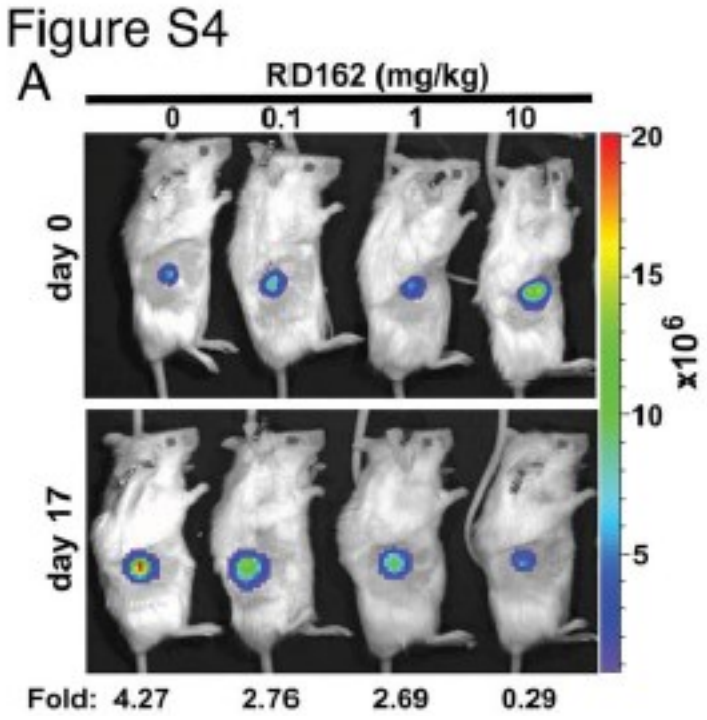


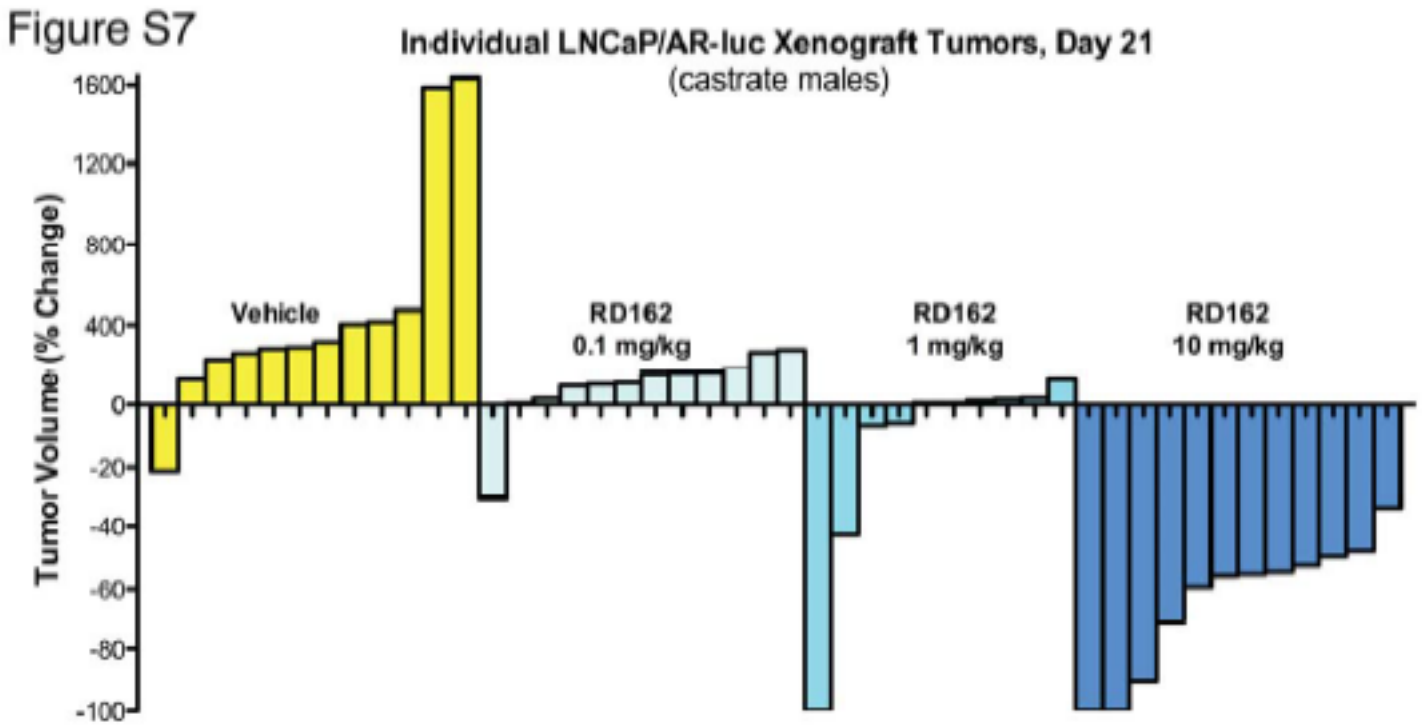
Waterfall plot: données après 28 jours de traitement

Kaplan-Meier

Dose réponse: **RD162** 0.1, 1 et 10 mg/kg, pendant 5 jours. Oral gavage.

RD162 dans le modèle de xénogreffe de CRPC.
Souris mâles, greffés avec cellules LNCaP/AR.
Quand les tumeurs atteignent 100 mm3, les animaux sont traités.



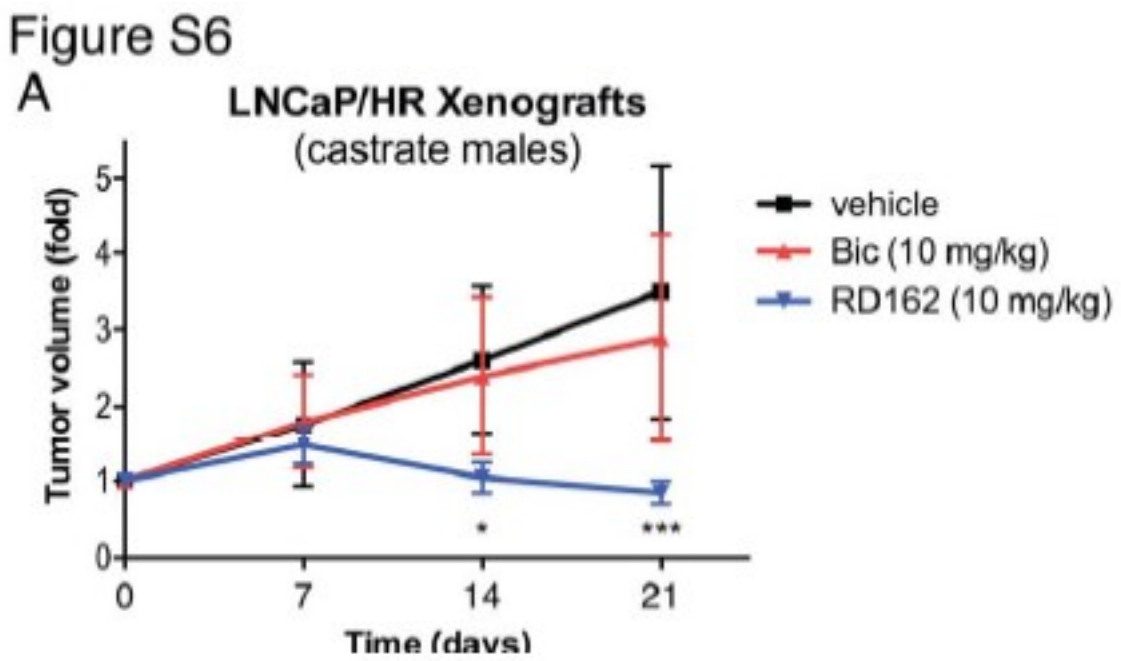


Effets de **RD162** et **Bicalutamide** dans un autre modèle de xénogreffe de CRPC: cellules LNCaP/HR

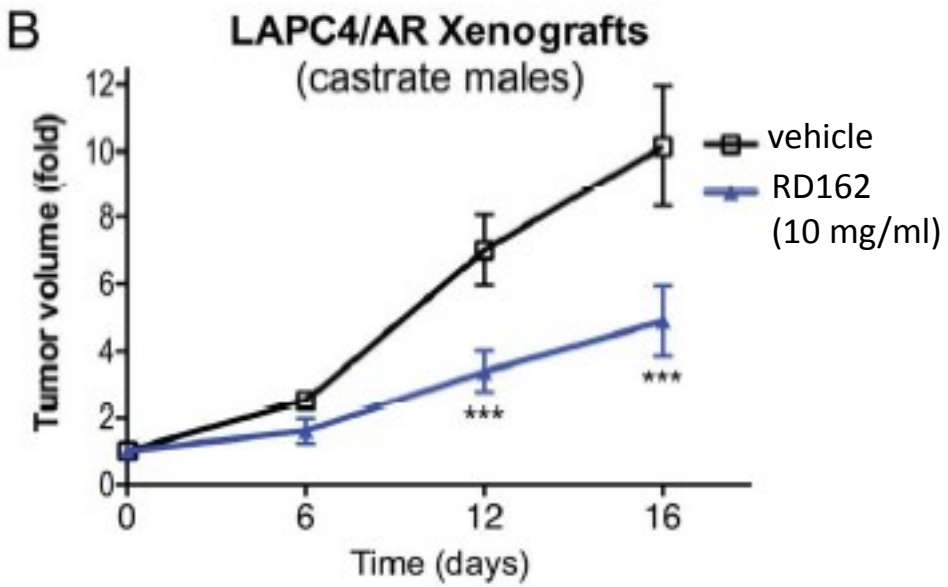
Cellules rendues résistantes à la castration par passage successif des cellules dans des souris mâles castrés.

Gavage oral pendant 21 jours.

Quand les tumeurs atteignent 100 mm3, les animaux sont traités.

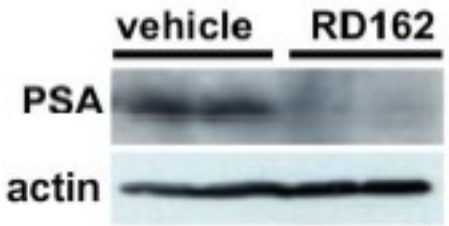


Gavage oral pendant 21 jours.
Quand les tumeurs atteignent 100 mm3, les animaux sont traités.



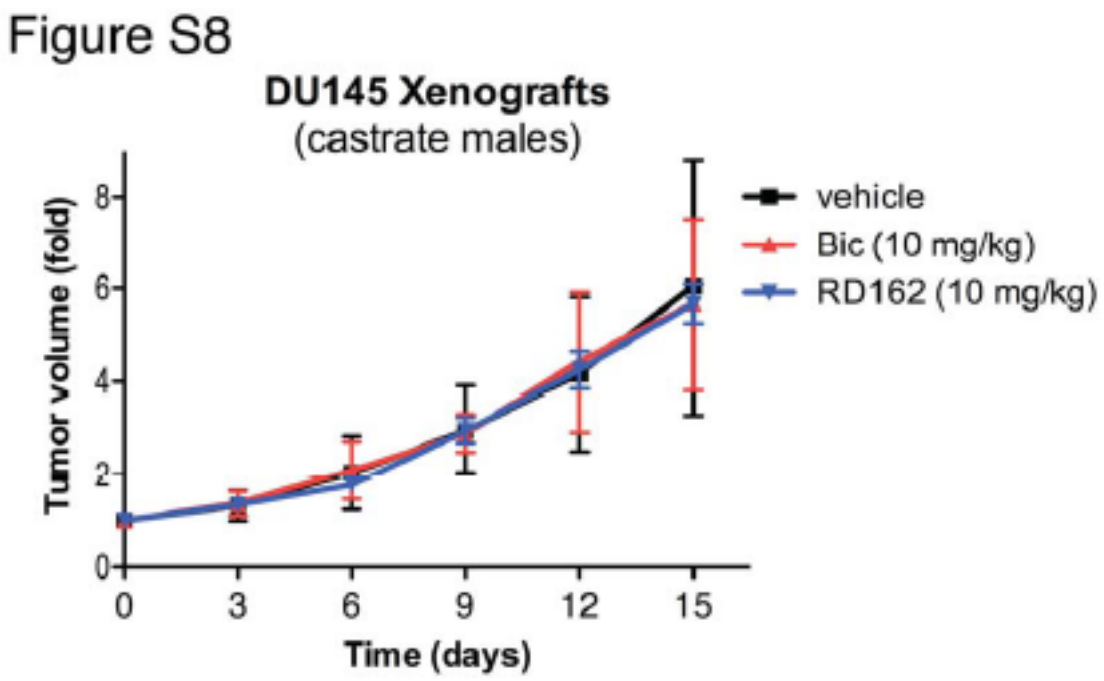
Gavage oral pendant 16 jours.

Extrait protéique sur tumeur après traitement (J16).

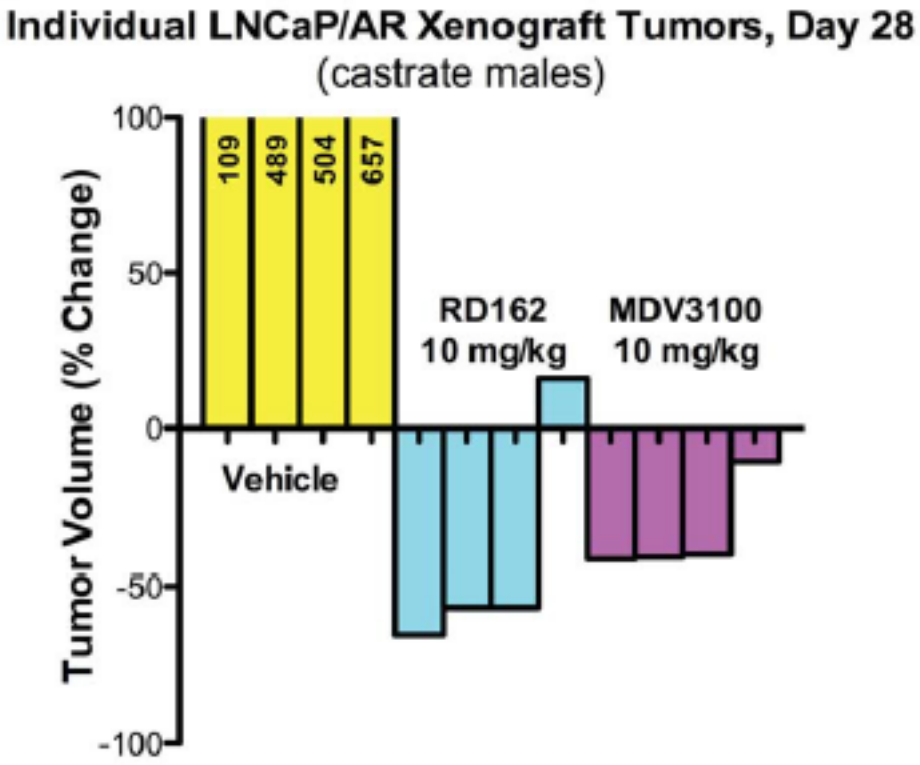


« Prostate specific antigene » exprimé par les cellules tumorales.

Effets de **RD162** et **Bicalutamide** dans le modèle de xénogreffe de cellules DU145 (n'expriment pas le récepteur aux androgènes)
Souris mâles, greffés avec cellules DU145. Quand les tumeurs atteignent 100 mm3, les animaux sont traités.



Effets de **RD162** et **Enzalutamide** dans le modèle de xénogreffe de CRPC (LNCaP/AR).
Souris mâles, greffés avec cellules LNCaP/AR. Quand les tumeurs atteignent 100 mm3, les animaux sont traités.



ANALYSES *in vivo*

Toxicité

Single dose toxicity

Table 3 Single dose toxicity studies:

Study ID	Species/ Sex/Number/ Group	Dose [mg/kg]/oral gavage	Approx. lethal dose / observed max non-lethal dose	Major findings
9785-TX-0002	Crlj:CD1(ICR) mice/male and female/3 per gender per dose per time point	50,100,200, 400, 800, 1600	400/200	≥400: Decreased activity, clonic convulsions and/or tremors, irregular respiration, prone/lateral position and/or lacrimation. MTD=200 mg/kg
9785-TX-0003	Cynomolgus monkeys/male and female/3 per gender	single dose of 30 mg/kg on Day 1, a single dose of 100 mg/kg on Day 14, and two 30 mg/kg doses 4 hours apart (i.e., total dose of 60 mg/kg) on Day 35 under fed conditions.	No mortality	Muddy stools and vomiting at all dose levels. MTD was not achieved.

Souris: toxicité en dose unique ≥400 mg/kg (mortalité , convulsions)
Singes: pas de MTD atteintes, vomissements a toutes les doses.

Repeat dose toxicity

No observed effect level/No observed adverse effect level

Study ID/GLP	Species/Sex/ Number/Group	Dose [mg/kg]/oral gavage	Duration	NOEL/ NOAEL (mg/kg/day)
9785-TX-0007/No	Mouse/Crlj:CD1(ICR)	30,100, 300	1 week	Not reported
9785-TX-0011/No	Rat /Crl:CD(SD)/ 6M, 6F per dose group	10, 30, 100, 200	1 week	Not reported
PRO3100NC15/No	Rat/SpragueDawley/6M/6F (main group); 9M/9F (toxicokinetic group)	10, 30, 100	2 weeks	Not reported
PRO3100NC17/GLP	Rat/Crl:CD(SD)	10, 30, 100	28 days	100 mg/kg/day
PRO3100NC39/GLP	Rat/Sprague-Dawley	10,30,100,200	26 weeks	100 mg/kg

Souris: toxicité en dose répétée. Mortalité: 1 ♂ 100 mg/kg, 4 ♂ et 4 ♀ 300 mg/kg

Rats: 1 semaine: pas de tox

2 semaines: problèmes à 100mg/ml, ↘ poids, ↘ prostate

1 mois: ↘ hématocrite à 100 mg/kg

6 mois: ♂ perte de poids, ♀ gain de poids. ↘ Hématocrite. Hypertrophie foie, atrophie tissus hormono-sensibles.

Repeat dose toxicity

PRO3100NC14/No (Phase 1)	Dog/Beagle/1M/1F	10, 80, 202 (CCMG solution)	2 weeks	Not reported
PRO3100NC14/No (Phase 2)	Dog/Beagle/1M/1F	56.25 (group 5: Oral gavage/CCMG sol. Group 6: Oral gelatine capsule/CCMG)	1 week	Not reported
PRO3100NC18/GLP	Dog/Beagle/6M/6F	10, 30, 100/60 (100 reduced to 60 on day 8)	28 days	10 mg/kg
PRO3100NC38/GLP	Male Dog/Beagle/5	4, 20, 45	13 weeks	Not reported

Chiens: 2 semaines. 1♀ 202 mg/kg, 1♂ 80 mg/kg euthanasiés (moribund conditions, J8 et J15 respectivement).
1 semaine: pas de tox. Perte de poids.
1 mois: 1♂ control, 3♂ et 3♀ 100/60 mg/kg euthanasiés. Pbs Prostate all doses. ↘ Poids des animaux 100/60 mg/kg.
13 semaines: ↘ poids prostate all doses.

Genotoxicity

Table 5: Genotoxic effects of MDV3100

Type of test/study ID/GLP	Test system	Concentrations/ Concentration range/ Metabolising system	Results Positive/negative/equivocal
Salmonella-Escherichia coli/Mammalian-Microsome Reverse Mutation Assay with a Confirmatory Assay/ PRO3100NC35/GLP	*Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, and TA1537), *Escherichia coli* (WP2*uvr*A)	156, 313, 625, 1250, 2500, 5000 +/- S9	Negative
L5178Y $TK^{+/-}$ Mouse Lymphoma Forward Mutation Assay with a Confirmatory Assay/ PRO3100NC34/GLP	Mouse lymphoma (L5178Y) cells	5 – 200 µg/ml +/- S9	Negative
A Micronucleus Test in Mice Orally Treated with MDV3100 / 9785-TX-0005/GLP	Chromosomal aberrations, Mice/Crlj:CD1(ICR)	0, 7.5, 15, and 30 mg/kg/day	Negative

Essais de mutation reverse: souches de bactéries auxotrophes pour 1 acide aminé. Détection de mutations qui reversent des mutations présentes dans la souche d'essai et rétablissent ainsi la capacité des bactéries de synthétiser l'aa absent dans le milieu.

MLA: detecte les « forward mutations » au locus Thymidine Kinase.

Micronoyaux: indicateurs de l'intégrité des chromosomes

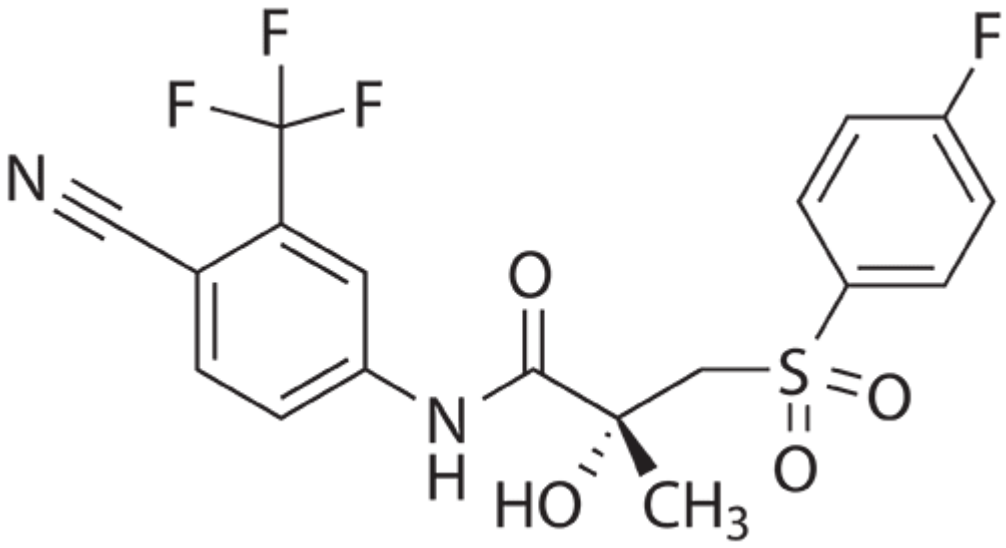
Reproduction Toxicity

Table 6: Preliminary (non-GLP) Study for Effects of Orally-administered MDV3100 on Embryo-Fetal Development in Mice.

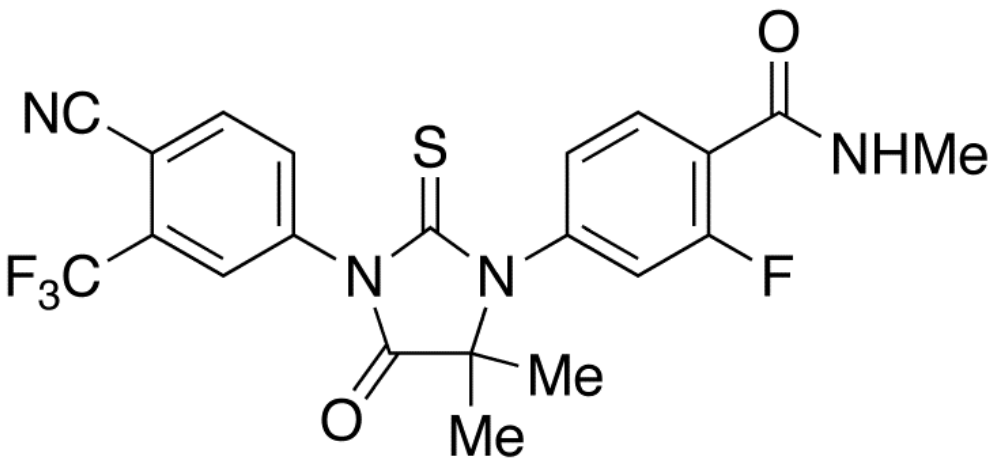
Study type/ Study ID	Species; Number Female/ group	Route & dose	Dosing period	Major findings
Embryo-fœtal development / 9785-TX-0006	Mice/Crlj:CD1(ICR)/8	Orally by Gavage 10, 30 60 mg/kg	G6-15	10, 30, 60: Decreased anogenital distance 30, 60: Cleft palate. 60: Low fetal body weight. Skeletal abnormalities and variations. Delayed ossification.

Chiens: ♂ effets transitoires sur les organs reproducteurs

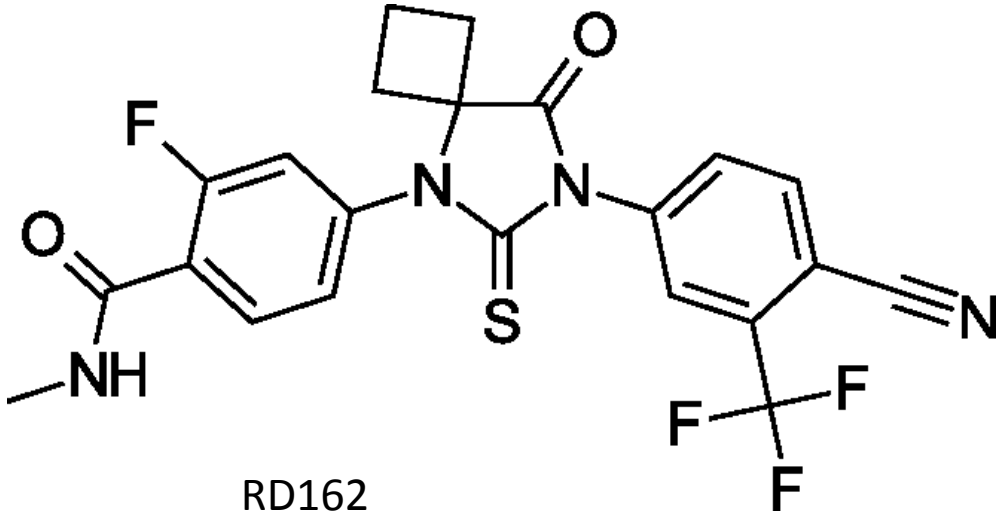
Souris: accouchements prématurés, morts intra-uterines. Diminution du poids foetal, forte incidence d'anomalies squelettiques.



Bicalutamide



MDV3100



RD162

Merci

Pour votre attention