

En god videnskabelig historie

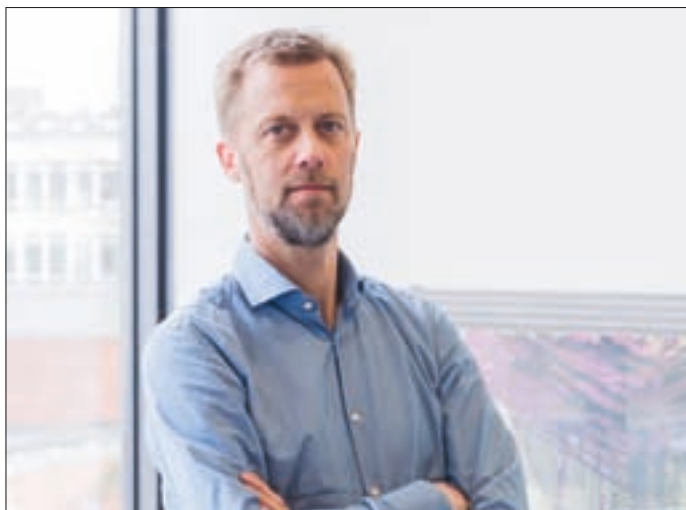
Hvis alt går efter planen, kan Avilex Pharma i 2017 påbegynde fase I-studier af AVLX-144 - et nyt potentielt lægemiddel mod slagtilfælde. For hjernen bag virkningen, Kristian Strømgaard, er det en overraskelse at være nået så langt. For vejen har været brolagt med udfordringer.

Af Katrine Meyn, km@techmedia.dk

Avilex Pharma blev grundlagt i 2012 som et spin-out fra Københavns Universitet. Det blev grundlagt af professor Kristian Strømgaard og adjunkt Anders Bach. Men vejen dertil var lang. Den startede allerede i 1999, da Kristian Strømgaard læste ph.d. Hans vejleder var Poul Krogsgaard Larsen, der arbejdede med de to primære receptorsystemer i hjernen glutamat- og GABA-receptorer (der er henholdsvis den aktiverende og hæmmende receptortype). Næste skridt blev, da han fortsatte sin post.doc. i USA på Columbia University.

- Når man søger akademiske stillinger i USA, kræves det, at man har forskningsprojekter, der er nye og innovative. Det virkede som en stærk motivator for mig, og jeg brugte meget tid på at læse og blive inspireret til at finde nye forskningsveje, fortæller Kristian Strømgaard.

Han observerede, at meget af den forskning, der blev udført på glutamat-receptorer, koncentrerede sig om receptorens yderside. Man havde dog fundet ud af, at der sidder en række proteiner på receptorens inderside, men ingen, eller meget få, havde udforsket disse i medicinsk forstand. Så tanken om at beskæftige sig med protein-protein-interaktioner på indersiden af glutamat-receptoren tog form.



Kristian Strømgaard. Foto: Michael Barett Boesen.

Ideen tager yderligere form

Hvordan det skulle gribes an, blev lidt klarere for ham i 2002. Da læste han en artikel i Science, der fik ham op af stolen. En canadier havde undersøgt NMDA (N-methyl-D-aspartat)-receptor subtypen i glutamatreceptoren og fundet ud af, at den vekselvirker med proteinet PSD-95.

Han havde fremstillet et peptid, og administreret stoffet til mus, hvorefter det viste sig, at det beskyttede mus mod hjerneblødninger. Det brugte Kristian Strømgaard som udgangspunkt. Her var et projekt, der indeholdt det hele - protein-protein-interaktioner, at arbejde med glutamat-receptorer på en ny måde samtidig med, at det havde terapeutisk relevans.

Sammen med daværende ph.d.-studerende Anders Bach begyndte han at arbejde med protein-protein-interaktioner.

- Det eneste, vi havde at gå ud fra, var, at vi vidste, at der var et peptid, der virkede på et target. Anders skaffede proteiner, så vi kunne sætte assays op til at teste stoffer. Målet var at finde et small molecule, der hæmmede receptor/PSD-95-interaktionen, fortæller han og fortsætter:

■ Slagtilfælde

Slagtilfælde er den næsthøypigste dødsårsag i Danmark. Begrebet slagtilfælde (apopleksi) dækker både over blødning og blodprop i hjernen. I 85% af tilfældene er der tale om en blodprop og i 15% om en blødning. Den eneste måde, man kan afgøre om apopleksien skyldes en blodprop eller en blødning er ved at lave en CT- eller en MR-scanning af hjernen. I dag findes der ét lægemiddel på markedet - alteplase. Medicinen skal administreres inden for de første 4½ time efter slagtilfældet, men man skal scannes først, for medicinen virker kun mod blodpropper og kan være fatalt mod blødninger.

- Første trin var at screene 3.000 stoffer i et bibliotek. Resultatet var en masse falske positive og ingen stoffer, der virkede.
- Næste trin var at lave en virtual screening, hvor vi prøvede at finde ligander. Vi fandt omkring 50-100 stykker, men igen kun falske positive.
- Dernæst prøvede Anders med rationelt design, hvor han ud fra proteinets struktur prøvede at designe en brugbar ligand. Vi fandt ingen, der kunne bruges.
- I samarbejde med et center i Kina, screenede vi senere omkring 320.000 stoffer - de havde erfaring med vanskelige targets. Også her fik vi også kun falske positive.
- Overordnet var der nu to muligheder. Enten var vi superdårlige til at lave screeninger, eller også var det et vanskeligt target. Vi stod nu overfor et dilemma. Anders skulle lave sin ph.d., og vi havde tæt på ingenting, fortæller Kristian Strømgaard.

Satsning på peptider

I artiklen fra 2002 arbejdede canadieren med peptidet NA-1, som virkede på target og oven i købet havde vist effekt på mus. ►

Modtag gratis nyhedsbrev fra KEMIFOKUS

Tilmeld dig i dag på: **www.kemifokus.dk**
– og få dedikerede nyheder fra branchen
kemifokus.dk er det tidligere dansk kemi-online.dk

**KemiFOKUS udgives af Dansk Kemi
– vi dækker hele branchen**

KEMIFOKUS



- Derfor tog vi den, for mig, grænseoverskridende beslutning at bevæge os ind i peptidverdenen, og vi begyndte at udføre en række klassiske analyser ud fra vores viden om interaktionen. Det fik vi to publikationer ud af, og dertil nogle modificerede tetrapeptider, der virkede som inhibitorer. Vi opnåede en ca. 8-folds forbedring i forhold til udgangspunktet, så det var ok, men ikke prangende, siger Kristian Strømgaard.

PSD-95 har to PDZ-domæner, der sidder ved siden af hinanden og binder samme peptid. Derfor opstod ideen til at fremstille en symmetrisk dimer, der binder til begge disse domæner. Så kunne man i hvert fald teoretisk øge affiniteten, så man fik noget, der var mere potent. Indtil da var PDZ-domænerne blevet testet individuelt. Anders Bach udtrykte de to domæner sammen. Da han testede den første dimere ligand, fik han umiddelbart en 100-folds affinitetsøgning. Det var et stort gennembrud.

- Dernæst lavede vi en meget systematisk optimering af linkeren mellem peptiderne. Det viste sig, at fire PEG-units er den optimale længde af linkeren. Vi optimerede også peptidsekvensen og kom ned på en affinitet på 10 nM, hvilket inden for dette område var helt uhørt. Og vi panterede disse stoffer, siger han.

Peptider er generelt ustabile og kan normalt ikke umiddelbart bruges til lægemidler, men Anders inkuberede peptidet in vitro i blodplasma, analyserede det og fandt ud af, at ved at hæfte linkeren på, blev peptidet stabilt. Det var meget overraskende.

■ Effekten af AVLX-144

Slagtilfælde bevirker, at nogle af hjernecellerne ikke får tilstrækkelig med blodforsyning, og derfor enten dør eller holder op med at virke normalt. Ved slagtilfælde frigives store mængder af glutamat. En overdosis glutamat overaktiverer, dvs. forgifter og dræber hjernecellerne. Man har prøvet at blokere NMDA-receptoren i mange år, men den er meget sensitiv.

Ved at angribe receptoren intercellulært undgår man en række bivirkninger. Når AVLX-144 gives til mus efter slagtilfælde, så reduceres det døde område i hjernen med op til 50%. Denne reduktion korrelerer med forbedrede funktionelle evner, dvs. at man hurtigere kommer sig.

Han redesignede senere PEG-linkeren ved at introducere et nitrogen. Det gav et kemisk håndtag at arbejde videre på.

Det lykkedes at komme ned på 4,6 nM efter yderligere optimering inklusiv introduktion af et celle-penetrerende peptid, hvilket var præcis 1000-fold mere potent end NA-1. Det nye stof trængte endvidere ind i hjernen. Det blev publiceret i 2012.

Parallelt havde kollegaer testet det oprindelige stof i en smertemodel og 1. generationsstoffet – havde nogle spændende effekter.

På den baggrund blev Avilex Pharma etableret den 27. december 2012 med primær fokus på smerte. Novo Seeds investerede et mindre millionbeløb. Men en række blandede resultater omkring smerte i løbet af de første 6-9 måneder satte i første omgang en stopper for virksomhedseventyret.

Hvad gør vi nu?

Her ville de fleste historier nok være stoppet. Men potentialet inden for slagtilfælde var der stadig, og Kristian Strømgaard måtte gøre op. Der var nogle penge og patenter tilbage i firmaet. Novo Seeds og han blev enige om, at han tog over som direktør med fokus på slagtilfælde.



Foto: Michael Barrett Boesen.

Nu startede arbejdet med at søge midler. Der skulle findes finansiering, der kunne bringe stoffet videre til klinik. Kristian Strømgaard satsede alt og brugte alle sine kræfter på at søge midler hos Wellcome Trust. Efter et langt, hårdt arbejde lykkedes det i januar 2015 at komme igennem nåleøjet og at få bevilget ca. 18 mio. kr., og samtidig skød Novo Seeds yderligere 10 mio. kr. i virksomheden.

Dette program startede officielt den 1. juli 2015. Der er midler til 2½ år, og målet er at gøre stoffet AVLX-144 klar til kliniske studier.

■ Forskning er som elitesport

Kristian Strømgaard har stadig dansk juniorrekord i 400 m hæk, og han vandt også flere mesterskaber i sin sportskarriere. Ifølge ham bygger eliteidræt og -forskning på de samme principper. Skal man lave resultater, kræver det hårdt arbejde, stædighed og at man i modgang har evnen til at grave sig ned og kæmpe igennem.

Avilex Pharma ville ikke have eksisteret i dag, hvis det ikke havde været for disse egenskaber.

Vejen derhen

Midlerne udbetales i to omgange. 1. del udbetales med det samme, og 2. del udbetales, når der er nået en række milestones. Målene er ifølge Kristian Strømgaard realistiske, men udfordrende. I 1. del af projektet skal følgende mål nås:

1. At producere stoffet i store mængder. Der skal bruges ca. 300 g stof til de prækliniske studier.
 2. Gennemførsel af en række prækliniske studier. Det er igangværende. Foreløbigt er der opnået lovende resultater.
 3. Eftervisning af stoffets effekt i levende dyr i forskellige modeller. Det er igangværende.
- Når disse tre mål er nået, udløses 2. del af midlerne. Målene er derefter:
1. At fremstille GMP-godkendt stof til fase I-studier.
 2. At færdiggøre alle de prækliniske studier. Deriblandt 14 dages tox.
 3. In vivo-test i en kanin-model for slagtilfælde.

- Ideelt set forestiller vi os, at man har stoffet i en ambulance eller på hospitalet, og at man ved mistanke om slagtilfælde – administrerer det. Det vil kunne gives, uden at der skal scannes osv.

- Det har hjulpet os, at NA-1 kører foran os. Stoffet er 1000-fold mindre potent end vores stof, og det er netop nu i Fase II. Det vil være noget af en revolution inden for behandling af slagtilfælde, hvis det kommer på markedet, siger han.

Avilex Pharma har netop fået ny direktør, hvis primære mål er at rejse penge til videre kliniske forsøg. En af hans fornemste opgave bliver at skaffe 50-100 mio. kr. til Fase II-studier.