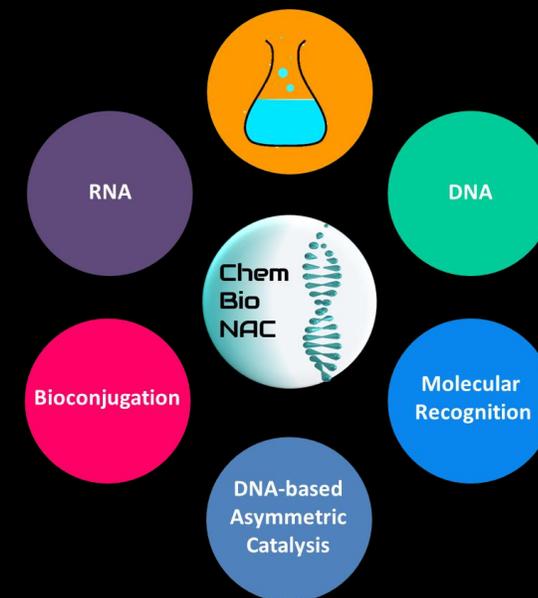


Conception d'oligonucléotides thérapeutiques chimiquement modifiés



Prof. Michael SMIETANA

Institut des Biomolécules Max Mousseron

michael.smietana@umontpellier.fr

@ChemBioNAC @Smietana_M

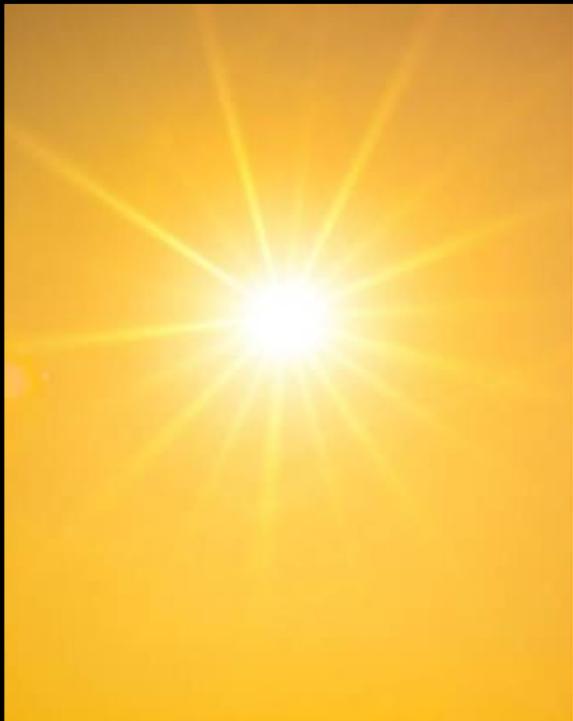


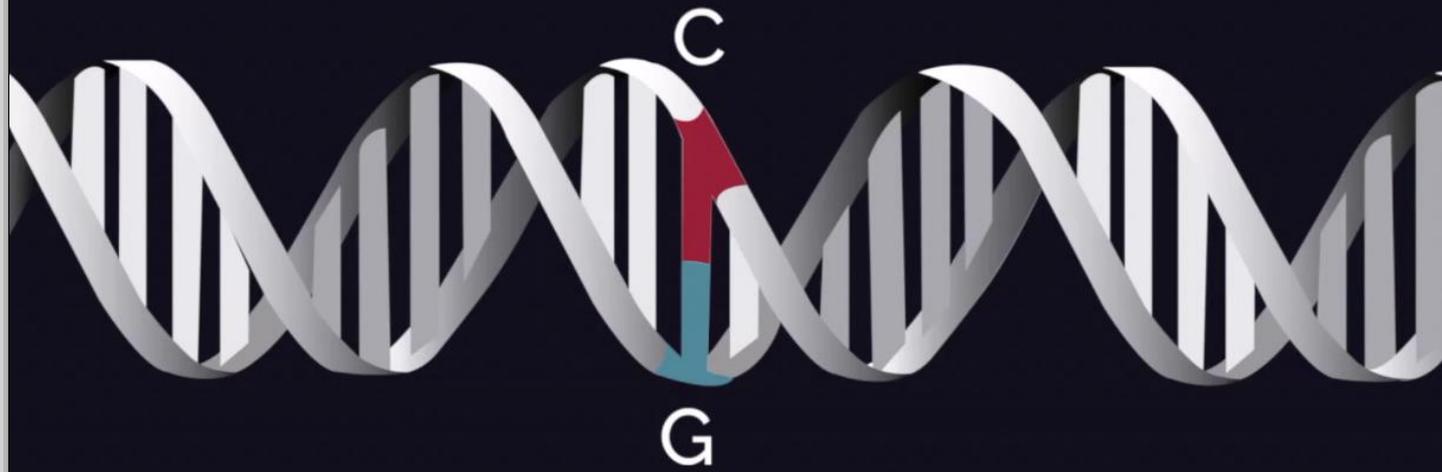
**UNIVERSITÉ DE
MONTPELLIER**



IBMM
Institut des
Biomolécules
Max Mousseron







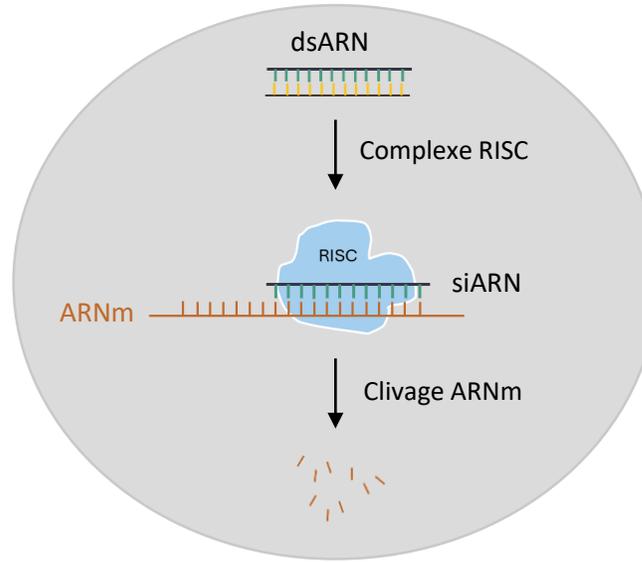
Oligonucléotides thérapeutiques

Antisens



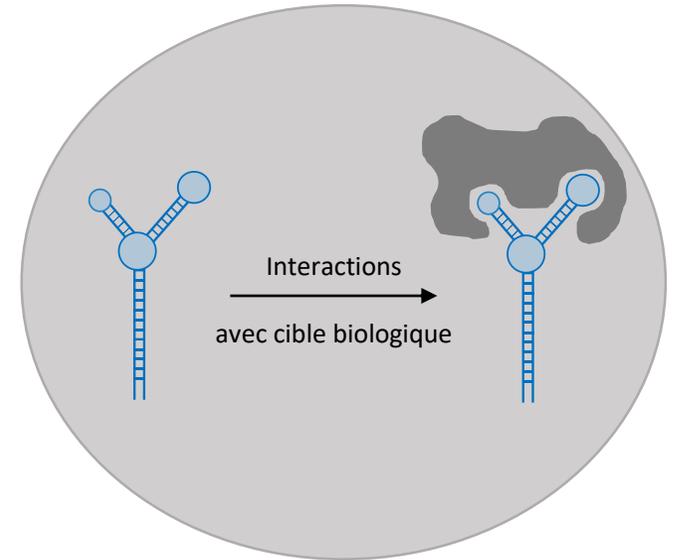
Simple brin ADN
15-20 nucléotides
(+ blocage stérique pour la modulation de l'expression génétique)

ARN interférents



Double brin ARN
21 nucléotides

Aptamères



Simple brin ADN ou ARN
20-100 nucléotides

Médicaments à base d'oligonucléotides et vaccins ARNm approuvés



ASO 1998
CMV Retinitis



Aptamer 2004
Age-Related Macular Degeneration (AMD)



ASO 2013
Familial Hypercholesterolemia



SSO 2016 **SSO 2019**
Duchenne Muscular Dystrophy



SSO 2016
Spinal Muscular Atrophy



Vaccine Adjuvant 2017
HBV



siRNA 2018
TTR Polyneuropathy



ASO 2018
TTR Polyneuropathy

waylivra[®]
(volanesorsen) injection
285 mg/1.5 mL

ASO 2019 EU
Familial Chylomicronemia Syndrome



siRNA 2019
AHP Porphyria



siRNA 2020
Primary Hyperoxaluria type 1



SSO 2020
Duchenne Muscular Dystrophy



SSO 2021



siRNA 2021
LDL-C reduction "siRNA statin"

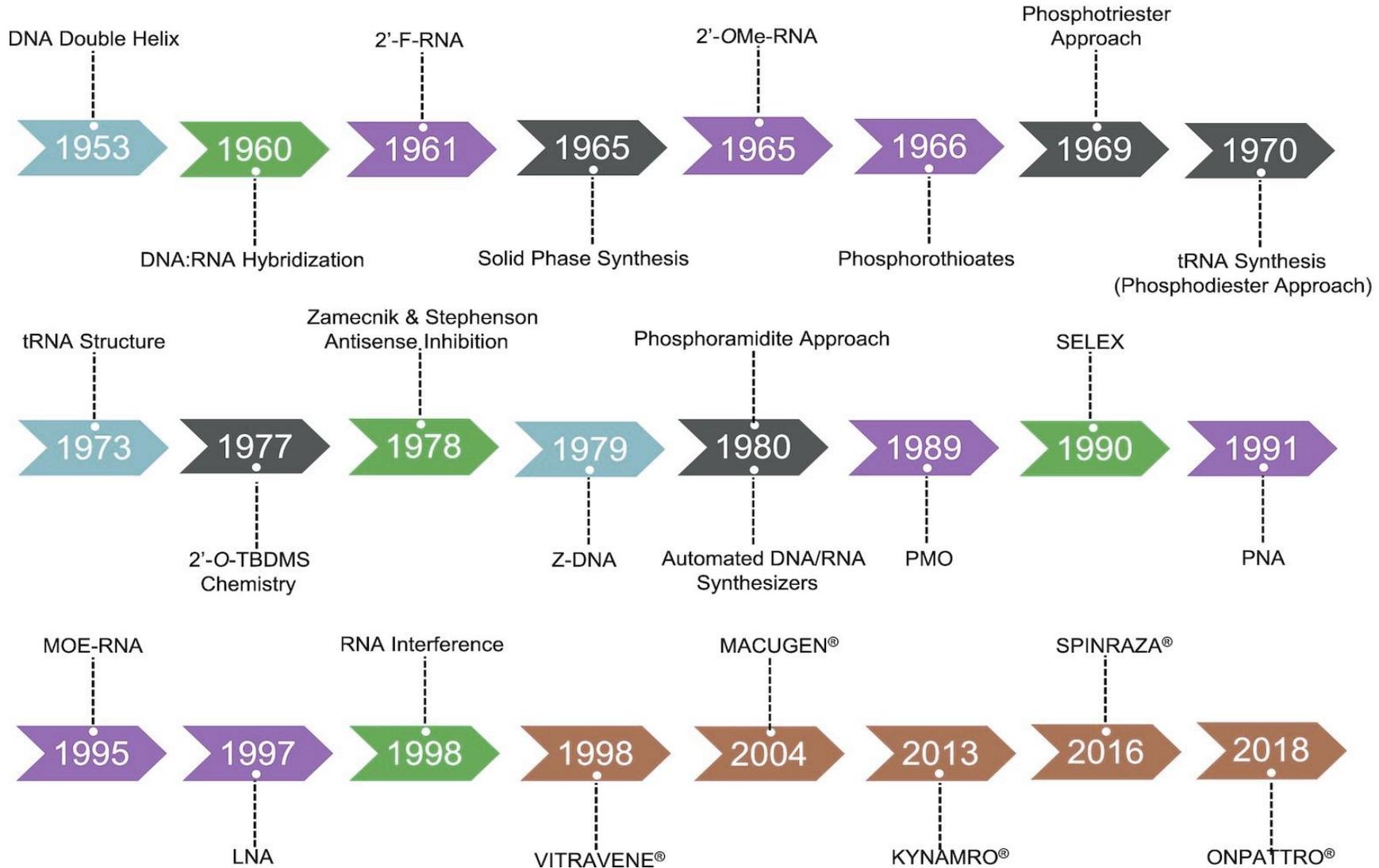


siRNA 2022
TTR Polyneuropathy



mRNAs 2021/2022
Covid-19 Vaccines

Chronologie du développement des oligonucléotides thérapeutiques

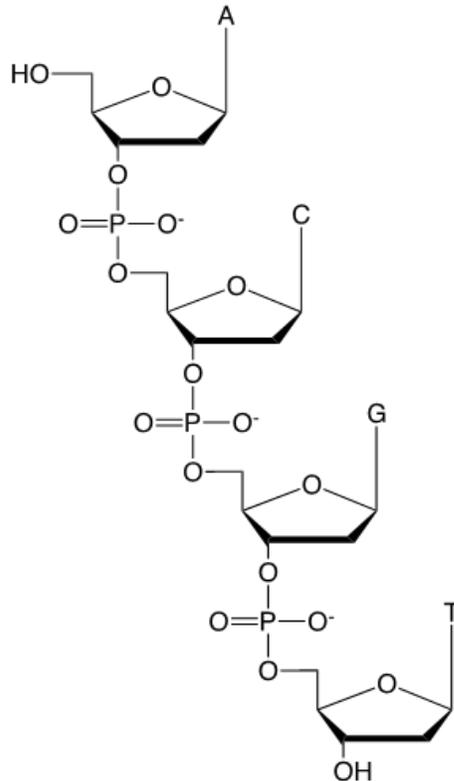


Avantages et Limitations des Oligonucléotides thérapeutiques



- ✓ Suppression/modulation de l'expression génétique
- ✓ Spécificité
- ✓ Inhibition prolongée
- ✓ Moins immunogène que les protéines

Avantages et Limitations des Oligonucléotides thérapeutiques

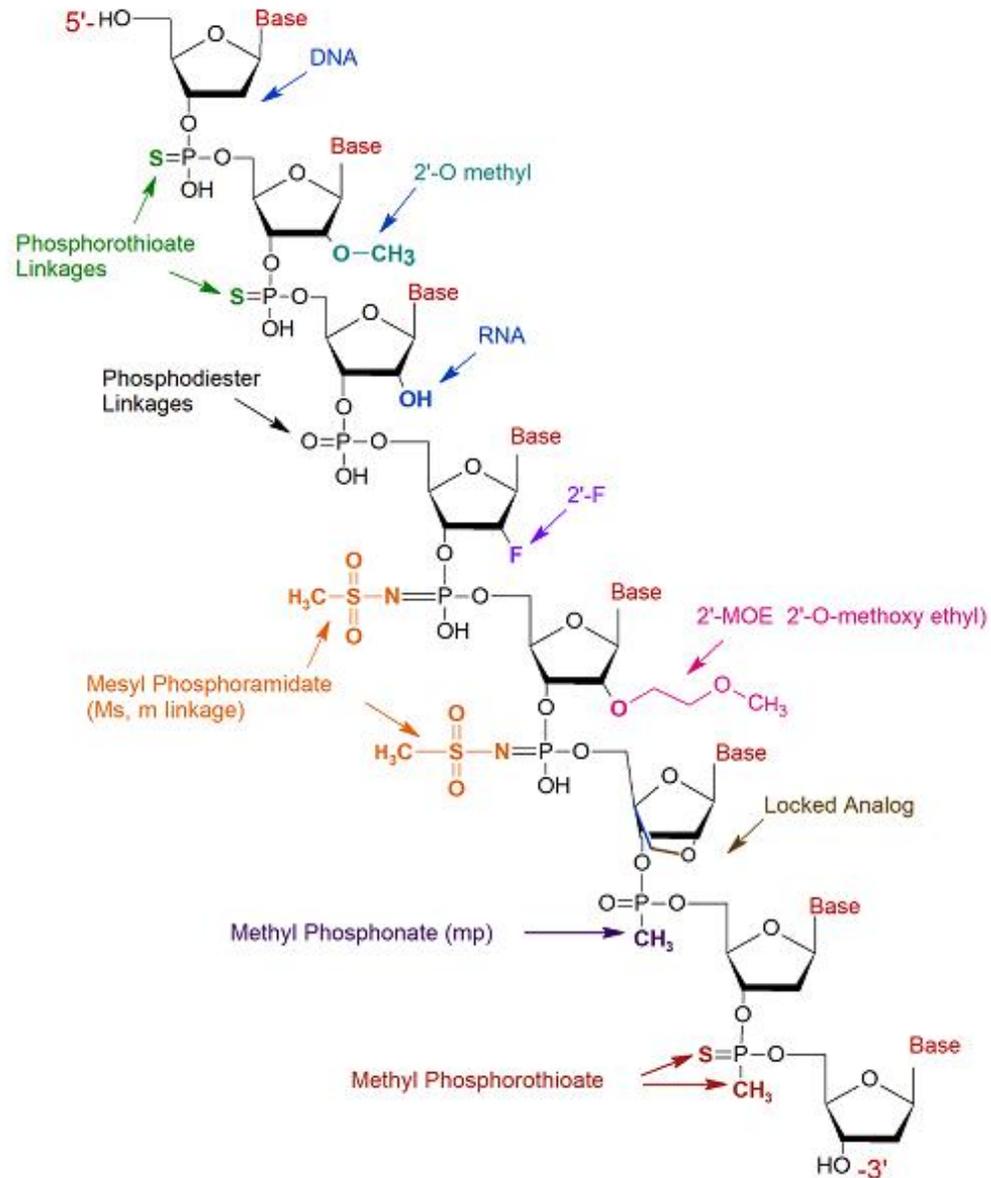
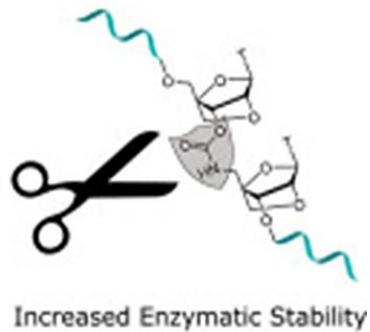
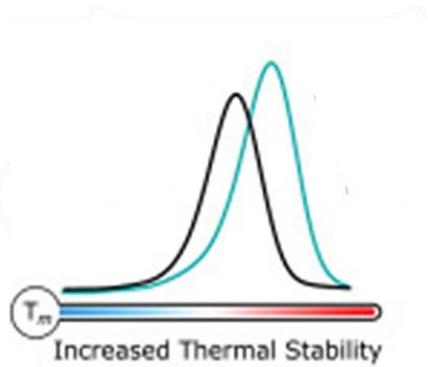


- × **Faible stabilité enzymatique**
- × **Affinité pour l'ARN complémentaire insuffisante**
- × **Faible absorption cellulaire**
- × **Vectorisation difficile**

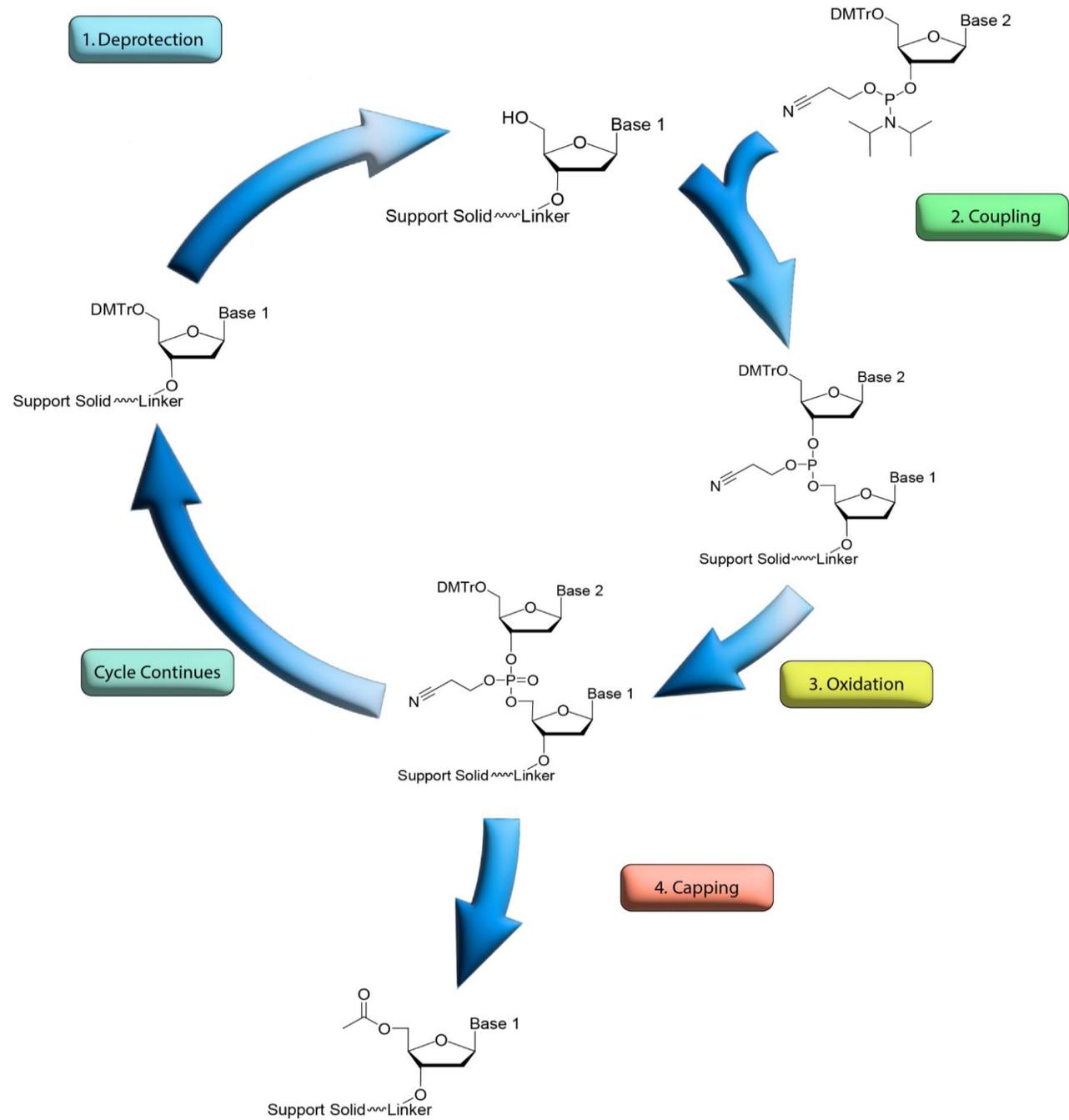
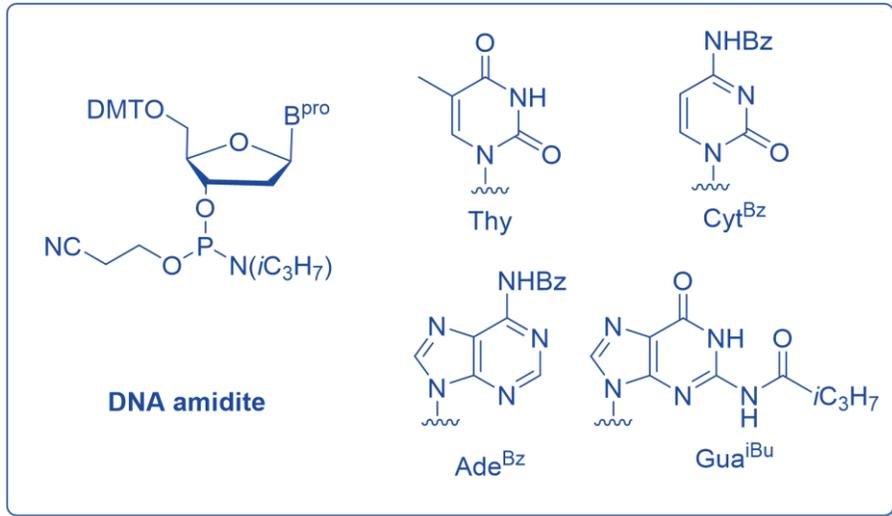


Pour surmonter ces problèmes, les ON thérapeutiques doivent être modifiés chimiquement

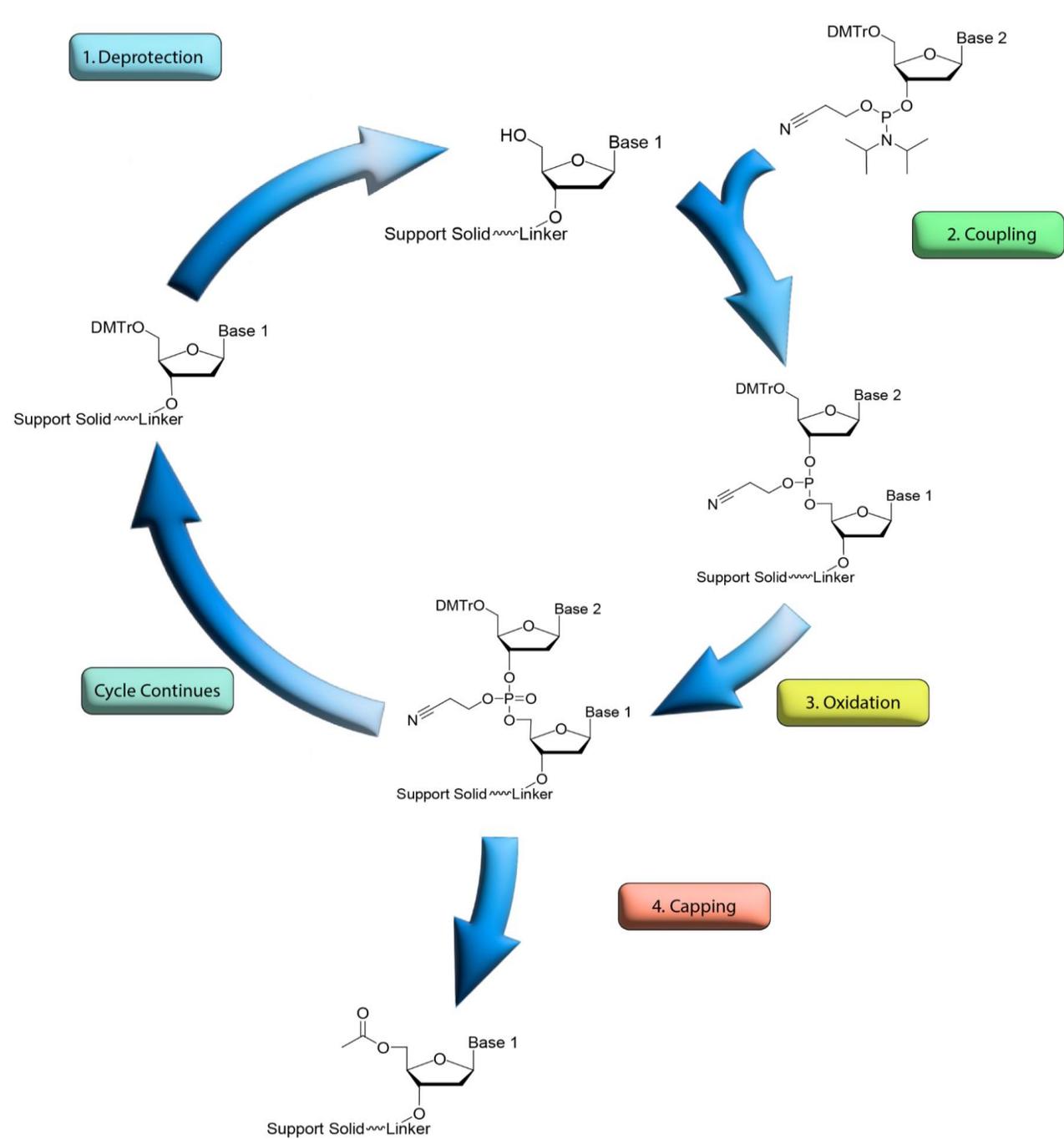
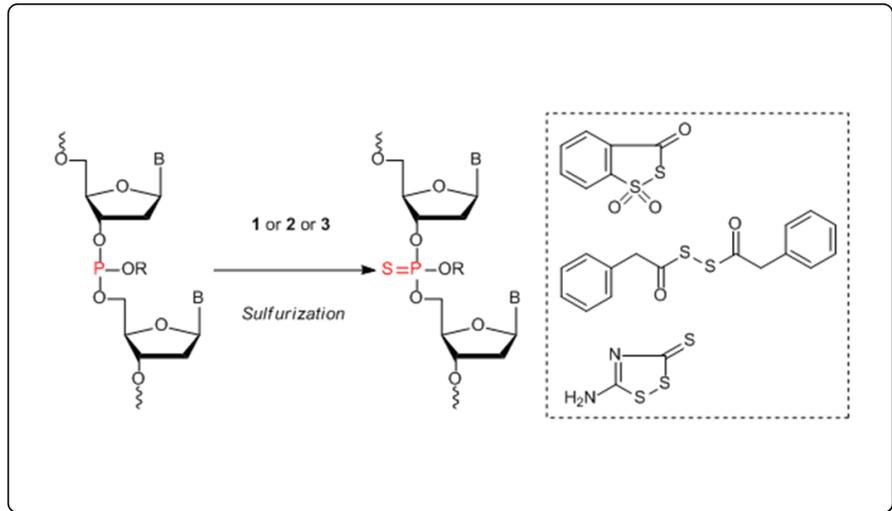
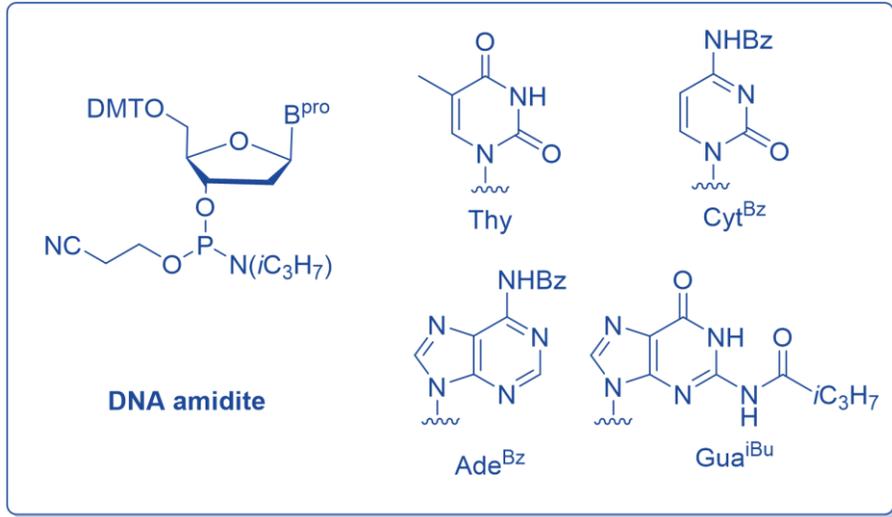
Modification des oligonucléotides thérapeutiques



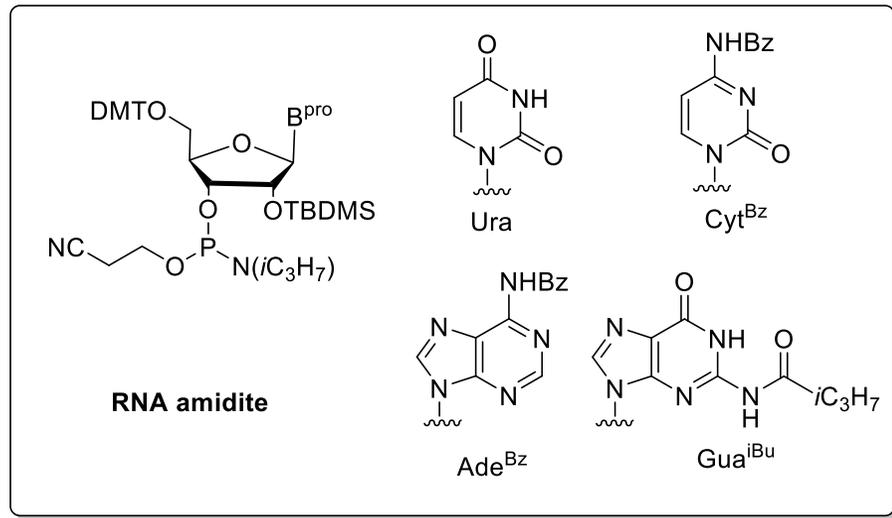
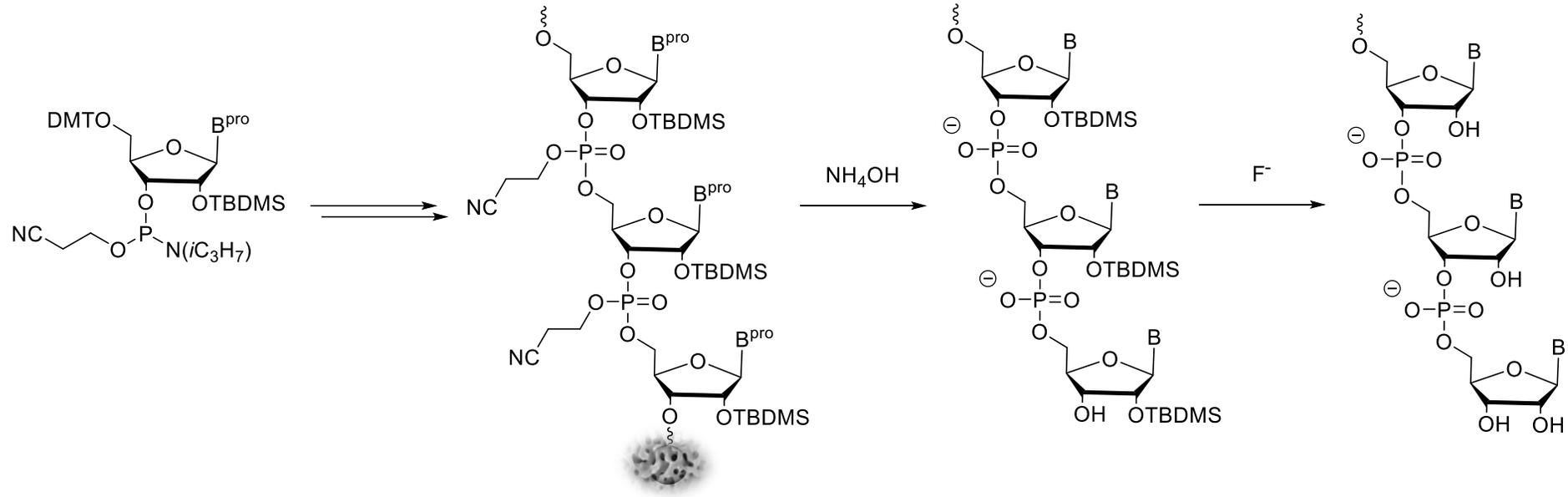
Synthèse automatisée



Synthèse automatisée

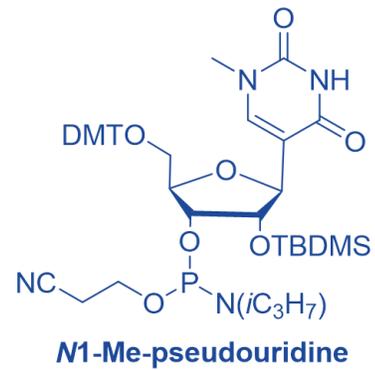
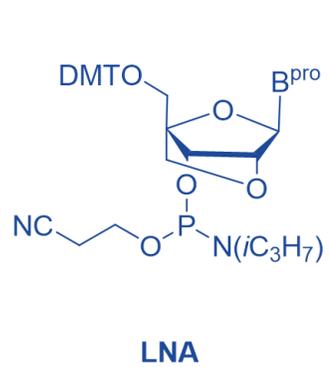
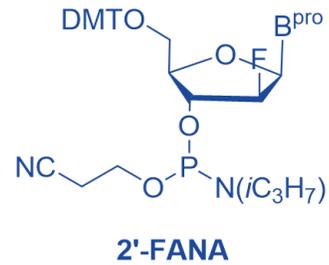
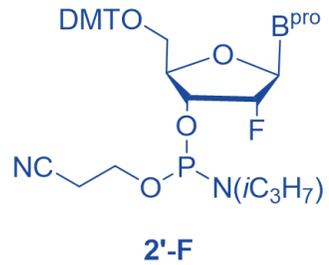
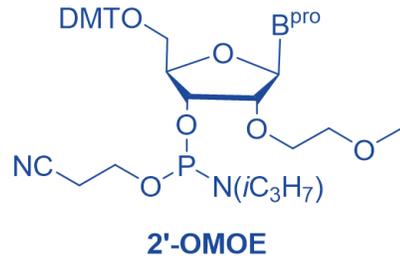
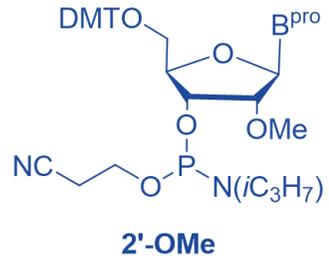


Synthèse d'ARN

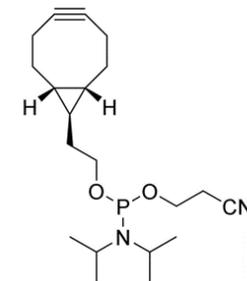
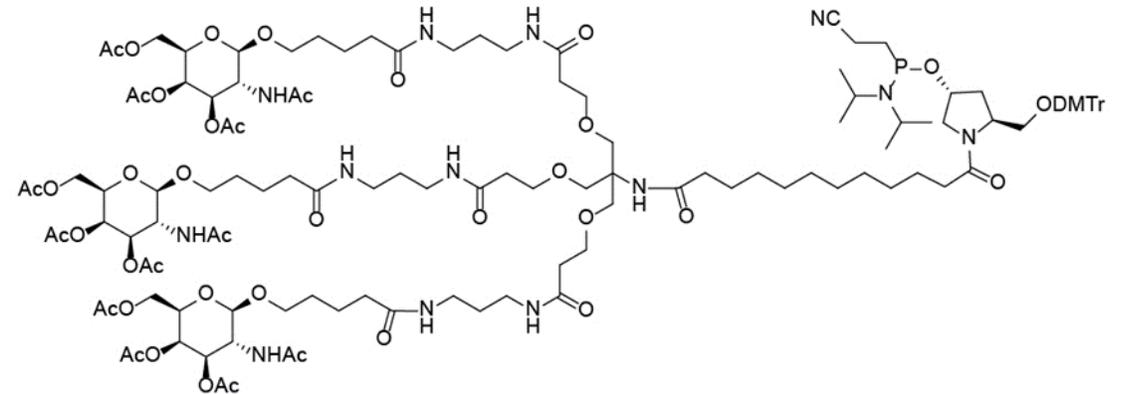
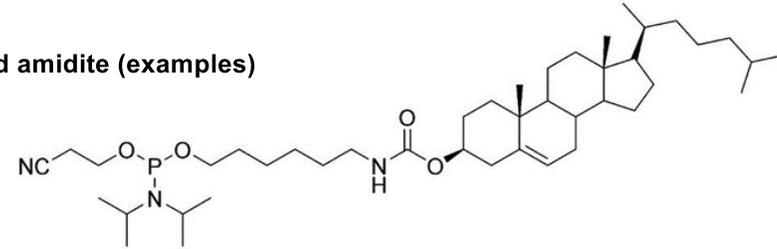


Modifications commerciales

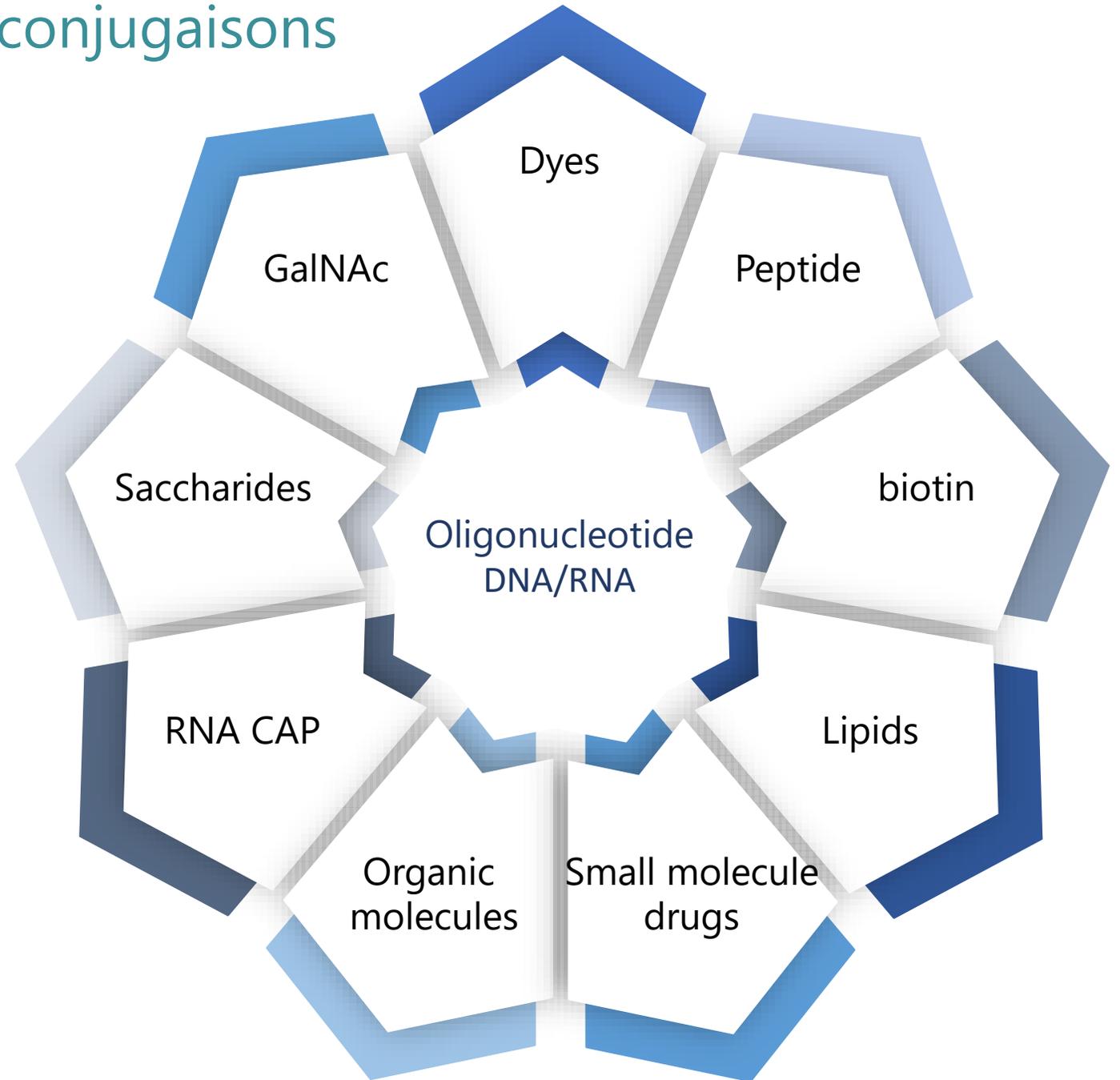
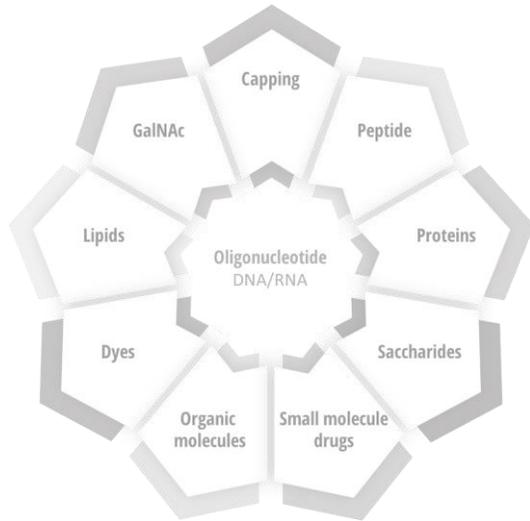
Modified amidite (examples)



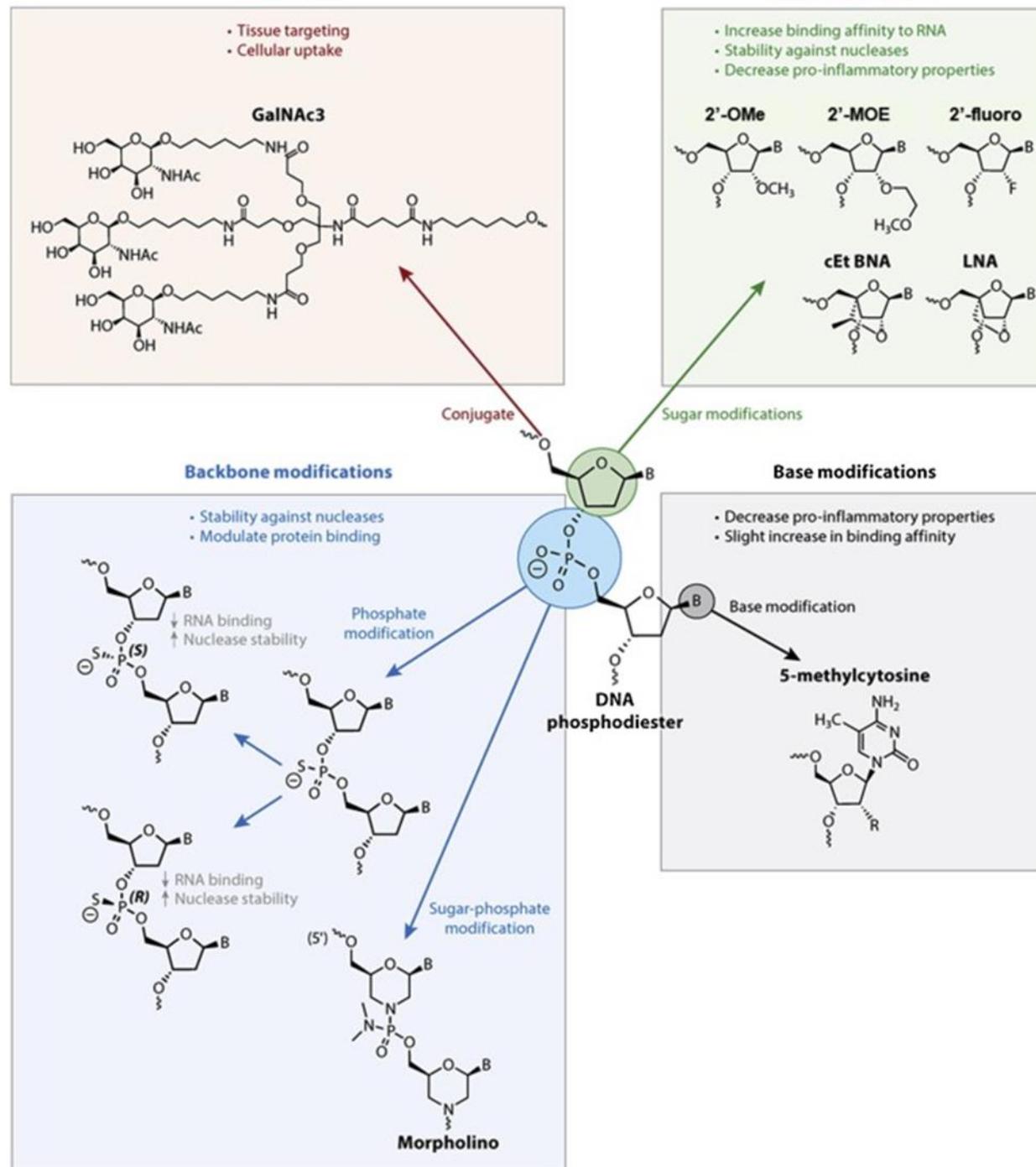
Modified amidite (examples)



Bioconjugaisons – Oligo-conjugaisons



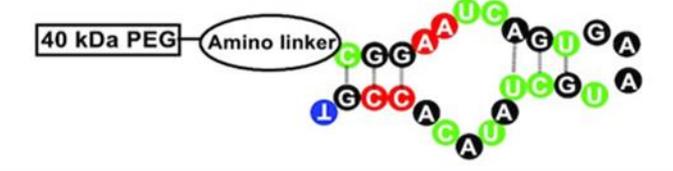
Modifications



Exemples d'oligonucléotides thérapeutiques

Drug name, year of approval, indication	Molecular target, tissue	Details of chemical mechanism	Chemistry, sequence [#]	Dose, route, delivery mechanism
VITRAVENE [®] (fomivirsen), 1998, CMV retinitis	CMV IE-2, eye	21-mer ASO, PS DNA, RNase H1 and TLR9	5'-  -3'	300 µg every 4 weeks, IVT
KYNAMRO [®] (mipomersen), 2013, homozygous familial hypercholesterolemia (HoFH)	ApoB-100, liver	20-mer gapmer ASO, PS, 2'-O-MOE/2'-H, activates RNase H1	5'-  -3' C: 5-Methyl-C	200 mg once weekly, SC

- 2'-deoxyribo
- 2'-F
- 2'-OMe
- Ribo
- ⏚ 3'-3'-dT
- 2'-MOE
- PMO
- | PS modification

ONPATTRO [®] (patisiran), 2018, hereditary ATTR (hATTR)	TTR, liver	21-mer/21-mer siRNA, 2'-OH/2'-OMe/2'-H, RISC Ago2	<p style="text-align: center;">Passenger</p> <p style="text-align: center;">5'--3'</p> <p style="text-align: center;">Guide</p> <p style="text-align: center;">3'--5'</p>	0.3 mg/kg once every 3 weeks, IV, LNP (DLin-MC3-DMA, PEG-DMG lipid, chole- sterol, DSPC)
AMVUTTRA [®] (vuttrisiran), 2022, hereditary ATTR (hATTR)	TTR, liver	21-mer/23-mer siRNA, ESC, PS, 2'-OMe/2'-F RISC Ago2	<p style="text-align: center;">Passenger</p> <p style="text-align: center;">5'--3'</p> <p style="text-align: center;">Guide</p> <p style="text-align: center;">3'--5'</p>	25 mg total dose, once every three months, SC GalNAc conjugate
MACUGEN [®] (pegaptanib), 2004, neovascular AMD	VEGF165, eye	27-mer anti-VEGF aptamer, 2'-OH/2'-F/2'-OMe/2'-H inverted DNA, 5'-PEG, aptamer binds to VEGF165		0.3 mg every 6 weeks, IVT

Appareillage



1 μmol - 0,3-0,5 mg

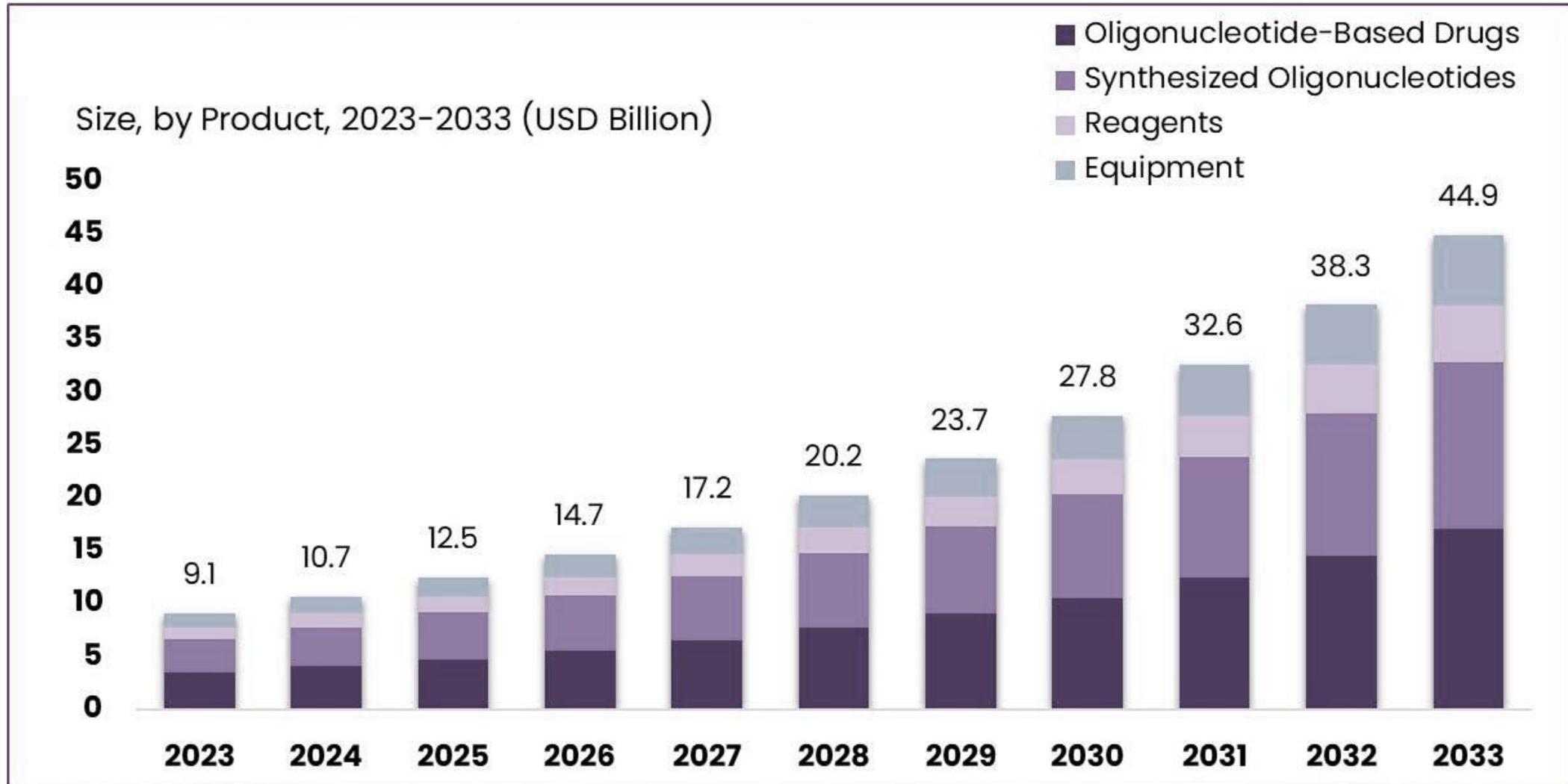


200 μmol - 60-100 mg



WuXi STA 2024 6.0 mol - 1,8 -3 kg

Marché mondial de la synthèse des oligonucléotides



The Market will Grow
At the CAGR of:

17.3%

The Forecasted Market
Size for 2033 in USD:

\$44.9 B

 **market.us**
ONE STOP SHOP FOR THE REPORTS

Thérapies personnalisées

Milasen: The Drug Designed for Only One Person

13 OCTOBRE 2019

Un traitement ultra-personnalisé pour une fillette souffrant d'une maladie génétique rare



© Pixabay

C'est l'histoire d'une petite fille de 6 ans souffrant d'une maladie neurodégénérative d'origine génétique qui a bénéficié d'un traitement conçu et réalisé uniquement pour elle. Son cas a été rapporté le 9 octobre 2019 par des généticiens américains de l'hôpital pour enfants de Boston dans l'hebdomadaire médical *The New England Journal of Medicine*.

C'est à l'âge de 3 ans que les parents de [Mila](#), Julia Vitarello et Alek Makovec, vivant à Longmont (Colorado), ont commencé à remarquer les premiers signes de maladie. En effet, son pied droit était tourné vers l'intérieur. Autre élément perturbant, quand elle a eu 4 ans, sa famille a noté qu'elle collait ses livres trop près de son visage en lisant, témoignant d'une baisse de l'acuité visuelle. Par ailleurs, à l'âge de 5 ans, ses parents l'amènent en consultation pour un retard de langage et un repli sur elle-même. La fillette est également maladroite et trébuche souvent (ataxie). Durant les mois précédant ses 6 ans, son

Le Monde 19 oct. 2019

BRIEF REPORT

Patient-Customized Oligonucleotide Therapy for a Rare Genetic Disease

J. Kim, C. Hu, C. Moufawad El Achkar, L.E. Black, J. Douville, A. Larson, M.K. Pendergast, S.F. Goldkind, E.A. Lee, A. Kuniholm, A. Soucy, J. Vaze, N.R. Belur, K. Fredriksen, I. Stojkowska, A. Tsytsykova, M. Armant, R.L. DiDonato, J. Choi, L. Cornelissen, L.M. Pereira, E.F. Augustine, C.A. Genetti, K. Dies, B. Barton, L. Williams, B.D. Goodlett, B.L. Riley, A. Pasternak, E.R. Berry, K.A. Pflock, S. Chu, C. Reed, K. Tyndall, P.B. Agrawal, A.H. Beggs, P.E. Grant, D.K. Urion, R.O. Snyder, S.E. Waisbren, A. Poduri, P.J. Park, A. Patterson, A. Biffi, J.R. Mazzulli, O. Bodamer, C.B. Berde, and T.W. Yu

- 2'-deoxyribo
- 2'-F
- 2'-OMe
- Ribo
- ⬇ 3'-3'-dT
- 2'-MOE
- PMO
- | PS modification

C : 5-methyl-C



Thérapies personnalisées



Milasen

Maladie de Batten

22mer 2'-MOE-PS



ATIpeksen

Ataxie-télangiectasie

22mer 2'-MOE-PS



JaciFUSen

Sclérose latérale amyotrophique

20mer 2'-MOE-PS



- 2'-deoxyribo
 - 2'-F
 - 2'-OMe
 - Ribo
 - Ⓛ 3'-3'-dT
 - 2'-MOE
 - PMO
 - | PS modification
- C : 5-methyl-C



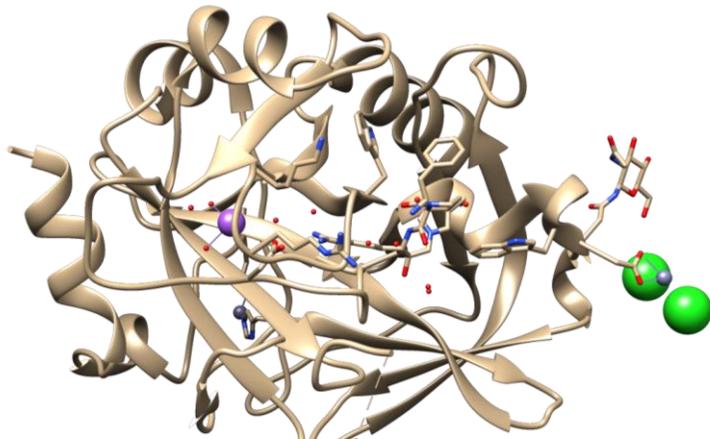
ChemBioNAC



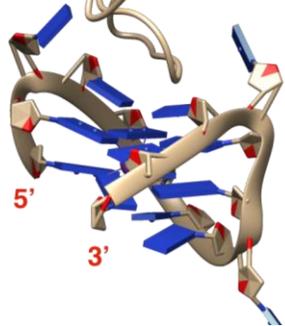
DNA/RNA Synthesis

- *Synthesis of natural or modified DNA and RNA*
- *Synthesis of DNA and RNA Bioconjugates*
- *Synthesis of Capped RNA*
- *Synthesis of RNA Prodrugs*
- *RNA microarrays*
- *DNA-templated ligations*
- *Split-aptamers*
- *Bioinspired phosphodiester foldamers*

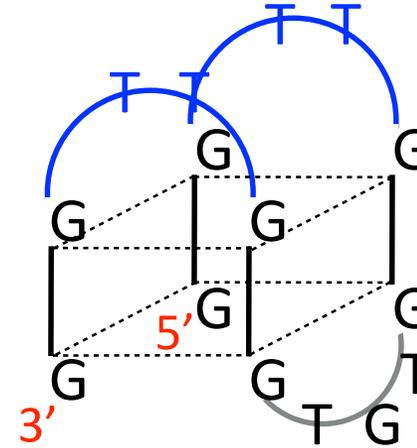
Modification de l'aptamère à Thrombine



Thrombine

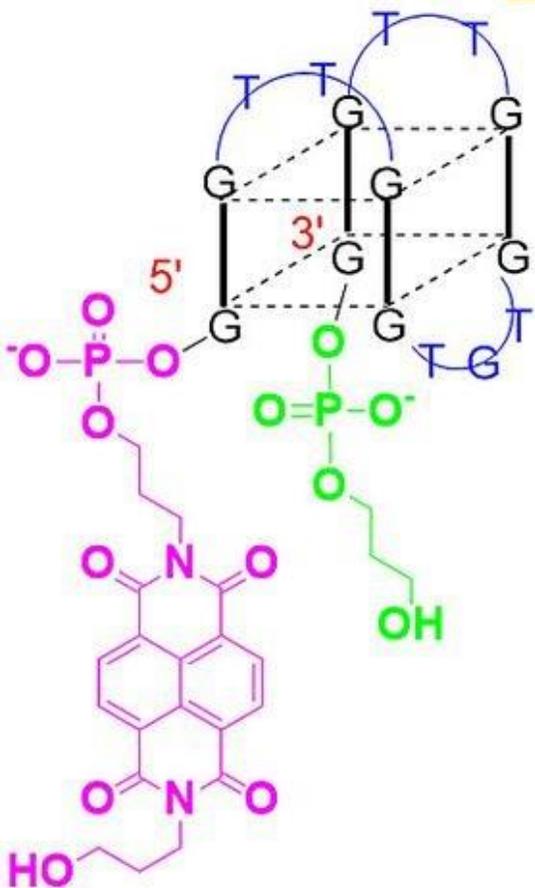


TBA = Thrombin binding aptamer
Activité anticoagulante

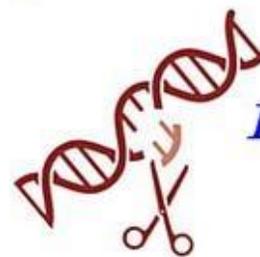


Modification de l'aptamère à Thrombin

N-TBA-p: *best candidate selected from a small library of TBA analogues*



Increased G4 thermal stability
($\Delta T_m = +14\text{ }^\circ\text{C}$)



10-fold higher nuclease resistance



Fibrinogen



Fibrin

11-fold higher anticoagulant activity

vs. unmodified TBA

