

Compte-rendu de la réunion du Comité Scientifique Spécialisé Temporaire (CSST) « Inhibiteurs de la FAAH (*Fatty Acid Amide Hydrolase*) » du 15 février 2016.

Version du 7 mars 2016

Composition du CSST :

Bernard Bégaud, Marie Germaine Bousser, Pascal Cohen, Bertrand Diquet, Pierre Duprat, Walter Janssens, Michel Mallaret, Guy Mazué, Joëlle Micaléff, Claude Monneret, Jean Louis Montastruc, Laurent Venance.

Avant propos

Ce CSST a été mis en place par l'Agence Nationale de Sécurité Sanitaire du Médicament et des produits de santé (ANSM), à la suite de l'accident survenu lors de l'essai clinique de Phase 1, première administration à l'homme, de la molécule BIA 10-2474 à Rennes en janvier 2016. Les missions du Groupe, scientifiques, étaient, sur la base des données disponibles et de l'expertise de ses membres :

- de mieux comprendre les mécanismes d'action et d'une éventuelle toxicité des substances qui, comme le BIA 10-2474, agissent directement ou indirectement sur le système endocannabinoïde et, sur cette base,
- de formuler et hiérarchiser des hypothèses permettant d'expliquer l'accident survenu à Rennes,
- de formuler, le cas échéant, des recommandations générales visant à renforcer la sécurité lors des études de première administration à l'homme (Phase 1).

Les membres du CSST, après avoir étudié les données de la littérature et l'ensemble des documents mis à leur disposition (dossier préclinique du BIA 10 2474, données concernant l'essai mené au centre Biotrial) se sont réunis en séance plénière d'une journée, le lundi 15 février 2016.

Rappel sur le système endocannabinoïde

Le BIA 10-2474 des laboratoires Bial (Portugal) est présenté comme un inhibiteur « réversible » de la FAAH, enzyme (hydrolase) dégradant l'anandamide, l'un des principaux médiateurs du système dit endocannabinoïde. Ce système, à la dénomination ambiguë (il est de fait beaucoup plus large et complexe que les cibles d'action des dérivés du cannabis) existe chez un grand nombre d'espèces (vertébrées et invertébrées, à l'exception des insectes) et en particulier chez les mammifères. Il est de connaissance récente (le premier récepteur a été identifié par clonage en 1990) et encore incomplète sur plusieurs aspects.

On distingue **deux types de récepteurs** (CB1 et CB2), transmembranaires et couplés aux protéines G (inhibant l'adénylcyclase).

- CB1 est un récepteur présynaptique très ubiquitaire retrouvé à la surface de plusieurs types de cellules (neurones, astrocytes, péricytes, cellules endothéliales) et dans un grand nombre de localisations cérébrales (ganglions de la base, cervelet, hippocampe, bulbe, cortex, etc.). Le CB1 est l'un des récepteurs couplés aux protéines G dont le taux d'expression est le plus élevé dans le système nerveux central à l'exception notable du tronc cérébral.

On retrouve également le CB1 en périphérie (poumons, intestin, testicules, utérus, etc.). L'agoniste exogène type de ce récepteur est le tétrahydrocannabinol (THC).

- CB2 est principalement retrouvé au niveau des cellules du système immunitaire (effets immunomodulateurs).

A ce jour, huit endocannabinoïdes ont été identifiés. Ce sont des lipides bioactifs agissant à la fois comme neuromédiateurs et neuromodulateurs, synthétisés « à la demande » contrairement aux neuromédiateurs classiques qui sont libérés à partir de vésicules de stockage. Les trois principaux sont :

- l'anandamide (AEA), isolé en 1992; sa concentration dans le cerveau est du même ordre que celle de la dopamine ou de l'acétylcholine,
- le 2-arachidonylglycérol (2-AG), ester de l'acide arachidonique,
- le 2-AG éther (éther de l'acide arachidonique).

Comme le THC, l'anandamide a une affinité préférentielle pour le récepteur CB1 et très faible pour le CB2. A l'inverse, le 2-AG a une forte affinité pour les deux types de récepteurs, il peut donc être vu comme le « vrai » médiateur du système endocannabinoïde alors que l'AEA, qui n'a pratiquement pas d'action sur le CB2 est capable d'interagir avec plusieurs autres systèmes. L'anandamide est donc **peu spécifique du système endocannabinoïde**. En effet :

- il est capable d'activer les récepteurs de type TRPV1 (*transient receptor potential vanilloid 1*) qui sont des canaux cationiques non sélectifs de la famille des canaux TRP,
- il est un bon agoniste des PPAR (*peroxisome proliferator-activated receptor*) alpha et gamma, récepteurs nucléaires impliqués dans le métabolisme énergétique et l'inflammation,
- il interagit au niveau des récepteurs du glutamate de type NMDA (N-méthyl D aspartate), à la fois comme stimulateur par action directe et comme inhibiteur par une action indirecte *via* le CB1,
- enfin, comme d'autres endocannabinoïdes, il peut, par la voie de la MAP-kinase et une réaction en chaîne aboutir à l'activation de multiples facteurs de transcription impliqués dans les phénomènes d'apoptose et de neuroprotection ce qui constitue une voie de recherche très prometteuse.

Les effets de la stimulation du système endocannabinoïde s'apparentent à ceux induits par les dérivés du cannabis. Des concentrations faibles à moyennes induisent des réponses comportementales mélangeant effets stimulateurs et déprimeurs alors qu'à doses élevées, les effets sont toujours de type déprimeurs. Schématiquement, on observe alors chez l'animal :

- une antinociception,
- une hypothermie,
- une hypolocomotion,
- une catalepsie.

La mémoire de travail est altérée sans effet sur la mémoire de référence. L'effet sur l'anxiété est biphasique : anxiolyse aux faibles doses et anxiogénèse aux doses élevées.

Après avoir été libéré par le compartiment post-synaptique, l'AEA est normalement dégradé par la FAAH (hydrolase membranaire) qui dégrade aussi en partie les 2-AG mais également un assez grand nombre d'autres lipides bioactifs.

Contrairement à l'animal, il existe deux isoformes de FAAH dans l'espèce humaine ; la prévalence de la forme à faible activité serait de l'ordre de 38% dans la population générale.

En cas d'inhibition de l'activité de la FAAH, les concentrations de AEA augmentent mais une voie de dégradation annexe prend le relais : celle des cyclo-oxygénases. Ceci aboutit à la formation d'eicosanoïdes : leucotriènes et prostanoïdes (prostaglandines, thromboxanes, prostacyclines) pouvant agir sur les phénomènes d'apoptose et de vasomotricité ; l'effet vasoconstricteur au niveau cérébral du 20-HETE (acide 20-hydroxyeicosatétraénoïque) est, par exemple, connu.

Points mis en avant par le Groupe :

- parmi les « endocannabinoïdes », l'anandamide est celui qui semble devoir retenir l'attention dans la perspective des investigations menées par le CSST,
- ce biolipide agit sur plusieurs autres systèmes dont certains pourraient être pertinents par rapport à la question posée : récepteurs du système vanilloïde (TRPV1), PPAR alpha et gamma, récepteurs du glutamate de type NMDA,
- l'anandamide est normalement dégradé par une hydrolase (FAAH) dont l'activité est inhibée par le BIA 10-2474. Il existe cependant dans le cerveau un grand nombre d'autres hydrolases (environ 200), de structures plus ou moins proches et dont les rôles sont loin d'être entièrement connus. Il n'est pas exclu que le BIA 10-2474 puisse se fixer sur certaines d'entre elles et inhiber leur action,
- l'inhibition de la FAAH entraîne une augmentation des concentrations d'anandamide qui est alors catabolisé par une voie annexe (cyclo-oxygénases) ; ceci donne naissance à divers composés dont certains pourraient avoir une action délétère, notamment au niveau de la circulation cérébrale,
- la stimulation, même massive, du système endocannabinoïde proprement dit n'est pas connue comme pouvant, en elle même, entraîner des effets toxiques d'une grande gravité. Ceci suggère fortement un effet hors-cible (*off-target*) pour expliquer l'accident survenu à Rennes.

La molécule BIA 10-2474

Les Laboratoires Bial semblent avoir eu le projet de développer le BIA 10-2474 principalement comme analgésique.

L'examen de cette molécule n'évoque *a priori* rien de particulier. Son originalité est relative car elle semble être une « variation » autour de diverses molécules antérieurement développées comme inhibiteurs de la FAAH comme le PF-3845 de Pfizer et le JNJ-42165279 de Janssen. Il s'agit de composés hétérocycliques incluant des noyaux pyridine, pipérazine, pyridazine ... et surtout une fonction urée qui est le siège d'une attaque nucléophile de l'oxygène de la sérine 241 de l'enzyme. Point intéressant à noter : le développement clinique de plusieurs de ces composés a été abandonné au terme de la Phase 2 du fait d'une efficacité (analgésique notamment) insuffisante sans qu'une toxicité particulière ait été notée chez l'homme ou chez l'animal.

D'un point de vue structural, le BIA 10-2474 semble bien être un **inhibiteur irréversible** de la FAAH (et non réversible ainsi que présenté par le laboratoire). Sur ce plan, il se rapproche des inhibiteurs irréversibles déjà cités. Le caractère irréversible de l'inhibition entraînée par ce dernier a été clairement démontré par la nature covalente

de la liaison avec l'enzyme. De plus, les inhibiteurs *réversibles* de la FAAH appartiennent généralement à d'autres classes de composés chimiques.

Une différence importante avec les inhibiteurs déjà connus, en particulier les composés développés par Pfizer, concerne la spécificité pour la FAAH. Elle est, par exemple, extrêmement élevée pour l'une des molécules Pfizer avec un ratio de l'ordre de 14 000 entre les concentrations inhibitrices (CI₅₀) vis-à-vis de la FAAH (7,2 nanomolaires) et celles inhibant un panel d'une vingtaine d'autres hydrolases (100 micromolaires). De même, Janssen & Janssen ont testé la sélectivité de leur JNJ-42165279 (pour lequel aucune toxicité n'a été observée en Phase 1) vis-à-vis de 50 enzymes.

Les dossiers fournis à ce jour sont muets sur la spécificité du BIA 10-2474 pour la FAAH par rapport à d'autres hydrolases. Ce point doit absolument être documenté pour statuer sur la plausibilité d'un effet hors-cible. D'autant que la CI₅₀ du BIA 10-2474 mesurée chez le rat (1,1 à 1,7 micromolaire, soit environ 200 fois plus que la molécule Pfizer) est celle d'un **inhibiteur assez peu spécifique de la FAAH**.

Une autre lacune concerne la toxicité éventuelle des métabolites identifiés du BIA 10-2474. En effet, le cycle imidazole est un « groupement partant » pouvant donner naissance à un isocyanate sur lequel beaucoup de protéines cérébrales seraient susceptibles de se fixer. Cet éventuel métabolisme « intracérébral » est sans doute une piste plus intéressante que le métabolisme de la molécule en périphérie. Ce dernier paraît faible bien que dans le dossier remis par Bial, on retrouve curieusement une mention à un métabolisme important (« *extensive metabolism* »). Lors des essais en administration unique chez l'homme (voir plus loin), 4 métabolites ont été identifiés au niveau plasmatique, 2 indétectables et 2 mesurés mais avec des concentrations très inférieures à celles de la molécule mère. Ces faibles quantités (<3%) qui ne rendent pas, réglementairement, obligatoire leur caractérisation, ne plaident cependant *a priori* pas en faveur d'une toxicité passant par cette voie à moins d'admettre que l'un de ces métabolites, extrêmement réactif, se révélerait toxique à de très faibles niveaux de concentration.

Points mis en avant par le Groupe :

- le BIA 10-2474 est, au plan structural, proche d'autres inhibiteurs de la FAAH déjà existants ; le développement de plusieurs d'entre eux a été interrompu en Phase 2 du fait d'une efficacité insuffisante sans avoir montré de toxicité particulière chez l'homme,
- cette parenté structurale et l'analyse de sa formule chimique amèneraient plutôt à considérer le BIA 10 2474 comme un inhibiteur irréversible et non réversible de la FAAH,
- le BIA 10-2474 apparaît bien moins spécifique de la FAAH que ses prédécesseurs ce qui fait envisager une fixation sur d'autres enzymes cérébrales. Cette possibilité, comme cela a été fait pour d'autres composés, doit absolument être documentée par le Laboratoire Bial.

Données de toxicologie animale

Remarque préalable : l'interprétation des données de toxicologie animale est toujours complexe. Ces études sont conduites à des doses pouvant être très élevées, sans commune mesure avec les doses les plus fortes testées chez l'homme. De ce fait, des manifestations toxiques très diverses, souvent aspécifiques, cliniques ou visibles seulement après sacrifice (en macroscopie ou microscopie), sont observées chez la majorité des animaux. Il existe donc une forte probabilité que l'on retrouve dans l'ensemble des données des éléments semblant cohérents avec une toxicité que l'on rechercherait *a posteriori*. Pour éviter ce biais classique d'interprétation, le CSST a examiné avec attention le dossier, particulièrement vaste, des études menées chez l'animal qui doit être vu dans son ensemble et dans son contexte.

Les études précliniques, semblent avoir été réalisées selon les protocoles actuellement validés (recommandations ICH notamment), avec un produit très pur (plus de 99,9%), identique à celui utilisé pour la confection des gélules administrées aux volontaires du centre Biotrial.

Ces études ont concerné, ce qui est très peu fréquent et donc surprenant (ce point devra être éclairci), 4 espèces différentes (rat, souris, chien et singe) dans deux centres accrédités par l'Agence Européenne du Médicament (EMA) et de bonne réputation (Harlan Laboratories SA en Espagne et AnaPath GmbH en Suisse).

Les données de toxicologie du BIA 10-2474 sont apparues complexes à analyser et le CSST a jugé indispensable de disposer, avant sa réunion du 24 mars, d'informations complémentaires sur plusieurs points importants (voir plus loin).

Sur la base des données qui ont pu être analysées à ce jour et d'une manière générale, et jusqu'aux très fortes doses, on ne note pas de toxicité spécifique, même si l'un des effets toxiques le plus souvent retrouvé touche les spermatozoïdes.

Les 4 métabolites du BIA 10-2474 identifiés en périphérie (au niveau plasmatique) sont *a priori* identiques à ceux retrouvés chez l'homme et sont apparemment produits en quantités très faibles (de l'ordre de 1% du produit parent), ceci dans les quatre espèces. De ce fait, aucune étude de toxicité spécifique à ces métabolites n'était réglementairement obligatoire et n'a, de fait, été conduite.

On ne note pas d'accumulation du produit ni de ses métabolites au cours des études avec doses répétées (sur 13 semaines).

Les NOAEL (*No Observable Adverse Effect Level*) et NOEL (*No Observable Effect Level*) semblent avoir été définis de manière correcte.

Comme dans tout protocole de toxicologie, les organes des animaux prévus au protocole (40 organes) ont été systématiquement examinés macroscopiquement et microscopiquement, sans qu'à ce stade de l'analyse du dossier, une toxicité notable pour un organe particulier, *a fortiori* commune aux 4 espèces étudiées, ait été observée. Ceci est également vrai pour le système nerveux, tant central que périphérique et notamment chez le primate. Cependant, chez le rat et la souris, des atteintes cérébrales, notamment au niveau de l'hippocampe avec une gliose et une infiltration par des cellules inflammatoires ont été notées chez quelques animaux traités avec de très fortes doses. Ceci concerne en particulier un mâle et une femelle dans l'étude souris à 500 mg/Kg/24h sur 4 semaines et un rat de l'étude 150 mg/Kg/24h sur 4 semaines (soit, respectivement, 650 et 195 fois la plus forte dose, 50 mg, ayant été testée en administrations répétées chez les volontaires de Rennes). Ces atteintes, discutées en Groupe du fait du contexte, semblent fréquemment observées chez les rongeurs lors

d'études de ce type et ne paraissaient donc *a priori* pas de nature à générer un signal. De même chez le primate et le rat, des atteintes au niveau cérébral et, surtout, au niveau du système nerveux autonome (plexus de Meissner de l'intestin) ont été observées chez quelques animaux traités à forte dose.

Par ailleurs, on note, dans le groupe de chiens traités 13 semaines, des altérations pulmonaires clairement visibles en macroscopie et confirmées en microscopie (broncho-pneumopathie/alvéolite aiguë focale et multifocale). Ces manifestations, semblent surprenantes par leur fréquence. Le rapport de toxicologie remis par le Laboratoire Bial relie ces lésions à une inhalation bronchique de poudre de BIA 10-2474. Cette hypothèse a paru peu plausible aux experts du CSST. Le lien avec l'existence d'une forte densité de récepteurs CB1 au niveau des poumons, s'il ne peut en l'absence d'investigations complémentaires être écarté, ne semble pas non plus à privilégier ; ne serait-ce que du fait de l'absence de symptômes similaires dans les trois autres espèces. Deux chiens (un mâle et une femelle) du groupe forte dose ont, du fait de cette symptomatologie, du être sacrifiés avant le terme de l'étude.

Diverses études ont été menées chez le primate (*cynomolgus* ou macaque). Aucune mortalité n'a été observée lors de l'étude long terme (13 semaines à 75 mg/Kg après montée des doses par paliers). En revanche, dans d'autres groupes, une femelle est décédée après une escalade de doses sur 12 jours (10, 25 et 50 mg/Kg/24h) suivie de 9 jours d'administration à 75 mg/Kg/24h (le dossier n'indique rien de particulier concernant cet animal ; ce point est en attente d'informations complémentaires).

De même, plusieurs primates ont du être sacrifiés « *for ethical reasons* » lors des études en doses ascendantes visant à tester la tolérance du produit à très fortes doses : les 2 animaux du groupe 1 au quatrième jour du palier terminal à 250 mg/Kg, les 2 animaux du groupe 2 (125 mg/Kg/24h) et une femelle du groupe 3 après trois administrations de 60mg/Kg/24h, les autres animaux ayant survécu jusqu'au bout de l'escalade jusqu'à 110 mg/Kg/24h. Ces décès prématurés chez le primate sont cependant survenus pour des doses répétées très élevées correspondant, respectivement, à 325, 162 et 78 fois la dose la plus forte testée à Rennes en administration répétées (50 mg).

Le dossier des études animales, bien que de bonne qualité et ne générant *a priori* pas de signal particulier contre-indiquant un passage chez l'homme, appelle quelques commentaires qui font l'objet d'une demande d'informations complémentaires auprès du Laboratoire Bial:

- l'utilisation de 4 espèces différentes (dont 2 rongeurs), est, pour un dossier de ce type (études avant première administration à l'homme), très inhabituelle : une étude chez le rongeur et le primate eut été attendue pour un produit censé agir sur le système nerveux central,
- chez le chien, les doses administrées ont été diminuées en cours d'étude (*down titration*) passant de 100 à 50 puis à 20 mg/Kg,
- alors que le BIA 10-2474 semblait développé comme analgésique, la démonstration d'une activité de cette molécule sur ce plan n'a apparemment reposé que sur deux tests de pharmacologie animale, sans comparaison à un analgésique de référence (la gabapentine ne pouvant pas être considérée comme telle). Ceci semble beaucoup trop sommaire pour justifier la poursuite d'un développement, *a fortiori* chez l'homme (voir les recommandations du CSST en fin de compte-rendu).

Points mis en avant par le Groupe :

- les études toxicologiques du BIA 10-2474 ont été correctement menées selon les standards actuels (ceux d'ICH notamment),
- aucune toxicité, en particulier neurologique (centrale ou périphérique) comparable à celle observée dans le cadre de l'accident de Rennes, ne semble avoir été mise en évidence chez l'animal malgré l'utilisation de 4 espèces différentes et de fortes doses administrées sur de longues durées,
- le Laboratoire Bial devra cependant éclairer le CSST sur:

- o les raisons ayant conduit à utiliser 4 espèces différentes pour les études de toxicologie,
- o les circonstances de la mortalité par atteinte broncho-pulmonaire observée chez le chien,
- o les circonstances de la mortalité lors des études primates à fortes doses,
- o les résultats d'éventuels examens par microscopie des cerveaux des primates décédés,
- o les raisons du choix de doses décroissantes lors de l'étude 13 semaines chez le chien,
- o les raisons de l'absence apparente d'études de pharmacologie préclinique permettant de valider, avant passage chez l'homme, l'action analgésique du BIA 10-2474, notamment en comparaison à des analgésiques de référence.

L'essai clinique mené à Rennes par Biotrial

L'essai, de Phase 1 monocentrique, première administration à l'homme (*First in Humans* ou FIH) prévoyait d'impliquer 128 volontaires sains, hommes et femmes, âgés de 18 à 55 ans, et comportait quatre parties :

- une étude en doses uniques croissantes (SAD ou *Single Ascending Dose*),
- une étude en doses répétées croissantes (MAD ou *Multiple Ascending Doses*),
- une étude ouverte d'interaction avec les aliments, et
- une étude de pharmacodynamie (non réalisée).

On note que la dispersion des âges des volontaires recrutés (18-55 ans) est élevée, certains étant relativement âgés, par rapport à ce que l'on observe généralement dans des études de Phase 1, première administration à l'homme. Les âges variaient de 27 à 49 ans pour les six sujets hospitalisés au CHU de Rennes. On note, de plus, l'inclusion de plusieurs volontaires pouvant être considérés comme présentant un facteur de risque vis-à-vis de certains effets indésirables médicamenteux. On relève, entre autres, un antécédent de traumatisme crânien grave (perte de connaissance) chez un volontaire ; un espace PR mesuré à plus de 240 millisecondes sur plusieurs électrocardiogrammes en pré-dose chez un autre et une pression artérielle supérieure à 140/90 mm Hg lors de 4 mesures en pré-dose.

Le choix de la première dose administrée a été prudent, 0,25 mg correspondant environ à 1/400ème de dose la plus élevée sans effet toxique (NOAEL) chez l'animal.

La partie SAD¹ a impliqué 64 volontaires en 8 cohortes de 8 volontaires (6 recevant le *verum* et 2 le placebo) correspondant aux 8 paliers de doses testés (de 0,25 mg à 100mg) ; 48 sujets ont donc été exposés au *verum*. Pour chaque palier, 2 sujets (1 *verum* et 1 placebo) étaient testés avant administration aux 6 autres.

La partie MAD prévoyait 6 cohortes de 8 volontaires (6 *verum* et 2 placebo), soit 48 sujets. Les 6 doses devant être testées étaient : 2,5 mg ; 5 mg ; 10 mg ; 20 mg ; 50 mg et 100 mg. Chaque dose devait être administrée 10 jours consécutifs. Les sujets de chaque cohorte devaient séjourner 15 jours (et 14 nuits) au centre Biotrial. A partir de la dose 10 mg, l'administration a été conditionnée aux données de pharmacocinétique mesurées à n-2 (soit, par exemple, celles de la cohorte 10 mg pour débiter l'administration de 50 mg). Comme c'est la règle en Phase 1, le passage au palier de dose supérieur était conditionné à l'absence d'effet toxique observé chez les volontaires du palier précédent après avis d'un comité de suivi. Du fait de l'interruption de la partie MAD avant la cohorte 6, 30 volontaires ont reçu le *verum* pour cette partie de l'essai.

La recherche d'interaction avec l'alimentation impliquait 12 volontaires à la dose de 40 mg.

Ce sont donc au total 90 sujets qui ont été exposés au BIA 10-2474 au cours de cette Phase 1, ceci à des doses très variables.

La partie SAD a débuté le 9 juillet 2015 pour se terminer (cohorte 8 : 100 mg) le 9 octobre.

La partie MAD a été lancée le 6 octobre 2015. L'avant-dernière cohorte prévue (cohorte 5, soit 50 mg) a débuté le 6 janvier 2016 soit 19 jours après la fin de la cohorte 4 (20 mg). Le soir du cinquième jour (le 10 janvier) et donc de la cinquième administration (dose cumulée de 250 mg), l'un des 6 volontaires ayant reçu le *verum* est hospitalisé au CHU de Rennes dans un état grave. La société Biotrial n'a *a priori* pas considéré le lien entre la symptomatologie aiguë présentée par ce sujet et la molécule testée comme possible puisque les autres volontaires ont reçu leur sixième dose le lendemain matin, 11 janvier à 8 heures (dose cumulée : 300 mg). Les 5 volontaires *verum*, et non les 2 sujets sous placebo, ont été successivement hospitalisés au CHU de Rennes entre le 13 et le 15 janvier, soit entre 2 et 4 jours après cette dernière administration. La suspension de l'essai semble avoir été effective le 11 puisque les administrations, qui devaient se poursuivre jusqu'au 15, avaient été suspendues depuis cette date.

Points mis en avant par le Groupe :

- selon les normes actuelles, il s'agit d'un protocole classique d'essai clinique de Phase 1 de première administration à l'homme, mené dans un centre spécialisé de bonne réputation,

¹ Pour mémoire, rappelons les recommandations de 2006 de l'Agence Française du Médicament (AFSSaPS) pour le première administration à l'homme (page 4) :

« Dans un même groupe :

- le nombre de volontaires recevant simultanément la nouvelle substance active. Il est nécessaire, sauf justification dûment étayée, de limiter le nombre de volontaires recevant simultanément la nouvelle substance active en fonction des facteurs de risque identifiés.
- le délai prévu entre l'administration à un volontaire et l'administration au suivant. Un délai d'observation suffisant doit être prévu entre les administrations, fonction notamment des caractéristiques du produit, des données disponibles (pharmacocinétique, pharmacodynamique) et des facteurs de risque identifiés,
- les critères d'administration au volontaire suivant,
- les critères d'arrêt des administrations aux volontaires non encore traités ».

- le protocole ne comportait *a priori* pas d'élément ou de disposition de nature à contre-indiquer ou retarder l'autorisation de cet essai,
- trois points méritent cependant d'être mis en avant :
 - l'essai n'a pas été immédiatement suspendu alors que l'un des volontaires avait été hospitalisé pour un événement de survenue brutale,
 - il est regrettable que s'agissant de l'essai d'une molécule *a priori* à visée neurologique centrale, la sélection des volontaires n'ait apparemment pas considéré une évaluation neuropsychologique (entretien clinique complété par des bilans et tests cognitifs) alors que les explorations « somatiques » paraissent complètes,
 - surtout, l'augmentation des doses administrées, bien que d'un type parfois pratiqué en Phase 1, apparaît problématique car trop brutale en fin de progression alors que l'inverse aurait été attendu. Par exemple, le saut de dose entre les cohortes MAD 4 et 5 correspond à un rapport de 2,5 (20 à 50 mg) alors que le rapport n'est que de 2 entre les cohortes 1 et 2 (2,5 à 5 mg). Ce point, très important, devra faire l'objet de recommandations (voir en fin de compte-rendu).

Symptomatologie observée chez les volontaires hospitalisés

L'ensemble des données disponibles, cliniques, biologiques et radiologiques, concernant les volontaires hospitalisés ont été analysées par les médecins du CSST, puis présentées, sous forme résumée et anonymisée au groupe plénier. Pour des raisons évidentes de protection et de droit au respect de la vie privée des personnes et de secret médical, en particulier leur droit au respect du secret des informations médicales les concernant, ces informations ne seront pas détaillées dans ce premier compte-rendu.

Plusieurs points, importants, méritent cependant d'être soulignés :

- les 6 volontaires (27 à 49 ans) ayant reçu le BIA 10-2474 en doses répétées à 50mg ont été hospitalisés,
- la symptomatologie, d'installation très rapide, **présentée par 5 de ces 6 volontaires**, quoique d'intensité très variable, était relativement monomorphe, tant au plan clinique que radiologique et n'impliquait que le système nerveux central,
- l'imagerie cérébrale (IRM), montrait des atteintes de sévérité très variable mais également monomorphes dans leurs caractéristiques et intéressant essentiellement les hippocampes et le pont,
- sur le plan clinique, on ne notait ni atteinte neurologique périphérique, ni convulsions, ni anomalies biologiques, métaboliques ou immunologiques,
- l'ensemble du tableau présenté, tant au plan clinique que radiologique, était donc **très inhabituel**, sans parenté avec une maladie ou une intoxication connue.

Recherche de signes de toxicité chez les autres volontaires

Un des éléments les plus frappants du dossier est l'absence de toxicité (événement indésirable d'intensité notable, *a fortiori* grave) chez les autres volontaires de l'essai dont certains avaient reçu des administrations en dose unique allant jusqu'à 100 mg ou

des administrations répétées de 10 fois 20 mg, soit une dose cumulée de 200 mg (rappel : les doses cumulées chez les volontaires hospitalisés allaient de 250 à 300 mg). Chez les 76 volontaires (hors cohortes MAD) ayant reçu le *verum*, on notait 18 manifestations indésirables, dont 11 (fréquence : 14,5%) de nature cardiovasculaire (hypotension artérielle orthostatique, tachycardie réflexe, allongement des espaces PR ou QT à l'électrocardiogramme, etc.), ainsi que des cas de vertiges ou céphalées peu sévères.

Les observations étaient du même type chez les volontaires des cohortes MAD avec l'absence d'événement de gravité ou de sévérité notable et une prédominance de symptômes cardiovasculaires. A noter cependant que 2 volontaires de la cohorte MAD 10 mg avaient présenté, à *deux reprises*, une vision floue avec diplopie (un épisode au 2^{ème} et au 6^{ème} jour pour le volontaire 2305 et au 3^{ème} et 7^{ème} jour pour le volontaire 2308). Cette manifestation n'a pas été considérée comme un événement pertinent par l'investigateur et le comité de suivi et, de fait, n'a pas été retrouvée chez les volontaires de la cohorte 20 mg.

Depuis la suspension de l'essai, les 84 volontaires ayant pris du BIA 10-2474 (en dehors des six de la cohorte 5) ont été contactés pour un bilan clinique complet et une exploration par IRM. Chez les 62 (74%) revus le jour de la réunion du CSST (15 février 2016), aucune anomalie, ni clinique, ni à l'IRM, n'a été décelée.

Points mis en avant par le Groupe :

- les symptômes observés chez les volontaires autres que ceux hospitalisés mais exposés au BIA 10-2474, à des doses très variables, n'ont rien de spécifique et semblent quantitativement et qualitativement superposables à ce que l'on observe dans des essais de Phase 1 de ce type, à l'exception d'une fréquence assez élevée de symptômes cardiovasculaires (hypotension orthostatique et tachycardie),
- les manifestations graves, purement de type neurologique central, ne sont apparues **que** chez les volontaires exposés de la cohorte 5 de la partie MAD (50 mg).

Données de pharmacocinétique

D'une manière générale, les études de pharmacocinétique menées chez l'animal n'appellent pas de commentaire particulier même si, comme c'est habituellement le cas, la pharmacocinétique semble devenir non linéaire, au moins chez le chien, avec les plus fortes doses.

Le choix des doses administrées en Phase 1 mériterait en revanche d'être discuté. En effet, en considérant la concentration inhibitrice 50 (CI₅₀) du BIA 10-2474 et ses caractéristiques pharmacocinétiques chez l'homme, l'inhibition complète de la FAAH doit être obtenue pour des doses administrées inférieures à 5 mg (probablement dès 1,25 mg). Même si le but premier d'une étude de Phase 1 est de s'assurer de la bonne acceptabilité d'une molécule pour des doses nettement plus fortes que celles estimées thérapeutiques, ceci questionne sur la nécessité de tester une escalade allant jusqu'à 20 à 80 fois la dose inhibant la FAAH si cette molécule est censée agir *via* ce mécanisme. Les études de pharmacocinétique lors des cohortes SAD montrent que la demi-vie d'élimination s'allonge quand les doses administrées deviennent élevées ; les aires sous la courbe (AUC), reflet de l'exposition, augmentant plus rapidement que l'augmentation

des doses. Ceci, d'un point de vue purement théorique, pourrait s'expliquer par l'accélération de l'absorption au delà d'un certain seuil (type rupture de barrière, facilitation du passage, induction de transporteurs, etc.), ou, beaucoup plus vraisemblablement, par une saturation de l'élimination entre 40 et 100 mg, sans qu'il soit possible de situer plus précisément la dose seuil à partir de laquelle s'amorce la non-linéarité.

Lors des études en MAD, on observe cette même non linéarité, les AUC augmentant plus rapidement que les doses à partir de 20 mg. On remarque surtout que :

- la dispersion des paramètres pharmacocinétiques entre les volontaires est plus forte à 50 mg qu'à 20 mg,
- toujours pour 50 mg et contrairement à ce qui est observé pour 20 mg, les concentrations plasmatiques résiduelles de BIA 10-2474 continuent d'augmenter à la cinquième administration. Le plateau d'équilibre des concentrations plasmatiques n'a donc pas été atteint dans la cohorte 5, contrairement à ce que permettaient de prédire les valeurs des demi-vies d'élimination calculées pour des doses plus faibles.
- comme en SAD, la non linéarité est probable à partir de 50 mg en doses répétées.

Les quatre métabolites identifiés chez l'animal sont attendus être les mêmes chez l'homme, deux d'entre eux (2639 et 2445) atteignant des concentrations plasmatiques mesurables restant cependant très faibles (<3% de celles du produit parent). En l'absence d'administration directe des métabolites eux mêmes, il est difficile d'en déterminer les caractéristiques individuelles. Cependant, il semble que la variabilité des paramètres pharmacocinétiques soit plus élevée pour ces deux métabolites que celle observée chez l'animal, avec, par exemple, une estimation de la demi-vie d'élimination variant de 4 à 23 heures.

Cette variabilité affecte également, mais de façon moindre, la pharmacocinétique de la molécule elle-même. Ceci est couramment observé avec les médicaments du fait de variations, entre autres de métabolisme, entre les individus. Dans le cas d'une étude de Phase 1, première administration à l'homme, cette variabilité peut devenir problématique si les calculs des doses pour les administrations répétées (MAD) se fondent, comme c'est le cas ici, sur les moyennes de paramètres mesurés antérieurement sur d'autres individus. Par définition, cette approche ne prend pas en compte les valeurs extrêmes dont la répartition peut varier d'un groupe à l'autre ce qui peut induire des erreurs de prédiction assez significatives (voir recommandations du Groupe en fin de compte-rendu).

Points mis en avant par le Groupe :

- l'extrapolation à l'homme des données animales suggère que l'inhibition complète de l'activité de la FAAH est obtenue pour des doses beaucoup plus faibles (20 à 80 fois) que les doses maximales que le protocole prévoyait de tester chez l'homme,
- la cinétique du BIA 10-2474 devient non linéaire quelque part entre 40 et 100 mg administrés. Elle est, en outre, affectée d'une variabilité interindividuelle notable. De plus, la cinétique des deux principaux métabolites, non explorée spécifiquement, est potentiellement non linéaire lors d'administrations répétées de doses de produit parent supérieures à 40 mg,
- ceci explique que dans la cohorte MAD 50 mg, les concentrations plasmatiques résiduelles n'étaient pas toutes stabilisées au cinquième jour d'administration,

contrairement à ce que prédisaient les calculs reposant sur les moyennes des demi-vies d'élimination.

Hypothèses à explorer pour tenter d'expliquer l'accident de Rennes

La première conclusion du CSST concerne le caractère stupéfiant et inédit de l'accident de Rennes, tant par :

- sa gravité (6 volontaires hospitalisés, 1 décès),
- le fait qu'apparemment la toxicologie, pourtant menée sur 4 espèces animales avec des doses allant jusqu'à 650 fois la dose absorbée par les volontaires hospitalisés, ne montre pas de lésions ou de tableau de nature à prédire une telle toxicité,
- le caractère très inhabituel des tableaux cliniques et radiologiques ne s'apparentant *a priori* à rien de connu,
- le fait, qu'à ce jour, aucun signe patent, neurologique ou radiologique, de ce type n'ait été retrouvé chez les autres volontaires (certains ayant absorbé jusqu'à 100 mg en dose unique ou 200 mg en dose cumulée sur 10 jours),
- enfin, le fait que cet accident soit survenu avec une molécule apparentée à d'autres composés abandonnés du fait de leur efficacité insuffisante et pour lesquels aucune toxicité neurologique ou autre n'avait été observée.

Une toxicité ne survenant que dans l'une des 14 cohortes de volontaires ayant reçu le BIA-2474, ne pourrait *a priori* s'expliquer que par :

- une erreur d'administration ou de procédure touchant spécifiquement cette cohorte,
- une particularité commune aux six sujets ayant présenté des signes de toxicité,
- un effet lié à la dose cumulée de BIA 10-2474 que ces sujets ont reçue.

L'exploration de la première hypothèse n'entre pas dans les missions du CSST mais il semble qu'une telle explication soit peu probable. Par exemple, le produit utilisé pour les études de toxicologie était le même que celui utilisé dans les gélules administrées à tous les groupes de volontaires et a secondairement été testé comme étant de grande pureté. Le Groupe a donc essentiellement discuté les deux autres hypothèses.

1. Hypothèse d'une particularité commune aux volontaires de la cinquième cohorte MAD

Plusieurs possibilités ont été discutées :

1.1. Hypothèse d'une interaction avec d'autres produits

Régulièrement évoquée dans les media, une interaction pourrait impliquer des médicaments, des aliments (comme le chocolat) ou des substances « récréatives » (alcool, stupéfiants dont le cannabis, etc.). L'hypothèse « médicaments » paraît résolument improbable au vu des bonnes pratiques de Phase 1 et surtout du fait qu'il faudrait admettre la prise d'un ou plusieurs médicament(s) commun(s) par les 6 sujets hospitalisés alors que ceux-ci étaient d'âges très différents (27 à 49 ans). Il en irait *a*

priori de même pour une interaction avec l'alimentation ou pour une consommation de chocolats par ces volontaires : le chocolat ne contient que de très faibles quantités d'anandamide et l'hyperstimulation du système endocannabinoïde n'est pas connue comme pouvant générer un tableau du type de celui observé à Rennes (voir plus loin). A ce jour, rien de crédible ne plaide en faveur d'une consommation de stupéfiants, immédiatement avant ou pendant le séjour à Biotrial. En dehors de l'entorse grave aux bonnes pratiques de Phase 1 qu'elle constituerait et du fait qu'il faudrait à nouveau la considérer commune aux volontaires de la cohorte 5, cette hypothèse se heurte à deux constatations :

- les recherches de traces biologiques de stupéfiants (cannabis compris), alcool et autres substances, qu'elles soient ou non médicamenteuses, se sont à ce jour révélées négatives,
- pour le cannabis, on retrouve l'argument précédent à savoir qu'il semble acquis au plan neuroscientifique, qu'une stimulation, directe ou indirecte, même massive, des récepteurs endocannabinoïdes, en particulier les CB1, ne saurait induire une toxicité du type observé à Rennes. Même s'il peuvent chez certains sujets induire des effets graves au plan psychiatrique (par exemple, un épisode psychotique), ni le cannabis, ni son principal constituant, le tétrahydrocannabinol, n'induisent, même expérimentalement et à très forte dose, d'atteinte lésionnelle cérébrale toxique aiguë.

1.2. Hypothèse d'une particularité génétique, de métabolisme ou de réponse pharmacologique partagée par les sujets de la cinquième cohorte MAD

Il existe de nombreux facteurs, entre autres génétiques, susceptibles de moduler la susceptibilité individuelle à l'administration d'un inhibiteur de la FAAH. Par exemple, cette enzyme existe sous deux isoformes d'activité différentes ; de même, on retrouve à plusieurs niveaux le système des cytochromes P450 dont l'activité peut grandement varier (par induction ou inhibition) d'un individu à l'autre. Pour séduisante qu'elle soit, cette hypothèse se heurte aux lois de la statistique. Pour l'exemple de la FAAH, si la prévalence de l'isoforme à faible activité est de 38% en population générale, la probabilité de la retrouver chez 5 des 6 sujets exposés de la cohorte était 0,0295 (moins de 3 chances sur 100) et 0,003 (3 chances sur 1000) de la retrouver chez les six sujets exposés. Il en va de même pour la probabilité d'avoir inclus par hasard une majorité de sujets métaboliseurs rapides dans une cohorte antérieure ce qui aurait pu fausser les prédictions pharmacocinétiques pour la cohorte 5.

2. Hypothèses autour d'un effet seuil lié à la dose cumulée de BIA 10-2474

Si ce second groupe d'hypothèses apparaît beaucoup plus probable, les mécanismes envisageables sont particulièrement nombreux et certains purement hypothétiques ou fort mal connus. Ils peuvent faire intervenir la molécule elle-même ou un médiateur comme l'anandamide.

Rappelons tout d'abord :

- le caractère très inhabituel de cette toxicité dose-dépendante non observée chez l'animal même aux très fortes doses, *a priori* sans signes avant-coureurs chez les volontaires ayant été exposés à des doses inférieures et impliquant un composé apparenté à des molécules s'étant montrées peu efficaces et sans toxicité particulière. Tout se passe « *comme si quelque chose lâchait ou basculait subitement à un seuil précis de dose ou de concentration ce qui est typique d'un*

- effet on-off*». Cet effet seuil pourrait être favorisé par le fait que la pharmacocinétique du BIA 10-2474 devient non linéaire au delà de 40 mg,
- qu'il s'agit quasi-certainement d'un effet hors-cible (*off-target*) du fait (i) que l'inhibition de la FAAH, complète et prolongée (8 heures) est obtenue pour des doses de BIA 10-2474 de 1,25 à 5 mg, (ii) que cette molécule apparaît peu spécifique de la FAAH et, surtout, (iii) que la stimulation des récepteurs endocannabinoïdes par l'anandamide ne peut *a priori* induire une toxicité de ce type.

Plusieurs hypothèses pouvant expliquer un tel **effet on-off/off-target**, de plus spécifique de l'homme, ont été discutées lors de la réunion du CSST:

2.1. Inhibition d'autres enzymes cérébrales par le BIA 10-2474

Cette piste est l'une de celles privilégiées par le CSST. La molécule Bial est en effet nettement moins spécifique de la FAAH que les molécules développées jusqu'alors et sa fixation sur d'autres hydrolases ou enzymes cérébrales est donc plausible, et ce d'autant plus quand les concentrations du BIA 10-2474 ou de ses métabolites augmentent. Rappelons que le BIA 10-2474 a été administré chez les volontaires de la cohorte MAD 5 à une dose (50 mg) 10 à 40 fois supérieure à celle censée inhiber complètement la FAAH. Le CSST a de ce fait souhaité recevoir des informations complémentaires sur :

- l'affinité du BIA 10-2474 vis-à-vis d'autres enzymes cérébrales,
- la répartition géographique de ces enzymes, et
- les conséquences, si elles sont connues, de l'inhibition de leur activité.

2.2. Toxicité d'un métabolite du BIA 10-2474

La molécule Bial (possédant un groupement imidazole partant) pourrait donner naissance à un isocyanate toxique pouvant se lier à nombre de protéines cérébrales et induire des lésions diffuses. Cette hypothèse est très intéressante à explorer même si, comme la précédente, elle se heurte à l'absence de toxicité neurologique centrale observée chez l'animal.

La toxicité de l'un des 4 métabolites identifiés en périphérie (plasma) chez l'homme et l'animal pourrait également être envisagée. Leur activité et leur toxicité spécifiques n'ont pas été testées par Bial mais ces métabolites sont produits en très faibles quantités (<3% de la concentration circulante en BIA 10-2474) même si la variabilité pharmacocinétique est plus élevée chez l'homme. Il est de plus possible que ces métabolites, produits en périphérie, soient de nature hydrophile et donc franchissant difficilement la barrière hémato-encéphalique à moins d'envisager l'existence d'un transporteur spécifique et/ou l'inhibition d'une pompe d'efflux lors de la montée des concentrations circulantes en prise répétées.

2.3. Possibilité d'effets toxiques liés à l'anandamide

Le blocage de l'activité de la FAAH aboutit, du moins transitoirement, à l'augmentation des concentrations intracérébrales d'anandamide avec plusieurs conséquences possibles :

- 2.3.1. *Fixation sur d'autres récepteurs*
L'anandamide est un médiateur dont l'ubiquité dépasse largement le système endocannabinoïde. Elle est capable, d'autant plus que ses concentrations augmentent, d'interagir avec plusieurs types de récepteurs (au moins les TRPV1, PPAR et NMDA) et la voie de la MAP-kinase avec des conséquences possibles en

termes d'apoptose et de neuroprotection. Certains de ces mécanismes impliquent des canaux ioniques ce qui pourrait contribuer à expliquer le caractère brutal de l'effet seuil. Cette piste est en cours d'exploration par les experts du CSST.

- 2.3.2. *Toxicité de produits de dégradation de l'anandamide*

En cas d'inhibition de la FAAH, l'anandamide peut être dégradé par la voie des cyclo-oxygénases ce qui donne naissance à divers composés (leucotriènes et prostanoides) dont certains ont des effets connus sur la vasomotricité cérébrale qui pourraient être compatibles avec certaines des lésions observées chez les volontaires de la cohorte 5. Cette piste est également explorée par le CSST.

Lors de sa réunion du 24 mars, des données complémentaires seront étudiées par le CSST, principalement en ce qui concerne les points 2.1, 2.2 et 2.3.

La plausibilité des hypothèses 2.3.1 et 2.3.2 est cependant questionnée par le fait que (i) cet effet n'a pas été observé avec d'autres inhibiteurs, *a fortiori* plus spécifiques, de la FAAH, et (ii) l'inhibition, complète et durable, de la FAAH, et donc *a priori* l'élévation des concentrations intracérébrales d'anandamide, est obtenue dès les doses de BIA 10-2474 les plus faibles testées en MAD pour lesquelles aucun effet toxique n'a été observé.

Recommandations que le CSST souhaiterait voir porter devant les autorités françaises et internationales

Selon le CSST, la gravité de l'accident survenu à Rennes justifie que la réglementation et les bonnes pratiques concernant les études de première administration à l'homme évoluent, en devenant plus claires et plus strictes sur un certain nombre de points. Des recommandations plus complètes, que le CSST souhaiterait voir porter au plan international, seront formulées au décours de la réunion du CSST du 24 mars 2016. Plusieurs méritent, dès à présent, d'être listées :

- Tout d'abord, la démonstration d'une activité pharmacologique, comparative chaque fois que cela peut être le cas, devrait être, à l'avenir, exigée avant qu'un passage chez l'homme, ou même la poursuite des études de toxicologie, ne soient envisagés. Ces études de pharmacologie préclinique devraient être menées, le plus précocement possible, sur une gamme de doses suffisante (courbes dose-effet) et conçues de manière à être raisonnablement prédictives de la réalité d'une future efficacité thérapeutique.
- Pour les médicaments à tropisme « système nerveux central », le bilan pratiqué pour la sélection et l'inclusion des volontaires dans une étude de Phase 1 devrait impérativement comprendre une évaluation neuropsychologique avec entretien clinique et tests cognitifs.
- Le choix de la dose maximale à tester chez les volontaires par rapport à la dose supposée active devrait être précisément et solidement argumenté. Par exemple, dans le cas du présent dossier, envisager de tester une dose (100 mg) 80 fois plus forte que celle qui entraîne *a priori* une inhibition complète et prolongée de la FAAH (mécanisme allégué de l'action du médicament testé) apparaît non justifié.
- Les stratégies d'escalade de doses en Phase 1 devraient faire l'objet d'un travail de consensus large pour aboutir à des recommandations de pratiques plus raisonnables et prudentes que celles retenues, par exemple, dans le cas du BIA 10-2474. On constate en effet, ce qui est paradoxal, des sauts de doses entre les

dernières cohortes, donc en zone à risque, plus importants que pour les premiers paliers *a priori* sans risque (par exemple : un rapport de 2,5 entre 20 et 50 mg contre 2 entre 1,25 et 2,5 mg).

- La variabilité et ses extrêmes, et non uniquement la moyenne, des paramètres pharmacocinétiques devraient être pris en compte pour la fixation de la dose à retenir pour le palier suivant.