



Université
de Toulouse

UNIVERSITE TOULOUSE III PAUL SABATIER
FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

ANNEE : 2016

THESE : 2016 TOU3 2011

THESE

POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement

par:

JOUKOFF SOPHIE

**Nouvelles recommandations sur les études pharmacocinétiques
d'interactions médicamenteuses**

12 Février 2016

Directeur de thèse : **Monsieur Georges HOUIN**

JURY

Président : **Madame Peggy GANDIA-MAILLY**

1^{er} assesseur : **Monsieur Georges HOUIN**

2^{ème} assesseur : **Monsieur Philippe HERMANN**

PERSONNEL ENSEIGNANT
de la Faculté des Sciences Pharmaceutiques de l'Université Paul Sabatier
au 1^{er} octobre 2014

Professeurs Émérites

M. BASTIDE R	Pharmacie Clinique
M. BERNADOU J	Chimie Thérapeutique
M. CAMPISTRON G	Physiologie
M. CHAVANT L	Mycologie
Mme FOURASTÉ I	Pharmacognosie
M. MOULIS C	Pharmacognosie
M. ROUGE P	Biologie Cellulaire

Professeurs des Universités

Hospitalo-Universitaires

M. CHATELUT E	Pharmacologie
M. FAVRE G	Biochimie
M. HOUIN G	Pharmacologie
M. PARINI A	Physiologie
M. PASQUIER C (Doyen)	Bactériologie - Virologie
Mme ROQUES C	Bactériologie - Virologie
Mme ROUSSIN A	Pharmacologie
Mme SALLERIN B	Pharmacie Clinique
M. SIÉ P	Hématologie
M. VALENTIN A	Parasitologie

Universitaires

Mme BARRE A	Biologie
Mme BAZIARD G	Chimie pharmaceutique
Mme BENDERBOUS S	Mathématiques – Biostat.
M. BENOIST H	Immunologie
Mme BERNARDES-GÉNISSON V	Chimie thérapeutique
Mme COUDERC B	Biochimie
M. CUSSAC D (Vice-Doyen)	Physiologie
Mme DOISNEAU-SIXOU S	Biochimie
M. FABRE N	Pharmacognosie
M. GAIRIN J-E	Pharmacologie
Mme MULLER-STAUMONT C	Toxicologie - Sémiologie
Mme NEPVEU F	Chimie analytique
M. SALLES B	Toxicologie
Mme SAUTEREAU A-M	Pharmacie galénique
M. SÉGUI B	Biologie Cellulaire
M. SOUCHARD J-P	Chimie analytique
Mme TABOULET F	Droit Pharmaceutique
M. VERHAEGHE P	Chimie Thérapeutique

Maîtres de Conférences des Universités

Hospitalo-Universitaires

M. CESTAC P	Pharmacie Clinique
Mme GANDIA-MAILLY P (*)	Pharmacologie
Mme JUILLARD-CONDAT B	Droit Pharmaceutique
M. PUISSET F	Pharmacie Clinique
Mme SÉRONIE-VIVIEN S	Biochimie
Mme THOMAS F	Pharmacologie

Universitaires

Mme ARÉLLANO C. (*)	Chimie Thérapeutique
Mme AUTHIER H	Parasitologie
M. BERGÉ M. (*)	Bactériologie - Virologie
Mme BON C	Biophysique
M. BOUJILA J (*)	Chimie analytique
Mme BOUTET E	Toxicologie - Sémiologie
M. BROUILLET F	Pharmacie Galénique
Mme CABOU C	Physiologie
Mme CAZALBOU S (*)	Pharmacie Galénique
Mme CHAPUY-REGAUD S	Bactériologie - Virologie
Mme COSTE A (*)	Parasitologie
M. DELCOURT N	Biochimie
Mme DERAËVE C	Chimie Thérapeutique
Mme ÉCHINARD-DOUIN V	Physiologie
Mme EL GARAH F	Chimie Pharmaceutique
Mme EL HAGE S	Chimie Pharmaceutique
Mme FALLONE F	Toxicologie
Mme GIROD-FULLANA S (*)	Pharmacie Galénique
Mme HALOVA-LAJOIE B	Chimie Pharmaceutique
Mme JOUANJUS E	Pharmacologie
Mme LAJOIE-MAZENC I	Biochimie
Mme LEFEVRE L	Physiologie
Mme LE LAMER A-C	Pharmacognosie
M. LEMARIE A	Biochimie
M. MARTI G	Pharmacognosie
Mme MIREY G (*)	Toxicologie
Mme MONTFERRAN S	Biochimie
M. OLICHON A	Biochimie
M. PERE D	Pharmacognosie
Mme PHILIBERT C	Toxicologie
Mme PORTHE G	Immunologie
Mme REYBIER-VUATTOUX K (*)	Chimie Analytique
M. SAINTE-MARIE Y	Physiologie
M. STIGLIANI J-L	Chimie Pharmaceutique
M. SUDOR J	Chimie Analytique
Mme TERRISSE A-D	Hématologie
Mme TOURRETTE A	Pharmacie Galénique
Mme VANSTEELENDT M	Pharmacognosie
Mme WHITE-KONING M	Mathématiques

(*) titulaire de l'habilitation à diriger des recherches (HDR)

Enseignants non titulaires

Assistants Hospitalo-Universitaires

Mme COOL C (**)	Physiologie
Mme FONTAN C	Biophysique
Mme KELLER L	Biochimie
M. PÉRES M. (**)	Immunologie
Mme ROUCH L	Pharmacie Clinique
Mme ROUZAUD-LABORDE C	Pharmacie Clinique

Attaché Temporaire d'Enseignement et de Recherche

Mme PALOQUE L	Parasitologie
Mme GIRARDI C	Pharmacognosie
M IBRAHIM H	Chimie anal. - galénique

(**) Nomination au 1^{er} novembre 2014

Remerciements

Monsieur Georges HOUIN, je vous remercie pour avoir accepté de diriger cette thèse et pour m'avoir proposé ce sujet. Il y a trois ans exactement j'assistais à votre cours et vous demandais d'en être le directeur. Merci d'être encore là après tout ce temps.

Monsieur Philippe HERMANN, je vous remercie sincèrement d'avoir accepté de m'aider dans l'accomplissement de cette thèse et pour le temps que vous m'avez accordé tout au long de ce travail. Le chemin fut long et laborieux et je vous remercie pour votre patience, vos précieux conseils et votre soutien.

Madame GANDIA-MAILLY,

Je vous remercie de m'avoir fait l'honneur de présider ce jury et d'avoir pris le temps de juger cette thèse.

À mes collègues des Laboratoires Pierre Fabre pour m'avoir tout d'abord guidé vers Monsieur Hermann. Pour votre gentillesse, votre soutien et surtout pour tous vos encouragements que ce soit dans l'accomplissement de cette thèse que dans l'accomplissement de mon projet professionnel.

À mes parents, mes frères et toute ma famille pour m'avoir soutenu, poussé et motivé à finaliser ce travail durant ces trois années mais aussi pour être tout simplement là dans les bons moments comme dans les moins bons.

À tous mes amis que j'ai rencontrés pour la plupart au cours de ma vie étudiante : de ces rencontres sont nées de profondes et longues amitiés. Je vous remercie tous de m'avoir accompagnés tout au long de mes études et encore maintenant ; pour m'avoir apporté joie, épanouissement et beaucoup de bon souvenirs et pour votre soutien dans cette dernière étape de ma vie étudiante. Un chapitre se ferme et j'espère que vous continuerez à faire partie des suivants...

Sommaire

SOMMAIRE	5
ABBREVIATIONS	8
INTRODUCTION GÉNÉRALE	9
PARTIE I : BASES SCIENTIFIQUES DES INTERACTIONS MÉDICAMENTEUSES	11
A. INTRODUCTION :	11
B. LES CONNAISSANCES EN PHARMACOCINÉTIQUE ET MÉCANISMES D'INTERACTIONS	11
1. ABSORPTION	12
1.1. <i>Les interactions médicamenteuses à l'étape d'absorption :</i>	13
1.1.1. <i>La modification du pH gastrique</i>	13
1.1.2. <i>La modification de la vitesse d'absorption</i>	14
1.1.3. <i>La formation de complexes de liaison</i>	14
1.1.4. <i>Interactions au niveau de la barrière intestinale</i>	15
1.2. <i>Interactions entre l'alimentation et les médicaments</i>	16
1.2.1. <i>Impact de l'alimentation sur l'absorption</i> [12].....	16
1.2.2. <i>Impact de l'alimentation sur la biodisponibilité</i> [12].....	17
1.2.3. <i>Impact de l'alimentation sur le métabolisme</i>	17
2. DISTRIBUTION	18
2.1. <i>Interactions par déplacement des protéines plasmatiques</i>	18
2.2. <i>Interactions dues à une altération du transport</i>	19
3. METABOLISME	19
3.1. <i>Les réactions de phase I</i> [14][10].....	20
3.2. <i>Les réactions de phase II</i>	21
3.3. <i>Autres enzymes de métabolisme</i>	21
3.4. <i>Les métabolites</i>	22
3.5. <i>Interactions médicamenteuses lors du métabolisme</i>	22
3.5.1. <i>Inhibition d'enzymes</i>	22
3.5.1.1. <i>Généralités</i>	22
3.5.1.2. <i>Les paramètres cinétiques d'inhibition</i>	25
3.5.2. <i>Induction d'enzymes</i>	26
3.5.2.1. <i>Les principaux récepteurs nucléaires</i> [14][19][23][24]	26
3.5.2.2. <i>Interactions médicamenteuses par induction</i>	28
4. ÉLIMINATION ET TRANSPORTEURS	29
4.1. <i>Élimination</i>	29
4.1.1. <i>Généralités</i>	29
4.1.2. <i>Paramètres pharmacocinétiques</i> [4]	30
4.2. <i>Transporteurs</i>	30
4.2.1. <i>Transporteurs d'influx (SLC)</i>	31
4.2.2. <i>Transporteurs d'efflux (ABC)</i>	32
CONCLUSION PARTIE I :	34
PARTIE II : LES NOUVELLES RECOMMANDATIONS DES AUTORITÉS DE SANTÉ EMA ET FDA	35
A. LES RECOMMANDATIONS SUR LES ÉTUDES D'INTERACTIONS : STRATÉGIE GÉNÉRALE	35
1. <i>Principes de base des études in vitro et in vivo</i>	36
1.1. <i>Généralités</i>	36

1.2.	<i>Principes des études d'interaction</i>	37
1.2.1.	<i>Substrat sonde</i>	37
1.2.2.	<i>Principe de base des études</i>	38
2.	<i>Les modèles d'étude in vitro</i>	39
2.1.	<i>Le modèle basique</i>	39
2.2.	<i>Le modèle statique mécanistique</i>	39
2.3.	<i>Le modèle dynamique PBPK</i>	40
2.4.	<i>Systèmes d'étude</i>	41
3.	<i>Les designs d'études in vivo</i>	41
3.1.	<i>La population d'étude</i>	43
3.1.1.	<i>Populations standards [1][2]</i>	43
3.1.2.	<i>Populations spéciales [1][2]</i>	43
3.2.	<i>Dose et temps d'administration</i>	44
3.2.1.	<i>Doses</i>	44
3.2.2.	<i>Durée et temps d'administration [1][2]</i>	45
3.3.	<i>Études « cocktail »[1][2]</i>	45
4.	<i>Paramètres pharmacocinétiques et critères d'évaluations</i>	46
B.	LES RECOMMANDATIONS EN FONCTION DES ÉTAPES ADME :	46
1.	ABSORPTION:	46
1.1.	<i>Interactions affectant la solubilité</i>	47
1.2.	<i>Interaction par modification de la vitesse d'absorption</i>	47
1.3.	<i>Interactions dues à l'alimentation [1]</i>	48
1.3.1.	<i>Recommandations générales des études « food-effect » :</i>	48
2.	DISTRIBUTION [1]	49
3.	METABOLISME :	50
3.1.	<i>Quelles sont les principales voies métaboliques de la molécule d'intérêt ?</i>	50
3.1.1.	<i>Substrat d'enzymes de phase I</i>	50
3.1.2.	<i>Substrat d'enzymes de phase II</i>	51
3.1.3.	<i>Métabolites</i>	52
3.2.	<i>Étude d'interaction : substrat d'enzymes inhibées</i>	52
3.3.	<i>Étude d'interaction : substrat d'enzymes induites</i>	53
3.4.	<i>Est-ce que la molécule d'intérêt est inhibitrice d'enzymes ?</i>	54
3.4.1.	<i>Études in vitro</i>	54
3.4.1.1.	<i>Principe du test d'inhibition</i>	54
3.4.1.2.	<i>Méthode recommandée [1][2]</i>	55
3.4.1.3.	<i>Les données issues du test d'inhibition</i>	57
3.4.1.4.	<i>Prédiction in vivo</i>	58
3.4.1.5.	<i>Exemple d'étude d'interaction [33]</i>	60
3.4.2.	<i>Études in vivo</i>	60
3.4.2.1.	<i>La molécule d'intérêt est substrat d'enzymes de phase I</i>	61
3.4.2.2.	<i>La molécule d'intérêt est inhibitrice d'enzymes de phase I</i>	63
3.5.	<i>Est-ce que la molécule d'intérêt est inductrice enzymatique ?</i>	64
3.5.1.	<i>Études in vitro</i>	64
3.5.1.1.	<i>Principe du test in vitro[1][2]</i>	64
3.5.1.2.	<i>Prédiction in vivo</i>	66
3.5.1.3.	<i>Exemple d'étude d'interaction [36]</i>	67
3.5.2.	<i>Études in vivo</i>	68
4.	ÉLIMINATION ET TRANSPORTEURS	70

4.1.	Études <i>in vitro</i>	70
4.1.1.	Est-ce que la molécule d'intérêt est substrat de transporteurs ?.....	70
4.1.1.1.	Implication des voies rénales ou hépatiques (ou biliaires)	70
4.1.1.2.	Identification des transporteurs impliqués dans l'absorption	71
4.1.1.3.	Identification des transporteurs impliqués dans la distribution	71
4.1.2.	Stratégie générale en fonction des transporteurs	71
4.1.2.1.	Est-ce que la molécule d'intérêt est substrat de OATP1B1 et B3 ?.....	72
4.1.2.2.	Est-ce que la molécule d'intérêt est substrat de OCT2, OAT1 et OAT3.....	73
4.1.2.3.	Est-ce que la molécule d'intérêt est substrat de P-gp et BCRP	74
4.2.	Est-ce que la molécule d'intérêt est inhibitrice de transporteurs ?.....	75
4.2.1.	Est-ce que la molécule d'intérêt est inhibitrice de OATP1B1 et 1B3 ?.....	76
4.2.2.	Est-ce que la molécule d'intérêt est inhibitrice de OCT2, OAT1 et OAT3.....	77
4.2.3.	Est-ce que la molécule d'intérêt est inhibitrice de P-gp et BCRP	78
4.3.	Est-ce que la molécule d'intérêt est inductrice de transporteurs ?.....	79
4.4.	Études <i>in vivo</i>	80
4.4.1.	La molécule d'intérêt est substrat de transporteurs	80
4.4.2.	La molécule d'intérêt est inhibitrice de transporteurs.....	80
4.4.3.	La molécule d'intérêt est inductrice de transporteurs.....	81
CONCLUSION ET DISCUSSION PARTIE II		82
LES NOUVELLES MOLÉCULES ÉTUDIÉES AVEC LES RECOMMANDATIONS DE LA FDA :.....		82
PARTIE III : COMMUNICATION DES RÉSULTATS D'ÉTUDES.....		84
1.	Traduction des résultats en recommandations d'emploi.....	84
1.1.	Les données issus des études <i>in vitro</i>	84
1.2.	Les effets <i>in vivo</i> de médicament sur la molécule d'intérêt.....	84
1.3.	Informations et recommandations à mettre dans le RCP	84
ANNEXES:.....		88
1.	SUBSTRATS ET INHIBITEURS DES CYTOCHROMES P450.....	88
a.	Substrats et inhibiteurs du CYP1A2 [19].....	88
b.	Substrats et inhibiteurs du CYP2A6 [19].....	89
c.	Substrats et inhibiteurs du CYP2B6 [19].....	90
d.	Substrats et inhibiteurs du CYP2C8 [19].....	90
e.	Substrats et inhibiteurs du CYP2C9 [19].....	91
f.	Substrats et inhibiteurs du CYP2C19 [19].....	92
g.	Substrats et inhibiteurs du CYP2D6 [19].....	93
h.	Substrats et inhibiteurs du CYP2E1 [19].....	94
i.	Substrats et inhibiteurs du CYP3A4/5 [19].....	94
2.	SUBSTRATS ET INHIBITEURS ET DES UGT.....	96
a.	Substrats des UGT[17].....	96
b.	Inhibiteurs des UGT <i>in vitro</i> [17]	100
3.	INDUCTEURS DES CYTOCHROMES ET UGT [14].....	101
4.	SUBSTRATS ET INHIBITEURS DES TRANSPORTEURS [26].....	104
5.	LISTE DES FIGURES.....	108
RÉFÉRENCES:.....		109

Abbreviations

ADH : Alcool Deshydrogénase

AhR : Aryl Hydrocarbon Receptor

ALDH : Aldéhyde Déshydrogénase

Amt : l'AhR-nuclear translocator

ASBT: Acid cotransporter Na⁺/bile

AUC: Area Under the Curve

CAR : Constitutive Androstane Receptor

CYP : Cytochrome

BCRP : Breast Cancer Resistant Protein

HRE : Hormone Responsive Element

IPP : Inhibiteur de la Pompe à Proton

ITC : International Transporter Consortium

MATE : Multidrug And Toxin Extrusion protein

MBI : Mechanism-Based Inhibition

MDR : Multi Drug Resistance

MPP⁺ : 1-methyl-4-phenylpyridinium

OAT: Organic Anion Transporters

OATP : Organic Anion-Transporting Polypeptide

OCT : Organic Cation Transporter

PAH : acide para-aminohippurique

P-gp : P-glycoprotéine

PK : pharmacocinétique

PPAR : Peroxysome Proliferative Activated Receptor

PXR : Pregnane X Receptor

RXR : récepteur de l'acide rétinoïque

RCP : Résumé des Caractéristiques du Produit

SXR : Récepteur des Stéroïdes et Xénobiotiques

SLC : Solute Carrier

TDI : Inhibition Temps-Dépendant

UGT : UDP-glucuronosyltransférases

Introduction générale

Selon des études récentes la consommation des médicaments augmente de plus en plus. En 1990, le marché mondial du médicament représentait moins de 200 milliards de dollars, en 2007 il a été évalué à 712 milliards de dollars et en 2012 il est passé à 856 milliards de dollars. Les Américains sont les plus grands consommateurs de médicaments avec 38% de part de marché. Les Européens suivent loin derrière avec 17% du marché mondial des médicaments. Cette augmentation de la consommation des médicaments est liée entre autre, à un accès aux soins facilité, à la mise sur le marché de nouveaux produits et au vieillissement de la population. La polymédication de plus en plus fréquente, en particulier chez la personne âgée, est à l'origine d'une importante iatrogénie médicamenteuse due entre autre à l'existence d'interactions entre les médicaments.

On définit une interaction médicamenteuse comme toute modification des effets d'un médicament lorsqu'il est administré simultanément avec un autre médicament (ou avec certains aliments). Ces modifications peuvent correspondre à une augmentation ou à une diminution des activités de chaque médicament ou à l'apparition d'un effet indésirable non attendu. Ces interactions sont liées à des changements au niveau de l'exposition systémique des médicaments impliqués ; elles peuvent engendrer une augmentation de la toxicité des médicaments ou à l'inverse d'une diminution de leur activité thérapeutique.

Aujourd'hui, compte tenu de cette surconsommation de médicaments, il est devenu primordial de connaître les risques liés à la prise concomitante de plusieurs médicaments ou la prise de médicaments avec certains aliments.

La mise en évidence et la connaissance de ces interactions sont essentielles lors du développement du médicament mais aussi après sa mise sur le marché. Évaluer le plus tôt possible ces interactions permet de définir des axes de développement ou d'interrompre si nécessaire le développement d'une molécule.

Pour guider les laboratoires pharmaceutiques dans le développement de nouveaux médicaments et particulièrement dans l'évaluation des interactions médicamenteuses possibles, l'EMA[1] et la FDA[2] ont émis chacune en 2012 et 2013 des recommandations à suivre lors du développement de nouvelles molécules. Ces recommandations remplacent les précédentes datant de 1997 et se basent sur plus de 20 ans de recherche et de progression scientifique dans la connaissance des mécanismes d'action des médicaments et de leurs interactions.

Ces recommandations ont également été faites pour d'améliorer la transparence des informations fournis lors des études d'interaction. Ces informations doivent renseigner les prescripteurs sur les risques d'interactions lors de l'association de certains médicaments. Le pharmacien jouera également un rôle majeur dans la détection de ces interactions grâce aux informations fournies, et pourra apporter ses conseils et recommandations.

L'objectif de cette thèse est de faire une revue des recommandations émises par la FDA et l'EMA et d'en comprendre le raisonnement et la logique.

Dans une première partie, nous ferons un rappel des connaissances acquises sur les mécanismes de ces interactions et sur les éléments scientifiques essentiels à leur compréhension.

Dans une deuxième partie nous aborderons les recommandations de l'EMA et la FDA en fonction des étapes du développement du médicament et du type d'étude.

Enfin en troisième partie nous verrons comment seront décrites ces interactions dans le Résumé des Caractéristiques du Produit (RCP) du médicament.

Partie I : Bases scientifiques des interactions médicamenteuses

A. Introduction :

Les effets d'un médicament qu'ils soient thérapeutiques ou indésirables résultent de ses concentrations au niveau des sites pharmacologiques ou d'autres sites d'action dans l'organisme. Une fois administré, le médicament est modulé par l'organisme aux travers des étapes d'absorption, de distribution, de métabolisme et d'élimination. À chaque étape le médicament peut subir l'influence de facteurs externes ou internes provoquant des modifications de ses concentrations et par conséquent de son activité.

Il existe deux principaux types d'interactions : celles dites pharmacodynamiques et celles dites pharmacocinétique.

Les interactions pharmacodynamiques :

Elles se caractérisent par une modification de la réponse à un médicament lorsque celui-ci est associé à un autre médicament, au niveau des récepteurs, des systèmes effecteurs ou des fonctions physiologiques, sans qu'il y ait modification des concentrations plasmatiques du premier médicament.

Les interactions pharmacocinétiques :

Elles se caractérisent généralement par des modifications du profil des concentrations plasmatiques des médicaments en cause. Ces modifications peuvent être générées au cours des processus d'absorption, de distribution, de métabolisme et ou d'élimination d'un médicament par l'action d'un autre médicament donné de façon concomitante.

Dans cette thèse nous aborderons essentiellement les interactions d'origines pharmacocinétiques qui sont les plus à risques et les moins prévisibles.

B. Les connaissances en pharmacocinétique et mécanismes d'interactions

La pharmacocinétique étudie le devenir du médicament dans l'organisme. On peut distinguer quatre étapes dans le circuit du médicament : son absorption, sa distribution dans l'organisme, son métabolisme et son élimination. Ces étapes sont communément appelées les étapes ADME :

- **L'absorption ou résorption** : cette étape se déroule après administration orale lors du passage au niveau de la barrière intestinale. Après absorption le médicament se retrouve dans les liquides extracellulaires dont la circulation plasmatique.
- **La distribution** : lorsque le médicament atteint la circulation plasmatique il est distribué dans différents compartiment pour atteindre sa cible ou pour être métabolisé, éliminé ou stocké.

- **Le métabolisme** : cela correspond à la transformation du médicament par une réaction enzymatique en ou plusieurs métabolites actifs ou inactifs. Cette étape se déroule principalement au niveau du foie.
- **L'élimination** : le médicament ou ses métabolites doivent être évacués de l'organisme ; plusieurs voies d'élimination sont possibles : les urines, la bile, la salive, la sueur...

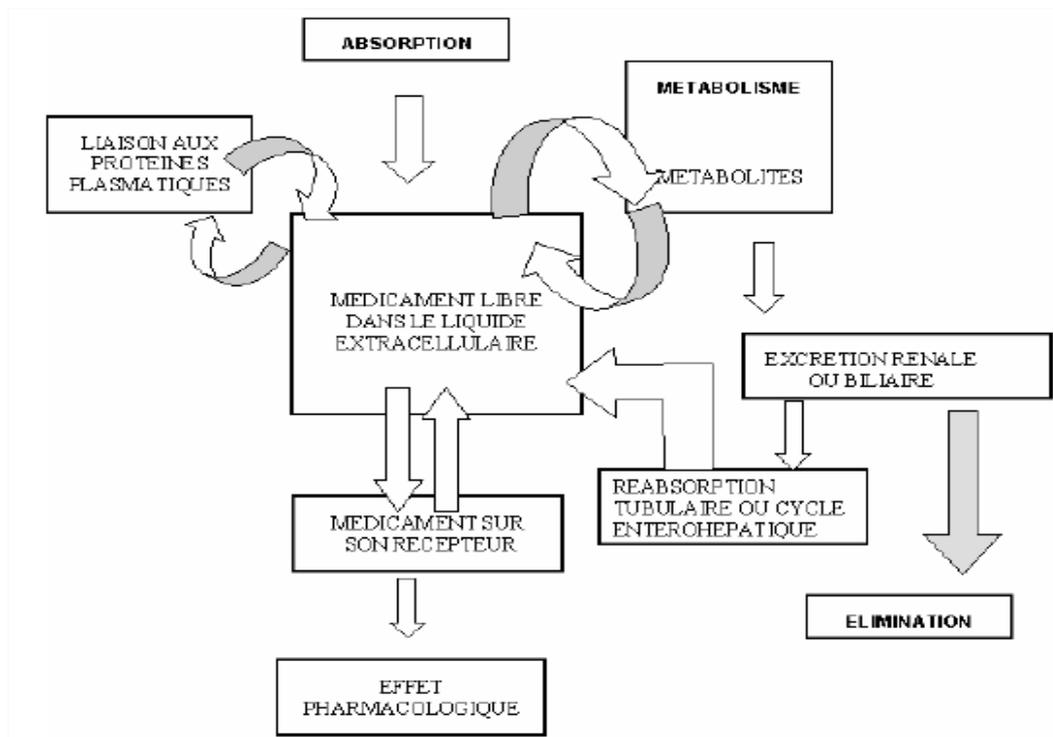


Figure 1 : Pharmacocinétique du médicament en plusieurs étapes [3]

L'évolution des connaissances dans les mécanismes de ces étapes a permis de mieux comprendre l'origine des interactions médicamenteuses.

Nous allons voir ci-après quelles peuvent être ces interactions en fonction des étapes ADME.

1. ABSORPTION

L'absorption est le processus par lequel le médicament, sous sa forme inchangée, passe de son site d'administration à la circulation générale. Avant d'arriver dans le sang, le médicament doit franchir plusieurs obstacles notamment celui de la barrière intestinale. À ce niveau, le médicament doit se retrouver sous forme dissoute pour pouvoir être absorbé. La quantité qui va traverser la barrière intestinale et la vitesse à laquelle elle va atteindre la circulation générale est décrite par le paramètre de biodisponibilité F . Ce paramètre va être influencé par les propriétés physico-chimiques de la molécule et par la durée de transit de la molécule dans le tractus digestif.

On appelle également « résorption » la fraction de la dose du médicament qui a été résorbée c'est à dire qui a franchi la barrière épithéliale.[4]

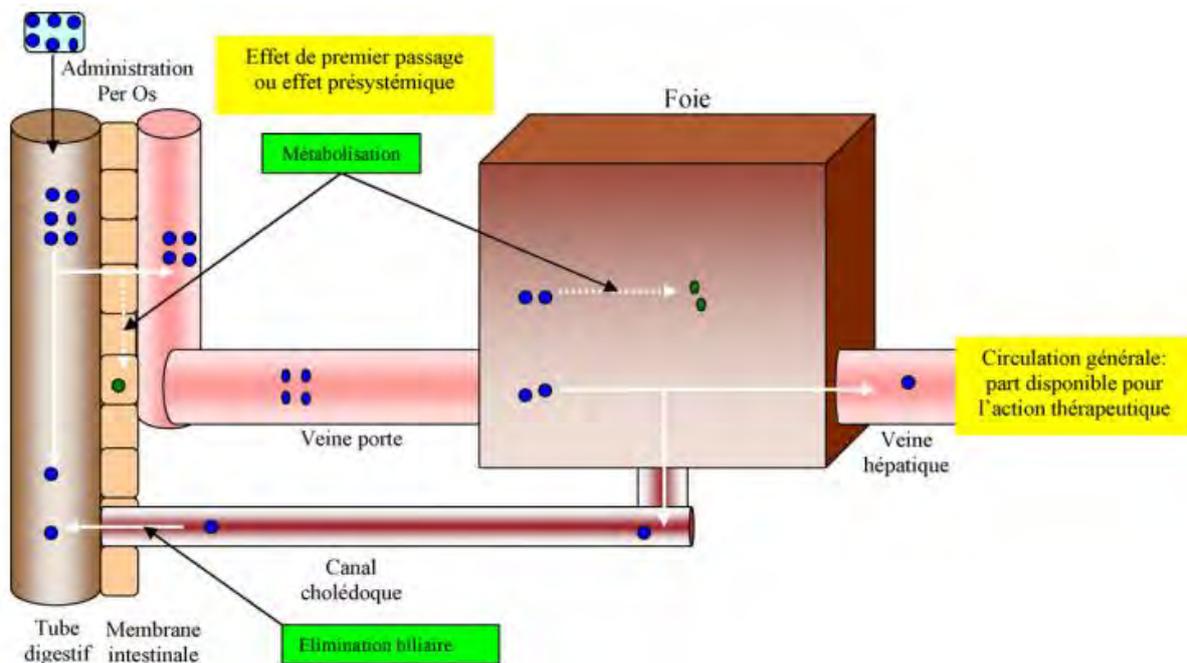


Figure 2 : Phase d'absorption d'un médicament administré par voie orale. [5]

1.1. Les interactions médicamenteuses à l'étape d'absorption :

Dans l'étape d'absorption le circuit du médicament peut être influencé par plusieurs facteurs. Si ces facteurs ont pour origine la co-administration avec un autre médicament alors nous sommes en présence d'une interaction.

Dans cette étape, les interactions peuvent être dues à un effet indirect d'une molécule sur le tractus gastro-intestinal ou un effet direct sur le pH gastrique, l'adsorption, l'absorption ou la chélation de molécules. Dans la plupart des cas ces interactions ont pour effet de réduire ou de retarder l'absorption intestinale des médicaments impactés. [6]

Lors de la phase d'absorption la pharmacocinétique des médicaments peut être influencée par :

1.1.1. La modification du pH gastrique

L'estomac est un des premiers lieux de passage des médicaments. À ce niveau, les médicaments peuvent être altérés par différents facteurs et ne pas arriver sous leur forme originale dans l'intestin pour être absorbés.

Un des facteurs à l'origine de cette altération est le pH de l'estomac. Celui-ci doit être autour de 1 ou 2 à état normal. La solubilité d'un médicament ou la dissolution de sa forme galénique peut être fortement dépendante du pH. Une augmentation de celui-ci peut modifier les propriétés chimiques du médicament et altérer son intégrité.

Les médicaments antiacides tels que les antihistaminiques H2 et les IPP (Inhibiteurs de la Pompe à Proton) augmentent le pH gastrique ce qui peut augmenter la solubilité d'autres acides ou diminuer la solubilité des bases faibles. Ils peuvent également adsorber ou

chélater d'autres molécules en formant des complexes solubles ou insolubles ce qui peut agir indirectement sur la vitesse de vidange gastrique. L'acidité gastrique va inhiber la vidange alors que l'alcalinisation va l'augmenter.

Exemple d'interaction: les IPP et les antihistaminiques H2 en augmentant le pH gastrique diminuent l'absorption des antifongiques azolés (kétoconazole, posaconazole, itraconazole) mais aussi celle d'inhibiteurs de tyrosine kinase (géfitinib, erlotinib, lapatinib).[7][8]

Les IPP largement prescrits sont également à l'origine d'autres types d'interactions tels que l'inhibition métabolique du CYP2C19 (voir section II.B.3.4.) et l'inhibition de l'excrétion via le transporteur BCRP (voir section II.B.4.2.3).

1.1.2. La modification de la vitesse d'absorption

Une fois administrée par voie orale, la molécule va séjourner dans l'estomac et sera ensuite évacuée vers l'intestin lors de la vidange gastrique. La vitesse de vidange gastrique ainsi que la motilité intestinale peuvent être des facteurs limitant dans le processus d'absorption intestinale de la molécule.

En effet certaines molécules peuvent affecter la motilité intestinale ou la vitesse de vidange gastrique et ainsi modifier l'absorption de médicaments pris simultanément. Une diminution de la motilité peut prolonger le temps de dissolution d'une molécule ou peut prolonger son temps de contact avec la surface intestinale conduisant à une augmentation du taux d'absorption. La vidange gastrique peut être régulée par le système nerveux et les molécules ciblant les neurotransmetteurs de ce système pourront agir sur le contrôle de la vidange.

Exemple d'interaction: les molécules à activité anticholinergique réduisent la motilité et la vitesse de vidange gastrique, à l'inverse le métoclopramide augmente la vitesse de vidange gastrique. Des études ont montré les effets de ces deux types de molécules sur les taux d'absorption de paracétamol: l'anticholinergique diminue son taux tandis que le métoclopramide l'augmente, ces effets étant corrélé à la vitesse de vidange gastrique. [6][9]

1.1.3. La formation de complexes de liaison

Les médicaments peuvent former des complexes insolubles par chélation dans le tractus intestinal. Cette chélation est formée par la liaison entre un ion métallique (exemple : aluminium, magnésium, fer et calcium) et une molécule organique conduisant à un composé insoluble incapable de passer à travers la barrière intestinale.

Exemple : certains antibiotiques tels que les cyclines forment des complexes avec les ions métalliques tels que le fer, le magnésium le calcium ou encore le zinc. Cette formation de complexes diminue fortement leur taux d'absorption au niveau intestinal.

Certains antibiotiques tels que la neomycine sont connus pour causer un syndrome transitoire de malabsorption gastro-intestinale. La molécule va se lier et faire précipiter des acides gras et des acides biliaires ce qui va réduire l'absorption de graisse au niveau

intestinal. Il a été démontré que cette malabsorption perturbe l'absorption de composés tels que les vitamines 1 et B12, la digoxine ou la pénicilline. [6][10]

1.1.4. Interactions au niveau de la barrière intestinale

L'étape finale dans l'absorption d'un médicament est sa résorption par la barrière intestinale. À ce niveau la solubilité du médicament est un des facteurs limitant pour son passage au travers de la barrière.

Il existe différents types de passages dont certains sont principalement utilisés par les médicaments comme le passage transcellulaire (figure 3, a) ; il existe également le passage paracellulaire (figure 3, b)) et les mécanismes de transcytose et d'endocytose (figure 3, c et d).

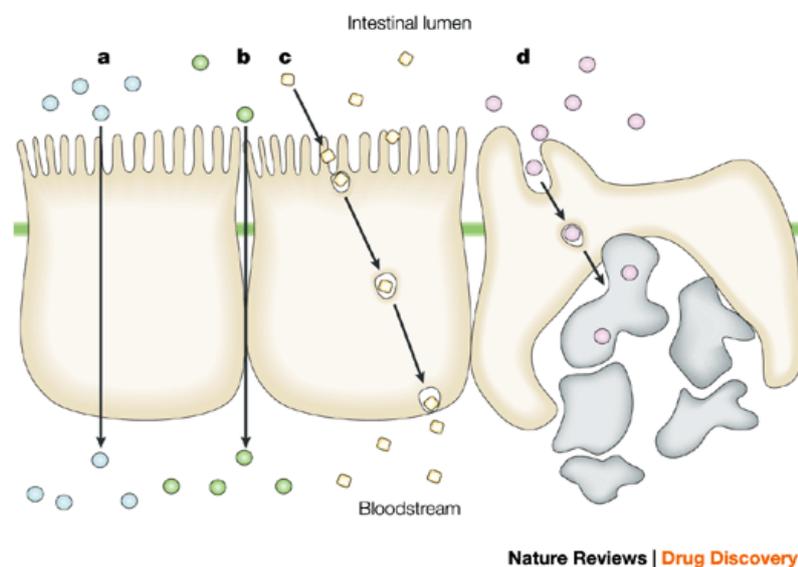


Figure 3 : Les différentes voies d'absorption au niveau de la barrière intestinale. [11]

Le passage transcellulaire, nécessitant le franchissement de la membrane cytoplasmique de la cellule peut se faire grâce à plusieurs mécanismes : la diffusion passive, la diffusion facilitée ou le transport actif.

La *diffusion passive* est le mécanisme le plus souvent retrouvé dans le passage transmembranaire des médicaments. Il est décrit par la loi de Fick qui indique que la diffusion se fait selon un gradient de concentration et jamais contre ce gradient: le médicament va ainsi diffuser du milieu le plus concentré au milieu le moins concentré. C'est un mécanisme non saturable et non spécifique, il n'y a pas de compétition entre les molécules à ce niveau.

Certains facteurs peuvent influencer la diffusion passive : le gradient de concentration, la taille de la molécule (une molécule de grande taille ou fixée à des protéines diffusera plus facilement), la lipophilie (une molécule lipophile diffuse mieux à travers les membranes

cellulaires), l'état d'ionisation de la molécule (les formes non ionisées peuvent passer la barrière) ainsi que le pH du milieu qui modulera l'état d'ionisation de la molécule.[3]

Il existe également une *diffusion* dite *facilitée* dans le sens du gradient de concentration : ce mouvement est facilité par l'intermédiaire de transporteurs.[3]

Le *transport actif* correspond au passage d'une molécule au travers une membrane contre le gradient de concentration. Ce passage nécessite l'utilisation de transporteurs avec de l'énergie et est saturable. Il est en général spécifique et est soumis à des mécanismes d'inhibition et de compétition entre les molécules substrats. Ces mécanismes peuvent être à l'origine d'interactions médicamenteuses.[3] Il existe de nombreux transporteurs spécifiques de médicaments au niveau de la barrière intestinale. Ils seront détaillés dans la section I.B.4.2.

Concernant le transport paracellulaire, celui-ci se fait entre les cellules et seules les molécules de faible poids moléculaire peuvent l'utiliser.[11]

1.2. Interactions entre l'alimentation et les médicaments

L'alimentation peut avoir un impact sur les médicaments pris par voie orale. Certains aliments sont à l'origine d'une modification des concentrations plasmatiques des médicaments ce qui peut provoquer des effets indésirables ou conduire à une absence d'efficacité thérapeutique.

1.2.1. Impact de l'alimentation sur l'absorption[12]

Lors de la phase d'absorption, la composition d'un repas peut influencer l'absorption des médicaments au niveau de la barrière intestinale. Les interactions qui en résultent peuvent être classées en différentes catégories : la diminution, le retard, l'augmentation ou l'accélération de l'absorption des médicaments.

Les interactions avec l'alimentation peuvent être dues aux propriétés physicochimiques et énantiomorphiques des médicaments, au moment de la prise du repas par rapport à la prise du médicament, à la quantité et la composition du repas et la dose du médicament administré. En fonction du facteur incriminé, les conséquences cliniques peuvent être différentes :

- Une absorption retardée : la prise d'un repas peut provoquer un ralentissement de la vidange gastrique et/ou une augmentation du pH de l'estomac. L'effet sur le médicament administré résulte en une diminution de son C_{max} et en un T_{max} plus long. La conséquence clinique peut être un retard dans l'apparition des effets thérapeutiques. Exemples de molécules affectées : carvedilol, vérapamil, nifédipine.
- Une absorption diminuée : la prise d'un repas peut diminuer l'absorption de molécules instables dans le fluide gastro-intestinal ou de molécules qui interagissent

avec des composants alimentaires. Une augmentation de la viscosité du contenu du tractus gastro-intestinal peut également réduire l'absorption ; cette viscosité résultant de composants présents dans l'alimentation. Exemples de molécules affectées : l'aspirine et le kétoprofène.

- Une absorption augmentée ou accélérée : la prise d'aliments peut favoriser l'absorption de certaines molécules peu solubles dans le fluide gastro-intestinal. En effet lors de la prise d'un repas, la vidange gastrique est retardée et la sécrétion de bile est augmentée ce qui peut augmenter la dissolution des molécules et favoriser leur absorption. Exemples de molécules dont l'absorption est favorisée par la sécrétion de bile : la ciclosporine, l'halofantrine, la griseofulvine et le danazol. La prise alimentaire a également un impact sur le flux sanguin splanchnique et hépatique. Le repas augmente le flux sanguin splanchnique et peut ainsi améliorer l'absorption de certaines molécules. En effet l'augmentation du flux splanchnique peut induire une diminution du métabolisme lors du passage hépatique et ainsi contribuer à une meilleure biodisponibilité pour les molécules subissant un fort effet de premier passage hépatique avec une clairance hépatique saturable.

La prise alimentaire peut également avoir un impact sur la libération des molécules d'une forme pharmaceutique particulière.

1.2.2. Impact de l'alimentation sur la biodisponibilité [12]

La prise d'un repas peut avoir un impact sur la biodisponibilité des molécules et par conséquent sur leur effet thérapeutique. Certaines molécules ont leur biodisponibilité augmentée en présence d'un repas tandis que d'autres l'ont diminuée. Ces variations sont dues aux différentes propriétés physico-chimiques des médicaments. Certaines études ont même démontré une différence de biodisponibilité entre les molécules énantiomères R et S.

La composition du repas est également un facteur important dans la variation de la biodisponibilité de certains médicaments : pour la majorité des molécules elle est favorisée par un repas riche en graisse par rapport à un repas riche en protéine ou en fibres.

1.2.3. Impact de l'alimentation sur le métabolisme

Certains aliments peuvent avoir un effet important sur le métabolisme des médicaments en modifiant leur concentration plasmatique.

Le jus de pamplemousse est connu pour avoir un effet significatif sur la biodisponibilité orale de certaines molécules. Il peut augmenter la biodisponibilité des médicaments métabolisés par le cytochrome P450 3A4 en inhibant celui-ci. Exemple : les biodisponibilités du midazolam, du triazolam, de la nifédipine et de la ciclosporine sont augmentées lorsque ces molécules sont prises avec du pamplemousse. [12][13]

D'autres variétés de jus de fruits (pomme ou orange) peuvent également inhiber certains transporteurs d'influx au niveau des entérocytes tels que les OATP (voir section I.B.4.2). La co-administration de ces jus avec des médicaments substrats de ces transporteurs d'influx (ex : certaines statines, sartans, bêta-bloquants, thyroxine, benzylpénicilline...) réduit leur biodisponibilité orale. [13]

Les recommandations sur les études d'interactions lors de l'étape d'absorption sont décrites dans la section II.B.1.

2. DISTRIBUTION

L'étape de distribution correspond au moment où le médicament atteint la circulation générale et où il est distribué dans l'organisme pour atteindre ses cibles pharmacologiques. La distribution du médicament et son entrée dans un tissu dépendent du type de tissu, de sa perfusion et vascularisation sanguine, du pH environnemental et de la perméabilité des membranes cellulaires.

Le phénomène de distribution est représenté par le Volume de Distribution apparent (Vd). Ce volume représente le volume total théorique dans lequel il faut diluer le médicament administré pour avoir une concentration égale à la concentration plasmatique. Une molécule avec un grand Vd va plus se distribuer dans les tissus et va peu rester dans la circulation plasmatique. [4]

2.1. Interactions par déplacement des protéines plasmatiques

Dans la circulation plasmatique le médicament circule sous deux formes : une forme dissoute libre et active, et une forme liée inactive. La liaison du médicament avec des protéines plasmatiques (albumine, l' α 1-acide glycoprotéine et lipoprotéine) peut se faire de façon plus ou moins forte et réversible en formant des complexes. La fixation aux protéines plasmatiques dépend des caractéristiques physico-chimiques du médicament et du taux de protéines plasmatiques dans le sang. Les molécules acides (ex : pénicillines, sulfonamides, doxycycline, et clindamycine) sont en général liées à l'albumine de manière forte et sur un petit nombre de sites tandis que les molécules basiques (ex : erythromycine) peuvent être liées à l'albumine de manière faible et sur un grand nombre de sites ; ces molécules basiques peuvent aussi se lier de préférence à la glycoprotéine. Seule la forme libre des molécules est susceptible de passer les barrières biologiques et d'exercer son action pharmacologique.[10]

Les mécanismes d'interaction peuvent s'expliquer par une compétition au niveau des sites de fixation aux protéines plasmatiques. En fonction de la concentration plasmatique des médicaments et de leur affinité pour les protéines plasmatiques, un médicament peut déplacer un autre médicament de ses sites de liaison et augmenter la quantité de sa forme libre, et donc son activité. Les interactions impliquant le déplacement des sites de liaison à l'albumine peuvent être cliniquement significatives : si la molécule impactée a plus de 80%

de liaison aux protéines, si elle a un fort coefficient d'extraction hépatique et si elle a une marge thérapeutique étroite et un faible volume de distribution. Une augmentation temporaire des concentrations peut être cliniquement significative avec la warfarine et la phénitoïne bien que les concentrations libres à l'état d'équilibre restent inchangées.[10]

Cependant les interactions par déplacement ayant un effet cliniquement significatif restent controversées. Lorsqu'une molécule est déplacée de ses sites de liaison cela augmente ses concentrations libres. Avant l'on pensait que ces concentrations libres restaient élevées dans le plasma maintenant il apparaît que la forme libre de la molécule se disperse rapidement et qu'elle peut se distribuer dans les tissus. Quand l'équilibre est à nouveau atteint les concentrations libres plasmatiques seront à nouveau les mêmes ou proches du niveau avant l'interaction. La concentration totale (libre et non libre) va diminuer lorsque l'équilibre avec la forme libre sera atteint. La conséquence de l'interaction par déplacement sera donc une diminution de la concentration totale plasmatique mais une concentration de la fraction libre inchangée. Or ce sont les formes libres qui peuvent être responsables des actions pharmacologiques ou toxiques et les effets observés après une interaction sont en général transitoires et non cliniquement significatifs.[9]

2.2. Interactions dues à une altération du transport

Il existe des interactions au niveau des protéines de transport qui peuvent conduire à une altération de la distribution de la molécule dans les organes où ces transporteurs sont exprimés. Voir section I.B.4.2 sur les transporteurs.

Les recommandations sur les études d'interactions lors de l'étape de distribution sont décrites dans la section II.B.2.

3. METABOLISME

Le métabolisme d'un médicament ou d'une molécule fait référence à sa transformation par l'organisme en un ou plusieurs composés actifs ou inactifs. Cette transformation se fait grâce à des réactions enzymatiques qui ont lieu dans de nombreux tissus dont le foie qui est l'un des principaux sites de métabolisme. Les médicaments agissent en tant que substrats des enzymes du métabolisme car peuvent se lier sur les sites actifs des enzymes et sont transformés par l'enzyme en un ou plusieurs produits.

En général on divise les réactions de métabolisme en deux phases : les réactions de phase I et les réactions de phase II. Dans les réactions de phase I on retrouve le système enzymatique le plus connu et responsable du métabolisme de nombreux médicaments : le cytochrome P450. Ce système enzymatique est à l'origine de réactions d'oxydation, de réduction et d'hydrolyse dans les membranes des hépatocytes. Les réactions de phase II sont des mécanismes de conjugaisons tels que la glucuroconjugaison ou la sulfation.[10]

3.1. Les réactions de phase I [14][10]

Les réactions de métabolisme de phase I sont réalisées par le système enzymatique des cytochromes P450. Ce système est constitué d'hémoprotéines qui interviennent dans des réactions d'oxydoréduction et d'hydrolyse de substances afin d'en permettre l'élimination. Les cytochromes sont présents dans le foie, l'intestin et les surrénales et sont responsables de la biotransformation de la majorité des médicaments en substances inactives ou actives.

- Les familles des cytochromes :

Les cytochromes P450 font partie d'une super famille comprenant 57 gènes dont 15 sont impliqués dans le métabolisme des médicaments. En effet, 90% du métabolisme des médicaments passe par les CYP et particulièrement ceux des familles 1, 2 et 3. Plus de 2000 substrats des CYP ont été identifiés.

La famille des CYP1 comprend trois isoformes (CYP1A1, 1A2, 1B1). L'expression des CYP1A1 et CYP1B1 est principalement extra hépatique, à l'inverse, celle du CYP1A2 est essentiellement hépatique. Cette famille métabolise par exemple : bortézomib, erlotinib, propranolol, clozapine, duloxérine...[8]

La famille des CYP2 est la plus grande famille des CYP chez l'homme ; les CYP2C et 2D sont quantitativement les plus importants de cette famille dans le foie. Les CYP2C comprennent quatre gènes : CYP2C8, 2C9, 2C18 et 2C19. Cette famille métabolise un grand nombre de médicament tels que le losartan, la fluvastatine, des AINS, la warfarine...

La famille des CYP3 comprend quatre isoformes dont celui du CYP3A4 essentiellement exprimé dans le foie. Le CYP3A4 est responsable de plus de 50% du métabolisme des médicaments dont celui d'antibiotiques, d'anesthésiques, d'antihistaminiques, de corticostéroïdes, de statines, d'antirétroviraux, d'immunosuppresseurs...

Les interactions médicamenteuses interviennent dans la majorité des cas dans l'étape de métabolisme et particulièrement au niveau des cytochromes. Deux mécanismes d'interactions ont été identifiés à ce niveau : des mécanismes d'inhibitions de cytochromes et des mécanismes d'inductions de cytochromes. Ces réactions sont détaillées ci-après dans la section I.B.3.5.

- Polymorphisme génétique :

Certaines familles de cytochromes sont soumises à un polymorphisme génétique. Ces polymorphismes sont générés par des mutations génétiques dans au moins 1% de la population. Les sous-populations générées diffèrent dans leur capacité à métaboliser les médicaments. Des polymorphismes cliniquement significatifs ont été documentés pour les familles 2D6, 2C9 et 2C19. Les populations déficientes en enzymes du métabolisme ont un risque augmenté de toxicité car ne peuvent pas inhiber certains médicaments ou ont un risque d'inefficacité thérapeutique lorsque les pro-drogues ne peuvent pas être activées.

Aujourd'hui il est recommandé d'étudier les effets d'interactions dans ces sous-types de population (voir section II.A.3.1.2. « Populations spéciales »).

3.2. Les réactions de phase II

Les mécanismes de métabolisme de phase II sont des réactions de conjugaison qui consistent en un transfert de groupes polaires endogènes sur les molécules. Ces réactions sont réalisées par différentes enzymes appartenant à la famille des UGT (UDP-glucuronosyltransférases) ou des transférases. La majorité des réactions de conjugaison sont celles de glucuroconjugaisons réalisées par les UGT.[15][16]

Dans cette super famille, deux groupes de gènes sont connus, les UGT1 et les UGT2 ainsi que trois sous-famille les UGT1A, UGT2A et UGT2B. Toutes les enzymes de cette famille de gènes reconnaissent une même région de l'acide glucuronique qu'elles transfèrent sur des substances pour les rendre plus hydrosolubles et les éliminer plus facilement au niveau des urines ou de la bile.[15]

Comme vu précédemment pour les cytochromes, il existe également des mécanismes d'inhibition et d'induction de ces enzymes qui sont responsables d'interactions médicamenteuses (voir section I.B.3.5.).

- Polymorphisme génétique :

Les UGT sont également soumis à un polymorphisme génétique peu étudié pouvant rendre difficile l'analyse des mécanismes d'interactions. En effet, certains variants alléliques peuvent être à l'origine d'une augmentation ou d'une réduction de l'activité enzymatique des UGT.[17]

Exemple : le polymorphisme de l'UGT1A1 affecte les taux du SN38, l'actif métabolique de l'irinotécan engendrant des effets sur la sécurité et l'efficacité de ce traitement.[2]

Aujourd'hui il est recommandé d'étudier les interactions dans ces sous-types de population (voir section II.A.3.1.2. « Populations spéciales »).

3.3. Autres enzymes de métabolisme

Les médicaments peuvent être également métabolisés par d'autres enzymes que les cytochromes ou les UGT. Ces autres voies métaboliques peuvent être les voies principales d'élimination de certains médicaments.

Parmi ces enzymes il existe les mono-oxygénases à flavines, les alcool/aldéhyde déshydrogénases (ADH et ALDH), les monoamine oxydases, les prostaglandine synthases (ou cyclo-oxygénases), les xanthine oxydases...[2]

Des interactions médicamenteuses peuvent également se produire au niveau de ces enzymes.

3.4. Les métabolites

Les métabolites formés peuvent avoir une activité pharmacologique et/ou toxicologique. Ces métabolites doivent être étudiés dans des études d'interaction. Le choix des métabolites à étudier se fait en fonction des connaissances sur leur activité (voir section II.B.3).

3.5. Interactions médicamenteuses lors du métabolisme

La connaissance des systèmes enzymatiques intervenant dans le métabolisme d'une molécule permet d'étudier et d'identifier les interactions susceptibles d'avoir lieu au cours de cette étape. L'évaluation de ces interactions permet d'identifier les conséquences cliniques significatives pouvant survenir lors de l'administration de plusieurs molécules.

Un important système de régulation contrôle l'expression des enzymes du métabolisme : leur expression peut être induite ou inhibée voire supprimée. Certaines molécules vont agir en inhibant les enzymes, elles seront appelées inhibiteurs enzymatiques ; d'autres vont agir en modulant la synthèse des enzymes ce seront des inducteurs enzymatiques. Les interactions médicamenteuses vont avoir lieu lorsque plusieurs médicaments vont interagir avec les mêmes enzymes métaboliques.

Lors d'inhibitions enzymatiques : un médicament A peut être co-administré avec un médicament B inhibiteur de l'enzyme dont A est substrat. Par conséquent A sera moins métabolisé et moins éliminé et verra ses concentrations plasmatiques augmentées ; cette interaction sera à l'origine d'un surdosage de A et potentiellement d'une toxicité.

Lors d'inductions enzymatiques : un médicament C peut être co-administré avec un médicament D inducteur de l'enzyme dont C est substrat. Par conséquent C sera plus métabolisé et éliminé et ses concentrations plasmatiques vont chuter ; cette interaction sera à l'origine d'une diminution de l'effet thérapeutique de C.

Nous allons voir ci-après quels sont les mécanismes d'inhibition et d'induction enzymatique.

3.5.1. Inhibition d'enzymes

3.5.1.1. Généralités

Un inhibiteur enzymatique est une substance qui se lie à une enzyme et qui en diminue l'activité soit en empêchant la fixation du substrat (i.e. médicament) sur son site de fixation soit en rendant l'enzyme inactive.

Le métabolisme d'un médicament peut être inhibé par trois mécanismes : l'inhibition réversible, l'inhibition quasi-irréversible et l'inhibition irréversible :

- L'inhibition réversible :

Elle correspond à une liaison non covalente et peu stable entre l'enzyme et son inhibiteur ; l'enzyme n'est donc pas totalement inhibée. Il existe plusieurs types d'inhibiteurs : compétitifs, incompétitifs, non-compétitifs et mixtes.

L'inhibiteur compétitif a des propriétés structurales communes au substrat de l'enzyme et rentre en compétition avec lui au niveau de son site de liaison. La réaction enzymatique est ainsi bloquée par l'inhibiteur. Certains inhibiteurs peuvent aussi se fixer sur un site de liaison différent de celui du substrat et changer la conformation de l'enzyme l'empêchant ainsi de reconnaître son substrat. Cette inhibition peut être levée en augmentant les concentrations du substrat de l'enzyme jusqu'à ce que l'inhibiteur se dissocie de l'enzyme.[18][19]

L'inhibition compétitive est à l'origine des interactions médicamenteuses les plus fréquentes et a provoqué le retrait du marché de plusieurs médicaments (terfenadine, mibefradil, bromfenac, cisapride, cerivastatine [18]). Cette inhibition conduit à une augmentation de la biodisponibilité du médicament substrat de l'enzyme inhibée ce qui peut engendrer un surdosage et potentiellement une toxicité. L'inhibition réversible est le phénomène le plus fréquent.

Dans les études d'interactions on utilise des inhibiteurs et des substrats de cytochromes et d'UGT connus ; les plus utilisés sont répertoriés dans les annexes 1 et 2.[19][17]

Exemples d'inhibiteurs [7][17]:

- Inhibiteurs du CYP3A4 : antifongiques azolés (kétoconazole), macrolides (clarithromycine, érythromycine, télithromycine), inhibiteurs de protéases (ritonavir, nelfinavir) ;
- Inhibiteurs du CYP2D6 : cimétidine, amiodarone, venlafaxine, duloxetine, quinidine, ritonavir ;
- Inhibiteur des UGT : tacrolimus, ciclosporine.

Certaines molécules peuvent inhiber plusieurs cytochromes ou UGT. Exemple : l'érythromycine inhibe le CYP3A4, le CYP3A5 et le CYP1A2. Cette molécule comme la plupart des macrolides peut inhiber également des transporteurs (voir section I.B.4.2.).[8]

Exemples d'interactions [8]: l'association de macrolides (inhibiteurs du CYP3A4) et de cisapride (substrat du 3A4) provoque une augmentation des concentrations plasmatiques du cisapride et un effet dose-dépendant conduisant à des torsades de pointes.

Un inhibiteur incompétitif ne se fixe jamais à une enzyme libre mais toujours à une enzyme liée à un substrat. Cette inhibiteur n'entre pas en compétition avec le substrat sur son site de liaison mais se fixe sur un autre site mis à jour lors de la fixation du substrat ce qui modifie la conformation de l'enzyme. L'inhibiteur lié modifie à son tour la conformation de l'enzyme et empêche la réaction enzymatique et la formation de produit.

Un inhibiteur non compétitif peut se lier avec une même affinité à la fois à l'enzyme seule ou à l'enzyme liée à son substrat. Cet inhibiteur n'entre pas en compétition avec le substrat sur

le même site de liaison, il se fixe sur un autre site entraînant une modification de la conformation de l'enzyme et du site actif. Ce changement de conformation n'empêche pas le substrat de se fixer sur le site actif mais empêche la réaction enzymatique.

Un *inhibiteur mixte* se lie à la fois à l'enzyme seule et à l'enzyme liée à son substrat mais avec des affinités différentes.

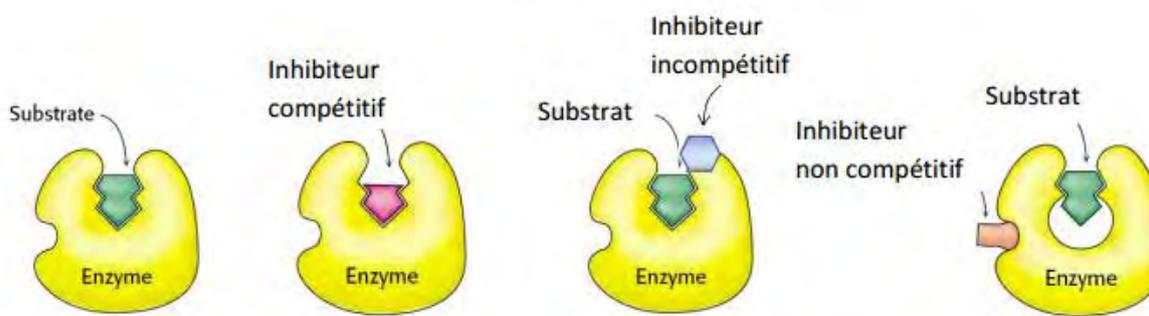


Figure 4 : les différents types d'inhibiteurs enzymatiques. [20]

- L'inhibition irréversible :

Elle correspond à une liaison covalente et stable entre l'enzyme et son inhibiteur. L'enzyme reconnaît l'inhibiteur comme son substrat et va entamer son action catalytique. L'inhibiteur est dit inhibiteur suicide et inactive l'enzyme de façon permanente. Ce type d'inhibition est appelée « mechanism-based inhibition » (MBI).

- Inhibition Temps Dépendante (TDI) :

Ce mécanisme correspond à une modification de la puissance des inhibiteurs des CYP (le plus souvent une augmentation) avec le temps pendant une incubation *in vitro* ou une période de traitement *in vivo*. Ce mécanisme inclut la formation de métabolites inhibiteurs et des MBI. Lors de ce type d'inhibition, l'interaction est généralement accentuée avec le temps après administration de plusieurs doses et va durer plus longtemps après arrêt de l'inhibiteur par rapport à une inhibition réversible.[21]

Exemple de médicaments à l'origine d'une TDI du CYP3A : inhibiteurs de la protéase du HIV (ritonavir, saquinavir), macrolide (erythromycine, clarythromycine), diltiazem et verapamil. La paroxétine est à l'origine d'une TDI du CYP2D6 et inhibe le métabolisme de la désipramine, du tamoxifène, du dextromorphane et du bufuralol.[2]

- Puissance des inhibiteurs :

Les inhibiteurs peuvent être classés selon leur puissance en inhibiteurs forts, modérés à faibles. Selon les recommandations de la FDA [2][22][19], les inhibiteurs sont classés en fonction de l'accroissement de l'AUC *in vivo* du substrat spécifique de l'enzyme lorsque l'inhibiteur est co-administré avec d'autres médicaments. Par exemple les inhibiteurs du CYP3A sont classés en fonction de la modification de l'AUC du midazolam co-administré. Un inhibiteur est faible lorsque l'AUC du substrat est augmenté d'au moins 1,25 fois jusqu'à moins de 2 fois (ou lorsqu'a pour conséquence une diminution de 20 à 50% de sa clairance).

Un inhibiteur est modéré lorsqu'il augmente l'AUC du substrat d'au moins 2 fois jusqu'à moins de 5 fois (ou lorsque a pour conséquence une diminution de 50 à 80% de sa clairance). Enfin un inhibiteur est fort lorsqu'il augmente d'au moins 5 fois l'AUC du substrat (ou lorsqu'a pour conséquence une diminution de plus de 80% de sa clairance). Voir le classement des inhibiteurs, section II.B.3.4.2.1.

3.5.1.2. Les paramètres cinétiques d'inhibition

- La constante d'inhibition K_i :

L'affinité d'un inhibiteur pour une enzyme est représentée par la constante d'inhibition K_i (ou constante de dissociation) qui représente la concentration en inhibiteur pour laquelle la moitié des sites enzymatiques sont occupés. Plus K_i est petit, plus l'affinité de l'inhibiteur pour l'enzyme est grande. La constante d'inhibition est utile pour caractériser la puissance d'un inhibiteur car elle est indépendante de la concentration du substrat.[18][19]

- L'IC₅₀:

Représente la concentration en inhibiteur provoquant 50% d'inhibition de l'enzyme. Ce paramètre est utilisé pour représenté l'efficacité d'un inhibiteur.

- La constante de Mickaelis-Menten K_m :

La constante K_m représente l'affinité du substrat pour l'enzyme, elle caractérise la réaction enzymatique. Elle correspond à la concentration de substrat pour laquelle la vitesse de réaction est à la moitié de sa valeur maximale. Elle est inversement proportionnelle à l'affinité de l'enzyme pour le substrat : plus le K_m est faible plus l'affinité pour l'enzyme est forte. Les réactions enzymatiques sont en général représentées par l'équation de Mickaelis-Menten suivante [18]:

$$v = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + [S]}$$

Où v est la vitesse de la réaction pour une concentration en substrat $[S]$ et V_{\max} la vitesse maximale de réaction lorsque le taux de formation de métabolite est maximal.

Lors d'une inhibition compétitive, la vitesse de réaction est représentée par l'équation suivante :

$$v = \frac{V_{\max} [S]}{K_m(1 + ([I]/K_i)) + [S]}$$

Où $[I]$ est la concentration en inhibiteur et K_i la constance d'inhibition pour l'association inhibiteur/enzyme sur le site de liaison du substrat.

- Paramètres cinétiques des inhibitions irréversibles :

On utilise K_{inact} , la constante de la vitesse maximale d'inactivation; K_i la concentration de l'inhibiteur associé à la moitié de K_{inact} ; $[I]$ la concentration de l'inhibiteur au site actif de l'enzyme ; et K_{deg} la constante de la vitesse de dégradation de l'enzyme *in vivo*. [21]

3.5.2. Induction d'enzymes

L'induction enzymatique se définit par une augmentation de l'activité de systèmes enzymatiques par des substances appelées inducteurs enzymatiques (ligands endogènes ou xénobiotiques). L'inducteur agit directement au niveau de l'ADN via l'action de ligands facteurs de transcription qui vont se fixer à des récepteurs nucléaires (ex : PXR, CAR, AhR) et qui vont induire la synthèse de nouvelles enzymes (cytochromes et/ou UGT). Ce mécanisme nécessite 10 à 15 jours d'action par l'inducteur pour être complètement effectif. Après arrêt de l'administration de l'inducteur l'effet persiste plusieurs jours et diminue progressivement. [6][14]

Les différents récepteurs nucléaires et les mécanismes d'induction sont décrits ci-après :

3.5.2.1. Les principaux récepteurs nucléaires [14][19][23][24]

Les récepteurs nucléaires sont des récepteurs intracellulaires. Ils fonctionnent comme des facteurs de transcription activés par la liaison avec leur ligand. Ils possèdent deux domaines de liaisons : un domaine de liaison à l'ADN permettant la reconnaissance de séquences d'ADN spécifiques dénommées HRE (Hormone Responsive Element), et un domaine de liaison au ligand. En l'absence de leur ligand les facteurs de transcription sont bloqués par des protéines, l'arrivée du ligand entraîne le départ des protéines et libère le facteur de transcription qui pourra exercer son activité. Les ligands endogènes sont en général petits et lipophiles.

- *Le récepteur PXR (Pregnane X Receptor) :*

Il est aussi appelé récepteur des stéroïdes et xénobiotiques (SXR) ou récepteur activé par les pregnanes. Le PXR est exprimé surtout au niveau du foie mais également au niveau de l'intestin grêle, du colon et de la glande mammaire. Il est exclusivement nucléaire et s'hétérodimérise avec le récepteur RXR de l'acide rétinoïque. L'inducteur le plus puissant connu de ce récepteur est l'hyperforine, molécule issue du millepertuis utilisée en phytothérapie et pouvant être à l'origine d'interactions médicamenteuses. PXR va réguler les gènes codant pour les enzymes de phase I (CYP2B6, 2C8, C9, 3A4 et 7) ainsi que les gènes des enzymes de phase II tels que les glutathion S transférases, les sulfotransférases et les UDP-glucuronosyltransférases. Il peut également activer le gène MDR1 codant pour la protéine de transport P-gp.

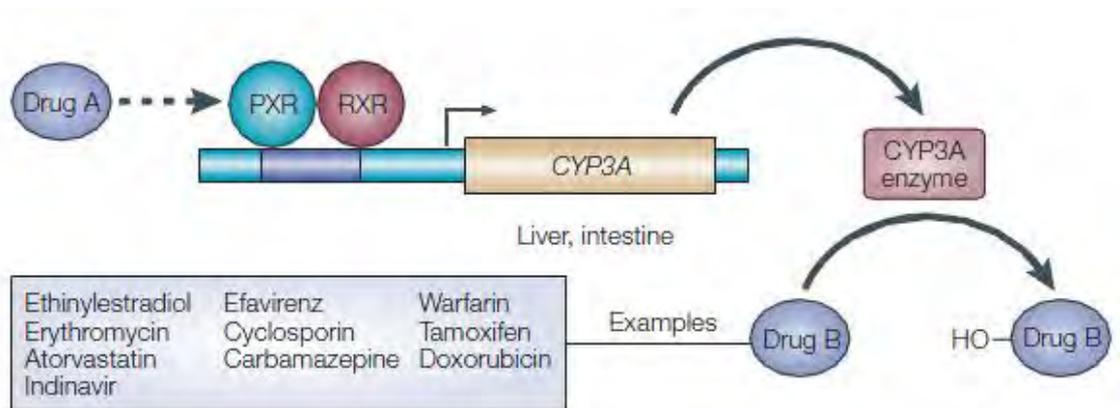


Figure 5 : Mécanisme d'interaction via PXR.[24]

Exemple : PXR régule l'expression du gène du CYP3A4 dans le foie et l'intestin. Lorsqu'un inducteur se lie au PXR il provoque sa liaison à RXR et l'induction de la transcription des gènes du CYP3A4. Le nombre de CYP3A4 augmente ce qui augmente le métabolisme des molécules substrats du CYP3A4.

- *Le récepteur CAR (Constitutive Androstane Receptor) :*

CAR est essentiellement présent dans le foie. Il interagit avec les métabolites endogènes de la testostérone (androstanol et androstenol) qui se fixent sur le site de fixation du ligand provoquant une inhibition de CAR. A l'inverse de cette régulation négative des médicaments tel que phénobarbital vont augmenter le déplacement de CAR vers le noyau pour qu'il assure son activité transcriptionnelle. CAR va induire les gènes codant pour les enzymes de phase I CYP2B6, 2C9 et 2C19. Il existerait une interaction entre les voies de PXR et CAR dans la régulation de ces gènes.

- *Le récepteur AhR (Aryl hydrocarbon Receptor) :*

AhR est présent dans la glande mammaire, le foie, le système nerveux central, le système cardiovasculaire et l'utérus. La liaison du ligand sur AhR entraîne sa translocation vers le noyau où il s'associe avec l'AhR-nuclear translocator (Amt) ; le dimère Amt-AhR associé au ligand se fixe sur les gènes cibles. Il va induire une centaine de gènes dont ceux du CYP1A1 et 1B1.

- *Les récepteurs PPAR (Peroxisome Proliferative Activated Receptor) :*

Il existe trois isotypes de ces récepteurs impliqués particulièrement dans la régulation de l'homéostasie glucidique, du métabolisme des lipides et de la prolifération et différenciation cellulaire. Les acides gras poly-insaturés sont des ligands endogènes de ces récepteurs et parmi les ligands exogènes (médicaments) on retrouve la classe des fibrates. PPAR va participer à la transcription des gènes d'enzymes de phase I tels que les CYP1A, CYP2A, CYP2C et CYP2E mais aussi des gènes de phase II tels que UGT1A4 et UHT2B4.

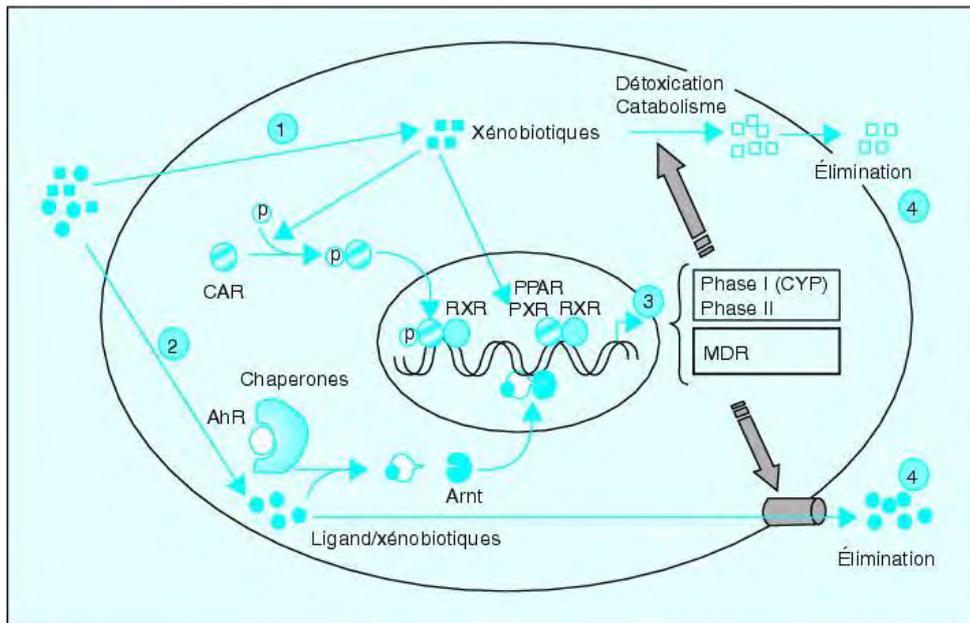


Figure 6 : Régulation de la détoxification et du catabolisme des xénobiotiques par les récepteurs nucléaires PXR, PPAR, CAR et le facteur de transcription AhR. [14]

3.5.2.2. Interactions médicamenteuses par induction

Comme vu précédemment l'induction enzymatique a un effet sur la synthèse des enzymes du métabolisme. Un médicament inducteur enzymatique va avoir un effet sur le métabolisme d'autres molécules : un médicament substrat d'une enzyme induite va voir son métabolisme augmenté et ses concentrations plasmatiques diminuées lorsqu'il est associé à un médicament inducteur. Cette induction aura pour conséquence une diminution des effets thérapeutiques du médicament substrat victime du médicament inducteur. Mais il existe d'autres conséquences cliniques de l'induction enzymatique plus à risques d'événements indésirables : l'augmentation de synthèse de métabolites actifs conduisant à une augmentation de l'effet thérapeutique ou l'augmentation de synthèse de métabolites toxiques engendrant des effets indésirables.

L'effet inducteur n'est pas spécifique et peut toucher plusieurs types d'enzymes de phase I et de phase II mais également des transporteurs.

Exemples d'inducteurs enzymatiques : certains antiépileptiques (carbamazépine, osphénytoïne, phénobarbital, phénytoïne, primidone, rufinamide), certains antibactériens (rifabutine, la rifampicine), certains antirétroviraux (éfavirenz, étravirine, lopinavir, nelfinavir, névirapine, le ritonavir), le millepertuis.

Exemples d'interactions : la rifampicine augmente le métabolisme des AVK et diminue leur effet thérapeutique. Le millepertuis diminue les concentrations et les effets de la carbamazépine.

Comme les inhibiteurs, les inducteurs peuvent être classés selon leur puissance de forts, modérés à faibles : un inducteur est faible s'il conduit à une diminution de 20 à 50% de l'AUC

du substrat de l'enzyme, est modéré s'il conduit à une diminution de 50 à 80% de l'AUC et est fort s'il conduit à une diminution de plus de 80%. [22]

Des exemples de molécules inductrices sont présentés en annexe 3.

4. ÉLIMINATION ET TRANSPORTEURS

L'élimination des médicaments par l'organisme peut se faire par plusieurs voies et plusieurs mécanismes. Les voies d'éliminations majoritaires sont l'élimination par biotransformation lors du métabolisme (voir section I.B.3. précédente) et l'élimination par excrétion hors de l'organisme dans les urines ou la bile. Mais il existe également des voies mineures d'élimination telles que l'élimination digestive, la sécrétion par la salive ou encore l'élimination pulmonaire pour les produits volatils.

Les transporteurs sont des acteurs majeurs des voies d'élimination car permettent la distribution des molécules dans les différents organes et vers les compartiments extracellulaires.

4.1. Élimination

4.1.1. Généralités

- Élimination hépatique :

Le foie participe à l'excrétion des médicaments avec d'une part les activités des enzymes métaboliques de phase I et II et d'autre part par le système biliaire qui ramène le métabolite ou la forme intacte du médicament au niveau intestinal. Ce cycle entéro-hépatique est réalisée grâce à l'action de plusieurs transporteurs tels que les OATP et BCRP (voir section ci-après sur les transporteurs).[25]

- Élimination rénale :

Les reins participent fortement à l'élimination des médicaments. Ceux-ci sont éliminés dans les urines soit sous forme inchangée soit sous forme de produits de dégradation. Dans le processus d'élimination rénale on retrouve les mécanismes de réabsorption tubulaire et les mécanismes de sécrétion tubulaire. La réabsorption tubulaire correspond au passage de substances de la lumière du néphron vers le sang ; ce passage est soit actif par apport d'énergie, soit passif par l'utilisation de gradient de concentration. La sécrétion tubulaire correspond au passage actif de substances du sang vers la lumière du tubule ; ce passage s'effectue grâce à des transporteurs tels que les OAT et OCT. Ces mécanismes peuvent être saturables et être inhibés par des molécules.[25]

4.1.2. Paramètres pharmacocinétiques [4]

Le mécanisme d'élimination est représenté par la clairance que l'on peut définir par le volume de plasma totalement épuré par unité de temps. La clairance totale est égale à la somme de chaque clairance d'organe susceptible d'intervenir dans l'élimination des médicaments :

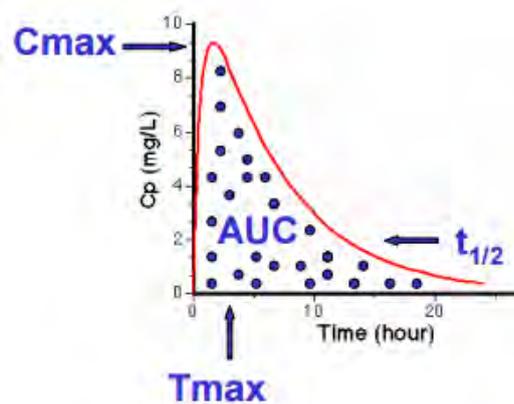
$$Cl_{\text{totale}} = Cl_{\text{rénale}} + Cl_{\text{non rénale}}$$

La clairance totale est généralement calculée à partir des concentrations plasmatiques obtenues après administration du médicament selon la formule suivante :

$$Cl = \text{Dose} / \text{AUC} \text{ ou par voie orale } Cl = F \times \text{Dose} / \text{AUC}$$

Où F représente le coefficient de biodisponibilité par voie orale et l'AUC (Area Under the Curve) représente l'aire sous la courbe des concentrations plasmatiques de la molécule sur un intervalle de temps.

En pratique on calcule également le C_{max} qui représente la concentration maximale obtenue à un temps T_{max} après administration de la molécule.



Ces paramètres pharmacocinétiques sont en général utilisés dans les études d'interactions. L'importance des effets cliniques d'une interaction est interprétée grâce aux relations entre doses et concentrations plasmatiques et concentrations et effets cliniques.

4.2. Transporteurs

Bien que moins reconnu que les enzymes métaboliques, les transporteurs membranaires peuvent avoir un effet important sur la pharmacocinétique et l'exposition des médicaments. Au niveau cellulaire, ils peuvent assurer un transport des molécules à la fois vers l'intérieur et vers l'extérieur de la cellule. Ils sont présents dans tous les tissus du corps et jouent un rôle important dans la l'absorption des médicaments, leur distribution, le ciblage tissus-spécifiques et dans leur élimination.

À ce jour, les transporteurs identifiés appartiennent pour la plupart à deux grandes familles : les ATP-Binding Cassette (ABC) et les Solute Carrier (SLC). La super famille des ATP-Binding Cassette comprend plusieurs sous-familles dont les transporteurs ABCB connus aussi sous le

nom de transporteurs MDR (Multi Drug Resistance) et responsables de l'efflux de molécules au travers des membranes. Ils sont localisés au niveau des cellules épithéliales intestinales, des membranes hépatocytaires, de la barrière hémato encéphalique et du placenta. À l'inverse les SCL sont pour la plupart responsable de l'influx de molécules au travers des membranes cellulaires telles que l'épithélium intestinal, les hépatocytes et les cellules du tubule proximal du rein.[26][27]

4.2.1. Transporteurs d'influx (SLC)

Ce type de transporteur va faciliter l'influx de molécules vers les compartiments cellulaires. Voici ci-après une revue des principaux transporteurs dont ceux recommandés dans les études d'interactions :

- *OATP (Organic Anion-Transporting Polypeptide)*

Les OATP sont retrouvés dans plusieurs tissus (voir Figure 7 ci-après). Ils sont exprimés au niveau intestinal et vont faciliter l'influx de molécules substrats au travers de la membrane intestinale ; ils agissent en sens inverse des transporteurs d'efflux. Plusieurs sous-types ont été identifiés : OATP-A, B, C, D, E, F, et 8. Les sous types B, C et 8 sont exprimés dans le foie et permettant l'influx de molécules mais ils travaillent également en tandem avec les transporteurs d'efflux pour faciliter l'élimination de molécules de l'organisme. Parmi les substrats d'OATP on retrouve les inhibiteurs de l'HMG-COA réductase, les inhibiteurs de l'enzyme de conversion, la digoxine... Mais ces transporteurs peuvent également être victime de mécanismes d'inhibition par des molécules tels que la ciclosporine et le ritonavir (voir liste des substrats et inhibiteurs de transporteurs en annexe 4). [13][25]

Exemple d'interaction avec les OATP :

- les statines, substrats des OATP, voient leurs concentrations plasmatiques augmentées ainsi que leurs effets indésirables lorsqu'elles sont associées à des inhibiteurs des OTAP tels que : le probénécide, la dronédarone, l'eltrombopag, l'érythromycine, la dihydroergotamine, la ciclosporine, la rifampicine, le sildénafil... [8]
- Le jus de pamplemousse est également un inhibiteur des OATP situés au niveau intestinal : il empêche l'influx des molécules substrats au niveau intestinal ce qui diminue leur concentration plasmatique ; tel est le cas avec la fexofénadine.[13]
- *OATs (Organic Anion Transporters)*

Ils permettent le transport d'anions organiques de petit poids moléculaire au niveau rénal et hépatique. OAT1-4 et OAT1-3 ont été identifiés au niveau rénal et OAT2 et 5 au niveau du foie. OAT1 permet le transport de molécules telles que adefovir, cidofovir, cefadroxil, cimetidine et OAT3 transporte des molécules telle que les bêtalactamines, des

céphalosporines ainsi que le captopril, la cimetidine, le methotrexate et la pravastatine. [25][27]

Exemple d'interaction avec les OAT : le méthotrexate subit une excrétion tubulaire en étant transporté par les OAT ; s'il est associé à un inhibiteur des OAT son élimination sera diminuée, ses concentrations plasmatiques seront augmentées ainsi que ces effets. C'est le cas avec le probénécide avec lequel il est conseillé de ne pas l'associer.[8]

- *OCT (Organic Cation Transporteurs)*

Ce type de transporteur est localisé au niveau intestinal (OCT1), au niveau rénal (OCT2) et au niveau des hépatocytes (OCT1) (voir figure 7 ci-après).

Au niveau rénal l'inhibition de OCT2 conduit à une diminution de la clairance rénale et à une augmentation de l'exposition systémique des molécules substrats. Les substrats de OCT2 sont des molécules telles que la metformine, le procainamide, et la varenicline. L'OCT2 est inhibé par la cimétidine.

Exemple d'interaction avec les OCT : la cimétidine inhibe les OCT2 ce qui diminue l'élimination de la metformine co-administrée et augmente son AUC et ses effets doses-dépendant.[27]

- *PEPT (peptide transporteurs) :*

Au niveau rénal deux isoformes ont été identifiées PEPT1 et PEPT2. PEPT1 permet le transport actif d'antibiotiques tels que les céphalosporines et les bêta-lactamines ou encore le captopril ou le valacyclovir.[27]

4.2.2. Transporteurs d'efflux (ABC)

Au niveau des membranes on retrouve des transporteurs qui limitent l'absorption des médicaments en les transportant activement hors du compartiment cellulaire.

- *La P-glycoprotéine, MDR1, ABCB1*

La P-glycoprotéine (P-gp), est une protéine dont le gène d'expression est ABCB1 (anciennement MDR1), elle gère le transport de composés endogènes et exogènes. Elle a principalement une activité d'efflux qui s'oppose à la pénétration de composés à l'intérieur des cellules en les faisant ressortir à l'extérieur de la cellule. Elle module l'absorption de nombreux médicaments mais peut aussi être inhibée ou induite par des médicaments. De nombreux médicaments sont transportés par la P-glycoprotéine : anticalcineurines, macrolides, digoxine, inhibiteur de protéases, statines, opiacés...[25][26]

Exemples d'interactions avec la P-gp :

- la rifampicine inducteur de la P-gp augmente la synthèse et l'expression de la P-gp ce qui augmente l'efflux de la digoxine (substrat de la P-gp) provoquant une diminution de sa biodisponibilité.

- La cyclosporine à l'inverse est un inhibiteur de la P-gp, il provoque une augmentation de la biodisponibilité de la fexofenadine. [27]

- *BCRP (Breast Cancer Resistant Protein), ABCG2*

À l'origine découvert dans les lignées cellulaires résistantes dans certains cancers. Ce transporteur est exprimé au niveau du tractus gastro-intestinal, du foie, du rein, de l'endothélium cérébral, des tissus mammaires, des testicules et du placenta. Il va limiter la biodisponibilité orale de certaines molécules ainsi que le passage au travers de la barrière hémato-encéphalique et de la barrière fœto-maternelle. Les substrats de ce transporteur sont : la mitoxantrone, le methotrexate, le topotecan, l'imatinib, l'irinotecan... Il peut également être inhibé par l'œstrone et l'œstradiol.[26]

- *MATE (Multidrug and toxin extrusion protein)*

Ce transporteur est localisé au niveau de la membrane apicale des tubules rénaux. Il est responsable de l'efflux de molécule de la cellule du tubule vers la lumière du tubule. Deux sous-types sont actuellement retrouvés au niveau rénal : MATE1 et MATE2-K. La lamivudine et la metformine sont des substrats de ces transporteurs. [28]

Ces transporteurs peuvent être inhibés (ex : par la pyriméthamine) ce qui peut engendrer une augmentation des molécules substrats dans les tubules rénaux.

Voici ci-après un schéma récapitulatif des transporteurs présents au niveau de chaque organe :

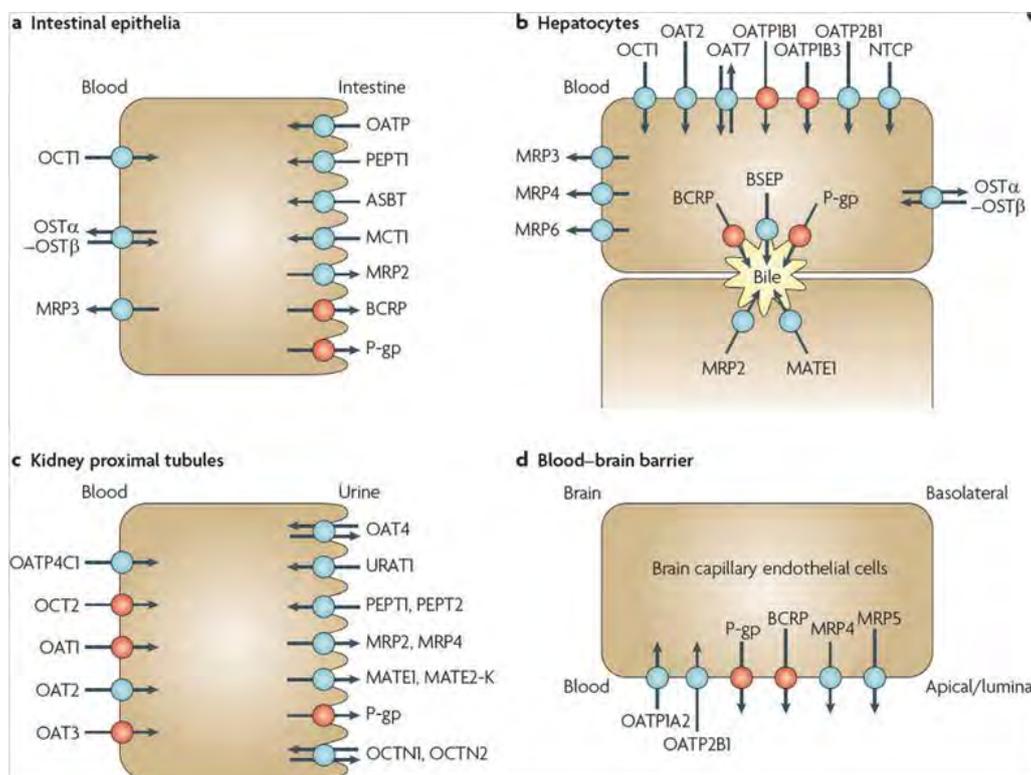


Figure 7: Protéines de transport des médicaments et des substances endogènes. [26]

Conclusion Partie I :

La connaissance du circuit du médicament dans l'organisme et des mécanismes d'interactions existant est essentielle à la compréhension des études d'interactions et de leur interprétation.

La connaissance de ces mécanismes n'a cessé d'évoluer depuis les dernières recommandations sur les études d'interactions. L'évolution des techniques scientifiques a également permis de découvrir de nouvelles enzymes mais l'évolution la plus marquante est celle sur les transporteurs. En effet il y a eu un progrès majeur dans la connaissance des transporteurs impliqués dans le transport des médicaments ainsi que dans leur implication dans les mécanismes d'interaction.

En deuxième partie nous verrons comment sont réalisées les études d'interactions et quelles sont les recommandations des agences de santé dans la conduite de ces études.

Partie II : Les nouvelles recommandations des autorités de santé EMA et FDA

Pour guider les laboratoires pharmaceutiques dans le développement de nouveaux médicaments et particulièrement dans l'évaluation des interactions médicamenteuses possibles, l'EMA[1] et la FDA[2] ont émis chacune en 2012 et 2013 des recommandations à suivre. Ces recommandations ont pour but d'aider les chercheurs à identifier, caractériser et à mieux comprendre les interactions entre les médicaments, particulièrement celles concernant de nouvelles molécules en développement. Ces recommandations ont pour but d'harmoniser les études et leur design ainsi que la communication des informations relatives à ces interactions.

Ces recommandations se focalisent sur les interactions d'origines pharmacocinétiques telles que celles décrites dans la partie I. Elles vont porter tout d'abord sur les études pré-cliniques *in vitro* et ensuite sur les études cliniques *in vivo*. Les résultats de ces études vont permettre de prédire l'existence ou non d'interactions entre une nouvelle molécule et des médicaments co-administrés. S'il existe des interactions, ces études doivent permettre également de déterminer si lors de l'utilisation concomitante de cette molécule avec d'autres médicaments il faudra ajuster les doses, avoir une surveillance supplémentaire, émettre une contre-indication ou prendre d'autres mesures pour diminuer les risques. La connaissance de ces précautions d'emploi en cas d'association de médicaments permet de mettre sur le marché des molécules qui sans ces données n'auraient pas été approuvées.[2]

A. Les recommandations sur les études d'interactions : stratégie générale

Les stratégies d'études d'interactions entre la FDA et l'EMA sont quasi identiques. Nous allons voir ci-après quelles sont ces stratégies, étapes par étape, lors du développement d'une nouvelle molécule.

Dans cette partie la nouvelle molécule en développement sera appelée « molécule d'intérêt ».

Pour évaluer une interaction médicamenteuse deux aspects seront considérés:

- Les effets des médicaments sur la pharmacocinétique de la molécule d'intérêt ;
- Les effets de la molécule d'intérêt sur la pharmacocinétique des médicaments.

Lorsqu'on veut étudier la possibilité d'une interaction médicamenteuse, il est recommandé de procéder en deux grandes étapes :

- 1) Première étape : l'étude des interactions *in vitro* :

Cette étape nécessite elle-même plusieurs études *in vitro*:

- Dans un premier temps, il faut identifier les principales voies d'élimination de la molécule d'intérêt, en quantifiant l'activité de chaque enzymes et/ou transporteurs impliqués dans son élimination.
- Dans un deuxième temps, identifier les interactions susceptibles d'apparaître lors de la circulation de la molécule d'intérêt dans l'organisme. Ces interactions peuvent être identifiées à l'aide de plusieurs modèles *in vitro* : le modèle basique, le modèle statique mécanistique et/ou le modèle PBPK (voir section II.A.2.).

En fonction des résultats de ces premières études *in vitro*, il peut être nécessaire de poursuivre par des études *in vivo* permettant de quantifier les interactions identifiées.

2) Deuxième étape : l'étude des interactions *in vivo* :

Les études *in vivo* permettent d'évaluer:

- le mécanisme de l'interaction (ex : inhibition ou induction).
- les effets cliniques lors de l'administration concomitante de médicaments avec la molécule d'intérêt

L'objectif des études *in vivo* est de donner à terme des recommandations de doses et de posologies dans le RCP de la molécule d'intérêt.

1. Principes de base des études *in vitro* et *in vivo*

1.1. Généralités

Pour étudier les possibilités d'interactions médicamenteuses, de nombreuses publications suggèrent de réaliser dans un premier temps des études d'interaction *in vitro*. Les résultats de ces études *in vitro* permettent de prédire la survenue d'une interaction *in vivo*. Il existe une hypothèse qui permet d'établir un lien entre les résultats trouvés *in vitro* et ceux *in vivo*. D'après la littérature, le comportement des enzymes de manière générale serait indépendant de leur environnement biochimique externe ce qui signifie que leur comportement dans un environnement *in vitro* serait le même que dans un environnement *in vivo*. Par exemple, un cytochrome formerait les mêmes métabolites à partir d'un substrat dans un environnement *in vitro* et *in vivo* ; et un inhibiteur inhiberait les mêmes enzymes *in vitro* et *in vivo*. Les corrélations entre les résultats *in vitro* et *in vivo* sont en général établies de manière qualitative. [18]

Les études *in vitro* servent à identifier les voies d'élimination des molécules et les systèmes impliqués dans cette élimination (enzymes ou transporteurs). Ces études permettent également de déterminer si la molécule d'intérêt est un substrat, un inhibiteur ou un inducteur d'enzymes impliquées dans le métabolisme d'autres molécules. En fonction des résultats des études *in vitro* il sera recommandé ou non de poursuivre par des études *in vivo*. [2]

Les études *in vivo* d'interaction ont pour objectif de déterminer si la molécule d'intérêt influence la pharmacocinétique de médicaments présents sur le marché ou si la pharmacocinétique de la molécule d'intérêt est influencée par ces médicaments. Ses modalités seront détaillées dans la section II.B.[1][2]

1.2. Principes des études d'interaction

On peut simplifier les études d'interactions comme suivant : dans chaque étude deux types de molécules sont impliquées : une *molécule interagissant* et une *molécule test substrat* appelée *substrat « sonde »*.

1.2.1. Substrat sonde

Un substrat « sonde » est une molécule qui est exclusivement ou quasi exclusivement éliminée par métabolisme grâce à une enzyme spécifique ou éliminée grâce à l'action d'un transporteur spécifique. On peut aussi définir comme substrat « sonde » une molécule dont l'exposition peut être augmentée de cinq fois ou plus par l'inhibition de la voie majeure de son métabolisme. Le substrat « sonde » doit être sujet à la fois au métabolisme intestinal et hépatique ; il doit être bien connu et avoir une pharmacocinétique linéaire.[1][29]

L'EMA et la FDA ont établi une liste de molécules à utiliser en tant que substrats sondes lors des études d'interaction *in vivo* (voir tableau ci-après). Pour l'EMA l'utilisation d'autres molécules que celles listées ci-après doit être bien justifiée.

Exemple : pour tester les CYP3A4 il existe plusieurs sites de liaisons avec différents substrats spécifiques néanmoins l'EMA recommande d'utiliser le midazolam par voie orale en tant que substrat sonde dans les études *in vivo*. [1]

Enzymes	Substrats sonde à utiliser (seule cette liste est recommandée par l'EMA)	Autres substrats (cette liste est acceptée par la FDA)
CYP1A2	théophylline, caféine	aloseptron, duloxétine, mélatonine, ramelteon, tacrine, tizanidine
CYP2C9	S-warfarine, tolbutamide	celecoxib
CYP2D6	métoprolol, desipramine	atomoxetine, desipramine, dextrométhorphane, metoprolol, nebivolol, perphenazine, tolterodine, venlafaxine
CYP2B6	efavirenz, S-bupropion	
CYP2C8	amodiaquine, repaglinide	
CYP2C19	oméprazole (dose unique)	Clobazam, lansoprazole, S-méthylphénitoïne

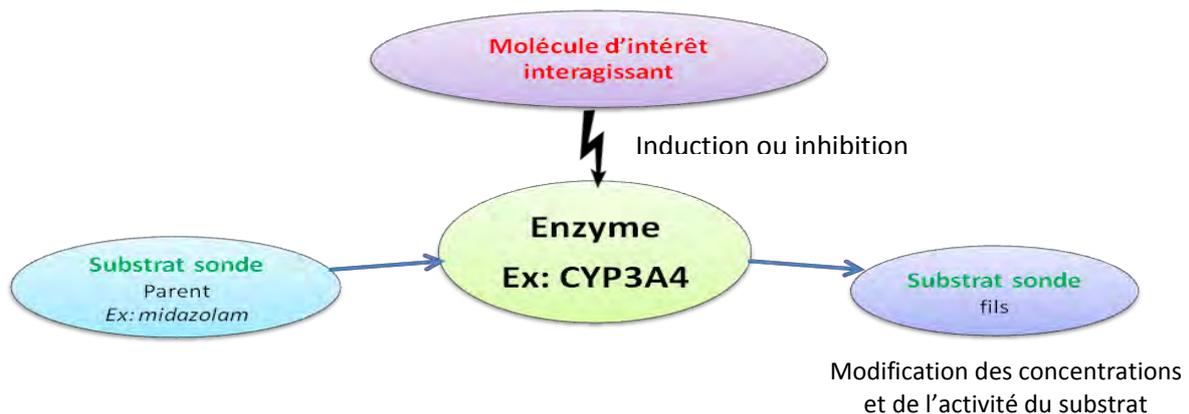
CYP3A	midazolam (féلودipine, nifédipine ou testostérone pour les études <i>in vitro</i>)	Alfentanil, aprepitant, budesonide, buspirone, conivaptan, darifenacin, darunavir, dasatinib, dronedarone, eletriptan, eplerenone, everolimus, indinavir, fluticasone, lopinavir, lovastatin, lurasidone, maraviroc, nisoldipine, quetiapine, saquinavir, sildenafil, simvastatin, sirolimus, tolvaptan, tipranavir, triazolam, ticagrelor, vardenafil
-------	---	--

[1][2]

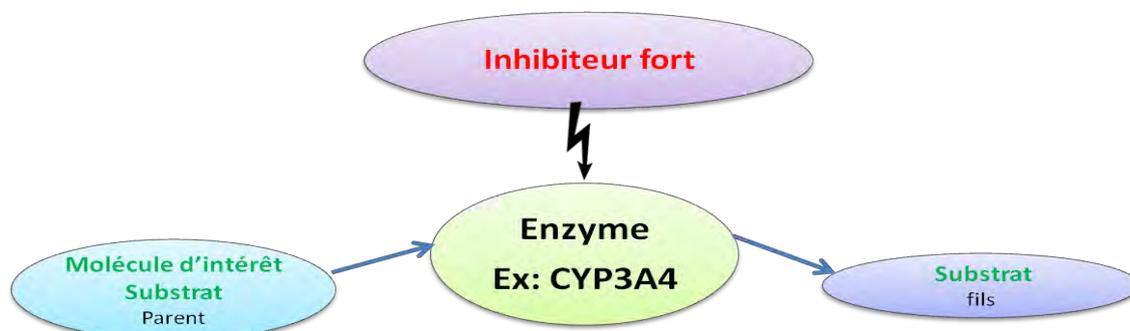
1.2.2. Principe de base des études

Comme vu dans la partie I, la molécule d'intérêt peut avoir un rôle de substrat d'enzyme, de substrat de transporteur ou un rôle d'inhibiteur ou d'inducteur d'enzyme ou de transporteur (« molécule interagissant »). Les études seront ainsi réalisées en fonction du rôle de la molécule d'intérêt :

- Exemple 1 : étude pour évaluer quels sont les effets de la molécule d'intérêt sur des enzymes du métabolisme :



- Exemple 2 : étude de l'effet d'un inhibiteur fort sur la molécule d'intérêt substrat d'une enzyme spécifique (ou substrat d'un transporteur):



Les concentrations du substrat sonde fils seront déterminées à l'issue de la réaction enzymatique. En fonction des concentrations obtenues le test sera positif ou négatif. Les études et l'analyse de leurs résultats seront détaillées dans la section II.B.

2. Les modèles d'étude *in vitro*

Les études *in vitro* d'inhibition sont réalisées à partir d'analyses de modèles tels que le modèle basique, le modèle statique mécanistique, et des modèles dynamiques (modèles PBPK).

2.1. Le modèle basique

Celui-ci est le plus utilisé car est simple et conservatif. Il est détaillé ci-après dans la section II.3.4.1.3. Ce modèle est utilisé pour interpréter les résultats *in vitro* et pour prédire les interactions potentielles *in vivo*.

La FDA recommande d'utiliser ce modèle en définissant une valeur seuil permettant de définir s'il est nécessaire ou non de poursuivre par des études *in vivo* (voir section II.3.4.1.3 ci-après).[2]

Pour l'EMA, le modèle basique peut être utilisé dans un premier temps mais ses résultats peuvent être complétés par des études avec le modèle statique mécanistique ou le modèle dynamique.[1]

2.2. Le modèle statique mécanistique

Ce modèle aussi appelé « net effect model » proposé par Fahmi et al. [30] permet d'étudier plusieurs mécanismes d'interactions : l'inhibition réversible, l'inhibition temps dépendante et l'induction. Il apporte une aide pour estimer l'effet de plusieurs processus d'interaction. Il permet d'intégrer les paramètres issus à la fois du métabolisme hépatique et intestinal.

Pour l'EMA il peut être utilisé en tant qu'aide ou alternative au modèle basique pour estimer clairement les effets de plusieurs processus d'interaction, mais l'agence ne recommande pas son utilisation car il n'est pas encore assez bien connu. D'après les agences, si ce modèle ne donne pas de résultats positifs *in vitro*, il n'est pas nécessaire de continuer par des études d'interactions *in vivo*. [2][1]

Ce modèle est utilisé pour prédire l'amplitude de l'interaction, il est exprimé par le rapport des AUC en présence ($AUC'_{p.o.}$) et en absence ($AUC_{p.o.}$) de la molécule interagissant. Ce modèle mathématique combine les effets d'une inhibition compétitive, temps dépendante et d'une induction à la fois dans le foie et l'intestin.[30]

Il est basé sur l'équation suivante [30] :

$$\frac{AUC'_{p.o.}}{AUC_{p.o.}} = \left(\frac{1}{[A \times B \times C] \times f_m + (1 - f_m)} \right) \times \left(\frac{1}{[X \times Y \times Z] \times (1 - F_G) + F_G} \right)$$

Où f_m est la fraction du substrat disponible dans le foie après métabolisme par une enzyme CYP (ce CYP étant inhibé ou induit) et F_G est la fraction du substrat disponible après métabolisme intestinal. Les autres paramètres sont représentés par les équations ci-après :

Où l'inhibition temps-dépendante est représentée par :

$$A = \frac{k_{deg,H}}{k_{deg,H} + \frac{[I]_H \times k_{inact}}{[I]_H + K_I}}$$

- A, dans le foie :

$$X = \frac{k_{deg,G}}{k_{deg,G} + \frac{[I]_G \times k_{inact}}{[I]_G + K_I}}$$

- X, dans l'intestin :

L'induction est représentée par :

$$B = I + \frac{d \cdot E_{max} \cdot [I]_H}{[I]_H + EC_{50,I}}$$

- B, dans le foie :

$$Y = I + \frac{d \cdot E_{max} \cdot [I]_G}{[I]_G + EC_{50,I}}$$

- Y, dans l'intestin :

Et l'inhibition réversible est représentée par :

$$C = \frac{1}{1 + \frac{[I]_H}{K_i}}$$

- C, dans le foie :

$$Z = \frac{1}{1 + \frac{[I]_G}{K_i}}$$

- Z, dans l'intestin :

Dans chaque équation $[I]_G$ et $[I]_H$ représentent les concentrations en inhibiteurs pour l'intestin et pour le foie respectivement ; K_{deg} est la constante de dégradation du CYP affecté, K_{inact} est la constante d'inactivation maximale, K_i est la constante apparente d'inactivation; E_{max} , EC_{50} et d sont les paramètres observés pour une induction *in vitro*.

L'estimation de ce modèle est positive pour un ratio des AUC en dehors des valeurs 0.8 et 1.25, où une valeur inférieure à 0.8 représente une induction et une valeur supérieure à 1.25 représente une inhibition.

2.3. Le modèle dynamique PBPK

Ce modèle intègre des paramètres « système » dépendant (basés sur la physiologie humaine) et des paramètres « molécule » dépendant. Ce modèle reflète la dynamique des

interactions entre médicaments et permet d'étudier les effets d'une molécule interagissant (inhibitrice ou inductrice) via le profil pharmacocinétique du substrat. Il permet également d'étudier les mécanismes concurrents de l'interaction y compris ceux de métabolites inhibiteurs. Il peut être utilisé pour prédire l'intérêt d'études *in vivo* sur la base de résultats *in vitro*.

Ce modèle a un meilleur design pour les études d'interaction et permet de prédire qualitativement l'amplitude de l'interaction dans différentes situations cliniques (ex : insuffisance rénale ou déficience génétique).[2]

2.4. Systèmes d'étude

Pour réaliser les études *in vitro* différents systèmes biologiques sont utilisés ; ils peuvent d'être d'origine humaine ou animale mais les systèmes humains sont plus utilisés pour faciliter l'extrapolation des résultats.

Les études peuvent être réalisées avec des fractions sub-cellulaires, c'est à dire des éléments issus du broyage tissulaire, de la lyse cellulaire ou de la centrifugation différentielle. Parmi ces fractions on peut utiliser[31][1] :

- Des microsomes : ce sont des vésicules de réticulum endoplasmique contenant des enzymes du métabolisme (CYP, UGT, mono-oxygénase...). Ces fractions sont préparées à partir d'échantillons hépatiques provenant d'un ou plusieurs donneurs.
- Des fractions S9 : ce type de fraction correspond à un mélange de microsomes et de cytosol contenu dans le surnageant obtenu après centrifugation des tissus hépatiques. Il contient des enzymes microsomaux ainsi que des enzymes cytosoliques solubles (sulphotransférases, glutathion transférases, aldéhydes déshydrogénases, alcool déshydrogénases...) non retrouvés dans la fraction de microsomes seuls.
- La fraction cytosolique : elle contient les enzymes du cytosol à des concentrations supérieures à celles de la fraction S9.

On peut également utiliser des lignées cellulaires d'hépatocytes contenant l'ensemble des enzymes de phase I et II du métabolisme. Les enzymes recombinantes sont aussi des modèles utilisés pour étudier des isoformes particuliers d'enzyme.

L'utilisation de l'un ou l'autre de ces modèles dépend de l'enzyme que l'on souhaite identifier.

3. Les designs d'études *in vivo*

Le design des études *in vivo* d'interactions est adapté en fonction de l'objectif de l'étude, du mécanisme de l'interaction étudiée, de la pharmacocinétique et pharmacodynamie de la molécule, de son mode d'administration, de la population étudiée...

Cependant il faut prendre en compte certaines recommandations : l'EMA recommande un seul design celui du cross-over tandis que pour la FDA plusieurs design sont possible mais le cross-over reste le plus efficace. [1][2]

Dans le design en cross-over : un même sujet recevra la molécule d'intérêt (rôle de substrat ou rôle d'inhibiteur/inducteur) administrée avec un autre médicament pendant une période et pendant une autre période administrée en l'absence d'autre médicament (voir figure 8 ci-après). Ce design permet de s'affranchir d'une variabilité inter-individuelle retrouvée dans les designs en groupes parallèles. En effet les interactions médicamenteuses sont à l'origine de variabilités inter-individuelles très importantes et l'un des points faibles des études en groupe parallèle est qu'elles ne tiennent pas compte de cette variabilité.

Il existe plusieurs séquences possibles dans le design en cross-over:

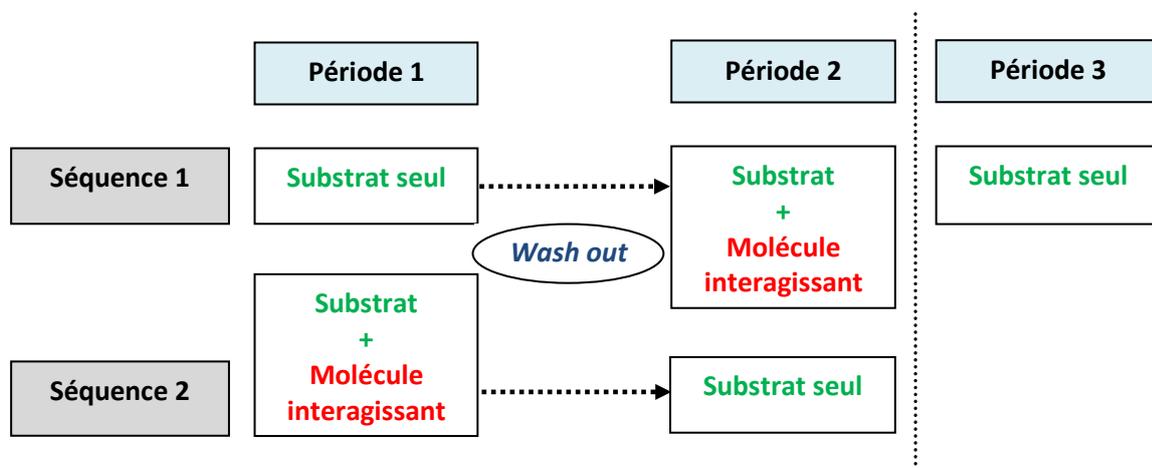


Figure 8 : le design en cross-over

On peut également ajouter une troisième période où la molécule interagissant est enlevée du mélange pour étudier la durée de l'effet de l'interaction.

La FDA recommande également de tenir compte de plusieurs facteurs relatifs à la fois à la molécule d'intérêt et à la molécule interagissant [2]:

- à savoir, si la molécule étudiée et/ou celle interagissant sont utilisées dans une situation aiguë ou chronique,
- tenir compte des conditions de sécurité : savoir si la molécule étudiée a une fenêtre thérapeutique étroite ou non,
- tenir compte des caractéristiques pharmacocinétiques et pharmacodynamiques de la molécule étudiée et de celle interagissant
- savoir si l'on souhaite évaluer l'induction aussi bien que l'inhibition
- tenir compte du cas où le mécanisme d'inhibition décrit est retardé
- savoir s'il est nécessaire d'évaluer la persistance de l'effet de l'interaction par une période d'étude avec retrait du médicament interagissant.

Ce type d'étude est généralement fait en ouvert plutôt qu'en double aveugle.

3.1. La population d'étude

3.1.1. Populations standards [1][2]

Les études *in vivo* d'interaction se font en général chez les volontaires sains et les résultats sont extrapolés à la population générale. Le nombre de sujet à inclure dans une étude *in vivo* est souvent faible mais dans une étude d'interaction ce nombre doit tenir compte des variabilités intra ou inter-individuelles et également de l'amplitude de l'effet à rechercher.

Concernant les critères d'inclusion de la population, la FDA recommande de sélectionner les sujets selon leur alimentation et habitudes de vie, exemple :

- Dans la semaine précédant l'inclusion dans l'étude : il est recommandé de ne pas inclure les sujets ayant utilisé : OTC, compléments alimentaires/nutritionnels, tabac, alcool, jus de fruits ou autres produits pouvant affecter le métabolisme d'enzymes et/ou affecter des transporteurs ;
- Une semaine avant l'étude et pendant le déroulement de l'étude : les sujets sélectionnés ne devront pas consommer tout aliment ou boisson contenant du pamplemousse, de la pomme ou de l'orange mais aussi de l'alcool et des aliments de la famille des choux (brocoli, épinard, cresson, choux vert...) et de la viande grillé (voir section interaction entre alimentation et métabolisme I.B.1.2). Dans certains cas il peut être conseillé de confiner les sujets dans des unités spécialisées avant la première semaine de traitement.

L'EMA à l'inverse ne donne pas de recommandations pour l'inclusion des sujets.

3.1.2. Populations spéciales [1][2]

Comme vu précédemment la plupart des études d'interaction *in vivo* se font chez les volontaires sains, cependant il est difficile d'extrapoler ces données pour certaines sous-populations et il peut aussi être nécessaire de faire l'étude chez le patient pour des raisons de sécurité.

Dans certaines sous-populations, les conséquences d'une interaction peuvent être différentes en fonction du génotype de l'enzyme ou du transporteur concerné. Par exemple, une déficience dans la voie d'élimination principale peut conduire à une diminution du métabolisme ou du transport de la molécule. Il est donc important d'identifier le phénotype ou génotype des sujets lorsqu'on étudie des enzymes ou transporteurs soumis à un polymorphisme génétique tels que le CYP2D6, le CYP2C19, le CYP2C9, l'UGT1A1 et l'OATP1B1. Il est ainsi recommandé de réaliser des études spécifiques pour évaluer les effets d'une interaction dans ces sous-populations.

Les effets d'une interaction peuvent également différer chez les insuffisants rénaux, la population pédiatrique, les métaboliseurs lents ou les déficients en enzymes ou en transporteurs par rapport aux sujets sains ou de génotype « sauvage ».

Concernant les médicaments à usage pédiatriques, il est possible d'extrapoler les résultats issus des études sur adulte à la population pédiatrique. En effet les études d'interaction adaptées à la population pédiatrique seraient difficilement réalisables. Il est également possible de faire des approches par modélisation PBPK et par pharmacocinétique de population en utilisant une quantité réduite d'échantillons sanguins.

3.2. Dose et temps d'administration

L'EMA et la FDA ont émis des recommandations sur les conditions d'utilisation des molécules dans les études d'interactions [2][1]:

3.2.1. Doses

	EMA	FDA
Molécule « interagissant » (inhibiteur ou inducteur)	<ul style="list-style-type: none"> - utiliser les plus hautes doses thérapeutiques recommandées. Si ce n'est pas le cas cela doit être justifié. - inhibiteur fort : choisir une gamme de dose permettant d'atteindre une inhibition maximale au site de l'enzyme. 	<ul style="list-style-type: none"> - Utiliser la dose maximale prévue ou approuvée afin de maximiser la possibilité de démontrer une interaction. - Faire des intervalles de dosages les plus courts possible.
Molécule substrat	<ul style="list-style-type: none"> - Si la pharmacocinétique est linéaire, une dose unique est suffisante. - Toutes les doses dans la gamme linéaires peuvent être utilisées. - En cas de pharmacocinétique dose-dépendante, la dose doit être la dose thérapeutique pour laquelle l'effet maximal de l'interaction est attendu. 	<ul style="list-style-type: none"> - Utiliser la dose maximale prévue ou approuvée afin de maximiser la possibilité de démontrer une interaction. - Pour des raisons de sécurité des doses plus faibles peuvent être utilisées.

3.2.2. Durée et temps d'administration [1][2]

Voici ci-après quelques recommandations concernant les durées et le temps d'administration des molécules lors des études *in vivo*:

	EMA	FDA
Molécule « interagissant » (inhibiteur ou inducteur)	<ul style="list-style-type: none">- La durée de prise doit être suffisante pour couvrir au moins 90% de l'AUC de la molécule substrat.- Le temps d'administration entre les deux molécules doit être spécifié. En général, elles sont administrées de façon simultanée mais parfois l'effet de l'interaction se voit lorsque les molécules sont données à des temps séparés.	<ul style="list-style-type: none">- Pour un effet inhibiteur rapidement réversible : administrer la molécule soit juste avant soit en même temps que le substrat ;- En cas d'inhibition irréversible, l'effet peut être maximisé en administrant l'inhibiteur avant le substrat.
Molécule substrat	Étudier la molécule avec et sans inhibiteur/inducteur jusqu'à atteindre l'état d'équilibre.	Dans le cas où la molécule est à la fois substrat d'une enzyme et d'un transporteur (ex : OATP) l'administration simultanée avec un inhibiteur de l'OATP peut sous estimer l'effet de l'interaction et une administration retardée du substrat est recommandé.

Le temps d'administration entre les molécules peut avoir son importance particulièrement en cas de concurrence entre les effets d'inhibition et d'induction. Il est donc recommandé de déterminer le temps d'administration approprié pour démontrer les effets de l'interaction.

3.3. Études « cocktail »[1][2]

En parallèle des études n'utilisant qu'un seul inhibiteur/inducteur ou substrat, il existe une méthode alternative qui consiste en l'administration simultanée d'un mélange de substrats d'enzyme de CYP ou de substrats de transporteurs. Ce type d'étude appelée « étude cocktail » permet d'étudier les effets d'une molécule d'intérêt sur plusieurs enzymes et transporteurs en une seule étude *in vivo*. Si ces études cocktails sont bien faites elles permettent d'évaluer à la fois un effet inhibiteur (compétitif ou temps dépendant) et un

effet inducteur. Elles sont en général utilisées pour étudier les effets décrits *in vitro* mais elles peuvent aussi être utilisées pour remplacer les études *in vitro*.

Pour utiliser cette méthode alternative la FDA et l'EMA recommandent :

- Que les substrats soient spécifiques de chaque enzyme à étudier (substrats sondes). Il faut vérifier que les substrats sondes mélangés dans l'étude cocktail n'interagissent pas entre eux ;
- Que les doses utilisées soient les mêmes que celles utilisées dans les études *in vivo* spécifiques ;
- Que l'AUC totale du substrat sonde soit caractérisée ainsi que les effets des modifications de cette AUC ;
- Qu'il y ait suffisamment de sujets dans l'étude.

D'après la FDA :

- si l'étude cocktail est négative : il peut ne pas être utile de poursuivre par d'autres évaluations sur des enzymes particulières ;
- si l'étude cocktail est positive : il peut être nécessaire de réaliser des études *in vivo* pour déterminer des modifications quantitatives de l'exposition plasmatique (ex. par l'AUC ou le C_{max}).

Les données issues des études cocktails peuvent être un complément aux autres études *in vitro* et *in vivo* d'interaction. Les résultats peuvent également être extrapolés à d'autres molécules.

4. Paramètres pharmacocinétiques et critères d'évaluations

Les paramètres pharmacocinétiques doivent être calculés pour toutes les études d'interactions. Les plus importants sont les paramètres d'exposition des substrats tels que l'AUC, le C_{max} et le T_{max}. Les autres paramètres tels que la clairance, le volume de distribution et les demi-vies peuvent apporter une aide à l'interprétation des résultats de l'étude.

Ces paramètres sont utilisés en tant que critère d'évaluation dans les études *in vitro* pour calculer des valeurs seuils mais également dans les études *in vivo*. [2]

B. Les recommandations en fonction des étapes ADME :

1. ABSORPTION:

Lors de l'émission de la première guideline de l'EMA en 1997, les interactions dans l'étape d'absorption étaient peu décrites et la connaissance des transporteurs intestinaux étaient limités. Il y a 20 ans, les recommandations se limitaient à de simples prises en compte lors des études d'interaction.

Aujourd'hui les recommandations décrivent précisément les points à étudier dans cette étape.

L'absorption est la première étape dans la pharmacocinétique du médicament. Comme vu précédemment elle détermine la quantité de médicament disponible pour la circulation générale et qui va atteindre la cible pharmacologique.

Les interactions médicamenteuses ayant lieux à l'étape d'absorption peuvent influencer le circuit de la molécule et modifier sa biodisponibilité. Les modifications portant sur ce paramètre doivent être évaluées.

Lors du développement de la molécule, les guidelines recommandent d'identifier :

- si la biodisponibilité du médicament étudié peut être modifiée lors de son administration simultanée avec un autre médicament,
- si le médicament étudié est à l'origine d'une modification de la biodisponibilité d'autres médicaments.

La modification de la biodisponibilité d'un médicament peut s'expliquer :

- soit par la modification de sa vitesse d'absorption,
- soit par la modification de sa quantité totale absorbée : par l'altération de sa solubilité ou de sa dissolution ou d'un problème lors du passage de la membrane intestinale,
- soit par la formation de complexes empêchant son absorption.

1.1. Interactions affectant la solubilité

Si la dissolution de la molécule d'intérêt ou de sa formulation est fortement dépendante du pH, dans la gamme de pH physiologique, alors il est recommandé d'étudier *in vivo* les effets de médicaments augmentant le pH gastrique (IPP, anti H2, antiacides). À l'inverse si la molécule d'intérêt augmente le pH gastrique, il est recommandé d'étudier *in vivo* les effets d'une interaction avec des médicaments sensibles aux modifications de pH. [1]

Si les propriétés physico-chimiques de la molécule d'intérêt démontrent une capacité à former des complexes de liaisons (voir section I.B.1.1.3.) alors il est recommandé d'étudier ce risque d'interaction *in vitro* et *in vivo*. [1]

L'EMA recommande d'effectuer les études d'interactions *in vivo* au niveau de l'absorption en parallèles des études cliniques de phase III.

1.2. Interaction par modification de la vitesse d'absorption

Si des données montrent que la molécule d'intérêt a un impact sur la vidange gastrique ou la motilité intestinale alors il existe un risque que cette molécule affecte la vitesse et le taux

d'absorption d'autres médicaments co-administrés. Cette interaction a en général des conséquences pour les médicaments à marge thérapeutique étroite, pour les médicaments ayant une formulation à libération modifiée ou pour les médicaments connus pour avoir une absorption limitée par la perméabilité et une fenêtre d'absorption physiologique. Ce risque d'interaction doit être étudié et les effets déterminés si possible avec des médicaments appropriés (ex : utiliser le paracétamol en tant que substrat sonde pour étudier un effet sur la vidange gastrique).[1]

Concernant les interactions affectant les systèmes de transport au niveau de la barrière intestinale se référer à la section II.B. 4.

1.3. Interactions dues à l'alimentation [1]

Comme vu section I.B.1.2, il existe des interactions entre certains aliments et l'absorption des médicaments. Il est impératif de connaître ces interactions et leurs effets afin d'émettre des recommandations dans les précautions d'emploi du médicament.

L'EMA recommande d'étudier l'effet de l'alimentation sur la molécule d'intérêt le plus tôt possible dans les étapes du développement afin d'optimiser son utilisation lors des études cliniques de phase III. Ces études d'interaction vont apporter des informations sur le dosage et le moment de prise de la molécule par rapport aux repas et seront renseignées dans le RCP. L'effet de l'alimentation doit surtout être étudié si la molécule d'intérêt doit être administrée par voie orale. Si lors du développement de la molécule il y a une modification de la formulation, il faudra refaire des études d'interaction avec l'alimentation.

Les études d'interaction avec l'alimentation sont appelées études « food-effect ».

1.3.1. Recommandations générales des études « food-effect » :

Dans ces études, il est recommandé d'étudier les effets de différents types de repas (riches en graisse, pauvre en graisse ou autre) et d'étudier également les effets de la molécule d'intérêt prise à jeun par rapport à sa prise pendant un repas. Le repas riche en graisse doit être considéré comme le pire scénario.

Pour réaliser ces études, la molécule d'intérêt doit être administrée après une période de jeune de 10h et 30 minutes après le début de prise d'un repas. Elle doit être donnée en dose unique avec 240 ml d'eau. Durant l'étude les sujets ne doivent pas consommer de nourriture pendant au moins 4h après le dosage et toutes les prises de nourritures doivent être standardisée pendant au moins 12h après la prise.

- Recommandation pour une étude avec un repas riche en graisse :

La composition d'un repas riche en graisse doit comprendre entre 800 et 1000 kcal dont 500 à 600 kcal de lipide et 250 kcal de glucides. Un repas modéré en graisse doit apporter entre 400 et 500 kcal avec 150 kcal de lipide. Pour un repas modéré en graisse il faut environ 400 à

500 kcal de graisse. Si la pharmacocinétique est non linéaire, il est recommandé d'étudier les effets de l'alimentation sur les plus hautes et les plus faibles doses thérapeutiques de la molécule.

- Résultats des études « food-effect »:

S'il existe un effet cliniquement significatif entre l'alimentation et la molécule d'intérêt impliquant des recommandations sur le moment de prise alors d'autres études d'interactions avec l'alimentation doivent être réalisées. Ces études complémentaires dépendront de la recommandation de prise (à jeun ou avec un repas) et de la posologie. Si la molécule doit être prise avec un repas il faut étudier l'effet d'un repas modéré en graisse et les effets d'autres types de repas (ex : repas riches en fibres). Dans le cas où la molécule doit être administrée à jeun le matin, il est recommandé d'étudier quel est le temps suffisant entre la prise de la molécule et le prochain repas.

Cas particuliers :

Si les propriétés physico-chimiques et les données indiquent que la molécule d'intérêt est susceptible de former des complexes de liaison, il est recommandé de faire une étude « food-effect » avec un repas riche en calcium. Ceci est d'autant plus important à étudier si la molécule d'intérêt est destinée à un usage chez les nouveau-nés dont l'alimentation est composée uniquement de lait. Cette étude peut être faite via des études de pharmacocinétique de population.

2. DISTRIBUTION [1]

Les interactions affectant la distribution des médicaments comprennent les interactions via les protéines de transport (voir section transporteur II.B.4) et les interactions par déplacement. Seront développées ici les recommandations pour les interactions par déplacement.

En général le risque d'effets cliniques significatifs lors d'interactions par déplacement des sites de liaison aux protéines plasmatiques est faible. Mais il est recommandé d'étudier ces risques pour des molécules ayant un fort taux de liaison aux protéines (arbitrairement pour une fraction libre inférieure à 1%). Le degré de liaison d'une molécule doit être étudié avant de commencer les études cliniques de phase I. Ces études sont d'autant plus importantes si cela concerne des molécules ayant une fenêtre thérapeutique étroite et un fort taux d'extraction hépatique (si administrés en IV) ou un fort taux d'extraction rénale.

Ces études de déplacement doivent se faire tout d'abord *in vitro* en utilisant des concentrations thérapeutiques puis, au vu des résultats, si un effet clinique pertinent est suspecté alors une étude *in vivo* doit être réalisée.

Dans le cas où la molécule se lie de façon importante à un site spécifique de protéines et est présente au site à des concentrations saturant les sites de liaisons, il faut également évaluer

in vitro le risque de déplacement d'un autre médicament. Si le résultat prédit un risque de déplacement alors il est recommandé de mesurer et quantifier ce risque *in vivo*.

3. METABOLISME :

Les études d'interactions sur le métabolisme se déroulent en deux grandes étapes: l'étude des voies métaboliques majeures de la molécule d'intérêt en tant que substrat et l'étude de la molécule d'intérêt en tant qu'inhibitrice ou inductrice d'enzymes.

3.1. Quelles sont les principales voies métaboliques de la molécule d'intérêt ?

Cette première étape se fait par des études *in vitro*. En général ce type d'étude est réalisé avant les études *in vivo* de phases I. L'objectif de ces études *in vitro* est d'identifier les voies métaboliques de la molécule d'intérêt ainsi que ses métabolites. À l'issue des tests ces études permettront d'orienter les études complémentaires d'interactions sur les enzymes d'intérêts : soit les enzymes de phase I (CYP 1A2, 2B6, 2C8, 2C9, 2C19, 2D6, 3A...) soit les enzymes de phase II (UGTs) soit d'autres systèmes enzymatiques.[1][2]

3.1.1. Substrat d'enzymes de phase I

Les systèmes d'études généralement utilisés pour ce type de test sont les tissus de foies humains tels que les microsomes exprimant les enzymes du métabolisme ou des hépatocytes humains cryoconservés, des fractions de foie S9... en fonction du type d'enzymes testés. Les cytochromes et les UGT sont présents dans tous les systèmes cités tandis que les enzymes cytosoliques (sulphotransférases, glutathion transférase, aldéhyde déshydrogénase, alcool déshydrogénase...) sont présents dans les fractions S9 et les hépatocytes.

Il est recommandé en routine d'étudier les enzymes de phase I suivantes : CYP 1A2, 2B6, 2C8, 2C9, 2C19, 2D6 et 3A. Si à l'issue de l'étude *in vitro* la molécule d'intérêt est substrat d'un de ces CYP alors il est recommandé de poursuivre par une étude d'interaction *in vivo* avec un inhibiteur ou inducteur fort de cette enzyme. Si les CYP précédant ne métabolisent pas la molécule d'intérêt alors il faut considérer d'autres CYP (ex : CYP2A6, 2J2, 4F2, 2E1) ou d'autres enzymes non cytochromes (monoamine oxydase, flavine monooxygénase, xanthine oxydase et l'alcool/aldéhyde déshydrogénase).[2]

L'étude du métabolisme se fait par l'évaluation de la disparition de la molécule d'intérêt et/ou par la formation de métabolites pour permettre l'identification de la voie métabolique utilisée.

Il est recommandé de déterminer dans un premier temps quelle est la voie de métabolisme majeure de la molécule étudiée. Une voie métabolique est considérée comme majeure lorsque elle participe à 25% ou plus de l'élimination d'un médicament. Cette valeur seuil doit

être démontrée *in vitro* pour confirmer l'implication d'une voie métabolique et pour valider la nécessité de poursuivre par des études d'interaction spécifiques à la voie métabolique trouvée.

D'après l'EMA, si les principales enzymes sont identifiées, un seul système d'étude *in vitro* est suffisant, cependant il est généralement recommandé de vérifier le résultat trouvé par d'autres systèmes d'études. Par exemple si la voie des CYP est la principale voie de métabolisme de la molécule étudiée, il est recommandé de faire des études en présence ou en absence d'inhibiteurs forts des enzymes identifiées afin de vérifier et de quantifier l'implication des enzymes dans l'élimination du médicament.

Pour la FDA [2] le raisonnement est identique, si la molécule d'intérêt est substrat d'une enzyme responsable de plus de 25% de sa clairance systémique alors il est recommandé de réaliser des études *in vivo* avec des inhibiteurs ou inducteurs forts. Si ce n'est pas le cas, il est recommandé de déterminer si la molécule d'intérêt est substrat de multiples enzymes responsables ensemble de plus de 25% de son métabolisme.

L'EMA recommande également de réaliser des études de « mass-balance » *in vivo* qui permettent de suivre le parcours de la molécule d'intérêt et de ses métabolites via l'utilisation d'atomes radioactifs inclus dans la molécule.

Concernant les autres voies mineures du métabolisme de la molécule d'intérêt, il est recommandé de les étudier pour certaines conditions. En effet la contribution de ces voies mineures peut avoir des conséquences chez des populations spécifiques tels que les insuffisants rénaux, les métaboliseurs lents ou les personnes prenant des inhibiteurs forts des enzymes responsables de ces voies métaboliques (voir section II.A.3.2.2.).[2]

3.1.2. Substrat d'enzymes de phase II

Contrairement à l'EMA, la FDA apporte plus de précision quant à l'étude des enzymes de phase II. L'absence d'information abondantes et de données sur ces enzymes ainsi que l'absence d'inhibiteurs spécifiques ne permettent pas d'étudier la contribution des isoformes des UGT comme celle des CYP. Si la glucuronocouplage semble être la voie prédominante dans le métabolisme de la molécule d'intérêt (responsable de plus de 25% de son métabolisme) alors la FDA recommande de réaliser des études *in vitro* pour déterminer si la molécule est substrat des isoformes suivants : UGT1A1, 1A3, 1A4, 1A6, 1A9, 2B7 ou 2B15.[2]

En fonction de l'isoforme identifié plusieurs possibilités sont envisagées [2]:

- Si l'isoforme prédominant est l'UGT1A1 :
 - o il est recommandé de faire des études *in vivo* comparatives sur des variants génétiques, car cet isoforme a un polymorphisme génétique (voir section I.B.3.2)

- ou de faire des études d'inhibition *in vivo* avec un inhibiteur de l'UGT1A1 comme l'atazanavir.
- si un autre isoforme prédomine ou l'action de multiples isoformes:
 - il est recommandé de faire des études *in vivo* comparative sur le génotype de ces enzymes (si approprié)
 - ou de faire des études d'inhibition *in vivo* avec un inhibiteur général des UGTs (ex : probenecid ou l'acide valproïque)

L'EMA ne donne pas de recommandations aussi précises mais note seulement qu'il faut étudier l'inhibition des UGTs 1A1 et 2B7 si la voie majeure d'élimination passe par la glucuronidation.[1]

3.1.3. Métabolites

D'après l'EMA, s'il existe des métabolites pharmacologiquement actifs et que leur activité *in vitro* contribue à plus de 50% de l'effet thérapeutique cible, alors il est recommandé d'identifier les enzymes et les voies métabolique à l'origine de la formation et de l'élimination de ces métabolites.

3.2. Étude d'interaction : substrat d'enzymes inhibées

Après identification des principales voies métaboliques, des études d'interactions spécifiques aux enzymes peuvent être faites.

- Si les enzymes de phase I sont majoritaires :

Il est recommandé de faire l'étude d'interaction en administrant un inhibiteur fort et d'évaluer la pharmacocinétique de la molécule d'intérêt en présence ou en absence de l'inhibiteur. L'objectif est de vérifier et de quantifier l'implication de l'enzyme sur l'élimination de la molécule d'intérêt. L'inhibiteur doit être spécifique et ne doit pas inhiber d'autres enzymes ou transporteurs impliqués dans l'élimination de la molécule.[1]

Analyse des résultats et recommandations :

EMA	FDA
Le résultat montre-t-il une interaction significative ?	
<ul style="list-style-type: none"> - Si l'utilisation de l'inhibiteur fort a montré un effet marqué sur l'exposition de la molécule d'intérêt, effectuer d'autres études avec des inhibiteurs modérés afin d'avoir des informations complémentaires en cas de 	<p>Si oui :</p> <p>Faire des études d'interaction avec des inhibiteurs moins forts choisis en fonction de leur possibilité de co-administration en thérapie ou appliquer un modèle mécanistique. Ces études serviront à déterminer s'il faut un</p>

recommandations de traitements spécifiques.

- Si les effets de l'interaction ne nécessitent pas d'être précis, effectuer des simulations PBPK avec un inhibiteur modéré afin de fournir des informations générales dans le RCP de la molécule.

ajustement de dose en cas de co-administration.

Si non : il n'est pas nécessaire de poursuivre par d'autres études.

Les inhibiteurs forts recommandés pour ces études *in vitro* sont les suivants :

Enzymes	EMA	FDA
CYP1A2	Furafylline	Pas de recommandations spécifiques
CYP2B6	Ticlopidine, thiotepa	
CYP2C8	Montelukast	
CYP2C9	Sulphaphenazole	
CYP2C19	-(-)-N-3-benzyl-phenobarbital, nootkatone, loratadine	
CYP2D6	Quinidine	
CYP3A	Ketoconazole, itraconazole	Ketoconazole

Dans l'annexe 1 sont répertoriés les substrats et les inhibiteurs existant pour chaque enzyme.

- Si les enzymes de phase I ne sont pas majoritaires :

Dans ce cas, l'EMA recommande si possible de vérifier la contribution des autres enzymes via soit des études *in vivo* d'interaction avec un inhibiteur fort soit des études chez des sujets ayant un génotype de métaboliseur lent. Les résultats doivent être interprétés par comparaison avec la littérature.[1]

3.3. Étude d'interaction : substrat d'enzymes induites

L'EMA et le FDA recommandent de faire des études d'interaction avec des inducteurs forts. L'EMA émet certaines conditions [1]:

- Si la molécule d'intérêt est éliminée principalement par un métabolisme via une ou plusieurs enzymes induites ;
- Ou si l'élimination est due au CYP3A seulement ;
- Dans les situations où l'effet d'une induction sur la molécule d'intérêt serait cliniquement significatif (sauf dans le cas où les effets seraient prévisibles comme

ceux de la rifampicine sur des molécules éliminées principalement par le CYP3A conduisant de ce fait à une contre-indication).

Il est également recommandé de faire ces études pour des métabolites ayant un effet thérapeutique.

Dans ce type d'étude la rifampicine est souvent choisie du fait de son pouvoir inhibiteur fort.

Analyse des résultats et recommandations :

EMA	FDA
Le résultat montre-t-il une interaction significative ?	
Si oui : Réaliser une étude d'interaction avec un inducteur spécifique susceptible d'être associé à la molécule d'intérêt en thérapeutique. Ceci permettra de donner des recommandations d'ajustement de dose et de posologie en cas de co-administration. Si un ajustement de dose est nécessaire il est également recommandé de réaliser une autre étude avec ces ajustements.	Si oui : Réaliser des études d'interaction avec des inducteurs moins forts choisis en fonction de leur possibilité de co-administration en thérapie ou appliquer un modèle mécanistique. Ces études serviront à déterminer s'il faut un ajustement de dose en cas de co-administration. Si non : il n'est pas nécessaire de poursuivre par d'autres études.

3.4. Est-ce que la molécule d'intérêt est inhibitrice d'enzymes ?

Il est recommandé d'étudier le potentiel d'une nouvelle molécule à inhiber le métabolisme d'autres médicaments. Cette étude se fait en deux étapes : une première étape *in vitro* et une deuxième étape *in vivo*. Si les études *in vitro* n'excluent pas la possibilité d'une inhibition *in vivo* alors il est recommandé d'étudier ce potentiel d'inhibition *in vivo*.

Il peut être envisageable d'effectuer cette étude en une seule étape, directement *in vivo*, en réalisant des études « cocktails » comme décrit dans la section II.A.3.3. Ces études « cocktails » bien menées peuvent permettre d'étudier à la fois un effet inhibiteur (compétitif et temps dépendant) et un effet inducteur.[1]

3.4.1. Études *in vitro*

3.4.1.1. Principe du test d'inhibition

Le test d'inhibition consiste en l'incubation d'un mélange contenant : différentes concentrations fixes d'inhibiteur test (ex : la molécule d'intérêt), des enzymes issues de microsomes de foie humains ou de l'ADNc exprimant des microsomes, et des substrats

sondes spécifiques des enzymes testées. L'objectif est de déterminer les mécanismes d'inhibition (ex : réversible ou temps-dépendante) et la puissance d'inhibition (K_i).

Chaque enzyme sera incubée dans un milieu contenant différentes concentrations de substrats spécifiques en présence de la molécule d'intérêt. L'activité enzymatique sera évaluée en mesurant le taux de métabolites formés en comparaison avec des témoins positifs : si l'inhibiteur testé n'inhibe pas le CYP alors le substrat sonde est métabolisé en métabolite par le CYP dont il est spécifique ; à l'inverse si l'inhibiteur test inhibe le CYP alors le substrat sonde n'est pas métabolisé et son métabolite n'est pas mesuré (voir schéma ci-après). Ainsi l'absence de formation de métabolite spécifique signifie que la molécule d'intérêt est inhibitrice de l'enzyme. [18]

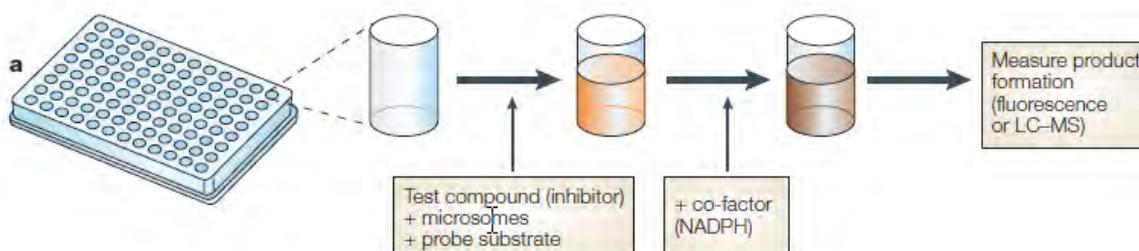


Figure 9 : Test classique *in vitro* d'inhibition de cytochrome. [18]

3.4.1.2. Méthode recommandée [1][2]

Comme les cytochromes sont les plus impliqués dans le métabolisme des médicaments, les deux agences recommandent de tester le pouvoir inhibiteur de la molécule d'intérêt sur les CYP1A2, 2B6, 2C8, 2C9, 2C19, 2D6 et 3A.

Concernant les autres enzymes tels que les UGT, l'EMA est la seule à recommander de tester l'inhibition des UGT1A1 et 2B7 connus pour être impliqués dans des interactions. Dans le cas d'enzymes autres que les CYP et les UGT elle recommande de faire une étude d'inhibition sur l'enzyme impliquée si cela est faisable.

Il est aussi recommandé de tester le pouvoir inhibiteur des métabolites majeurs formés.

L'EMA recommande d'utiliser les substrats suivant pour étudier l'inhibition *in vitro* :

Enzymes	Substrats spécifiques
CYP 1A2	phenacetine
CYP 2B6	efavirenz, bupropion
CYP 2C8	paclitaxel, amodiaquine
CYP 2C9	s-warfarine, diclofenac
CYP 2C19	s-mephenytoine
CYP 2D6	bufuralol
CYP 3A	midazolam, testosterone <i>Il est recommandé d'utiliser les deux en même temps.</i>

Il faut également utiliser des inhibiteurs forts connus en tant que témoins positifs de l'inhibition recherchée (voir liste des inhibiteurs en annexe).

Pour évaluer l'activité enzymatique, l'EMA recommande d'étudier les effets d'une gamme de concentration de la molécule d'intérêt et de déterminer les K_i de cette gamme. La gamme de concentration de la molécule d'intérêt doit être suffisamment élevée afin de détecter une inhibition cliniquement significative. Cette gamme de concentration dépend du site d'inhibition sur l'enzyme, de son mode d'administration, de sa formulation et de son exposition systémique.

Il est également recommandé de faire une pré-incubation avec la molécule d'intérêt afin de voir s'il y a une altération du pouvoir inhibiteur de la molécule. Si c'est le cas il faudra prévoir des études supplémentaires.

Dans le cas où la molécule d'intérêt est elle-même métabolisée par une enzyme présente dans le milieu d'incubation, il faut vérifier que le substrat sonde choisi ait une vitesse de métabolisme plus rapide que celle de la molécule d'intérêt afin d'éviter des biais dans la mesure du K_i .

Il faut également tenir compte de l'existence de variabilité intra-système dans les mesures du K_i . En général au cours de l'absorption les concentrations de la molécule au niveau de la veine portale sont généralement plus élevées que les concentrations plasmatiques après administration orale. On peut donc ajouter un facteur de sécurité pour estimer le K_i .

L'EMA a émis des recommandations concernant les gammes de concentrations à utiliser en fonction des situations [1]:

- Expression intestinale de l'enzyme :

Si la molécule d'intérêt est administrée oralement et si l'enzyme testée est présente de façon importante au niveau intestinal (ex CYP 3A4), la gamme de concentration de la molécule doit être suffisante pour pouvoir déterminer un K_i de 0.1 fois supérieur à la dose maximale attendue par prise de 250 mL. Si ces concentrations ne peuvent être atteintes pour des raisons de solubilité dans le fluide intestinal, de plus faibles concentrations peuvent être suffisantes.

- Expression hépatique (ou rénale) de l'enzyme :

Si l'enzyme étudiée est présente principalement dans le foie, ou dans le rein ou dans un autre organe ayant un rôle important dans la circulation systémique, la gamme de concentration doit permettre de déterminer un K_i inférieur à 50 fois la moyenne du C_{max} obtenu avec les plus hautes doses de traitement.

Recommandation pour une inhibition temps dépendante (TDI) :

Pour évaluer ce type d'inhibition il est recommandé de faire une pré-incubation avec la molécule d'intérêt avant d'introduire le substrat. Si l'inhibition est augmentée lors de la pré-incubation cela signifie qu'on est en présence d'une inhibition temps-dépendante. Cette

augmentation avec le temps peut être soit due à un métabolite inhibiteur soit un MBI. Il est recommandé de terminer les paramètres cinétiques K_{inact} et K_i . [1][2]

3.4.1.3. Les données issues du test d'inhibition

L'inhibition des cytochromes peut se faire par trois mécanismes (voir section I.B.3.41) parmi lesquels le mécanisme d'inhibition compétitive est le plus fréquent. L'évaluation des paramètres cinétiques de la réaction enzymatique entre l'inhibiteur testé et les cytochromes permet de déterminer le type d'inhibition. La puissance de l'inhibiteur et l'ordre de grandeur de l'inhibition des cytochromes testés peut être évalué grâce à la détermination de la constante d'inhibition K_i pour chaque cytochrome. La concentration du substrat sonde utilisé doit être égale ou en dessous de la constante de Michaelis-Menten K_m . Un inhibiteur connu des CYP testés est également utilisé afin de servir de référence positive pour le test. [32]

Lorsque la concentration du substrat sonde est égale au K_m : l' IC_{50} sera la même que le K_i si l'inhibition est non compétitive ou l' IC_{50} sera égale à $2 K_i$ si l'inhibition est compétitive ou incompétitive.

Pour évaluer les effets des interactions, on détermine en général la clairance du substrat sonde sous deux conditions : le substrat seul et le substrat avec la molécule interagissant (inhibiteur ou inducteur). On évalue la clairance par l'estimation de l'AUC avec la relation suivante : $Cl = DOSE/AUC$.

- Dans le cas d'une inhibition compétitive réversible :

On peut exprimer le ratio (R1) des AUC du substrat en présence ou en absence de l'inhibiteur par l'équation suivante :

$$\frac{AUC_i}{AUC} = 1 + ([I]/K_i)$$

R1 est dépendant des paramètres d'inhibition *in vitro* et de la concentration maximale en inhibiteur [I]. Cette équation montre qu'en présence de l'inhibiteur [I], R1 serait proche de 1 si $[I]/K_i$ était inférieur à 0.1 et augmenterait de deux fois si $[I]/K_i$ était égal à 1 et de 15 fois si $[I]/K_i$ est égal à 10. Il est estimé que pour une inhibition réversible, on serait en présence d'une interaction lorsque ce R1 se trouverait entre 1 et 0.1 et que l'interaction serait peu probable si R1 était en dessous de 0.1.[18][32]

Cette équation est utilisée dans le modèle basique de prédiction d'interaction *in vivo*. Ce modèle a deux utilités : il élimine le besoin de poursuivre *in vivo* si les valeurs de R1 sont en dessous du seuil recommandé et il permet le classement des pouvoirs inhibiteurs entre différents CYP pour la même molécule.

Dans le cas de métabolites actifs inhibiteurs d'enzyme, il est également recommandé de calculer le ratio des AUC.

- Dans le cas d'une Inhibition temps dépendante (TDI) :

La FDA recommande de déterminer également une valeur seuil pour prédire ce type d'inhibition *in vivo*. Contrairement à l'inhibition réversible cette valeur seuil est dépendante de la constante de dégradation K_{deg} en plus des paramètres de la TDI.

La valeur seuil R2 est déterminée par l'équation suivante :

$$R2 = (K_{obs} + K_{deg}) / k_{deg}$$

$$\text{Avec } K_{obs} = k_{inact} \times [I] / (k_i + [I])$$

R2 représente le ratio de la clairance intrinsèque en absence et en présence de l'inhibiteur. K_{deg} est la constante de la vitesse de dégradation ; K_{inact} est la constante de la vitesse d'inactivation maximale ; k_i est la constante apparente d'inactivation et K_{obs} est la constante de la vitesse d'inactivation apparente.[1][2]

3.4.1.4. Prédiction *in vivo*

Sur la base des résultats des études *in vitro* et des études de pharmacocinétique *in vivo*, on peut prédire si la molécule d'intérêt aura un pouvoir inhibiteur *in vivo* ou non. Selon ces résultats il sera nécessaire ou non de poursuivre par des études d'interactions *in vivo*. De façon générale si l'on ne peut pas exclure une inhibition *in vivo* alors il est recommandé de faire des études d'interaction *in vivo* pour quantifier ce risque. Cette prédiction et évaluation du risque est réalisée grâce au modèle basique, au statique mécanistique ou au modèle dynamique PBPK (voir section II.A.2.). Chaque agence (FDA et EMA) a émis ses recommandations en fonction de chaque modèle.

EMA	FDA
Le modèle basique doit être la première méthode utilisée. Si le résultat est positif via cette méthode il peut être confirmé par une méthode mécanistique ou un modèle dynamique.	Étudier modèle après modèle en fonction des résultats

Modèle basique

<p><i>Inhibition réversible :</i></p> <p>Comparer les KI observés</p> <p>On ne peut exclure une inhibition <i>in vivo</i> pour les résultats <i>in vitro</i> ci-après :</p> <ul style="list-style-type: none"> - pour toute autre administration : <p>$[I]/k_i \geq 0.02$ où [I] correspond au Cmax de la molécule non liée obtenue pendant le</p>	<p><i>Inhibition réversible :</i></p> <p>Comparer les valeurs de R1 :</p> <ul style="list-style-type: none"> - si $R1 > 1.1$ alors la molécule d'intérêt agit comme un inhibiteur des cytochromes testés. Dans ce cas il est recommandé de poursuivre par des études d'interaction <i>in vivo</i>. - Cas particulier : pour l'étude d'une
---	--

<p>traitement aux plus hautes doses</p> <ul style="list-style-type: none"> - administration orale et si les enzymes sont abondantes au niveau des entérocytes : <p>[I]/ki ≥ 10 où [I] est la dose maximale en inhibiteur en une prise avec 250ml</p> <ul style="list-style-type: none"> - Évaluation de métabolite inhibiteur : <p>[I]/ki ≥ 0.02 où [I] correspond au Cmax de la molécule non liée obtenue pendant le traitement aux plus hautes doses.</p> <p><i>Inhibition Temps Dépendante :</i></p> <p>En fonction du résultat de l'équation R2 :</p> <p>Si R2 ≥ 1.25, on ne peut exclure une inhibition <i>in vivo</i> et il est recommandé de faire une étude <i>in vivo</i> avec des doses multiples.</p>	<p>molécule par voie orale testée avec le CYP3A, ses concentrations [I] doivent être estimées par $[I] = [I]_{\text{intestinal}} = \text{dose molaire}/250\text{ml}$ et la valeur limite de R1 est de 11.</p> <ul style="list-style-type: none"> - Si l'on n'est pas dans ces cas alors la molécule testée n'est pas un inhibiteur des cytochromes testés et ne devra pas être intitulée comme telle dans son RCP. <p><i>Inhibition Temps Dépendante :</i></p> <p>En fonction du résultat de l'équation R2 :</p> <p>Si R2 > 1.1, l'étude <i>in vitro</i> est en faveur d'une TDI et il est recommandé de poursuivre par une étude <i>in vivo</i>.</p>
---	--

Modèle statique mécanistique

<p>Ce modèle peut être utilisé en tant qu'alternative ou un support au modèle basique ; il n'est pas recommandé en première intention pour étudier les effets simultanés d'une inhibition et d'une induction.</p>	<p>Ce modèle est utilisé en fonction des résultats du modèle basique.</p>
---	---

Ce modèle est basé sur l'équation détaillée en section II.A.2.2.

$$\frac{AUC'_{p.o.}}{AUC_{p.o.}} = \left(\frac{1}{[A \times B \times C] \times f_m + (1 - f_m)} \right) \times \left(\frac{1}{[X \times Y \times Z] \times (1 - F_G) + F_G} \right)$$

Le résultat est positif si le rapport des AUC d'un substrat spécifique d'une enzyme est en dehors des valeurs **0.8** et **1.25** :

- Si **AUCR < 0.8** on est en présence d'une **induction**
- Si **AUCR > 1.25** on est en présence d'une **inhibition**

Si le résultat est négatif la molécule d'intérêt est définie comme non inhibitrice dans son RCP et il n'y a pas d'étude *in vivo* complémentaire.

Si le résultat est positif il est recommandé de poursuivre par des études *in vivo* avec le substrat sonde approprié.

Cette méthode peut permettre de faire une simulation pour évaluer la pertinence d'une étude *in vivo* lors d'inhibition compétitive ou temps dépendante observée *in vitro*.

3.4.1.5. Exemple d'étude d'interaction [33]

Une nouvelle molécule agoniste des récepteurs GPR119 (G Protein-coupled Receptor) est en cours de développement. L'activation de ce récepteur a démontré une réduction dans la prise alimentaire et dans la prise de poids. Cette nouvelle molécule est développée pour être utilisée dans le traitement des dyslipidémies. Actuellement les statines sont très utilisées dans ce traitement et risquent d'être associés à cette nouvelle molécule. Il faut donc évaluer les risques d'interaction entre les statines et cet agoniste.

- L'étude *in vitro* :

Étude du pouvoir inhibiteur de la nouvelle molécule sur les CYP1A2, 2C9, 2C19, 2D6 et 3A4 dans une culture de microsomes de foie humain. La nouvelle molécule a été testée dans des concentrations de 0.1 à 33 μM pour tous les CYP sauf le 3A4 qui a été testé avec des concentrations de 0.1 à 100 μM . Ces concentrations ont été choisies car elles sont dans une gamme de concentration 10 fois supérieure et inférieures au C_{max} moyen de l'agoniste après une dose de 300mg deux par jour. Pour chaque CYP un substrat sonde spécifique a été ajouté de même qu'un inhibiteur témoin positif, pour le CYP3A4 trois substrats ont été utilisés (atorvastatine, midazolam et nifédipine).

Résultat : le nouvel agoniste n'inhibe pas le métabolisme des CYP1A2, 2C9, 2C19, 2D6 et 3A4 (avec la nifédipine en substrat) car les valeurs des IC_{50} sont supérieures à 30 μM . Cependant il inhibe le métabolisme de l'atorvastatine à 32% à la concentration de 100 μM suggérant une faible interaction avec le CYP3A4 via une inhibition compétitive car la nouvelle molécule est aussi substrat des CYP3A4

Table 3. Summary of human *in vitro* drug interaction studies for GSK1292263.

Enzyme/Transporter*	GSK1292263 as an Inhibitor IC_{50} †	Substrate	$[\text{I}_1]/\text{IC}_{50}$ †	$[\text{I}_2]/\text{IC}_{50}$ ‡
CYP1A2	>30 μM	Phenacetin	<0.064	NC*
CYP2C9	>30 μM	Diclofenac	<0.064	<87.7
CYP2C19	>30 μM	s-Mephenytoin	<0.064	<87.7
CYP2D6	>30 μM	Bufuralol	<0.064	<87.7
CYP3A4	32% at 100 μM	Atorvastatin	-0.019	-26.3
CYP3A4	>100 μM	Nifedipine	<0.019	<26.3
CYP3A4	ND*	Midazolam	NC	NC

3.4.2. Études *in vivo*

Si les résultats des études *in vitro* sont en faveur d'une poursuite des études *in vivo*, il est recommandé de suivre les exigences des agences EMA et FDA (voir section II.A.3).

Les études *in vivo* sont généralement réalisées pour comparer des concentrations de substrats d'enzymes en présence et en absence de la molécule dont on veut étudier le pouvoir inhibiteur.

En général, les études *in vivo* se déroulent de la manière suivante :

- Tout d'abord des études avec des inhibiteurs forts
- Ensuite si les résultats de ces études indiquent la présence d'une interaction, il faut évaluer l'impact de cette interaction avec un inhibiteur moins fort

3.4.2.1. La molécule d'intérêt est substrat d'enzymes de phase I

Une fois le système enzymatique déterminé *in vitro*, la molécule d'intérêt est étudiée de façon spécifique *in vivo*. Pour réaliser ces études il faut choisir des inhibiteurs connus de l'enzyme impactée. Pour chaque enzyme il existe une liste connue d'inhibiteurs/d'inducteurs et de substrats associés (voir annexe). Les inhibiteurs forts sont les plus sensibles et doivent être testés en premier.

L'EMA et la FDA recommandent d'utiliser les inhibiteurs forts suivants :

- EMA [1]

Enzymes	Inhibiteurs forts
CYP1A2	Enoxacine
CYP2B6	Ticlopidine
CYP2C8	Gemfibrozil
CYP2C9	fluconazole*
CYP2C19	omeprazole*
CYP2D6	quinidine, paroxetine, fluoxetine
CYP3A	itraconazole, ketoconazole, ritonavir, clarithromycine

*ces inhibiteurs sont faibles à modérés car il n'existe pas d'inhibiteurs forts adaptés

- FDA [2]

CYP Enzymes	Strong Inhibitors⁽²⁾ ≥ 5-fold increase in AUC or > 80% decrease in CL	Moderate inhibitors⁽³⁾ ≥ 2 but < 5-fold increase in AUC or 50-80% decrease in CL	Weak inhibitors⁽⁴⁾ ≥ 1.25 but < 2-fold increase in AUC or 20-50% decrease in CL
CYP1A2	Ciprofloxacin, enoxacin, fluvoxamine	Methoxsalen, mexiletine, oral contraceptives, phenylpropanolamine, thiabendazole, vemurafenib, zileuton	Acyclovir, allopurinol, caffeine, cimetidine, Daidzein, ⁽⁵⁾ disulfiram, Echinacea, ⁽⁵⁾ famotidine, norfloxacin, propafenone, propranolol, terbinafine, ticlopidine, verapamil
CYP2B6			Clopidogrel, ticlopidine, prasugrel
CYP2C8	Gemfibrozil ⁽⁶⁾		Fluvoxamine, ketoconazole, trimethoprim
CYP2C9		Amiodarone, fluconazole, miconazole, oxandrolone	Capecitabine, cotrimoxazole, etravirine, fluvastatin, fluvoxamine, metronidazole, sulfinpyrazone, tigecycline, voriconazole, zafirlukast
CYP2C19	Fluconazole, ⁽⁷⁾ fluvoxamine, ⁽⁸⁾ ticlopidine ⁽⁹⁾	Esomeprazole, fluoxetine, moclobemide, omeprazole, voriconazole	Allicin (garlic derivative), armodafinil, carbamazepine, cimetidine, etravirine, human growth hormone (rhGH), felbamate, ketoconazole, oral contraceptives ⁽¹⁰⁾
CYP3A	Boceprevir, clarithromycin, conivaptan, grapefruit juice, ⁽¹¹⁾ indinavir, itraconazole,	Amprenavir, aprepitant, atazanavir, ciprofloxacin, crizotinib, darunavir/ritonavir, diltiazem, erythromycin, fluconazole,	Alprazolam, amiodarone, amlodipine, atorvastatin, bicalutamide, cilostazol, cimetidine, cyclosporine, fluoxetine, fluvoxamine, ginkgo, ⁽⁵⁾

	ketoconazole, lopinavir/ritonavir, mibefradil, ⁽¹²⁾ nefazodone, nelfinavir, posaconazole, ritonavir, saquinavir, telaprevir, telithromycin, voriconazole	fosamprenavir, grapefruit juice, ⁽¹¹⁾ imatinib, verapamil	goldenseal, ⁽⁵⁾ isoniazid, lapatinib, nilotinib, oral contraceptives, pazopanib, ranitidine, ranolazine, tipranavir/ritonavir, ticagrelor, zileuton
CYP2D6	Bupropion, fluoxetine, paroxetine, quinidine	Cinacalcet, duloxetine, terbinafine	Amiodarone, celecoxib, clobazam, cimetidine, desvenlafaxine, diltiazem, diphenhydramine, Echinacea, ⁽⁵⁾ escitalopram, febuxostat, gefitinib, hydralazine, hydroxychloroquine, imatinib, methadone, oral contraceptives, pazopanib, propafenone, ranitidine, ritonavir, sertraline, telithromycin, verapamil, vemurafenib

- Résultats de l'étude *in vivo* :

Si les résultats sont négatifs alors l'absence d'interaction cliniquement significative est démontrée pour l'enzyme testée.

Si les résultats sont positifs, il est recommandé de faire de nouvelles études avec des inhibiteurs moins forts ou de faire des simulations par des modèles mécanistiques. À la suite de ces études des recommandations sur les ajustements de dosage seront émises dans le RCP de la nouvelle molécule.

3.4.2.2. La molécule d'intérêt est inhibitrice d'enzymes de phase I

Lorsqu'on veut tester le pouvoir inhibiteur de la molécule d'intérêt *in vivo* il faut choisir des substrats sondes de l'enzyme impactée identifiée *in vitro*.

La FDA et l'EMA recommandent d'utiliser des substrats sondes spécifiques de chaque enzyme pour réaliser ces études (voir tableau des substrats sondes section II.A.1.2.1.).

- Résultats de l'étude *in vivo* [1][2]:

Si la molécule d'intérêt inhibe le métabolisme du substrat spécifique de l'enzyme alors il est recommandé de faire d'autres études avec des substrats susceptibles d'être co-administrés dans les stratégies thérapeutiques. On peut ainsi classer la molécule d'intérêt d'inhibiteur fort, modéré ou faible en fonction de l'amplitude de modification de l'AUC du substrat sonde (ex : si cela augmente de 5 fois ou plus l'AUC du substrat alors c'est un inhibiteur fort). Si la molécule d'intérêt est un inhibiteur du CYP3A, ces interactions doivent être décrites dans le RCP.

Si le résultat est négatif pour le substrat choisi, ce résultat peut être extrapolé pour toutes les enzymes identifiées *in vitro* et pour lesquelles un K_i égal ou supérieur a été observé.

Dans le cas d'inhibition des UGT, la FDA n'a émis aucune recommandation ; à l'inverse l'EMA recommande d'étudier l'inhibition des UGT1A1 et 2B7.

3.5. Est-ce que la molécule d'intérêt est inductrice enzymatique ?

Tout comme l'inhibition, l'EMA et la FDA recommandent de vérifier si la molécule d'intérêt n'induit pas des enzymes via l'activation de récepteurs nucléaires tels que AhR, CAR et PXR (voir section I.B.3.5.2.).

Ces études peuvent aussi permettre de détecter une régulation négative des enzymes.

La logique de recherche est identique que celle pour les inhibitions : il faut commencer par évaluer une induction *in vitro* et la confirmer et la quantifier *in vivo* (mais il est aussi possible d'étudier l'induction directement *in vivo*).

3.5.1. Études *in vitro*

3.5.1.1. Principe du test *in vitro*[1][2]

Pour étudier un phénomène d'induction *in vitro*, l'EMA et la FDA recommandent d'utiliser des cultures d'hépatocytes (frais ou cryoconservés) de préférence. Les incubations sont réalisées en ajoutant quotidiennement la molécule d'intérêt à la culture d'hépatocyte. En général un protocole d'étude d'induction dure 6 à 7 jours, les hépatocytes étant incubés avec la molécule d'intérêt pendant 24 à 72h[32]. Mais la durée d'incubation recommandée par l'EMA est en général de 3 jours afin de laisser le temps au mécanisme d'induction de se dérouler. Une durée moindre doit être justifiée.

Pour mesurer la réponse à l'induction *in vitro* plusieurs méthodes sont possibles : la mesure de l'activité de l'enzyme, celle du taux de protéine, celle de l'expression génique par le taux d'ARNm ou la mesure des contrôles positifs.[32] Mais aujourd'hui il est recommandé, afin d'augmenter la sensibilité du test, et pour éviter l'influence d'un mécanisme d'inhibition, de mesurer l'effet de l'induction enzymatique par les taux d'ARNm.

Dans ce type d'étude il peut y avoir une toxicité cellulaire due aux trop fortes concentrations des molécules ; cette toxicité peut influencer le résultat du test. Pour vérifier qualité et la viabilité de la culture *in vitro* il est recommandé de vérifier les ARNm et la morphologie de la cellule. Si une toxicité est observée il est recommandé de d'étudier l'induction *in vivo*.

L'EMA recommande d'évaluer un potentiel d'induction de la molécule d'intérêt en utilisant d'abord le modèle basique. En fonction du récepteur nucléaire identifié dans le mécanisme d'induction, les études complémentaires seront différentes. Si PXR est incriminé, il est recommandé de poursuivre par un modèle statique mécanistique et/ou le modèle de

corrélation RIS. Dans le cas de CAR, ces modèles ne sont pas adaptés et il faut poursuivre par des études *in vivo*. [1]

- La méthode basique :

L'EMA et la FDA recommandent d'utiliser pour ce modèle des hépatocytes provenant d'au moins 3 donneurs différents car il existe des variabilités inter-individuelles et des variabilités de lot de cellules dans les phénomènes d'induction.

Le taux d'ARNm du gène ciblé doit être utilisé comme valeur étudiée.

Un certain nombre d'enzymes doivent être évalués : les CYP3A4, 2B6 et 1A2 devraient toujours être inclus en tant que marqueur de l'induction : via les récepteurs PXR et CAR pour le 3A4 et le 2B6, et via les récepteurs AhR pour le 1A2.

Des inducteurs forts doivent être ajoutés en tant que témoins positifs pour vérifier le bon fonctionnement des mécanismes de régulation via PXR, CAR et AhR. Ces inducteurs témoins doivent être spécifiques et connus. Ci-après voici un tableau récapitulatif des témoins positifs d'induction recommandé par l'EMA et la FDA:

Récepteurs nucléaires	Témoins inducteurs positifs	
	EMA	FDA
PXR	Rifampicine 20 µM	3A4 : Rifampicine 10-50 µM 2B6 : Phénobarbital 500-100 µM
CAR	CITCO (agoniste de CAR) ≤100 nM	3A4 : Rifampicine 10-50 µM 2B6 : Phénobarbital 500-100 µM
AhR	Oméprazole 50 µM	1A2 : Oméprazole 25-100 µM 1A2: Lansoprazole 10 µM

La gamme de concentration de la molécule d'intérêt à utiliser dépend de l'enzyme étudiée et du profil pharmacocinétique de la molécule. La gamme étudiée doit comprendre les pires concentrations attendues dans les hépatocytes *in vivo*. L'EMA estime suffisantes des concentrations supérieures à 50 fois le C_{max} à l'état d'équilibre avec les doses thérapeutiques pour les enzymes présentes dans le foie, et pour celles présentes dans l'intestin (CYP3A4) les concentrations peuvent être fixées à $0.1 \cdot \text{dose} / 250 \text{ml}$. Trois concentrations différentes doivent être au moins utilisées. [1]

Pour l'interprétation des résultats, la FDA recommande de déterminer au préalable une valeur seuil du taux d'ARNm pour comparer avec les valeurs du test obtenues. Pour déterminer cette valeur elle recommande d'utiliser la méthode décrite par Fahmi, Kish et al [34]. Cette méthode utilise un modèle bimodal pour définir des molécules inductrices et

non inductrices. Une autre méthode peut être utilisée pour déterminer la valeur seuil, elle consiste à utiliser l'équation suivante :

$$R = 1 / (1 + dxE_{\max} \times [I] / (EC_{50} + [I]))$$

Où EC_{50} est la concentration induisant la moitié de l'effet maximal; E_{\max} est l'effet maximum d'induction ; $[I]$ est la concentration plasmatique totale (fraction libre et liée) de l'inducteur ; d est le facteur d'échelle supposé égal à 1 pour le modèle basique. [2][30]

- La méthode de corrélation RIS (Relative Induction Score)[35][1] :

L'EMA est la seule à recommander cette méthode pour les études d'induction. Cette méthode a été développée pour prédire l'ampleur de l'induction des CYP3A sur des hépatocytes. L'équation utilisée pour calculer le RIS est la suivante :

$$RIS = E_{\max} \times [I] / (EC_{50} + [I])$$

Où EC_{50} est la concentration induisant la moitié de l'effet maximal; E_{\max} est l'effet maximum d'induction ; $[I]$ est la concentration plasmatique de la fraction libre de l'inducteur.

Le RIS est calculé pour tous les inducteurs versus les AUC modifiés des substrats sondes. Il existe une corrélation entre le RIS et l'ampleur de l'effet inducteur. Le risque d'une induction *in vivo* est estimé en utilisant le RIS de la molécule d'intérêt.

3.5.1.2. Prédiction *in vivo*

De la même manière que pour l'inhibition d'enzyme, l'induction d'enzyme peut être prédite *in vivo* grâce aux tests *in vitro* et les modèles utilisés. Chaque agence (FDA et EMA) a émis ses recommandations en fonction des modèles choisis.

EMA	FDA
Le modèle basique doit être la première méthode utilisée.	
Modèle basique	
<p>À la fin de l'étude, les résultats d'induction sont évalués séparément pour chaque donneur et le donneur pour qui l'effet d'induction est le plus prononcé doit servir de « pire cas » pour les calculs qui en découlent. Le taux d'ARNm des enzymes est comparé au test contrôle.</p> <p>L'étude <i>in vitro</i> est considérée positive pour l'induction d'une enzyme, si l'incubation des cellules avec la molécule d'intérêt provoque une augmentation de plus de 100% du taux</p>	<p>La FDA recommande de déterminer à priori une valeur seuil du taux d'ARNm et de la comparer au résultat trouvé. La valeur seuil peut être déterminée de 2 façons.</p> <p>Interprétation des résultats :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Si l'augmentation du taux d'ARNm est supérieure à la valeur seuil déterminée par la méthode de Fahmi ou, - Si la valeur R déterminée (voir équation ci-dessus) est inférieure à 0.9 <p>⇒ Alors la molécule d'intérêt est</p>

<p>d'ARNm et si cette augmentation est concentration dépendante.</p> <p>La démarche à suivre est la suivante :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Si les résultats <i>in vitro</i> sont positifs ou non concluants, l'induction doit être confirmée <i>in vivo</i> ou l'absence d'induction doit être démontrée par une autre étude <i>in vitro</i>. - si les résultats <i>in vitro</i> montrent une diminution de 50% du taux d'ARNm (non due à une cytotoxicité) cela peut indiquer une régulation négative de l'enzyme et il est recommandé d'étudier ce phénomène temps-dépendant. - Si les résultats sont non concluant il est recommandé de faire d'autres études <i>in vitro</i> et/ou <i>in vivo</i>. 	<p>probablement un inducteur des enzymes testées. D'autres études <i>in vivo</i> doivent être réalisées ou le modèle mécanistique peut être utilisé.</p> <p>La FDA recommande également de tenir compte des informations suivantes : L'activation du PXR résulte de la co-induction des CYP3A4 et 2C :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Ainsi si l'induction du CYP3A est négative il n'est pas nécessaire de poursuivre par d'autres études sur le CYP3A et 2C. - Si l'induction du CYP3A est positive alors l'induction du CYP2C doit être étudiée <i>in vitro</i> ou <i>in vivo</i>. <p>Parce que les CYP1A2 et 2B6 peuvent être induits par plusieurs récepteurs nucléaires (AhR et CAR), ils ne peuvent pas être co-induits avec le CYP3A. Ainsi l'induction des CYP1A2 et 2B6 doit être évaluée quelque soit le résultat d'induction du CYP3A.</p>
---	--

Modèle statique mécanistique

Ce modèle est basé sur l'équation détaillée en section II.A.2.2.

$$\frac{AUC'_{p.o.}}{AUC_{p.o.}} = \left(\frac{1}{[A \times B \times C] \times f_m + (1 - f_m)} \right) \times \left(\frac{1}{[X \times Y \times Z] \times (1 - F_G) + F_G} \right)$$

Le résultat est positif si le rapport des AUC d'un substrat spécifique d'une enzyme est en dehors des valeurs **0.8** et **1.25** :

- Si **AUC_R < 0.8** on est en présence d'une **induction**
- Si **AUC_R > 1.25** on est en présence d'une **inhibition**

Si le résultat est négatif la molécule d'intérêt est définie comme non inductrice dans son RCP et il n'y a pas d'étude *in vivo* complémentaire.

Si le résultat est positif il est recommandé de poursuivre par des études *in vivo* avec le substrat sonde approprié.

3.5.1.3. Exemple d'étude d'interaction [36]

Le dabrafenib est un inhibiteur d'une kinase indiqué dans le traitement du mélanome métastatique.

Le potentiel inducteur du dabrafenid sur les CYP450 a été étudié *in vitro* comme suivant :

Des hépatocytes ont été incubés avec du dabrafenid dans une gamme de concentration de 0.1 à 100 mM pendant 48h. Des inducteurs témoins positifs ont été ajoutés pour chaque type de CYP : l'oméprazole 50mM pour le CYP1A2, la phénitoïne 50mM pour le CYP2B6, et la rifampicine 10mM pour le CYP3A4. Les taux d'ARNm de chaque CYP ont été mesurés.

Résultats : à 30mM le dabrafenid augmente au maximum les taux d'ARNm du CYP2B6 et du CYP3A4 avec 320% et 150% d'augmentation respective par rapport à leurs témoins positifs. Concernant le CYP1A2 aucune modification du taux d'ARNm n'a été observée. Il a été observé une perte de la viabilité des cellules pour les plus hautes concentrations (100 mM).

Évaluation du risque d'interaction *in vivo* : utilisation du modèle statique mécanistique. Le profil d'interaction du CYP3A4 implique un mécanisme d'inhibition directe, d'inactivation et d'induction. En tenant compte des recommandations de la FDA, les modifications de l'AUC du midazolam sont de 0.87 fois. Toutes les données du test indiquent donc que le dabrafenil semble être un inducteur du CYP3A4 *in vivo*.

3.5.2. Études *in vivo*

Si les résultats des études *in vitro* sont en faveur d'une poursuite des études *in vivo*, il est recommandé de suivre les exigences des agences EMA et FDA (voir section II.A.3).

Les études *in vivo* sont généralement réalisées pour évaluer l'effet de la molécule d'intérêt sur une enzyme spécifique.

Dans ce type d'étude, il est recommandé d'étudier la pharmacocinétique d'un substrat sonde après administration de la molécule d'intérêt en dose unique et en doses multiples aux plus hautes doses recommandées.

La FDA recommande de réaliser les études avec des inducteurs forts :

CYP Enzymes	Strong Inducers ≥ 80% decrease in AUC	Moderate Inducers 50-80% decrease in AUC	Weak Inducers 20-50% decrease in AUC
CYP1A2		Montelukast, phenytoin, smokers versus non-smokers ⁽²⁾	Moricizine, omeprazole, phenobarbital.
CYP2B6		Efavirenz, rifampin	Nevirapine
CYP2C8		Rifampin	
CYP2C9		Carbamazepine, rifampin	Aprepitant, bosentan, phenobarbital, St. John's wort ^(3,4)
CYP2C19		Rifampin	Artemisinin
CYP3A	Avasimibe, ⁽⁵⁾ carbamazepine, phenytoin, rifampin, St. John's wort ⁽³⁾	Bosentan, efavirenz, etravirine, modafinil, nafcillin	Amprenavir, aprepitant, armodafinil, clobazamechinacea, ⁽⁴⁾ pioglitazone, prednisone, rufinamide, vemurafenib
CYP2D6	None known	None known	None known

- Résultats d'études :

EMA	FDA
<p>Résultat des études <i>in vitro</i> :</p> <ul style="list-style-type: none"> - si les études <i>in vitro</i> montrent une induction via l'activation des récepteurs PXR/CAR, il est recommandé d'effectuer des études <i>in vivo</i> d'abord sur le CYP 3A4. - Si les études <i>in vitro</i> montrent une induction via les récepteurs CAR, alors des études <i>in vivo</i> sur un substrat sonde de cette enzyme doivent être envisagées. <p>Résultats des études <i>in vivo</i> :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Si on observe l'induction d'une enzyme cliniquement significative (ou une régulation négative) alors la molécule d'intérêt est susceptible d'affecter d'autres enzymes ou transporteurs via le même mécanisme régulateur. - Si la molécule d'intérêt est un inducteur 	<p>Le substrat est donné par voie orale suivant l'administration de plusieurs doses de la molécule d'intérêt.</p> <p>S'il n'y a pas d'interaction on peut conclure que la molécule d'intérêt n'est pas un inducteur du substrat sonde.</p>

confirmé, il est recommandé de quantifier *in vivo* les effets de co-régulation d'autres enzymes ou transporteurs.

4. ÉLIMINATION ET TRANSPORTEURS

Au cours du développement d'une nouvelle molécule, il est recommandé d'étudier le plus tôt possible les transporteurs impliqués dans les processus d'élimination de la molécule d'intérêt. Il faut déterminer si cette élimination est en majorité rénale ou hépatique, c'est à dire si la clairance hépatique (et/ou biliaire) ou la clairance rénale participe à plus de 25% de la clairance totale. Il faut également étudier les transporteurs impliqués dans l'absorption et la distribution de la molécule afin de déterminer comment celle-ci peut être affectée.

Il faut aussi étudier si la molécule d'intérêt est susceptible d'inhiber ou d'induire des transporteurs et être responsable d'interactions médicamenteuses. En effet, si les transporteurs sont inhibés, ils provoquent une augmentation des concentrations plasmatiques de la molécule substrat et peuvent être à l'origine d'effets cliniquement significatifs (voir section transporteurs I.B.4.).

Il est également recommandé d'étudier le transport des métabolites.

4.1. Études *in vitro*

4.1.1. Est-ce que la molécule d'intérêt est substrat de transporteurs ?

Pour identifier les transporteurs impliqués dans l'élimination des molécules il faut dans un premier temps réaliser des études *in vitro*. Ces études doivent permettre d'identifier si la molécule d'intérêt est substrat de transporteurs pouvant être inhibés ou si la molécule d'intérêt inhibe des transporteurs impliqués dans l'élimination de médicaments.

Les transporteurs utilisés dans ces études sont sélectionnés en fonction de leur expression dans l'organe ciblé et en fonction de leur implication dans l'influx ou l'efflux de la molécule.

Si les études *in vitro* sont positives il faut poursuivre par des études *in vivo*.

4.1.1.1. Implication des voies rénales ou hépatiques (ou biliaires)

Les études sur les transporteurs impliqués dans l'élimination sont indiqués s'il existe des données *in vivo* montrant que les voies rénales et hépatiques sont responsable de la majorité de l'élimination de la molécule (et non le métabolisme) et que des impacts sur ces transporteurs peuvent avoir des effets cliniquement significatifs.

L'EMA recommande de déterminer l'importance de l'implication de chaque voie par des études de « mass balance », supportés par des données d'interaction, des informations

pharmacogénétiques, des données sur l'insuffisance rénale, des données sur les études avec les cellules Caco-2. [1]

- Étude de mass-balance :

Ce type d'étude utilise la radioactivité en administrant la molécule d'intérêt avec une étiquette radioactive. En théorie une étude de « mass-balance » veut que 100% de la radioactivité administrée soit comptabilisée dans les excréments. La pharmacocinétique de la radioactivité totale est mesurée, les excréments et des échantillons sanguins sont recueillis pour déterminer la quantité de molécules mères et de métabolites et leur profil. Ce type d'étude permet de déterminer les voies d'élimination de la molécule et les voies de métabolisme. [37][1]

4.1.1.2. Identification des transporteurs impliqués dans l'absorption

Les études *in vitro* sur les transporteurs intestinaux commencent en général par des études avec les cellules dites Caco-2. Ces cellules sont utilisées comme modèle de la barrière intestinale et expriment certains transporteurs tels que la P-gp. Ce modèle permet d'étudier la perméabilité de la barrière intestinale aux molécules dans les deux directions. Ce modèle permet aussi de vérifier l'expression des transporteurs. La perméabilité est analysée en mesurant le passage de la molécule du pôle apical (A) vers le pôle basal (B) de la cellule et en le comparant au passage de la molécule dans le sens inverse (B vers A). Si le ratio de B vers A sur A vers B est supérieur à 2 ou inférieur à 0.5 cela signifie que la molécule est substrat d'un transporteur d'efflux ou d'un transporteur d'influx respectivement.[1][38]

4.1.1.3. Identification des transporteurs impliqués dans la distribution

Il est recommandé de faire des études *in vitro* pour isoler et identifier des transporteurs impliqués dans l'influx ou l'efflux de la molécule d'intérêt.

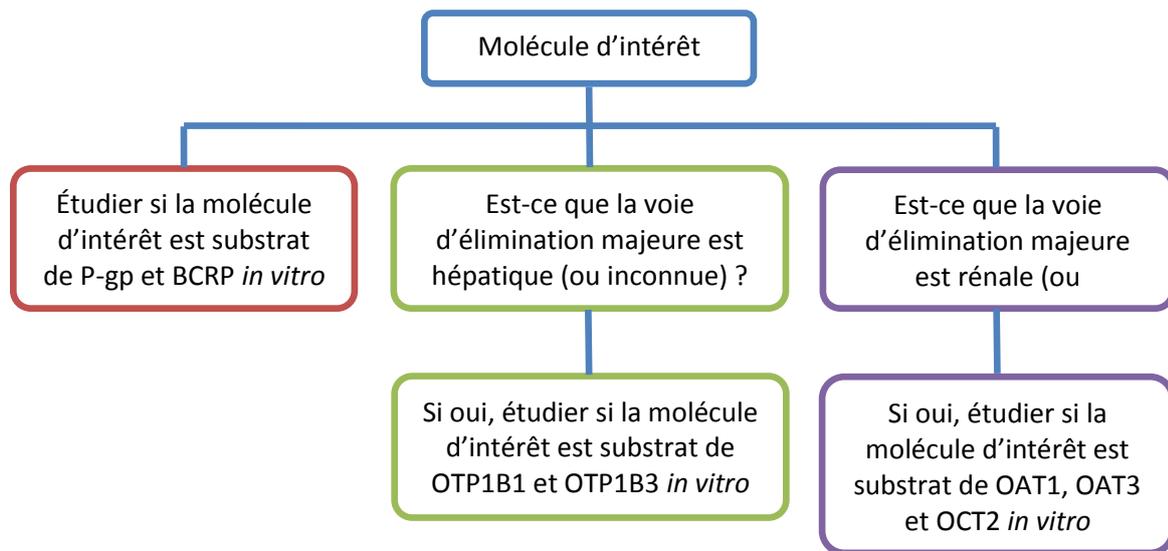
Plusieurs méthodes sont possibles : surexpression d'un transporteur dans un système de vecteur comparé à un vecteur normal, sélection d'inhibiteurs ou d'inducteurs spécifiques d'un seul transporteur, inhibition de l'expression de gènes de transporteur... Il est recommandé d'utiliser une méthode où les fonctions de transport *in vivo* sont préservées. La gamme de concentration de la molécule d'intérêt doit être choisie en fonction du site de transport. Au moins 4 concentrations différentes doivent être utilisées et elles ne doivent pas être trop hautes pour ne pas saturer les transporteurs actifs avec des basses concentrations. [1]

4.1.2. Stratégie générale en fonction des transporteurs

En fonction des résultats des études *in vitro* précédente, plusieurs stratégies d'étude des transporteurs sont recommandées : [2]

- Si l'élimination majeure est hépatique, il faut déterminer si la molécule est substrat des transporteurs : OATP1B1 et OATP1B3.
- Si l'élimination majeure est rénale et se fait par une sécrétion active, il faut déterminer si la molécule est substrat des transporteurs OAT1, OAT3 et OCT2.
- Il est également recommandé de vérifier si la molécule est substrat des transporteurs P-gp et BCRP présents au niveau du tractus intestinal, du foie et des reins. Ces transporteurs pouvant limiter la biodisponibilité de la molécule.

La FDA recommande de suivre l'arbre de décision ci-après [2]:



Chaque stratégie est détaillée ci-après.

4.1.2.1. Est-ce que la molécule d'intérêt est substrat de OATP1B1 et B3 ?

Les transporteurs OATP1B1 et B3 sont principalement localisés au niveau des hépatocytes (voir section I.B.4.2.1.). OATP1B1 transporte des acides biliaires, des conjugués sulfates et gluconates, des hormones thyroïdiennes, le méthotrexate et les inhibiteurs de la HMGCoA reductase ; OATP1B3 transporte les acides biliaires, la bilirubine, des stéroïdes conjugués, les hormones thyroïdiennes T3 et T4, le leukotriène C4 et le méthotrexate et la rifampicine.[26]

Plusieurs méthodes *in vitro* sont possibles pour évaluer ces transporteurs : des systèmes de virus recombinant, des lignées cellulaires exprimant un ou plusieurs transporteurs, des cellules polarisées ou des hépatocytes isolés.[26]

Pour déterminer si la molécule d'intérêt est substrat de ces transporteurs il faut procéder par étape : tout d'abord identifier si la molécule d'intérêt subit une absorption hépatique active (si la clairance hépatique et/ou la sécrétion biliaire est supérieure à 25% de la clairance totale) ensuite étudier les transporteurs dans des lignées cellulaires.

La FDA [2] a émis l'arbre de décision ci-après pour guider dans la stratégie d'évaluation de ces transporteurs :

Est-ce que la molécule d'intérêt subit un influx actif au niveau hépatique ? Est-ce que les propriétés physiologiques de la molécule (ex : perméabilité membranaire passive, fortes concentrations par rapport aux autres tissus, chargé au pH physiologique) permettent de conforter l'importance d'un influx actif dans le foie ?

Si oui :

Il est recommandé d'étudier l'influx via OATP1B1 ou OATP1B3 dans des lignées cellulaires surexprimant ces transporteurs en les comparant avec des cellules sans ces transporteurs.

Si non :

Cela signifie que la molécule d'intérêt n'est sûrement pas ou peu substrat de OATP.

Si la molécule est un substrat de OATP :

il est recommandé de faire une étude *in vivo* en dose unique avec la rifampicine ou la ciclosporine en tant que inhibiteurs.

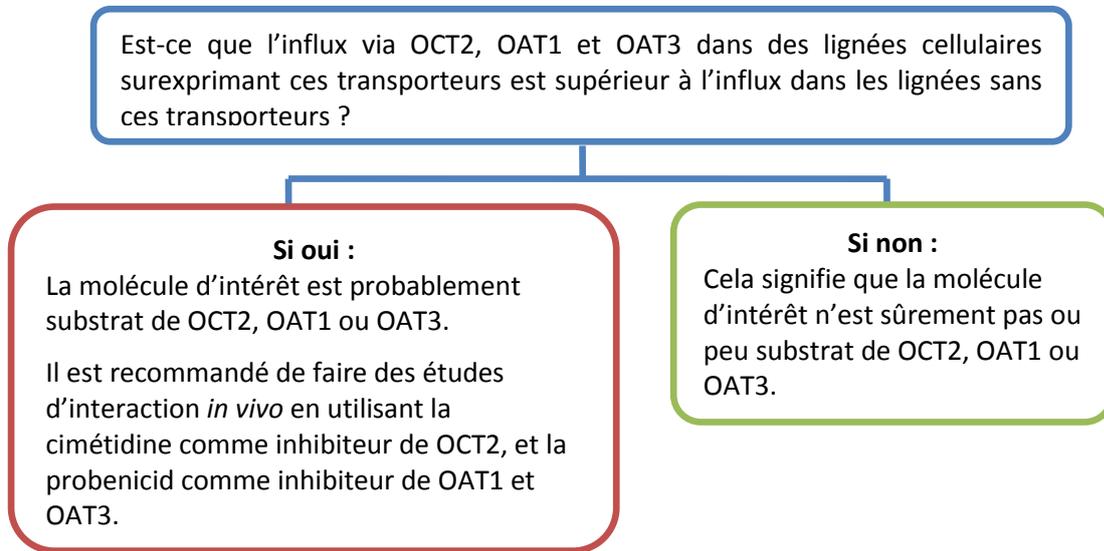
Il est également conseiller de faire des études PK chez des sujets ayant différents génotypes de OATP1B1 afin d'identifier l'importance de cette voie.

4.1.2.2. Est-ce que la molécule d'intérêt est substrat de OCT2, OAT1 et OAT3

Les transporteurs OCT et OAT sont exprimés au niveau intestinal, rénal et des hépatocytes (voir section I.B.4.1.1.). Les OCT transportent des molécules relativement hydrophiles et de faible masse moléculaire tandis que les OAT transportent des anions organiques et des médicaments tels que la cimétidine.[26]

Pour évaluer ces transporteurs *in vitro* plusieurs méthodes sont possibles : des membranes de vésicules, des lignées cellulaires provenant de tissus issus du tubule proximal, du placenta et des cellules Caco-2, des lignées cellulaires exprimant des OCT recombinant...[26]

La FDA [2] a émis l'arbre de décision ci-après pour guider dans la stratégie d'évaluation de ces transporteurs :



4.1.2.3. Est-ce que la molécule d'intérêt est substrat de P-gp et BCRP

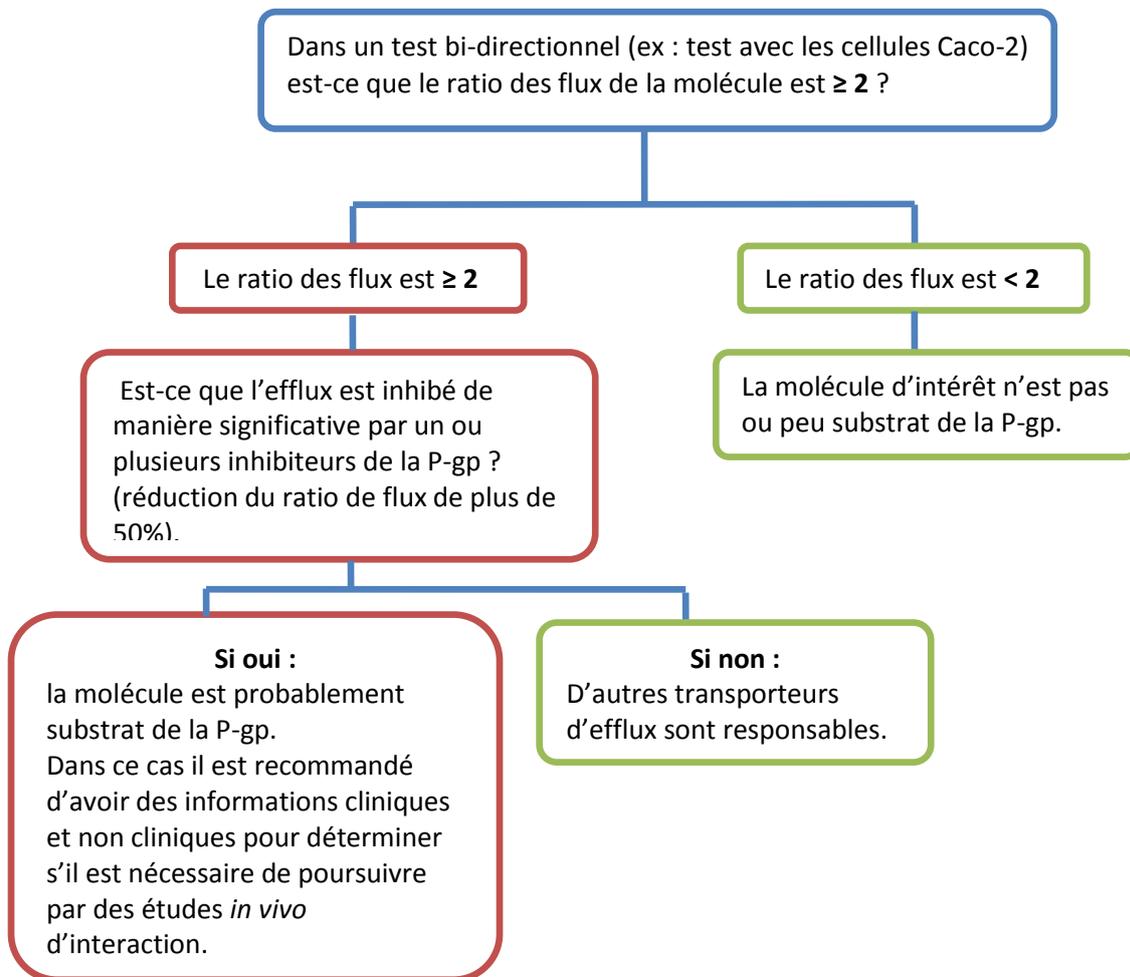
Pour évaluer si une molécule d'intérêt est substrat de la P-gp on peut utiliser la méthode des cellules Caco-2 (voir section II.B.4.1.1.2) ; cette méthode est la plus conseillée *in vitro*. La P-gp est localisée au niveau de la membrane du pôle apical des cellules polarisées. Un fort ratio d'efflux B-A/A-B dans ces cellules signifie que la P-gp joue un rôle important dans le transport de la molécule au travers de la cellule.[26]

Pour étudier le transporteur BCRP on utilise en général les mêmes méthodes *in vitro* et les mêmes critères que ceux de la P-gp.

D'après la FDA [2] une nouvelle molécule est considérée comme substrat potentiel de la P-gp ou du BCRP si le ratio d'efflux B-A/A-B est supérieur ou égal à 2 dans le système de cellules polarisées. Pour conforter ce résultat, des inhibiteurs de la P-gp ou du BCRP peuvent être utilisés : dans ce cas cela provoque une diminution du ratio des flux de plus de 50%. Si ce ratio n'est pas diminué en présence de l'inhibiteur cela signifie que d'autres transporteurs peuvent être responsables du flux de la molécule. [26]

Une liste des inhibiteurs et substrat de la P-gp et du BCRP est incluse en annexe 4.

Ci-après l'arbre de décision de la FDA[2] permet de définir la stratégie d'étude sur la molécule en fonction des résultats de l'étude *in vitro* :



4.2. Est-ce que la molécule d'intérêt est inhibitrice de transporteurs ?

La molécule d'intérêt peut être administrée avec d'autres médicaments substrats de transporteurs. Il est donc important de déterminer si la molécule est un inhibiteur de transporteurs et si une interaction est prévisible au niveau de ces transporteurs. Les études *in vitro* d'inhibition de transporteurs doivent être réalisées de préférence avant de commencer les phases III cliniques.

En général il est recommandé d'étudier l'inhibition des transporteurs suivants connus pour être impliqués dans des interactions cliniquement significatives: P-gp (MDR1, ABCB1), OATP1B1 (SLCO1B1), OATP1B3 (SLCO1B3), OCT2 (SLC22A2), OAT1 (SLC22A6), OAT3 (SLC22A8) et BCRP (ABCG2). On peut aussi étudier l'inhibition de OCT1 (SLC22A1), MATE1 (SLC47A1), MATE2 (SLC47A) et BSEP (ABCB11).[1]

L'EMA a émis certaines recommandations concernant la méthodologie de ces études *in vitro* : il faut utiliser des systèmes *in vitro* où les fonctions de transport sont préservées et il faut tenir compte de l'influence de la perméabilité passive des systèmes utilisés.

Ce type d'étude permet d'étudier les effets de différentes concentrations de la molécule d'intérêt sur le transport d'un substrat spécifique. Le K_i ou l' IC_{50} doivent être déterminés. Il est recommandé d'utiliser des inhibiteurs forts en tant que témoins positifs.

L'étude doit être réalisée dans la gamme de concentration de la molécule d'intérêt susceptible de provoquer une inhibition au site du transporteur.

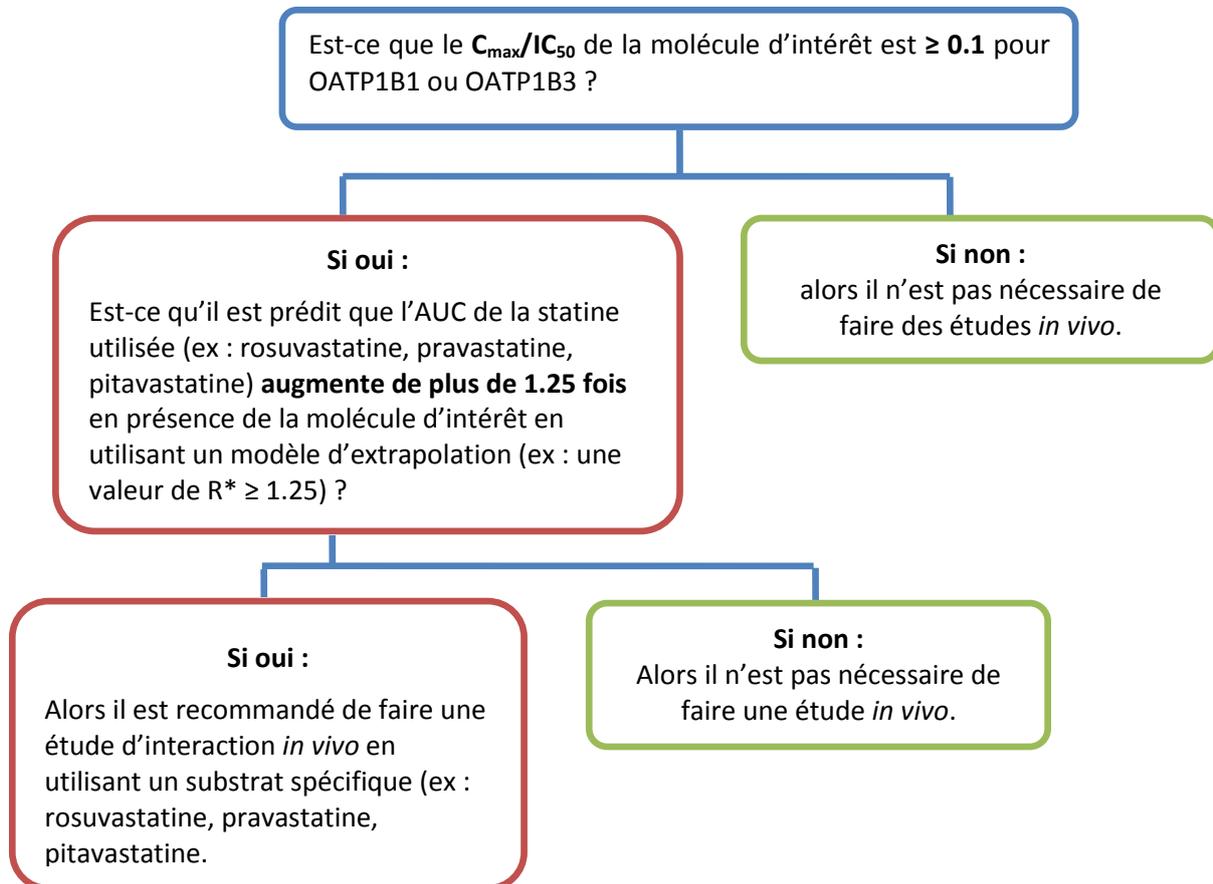
4.2.1. Est-ce que la molécule d'intérêt est inhibitrice de OATP1B1 et 1B3 ?

Pour évaluer si la molécule d'intérêt est un inhibiteur potentiel des OATP on peut utiliser un système exprimant ces transporteurs et prendre des substrats spécifiques tels que l'oestradiol-17- β -glucuronide, une statine ou le bromosulphophthale. Il faut mesurer l'influx de ces substrats en présence de la molécule d'intérêt et déterminer l'IC₅₀ de la molécule d'intérêt. Il est recommandé d'inclure des inhibiteurs en tant que témoins positifs tels que la rifampicine ou la ciclosporine. [26]

Si l'IC₅₀ est inférieur ou égal à 10 fois le C_{max} des concentrations libres (ou $C_{max}/IC_{50} \geq 0.1$ ou $[I]/IC_{50} \geq 0.1$) alors la molécule d'intérêt est susceptible d'être un inhibiteur des OATP *in vivo*. Dans ce cas il est recommandé de réaliser une approche *in vitro-in vivo* par extrapolation qui prend en compte les concentrations libre maximales à l'entrée du foie. Si les résultats de l'extrapolation montrent une augmentation de l'AUC de plus de 1.25 fois (valeur seuil R* recommandée par la FDA) alors il est recommandé de faire une étude d'interaction *in vivo*.

La valeur R* est calculée selon l'équation suivante : $R^* = 1 + (f_u \times I_{in,max}/IC_{50})$ où $I_{in,max}$ est la concentration maximale libre à l'entrée du foie.

Ci-après l'arbre de décision de la FDA [2] permet de définir la stratégie d'étude sur la molécule en fonction des résultats de l'étude *in vitro* :

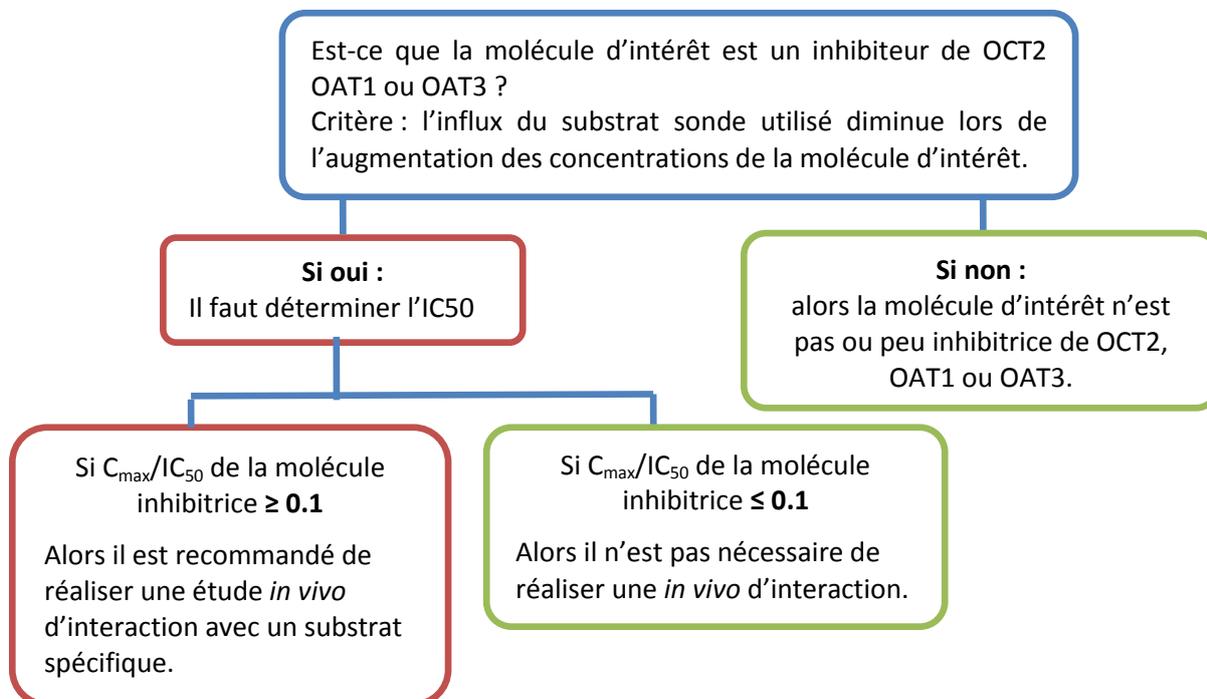


4.2.2. Est-ce que la molécule d'intérêt est inhibitrice de OCT2, OAT1 et OAT3

Pour évaluer l'inhibition des transporteurs OCT2, OAT1 et OAT3 il faut déterminer l' IC_{50} dans des études *in vitro*. Si la valeur de l' IC_{50} est inférieure ou égale à 10 fois le C_{max} des concentrations libres dans les cellules exprimant ces transporteurs alors il est recommandé de faire une étude *in vivo* d'interaction. Cette valeur a été choisie pour être conservateur et pour être cohérent avec les stratégies d'études de la P-gp et du BCRP.[26]

Pour tester l'inhibition de OCT2, on peut utiliser le MPP⁺ (1-méthyl-4-phenylpyridinium) ou la metformine en tant que substrat, pour OAT1 le PAH (acide para-aminohippurique) et pour OAT3 l'oestrone-3-sulfate.[2][26]

Ci-après l'arbre de décision de la FDA [2] permet de définir la stratégie d'étude sur la molécule en fonction des résultats de l'étude *in vitro* :

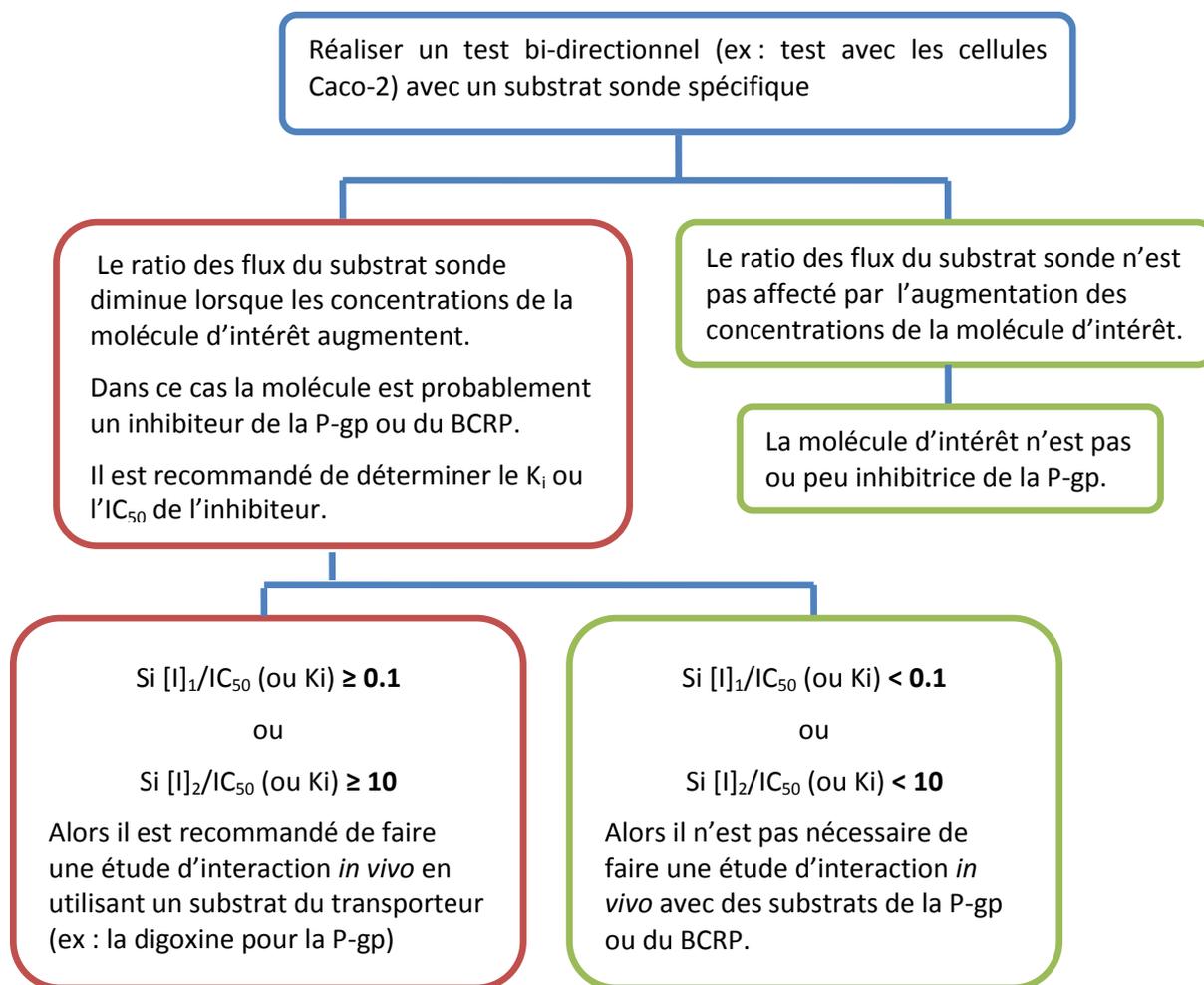


4.2.3. Est-ce que la molécule d'intérêt est inhibitrice de P-gp et BCRP

Pour étudier si la molécule d'intérêt est un inhibiteur de la P-gp ou du BCRP il est recommandé d'utiliser à nouveau la méthode des cellules de type Caco-2. Une nouvelle molécule est considérée comme un inhibiteur potentiel de la P-gp ou du BCRP si le ratio des flux du substrat sonde utilisé est diminué en présence de la molécule d'intérêt. En général la puissance de l'inhibition est exprimée par la valeur de l'IC₅₀ qui est dépendante du système utilisé. [26]

L'enjeu est de déterminer si la molécule d'intérêt qui inhibe l'efflux *in vitro* l'inhibe également *in vivo*. Lors d'une administration orale il faut considérer à la fois l'inhibition des efflux intestinaux (où les concentrations de l'inhibiteur seront les plus élevées) et l'inhibition de l'efflux au niveau tissulaire. Pour évaluer s'il peut y avoir une inhibition *in vivo* deux valeurs seuils ont été proposées : $[I]_1/IC_{50} \geq 0.1$ or $[I]_2/IC_{50} \geq 10$; $[I]_1$ représente la concentration moyenne maximale à l'état d'équilibre aux plus hautes doses cliniques et $[I]_2$ représente les concentrations gastro-intestinales maximales théoriques après administration orale, calculées comme les plus hautes doses cliniques (en mg) dans un volume de 250 mL.[26]

Ci-après l'arbre de décision de la FDA [2] permet de définir la stratégie d'étude sur la molécule en fonction des résultats de l'étude *in vitro* :



4.3. Est-ce que la molécule d'intérêt est inductrice de transporteurs ?

Les transporteurs peuvent être induits par les mêmes mécanismes que ceux retrouvés pour les CYP (activation de récepteurs nucléaires spécifiques). L'expression des certains transporteurs est régulée en coordination avec les enzymes du métabolisme car ils partagent les mêmes facteurs de transcriptions nucléaires. Par exemple la rifampicine et le millepertuis vont induire de façon concomitante l'expression des CYP3A et de MDRI (P-gp), MRP2, MRP3, MRP4 et des OATP1A2. Si des études *in vitro* montrent qu'une molécule d'intérêt est inductrice d'enzymes via PXR ou CAR, il est probable que les transporteurs régulés par ces mêmes récepteurs soient également induits.

Cependant les méthodes *in vitro* pour étudier l'induction de transporteurs ne sont pas bien comprises et maîtrisées. Des études complémentaires doivent être réalisées pour valider la nécessité de réaliser des études *in vivo* en fonction de résultats *in vitro*. Pour le moment il est donc recommandé de réaliser des essais d'activation de récepteurs nucléaires par des molécules dont on veut évaluer le potentiel d'induction. [1][2]

4.4. Études *in vivo*

De la même manière que pour les CYP, les transporteurs peuvent être inhibés ou induits et altérer l'exposition plasmatique de médicament substrats de ces transporteurs.

4.4.1. La molécule d'intérêt est substrat de transporteurs

Lorsqu'on étudie une molécule d'intérêt en tant que substrat de transporteur, le choix d'un inhibiteur ou inducteur se fait sur la base d'études sur le transporteur impliqué dans l'absorption et la distribution de la molécule. Il est recommandé d'utiliser en premier des inhibiteurs forts pour avoir une évaluation plus sensible.

La FDA recommande d'utiliser *in vivo* les inhibiteurs et inducteurs suivant [2] :

Transporteurs	Inhibiteurs	Inducteurs
P-gp	Amiodarone, azithromycine, captopril, carvedilol, clarithromicine, ciclosporine, diltiazem, dronedarone, erythromicine, felodipine, itraconazole, ketoconazole, lopinavir, ritonavir, quercetine, quinidine, ranolazine, verapamil	Avasimibe, carbamazepine, phénytoïne, rifampicine, millepertuis, tipranavir/ritonavir
BCRP	Cycloporine, elacridar, eltrombopag, gefitinib	Inconnu
OATP1B1	Atazanavir, ciclosporine, eltrombopag, gemfibrozil, lopinavir, rifampicine, ritonavir, saquinavir à vérifier	Inconnu
OATP1B3	Atazanavir, ciclosporine, lopinavir, rifampicine, ritonavir, saquinavir	Inconnu
OCT2	Cimétidine, quinidine	Inconnu
OAT1	Probenecid	Inconnu
OAT3	Probenecid cimetidine diclofenac	Inconnu

4.4.2. La molécule d'intérêt est inhibitrice de transporteurs

Lorsqu'on étudie la molécule d'intérêt en tant qu'inhibiteur ou inducteur de transporteurs, il faut choisir des substrats en fonction des voies de transport susceptibles d'être affectées par la molécule. En général, le substrat doit être celui dont la pharmacocinétique est la plus altérée par la co-administration d'inhibiteurs du transporteur. Le choix du substrat peut aussi se faire en fonction de la probabilité de co-administration avec d'autres molécules en thérapie.

Voici un tableau d'exemples de substrats à utiliser *in vivo* en fonction des transporteurs inhibés/induits par la molécule d'intérêt :

Transporteurs	Substrats
P-gp	Aliskiren, cochicine, dabigatran etexilate, digoxine, everolimus, fexofenadine, imatinib, lapatinib, maraviroc, nilotinib, ranolazine, sirolimus, sitagliptine, topotecan
BCRP	Methotrexate, mitoxantrone, imatinib, irinotecan, lapatinib, rosuvastatine, sulfasalazine, topotecan
OATP1B1	Atorvastatine, bosentan, ezetinib, fluvastatine, glyburide, SN-38, rosuvastatine, simvastatine, pravastatine, repaglinide, rifampicine, valsartan, olmesartan
OATP1B3	Atorvastatine, rosuvastatine, telmisartan, valsartan, olmesartan
OCT2	Amantadine, amiloride, cimétidine, dopamine, famotidine, memantine, metformine, pindolol, ranitidine, varenicline, oxaliplatine
OAT1	Adenofovir, captopril, furosemide, lamivudine, methotrexate, oseltamivir, tenofovir, zidovudine
OAT3	Acyclovir, bumetanide, ciprofloxacine, famotidine, furosemide, methotrexate, zidovudine, oseltamivir, penicilline G, pravastatine, rosuvastatine, sitagliptine

Cependant, comme de nombreuses molécules sont substrats de plusieurs transporteurs ou enzymes, il n'y a pas de substrats spécifiques pour chaque transporteur (ex : la rosuvastatine est substrat du BCRP, OATP1B1 et OATP1B3).

4.4.3. La molécule d'intérêt est inductrice de transporteurs

Comme vu précédemment, les études *in vitro* pour tester l'induction de transporteurs ne sont pas validées. L'évaluation définitive se fait donc *in vivo*. Comme les mécanismes d'induction d'enzymes et de transporteurs peuvent être similaires (ex : entre CYP3A4 et la P-gp), les études d'induction d'enzymes peuvent donner des informations sur les transporteurs.

Conclusion et discussion Partie II

La complexité des études sur les transporteurs relève de la nature des transporteurs et de leur multiplicité. En effet, les transporteurs sont répartis dans plusieurs types de tissus, sont impliqués dans le transport de plusieurs types de molécule sans être spécifique d'un seul substrat, et peuvent agir en parallèles ou en opposés. Lorsque plusieurs transporteurs agissent sur une même molécule, l'impact de l'inhibition d'un transporteur dépendra de l'implication du transporteur dans le circuit de la molécule. Par ailleurs, un transporteur inhibé peut être compensé par un autre, ce qui empêche de mesurer l'effet sur le transport de la molécule étudiée. Dans ce cas l'extrapolation des résultats *in vitro* en information *in vivo* peut conduire à des erreurs. Dans d'autres cas, si la molécule inhibitrice (ou inductrice) et la molécule substrat interagissent avec des transporteurs multiples cela peut conduire à des effets non prévisibles, dose-dépendants et très variables.[39]

Un autre paramètre important est l'évolution rapide des connaissances sur les transporteurs qui amène de nouvelles données et de nouvelles considérations. Ainsi de récentes études suggèrent que les protéines de transport MATE1 et MATE2-k peuvent être des transporteurs rénaux plus importants que l'OCT2, transporteur dont l'étude est recommandée par les deux agences. En effet, la cimétidine actuellement recommandée en tant qu'inhibiteur *in vivo* des OCT2 est un inhibiteur plus puissant de MATE1 et MATE2-k. De la même manière la metformine, substrat *in vitro* recommandé pour l'OCT2 n'est pas un substrat aussi sensible pour OCT2 que pour OCT1 et MATE1/MATE2-k.

Les nouvelles molécules étudiées avec les recommandations de la FDA :

Une étude récente américaine (2014) a réalisé une revue des études effectuées selon les recommandations de la FDA.[40]

En 2013, les nouvelles molécules approuvées par les États-Unis, ont été développées selon les recommandations de la FDA. Sur 22 molécules, toutes sont métabolisées par au moins une enzyme dont la majorité sont des CYP. Les CYP3A4/5 sont les plus représentatifs. 10 de ces molécules sont substrats des CYP3A et voient leur AUC diminuer de plus de 20% lorsqu'elles sont co-administrées avec des inhibiteurs du CYP3A. L'augmentation de l'exposition la plus importante a été observée pour l'ibrutinib (traitement des lymphomes et leucémies) co-administré avec le kétoconazole (inhibiteur puissant du CYP3A4/5) montrant le rôle important du CYP3A dans le métabolisme de ce médicament. Sur la base de ces résultats il est conseillé d'éviter d'associer cette molécule avec des inhibiteurs ou des inducteurs du CYP3A.

Lorsque les laboratoires ont étudié les nouvelles molécules en tant qu'inhibiteurs ou inducteurs, 17 molécules ont inhibé *in vitro* au moins une enzyme CYP dont en majorité le CYP3A4. Mais *in vivo* seulement 3 molécules ont montré une inhibition et 2 une induction, ce qui montre l'importance de pouvoir extrapoler les données *in vitro* en données *in vivo*.

Concernant les modèles d'étude *in vitro*, le modèle basique a été utilisé en premier en calculant le ratio (R) des clairances intrinsèques en absence et en présence de l'inhibiteur ou l'inducteur afin de déterminer si une étude d'interaction *in vivo* est nécessaire.

Concernant les transporteurs, 20 des 22 molécules approuvées ont été testées avec les transporteurs recommandés par la FDA. Les études montrent que la P-gp est le transporteur le plus impliqué soit en tant que substrat soit en tant que transporteur. L'interaction la plus importante a été retrouvée avec le sofosbuvir (traitement de l'hépatite C) substrat de la P-gp et du BCRP lorsqu'il est administré avec la ciclosporine (inhibiteur de la P-gp et du BCRP).

Sur toutes les molécules testées, 3 ont montré un pouvoir inhibiteur *in vivo* sur la P-gp, alors que 85% d'entre elles ont montré une interaction *in vitro* avec au moins un transporteur. Ces informations montrent, que lorsqu'elles sont testées *in vitro*, beaucoup de molécules apparaissent comme substrats ou inhibiteurs de transporteurs mais pas forcément *in vivo*.

Partie III : Communication des résultats d'études

1. Traduction des résultats en recommandations d'emploi

Les conséquences cliniques des interactions observées *in vivo* (ou *in vivo*) pour une nouvelle molécule doivent être étudiées afin de pouvoir émettre des recommandations d'utilisation. Les données obtenues sur les mécanismes de ces interactions doivent être utilisées pour prédire d'autres interactions possibles.

1.1. Les données issus des études *in vitro*

Si l'on ne dispose seulement que de données *in vitro* positives sans données *in vivo* (ex : absence de substrat sonde spécifique, design *in vivo* non réalisable...) et si les résultats *in vitro* sont en faveur d'un risque d'interaction *in vivo*, l'EMA recommande au laboratoire de discuter de ce risque et de si possible donner des recommandations quant à l'utilisation de ce nouveau traitement.[1]

1.2. Les effets *in vivo* de médicament sur la molécule d'intérêt

Il est recommandé d'évaluer la pertinence des effets clinique engendrés par les interactions avec la molécule d'intérêt afin de les utiliser pour prédire des effets avec d'autres molécules ayant les mêmes mécanismes d'interaction.

Les recommandations d'utilisation de la molécule doivent permettre aux patients de recevoir le traitement de manière efficace et sécuritaire. Si possible, il faut donner une valeur cible des paramètres d'exposition de la nouvelle molécule en spécifiant quels sont les changements qui justifient des ajustements de doses.

1.3. Informations et recommandations à mettre dans le RCP

Les informations issues des études d'interaction doivent être renseignées dans la notice d'utilisation du médicament ou Résumé des Caractéristiques du Produit (RCP). Ces informations sont nécessaires aux prescripteurs pour utiliser le médicament dans des conditions de sécurité et d'efficacité. La rédaction du RCP suit les recommandations des agences EMA et FDA.

Le RCP est divisé en plusieurs sections ; les sections 4 et 5 sont celles comprenant les données issues des études de développement :

- Section 4: données cliniques
 - 4.1 : indications thérapeutiques
 - 4.2 : posologies et modes d'administration
 - 4.3 : contre-indication
 - 4.4 : mise en garde et précautions particulières d'emplois

- 4.5 : interactions avec d'autres médicaments et autres formes d'interactions
- 4.6 : grossesse et allaitement
- 4.7 : effet sur l'aptitude à conduire des véhicules ou à utiliser des machines
- 4.8 : effets indésirables
- 4.9 : surdosage
- Section 5 : propriétés pharmacologiques
 - 5.1 : propriétés pharmacodynamiques
 - 5.2 : propriétés pharmacocinétiques

Les informations concernant les interactions médicamenteuses doivent être renseignées dans les sections 4.5 et 5.2 si cela concerne des interactions avec l'alimentation. Ces informations doivent être renvoyées aux sections 4.2, 4.3 ou 4.4. La section 4.5 doit contenir toutes les informations sur les interactions et les recommandations seront résumées dans les autres sections.[1]

Les interactions médicamenteuses sont à l'origine d'un système de prévention des risques se traduisant par des contraintes de co-utilisation des médicaments. Ces contraintes sont classées en quatre niveaux en fonction de la gravité de l'effet généré par l'interaction entre plusieurs médicaments [41]:

- **Contre-indication** : c'est le niveau de contrainte le plus exigeant ; il interdit l'utilisation de certains médicaments entre eux sous peine d'engendrer des effets indésirables graves, ou une perte d'efficacité, ou autres...
- **Association déconseillée** : cette contrainte préconise d'éviter le plus possible l'association entre certains médicaments, mais elle ne l'interdit pas en cas de nécessité absolue en nécessitant une étroite surveillance.
- **Précaution d'emploi** : c'est le niveau de contrainte le plus fréquent, l'association est possible du moment que certaines conditions sont respectées telles que l'adaptation de posologie, la surveillance biologique, la bonne compliance du patient...
- **À prendre en compte** : le risque d'interaction existe, il correspond le plus souvent à une addition d'effets indésirables. Aucune recommandation pratique ne peut être proposée et il revient au médecin d'évaluer l'intérêt d'une telle association.

S'il n'y a pas d'interaction il faut également le spécifier dans le cas où cela apporte des informations d'intérêt pour le prescripteur.

Dans la section 4.5 :

- D'abord renseigner les interactions dont la molécule d'intérêt est victime ;
- Ensuite renseigner les interactions provoquées par la molécule d'intérêt sur les autres médicaments.

Il est recommandé de donner des informations sur les enzymes impliquées dans l'élimination de la molécule ainsi que les transporteurs ayant un impact significatif sur l'absorption, la distribution et l'élimination de la molécule.

Les effets de la molécule sur les enzymes et transporteurs doivent être renseignés afin de donner des informations quant aux mécanismes d'interaction.

Si la molécule est un inhibiteur ou inducteur d'enzyme, sa puissance doit être renseignée en donnant une estimation des modifications de l'exposition plasmatique du substrat en cas de co-administration.

Sur la base des mécanismes d'interaction, les résultats peuvent être extrapolés à d'autres molécules et il est recommandé de donner une liste des médicaments pouvant être affectés. Si l'interaction passe par les CYP3A4, la liste serait trop longue et dans ce cas il faut choisir les molécules engendrant les effets cliniques les plus graves.

Dans le cas où des informations *in vivo* ne sont pas disponibles, les informations *in vitro* doivent être renseignées dans la section 5.2.

Les résultats des études doivent être présentés en donnant les effets moyens apparaissant lorsque les paramètres d'exposition sont les plus importants. Les données des études telles que : substrats utilisés, design, doses, posologie et durée de traitement doivent être renseignées.

Exemple du RCP d'une molécule approuvée par l'EMA en 2014 : le Xadago® (safinamide) dans le traitement de la maladie de Parkinson : [42]

- **4.5 Interaction avec les autres médicaments et autres formes d'interaction**

Les interactions médicamenteuses pharmacocinétiques *in vivo* et *in vitro* :

- Pas d'effet sur la clairance du safinamide lorsque est co-administré avec la L-dopa et/ou des agonsites dopaminergiques ;
- Le safinamide ne modifie pas le profil pharmacocinétique de la L-dopa
- Kétoconazole : pas de modification sur les taux de safinamide
- Interaction *in vivo* avec les substrats des CYP1A2 et 3A4 (caféine et midazolam): pas d'effet cliniquement significatif sur le profil pharmacocinétique avec le safinamide. Ces résultats sont en accord avec les études *in vitro* qui ont montré une absence d'inhibition et d'induction des CYP ; ceux-ci jouant un rôle mineur dans le métabolisme de la molécule.
- BCRP : le safinamide peut inhiber de façon transitoire ce transporteur, par conséquent un intervalle de temps de 5h doit être respecté entre le safinamide et les substrats du BCRP ayant un Tmax ≤2 h (ex : pitavastatine, pravastatine, ciprofloxacine, methotrexate, topotecan, diclofenac ou glyburide).
- Le safinamide est éliminé quasi exclusivement par métabolisme via des amidases. Actuellement il n'y pas de produits connus engendrant des interactions cliniquement significatives par inhibition ou induction d'amidases.

- Métabolite : le NW-1153 est un substrat du transporteur OAT3, les produits inhibiteurs de l'OAT3 peuvent réduire la clairance du NW-1153 et augmenter son exposition systémique.

Annexes:

1. Substrats et inhibiteurs des cytochromes P450

a. Substrats et inhibiteurs du CYP1A2 [19]

Table 3 Substrates and inhibitors of CYP1A2 enzyme

Drug	Reaction	K_m in HLMs (μM)	Specificity near K_m	References
Substrates				
Caffeine ^a	3 <i>N</i> -demethylation	200–500	High	Campbell et al. (1987) Butler et al. (1989) Tassaneeyakul et al. (1992)
Phenacetin ^b	<i>O</i> -de-ethylation	10–50 μM	High	Distlerath et al. (1985) Sesardic et al. (1988) Brosen et al. (1993) Tassaneeyakul et al. (1993a)
Ethoxyresorufin ^b	<i>O</i> -de-ethylation	0.11–0.23	Moderate (CYP1A1)	Burke et al. (1985) Tassaneeyakul et al. (1993a)
Tacrine ^b	1-Hydroxylation	2.8–16	High	Bourrié et al. (1996) Hooper et al. (1994) Spaldin et al. (1995)
Theophylline ^b	<i>N</i> -demethylation	280–1230	High	Becquemont et al. (1998) Campbell et al. (1987) Sarkar and Jackson (1994)
Melatonin	6-Hydroxylation	6	Moderate (CYP1A1, 2C19)	Tjia et al. (1996) Facciola et al. (2001) Härter et al. (2001) Ma et al. 2005
Riluzole	<i>N</i> -hydroxylation	30	High	Sanderink et al. (1997)
Tizanidine	Oxidative metabolism	nk	High ^c	Granfors et al. (2004)
Zolmitriptan	<i>N</i> -demethylation		High	Wild et al. (1999)
Ropivacaine	3-Hydroxylation	16	High	Oda et al. (1995)
Flutamide	2-Hydroxylation	18*	High	Ekström and Gunnarsson (1996) Shet et al. (1997) Rochat et al. (2001)
Frovatriptan	Oxidative and reductive metabolism	nk	High ^c	Buchan et al. (2002) Balbisi (2006)
Lidocaine	3-Hydroxylation	975–6,395	High	Wang et al. (2000a)
	<i>N</i> -de-ethylation	228–270		Orlando et al. (2004)
Ropinirole	<i>N</i> -depropylation	5–518–87	Moderate (CYP3A4)	Bloomer et al. (1997)
	Hydroxylation			
Mirtazapine	8-Hydroxylation	92–194	Moderate (CYP2D6, 2C9, 3A4)	Störmer et al. (2000)
Clozapine	<i>N</i> -demethylation	120	Moderate (3A4, 2C)	Bertilsson et al. (1994) Fang et al. (1998) Tugnait et al. (1999) Olesen and Linnet (2001)
Inhibitors				
Fyrafylline	Mechanism-based	0.6–0.7	High	Sesardic et al. (1990) Kunze and Trager (1993) Clarke et al. (1994a, b)

Drug	Mode of inhibition	K_i in HLMs (μM)	CYP selectivity and other CYPs inhibited	References
Fluvoxamine	Competitive	0.12–0.24	Moderate (CYP2B6, 2C9, 2C19, 2D6)	Brosten et al. (1993) Rasmussen et al. (1995) Härtter et al. (2001) Turpeinen et al. (2005a)
α -Naphthoflavone	Competitive	0.01	Moderate (CYP1A1)	Tassaneeyakul et al. (1993a) Tsyrolov et al. (1993)
Ciprofloxacin	Competitive	90–290	High	McLellan et al. (1996) Fuhr et al. (1990)
Rofecoxib	Mechanism-based	4.8	High?	Bachmann et al. (2003) Karjalainen et al. (2006) Backman et al. (2006a, b)
Mexiletine	Competitive	4.3–8.3	Moderate (CYP1A1)	Ogiso et al. (1995) Konishi et al. (1999)
Propafenone	Competitive	21 ^d	nk	Kobayashi et al. 1998
Enoxacin	Competitive	65–170	High	Fuhr et al. (1990) Valero et al. (1991)

nk not known

^a Preferred in vivo probe substrate

^b Preferred in vitro probe substrate

^c Contribution of CYP1A2 to the overall metabolism

^d K_m from cDNA expressed CYP1A2

b. Substrats et inhibiteurs du CYP2A6 [19]

Table 4 Substrates and inhibitors of CYP2A6 enzyme

Drug	Reaction	K_m in HLMs (μM)	Specificity near K_m	References
Substrates				
Nicotine ^a	<i>N</i> -1'-oxidation	65–95	High	Cashman et al. (1992) Nakajima et al. (1996a, b) Messina et al. (1997)
Coumarin ^b	7-Hydroxylation	0.2–2.4	High	Pelkonen et al. (1985) Pearce et al. (1992) Li et al. (1997) Walsky and Obach (2004)
Cotinine	3'-Hydroxylation	235	High	Nakajima et al. (1996b)
Pilocarpine	3-Hydroxylation	1.5	High	Endo et al. (2007)
SM-12502	<i>S</i> -oxidation	21	High	Nunoya et al. (1996)
Drug	Mode of inhibition	K_i in HLMs (μM)	CYP selectivity and other CYPs inhibited	References
Inhibitors				
Tranlycypromine	Competitive	0.08–0.2	Moderate (CYP2E1)	Draper et al. (1997) Taavitsainen et al. (2001) Zhang et al. (2001a, b)
Methoxsalen	Mechanism-based	0.2–0.8	Moderate (CYP1A2)	Mäenpää et al. (1994) Draper et al. (1997) Koenigs et al. (1997)
Tryptamine	Competitive	0.2	Poor (CYP1A2)	Draper et al. (1997) Higashi et al. (2007a, b)
Pilocarpine	Competitive	1	High?	Kinonen et al. (1995) Koenigs et al. (1997)

^a Preferred in vivo probe substrate

^b Preferred in vitro probe substrate

[?] Probably high

c. Substrats et inhibiteurs du CYP2B6 [19]

Table 5 Substrates and inhibitors of CYP2B6 enzyme

Drug	Reaction	K_m in HLMS (μ M)	Specificity near K_m	References
Substrates				
Bupropion ^{a,b}	Hydroxylation	89–130	High	Faucette et al. (2000) Hesse et al. (2000) Turpeinen et al. (2005a)
Efavirenz	8-Hydroxylation	17–23	Moderate (CYP1A2, 3A4)	Ward et al. (2003)
Cyclophosphamide	4-Hydroxylation	2,000	Moderate (CYP2C9, 2C19, 3A4)	Roy et al. (1999a) Huang et al. (2000)
Ifosfamide	<i>N</i> -dechloro-ethylation	1,900	Moderate (CYP2C9, 2C19, 3A4)	Roy et al. (1999a, b) Huang et al. 2000
Piclamilast (RP 73401)	Hydroxylation	8–26	High	Stevens et al. (1997)
<i>S</i> -mephobarbital	<i>N</i> -demethylation	236–276	High	Kobayashi et al. (1999)
Pethidine (meperidine)	<i>N</i> -demethylation	45	Moderate (CYP3A4)	Ramírez et al. (2004)
Propofol	Hydroxylation	8–10	Moderate (CYP2C9)	Court et al. (2001) Oda et al. (2001)
Ketamine	<i>N</i> -demethylation	24–48	Moderate (CYP2C9, 3A4)	Yanagihara et al. (2001) Hijazi and Boulieu (2002)
Nicotine	<i>N</i> -demethylation	619	Moderate (CYP2A6)	Yamanaka et al. (2005)
Artemisinin	nk	nk	Moderate (CYP3A4) ^c	Svensson and Ashton (1999)

Drug	Mode of inhibition	K_i in HLMS (μ M)	CYP selectivity and other CYPs inhibited	References
Inhibitors				
ThioTEPA	Mechanism-based	2.8–3.8	High	Rae et al. (2002) Harleton et al. (2004) Turpeinen et al. (2004) Richter et al. (2005)
Ticlopidine	Mechanism-based	0.2–0.8	Moderate (CYP1A2, 2C19, 2D6)	Richter et al. (2004) Turpeinen et al. (2004) Turpeinen et al. (2005a, b)
Clopidogrel	Mechanism-based	1.1	Moderate (CYP2C19, 2C9)	Richter et al. (2004) Turpeinen et al. (2005b)
17- α -Ethinylestradiol	Mechanism-based	0.8	Moderate (CYP1A2)	Kent et al. (2002) Palovaara et al. (2003)

^a Preferred in vivo probe substrate

^b Preferred in vitro probe substrate

^c Contribution of CYP2B6 to the overall metabolism

d. Substrats et inhibiteurs du CYP2C8 [19]

Table 6 Substrates and inhibitors of CYP2C8 enzyme

Drug	Reaction	K_m in HLMS (μM)	Specificity near K_m	References
Substrates				
Repaglinide ^a	Oxidation	24	Moderate (CYP3A4)	Bidstrup et al. (2003) Kajosaari et al. (2005)
Rosiglitazone ^a	<i>p</i> -Hydroxylation <i>N</i> -demethylation	4–8 12–20	Moderate (CYP2C9)	Baldwin et al. (1999)
Paclitaxel ^b	6 α -Hydroxylation	2.5–19	High	Desai et al. (1998) Cresteil et al. (1994) Ohyama et al. (2000) Li et al. (2003)
Amodiaquine ^b	<i>N</i> -de-ethylation	1.9–3.4	High	Li et al. (2002) Li et al. (2003) Walsky and Obach (2004)
Amiodarone	<i>N</i> -de-ethylation	19–38	Poor (CYP1A2, 2C19, 3A4)	Soyama et al. (2002) Ohyama et al. (2000)
Tazarotenic acid	Sulfoxidation	25	High	Attar et al. (2003)
Chloroquine	<i>N</i> -de-ethylation	210–444	Moderate (CYP3A4)	Projean et al. (2003) Kim et al. (2003a, b)

Drug	Mode of inhibition	K_i in HLMS (μM)	CYP selectivity and other CYPs inhibited	References
Inhibitors				
Montelukast	Competitive	0.009–0.15	Moderate (CYP2C9, 3A4)	Walsky et al. (2005a, b)
Quercetin	Competitive	1.1–1.6	Poor (CYP1A2, 2E1, 3A4)	Li et al. (2002) Turpeinen et al. (2005b) Walsky et al. (2005b)
Trimethoprim	Competitive	29–32	High	Wen et al. (2002) Hruska et al. (2005)
Gemfibrozil (glucuronide)	Mechanism-based	52–75	High	Wang et al. (2002) Kajosaari et al. (2005) Ogilvie et al. (2006)

^a Preferred in vivo probe substrate

^b Preferred in vitro probe substrate

e. Substrats et inhibiteurs du CYP2C9 [19]

Table 7 Substrates and inhibitors of CYP2C9 enzyme

Drug	Reaction	K_m in HLMs (μM)	Specificity near K_m	References
Substrates				
Tolbutamide ^{a,b}	Hydroxylation	60–580	High	Relling et al. (1990) Veronese et al. (1991) Bourrié et al. (1996) Yuan et al. (2002)
Diclofenac ^b	4-Hydroxylation	2–22	High	Leemann et al. (1993) Li et al. (2003) Walsky and Obach (2004) Kumar et al. (2006)
S-warfarin ^b	7-Hydroxylation	3–4	High	Kunze et al. (1996) Kumar et al. (2006)
Phenytoin	4'-Hydroxylation	12–117	Moderate (CYP2C19)	Veronese et al. (1991) Doecke et al. (1991) Giancarlo et al. (2001)
Losartan	Oxidation (E-3174)	4–20	Moderate (CYP3A4)	Stearns et al. (1995) Yasar et al. (2001)
Ibuprofen	2-Hydroxylation 3-Hydroxylation	13–19629–200	Moderate (CYP2C8)	Hamman et al. (1997) Carfile et al. (1999)
Naproxen	O-demethylation	92–160	Moderate (CYP1A2)	Rodrigues et al. (1996) Miners et al. (1996) Tracy et al. (1997)
Flurbiprofen	4'-Hydroxylation	6–42	High	Tracy et al. (1996) Yamazaki et al. (1998)
Indomethacin	O-demethylation	35	Moderate (CYP2C19)	Nakajima et al. (1998)
Inhibitors				
Drug	Mode of inhibition	K_i in HLMs (μM)	CYP selectivity and other CYPs inhibited	References
Sulphaphenazole	Competitive	0.3	High	Back et al. (1988) Bourrié et al. (1996) Baldwin et al. (1995)
Fluconazole	Mixed type	7–8	Poor (CYP2C19, 3A4)	Back et al. (1988) Kunze et al. (1996)
Amiodarone	Non-competitive	95	Poor (CYP2D6, 3A4)	Heimark et al. (1992) Ohyama et al. (2000)

^a Preferred in vivo probe substrate

^b Preferred in vitro probe substrate

f. Substrats et inhibiteurs du CYP2C19 [19]

Table 8 Substrates and inhibitors of CYP2C19 enzyme

Drug	Reaction	K_m in HLMs (μ M)	Specificity near K_m	References
Substrates				
Omeprazole ^{a,b}	5-Hydroxylation	6–10	High	Andersson et al. (1993) Chiba et al. (1993) Abelö et al. (2000)
S-mephenytoin ^{a,b}	4'-Hydroxylation	23–169	High	Chiba et al. (1993) Coller et al. (1999) Ohyama et al. (2000) Walsky and Obach (2004)
Lansoprazole	5-Hydroxylation	15–17	Moderate (CYP3A4)	Pearce et al. (1996) Kim et al. (2003a, b)
Diazepam	N-demethylation	120	Moderate (CYP3A4)	Andersson et al. (1994) Yasumori et al. (1994)
Proguanil	Oxidation (cycloguanil)	35–380	Moderate (CYP3A4)	Coller et al. (1999) Birkett et al. (1994) Funck-Brentano et al. (1997)
Inhibitors				
Drug	Mode of inhibition	K_i in HLMs (μ M)	CYP selectivity and other CYPs inhibited	References
Omeprazole	Competitive	2–3	Moderate (CYP2C9, 3A4)	Chiba et al. (1993) Ko et al. (1997) Funck-Brentano et al. (1997)
Ticlopidine	Mechanism-based	1.2	Poor (CYP2B6, 1A2, 2D6)	Ko et al. (2000) Ha-Duong et al. (2001) Turpeinen et al. (2006)
Nootkatone	nk	0.5	Poor (CYP2A6)	Tassaneeyakul et al. (2000)

^a Preferred in vivo probe substrate
^b Preferred in vitro probe substrate

g. Substrats et inhibiteurs du CYP2D6 [19]

Table 9 Substrates and inhibitors of CYP2D6 enzyme

Drug	Reaction	K_m in HLMs (μ M)	Specificity near K_m	References
Substrates				
Dextromethorphan ^{a,b}	O-demethylation	2.8–22	High	Broly et al. (1989) Bourrié et al. (1996) Schmider et al. (1997) Walsky and Obach (2004)
Bufuralol ^b	1'-Hydroxylation	3–30	High	Ohyama et al. (2000) Yuan et al. (2002)
Debrisoquine ^a	4-Hydroxylation	130	High	Kahn et al. (1982) Boobis et al. (1983) Distlerath et al. (1985)
Codeine	O-demethylation	149	High	Dayer et al. (1988) Mortimer et al. (1990)
Desipramine	2-Hydroxylation	10–15	High	von Moltke et al. (1998a)
Atomoxetine	4-Hydroxylation	2.2–2.3	High	Ring et al. (2002)
Thioridazine	2-Sulfoxidation (mesoridazine)	62 ^c	Moderate (CYP2C19, 3A4)	Wójcikowski et al. (2006)

Drug	Mode of inhibition	K_i in HLMs (μM)	CYP selectivity and other CYPs inhibited	References
Inhibitors				
Quinidine	Competitive	0.018–0.06	Good	Broly et al. (1989) Otton et al. (1984) Otton et al. (1988) Abdel-Rahman et al. (1999) Abdel-Rahman et al. (1999)
Terbinafine	Competitive	0.028–0.044	Good	Vickers et al. (1999)
Paroxetine	Competitive	0.15	Moderate (CYP2C9, 2C19)	Crewe et al. (1992) Kobayashi et al. (1995) Schmider et al. (1997)
Fluoxetine	Competitive	0.6	Moderate (CYP2C9, 2C19)	Crewe et al. (1992) Kobayashi et al. (1995) Schmider et al. (1997)
Norfluoxetine	Competitive	0.43	Moderate (CYP2C9, 2C19)	Crewe et al. (1992) Kobayashi et al. (1995) Schmider et al. (1997)
Sertraline	Competitive	0.7	Moderate (CYP2C9, 2C19)	Crewe et al. (1992) Kobayashi et al. (1995) Schmider et al. (1997)

^a Preferred in vivo probe substrate

^b Preferred in vitro probe substrate

^c K_m from cDNA expressed CYP2D6

h. Substrats et inhibiteurs du CYP2E1 [19]

Table 10 Substrates and inhibitors of CYP2E1 enzyme

Drug	Reaction	K_m in HLMs (μM)	Specificity near K_m	References
Substrates				
Chlorzoxazone ^{a,b}	6-Hydroxylation	39–157	High	Ono et al. (1995) Yuan et al. (2002) Walsky and Obach (2004)
<i>p</i> -Nitrophenol	3-Hydroxylation	30	High	Tassaneeyakul et al. (1993b) Koop and Coon (1986)
Aniline	4-Hydroxylation	6–24	High	Koop and Coon (1986) Bourrié et al. (1996)
Lauric acid	11-Hydroxylation	130	Moderate (CYP4A)	Clarke et al. (1994a, b) Amet et al. (1995)
Inhibitors				
Pyridine	Not known	0.4	High ^c	Hargreaves et al. (1994)
Disulfiram	Mechanism-based	Not known	Moderate (CYP2A6)	Brady et al. (1991a) Guengerich et al. (1991) Kharasch et al. (1998)
Diethyldithio-carbamate	Mechanism-based	10–34	Poor (CYP1A2, 2A6, 2B6, 2C8, 3A4)	Guengerich et al. (1991) Chang et al. 1994
Clomethiazole	Noncompetitive	12	?	Hu et al. (1994) Gebhardt et al. (1997)
Diallylsulfide	Mechanism-based	150–188	?	Brady et al. (1991b) Amet et al. (1995)

^a Preferred in vivo probe substrate

^b Preferred in vitro probe substrate

^c Also an inducer of CYP2E1

? Not known

i. Substrats et inhibiteurs du CYP3A4/5 [19]

Table 11 Substrates and inhibitors of CYP3A4/5 enzyme

Drug	Reaction	K_m in HLMS (μM)	Specificity near K_m	References
Substrates				
Midazolam ^{a,b}	1'-Hydroxylation	1–14	High	Von Moltke et al. (1996) Li et al. (2002) Walsky and Obach (2004) Yuan et al. (2002)
Testosterone ^b	6 β -hydroxylation	33–94	High	Ohyama et al. (2000) Yuan et al. (2002) Patki et al. (2003) Walsky and Obach (2004)
Felodipine ^a	Dehydrogenation	2.8–6.9	High	Bäärnhielm et al. (1986) Walsky and Obach (2004) Eriksson et al. (1991)
Erythromycin ^a	N-demethylation	33–88	High	Yamazaki et al. (1996) Wang et al. (1997)
Nifedipine	Oxidation	5–47	High	Bourrié et al. (1996) Patki et al. (2003)
Triazolam ^a	4-Hydroxylation	238–304	High	Von Moltke et al. (1996b) Patki et al. (2003)
Simvastatin ^a	Oxidative metabolism	13–59	Moderate (CYP2C8)	Prueksaranont et al. (1997, 2003)
Atorvastatin ^a	Hydroxylation	1.5–30	High	Kearney et al. (1993) Jacobsen et al. (2000)
Alprazolam	1'-Hydroxylation	63–441	High	Von Moltke et al. (1993) Gorski et al. (1999) Allqvist et al. (2007)
Cyclosporin A	Oxidative metabolism	nk	High	Kronbach et al. (1988) Christians et al. (1991) Back and Tjia (1991)
Buspirone	Hydroxylation N-oxidation	4–1134	High	Zhu et al. (2005)
Alfentanil	N-dealkylation	23	High	Lavrijsen et al. (1988) Tateishi et al. (1996) Klees et al. (2005)
Quinidine	3-Hydroxylation	30–59	High	Guengerich et al. (1986) Otton et al. (1988) Nielsen et al. (1999) Allqvist et al. (2007)
Lovastatin	Oxidative metabolism	7–10	High	Wang et al. (1991) Jacobsen et al. (1999)
Eletriptan	N-demethylation	nk	Moderate (CYP2D6)	Evans et al. (2003)
Sildenafil	N-demethylation	39–129	Moderate (CYP2C9)	Warrington et al. (2000) Hyland et al. (2001)
Vincristine	Oxidative metabolism	14–20 ^c	High	Yao et al. (2000) Dennison et al. (2006)
Tacrolimus	13-O-demethylation	0.21 ^c	High	Kamdern et al. (2005) Dai et al. (2006)
Inhibitors				
Drug	Mode of inhibition	K_i in HLMS (μM)	CYP selectivity and other CYPs inhibited	References
Ketoconazole	Competitive	0.0037–0.028	Moderate (CYP2C, 1A2, 2D6)	Back and Tjia (1991) Baldwin et al. (1995) von Moltke et al. (1996a) Patki et al. (2003) Turpeinen et al. (2005b)

Drug	Mode of inhibition	K_i in HLMs (μM)	CYP selectivity and other CYPs inhibited	References
Itraconazole	Competitive	0.013–0.27	High	Back and Tjia (1991) von Moltke et al. (1996b) Isoherranen et al. (2004) Niwa et al. (2005)
Troleandomycin	Mechanism-based	0.26 ^c	High	Newton et al. (1995) Yamazaki and Shimada (1998) Soars et al. (2006)
Verapamil	Mechanism-based	2.3–2.9	High	Yeo and Yeo (2001) Wang et al. (2005)
Indinavir	Competitive	0.17–0.5	High	Chiba et al. (1996) Eagling et al. (1997)
Saquinavir	Mechanism-based	0.65–2.99	High	Ernest et al. (2005) Eagling et al. (1997)
Diltiazem	Mechanism-based	2.2–5.0	High	Yeo and Yeo (2001)
Clarithromycin	Mechanism-based	5.5–10	High	Ito et al. (2003) Pinto et al. (2005) Galetin et al. (2006)
Gestodene	Mechanism-based	46	High	Guengerich (1990) Back et al. (1991)
Ritonavir	Mechanism-based	0.019–0.17	Moderate (CYP2C9)	Eagling et al. (1997) Koudriakova et al. (1998)
Nelfinavir	Competitive	1–4.8	Moderate (CYP2D6)	Ernest et al. (2005) Lillibridge et al. (1998) Ernest et al. (2005)

nk not known

^a Preferred in vivo probe substrate

^b Preferred in vitro probe substrate

^c K_m or K_i from cDNA expressed CYP3A4 and CYP3A5

2. Substrats et inhibiteurs et des UGT

a. Substrats des UGT[17]

Table 1
Drug glucuronidation reactions catalyzed by human recombinant UGT enzymes

Enzyme	Substrate	K_m (μ M)	V_{max} (pmol/min/mg protein)	Reference	
UGT1A1	Acetaminophen	9400	1300	Court et al., 2001	
	Buprenorphine	57	2500	Soars et al., 2003	
	Buprenorphine	69	555	King et al., 1996	
	Carvedilol (glucuronidation 1)	N/A	< 1	Ohno et al., 2004	
	Carvedilol (glucuronidation 2)	55	4	Ohno et al., 2004	
	Ethinylestradiol	9	650	Soars et al., 2003	
	Ethinylestradiol	20	59	King et al., 1996	
	Entacapone (3- <i>O</i> -glucuronidation)	31	4	Lautala et al., 2000	
	Entacapone (glucuronidation 1)	93	5	Lautala et al., 2000	
	7-Ethyl-10-hydroxycamptothecin (SN-38)	24	134	Hanioka et al., 2001	
	Etoposide	503	267	Watanabe et al., 2003	
	Ezetimibe	64	710	Ghosal et al., 2004	
	<i>cis</i> -Hydroxy-tamoxifen	138	291	Nishiyama et al., 2002	
	<i>trans</i> -Hydroxy-tamoxifen	129	166	Nishiyama et al., 2002	
	Morphine (3- <i>O</i> -glucuronidation)	18,700	5	Stone et al., 2003	
	Mycophenolic Acid	185	336	Bernard & Guillemette, 2004	
	Nalorphine	2075	2	King et al., 1996	
	Naltrexone	1310	2	King et al., 1996	
	Retigabine	460	N/A	Hiller et al., 1999	
	Thiocoraline	N/A	N/A	Brandon et al., 2004	
	Troglitazone	58	12	Watanabe et al., 2002	
	UGT1A3	Amitriptyline	267	55	Green et al., 1998
		Buprenorphine	55	75	Green et al., 1998
		Ciprofibrate	N/A	N/A	Green et al., 1998
		Clonixin	624	52	Sakaguchi et al., 2004
		Clofibrate	N/A	N/A	Sakaguchi et al., 2004
		Clozapine	N/A	N/A	Green et al., 1995
		Cyproheptadine	240	134	Green et al., 1998
Diclofenac		12	142	Sakaguchi et al., 2004	
Ezetimibe		42	480	Ghosal et al., 2004	
Fenoprofen		N/A	N/A	Green et al., 1998	
Flurbiprofen		90	45	Sakaguchi et al., 2004	
Ibuprofen		230	88	Sakaguchi et al., 2004	
Imipramine		472	10	Green et al., 1998	
Ketoprofen		84	76	Sakaguchi et al., 2004	
(<i>R</i>)-Ketotifen		225	6	Breyer-Pfaff et al., 2000	
(<i>S</i>)-Ketotifen		123	12	Breyer-Pfaff et al., 2000	
UGT1A4		Morphine	3280	38	Green et al., 1998
		Morphine (3- <i>O</i> -glucuronidation)	3200	10	Stone et al., 2003
		Naproxen	N/A	N/A	Green et al., 1998
		Norbuprenorphine	19	129	Green et al., 1998
	Pitavastatin	N/A	N/A	Fujino et al., 2003	
	Valproic acid	N/A	N/A	Green et al., 1998	
	Amitriptyline	100	340	Breyer-Pfaff et al., 2000	
	Amitriptyline	170	96	Green et al., 1998	
	Chlorpromazine	N/A	N/A	King et al., 1996	
	Clozapine	N/A	N/A	King et al., 1996	
	Cotinine	N/A	N/A	Kuehl & Murphy, 2003	
	C-posaconazole	16	17	Ghosal et al., 2004	
	Cyproheptadine	62	49	Green et al., 1998	
	Diphenhydramine	N/A	N/A	King et al., 1996	
	Doxepin	N/A	N/A	King et al., 1996	
	7-Ethyl-10-hydroxycamptothecin (SN-38)	147	132	Hanioka et al., 2001	
	<i>cis</i> -Hydroxy-tamoxifen	95	315	Nishiyama et al., 2002	
	<i>trans</i> -Hydroxy-tamoxifen	101	547	Nishiyama et al., 2002	
	Imipramine	310	180	Green et al., 1998	
	(<i>R</i>)-Ketotifen	59	130	Breyer-Pfaff et al., 2000	
(<i>S</i>)-Ketotifen	86	140	Breyer-Pfaff et al., 2000		
Nicotine	N/A	N/A	Kuehl & Murphy, 2003		
Olanzapine	227	2370	Linnet, 2002		

UGT1A4	Retigabine	322	N/A	Hiller et al., 1999	
	Tamoxifen	32	402	Kaku et al., 2004	
	Trifluoperazine	N/A	N/A	King et al., 1996	
UGT1A6	Acetaminophen	2200	100	Court et al., 2001	
	7-Ethyl-10-hydroxycamptothecin (SN-38)	97	28	Hanioka et al., 2001	
	Morphine (3- <i>O</i> -glucuronidation)	18,000	21	Stone et al., 2003	
UGT1A7	Valproic acid	3200	700	Ethell et al., 2003	
	7-Ethyl-10-hydroxycamptothecin (SN-38)	5	< 1	Ciotti et al., 1999	
	Mycophenolic acid	30	370	Bernard & Guillemette, 2004	
UGT1A8	Morphine (3- <i>O</i> -glucuronidation)	26,000	13	Stone et al., 2003	
	Mycophenolic acid	298	32,570	Bernard & Guillemette, 2004	
	Naloxone	450	121	Cheng et al., 1999	
	Naltrexone	1550	495	Cheng et al., 1999	
	Niflumic acid	N/A	N/A	Sakaguchi et al., 2004	
	Propofol	412	3820	Cheng et al., 1999	
	Raloxifene (4-glucuronidation)	59	2000	Kemp et al., 2002	
	Raloxifene (6-glucuronidation)	8	610	Kemp et al., 2002	
	UGT1A9	Acetaminophen	20,900	6300	Court et al., 2001
		Almokalant	1060	92	Gaiser et al., 2003
Cotinine		N/A	N/A	Kuehl & Murphy, 2003	
Diclofenac		16	166	King et al., 2001	
5,6-Dimethylxanthene-4-acetic acid		N/A	N/A	Zhou et al., 2002	
Entacapone		10	1800	Lautala et al., 2000	
7-Ethyl-10-hydroxycamptothecin (SN-38)		13	20	Hanioka et al., 2001	
Flavopiridol		37	56	Rae et al., 2001	
Flurbiprofen		N/A	N/A	Sakaguchi et al., 2004	
Gemfibrozole		N/A	N/A	Sakaguchi et al., 2004	
<i>cis</i> -Hydroxy-tamoxifen		19	57	Nishiyama et al., 2002	
<i>trans</i> -Hydroxy-tamoxifen		197	72	Nishiyama et al., 2002	
Ibuprofen		N/A	N/A	Sakaguchi et al., 2004	
Ketoprofen		N/A	N/A	Sakaguchi et al., 2004	
Morphine (3- <i>O</i> -glucuronidation)		37,400	32	Stone et al., 2003	
Mycophenolic acid		291	8380	Bernard & Guillemette, 2004	
Nicotine		N/A	N/A	Kuehl & Murphy, 2003	
Niflumic acid		N/A	N/A	Sakaguchi et al., 2004	
(<i>R</i>)-Oxazepam		12	3	Court et al., 2002	
Propofol		37	2800	Soars et al., 2003	
Raloxifene (4-glucuronidation)	13	250	Kemp et al., 2002		
Raloxifene (6-glucuronidation)	25	320	Kemp et al., 2002		
Thiocoraline	N/A	N/A	Brandon et al., 2004		
Tolcapone	66	480	Lautala et al., 2000		
Valproic acid	5200	980	Ethell et al., 2003		
UGT1A10	Mycophenolic acid	119	434	Bernard & Guillemette, 2004	
	Mycophenolic acid	34	1	Mojarrabi & Mackenzie, 1997	
	Morphine (3- <i>O</i> -glucuronidation)	12,600	629	Stone et al., 2003	
	Niflumic acid	N/A	N/A	Sakaguchi et al., 2004	
	Raloxifene (4-glucuronidation)	5	550 ^a	Kemp et al., 2002	
UGT2B4	Troglitazone	11	34	Watanabe et al., 2002	
	Carvedilol (glucuronidation 1)	22	7	Ohno et al., 2004	
UGT2B7	Carvedilol (glucuronidation 2)	29	3	Ohno et al., 2004	
	Almokalant	970	21	Gaiser et al., 2003	
	Buprenorphine	24	26	Coffman et al., 1997	
	Benoxprofen	N/A	N/A	Jin et al., 1993	
	Carvedilol (glucuronidation 1)	28	8	Ohno et al., 2004	
	Carvedilol (glucuronidation 2)	N/A	< 1	Ohno et al., 2004	
	Carbamazepine	214	1	Staines et al., in press	
	Clofibric acid	N/A	N/A	Jin et al., 1993	
	Clonixin	64	220	Sakaguchi et al., 2004	
	Codeine	1800	9	Coffman et al., 1997	
Codeine	400	74	Court et al., 2003		
Cyclosporine A	202	99	Strassburg et al., 2001		
Diclofenac	13	2800	King et al., 2001		

UGT2B7	Diclofenac	25	903	Sakaguchi et al., 2004
	Diflunisal	N/A	N/A	Jin et al., 1993
	5,6-Dimethylxanthone-4-acetic acid	N/A	N/A	Zhou et al., 2002
	Epirubicin	149	99	Innocenti et al., 2001
	Ezetimibe	21	50	Ghosal et al., 2004
	Fenoprofen	N/A	N/A	Jin et al., 1993
	Flurbiprofen	28	315	Sakaguchi et al., 2004
	Gemfibrozil	N/A	N/A	Sakaguchi et al., 2004
	3-Hydroxyrofecoxib	42	47	Zhang et al., 2003
	Ibuprofen	55	477	Sakaguchi et al., 2004
	Indomethacin	N/A	N/A	Jin et al., 1993
	Ketoprofen	112	450	Sakaguchi et al., 2004
	Maxipost	14	290	Zhang et al., 2004
	Morphine (3- <i>O</i> -glucuronidation)	245	425	Soars et al., 2003
	Morphine (3- <i>O</i> -glucuronidation)	1000	309	Coffman et al., 1997
	Morphine (3- <i>O</i> -glucuronidation)	420 high affinity	24	Stone et al., 2003
	Morphine (3- <i>O</i> -glucuronidation)	58,300	183	Stone et al., 2003
		low affinity		
	Morphine (3- <i>O</i> -glucuronidation)	670	650	Court et al., 2003
	Morphine (6- <i>O</i> -glucuronidation)	240	78	Soars et al., 2003
	Morphine (6- <i>O</i> -glucuronidation)	1300	47	Coffman et al., 1997
	Morphine (6- <i>O</i> -glucuronidation)	630	99	Court et al., 2003
	Morphine (6- <i>O</i> -glucuronidation)	970 high affinity	7	Stone et al., 2003
	Morphine (6- <i>O</i> -glucuronidation)	13,700	22	Stone et al., 2003
		low affinity		
	Naltrexone	N/A	N/A	Green et al., 1997
	Nalorphine	260	461	Coffman et al., 1997
	Naproxen	N/A	N/A	Jin et al., 1993
	(<i>S</i>)-Oxazepam	203	2	Court et al., 2002
	(<i>R</i>)-Oxazepam	333	7	Court et al., 2002
	Pitavastatin	N/A	N/A	Fujino et al., 2003
	Tacrolimus	449	588	Strassburg et al., 2001
Tiaprofenic acid	N/A	N/A	Jin et al., 1993	
Valproic acid	2100	660	Ethell et al., 2003	
Zaltoprofen	N/A	N/A	Furuta et al., 2002	
Zomepirac	N/A	N/A	Jin et al., 1993	
Zidovudine	770	210	Court et al., 2003	
UGT2B15	Androstenediol	15	980	Soars et al., 2003
	Entacapone	322	24	Lautala et al., 2000
	7-Ethyl-10-hydroxycamptothecin (SN-38)	186	2	Hanioka et al., 2001
	3-Hydroxyrofecoxib	286	16	Zhang et al., 2003
	<i>cis</i> -Hydroxy-tamoxifen	7	720	Nishiyama et al., 2002
	<i>trans</i> -Hydroxy-tamoxifen	18	70	Nishiyama et al., 2002
	(<i>S</i>)-Oxazepam	35	17	Court et al., 2002
	(<i>S</i>)-Oxazepam	29	5	Court et al., 2002
	Tolcapone	429	24	Lautala et al., 2000
	UGT2B17	Ibuprofen	N/A	N/A
UGT2B28	17 β -Estradiol	N/A	< 1	Levesque et al., 2001
	Testosterone	N/A	N/A	Levesque et al., 2001

Shown are the mean values for K_m and V_{max} .

N/A = Data not available.

* Extrapolated values.

b. Inhibiteurs des UGT *in vitro*[17]

Table 2
Drugs as inhibitors of human UGT enzymes *in vitro*

Inhibitor	Substrate	Source of enzyme	K_i (μ M)	Reference
Tacrolimus	Mycophenolic acid	Kidney microsomes	0.033	Zucker et al., 1999
Cyclosporine	Mycophenolic acid	Kidney microsomes	2.09	Zucker et al., 1999
Diclofenac	Codeine	Liver Homogenate	7.9	Ammon et al., 2000
Diclofenac	4-Methylumbelliferone	Recombinant UGT1A9	11	Uchaipichat et al., 2004
Diclofenac	4-Methylumbelliferone	Recombinant UGT1A7	19	Uchaipichat et al., 2004
Troglitazone	AZT	Recombinant UGT1A6	20	Ito et al., 2001
Diclofenac	4-Methylumbelliferone	Recombinant UGT1A6	23	Uchaipichat et al., 2004
Nortriptyline	Morphine (6-O-glucuronidation)	Liver microsomes	27	Wahlstrom et al., 1994
Diclofenac	4-Methylumbelliferone	Recombinant UGT1A10	28	Uchaipichat et al., 2004
Nortriptyline	Morphine (3-O-glucuronidation)	Liver microsomes	33	Wahlstrom et al., 1994
Ethinylestradiol	AZT	Liver microsomes	38	Herber et al., 1992
Diazepam	Ciramadol	Liver microsomes	40	Meacham et al., 1986
Flurbiprofen	AZT	Liver microsomes	50	Herber et al., 1992
Diclofenac	4-Methylumbelliferone	Recombinant UGT1A1	52	Uchaipichat et al., 2004
Clomipramine	Morphine (6-O-glucuronidation)	Liver microsomes	56	Wahlstrom et al., 1994
Amitriptyline	Morphine (6-O-glucuronidation)	Liver microsomes	80	Wahlstrom et al., 1994
Clomipramine	Morphine (3-O-glucuronidation)	Liver microsomes	90	Wahlstrom et al., 1994
Probenecid	4-Methylumbelliferone	Recombinant UGT1A7	96	Uchaipichat et al., 2004
Diazepam	Morphine	Liver microsomes	120	Meacham et al., 1986
Oxazepam	Ciramadol	Liver microsomes	120	Meacham et al., 1986
Amitriptyline	Codeine	Liver microsomes	130	Yue et al., 1990
Lorazepam	Ciramadol	Liver microsomes	140	Meacham et al., 1986
Ethinylestradiol	AZT	Liver microsomes	150	Resetar et al., 1991
Lorazepam	AZT	Liver microsomes	160	Yue et al., 1990
Amitriptyline	Morphine (3-O-glucuronidation)	Liver microsomes	160	Wahlstrom et al., 1994
Lorazepam	Morphine	Liver microsomes	160	Meacham et al., 1986
Naproxen	AZT	Liver microsomes	172	Herber et al., 1992
Diazepam	Codeine	Liver microsomes	180	Yue et al., 1990
Oxazepam	4-Methylumbelliferone	Liver microsomes	188	Miners & Lillywhite, 1991
Flunitrazepam	AZT	Liver microsomes	190	MacLeod et al., 1992
Indomethacin	AZT	Liver microsomes	200	Sim et al., 1991
Oxazepam	Morphine	Fetal liver microsomes	200	Pacifici & Rane, 1981
Temazepam	4-Methylumbelliferone	Liver microsomes	217	Miners & Lillywhite, 1991
Fenoprofen	4-Methylumbelliferone	Liver microsomes	220	Miners & Lillywhite, 1991
Probenecid	4-Methylumbelliferone	Recombinant UGT1A1	221	Uchaipichat et al., 2004
Probenecid	4-Methylumbelliferone	Recombinant UGT1A10	231	Uchaipichat et al., 2004
Testosterone	AZT	Liver microsomes	250	Herber et al., 1992
Chloramphenicol	AZT	Liver microsomes	250	Resetar et al., 1991
Chloramphenicol	Codeine	Liver microsomes	270	Yue et al., 1990
Oxazepam	Morphine	Fetal liver microsomes	270	Meacham et al., 1986
Diazepam	AZT	Liver microsomes	300	MacLeod et al., 1992
Temazepam	AZT	Liver microsomes	580	MacLeod et al., 1992
Oxazepam	AZT	Liver microsomes	580	Resetar et al., 1991
Naloxone	Morphine	Liver microsomes	630	Wahlstrom et al., 1989
Morphine	AZT	Liver microsomes	900	Resetar et al., 1991
Chloramphenicol	Morphine	Liver microsomes	980	Miners et al., 1988
Naproxen	AZT	Liver microsomes	1100	Resetar et al., 1991
Probenecid	Acetaminophen	Liver microsomes	1100	Turner & Brouwer, 1997
Phenylbutazone	AZT	Liver microsomes	1400	Resetar et al., 1991
Probenecid	4-Methylumbelliferone	Recombinant UGT1A6	1429	Uchaipichat et al., 2004
Probenecid	AZT	Liver microsomes	1600	Resetar et al., 1991
Probenecid	AZT	Liver microsomes	900	MacLeod et al., 1992
Valproic acid	AZT	Recombinant UGT2B7	1600	Ethell et al., 2003
Furosemide	AZT	Liver microsomes	1700	Resetar et al., 1991
Dapsone	AZT	Liver microsomes	1700	Resetar et al., 1991
Phenylbutazone	Codeine	Liver microsomes	1700	Yue et al., 1990
Sulfinpyrazone	AZT	Liver microsomes	2100	Resetar et al., 1991
Zomepirac	AZT	Liver microsomes	2100	Resetar et al., 1991
Probenecid	4-Methylumbelliferone	Recombinant UGT1A9	2452	Uchaipichat et al., 2004
Morphine	Codeine	Liver microsomes	3600	Yue et al., 1990
Cimetidine	AZT	Liver microsomes	11,000	Resetar et al., 1991
Acetaminophen	AZT	Liver microsomes	14,000	Resetar et al., 1991

Inhibitor	Substrate	Source of enzyme	K_i (μM)	Reference
Sulfathiazole	AZT	Liver microsomes	24,000	Resetar et al., 1991
Sulfisoxazole	AZT	Liver microsomes	47,000	Resetar et al., 1991
Inhibitor	Substrate	In vitro human enzyme system	IC_{50} (μM)	Reference
Niflumic acid	Mycophenolic acid (1 mM)	Liver microsomes	8	Vietri et al., 2002
Niflumic acid	Mycophenolic acid (0.5 mM)	Kidney microsomes	8	Vietri et al., 2002
Flufenamic acid	Mycophenolic acid (0.5 mM)	Kidney microsomes	13	Vietri et al., 2000
Flufenamic acid	Mycophenolic acid (1 mM)	Liver microsomes	19	Vietri et al., 2000
Methadone	AZT (0.02 mM)	Liver microsomes	23	Trapnell et al., 1998
Mefenamic acid	Mycophenolic acid (0.5 mM)	Kidney microsomes	49	Vietri et al., 2000
Mefenamic acid	Mycophenolic acid (1 mM)	Liver microsomes	63	Vietri et al., 2000
Diflunisal	Mycophenolic acid (1 mM)	Liver microsomes	109	Vietri et al., 2000
Diflunisal	Mycophenolic acid (0.5 mM)	Kidney microsomes	122	Vietri et al., 2000
Fluconazole	AZT (0.02 mM)	Liver microsomes	163	Trapnell et al., 1998
Atovaquone	AZT (0.02 mM)	Liver microsomes	> 273	Trapnell et al., 1998
Valproic acid	AZT (0.02 mM)	Liver microsomes	693	Trapnell et al., 1998
Inhibitor	Substrate	Source of enzyme	Percent inhibition	Reference
Valproic acid	Dihydrotestosterone (assayed at the K_m)	Recombinant UGT2B15	41 \pm 11% inhibition at 5 mM VPA	Ethell et al., 2003
Valproic acid	Propofol (assayed at the K_m)	Recombinant UGT1A9	46 \pm 15% inhibition at 5 mM VPA	Ethell et al., 2003

3. Inducteurs des cytochromes et UGT [14]

Tableau 2. Molécules agonistes des récepteurs nucléaires PXR, CAR, PPAR α et PPAR γ , et du facteur de transcription AhR impliqués dans les processus de détoxication et d'élimination des xénobiotiques.

Facteurs de transcription	Agonistes potentiels	Exemples d'agonistes	Gènes cibles chez l'homme
PXR	Extraits de plantes	Hyperforine (millepertuis)	CYP2B6
	Statines	Lovastatine	CYP2C8
	Antibiotiques	Rifampicine	CYP2C89
	Antidiabétiques (TZD)	Troglitazone	CYP3A4
	Barbituriques	Phénobarbital	CYP3A7
	Acides biliaires	Acide ursodéoxycholique	GST
	Stéroïdes de synthèse	RU486, dexaméthasone	ST
	Stéroïdes naturels	Prégnénolone	UGT1A1
	Antihormones	Acétate de cyprotérone	MDR1
	CAR	Analgésiques	Acétaminophène (paracétamol)
Barbituriques		Phénobarbital	CYP2C9
Opiacés		Cocaïne	CYP2C19
PPAR α	Hypolipidémiants (lactones)	Chlofibrate, fénofibrate	CYP1A
			CYP2A
			CYP2C
			CYP2E
			CYP4A
			UGT1A4
			UGT2B4
PPAR γ	Antidiabétiques (TZD)	Rosiglitazone	CYP4A
AhR	Hydrocarbures polycycliques aromatiques	Dioxine	CYP1A1
	Benzo(a)pyrène	Fumée de cigarette	CYP1A2
	Antiulcéreux (benzimidazole)	Oméprazole	CYP1B1

CYP : cytochrome P450 ; GST : glutathione S transférase ; ST : sulfotransférase ; UGT : UDP-glucuronosyltransférase ; MDR1 : *multi drug resistance protein 1* ; TZD : thiazolidinediones. D'après [42].

Tableau des inducteurs par CYP [19]

Table 13 Induction of CYP enzymes in humans in vivo by xenobiotics

Enzyme	Inducer	Receptor involved	References			
CYP1A1	PAHs ^a	AhR	Chang et al. (2003)			
	Omeprazole	AhR	Fontana et al. (1999) Hakkola et al. (1998) Hukkanen et al. (2002) McDonnell et al. (1992) Smith et al. (2006)			
CYP1A2	PAHs ^b	AhR	Backman et al. (2006a, b)			
	Indole-3-carbinol ^c	AhR	Birkett et al. (1983)			
	TCDD	AhR	Dahlqvist et al. (1989)			
	Omeprazole	AhR	Djordjevic et al. (2008)			
	Rifampicin	PXR	Faber et al. (2005)			
	Ritonavir	PXR	Hsu et al. (1998)			
	Sulfinpyrazone	PXR	Landay et al. (1978)			
	Carbamazepine	CAR	Landi et al. (1999)			
	Barbiturates (phenobarbital, etc.)	CAR/PXR	Ma and Lu (2007)			
	Phenytoin	CAR/PXR	Miller et al. (1984) Paladino et al. (1983) Parker et al. (1998) Reed et al. (2005) Smith et al. (2006) Wietholtz et al. (1989) Yeh et al. (2006)			
CYP1B1	PAHs ^d	AhR	Chang et al. (2003) Hakkola et al. (1998) Hanaoka et al. (2002) Hu et al. (2006) Hukkanen et al. (2002) Huuskonen et al. (2008) Smith et al. (2006) van Leeuwen et al. (2007)			
			CYP2A6	Ethinyl estradiol	ER α	Asimus et al. (2008)
				Phenobarbital	CAR/PXR	Benowitz et al. (2006)
				Artemisinin	CAR/PXR	Berlin et al. (2007) Cashman et al. (1992) Kyerematen et al. (1990) Sotaniemi et al. (1995) Yamano et al. (1990)
			CYP2B6	Rifampicin	PXR	Sustiva (2007) (efavirenz)
				Ritonavir	PXR	Elsherbiny et al. (2008)
				Carbamazepine	CAR	Jao et al. (1972)
				Phenobarbital	CAR/PXR	Ketter et al. (1995)
				Phenytoin	CAR/PXR	Kharasch et al. (2008)
				Artemisinin antimalarials ^e	PXR/CAR	Loboz et al. (2006)
Metamizole	Not known	Lopez-Cortes et al. (2002) Saussele et al. (2007) Simonsson et al. (2003) Slattery et al. (1996)				

Enzyme	Inducer	Receptor involved	References
CYP2C8	Rifampicin	PXR	Bidstrup et al. (2004) Jaakkola et al. (2006a, b) Niemi et al. (2000, 2004) Park et al. (2004)
CYP2C9	Rifampicin	PXR	Depre et al. (2005)
	Aprepitant	PXR	Dickinson et al. (1985)
	Bosentan	PXR	Goldberg et al. (1996)
	Ritonavir (with lopinavir)	PXR	Herman et al. (2006)
	St. John's wort	PXR	Jiang et al. (2006, 2004)
	Carbamazepine	CAR	Kay et al. (1985)
	Barbiturates (phenobarbital, etc.)	CAR/PXR	Lim et al. (2004)
	Phenytoin?	CAR/PXR	Miners and Birkett (1998) Niemi et al. (2001) O'Reilly (1974) O'Reilly et al. (1980) Orme and Breckenridge (1976) Shadle et al. (2004) van Giersbergen et al. (2002a, b) Weber et al. (1999) Williamson et al. (1998) Yeh et al. (2006) Yoshida et al. (1993) Zilly et al. (1975)
CYP2C19	Rifampicin	PXR	Asimus et al. (2007)
	Ritonavir (with lopinavir)	PXR	Desta et al. (2002)
	St. John's wort	PXR	Elshehbiny et al. (2008)
	Artemisinin antimalarials ^f	PXR/CAR	Heinemeyer et al. (1987)
	Barbiturates (phenobarbital, etc.)	CAR/PXR	Mihara et al. (1999) Richter et al. (1980) Svensson et al. (1998) Wang et al. (2004a, b) Yeh et al. (2006)
CYP2E1	Ethanol	Stabilization	Benowitz et al. (2003)
	Isoniazid	Stabilization	Chien et al. (1997)
	Smoking	Stabilization?	Girre et al. (1994)
	St. John's wort	Not known	Gurley et al. (2002, 2005) Lucas et al. (1995) Oneta et al. (2002) O'Shea et al. (1997) Perrot et al. (1989) Takahashi et al. (1993) Tsutsumi et al. (1989) Zand et al. (1993)
CYP2S1	PAHs ^g	AhR	Smith et al. (2003a, b)
	Topical <i>all-trans</i> retinoid acid	RXR?	Thum et al. (2006)

Enzyme	Inducer	Receptor involved	References
CYP3A4	Rifampicin	PXR	Anglicheau et al. (2003)
	Rifabutin	PXR	Asimus et al. (2007)
	Amprenavir	PXR	Barditch-Crovo et al. (1999)
	Aprepitant	PXR	Dailly et al. (2006)
	Bosentan	PXR	Darwish et al. (2008)
	Ritonavir	PXR	Dingemans and van Giersbergen (2004)
	St. John's wort	PXR	Fellay et al. (2005)
	Sulfinpyrazone	PXR	Justesen et al. (2003)
	Topiramate	PXR	Kashuba et al. (2005)
	Carbamazepine	CAR	Kuypers et al. (2004)
	Efavirenz	CAR	Luo et al. (2004)
	Nevirapine	CAR	McCune et al. (2000)
	Barbiturates (phenobarbital, etc.)	CAR/PXR	Mildvan et al. (2002)
	Phenytoin	CAR/PXR	Mouly et al. (2002)
	Dexamethasone	PXR/GR	Perucca et al. (1988)
	Methylprednisolone	PXR/GR	Robertson et al. (2002)
	Prednisolone	PXR/GR	Shadle et al. (2004)
	Artemisinin antimalarials ^h	PXR/CAR	Solas et al. (2004)
	Metamizole	Not known	Staiger et al. (1983)
	Modafinil	Not known	van Duijnhoven et al. (2003)
CYP3A5	Rifampicin	PXR	Wing et al. (1985)
	Topical clobetasol 17-propionate	GR	Burk et al. (2004) Smith et al. (2006)

PAH polycyclic aromatic hydrocarbon

^a Smoking, charbroiled meat, topical coal tar

^b Smoking, topical coal tar, charbroiled meat, coffee

^c Cruciferous vegetables

^d Smoking, topical coal tar, work in coke ovens and waste incinerators

^e Artemisinin, artemether, arteether, dihydroartemisinin, artesunate

^f Artemisinin, artemether, arteether

^g Smoking?, topical coal tar

^h Artemisinin, artemether, dihydroartemisinin

4. Substrats et inhibiteurs des transporteurs [26]

Table 1 | SLC transporters of emerging clinical importance in the absorption and disposition of drugs

Transporter/alias (Gene)	Selected substrates	Selected inhibitors	Organs/cells	Comments
OATP1B1/OATP-C, OATP2, LST-1 (SLCO1B1)	Bromosulphophthalein, oestrone-3-sulphate, oestradiol-17 β -glucuronide, statins*, repaglinide*, valsartan, olmesartan*, bilirubin glucuronide, bilirubin, bile acids	Saquinavir, ritonavir*, lopinavir*, rifampicin*, cyclosporine*	Hepatocytes (sinusoidal)	<ul style="list-style-type: none"> • Has a role in disposition and excretion • Has clinically relevant polymorphisms • Has a role in clinical drug–drug interactions
OATP1B3/OATP-8 (SLCO1B3)	Bromosulphophthalein, cholecystokinin 8, statins*, digoxin, fexofenadine, telmisartan glucuronide, telmisartan*, valsartan, olmesartan, oestradiol-17- β -glucuronide, bile acids	Rifampicin*, cyclosporine*, ritonavir, lopinavir*	Hepatocytes (sinusoidal)	<ul style="list-style-type: none"> • Has a role in disposition and excretion
OAT1 (SLC22A6)	Para-aminohippurate, adefovir, cidofovir, zidovudine*, lamivudine*, zalcitabine*, acyclovir*, tenofovir*, ciprofloxacin*, methotrexate*	Probenecid*, novobiocin	Kidney proximal tubule, placenta	<ul style="list-style-type: none"> • Has a role in disposition and excretion • Has a role in clinical drug–drug interactions
OAT3 (SLC22A8)	Oestrone-3-sulphate, non-steroidal anti-inflammatory drugs, cefaclor, ceftizoxime, furosemide*, bumetanide*	Probenecid*, novobiocin	Kidney proximal tubule, choroid plexus, blood–brain barrier	<ul style="list-style-type: none"> • Has a role in disposition and excretion • Has a role in clinical drug–drug interactions
OCT2 (SLC22A2)	N-Methylpyridinium, tetraethylammonium, metformin*, pindolol, procainamide, ranitidine, amantadine, amiloride, oxaliplatin, varenicline*	Cimetidine*, pilsicainide, cetirizine*, testosterone, quinidine	Kidney proximal tubule, neurons	<ul style="list-style-type: none"> • Has a role in disposition and excretion • Has clinically relevant genetic polymorphisms • Has a role in clinical drug–drug interactions
OATP1A2/OATP-A (SLCO1A2)	Oestrone-3-sulphate, dehydroepiandrosterone sulphate, fexofenadine*, bile salts, methotrexate, bromosulphophthalein, ouabain, digoxin, levofloxacin, statins*	Naringin, ritonavir, lopinavir, saquinavir, rifampicin*	Brain capillaries endothelia, cholangiocytes, distal nephron	<ul style="list-style-type: none"> • Has role in disposition and excretion
OATP2B1/OATP-B (SLCO2B1)	Oestrone-3-sulphate, bromosulphophthalein, taurocholate, *statins, fexofenadine, glyburide, taurocholate	Rifampicin, cyclosporine*	Hepatocytes (sinusoidal), endothelia	<ul style="list-style-type: none"> • Has a role in disposition and excretion • Has a role in clinical drug–drug interactions
OCT1 (SLC22A1)	Tetraethylammonium, N-methylpyridinium, metformin*, oxaliplatin	Quinine, quinidine, disopyramide	Hepatocytes (sinusoidal), intestinal enterocytes	<ul style="list-style-type: none"> • Has a role in disposition and excretion • Has clinically relevant genetic polymorphisms • Has a role in clinical drug–drug interactions
PEPT1 (SLC15A1)	Glycylsarcosine, cephalexin, cefadroxil, bestatin, valacyclovir, enalapril, aminolevulinic acid, captopril, dipeptides, tripeptides	Glycyl-proline	Intestinal enterocytes, kidney proximal tubule	<ul style="list-style-type: none"> • Has a role in absorption, disposition and excretion • Has a role in clinical drug–drug interactions
PEPT2 (SLC15A2)	Glycylsarcosine, cephalexin, cefadroxil, bestatin, valacyclovir, enalapril, aminolevulinic acid, captopril, dipeptides, tripeptides	Zofenopril, fosinopril	Kidney proximal tubule, choroid plexus, lung	<ul style="list-style-type: none"> • Has a role in excretion
MATE1 (SLC47A1)	Metformin, N-methylpyridinium, tetraethylammonium	Quinidine, cimetidine, procainamide	Kidney proximal tubule, liver (canalicular membrane), skeletal muscle	<ul style="list-style-type: none"> • Has a role in disposition and excretion • Has a role in clinical drug–drug interactions
MATE2-K (SLC47A2)	Metformin, N-methylpyridinium, tetraethylammonium	Cimetidine, quinidine, pramipexole	Kidney proximal tubule	<ul style="list-style-type: none"> • Has a role in disposition and excretion

*Can potentially be used for *in vivo* (clinical) studies.

Table 2 | **ABC transporters of emerging clinical importance in the absorption and disposition of drugs**

Transporter/ alias (Gene)	Selected substrates	Selected inhibitors	Organs/cells	Comments
MDR1/P-gp, ABCB1 (ABCB1)	Digoxin*, loperamide*, berberine, irinotecan, doxorubicin, vinblastine, paclitaxel, fexofenadine	Cyclosporine*, quinidine*, tariquidar, verapamil	Intestinal enterocytes, kidney proximal tubule, hepatocytes (canalicular), brain endothelia	<ul style="list-style-type: none"> • Has a role in absorption, disposition and excretion • Has a role in clinical drug–drug interactions
BCRP/MXR (ABCG2)	Mitoxantrone, methotrexate, topotecan, imatinib, irinotecan, statins*, sulphate conjugates, porphyrins	Oestrone, 17 β -oestradiol, fumitre- morgin C	Intestinal enterocytes, hepatocytes (canalicular), kidney proximal tubule, brain endothelia, placenta, stem cells, mammary glands (lactating)	<ul style="list-style-type: none"> • Has a role in absorption, disposition and excretion • Has clinically relevant genetic polymorphisms • Has a role in clinical drug–drug interactions
BSEP/SPGP, cBAT, ABCB11 (ABCB11)	Taurocholic acid, pravastatin, bile acids	Cyclosporin A, rifampicin, glibenclamide	Hepatocytes (canalicular)	<ul style="list-style-type: none"> • Has a role in excretion • Has clinically relevant genetic polymorphisms • Has a role in clinical drug–drug interactions
MRP2/ABCC2, cMOAT (ABCC2)	Glutathione and glucuronide conjugates, methotrexate, etoposide, mitoxantrone, valsartan, olmesartan, glucuronidated SN-38	Cyclosporine, delaviridine, efavirenz, emtricitabine	Hepatocytes (canalicular), kidney (proximal tubule, luminal), enterocytes (luminal)	<ul style="list-style-type: none"> • Has a role in absorption, disposition and excretion • Has clinically relevant genetic polymorphisms • Has a role in clinical drug–drug interactions
MRP3/ABCC3 (ABCC3)	Oestradiol-17 β - glucuronide, methotrexate, fexofenadine, glucuronate conjugates	Delaviridine, efavirenz, emtricitabine	Hepatocytes (sinusoidal), intestinal enterocytes (basolateral)	<ul style="list-style-type: none"> • Has a role in disposition
MRP4/ABCC4 (ABCC4)	Adefovir, tenofovir, cyclic AMP, dehydroepian- drosterone sulphate, methotrexate, topotecan, furosemide, cyclic GMP, bile acids plus glutathione	Celecoxib, diclofenac	Kidney proximal tubule (luminal), choroid plexus, hepatocytes (sinusoidal), platelets	<ul style="list-style-type: none"> • Has a role in disposition and excretion
MDR3/ABCB4 (ABCB4)	Phosphatidylcholine, paclitaxel, digoxin, vinblastine.	Verapamil, cyclosporine	Hepatocytes (canalicular)	<ul style="list-style-type: none"> • Has a role in disposition • Has a role in clinical drug–drug interactions

ABC, ATP-binding cassette. *Can potentially be used for *in vivo* (clinical) studies.

Table 3 | Selected transporter-mediated clinical drug–drug interactions

Implicated transporter*	Interacting drug	Affected drug	Clinical pharmacokinetic impact on affected drug [‡]
Organic anion transporting polypeptides	Cyclosporine	Pravastatin	AUC ↑890% and C _{max} ↑678% ^{102,204}
	Cyclosporine	Rosuvastatin	AUC ↑610% ²⁰⁵
	Cyclosporine	Pitavastatin	AUC ↑360% and C _{max} ↑560% ²⁰⁶
	Rifampicin (single dose)	Glyburide	AUC ↑125% ²⁰⁷
	Rifampicin (single dose)	Bosentan	C _{trough} ↑500% ²⁰⁸
	Lopinavir/ritonavir	Bosentan	Day 4: C _{trough} ↑4,700% ²⁰⁸ ; day 10: C _{trough} ↑400% ²⁰⁸
	Lopinavir/ritonavir	Rosuvastatin	AUC ↑107% and C _{max} ↑365% ²⁰⁹
Organic anion transporters	Probenecid	Cidofovir	CL _r ↓32% ^{210,211}
	Probenecid	Furosemide	CL _r ↓66% ²¹⁰
	Probenecid	Acyclovir	CL _r ↓32% and AUC ↑40% ^{210,212}
Organic cation transporters	Cimetidine	Metformin	AUC ↑50% and CL _r ↓27% ^{213,214}
	Cimetidine	Pindolol	CL _r ↓~34% ²¹⁵
	Cimetidine	Varenicline	AUC ↑29% ²¹⁶
	Cimetidine	Pilsicainide	AUC ↑33%, CL _r ↓28% ²¹⁷
	Cetirizine	Pilsicainide	CL _r ↓41% ²¹⁸
	Cimetidine	Dofetilide	CL _r ↓33% ²¹⁹
P-glycoprotein	Quinidine	Digoxin	CL _r ↓34–48% ^{220,221}
	Ritonavir	Digoxin	AUC ↑86% ²²²
	Dronedarone	Digoxin	AUC ↑157% and C _{max} ↑75% ²²³
	Ranolazine	Digoxin	AUC ↑60% and C _{max} ↑46% ²²⁴
Breast cancer resistance protein	GF120918	Topotecan	AUC ↑143% ²²⁵

*Implicated transporter refers to the likely transporter; however, because the studies are carried out *in vivo* it is not possible to assign specific transporters to the drug–drug interaction. [‡]Percent change refers to the difference between the area under the curve (AUC), or C_{max}, in the presence and the absence of the inhibitor (interacting drug) normalized to the AUC in the absence of the inhibitor. For clearance values (CL_r), the values are normalized for the absence of the inhibitor. C_{trough} is the minimum drug concentration observed after administration of a dose of the drug and the concentration prior to the administration of a subsequent dose.

5. Liste des figures

Figure 1 : Pharmacocinétique du médicament en plusieurs étapes.....	12
Figure 2 : Phase d'absorption d'un médicament administré par voie orale.....	13
Figure 3 : Les différentes voies d'absorption au niveau de la barrière intestinale.....	15
Figure 4 : Les différents types d'inhibiteurs enzymatiques.....	24
Figure 5 : Mécanisme d'interaction via PXR.....	27
Figure 6 : Régulation de la détoxification et du catabolisme des xénobiotiques par les récepteurs nucléaires PXR, PPAR, CAR et le facteur de transcription AhR.....	28
Figure 7 : Protéines de transport des médicaments et des substances endogènes.....	34
Figure 8 : Le design en cross-over.....	43
Figure 9 : Test classique <i>in vitro</i> d'inhibition de cytochromes.....	57

Références:

- [1] European Medicines Agency - Committee for Human Medicinal Products, "Guideline on the Investigation of Drug Interactions." 21-Jun-2012.
- [2] U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, and Center for Drug Evaluation and Research (CDER), "Guidance for Industry Drug Interaction Studies — Study Design, Data Analysis, Implications for Dosing, and Labeling Recommendations (draft)." Feb-2012.
- [3] Faculté de Médecine de Strasbourg, Module de Pharmacologie Générale DCEM1 2005/2006C. Loichot et M. Grima, "DCEM1_Pharmacologie_chapitre_2_Introduction_a_la_pharmacocinetique_passages_transmembranaires." Sep-2004.
- [4] E. Chatelut, P. Gandia-Mailly, F. Thomas, "Cours de pharmacocinétique - UFR de pharmacie, Université Paul Sabatié, Toulouse." 2013.
- [5] D. Levêque, J. Lemachatti, Y. Nivoix, P. Coliat, R. Santucci, G. Ubeaud-Séquier, L. Beretz, and S. Vinzio, "Mécanismes des interactions médicamenteuses d'origine pharmacocinétique," *Rev. Médecine Interne*, vol. 31, no. 2, pp. 170–179, Feb. 2010.
- [6] D. P. G. Welling, "Interactions Affecting Drug Absorption," *Clin. Pharmacokinet.*, vol. 9, no. 5, pp. 404–434, Dec. 2012.
- [7] ANSM, "Thesaurus des interactions médicamenteuses." Juin-2015.
- [8] Association Mieux Prescrire, "Prescrire le guide 2014: Eviter les effets indésirables par interactions médicamenteuses. Comprendre et décider. Supplément au n°362." Association Mieux Prescrire, Décembre - tome 33- n°362-2013.
- [9] P. F. D'Arcy, J. C. McElnay, and P. G. Welling, *Mechanisms of Drug Interactions*. Springer Science & Business Media, 2012.
- [10] Angela D. M. Kashuba and Joseph S. Bertino, Jr., "Mechanisms of Drug Interactions I Absorption, Metabolism, and Excretion - Infectious Disease: Drug Interactions in Infectious Diseases, Second Edition." S. C. Piscitelli and K. A. Rodvold © Humana Press Inc., Totowa, NJ, 2005.
- [11] M. Goldberg and I. Gomez-Orellana, "Challenges for the oral delivery of macromolecules," *Nat. Rev. Drug Discov.*, vol. 2, no. 4, pp. 289–295, Apr. 2003.
- [12] B. N. Singh, "Effects of Food on Clinical Pharmacokinetic," *Clin. Pharmacokinet.*, vol. 37, no. 3, pp. 213–255, 2009.
- [13] M. J. Dolton, B. D. Roufogalis, and A. J. McLachlan, "Fruit Juices as Perpetrators of Drug Interactions: The Role of Organic Anion-Transporting Polypeptides," *Clin. Pharmacol. Ther.*, vol. 92, no. 5, pp. 622–630, Nov. 2012.
- [14] Y. Guéguen, K. Mouzat, L. Ferrari, E. Tissandie, J.M.A. Lobaccaro, A.-M. Batt, F. Paquet, P. Voisin, J. Aigueperse, P. Gourmelon, and M. Souidi, "Les cytochromes P450 : métabolisme des xénobiotiques, régulation et rôle en clinique Cytochromes P450: xenobiotic metabolism, regulation and clinical importance." *Ann Biol Clin*, vol. 64, n° 6, novembre-décembre 2006.
- [15] R. H. Tukey and C. P. Strassburg, "Human UDP-glucuronosyltransferases: metabolism, expression, and disease," *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, vol. 40, no. 1, pp. 581–616, 2000.

- [16] W. E. Evans and M. V. Relling, "Pharmacogenomics: translating functional genomics into rational therapeutics," *science*, vol. 286, no. 5439, pp. 487–491, 1999.
- [17] T. Kiang, M. Ensom, and T. Chang, "UDP-glucuronosyltransferases and clinical drug-drug interactions," *Pharmacol. Ther.*, vol. 106, no. 1, pp. 97–132, Apr. 2005.
- [18] L. C. Wienkers and T. G. Heath, "Predicting in vivo drug interactions from in vitro drug discovery data," *Nat. Rev. Drug Discov.*, vol. 4, no. 10, pp. 825–833, Oct. 2005.
- [19] O. Pelkonen, M. Turpeinen, J. Hakkola, P. Honkakoski, J. Hukkanen, and H. Raunio, "Inhibition and induction of human cytochrome P450 enzymes: current status," *Arch. Toxicol.*, vol. 82, no. 10, pp. 667–715, Oct. 2008.
- [20] R. Hienerwadel, "Enzymologie - Inhibition de l'activité enzymatique." 2014.
- [21] R. J. Riley, K. Grime, and R. Weaver, "Time-dependent CYP inhibition," *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.*, vol. 3, no. 1, pp. 51–66, Feb. 2007.
- [22] C. for D. E. and Research, "Drug Interactions & Labeling - Drug Development and Drug Interactions: Table of Substrates, Inhibitors and Inducers." [Online]. Available: <http://www.fda.gov/Drugs/DevelopmentApprovalProcess/DevelopmentResources/DrugInteractionsLabeling/ucm093664.htm>. [Accessed: 22-Jul-2015].
- [23] C. Handschin, "Induction of Drug Metabolism: The Role of Nuclear Receptors," *Pharmacol. Rev.*, vol. 55, no. 4, pp. 649–673, Dec. 2003.
- [24] T. M. Willson and S. A. Kliewer, "PXR, CAR AND DRUG METABOLISM," *Nat. Rev. Drug Discov.*, vol. 1, no. 4, pp. 259–266, Apr. 2002.
- [25] Y. Shitara, H. Sato, and Y. Sugiyama, "EVALUATION OF DRUG-DRUG INTERACTION IN THE HEPATOBILIARY AND RENAL TRANSPORT OF DRUGS," *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, vol. 45, no. 1, pp. 689–723, Feb. 2005.
- [26] K. M. Giacomini, S.-M. Huang, D. J. Tweedie, L. Z. Benet, K. L. R. Brouwer, X. Chu, A. Dahlin, R. Evers, V. Fischer, K. M. Hillgren, K. A. Hoffmaster, T. Ishikawa, D. Keppler, R. B. Kim, C. A. Lee, M. Niemi, J. W. Polli, Y. Sugiyama, P. W. Swaan, J. A. Ware, S. H. Wright, S. Wah Yee, M. J. Zamek-Gliszczyński, and L. Zhang, "Membrane transporters in drug development," *Nat. Rev. Drug Discov.*, vol. 9, no. 3, pp. 215–236, Mar. 2010.
- [27] T. N. Thompson, "The Clinical Significance of Drug Transporters in Drug Disposition and Drug Interactions," in *Pharmacokinetics in Drug Development*, P. L. Bonate and D. R. Howard, Eds. Boston, MA: Springer US, 2011, pp. 285–313.
- [28] F. Müller, J. König, E. Hoier, K. Mandery, and M. F. Fromm, "Role of organic cation transporter OCT2 and multidrug and toxin extrusion proteins MATE1 and MATE2-K for transport and drug interactions of the antiviral lamivudine," *Biochem. Pharmacol.*, vol. 86, no. 6, pp. 808–815, Sep. 2013.
- [29] D. Zhang, M. Zhu, and W. G. Humphreys, *Drug Metabolism in Drug Design and Development*. John Wiley & Sons, 2007.
- [30] O. A. Fahmi, S. Hurst, D. Plowchalk, J. Cook, F. Guo, K. Youdim, M. Dickins, A. Phipps, A. Darekar, R. Hyland, and R. S. Obach, "Comparison of Different Algorithms for Predicting Clinical Drug-Drug Interactions, Based on the Use of CYP3A4 in Vitro Data: Predictions of Compounds as Precipitants of Interaction," *Drug Metab. Dispos.*, vol. 37, no. 8, pp. 1658–1666, Aug. 2009.

- [31] L. Jia and X. Liu, "The conduct of drug metabolism studies considered good practice (II): in vitro experiments," *Curr. Drug Metab.*, vol. 8, no. 8, p. 822, 2007.
- [32] T. D. Bjornsson, J. T. Callaghan, H. J. Einolf, V. Fischer, L. Gan, S. Grimm, J. Kao, S. P. King, G. Miwa, and L. Ni, others, "The conduct of in vitro and in vivo drug-drug interaction studies: a Pharmaceutical Research and Manufacturers of America (PhRMA) perspective," *Drug Metab. Dispos.*, vol. 31, no. 7, pp. 815–832, 2003.
- [33] J. W. Polli, E. Hussey, M. Bush, G. Generaux, G. Smith, D. Collins, S. McMullen, N. Turner, and D. J. Nunez, "Evaluation of drug interactions of GSK1292263 (a GPR119 agonist) with statins: from *in vitro* data to clinical study design," *Xenobiotica*, vol. 43, no. 6, pp. 498–508, Jun. 2013.
- [34] O. A. Fahmi, M. Kish, S. Boldt, and R. S. Obach, "Cytochrome P450 3A4 mRNA Is a More Reliable Marker than CYP3A4 Activity for Detecting Pregnane X Receptor-Activated Induction of Drug-Metabolizing Enzymes," *Drug Metab. Dispos.*, vol. 38, no. 9, pp. 1605–1611, Sep. 2010.
- [35] O. A. Fahmi and S. L. Ripp, "Evaluation of models for predicting drug–drug interactions due to induction," *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.*, vol. 6, no. 11, pp. 1399–1416, Nov. 2010.
- [36] S. K. Lawrence, D. Nguyen, C. Bowen, L. Richards-Peterson, and K. W. Skordos, "The Metabolic Drug-Drug Interaction Profile of Dabrafenib: In Vitro Investigations and Quantitative Extrapolation of the P450-Mediated DDI Risk," *Drug Metab. Dispos.*, vol. 42, no. 7, pp. 1180–1190, May 2014.
- [37] S. J. Roffey, R. S. Obach, J. I. Gedge, and D. A. Smith, "What is the Objective of the Mass Balance Study? A Retrospective Analysis of Data in Animal and Human Excretion Studies Employing Radiolabeled Drugs," *Drug Metab. Rev.*, vol. 39, no. 1, pp. 17–43, Jan. 2007.
- [38] Y. Sambuy, I. De Angelis, G. Ranaldi, M. L. Scarino, A. Stamatii, and F. Zucco, "The Caco-2 cell line as a model of the intestinal barrier: influence of cell and culture-related factors on Caco-2 cell functional characteristics," *Cell Biol. Toxicol.*, vol. 21, no. 1, pp. 1–26, 2005.
- [39] T. Prueksaritanont, X. Chu, C. Gibson, D. Cui, K. L. Yee, J. Ballard, T. Cabalu, and J. Hochman, "Drug–Drug Interaction Studies: Regulatory Guidance and An Industry Perspective," *AAPS J.*, vol. 15, no. 3, pp. 629–645, Jul. 2013.
- [40] J. Yu, T. K. Ritchie, A. Mulgaonkar, and I. Ragueneau-Majlessi, "Drug Disposition and Drug-Drug Interaction Data in 2013 FDA New Drug Applications: A Systematic Review," *Drug Metab. Dispos.*, vol. 42, no. 12, pp. 1991–2001, Oct. 2014.
- [41] "ANSM - Dossiers Interactions medicamenteuses." .
- [42] "SUMMARY OF PRODUCT CHARACTERISTICS - Xadago 50 mg film-coated tablets." .

Titre en anglais:

New guidelines on pharmacokinetic drug interactions studies.

Résumé en anglais:

The multitherapy has become increasingly common to use especially in elderly population. The use of concomitant medications may cause drug-drug interactions and lead to loss in treatment efficacy or toxicity. Most of the drug-drug interactions have a pharmacokinetic origin and may appear at different level in the organism: during the absorption, the distribution, the metabolism or the elimination process. Assessing mechanism of interactions is necessary for the safety use of medicinal products. The health agencies from Europe (EMA) and USA (FDA) have written guidelines to help sponsors perform drug-drug interactions studies. Following the guidelines different steps are required: for example assessing first the elimination pathway of the drug, then assessing in vitro the ability of a drug to assessing metabolism or transport of another molecule trough inhibition of induction mechanism and then assessing in vivo the clinical consequences of drug-drug interactions. These studies provide knowledge which is included in the SmPC of a new medical product in order to give advice on how to administer it depending on the circumstances.

Sophie JOUKOFF

**NOUVELLES RECOMMANDATIONS SUR LES ETUDES PHARMACOCINETIQUES
D'INTERACTIONS MEDICAMENTEUSES.**

Directeur de Thèse : Pr Georges HOUIN

12 Février 2016 / Faculté de Pharmacie, Université Paul Sabatier, TOULOUSE

Résumé :

La polymédication est devenue une thérapie courante en particulier chez la personne âgée. La prise concomitante de plusieurs médicaments peut être à l'origine d'interactions médicamenteuses et entraîner une perte d'efficacité des traitements ou à l'inverse une toxicité. Les interactions médicamenteuses sont pour la plupart d'origine pharmacocinétique et peuvent survenir à n'importe quelle étape du circuit du médicament dans l'organisme: lors de son absorption, de sa distribution, de son métabolisme ou encore de son élimination. L'étude des mécanismes de ces interactions est indispensable à la bonne utilisation des médicaments. Les agences de santé européenne (EMA) et américaine (FDA) ont chacune émis leurs recommandations pour étudier ces interactions. Plusieurs étapes sont nécessaires à ces études : par exemple étudier tout d'abord les voies d'élimination de la molécule, étudier in vitro la capacité de la molécule à inhiber ou induire des enzymes ou des transporteurs, étudier in vivo les conséquences cliniques des ces interactions. La connaissance de ces interactions permet à terme de donner des recommandations d'administration des médicaments dans leur notice d'utilisation (RCP).

Discipline administrative : Pharmacie

Mots-clés :

Interactions médicamenteuses – Pharmacocinétique – Réglementation – Recommandations – US Food and Drug Administration – European Medicines Agency.

INTITULE ET ADRESSE DE L'UFR OU DU LABORATOIRE :

Université Paul Sabatier – Toulouse 3

Faculté des Sciences Pharmaceutiques

35, Chemin des Maraîchers

31062 Toulouse Cedex 9