

UNIVERSITE TOULOUSE III PAUL SABATIER

FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

ANNÉE : 2016

THESES 2016 TOU3 2114

THESE

POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement

par

Nicolas Cottura

Étude et synthèse des lignes directrices d'études réglementaires et présentation et évaluation des modèles d'analyse de pharmacocinétique développés chez un sous-traitant pharmaceutique

Le Jeudi 15 Décembre 2016

Directeur de thèse : Théodora Mezzasalma

JURY

Président : Chatelut Etienne

1er assesseur : Mezzasalma Théodora

2ème assesseur : Toutin Agnès

PERSONNEL ENSEIGNANT
de la Faculté des Sciences Pharmaceutiques de l'Université Paul Sabatier
au 1^{er} octobre 2015

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		Universitaires	
M. CHATELUT E	Pharmacologie	Mme BARRE A	Biologie
M. FAVRE G	Biochimie	Mme BAZIARD G	Chimie pharmaceutique
M. HOUIN G	Pharmacologie	Mme BENDERBOUS S	Mathématiques – Biostat.
M. PARINI A	Physiologie	M. BENOIST H	Immunologie
M. PASQUIER C (Doyen)	Bactériologie – Virologie	Mme BERNARDES-GÉNISSON V	Chimie thérapeutique
Mme ROQUES C	Bactériologie – Virologie	Mme COUDERC B	Biochimie
Mme ROUSSIN A	Pharmacologie	M. CUSSAC D (Vice-Doyen)	Physiologie
Mme SALLERIN B	Pharmacie Clinique	Mme DOISNEAU-SIXOU S	Biochimie
M. SIÉ P	Hématologie	M. FABRE N	Pharmacognosie
M. VALENTIN A	Parasitologie	M. GAIRIN J-E	Pharmacologie
		Mme MULLER-STAU MONT C	Toxicologie - Sémiologie
		Mme NEPVEU F	Chimie analytique
		M. SALLES B	Toxicologie
		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. BOUAJILA 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 DERAEEVE 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 FERNANDEZ-VIDAL A	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. OUCHON A	Biochimie
M. PERE D	Pharmacognosie
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 VANSTEELANDT 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
Mme PALUDETTO M.N. (**)	Chimie thérapeutique
M. PÉRES M.	Immunologie
Mme ROUCH L	Pharmacie Clinique
Mme ROUZAUD-LABORDE C	Pharmacie Clinique

(**) Nomination au 1^{er} novembre 2015

Remerciements

Je souhaite remercier l'ensemble des personnes qui a contribué à l'élaboration de cette thèse :

Monsieur le Professeur Étienne Chatelut

Professeur des Universités-Praticien Hospitalier

Pharmacologie,

Université Paul Sabatier Toulouse III

D'avoir accepté de juger mon travail et pour la rigueur de son enseignement

Madame Théodora Mezzasalma

Project Leader, Bioservices, Pharmacokinetic/Toxicokinetic Expert

Amatsigroup

Parc de Génibrat Fontenilles France

De m'avoir initié à la pharmacocinétique industrielle

Madame Agnès Toutin

Project Management Officer, Bioservices, Pharm D

Amatsigroup

Parc de Génibrat Fontenilles France

De m'avoir fait découvrir le monde de la sous-traitance et de l'industrie pharmaceutique

Je voudrais également remercier :

Ma famille,

De m'avoir toujours soutenu et encouragé durant mes études et en dehors

Mes amis,

Des différentes Team :

- La Team NASA avec les NASETTEs, sans qui ces 6 années d'études auraient vraiment été des études et pas une sinécure
- La Team Carca, présente de la Cité au Capitole
- La Team Cirrhose, pour avoir fait revivre une tradition familiale
- La Team Basket/Ortho., pour garder de la détente des playgrounds aux terrasses
- La Team Tarbaise, pour avoir réussi à me faire placer Ibos sur une carte des Hautes-Pyrénées

À toutes les personnes rencontrées à la faculté de pharmacie, et pour toutes les rencontres toulousaines

À ma petite chose qui m'a supporté pendant toute la durée de l'écriture de la thèse et qui doit la connaître aussi bien que moi, à la linea près.

Merci.

Glossaire

Table des matières

Remerciements	6
Glossaire	8
Table des matières	8
Table des figures	10
Table des tableaux	11
Tables des annexes	11
Liste des abréviations	13
Introduction.....	16
1. La pharmacocinétique.....	20
1.1. Définition de la pharmacocinétique	20
1.2. Notion de PK/PD (pharmacocinétique/pharmacodynamique).....	20
1.3. Notion de fenêtre thérapeutique.....	21
1.4. Détermination des paramètres pharmacocinétiques	22
1.5. Obtention, validation et gestion des données analytiques	27
1.5.1. Obtention des données analytiques	27
1.5.2. Validation des données analytiques	27
1.5.3. Gestion des données analytiques	28
1.6. Utilisation des paramètres pharmacocinétiques	29
1.6.1. Études de formulation galénique	30
1.6.2. Études de toxicocinétique	31
1.6.3. Études de bioéquivalence.....	32
2. Étude et synthèse des lignes directrices des études réglementaires de toxicocinétique et de biodisponibilité/bioéquivalence.....	35
2.1. Lignes directrices des études réglementaires.....	35
2.2. Les études de toxicocinétique	36
2.2.1. Lignes directrices émises par l'ICH.....	37
2.2.2. Lignes directrices émises par l'EMA	38
2.2.3. Rapport de l'OECD.....	39
2.3. Les études de bioéquivalence.....	39
2.3.1. Définition du générique.....	39
2.3.2. Enjeux du médicament générique.....	40
2.3.3. Lignes directrices pour les études de bioéquivalence	40

3.	Présentation et évaluation des modèles d'analyse de pharmacocinétique mis au point chez un sous-traitant pharmaceutique.....	68
3.1.	Présentation des modèles.....	68
3.1.1.	Définition et intérêt des modèles.....	68
3.1.2.	Modèles d'analyse de pharmacocinétique (modèle PK).....	68
3.1.3.	Logiciel Phoenix WinNonlin.....	69
3.1.4.	Intérêt des modèles d'analyse de pharmacocinétique sur le logiciel Phoenix WinNonlin.....	70
3.1.5.	Construction d'un modèle d'analyse de pharmacocinétique sur le logiciel Phoenix WinNonlin	71
3.2.	Modèles d'analyse de pharmacocinétique pour les études de toxicocinétique (modèle PK/TK)..	71
3.2.1.	Présentation.....	71
3.2.2.	Tableaux des concentrations et courbes des cinétiques.....	73
3.2.3.	Paramètres pharmacocinétiques.....	74
3.2.4.	Effet genre, temps et dose.....	75
3.3.	Modèle d'analyse de pharmacocinétique pour les études de biodisponibilité/bioéquivalence (modèle PK/BD/BE).....	77
3.3.1.	Présentation.....	77
3.3.2.	Tableaux des concentrations et courbes des cinétiques.....	77
3.3.3.	Paramètres pharmacocinétiques.....	81
3.3.4.	Calcul du facteur de biodisponibilité.....	82
3.3.5.	Calcul de bioéquivalence.....	82
3.4.	Utilisation.....	84
3.5.	Évaluation de modèles d'analyse de pharmacocinétique.....	85
3.5.1.	Place des études de toxicocinétique dans le service de Bioservices de l'entreprise AmatsiAvogadro.....	85
3.5.2.	Place de l'étude pharmacocinétique dans les études de toxicocinétique.....	86
3.5.3.	Impact de l'utilisation de modèle PK/TK sur le temps total d'une étude de PK/TK.....	88
3.5.4.	Autres avantages à l'utilisation de modèle PK/TK.....	89
4.	Conclusion/discussion.....	90
5.	Bibliographie.....	91
5.1.	Directives.....	91
5.2.	Enseignement universitaire.....	91
5.3.	Lignes directrices.....	91
5.4.	Publications.....	93
5.5.	Sites internet.....	94
6.	Annexes.....	95
6.1.	Annexe Pharmacocinétique.....	95
6.2.	Annexe Lignes directrices.....	101
6.3.	Annexe Modèles d'analyse de pharmacocinétique.....	112

Table des figures

Figure 1: Phase de recherche et développement d'un médicament humain.....	16
Figure 2: Raisons du retrait des molécules pharmaceutiques en développement.....	18
Figure 3: ADME (Absorption-Distribution-Métabolisme-Excrétion).....	20
Figure 4: Concentration plasmatique et concentration dans la biophase	21
Figure 5: Fenêtre thérapeutique.....	22
Figure 6: Cinétique et paramètres pharmacocinétiques.....	23
Figure 7: Phases pharmacocinétiques	24
Figure 8: Détermination de la pente de la droite d'élimination.....	25
Figure 9: Vitesse et étendue de l'exposition.....	26
Figure 10: Place de la pharmacocinétique dans la recherche et développement de l'industrie pharmaceutique	30
Figure 11: Coefficient de variation en fonction du facteur de biodisponibilité.....	31
Figure 12: Représentation de la bioéquivalence.....	33
Figure 13: Représentation statistique de la bioéquivalence.....	34
Figure 14: Design deux périodes, deux séquences en cross-over.....	44
Figure 15: Limites de l'intervalle de confiance en fonction du coefficient de variation.....	61
Figure 16: Workflow WinNonlin	69
Figure 17: « Setup » du module NCA.....	70
Figure 18: Exemple de tableau des concentrations pour le modèle PK/TK 4 semaines « non spare »	73
Figure 19: Exemple des cinétiques moyennes pour le modèle PK/TK 4 semaines « non spare »	73
Figure 20: Exemple des tableaux des paramètres pharmacocinétiques pour le modèle PK/TK 4 semaines « non spare »	74
Figure 21: Exemple de graphique effet genre pour le modèle PK/TK 4 semaines « non spare »	75
Figure 22: Exemple de graphique effet temps pour le modèle PK/TK 4 semaines « non spare »	75
Figure 23: Exemple de graphique pour la dose linéarité pour le modèle PK/TK 4 semaines « non spare »	76

Figure 24:	Exemple des tableaux pour la dose proportionnalité pour le modèle PK/TK 4 semaines « non spare »	76
Figure 25:	Exemple des tableaux des concentrations pour le sous modèle PK biodisponibilité.....	77
Figure 26:	Exemple des cinétiques pour le sous modèle PK biodisponibilité	78
Figure 27:	Exemple de tableau des concentrations pour le sous modèle PK bioéquivalence	79
Figure 28:	Exemple des cinétiques pour le sous modèle PK bioéquivalence	80
Figure 29:	Exemple des tableaux des paramètres pharmacocinétiques pour le modèle PK/BD/BE	81
Figure 30:	Exemple de tableau des facteurs de biodisponibilité pour le sous modèle PK biodisponibilité.....	82
Figure 31:	Onglets statistiques du module bioéquivalence.....	83
Figure 32:	Exemple de texte de sortie du module de bioéquivalence pour AUC_{last} du traitement R	84
Figure 33:	Résumé des intervalles de confiance	84
Figure 34:	Répartition du nombre d'étude du service.....	85
Figure 35:	Répartition du chiffre d'affaire en fonction du type d'étude	86
Figure 36:	Répartition du temps de travail pour une étude de PK/TK.....	87
Figure 37:	Gain de temps sur une étude de PK/TK grâce à l'utilisation de modèle PK/TK sans modification	88
Figure 38:	Gain de temps sur une étude de PK/TK grâce à l'utilisation de modèle PK/TK avec modification	88

Table des tableaux

Tableau 1:	Données pharmacocinétiques utilisées en fonction du design et de l'effet étudié.....	72
Tableau 2:	Calculs effectués en fonction de l'effet étudié	72

Tables des annexes

Annexe 1:	Relation dose-réponse dans une population	95
Annexe 2:	Paramètres pharmacocinétiques	96
Annexe 3:	Calcul de l'AUC par méthode des trapèzes.....	97
Annexe 4:	Formules de pharmacocinétique.....	98

Annexe 5:	Bioéquivalence moyenne.....	99
Annexe 6:	Bioéquivalence de population.....	99
Annexe 7:	Bioéquivalence individuelle.....	100
Annexe 8:	Concentration et bioéquivalence "en moyenne":.....	100
Annexe 9:	Durée recommandée pour des études de toxicité en dose répétée en fonction de la durée des études cliniques.....	101
Annexe 10:	Liste des tissus étudiés par histopathologie lors d'une étude de toxicité par dose répétée	102
Annexe 11:	Le développement des économies génériques en milliards d'euro pour la Sécurité Sociale (Gemme).....	103
Annexe 12:	Evolution du chiffre d'affaires en milliards d'euros des spécialités pharmaceutiques en France (ANSM).....	103
Annexe 13:	Evolution de la part des génériques dans le marché des spécialités remboursables (ANSM)	104
Annexe 14:	Marché des génériques en valeur et en volume en 2013 (LEEM).....	104
Annexe 15:	Nombre d'AMM autorisé en 2013.....	105
Annexe 16:	Ligne directrice FDA Octobre 2000	106
Annexe 17:	Définition FDA de la biodisponibilité.....	108
Annexe 18:	Définition FDA de la bioéquivalence.....	108
Annexe 19:	Composition FDA du repas d'une étude nourrie	108
Annexe 20:	Définition FDA de proportionnellement similaire.....	109
Annexe 21:	Base légale de la ligne directrice du 20 Janvier 2010 de l'EMA.....	109
Annexe 22:	Recommandations EMA pour les tablettes orodispersibles.....	110
Annexe 23:	Recommandations EMA pour les solutions orales.....	110
Annexe 24:	Recommandations EMA pour formulation liposomale	111
Annexe 25:	Recommandations EMA pour formulation micellaire.....	111
Annexe 26:	Recommandations EMA pour émulsion.....	111
Annexe 27:	Paramètres pharmacocinétiques disponibles dans le module NCA	112
Annexe 28:	Tableaux résultats effet genre.....	113
Annexe 29:	Tableaux résultats effet temps.....	113
Annexe 30:	Protocole d'utilisation des différents modèles.....	114

Liste des abréviations

ADME : Absorption-Distribution-Métabolisme-Excrétion

AMM : Autorisation de mise sur le marché

ANDA : Abbreviated new drug application

ANSM : Agence nationale de sécurité du médicament

AUC : Area under the curve

BA : Bioanalyse

BCS : Biopharmaceutical classification system

BD : Biodisponibilité

BE : Bioequivalence

BLQ : Below the limit of quantification

BPC : Bonnes pratiques cliniques

BPL : Bonnes pratiques de laboratoire

CA : Compartmental analysis

CDER : Center for drug evaluation and research

CDMO : Contract development manufacturing organization

CHMP : Committee for medical products for human use

Cl : Clairance

CPMP : Committee for proprietary medicinal products

CRO : Contract research organization

CSP : Code de la santé publique

CV : Coefficient de variation

CVM : Center for veterinary medicine

CVMP : Committee for medicinal products for veterinary use

EMA : European medicines agency

EV : Extravasculaire

F : Facteur de biodisponibilité

FDA : Food and drug administration

HPLC : High performance liquid chromatography

HVDP : High variable drug products

IC : Intervalle de confiance

ICH : International conference on harmonization of technical requirements for registration of pharmaceutical for human use

IM : Intramusculaire

IMC : Indice de masse corporelle

IND : Investigational new drug applications

IR : immediate release

IV : Intraveineuse

Kel : Constance de vitesse d'élimination

LEEM : Les entreprises du médicament

LLOQ : Lower limit of quantification

LOQ : Limit of quantification

Modèle PK : Modèle d'analyse de pharmacocinétique

MR : modified release

MS : Mass spectrometry

NCA : Non compartmental analysis

NDA : New drug application

NCE : New chemical entity

OECD : Organisation for economic cooperation and developpement

PA : Principe actif

PD : Pharmacodynamique

PK : Pharmacocinétique

PMDA : Pharmaceuticals and medical devices agency

PW : Phoenix WinNonlin

QC : Quality control

R : Médicament de référence

R&D : Recherche et développement

R² : Coefficient de détermination

Rac : Ratio d'accumulation

Rmax : Débit maximal d'excrétion urinaire

RPE : Responsable principal

SC : Sous-cutanée

T : Médicament en test

t_{1/2} : Temps de demi-vie

TK : Toxicocinétique

Vd : Volume de distribution

VICH : International cooperation on harmonization of technical requirements for registration of veterinary medical products

Introduction

Ce travail a pour objectif d'une part d'étudier et de synthétiser les lignes directrices des études de toxicocinétique et de biodisponibilité/bioéquivalence et d'autre part de présenter et évaluer les modèles d'analyse de pharmacocinétique liés à ces études, développés sous le logiciel Phoenix WinNonlin chez un sous-traitant pharmaceutique. Avant cela, une présentation ciblée de la pharmacocinétique sera effectuée pour mieux appréhender les différents types d'études.

La mise sur le marché d'un nouveau médicament est un processus long et coûteux (frise résumée en Figure 1). Elle fait suite aux étapes de recherche et de développement d'un médicament et à l'obtention de l'autorisation de mise sur le marché (AMM) après dépôt du dossier auprès des agences de santé nationales et internationales. Ce dossier doit contenir les différentes études de développement qui prouvent l'efficacité, la sécurité et la qualité du médicament car le médicament n'est pas un produit ordinaire. Ces études sont règlementées et doivent suivre les lignes directrices émises par les agences de santé.

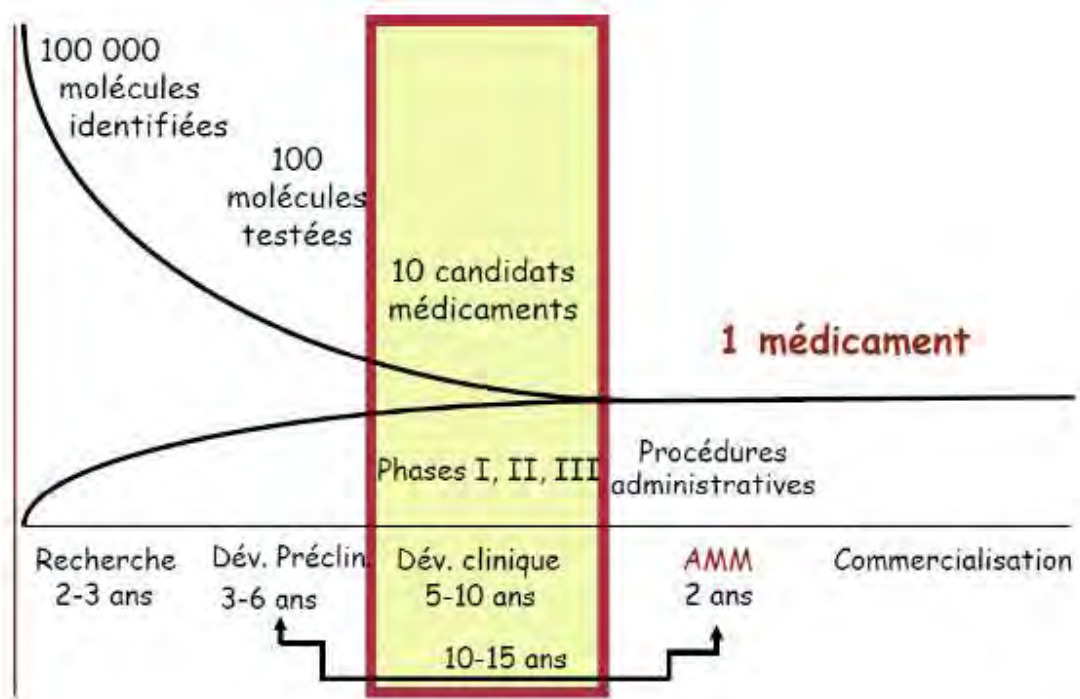


Figure 1: Phase de recherche et développement d'un médicament humain

On peut schématiser la recherche en deux métiers : les pharmacologues qui identifient les cibles et les chimistes qui synthétisent des molécules pour agir sur ces cibles.

Le développement est l'ensemble des études qui suivent la recherche pour obtenir un médicament. Cette étape est divisée en deux parties : le développement préclinique qui se déroule chez l'animal et le développement clinique qui peut se dérouler chez l'Homme (pour les médicaments humains) ou chez l'animal (pour les médicaments vétérinaires). Les étapes de développement préclinique entre les médicaments humains et vétérinaires sont quasiment les mêmes, en revanche celles du développement clinique diffèrent.

Pour les étapes de développement clinique, chez l'Homme on retrouve quatre phases :

- Phase I : Étude de tolérance (Ia) et de détermination des paramètres pharmacocinétiques (Ib)
- Phase II : Étude d'efficacité
- Phase III : Étude comparative

Obtention de l'AMM

- Phase IV : Étude de pharmacovigilance

Chez l'animal, la phase de développement clinique consiste à confirmer sur le terrain la ou les propriétés du médicament et à démontrer la présence d'un effet thérapeutique.

Lors des phases de recherche et de développement d'un médicament, on passe de plusieurs dizaines de milliers de molécules identifiées en recherche à une centaine de molécules testées en développement préclinique, puis à une dizaine de candidats médicaments en développement clinique pour aboutir enfin à un seul médicament. On parle de « screening à haut débit » lors de la phase de recherche et de « screening » lors de la phase de développement. Les raisons de l'arrêt de développement sont présentées dans la Figure 2. Les deux raisons majeures concernent les caractéristiques qui font qu'une molécule est un bon médicament à savoir : une bonne absorption, une action sur la bonne cible et une bonne élimination.

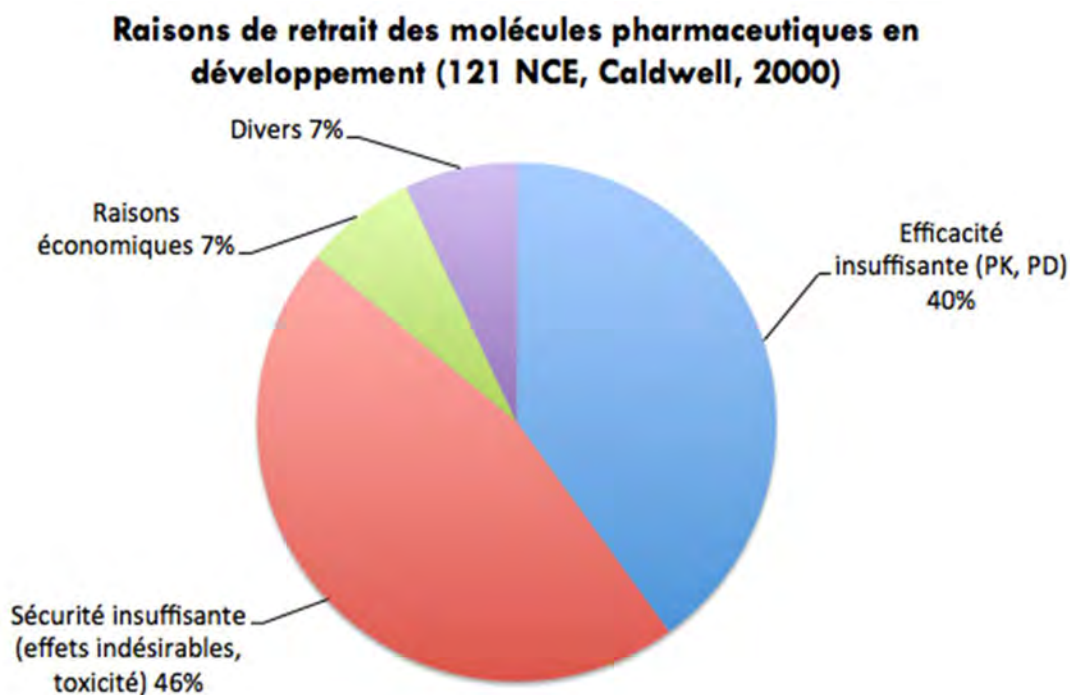


Figure 2: Raisons du retrait des molécules pharmaceutiques en développement

La pharmacocinétique est présente tout au long de la recherche et du développement d'un médicament (des étapes de screening jusqu'aux études de génériques). On la retrouve lors des étapes de recherche avec le criblage ADME (Absorption-Distribution-Métabolisme-Excrétion) et l'étude de la stabilité métabolique. Ensuite, en développement préclinique, elle sert d'une part à étudier les notions de pharmacocinétique/pharmacodynamique pour les études d'efficacité et les notions de toxicocinétique pour les études de sécurité, et d'autre part elle sert de support pour les études de formulation galénique. Enfin, en développement clinique humain, elle est indispensable pour la détermination des paramètres pharmacocinétiques et pour l'adaptation de la posologie en fonction de l'état physiopathologique de l'individu. À l'expiration du brevet du médicament, les études de bioéquivalence utilisent les notions de pharmacocinétique pour le développement de génériques.

L'industrie pharmaceutique est divisée en différentes structures, avec aux deux extrémités les start-ups et les « Big Pharma ». Les start-ups réalisent des projets de recherche grâce à leur expertise dans un domaine spécifique. Les projets sont soit menés de manière autonome jusqu'à leurs limites techniques, logistiques et/ou financières et revendus par la suite aux industries de « Big Pharma », soit directement commandités par les « Big Pharma ». Les entreprises de « Big Pharma » sont de grands groupes pharmaceutiques qui possèdent une ou plusieurs équipes opérationnelles et qui travaillent soit sur la modification d'un « blockbuster » soit sur la découverte d'une nouvelle molécule.

On retrouve en périphérie les CRO (« Contract research organization ») et CDMO (« Contract development and manufacturing organization ») qui sont des entreprises de sous-traitance pharmaceutique qui réalisent des études de recherche (CRO) et de développement (CDMO) pour des start-ups ou pour les industries de « Big Pharma ».

Ce manuscrit se présente donc comme un support synthétique qui permet d'avoir rapidement accès aux lignes directrices permettant la mise en place des études de toxicocinétique et de biodisponibilité/bioéquivalence et de proposer un outil qui réalise rapidement et correctement l'analyse pharmacocinétique de ces deux études.

1. La pharmacocinétique

1.1. Définition de la pharmacocinétique

La pharmacocinétique (PK) est la discipline qui décrit le devenir des médicaments dans l'organisme. Schématiquement on parle d'action de l'organisme sur le médicament. Cela correspond aux phases d'absorption, de distribution, de métabolisme et d'excrétion (voir [Figure 3](#)) (« *Basic pharmacokinetics* », Soraya Dhillon and Kiren Gill). On s'intéresse à ces différentes cinétiques ainsi qu'aux réponses pharmacologiques, thérapeutiques et toxiques des médicaments. Cela s'effectue par des études de l'exposition de l'organisme au médicament.



Figure 3: ADME (Absorption-Distribution-Métabolisme-Excrétion)

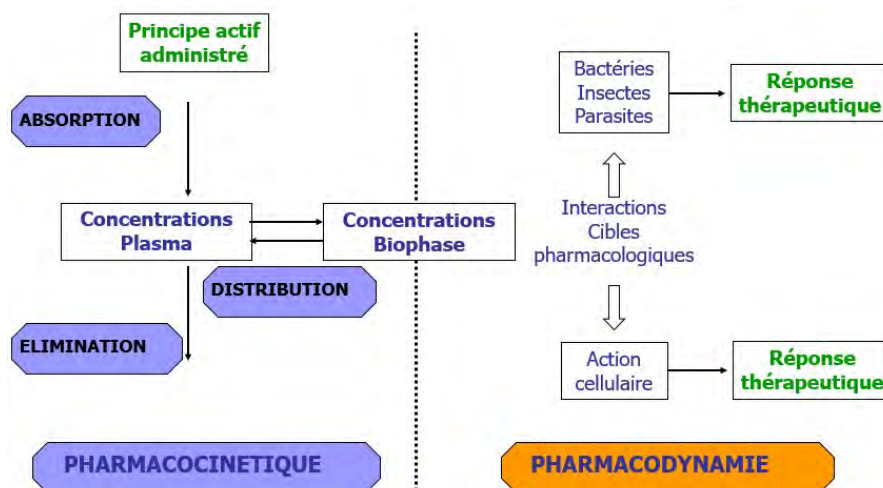
Par opposition à la pharmacocinétique, la pharmacodynamique (PD) s'intéresse à l'action du médicament sur l'organisme. On parle d'effet du médicament. Cet effet peut être bénéfique (effet désiré) ou délétère (effet indésirable). Les notions de pharmacocinétique et pharmacodynamique sont étroitement liées et sont les paramètres étudiés lors du développement d'une nouvelle molécule dans le but d'en faire un médicament.

1.2. Notion de PK/PD (pharmacocinétique/pharmacodynamique)

La pharmacodynamique permet de déterminer la concentration efficace en fonction de l'effet souhaité alors que la pharmacocinétique cherche à établir la posologie qui permet d'atteindre cette concentration. La posologie correspond à la quantité et au rythme d'administration d'un médicament en fonction de la voie d'entrée. Il existe différentes voies d'entrées :

- Extravasculaire
- Intraveineuse (IV)

La notion de concentration plasmatique est utilisée dans le domaine de la pharmacocinétique alors qu'en pharmacodynamique on s'intéresse à la concentration de la biophase, c'est-à-dire la concentration au niveau de la cible pharmacologique. C'est à partir de ces cibles pharmacologiques que les différentes réponses ou effets se produisent (voir Figure 4) (A. Bousquet-Melou, 2016).



En fonction des différentes concentrations plasmatiques, différents effets peuvent apparaître. Généralement plus la concentration est élevée, plus le pourcentage de répondeurs pour l'effet désiré est important mais il en est aussi de même avec le risque de répondeurs pour l'effet indésirable (nous nous plaçons dans le cas de réponse à distribution gaussienne comme représentée en [Annexe 1](#)). Les concentrations qui présentent un risque important d'effet indésirable se trouvent bien évidemment au-dessus des concentrations qui entraînent l'effet désiré sinon le médicament n'a en soi aucun intérêt. Avec ces deux concentrations on peut donc définir une fenêtre thérapeutique (représentée en [Figure 5](#)) (on parle aussi d'index thérapeutique). Cette fenêtre (ou index) comprend l'ensemble des concentrations

permettant un pourcentage de répondeurs pour l'effet désiré supérieur ou égal à 80% et un pourcentage de répondeurs pour l'effet indésirable inférieur ou égal à 20%. Les notions de 80% et 20% de répondeurs sont habituellement retenues. Pour les médicaments à faible fenêtre thérapeutique l'élargissement de ces bornes de pourcentage de réponse se fait en fonction de la nécessité de l'effet désiré et/ou de l'acceptation de l'effet indésirable (A. Bousquet-Melou, 2016).

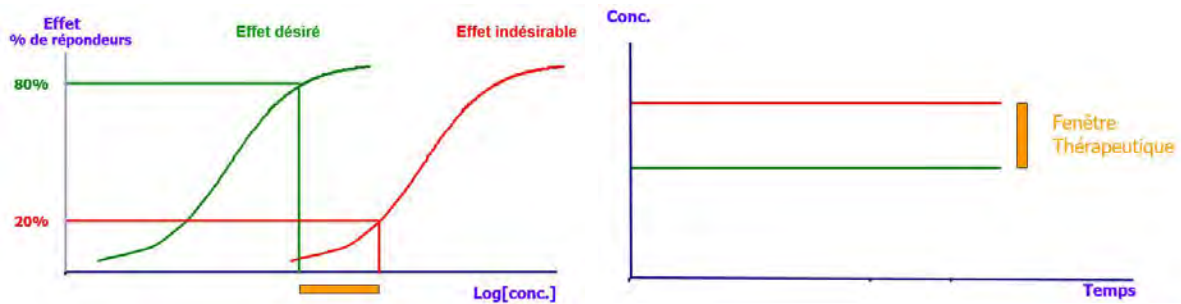


Figure 5: Fenêtre thérapeutique

Les notions de PK/PD et de fenêtre thérapeutique permettront de mieux comprendre respectivement les études de toxicologie et le choix des limites de l'intervalle de confiance (IC) pour les études de bioéquivalence (BE).

1.4. Détermination des paramètres pharmacocinétiques

La détermination des paramètres pharmacocinétiques (liste en [Annexe 2](#)) se fait par l'étude de la cinétique d'une molécule ou d'un médicament (*Pharmacocinétique : éléments de méthodologie*, P.L Toutain et M. Oukessou). La cinétique correspond à la concentration plasmatique en fonction du temps (voir [Figure 6](#)). À partir d'une cinétique, on peut déterminer plusieurs types de paramètres pharmacocinétiques :

- Des paramètres graphiques, directement déterminables par une lecture graphique (C_{max} et T_{max}),
- Des paramètres déterminés ou calculés suite à une analyse pharmacocinétique :
 - Par calcul de l'aire sous la courbe par la méthode de calcul des trapèzes (AUC, « Area under the curve » ; [Annexe 3](#) et [Annexe 4](#))
 - Grâce à la détermination de la pente de la droite d'élimination (constante de vitesse d'élimination (K_{el}) et temps de demi vie ($t_{1/2}$))
- Des paramètres déterminés par le calcul grâce aux précédents paramètres (clairance (Cl), volume de distribution (Vd) et facteur de biodisponibilité (F)).

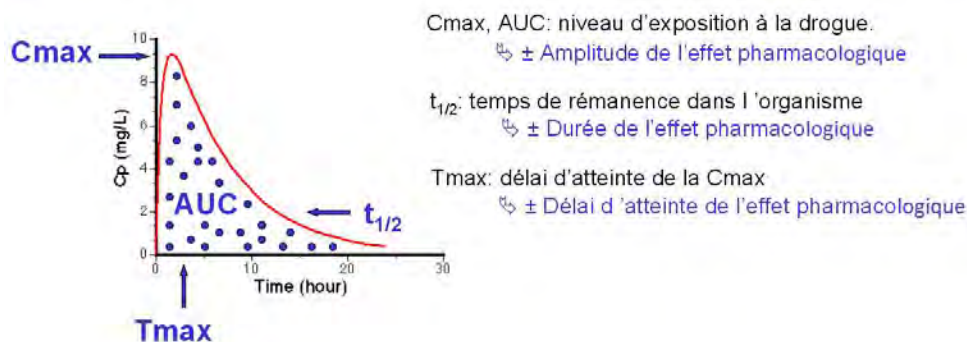


Figure 6: Cinétique et paramètres pharmacocinétiques

Le C_{max} permet de connaître la concentration maximale atteignable et le T_{max} indique au bout de combien de temps on y parvient.

L'analyse pharmacocinétique se fait par l'utilisation de logiciels (WinNonlin, Kinetica,...) et a recours à des approches d'analyse compartimentale (CA, « Compartmental analysis »), ou d'analyse non compartimentale (NCA, « Non compartmental analysis »). Il existe une autre approche, la modélisation qui consiste à créer un modèle propre à la molécule étudiée, par opposition à l'approche compartimentale qui utilise des modèles pré-établis. Dans ce travail, le logiciel utilisé est le logiciel Phoenix WinNonlin (PW) et seule l'approche NCA est envisagée.

L'AUC représente le niveau d'exposition de l'organisme au médicament. Si la durée de prélèvement a été assez longue, on peut déterminer l'exposition totale. Contrairement au C_{max} , l'AUC ne reflète pas une intensité d'exposition mais plutôt une étendue/amplitude d'exposition sur un intervalle de temps. L'approche PK/PD permet de corréliser une observation clinique à une AUC. Il existe différentes AUC :

- AUC_{last} = AUC jusqu'au dernier temps de prélèvement d'une valeur quantifiable
- AUC_x = AUC jusqu'au temps x
- AUC_{inf} = AUC jusqu'au dernier temps de prélèvement d'une valeur quantifiable + AUC extrapolée (AUC_{extra})

L'AUC extrapolée correspond à l'AUC entre le dernier temps de prélèvement d'une valeur quantifiable et l'infini où théoriquement la concentration de la molécule est égale à zéro.

Dans le module PK NCA du logiciel WinNonlin, il existe quatre méthodes de calcul utilisées pour le calcul de l'AUC :

- « Linear Log Trapezoidal »
- « Linear Trapezoidal Linear Interpolation »

- « Linear Up/Log Down »
- « Linear Trapezoidal Linear/Log Interpolation »

La méthode de calcul la plus couramment utilisée est le « Linear Up/Log Down » qui pour calculer l'AUC par la méthode de calcul des trapèzes, garde un modèle linéaire non transformé lors d'une phase croissante et transforme la courbe en droite par transformation logarithmique lors d'une phase décroissante.

La détermination de la pente de la droite d'élimination est réalisée sur la partie terminale de la cinétique (phase d'élimination uniquement, voir [Figure 7](#)).

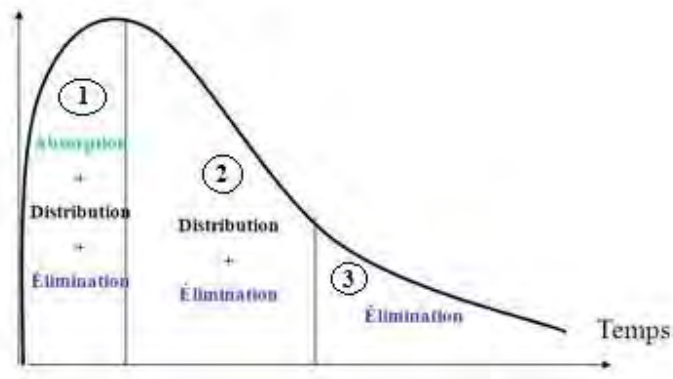


Figure 7: Phases pharmacocinétiques

Le K_{el} est égal à l'opposé du coefficient directeur de la droite de régression de la phase d'élimination (formée par au minimum les trois derniers points de la cinétique). Un exemple de détermination de la pente de la phase terminale est présenté [Figure 8](#). Puis le $t_{1/2}$ est calculé par la formule $t_{1/2} = \ln(2)/K_{el}$ ([Annexe 4](#)) (E. Chatelut, 2016).

Le $t_{1/2}$ est le temps au bout duquel 50% du médicament est éliminé par l'organisme. En pratique, on s'accorde à dire que 90% de la molécule est éliminée au bout de $3,3 t_{1/2}$ et 99% au bout de $7 t_{1/2}$. On parle de temps de rémanence dans l'organisme et son étude permet de déterminer la quantité de médicament présent dans l'organisme en fonction du temps qu'il y a passé (E. Chatelut, 2016).

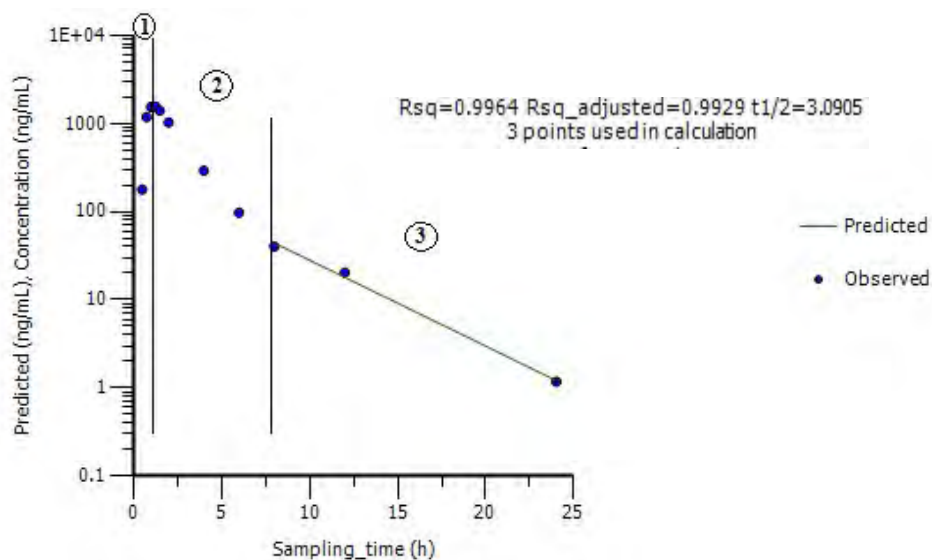


Figure 8: Détermination de la pente de la droite d'élimination

Afin de savoir si la droite de régression qui nous a permis de déterminer K_{el} est pertinente, il faut s'intéresser au coefficient de détermination (R^2). Plus celui-ci est proche de 1, plus la droite de régression possède des résidus faibles (D. Condordet, 2016).

Un R^2 inférieur ou égal à 0.8 signe une droite de régression avec des résidus trop importants ne permettant pas de définir une linéarité correcte ce qui impliquerait une mauvaise détermination du K_{el} et donc du $t_{1/2}$.

Un $\%AUC_{extra}$ supérieur ou égal à 20% entraîne la détermination d'une AUC_{inf} avec une partie extrapolée trop importante et par conséquent la détermination d'une AUC_{last} ne représentant qu'au mieux 80% de l'exposition totale.

Usuellement on considère que les paramètres pharmacocinétiques déterminés avec une droite de régression présentant un R^2 inférieur ou égal à 0.8 et/ou un $\%AUC_{extra}$ supérieur ou égal à 20% ne peuvent être présentés que comme valeurs informatives.

La clairance et le volume de distribution sont calculés à partir de différentes formules (voir en [Annexe 4](#)) et ne sont disponibles qu'après détermination du K_{el} . Ainsi, si certains prérequis ne sont pas respectés, comme expliqué ci-dessus, la clairance et le volume de distribution ne sont que des valeurs données à titre informatif.

La clairance représente le débit d'élimination d'une molécule par l'organisme. En la comparant au débit d'élimination de l'organe d'épuration mis en jeu par cette molécule (rein ou foie), on peut déterminer si

son élimination sera lente ou rapide et/ou si une adaptation de posologie est envisageable en fonction de l'état physiopathologique de l'organe d'épuration mis en jeu (E. Chatelut, 2016).

Le volume de distribution est une donnée théorique qui est rarement utilisée, sauf dans les études de distribution et de résidus (« Volumes of distribution », P.L Toutain and A. Bousquet-Melou).

La biodisponibilité correspond à la vitesse et à l'étendue avec lesquelles la substance active ou sa fraction active est absorbée à partir de sa formulation pharmaceutique et devient disponible au site d'action (présentées en Figure 9).

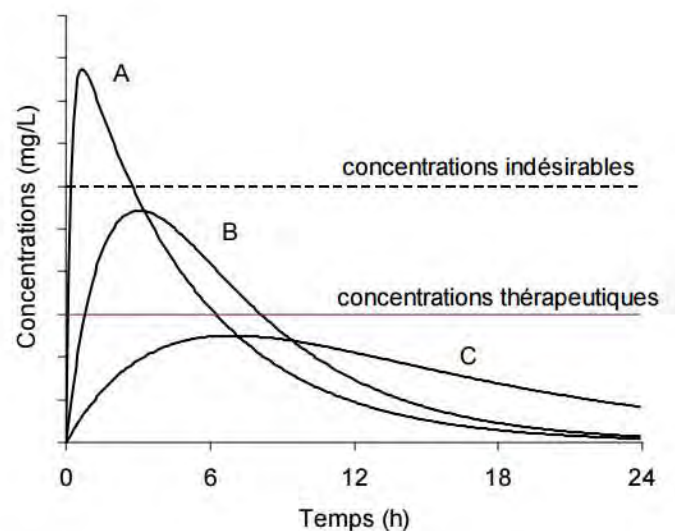


Figure 9: Vitesse et étendue de l'exposition

On distingue :

- La *biodisponibilité absolue* est la fraction (F) qui atteint la circulation générale. Elle est obtenue en comparant les paramètres pharmacocinétiques d'une même molécule administrée une fois par voie extravasculaire et une autre fois par voie IV. Elle est utilisée dans les études de biodisponibilité et de formulation galénique

Pour calculer le facteur de biodisponibilité, on peut utiliser la formule académique suivante qui tient compte des différences de clairance au moment de chaque administration (IV et extravasculaire) :

$$F\% = \frac{AUC_{ev}}{AUC_{iv}} \times \frac{Dose_{iv}}{Dose_{ev}} \times \frac{T_{1/2,iv}}{T_{1/2,ev}} 100$$

- La *biodisponibilité relative* implique la comparaison de deux formulations (comme utilisée dans les études de bioéquivalence) ou la comparaison de deux voies d'administration pour la même formulation.

Si on ignore l'ordre de grandeur de la biodisponibilité absolue, l'interprétation de la biodisponibilité relative peut être sujette à caution (*La biodisponibilité et son évaluation*, P.L. Toutain & A. Bousquet-Melou).

1.5. Obtention, validation et gestion des données analytiques

Après avoir présenté les différents paramètres pharmacocinétiques et avant de s'intéresser à leurs utilisations, nous allons nous intéresser à l'obtention, la validation et la gestion des données analytiques.

1.5.1. Obtention des données analytiques

Les concentrations que nous allons utiliser pour déterminer les cinétiques du médicament proviennent de la phase de bioanalyse (BA). Cette dernière consiste en une analyse des échantillons prélevés. La matrice peut être diverse (plasma, urine, tissu). Elle s'effectue généralement par LC/MS/MS (système HPLC, « High performance liquid chromatography » (abrégée en LC) couplée à un détecteur de spectrométrie de masse (MS, « Mass spectrometry »)).

1.5.2. Validation des données analytiques

Les phases de développement et de validation de méthode analytique et de bioanalyse représentent une partie importante des études de pharmacocinétique. La phase de développement doit permettre de prouver la performance de la méthode analytique mise au point, tandis que l'analyse et la lecture critique des résultats de la phase de bioanalyse sont primordiales avant toute analyse pharmacocinétique. La phase de validation de la méthode analytique doit suivre des lignes directrices (« *Bioanalytical method validation* » Septembre 2013 pour les États-Unis et « *Guideline on bioanalytical method validation* » Juillet 2011 pour l'Europe). Les critères de validation sont :

- La linéarité : capacité, à l'intérieur d'un intervalle défini (domaine de linéarité), d'obtenir des résultats directement proportionnels à la concentration.
- La précision : variation entre des résultats d'essai indépendants. Elle est interprétée par le coefficient de variation (CV), et exprimée en pourcentage (%).
- La justesse ou l'inexactitude : différence relative entre les concentrations mesurées et les concentrations théoriques. Elle correspond au pourcentage d'erreur, pourcentage de biais ou pourcentage de déviation.

- La sélectivité : aptitude à quantifier l'analyte et à le séparer des produits de dégradation, des métabolites et des produits co-administrés
- La spécificité : capacité à quantifier l'analyte en présence d'autres composants de la matrice. La spécificité se fonde sur une absence d'interférences.

Lors de la phase de développement, en plus de ces paramètres, on s'intéresse à certains effets ou phénomènes qui peuvent fausser la détermination des concentrations :

- L'effet matrice : influence du milieu analysé sur l'élément dosé. Cela peut provoquer des interférences et conduire à de très fortes erreurs par excès ou par défaut si l'on n'en tient pas compte.
- La stabilité des solutions : dégradation de l'analyte dans la matrice ou dégradation des composants de la matrice qui peut entraîner l'apparition d'interférences.

Avant l'analyse d'échantillon on s'assure de la stabilité du système analytique. On appelle cela la mise à l'épreuve du système. Pour cela, on s'assure de la reproductibilité de l'analyse par l'étude de la courbe de calibration en début et en fin de séquence analytique. On s'assure également de la qualité de la méthode analytique lors de chaque dosage par l'analyse d'échantillons de contrôle qualité (QC, « Quality control »). L'analyse du système « suitability » permet de s'assurer que la préparation des échantillons et le nettoyage du matériel et des instruments présentent les critères d'acceptations souhaitées.

1.5.3. Gestion des données analytiques

Si une erreur se produit lors de la phase de bioanalyse (inversion de tube, contamination lors de la manipulation, non-respect du protocole,...) ou si un biais imputable aux performances de la méthode analytique est présent, la concentration déterminée est alors fausse ou inexacte. Par conséquent, cela ne permet pas de déterminer une bonne cinétique et donc entraîne une erreur sur la détermination des paramètres pharmacocinétiques.

En plus des erreurs de détermination des concentrations, certaines peuvent se trouver en dessous de la limite de quantification LLOQ (« Lower limit of quantification ») et donc être considérées comme en dessous de la limite de quantification BLQ (« Below the limit of quantification »). La question se porte alors sur la gestion de ces valeurs lors de l'analyse pharmacocinétique :

- Si la valeur n'est pas prise en compte, cela peut entraîner une sur ou sous-estimation de certains paramètres pharmacocinétiques

- Une substitution par la valeur zéro dans le cas de deux valeurs BLQ consécutives en début de cinétique peut provoquer l'apparition d'un T_{lag} (temps entre l'administration et le début de l'absorption) observé, tandis qu'une substitution par la valeur zéro pour une ou plusieurs valeurs BLQ en fin de cinétique peut provoquer une sous-estimation de l'AUC et une mauvaise interprétation du K_{el} et donc du $t_{1/2}$

Il reste aussi la possibilité d'interpolation et d'extrapolation de la valeur manquante mais cela ne sera pas développé dans ce travail.

1.6. Utilisation des paramètres pharmacocinétiques

La pharmacocinétique est utilisée tout au long de la recherche et du développement (R&D) d'un médicament (voir [Figure 10](#)). Cependant, en fonction du type d'étude ou du stade de développement du médicament, il n'est pas possible de déterminer systématiquement tous les paramètres pharmacocinétiques (« *Pharmacokinetics studies in man* » (CHMP) 1987 et « *Guidelines for the conduct of pharmacokinetic studies on target animal species* » (CVMP) 1999))

Une exploration générale des propriétés pharmacocinétiques se déroule lors de l'étape de recherche (criblage ADME et stabilité métabolique) et induit le rejet ou la poursuite de l'étude de la molécule.

Afin de s'assurer de la sécurité de la molécule, des études de toxicologie et plus particulièrement de toxicocinétique (TK) se déroulent lors de la phase de développement. En parallèle, des études de formulation galénique sont réalisées pour déterminer la meilleure formulation en fonction des critères souhaités. Généralement ces études cherchent à optimiser le facteur de biodisponibilité mais ce n'est pas le seul paramètre qui peut être étudié.

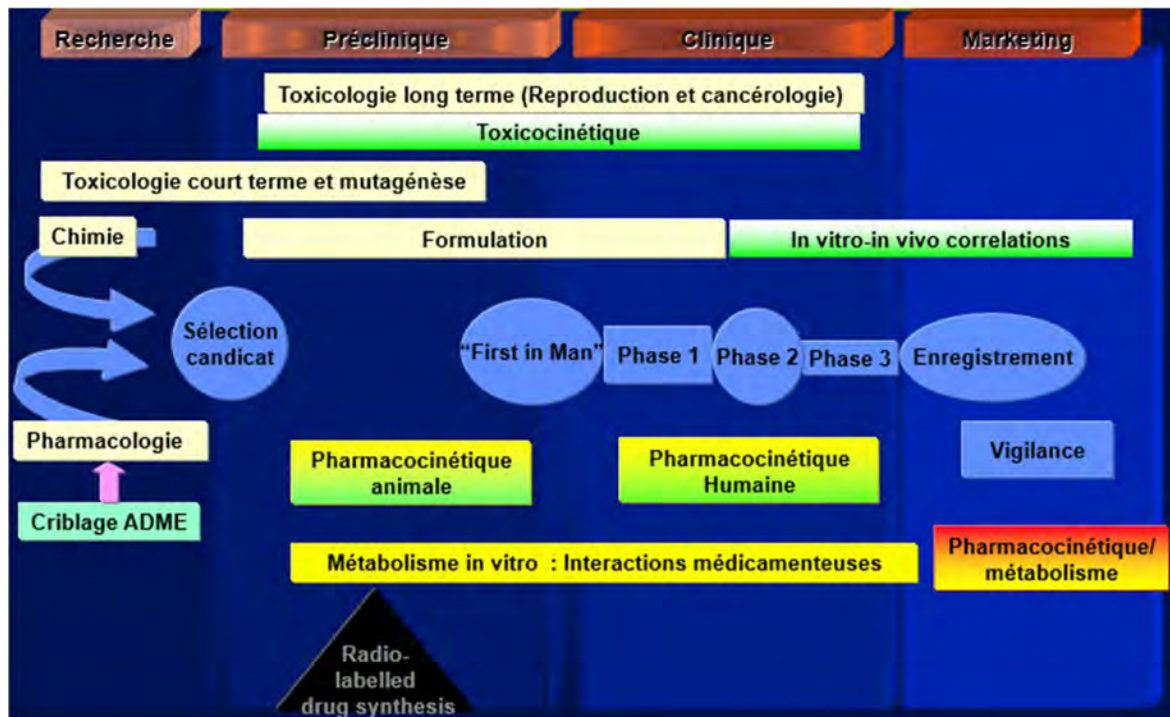


Figure 10: Place de la pharmacocinétique dans la recherche et développement de l'industrie pharmaceutique

À la fin de la durée d'exclusivité d'exploitation du brevet du médicament, des études de bioéquivalence sont réalisées. En plus de la démonstration de l'utilisation des mêmes principes actifs (PA), ces études doivent montrer la similitude des paramètres pharmacocinétiques entre les deux spécialités.

1.6.1. Études de formulation galénique

Les tests de formulation galénique se déroulent lors de l'étape de développement et sont fortement liés aux études du facteur de biodisponibilité mais ce n'est pas le seul paramètre qui peut être déterminé lors de ces études. On peut aussi déterminer et comparer les paramètres pharmacocinétiques (T_{max} , $t_{1/2}$ et AUC) des différentes formulations et sélectionner la formulation qui permet d'obtenir les paramètres pharmacocinétiques recherchés.

Pour un médicament à voie d'administration extravasculaire à visée systémique, le facteur de biodisponibilité ne doit pas être négligé. Même si un faible facteur de biodisponibilité permet tout de même une action systémique, il est préférable de continuer le développement de médicament à fort ou relativement fort facteur de biodisponibilité. Plusieurs raisons sont invoquées :

- Cela permet de minimiser les pertes dues à une faible absorption

- Un facteur de biodisponibilité faible est souvent accompagné d'une forte variabilité interindividuelle alors qu'un facteur de biodisponibilité fort possède le plus souvent une faible variabilité interindividuelle (voir *Figure 11*)

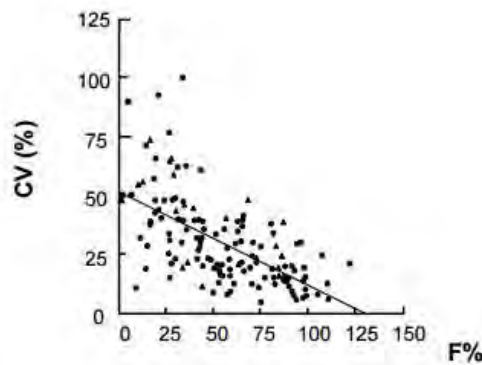


Figure 11: Coefficient de variation en fonction du facteur de biodisponibilité

(Hellriegel et al. 1996)

- Ne pas avoir à augmenter inutilement les doses pour exposer correctement les sujets possédant les facteurs de biodisponibilité les plus faibles
- Ne pas offrir des opportunités d'interactions conduisant à des effets indésirables par des augmentations inattendues de la biodisponibilité

1.6.2. Études de toxicocinétique

Les études de toxicocinétique se déroulent lors de l'étape de développement et repose sur la détermination des paramètres pharmacocinétiques et sur l'étude des effets genre, temps et dose :

- Pour l'effet genre, les ratios des C_{max} et des AUC male/femelle sont étudiés. Il n'y a pas de valeur seuil signant une sensibilité plus faible ou plus importante pour l'un ou l'autre des genres. On s'accorde à dire qu'autour de la valeur 1 on n'observe pas d'effet genre, autour de la valeur 0.5 on observe une plus forte exposition pour le genre femelle, et autour de la valeur 1.5 on observe plutôt une plus forte exposition pour le genre mâle.
- Pour l'effet temps, seul le ratio des AUC est étudié. Encore une fois, il n'y a pas de convention de valeur limite, on s'intéresse plutôt à l'ordre de grandeur de la valeur du ratio et à son évolution au cours du temps. L'effet temps défini par le ratio d'accumulation (R_{ac}) permet de conclure sur la présence ou non d'un effet accumulation de la molécule dans l'organisme.
- Pour l'effet dose, on étudie :

- La dose linéarité : les ratios $C_{\max}/\text{Dose}$ et AUC/Dose sont calculés afin de normaliser la valeur des paramètres pharmacocinétiques ($C_{\max}$ et AUC) et de déterminer si la dose linéarité est présente ou non. On parle de dose linéarité quand le $C_{\max}$ et l'AUC évoluent de manière proportionnelle à la dose. Pour cela il faut que la valeur des rapports $C_{\max}/\text{dose}$ ou AUC/Dose présente toujours la même valeur quelle que soit la dose lors des différentes occasions.
- La dose proportionnalité : les ratios de doses permettent de déterminer si un effet dose proportionnalité est respecté entre les doses définissant le ratio. Les valeurs des ratios calculés sont comparées aux valeurs des ratios théoriques.

Il est à noter que le $C_{\max}$ est plus difficile à déterminer avec précision que l'AUC. Il est dépendant du nombre et des temps de prélèvement alors que la détermination de l'AUC est plus globale et moins sensible aux erreurs dues au design des prélèvements. L'évaluation de la dose proportionnalité par analyse de l'AUC est donc plus précise et moins exposée aux erreurs. Il en est de même avec les études qui utilisent le $C_{\max}$ et l'AUC comme paramètres d'étude (exemple : bioéquivalence).

1.6.3. Études de bioéquivalence

Les études de bioéquivalence se déroulent lorsque le brevet d'exploitation du médicament se termine. Elles reposent sur l'étude de la biodisponibilité (relative) du médicament générique par rapport à son médicament princeps (de référence).

Deux médicaments sont dits bioéquivalents si la biodisponibilité ne diffère pas entre eux (voir [Figure 12](#)). Il existe 3 types de bioéquivalence ([Annexe 5](#), [Annexe 6](#) et [Annexe 7](#)) :

- La bioéquivalence moyenne, la seule exigée pour les médicaments génériques humains ou vétérinaires
- La bioéquivalence de population, qui présente un enjeu pour les traitements collectifs chez les animaux mais s'avère trop exigeante en termes de taille d'échantillon
- La bioéquivalence individuelle, un enjeu des substitutions en médecine humaine mais exigeante en termes de taille d'échantillon

Dans ce travail, nous nous intéressons seulement à la bioéquivalence moyenne.

Un générique est considéré comme bioéquivalent au princeps si les valeurs exprimant l'étendue (AUC) et la vitesse de biodisponibilité (C_{max}) ne diffèrent pas de plus de 20 à 25%. Pour un risque d'erreur α (alpha) de 10%, on se retrouve alors dans une configuration statistique comme représentée dans la Figure 13 avec un intervalle de confiance pouvant aller de 0.8 à 1.25. Une analyse de style ANOVA (comparaison de variance) est réalisée afin de démontrer significativement la bioéquivalence.

En valeur absolue, cela correspond pour le médicament générique à des valeurs d'AUC et de C_{max} qui ne varient pas de plus de 12 à 13% par rapport au médicament princeps et en concentration à une différence de moins de 5 à 7% (comme représentée en Annexe 8)

Attention, plus la biodisponibilité est faible et plus les variations ont des conséquences (exemple : AUC = 10% +/- 5%, AUC varie du simple au triple) !

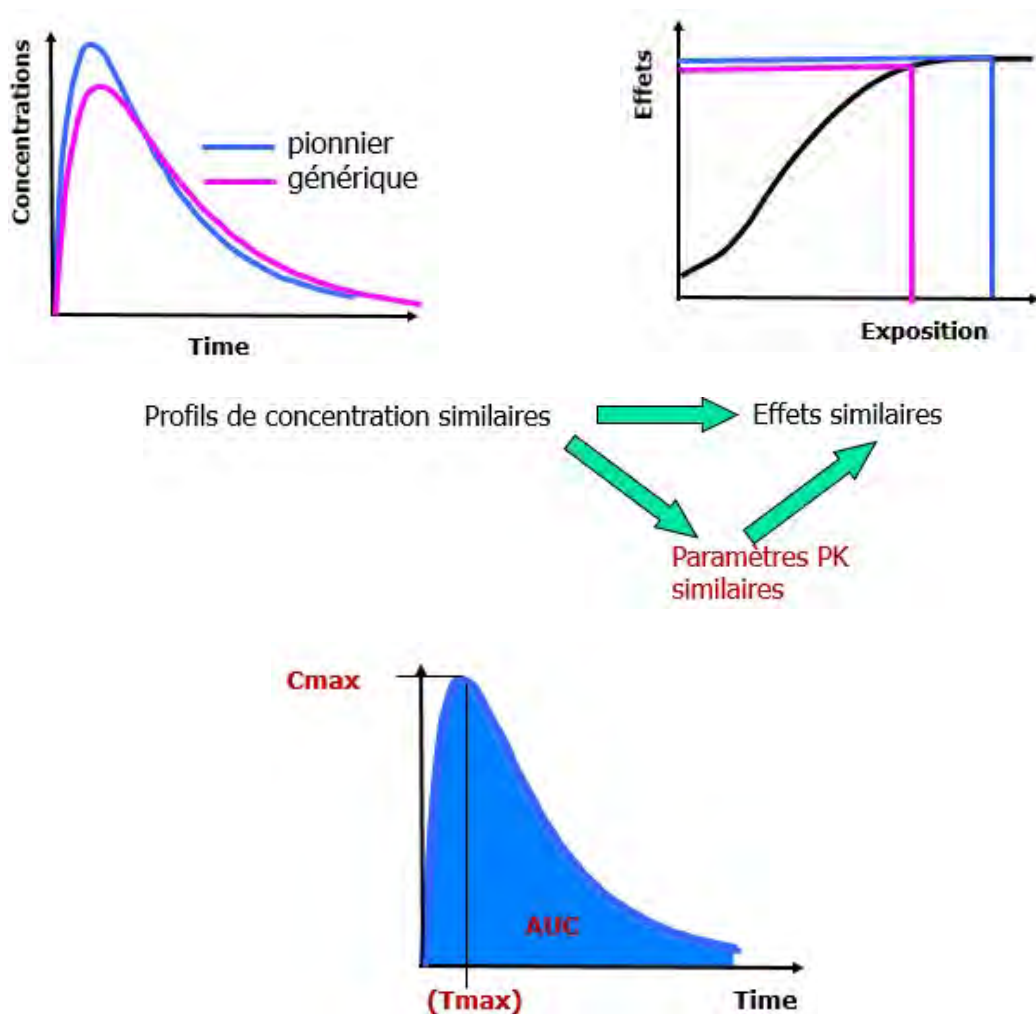


Figure 12: Représentation de la bioéquivalence

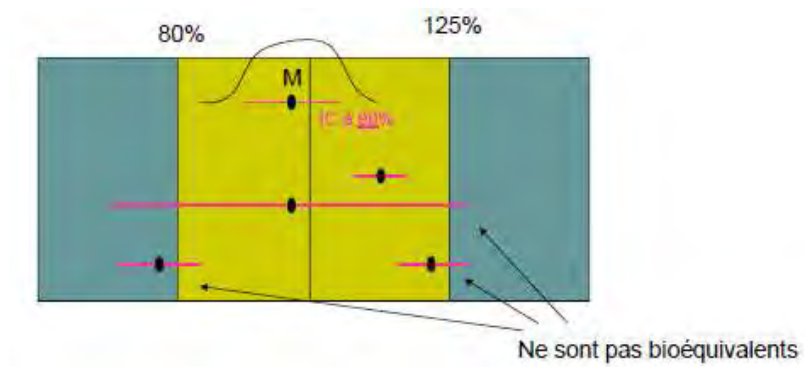


Figure 13: Représentation statistique de la bioéquivalence

Toutes ces notions de pharmacocinétique sont à connaître pour comprendre les lignes directrices des études de toxicocinétique et de biodisponibilité/bioéquivalence.

2. Étude et synthèse des lignes directrices des études réglementaires de toxicocinétique et de biodisponibilité/bioéquivalence

Le choix de s'intéresser aux études de toxicocinétique et de biodisponibilité/bioéquivalence est basé sur le fait de l'existence du grand nombre de lignes directrices pour ces deux études, et qu'il est intéressant de les recenser et de les synthétiser dans un même document.

2.1. Lignes directrices des études réglementaires

La délivrance des AMM des médicaments est effectuée par les agences de santé nationales ou internationales. Sur le plan national, les acteurs sont l'ANSM (Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé) pour la France et la FDA (« Food and drug administration ») pour les États-Unis, tandis que sur le plan international, on trouve l'EMA (« European medicines agency ») pour l'Europe et la PMDA (« Pharmaceuticals and medical devices agency ») pour l'Asie.

Au sein de ces agences, la délivrance d'une AMM repose sur une méthode d'évaluation permettant d'assurer la qualité, l'efficacité et la sécurité d'emploi des médicaments. Pour l'obtenir, les entreprises pharmaceutiques doivent réaliser les études réglementaires permettant de fournir les données nécessaires à l'évaluation des caractéristiques exposées plus haut.

L'évaluation de la sécurité du médicament passe par des études de toxicologie. Parmi elles, les études de toxicocinétique s'intéressent uniquement aux médicaments à visée humaine.

5 à 10 ans après l'obtention de l'AMM, lorsque le brevet protégeant un médicament original (ou princeps) arrive à son terme (ou éventuellement le ou les certificats complémentaires de protection dont il peut bénéficier), des génériques de ce médicament peuvent être développés par les entreprises pharmaceutiques.

Les études réglementaires de toxicocinétique et de biodisponibilité/bioéquivalence, étudiées ici, doivent suivre les lignes directrices émises par les agences de santé. Une ligne directrice est un document communautaire avec des bases légales explicites qui font référence à un cadre législatif (directives). Il fournit les recommandations les plus appropriées pour remplir une obligation fixée par la législation de la communauté pharmaceutique. Il n'a aucune force légale, c'est une « soft law ». Néanmoins, il est considéré comme une position communautaire harmonisée et si ses recommandations sont suivies, cela permet de faciliter l'évaluation, la validation et le contrôle des produits médicaux (« *Procedure for european union guidelines and related documents within the pharmaceutical legislative framework* » (EMA) 18 Mars 2009)

Un protocole d'étude doit être élaboré avec la connaissance des lignes directrices scientifiques, elles-mêmes en lien avec les textes de loi et dans un souci de traçabilité en lien avec les bonnes pratiques de laboratoire (BPL) ou cliniques (BPC). Les BPL constituent un système de garantie de la qualité du mode d'organisation et de fonctionnement des laboratoires. La finalité des BPL est d'assurer la qualité, la reproductibilité et l'intégrité des données générées à des fins réglementaires. Parallèlement, on retrouve les BPC pour les études menées chez l'Homme.

La connaissance de ces lignes directrices est donc primordiale pour effectuer des études conformes, et assurer l'obtention de l'AMM. Dans cette optique, ce travail s'attachera à présenter et synthétiser les différentes lignes directrices relatives aux études de toxicocinétique et de biodisponibilité/bioéquivalence. Les lignes directrices des sujets apparentés seront seulement citées ou alors rapidement décrites selon le niveau d'intérêt pour ce travail. Pour les études de toxicocinétique, les études de la carcinogénicité (S1 « *Carcinogenicity studies* » (ICH)), de la génotoxicité (S2 « *Genotoxicity studies* » (ICH)) et de la reprotoxicité (S5 « *Reproductive toxicology* » (ICH)) ne seront pas abordées dans ce travail. Pour les études de bioéquivalence, les lignes directrices présentant les tests de dissolution ne sont pas étudiées dans ce travail, elles seront seulement citées le cas échéant. Par ailleurs, il est à noter que les lignes directrices du PMDA ne seront pas présentées ici.

2.2. Les études de toxicocinétique

La toxicocinétique fait partie des étapes de développement d'un nouveau médicament humain. Son but est de caractériser de potentiels effets toxiques sur l'organe cible, d'évaluer la dose dépendance et de définir la relation entre l'exposition et l'effet toxique. Les études de toxicocinétique se déroulent généralement sous forme de doses répétées. Néanmoins aucune information n'est apportée sur le choix de l'analyse pharmacocinétique à réaliser, cela reste à l'appréciation de chaque pharmacocinéticien.

Les lignes directrices des études de toxicocinétique se basent sur la « *Council Directive 75/318/EEC* ». Par ailleurs, les études de toxicocinétique doivent suivre les BPL comme recommandé par les « *Council Directives 87/18/EEC* » et « *88/320/EEC* ».

Les études de toxicocinétique doivent également suivre les consignes d'hébergement recommandées dans le « *The Council Directive on animal welfare 86/609/EEC* » et le « *Council Decision on the European Convention on the protection of vertebrate animals, 1999/157/EC* ».

Les trois grandes organisations émettant des lignes directrices pour les études de toxicocinétique sont l'ICH (« *International conference on harmonization of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use* »), l'EMA et l'OECD (« *Organisation for economic Co-operation and*

developpement »). La FDA reprend exactement les mêmes lignes directrices que celles énoncées par l'ICH « *Toxicokinetics : The assesement of systemic exposure in toxicity studies* » (FDA) Mars 1995. L'ICH est une organisation internationale qui vise à harmoniser les lignes directrices au niveau international relatives aux médicaments humains.

2.2.1. Lignes directrices émises par l'ICH

Une des premières lignes directrices est celle de l'ICH S3A « *Note for guidance on toxicokinetics : The assesement of systemic exposure in toxicity studies* » datant du 27 Octobre 1994. Cette ligne directrice présente d'abord les objectifs primaires et secondaires d'une étude de toxicocinétique :

- Objectif primaire : décrire l'effet systémique obtenu en relation avec la dose et le temps d'exposition
- Objectif secondaire :
 - Mettre en relation l'exposition du toxique avec les effets toxicologiques observés
 - Confirmation le choix de l'espèce et de la posologie du toxique
 - Fournir des informations pour contribuer au design d'autres études de toxicité non clinique

On y retrouve aussi l'explication de points plus techniques comme :

- Le moyen de quantification de l'exposition du toxique (AUC et C_{max})
- Le choix des temps de prélèvements
- Le choix de la voie d'administration et de la dose : la voie d'administration doit être la même que celle utilisée lors de l'étude clinique et la dose faible ne doit entrainer aucun effet toxique, la dose intermédiaire doit représenter un multiple de la dose faible et la dose forte doit être déterminée par des considérations toxicologiques.

La ligne directrice S3A précise également que dans certains cas, une détermination de la concentration des métabolites est recommandée par rapport à celles de la molécule parent :

- Si le ou les métabolites sont les entités actives primaires (on parle de médicament pro-droque)
- Si le ou les métabolites ont une activité pharmacologique ou toxicologique significative
- Si le processus de métabolisation est tellement important que la détermination de la concentration de la molécule mère est impossible et que sa quantification se fait par celle de son ou ses métabolites.

En ce qui concerne les durées de traitement plusieurs textes coexistent, parfois contradictoires. On peut faire référence à l'ICH S4 « *Duration of chronic toxicity testing in animals* » datant du 2 Septembre 1998 qui préconise une durée de 6 mois pour les rongeurs et de 9 mois pour les espèces non rongeurs ou alors à l'ICH M2 (R2) « *Guidance on nonclinical safety studies for the conduct of human clinical trials and marketing authorization for pharmaceuticals* » datant du 11 Juin 2009 qui en fonction de la durée maximale de l'étude clinique envisagée, recommande des durées minimales d'étude de toxicité de dose répétée (Annexe 9) ou encore à la « *Council Directive 75/318/EEC* » qui recommande une étude de 6 mois chez les non rongeurs.

2.2.2. Lignes directrices émises par l'EMA

Les lignes directrices de l'EMA dans « *Guideline on repeated dose toxicity* » datant du 18 Mars 2010 apportent de nouvelles informations par rapport au choix de l'espèce utilisée, au genre (un nombre identique entre mâle et femelle) et au nombre d'animaux. La « *Note for guidance on repeated dose toxicity* » datant du 27 Juillet 2000 spécifie l'utilisation de deux espèces mammifères dont l'une doit être une espèce non rongeur (généralement on utilise la souris et le chien).

On y retrouve aussi des informations supplémentaires par rapport à la dose forte. Cette dernière doit correspondre à la dose provoquant une toxicité sur l'organe cible, une toxicité non spécifique ou doit correspondre au volume limite d'administration en fonction de l'espèce et ne peut dépasser la dose de 1000 mg/kg/jour. Un complément d'information sur le monitoring terminal y est apporté avec la recommandation d'une autopsie et d'une analyse histopathologique des organes et tissus (voir liste en Annexe 10).

Des nombreuses lignes directrices de l'EMA font référence à celles de l'ICH et sont intitulées « *note for* » puis reprennent le nom de la ligne directrice ICH « *Note for guidance on duration of chronic toxicity testing in animal* » Mai 1999, « *Note for guidance on toxicokinetics A guidance for assessing systemic exposure in toxicology studies* » Juin 1995 et « *Note for guidance on non-clinical safety studies for the conduct of human clinical trials for pharmaceuticals* » Juillet 2008. Généralement, ce sont les mêmes informations qui sont reprises dans les « *note for* » avec quelques précisions en plus dans le cas de recommandations générales de la part de l'ICH.

2.2.3. Rapport de l'OECD

Le rapport adopté le 22 Juillet 2010 « *Guideline for the testing of chemicals* » apporte des informations sur trois points importants :

- L'utilisation du rat comme animal rongeur de référence, avec un minimum de 4 rats par genre et une variation interindividuelle de poids n'excédant pas 20%.
- La sélection de la dose, avec une seule dose orale dans le cas d'étude pilote et avec un minimum de deux doses pour les études pivot (les études pilotes sont des études réalisées en amont des études pivots qui ont pour le but d'obtenir les informations nécessaires à la réalisation de ces dernières)
- Les paramètres pharmacocinétiques à déterminer : C_{max} , T_{max} , $t_{1/2}$ et AUC

De plus, ce rapport propose un exemple de plan pour la rédaction du rapport de toxicocinétique (résumé, introduction, matériels et méthodes, résultats et discussion et conclusion)

2.3. Les études de bioéquivalence

2.3.1. Définition du générique

Une définition légale du générique a été introduite dans le code de la santé publique (CSP) français en 1996 (article L.5121-1 CSP) : « On entend par spécialité générique d'une autre spécialité, une spécialité qui a la même composition qualitative et quantitative en principes actifs (substance à l'origine de l'efficacité du traitement), la même forme pharmaceutique (comprimé, gélule, sirop...), et dont la bioéquivalence avec la spécialité de référence a été démontrée par des études appropriées de biodisponibilité ».

Une définition européenne du générique a été donnée par une directive de 2004 (directive 2004/27/CE) :

- Mêmes quantité et qualité de principe actif entre le médicament princeps et le médicament générique
- Les AUC et C_{max} du médicament générique doivent être compris dans une fourchette allant de 80 à 125% de l'AUC ou du C_{max} du médicament princeps

Les différences entre médicament princeps et médicament générique résident notamment dans la présence et la composition en excipients. Ces éléments sans activité pharmacologique agissent sur l'absorption et la stabilité du médicament et déterminent son aspect, sa couleur et son goût.

Le laboratoire demandeur d'une AMM générique est dispensé de fournir de nouvelles données de sécurité ou d'efficacité et peut se référer aux études réalisées pour l'AMM du médicament princeps. Il doit en revanche fournir :

- Un dossier pharmaceutique qui comporte toutes les données démontrant la qualité du médicament
- Un dossier démontrant la bioéquivalence du médicament générique par rapport au médicament de référence

C'est dans l'élaboration et la réalisation de ce second dossier que se positionnent les lignes directrices relatives aux études de bioéquivalence.

2.3.2. Enjeux du médicament générique

Les génériques ont été développés pour permettre l'accès aux soins dans les pays émergents et réguler les coûts des médicaments dans le budget des comptes sociaux des pays développés (2008 : 1.3 milliards d'euros économisés par la sécurité sociale pour atteindre les 13.4 milliards d'euros en 2012, source GEMME ; [Annexe 11](#)).

Les génériques représentent un véritable enjeu économique pour l'industrie pharmaceutique (2012 : plus de 50 milliards d'euros de chiffre d'affaires pour l'industrie pharmaceutique française des médicaments, dont 48% à l'exportation, source ANSM ; [Annexe 12](#)). En 2013, les génériques représentaient plus de 15% du marché en valeur et plus de 30% en quantité (source ANSM et LEEM (Les entreprises du médicament) ; [Annexe 13](#) et [Annexe 14](#)).

Cela explique le nombre important d'AMM délivrées pour les médicaments génériques (503 en 2013 pour un nombre total d'AMM de 944 soit 53,3%, source ANSM ; [Annexe 15](#)).

2.3.3. Lignes directrices pour les études de bioéquivalence

Les études de bioéquivalence montrent dans un premier temps la similitude entre deux principes actifs. Ensuite, par une analyse statistique sur des paramètres pharmacocinétiques ($C_{\max}$ et AUC), ces études démontrent la bioéquivalence entre un médicament générique et son médicament de référence.

Les études de bioéquivalence se portent aussi bien sur les médicaments humains que sur les médicaments vétérinaires. Pour différencier les deux, les organismes de santé possèdent généralement deux comités, un pour les médicaments humains et un pour les médicaments vétérinaires.

Avant de s'intéresser directement aux recommandations, de nombreuses définitions de base doivent être connues et comprises :

- Produit = Médicament. Les deux termes sont utilisés comme synonymes dans les lignes directrices
- Bioéquivalence : Absence de différence de biodisponibilité entre deux principes actifs (ou de ses métabolites) de même dose molaire qui produisent cliniquement les mêmes effets thérapeutiques, indésirables ou les deux
- Bioéquivalent : Un médicament en test et un médicament de référence sont bioéquivalents quand ils contiennent le(s) même(s) principe(s) actif(s) et après comparaison dans une étude appropriée de biodisponibilité, présentent les mêmes taux et vitesse d'absorption.

Il existe différents types d'étude de bioéquivalence. D'une part, les études classiques qui concernent la commercialisation d'un médicament générique, et d'autre part les études de bioéquivalence qui permettent de prouver que ceux sont des médicaments bioéquivalents qui sont utilisés dans des études différentes. Dans le premier cas, on parle de demande abrégée de nouveau médicament (ANDA, « Abbreviated new drug application ») et dans le deuxième cas on peut parler de demande de nouveau médicament (NDA, « New drug application ») ou de demande de nouveau médicament de recherche (IND, « Investigational new drug applications »).

Afin de faciliter la lecture, une harmonisation des symboles et une définition des paramètres non présentés dans la partie 1 est faite ci-dessous :

- $AUC_{last} = AUC_t = AUC_{0-t}$ et $AUC_{inf} = AUC_{Tot} = AUC_{0-\infty}$
- $Kel = \lambda_z$
- $AUC_{tau} = AUC$ sur l'intervalle d'administration à l'état d'équilibre
- $C_{max,ss} = C_{max}$ à l'état d'équilibre
- $C_{trough} =$ Concentration moyenne à l'état d'équilibre
- $T_{max,ss} = T_{max}$ à l'état d'équilibre
- $AUC_{Refmax} = AUC$ entre le temps 0 et T_{max}
- $A_{e(0-t)} =$ Quantité dans les urines entre le temps 0 et t
- $R_{max} =$ Débit maximal d'excrétion urinaire

Les notions de « cross-over », de « wash-out » et de « carry-over » sont des termes récurrents et sont expliqués ci-dessous :

- Cross-over : Le sujet reçoit l'ensemble des produits de l'étude de manière successive avec une période de wash-out entre les périodes. La séquence définit l'ordre de prise.
- Wash-out : Période où aucun médicament n'est administré dans le but de permettre l'élimination totale de l'organisme du premier médicament administré.
- Carry-over : Présence d'un effet imputable à l'action du principe actif et/ou du métabolite(s) de la période précédente

Contrairement aux études de toxicocinétique, l'étude et la synthèse des lignes directrices des études de biodisponibilité/bioéquivalence se fera par pays, et non pas de manière globale, du fait des différences de recommandations et d'organisation de ces études entre les différentes agences nationales.

2.3.3.1. Lignes directrices émises par le VICH

Comme dans le cas du médicament humain avec l'ICH, un organisme vise à harmoniser les lignes directrices des médicaments vétérinaires : le VICH (« International cooperation on harmonisation of technical requirements for registration of veterinary medical products »). À terme, le VICH, espère éliminer les répétitions et les tests inutiles et par conséquent réduire le nombre d'animaux utilisés dans le développement et l'enregistrement des médicaments. L'un des premiers prérequis du VICH est le suivi des BPL.

La dernière ligne directrice date d'Aout 2015 pour une mise en application en Aout 2016. La recommandation ne traite que des études de bioéquivalence sur prélèvement sanguin et s'intitule « *Bioequivalence : Blood level bioequivalence study* ». Les informations présentées ci-après sont tirées des lignes directrices.

- *Choix des produits et de la voie d'administration*

La sélection des produits (test et référence) doit suivre des critères précis. Initialement les produits en test et de référence doivent contenir le même principe actif. Le produit en test doit être présenté dans sa forme finale et doit provenir d'un lot de médecine vétérinaire qui a été approuvé par la juridiction où l'autorisation est demandée. Avant de réaliser l'étude de bioéquivalence, les principes actifs des deux produits doivent être testés et ne pas différer de plus de 5%. 1/10 du stock original du

produit en test doit subir l'étude de bioéquivalence et la caractérisation et la spécification de la qualité du produit test doivent être établies sur ce même stock.

Dans le choix de la voie d'administration, la même voie d'administration que pour le produit de référence doit être utilisée.

- *Choix de la posologie*

La dose (mg/kg) choisie doit être la dose la plus forte approuvée pour le produit de référence. Il est possible d'utiliser des doses multiples de la dose maximale jusqu'à un maximum de trois fois (dans le cas d'un produit à marge thérapeutique adéquate et possédant une pharmacocinétique linéaire) et il est aussi possible de normaliser la dose dans le cas d'une différence de plus de 5% dans le lot du produit de référence. Dans le cas de médicament à pharmacocinétique non linéaire, l'ensemble des doses doit être testé. Il en est de même pour des effets dépendant de la dose.

Pour le choix du rythme d'administration, la dose unique est recommandée dans le cas de formulations à libération immédiate et modifiée. Il est tout de même conseillé d'utiliser la dose répétée dans le cas de formulations à libération prolongée dans le cas d'une accumulation (on statue sur la présence d'un phénomène d'accumulation en cas d'une augmentation d'un ordre 2 entre la situation à l'équilibre et la première administration). Une dose répétée est aussi appropriée dans le cas de design répété et séquentiel, ou dans les deux situations suivantes :

- Saturation du processus d'élimination
- Pas de quantification de l'AUC après une dose simple à cause d'un défaut de sensibilité de la méthode de bioanalyse.

- *Caractéristiques de la population de l'étude*

La population de l'étude est sélectionnée selon différents critères. L'espèce d'étude doit être la même que l'espèce cible mais une extrapolation est possible d'une espèce majeure vers une espèce mineure dans le cas de confirmation scientifique. La population d'étude doit être en bonne santé et dans le cas de design parallèle la population doit être homogène entre les groupes. Les animaux doivent être égaux en nombre dans chaque séquence (design cross-over) ou dans chaque groupe de traitement (design parallèle).

Le statut prandial recommandé est la situation de jeun 8 heures avant l'administration et jusqu'à 4 heures après. Dans le cas de formulations à libération modifiée pour des non-ruminants, la bioéquivalence doit être établie dans les deux conditions (nourrie et à jeun).

La détermination du nombre total de sujet est basée sur les résultats des études pilotes. Un nombre minimum de 12 animaux est acceptable pour la communauté internationale (6 par séquence et 12 par groupe pour respectivement les designs en cross-over et parallèle). Ce nombre minimum est nécessaire afin d'anticiper la plus grande amplitude de variabilité des paramètres pharmacocinétiques et de pouvoir tout de même statuer statistiquement sur la présence ou non d'une bioéquivalence.

○ *Design d'étude*

Concernant le design de l'étude, une étude de deux périodes, deux séquences en cross-over (comme indiqué en Figure 14) est communément recommandé.

	Sequence A	Sequence B
Period 1	Test	Reference
Period 2	Reference	Test

Figure 14: Design deux périodes, deux séquences en cross-over

Pour ne pas affecter la pharmacocinétique de la période 2, une période de wash-out suffisante doit être respectée ($5 t_{1/2}$ est le temps recommandé). La période de wash-out doit être précisée et justifiée *a priori* dans le protocole de l'étude de bioéquivalence.

Dans le cas de substance endogène, la présence d'effet carry-over est difficilement quantifiable. Il faut comparer la concentration de la prédose entre la période 1 et la période 2.

Un design d'étude en parallèle peut être préférable dans les situations suivantes :

- Le principe actif et/ou le(s) métabolite(s) induit un changement physiologique de l'animal qui peut altérer la biodisponibilité du produit administré en période 2
- Le principe actif et/ou le(s) métabolite(s) a un $t_{1/2}$ important
- La durée de la période de wash-out est trop longue et provoque un changement physiologique significatif du sujet
- Le volume sanguin total du sujet ne permet la détermination du profil cinétique que pour une période

D'autres designs d'étude peuvent également être envisagés :

- Design d'étude répété : ajout d'une ou plusieurs périodes au design de l'étude
- Design d'étude séquentiel : traitement initial d'un groupe de sujet puis traitement des données. Si la bioéquivalence n'est pas démontrée un groupe additionnel peut être recruté et les résultats des deux groupes sont combinés dans une analyse finale.

○ *Modalités des prélèvements sanguins*

Le choix des prélèvements sanguins se repose sur trois contraintes :

- La détermination précise du $C_{\max}$ et $T_{\max}$
- La détermination de 80% ou plus de l' $AUC_{\inf}$
- La détermination de la pente de la droite d'élimination définie par au minimum 3 points

Dans le cas de dose répétée, la prédose doit être mesurée immédiatement après l'administration et le dernier prélèvement doit être effectué le plus proche possible de la fin/début de l'intervalle d'administration suivante. Les prélèvements doivent aussi permettre la détermination de la phase d'équilibre.

○ *Phase de bioanalyse*

En principe, les études de bioéquivalence doivent être basées sur la mesure de la concentration totale (libre et liée aux protéines) du composé parent mais dans le cas de composé pro-drogue la mesure de la concentration se fait sur le métabolite actif.

Généralement on utilise une technique achirale de séparation chromatographique mais si les trois conditions suivantes sont réunies on doit utiliser une technique chirale :

- Les énantiomères possèdent des propriétés pharmacodynamiques différentes
- Les énantiomères possèdent des propriétés pharmacocinétiques différentes
- Le ratio des AUC des énantiomères est modifié par leurs taux d'absorption

○ *Gestion des données analytiques*

La gestion des données analytiques peut rencontrer différents problèmes. Le plus grand nombre de situations problématiques doit être prévu dans le protocole et la solution d'exclure des données doit être faite avec la plus grande précaution afin d'éviter de nombreux biais.

Une des situations qui revient le plus souvent est le risque de perte d'une partie ou de la totalité du produit administré dans le cas d'un vomissement. Dans ce cas-là, le protocole prévoit l'exclusion ou non des données analytiques en fonction du temps entre l'administration et le vomissement, et à partir de quelle quantité perdue cela est considéré comme acceptable ou non. La possibilité de ré-administration est une option et si c'est le cas cela doit être stipulé *a priori* dans le protocole.

Il est important que toutes les données disponibles soient incluses dans l'analyse statistique. Par la suite, les analyses statistiques sont effectuées avec ou sans les données litigieuses.

- *Analyse pharmacocinétique*

La détermination des paramètres pharmacocinétiques dépend du design de l'étude. Pour les études à dose simple, on détermine le C_{max} , T_{max} , AUC_{last} et l' AUC_{inf} . Pour les études à dose répétée, on s'intéresse à l' AUC_{tau} , au $C_{max,ss}$, au C_{trough} et au $T_{max,ss}$. Des paramètres additionnels peuvent être déterminés comme le Kel et le T_{lag} .

L'analyse pharmacocinétique doit être effectuée par une méthode non compartimentale.

- *Analyse statistique*

L'analyse statistique est basée sur la génération d'un intervalle de confiance à 90% du ratio des AUC et C_{max} transformés en logarithme entre le médicament en test et le médicament de référence. Les critères d'acceptation de l'intervalle de confiance sont 0.8 et 1.25.

Dans les rares cas de design en parallèle, de dose exprimée en mg, ou de grande différence de poids entre les animaux, il est possible de normaliser les paramètres pharmacocinétiques par la dose. Il est également possible d'utiliser le ratio des C_{trough} pour les études en doses répétées.

Le test statistique utilisé est une ANOVA (analyse des variances). Dans le cas d'un design en cross-over, il s'agit d'une ANOVA bilatérale avec comme effets fixes la période et le traitement, alors que dans le cas d'un design en parallèle, il s'agit d'une ANOVA unilatérale (seul le traitement est en effet fixe).

Pour le cross-over, on veut voir si la séquence a une influence sur le résultat de la bioéquivalence avant de statuer sur ce dernier.

- *Rédaction du rapport final*

Le rapport final doit contenir les concentrations individuelles et les cinétiques correspondantes, la répartition des animaux en fonction des séquences, les paramètres pharmacocinétiques individuels et la

méthode de calcul des paramètres pharmacocinétiques individuels, le résultat des analyses statistiques et les calculs de l'analyse statistique.

2.3.3.2. Lignes directrices émises par la FDA

2.3.3.2.1. Médicaments humains

Un des cadres législatifs des études de bioéquivalence pour les médicaments humains est le « 21 CFR part 320 ».

La première ligne directrice de la FDA au sujet des études de biodisponibilité et de bioéquivalence date du 27 Octobre 2000 (résumé consultable en [Annexe 16](#)). En Mars 2003, une nouvelle ligne directrice paraît : « *Guidance for industry : Bioavailability and bioequivalence studies for orally administered drug products* ». Cette ligne directrice a été émise par le centre de recherche et d'évaluation des médicaments (CDER « Center for drug evaluation and research »), comité pour les médicaments humains de la FDA. Cette ligne directrice s'intéresse aux études de bioéquivalence réalisées chez des sujets humains.

Après un rappel des notions de biodisponibilité ([Annexe 17](#)) et de la bioéquivalence ([Annexe 18](#)), la ligne directrice recommande une approche similaire entre les études de biodisponibilité pour des NDA et les études de bioéquivalence pour les NDA ou les ANDA.

La bioéquivalence étant un moyen de comparaison, son utilisation peut être multiple. Elle peut être utilisée pour les études de génériques (comme dans le cas des ANDA) ou dans trois situations de comparaisons avec les IND ou AND :

- Établissement de lien entre les formulations utilisées lors des phases précoces et terminales des essais cliniques
- Établissement de lien entre les formulations utilisées dans les essais cliniques et les tests de stabilité
- Établissement de lien entre les formulations utilisées dans les essais cliniques et les médicaments destinées à être vendus.

Les changements de composant, de composition ou de méthode de fabrication nécessitent des études *in vivo* de re-démonstration de la bioéquivalence. Pour les NDA, on compare le médicament avant et après la modification, alors que pour les ANDA, on compare le médicament transformé avec le médicament de référence.

Il existe quatre méthodes de documentation de la biodisponibilité et de la bioéquivalence : les études classiques de pharmacocinétique, les études de pharmacodynamiques, les études de comparaison clinique et les études *in vitro*. Les études de pharmacodynamique sont utilisées quand celles de pharmacocinétique ne sont pas adaptées, tandis que les études de comparaison cliniques sont utilisées quand celles de pharmacocinétique et de pharmacodynamique ne sont pas adaptées. Les études *in vitro* s'appliquent dans des situations précises.

En 2013 et 2014, deux ébauches de documents ont été émises par le CDER, l'une relative aux ANDA et l'autre aux NDA et IND :

- « *Bioequivalence studies with PK endpoints for drugs submitted under an ANDA* » Décembre 2013
- « *Bioavailability and bioequivalence studies submitted in NDAs or INDs* » Mars 2014

L'analyse statistique est définie dans « *Statistical approaches to establishing bioequivalence* » Janvier 2001.

2.3.3.2.1.1. « Bioequivalence studies with PK endpoints for drugs submitted under an ANDA »

La recommandation de 2013 est relative aux études de bioéquivalence pour les ANDA donc pour les études de générique. La méthode d'évaluation utilisée est celle de pharmacocinétique avec l'utilisation du C_{max} (et du T_{max}) et de l'AUC pour l'étude respective du pic et de l'étendue de l'absorption.

- *Choix de la posologie*

La dose unique est préférée à la dose répétée pour les médicaments à libération immédiate et modifiée. Cependant si pour des raisons de sécurité la dose répétée est la dose utilisée, une étude à l'état d'équilibre est recommandée.

- *Caractéristiques de la population de l'étude*

La population d'étude doit avoir plus de 18 ans, être représentative de la population générale (en âge, genre et population) et être suffisamment nombreuse pour avoir assez de puissance statistique pour conclure sur l'hypothèse de départ.

Une analyse de sous-groupe n'est pas recommandée.

- *Design d'étude*

Le design recommandé est le cross-over, deux périodes, deux séquences, deux traitements en dose unique. Dans le cas de médicament avec un $t_{1/2}$ supérieur à 24 heures, un design en parallèle en dose unique est préférable

Une administration doublée dans un design en cross-over peut être une alternative pour les médicaments à haute variabilité.

- *Conduites de l'étude*

La prise concomitante d'alimentation peut avoir une influence sur la bioéquivalence. Ainsi, quel que soit le type de libération (immédiate ou modifiée), l'effet de la nourriture doit être testé par la mise en place de deux types d'étude de bioéquivalence, une en condition à jeun et l'autre en condition nourrie (composition du repas des études nourries (Annexe 19)). Dans le cas de médicaments à libération modifiée, l'étude doit être conduite sur la plus forte concentration (« *Food effect bioavailability and fed bioequivalence studies* » Décembre 2002)

Certains médicaments doivent être administrés dans une boisson spécifique, les études de bioéquivalence pour ces produits doivent être conduites avec les boissons spécifiques autorisées.

- *Modalités de prélèvement*

Il est recommandé de collecter 12 à 18 points (incluant la prédose) afin de décrire les phases d'absorption, de distribution et d'élimination. L'ensemble des prélèvements doit couvrir au moins 3 $t_{1/2}$ et au moins trois ou quatre prélèvements doivent être obtenus pendant la phase terminale pour déterminer avec précision le K_{el} . Pour une bonne détermination du C_{max} , il est recommandé de disposer d'un point précoce entre 5 à 15 minutes après l'administration suivi de 2 à 5 points dans la première heure.

Il est recommandé d'enregistrer l'heure précise et le temps écoulé après l'administration pour chaque point de prélèvement.

- *Phase de bioanalyse*

La mesure de la molécule parent est toujours préférable à la mesure des métabolites mais certains cas nécessitent la mesure de ces derniers. Pour cela, ils doivent être formés majoritairement par la métabolisation pré-systémique et contribuer significativement à la sécurité et à l'efficacité du produit.

Pour les études de bioéquivalence, il est recommandé d'utiliser une méthode achirale pour mesurer un produit racémique. Mais si les quatre conditions suivantes sont présentes, il est recommandé de mesurer un énantiomère :

- Les énantiomères présentent des caractéristiques pharmacodynamiques différentes
 - Les énantiomères présentent des caractéristiques pharmacocinétiques différentes
 - C'est principalement l'énantiomère mineur qui présente les activités d'efficacité et de sécurité
 - L'absorption est non linéaire
- *Analyse pharmacocinétique*

Les mesures pharmacocinétiques sont le C_{max} , le T_{max} et l'AUC. Pour l'AUC on retrouve l'AUC partielle, l'AUC_{last} et l'AUC_{inf}. Dans le cas de l'AUC partielle, cette dernière doit être reliée à une mesure clinique pharmacodynamique pertinente.

Il est recommandé d'exclure les données des sujets qui ont une concentration de la prédose supérieure à 5% du C_{max} ou ceux qui ont vomi lors de l'étude dans un temps inférieur à 2 fois le temps médian du T_{max} pour les formes à libération immédiate.

Pour les médicaments à long $t_{1/2}$ (supérieur à 24 heures), il est préférable d'utiliser un design en plan parallèle et de calculer un AUC₇₂. L'AUC₇₂ ne doit pas être utilisé pour les médicaments à haute variabilité intra-sujet de distribution et de clairance.

○ *Rédaction du rapport final*

Il est recommandé de fournir les informations pharmacocinétiques suivantes :

- Les concentrations plasmatiques et les temps de prélèvements
- Les sujets, la période, la séquence et le traitement
- Les AUC (last et inf) et le C_{max} ainsi que le T_{max} , K_{el} et $t_{1/2}$ pour les doses uniques et l'AUC_{tau}, le $C_{max,ss}$, le $C_{min,ss}$ et le $C_{av,ss}$ pour les doses répétées

Il est aussi recommandé de fournir la moyenne géométrique et arithmétique des AUC et des C_{max} ainsi que la moyenne géométrique et l'intervalle de confiance à 90% des ratios.

○ *Établissement de la bioéquivalence*

L'établissement de la bioéquivalence dépend du type de forme pharmaceutique. On différencie les solutions orales, les suspensions, les comprimés à croquer et les formes à libération immédiate (capsule et comprimé) et les formes à libération modifiée.

- Pour les solutions orales, si certaines conditions sont remplies (même principe actif, même concentration, même forme pharmaceutique et absence d'excipients qui pourraient affecter de manière significative l'absorption du médicament), les études de bioéquivalence ne sont pas nécessaires.
- Pour les suspensions, il est recommandé d'établir la bioéquivalence de la même manière (étude de bioéquivalence et test de dissolution) que pour une forme solide à administration orale et pour les comprimés à croquer, l'administration dépend des indications de l'emballage (exemple : mâcher avant d'avaler). Si aucune indication n'est donnée, la tablette doit être complètement avalée avec 240 mL d'eau. Pour les comprimés à croquer, il est aussi recommandé de conduire des tests de dissolution *in vitro* (« *Dissolution testing of immediate release solid oral dosage forms* » Aout 1997)
- Pour les formes à libération immédiate, deux études de bioéquivalence doivent être réalisées sur la concentration la plus forte, une en condition de jeun et une en condition nourrie. Il est possible d'effectuer les études de bioéquivalence sur une autre concentration mais pour cela d'autres conditions doivent être remplies :
 - Pharmacocinétique linéaire sur l'intervalle de dose
 - La dose la plus forte est proportionnellement similaire (définition de proportionnellement similaire en Annexe 20) à la dose la plus faible
 - Des tests de dissolution ont été réalisés sur la concentration la plus forte entre le médicament en test et le médicament de référence.

Des conditions pour les études de bioéquivalence sur une ou plusieurs concentrations peuvent être annulées si :

- Une étude de bioéquivalence a été menée et validée sur la concentration en question
- Une étude de dissolution par concentration a été menée et validée
- Des formulations proportionnellement similaires pour toutes les concentrations

Pour les formes à libération immédiate administrées oralement, hautement solubles, hautement perméables et rapidement dissoutes, des données *in vitro* additionnelles sont acceptables pour démontrer la bioéquivalence, comme il est décrit dans la ligne directrice : « *Waiver of in vivo bioavailability and bioequivalence studies for immediate-release forms* » Mai 2005.

Si des changements post-validation de la bioéquivalence ont été réalisés, des tests de comparaison *in vitro* doivent être réalisés sur le produit avant et après modification et si des études de bioéquivalence sont requises, la comparaison doit être faite entre le produit post changement et le produit de référence et non le produit avant changement (SUPAC-IR Novembre 1995).

- Pour les formes à libération modifiées, on retrouve deux types de libération. Les formes retardées, qui relarguent le médicament avec un temps supérieur à l'absorption et les formes prolongées, qui permettent de réduire la fréquence de prise et les fluctuations plasmatiques. Il est recommandé pour les formes retardées d'effectuer un test *in vitro* de dissolution et de vérifier la stabilité à un pH acide et la libération du médicament seulement à un pH neutre (6.8). Les études de bioéquivalence sont les mêmes que pour les formes à libération immédiate. La démonstration de la bioéquivalence peut être effectuée pour des concentrations additionnelles au médicament de référence, dans ce cas-là toutes les conditions suivantes doivent être remplies :
 - La concentration additionnelle est proportionnellement similaire en substance active et inactive à la concentration du produit de référence ayant passé les tests *in vivo*
 - La concentration additionnelle a le même mécanisme de libération que la concentration du produit de référence ayant passé les tests *in vivo*
 - Les tests de dissolution pour toutes les concentrations sont acceptables

Si des changements post-validation de la bioéquivalence ont été réalisés, des tests de comparaison *in vitro* doivent être réalisés sur le produit avant et après modification. Si des études de bioéquivalence sont requises, la comparaison doit être faite entre le produit post changement et le produit de référence et non le produit avant changement (SUPAC-MR Septembre 1997).

○ Cas particuliers

Des cas particuliers sont aussi développés : l'action de l'alcool pour les formes à libération modifiées, les composés endogènes, les tests de dissolutions *in vitro* et les produits spécifiques.

La consommation de boisson alcoolisée peut affecter la libération du médicament dans le cas des formes à libération modifiée. La FDA recommande des tests *in vitro* de libération à partir de forme à libération prolongée en présence de différentes concentrations d'alcool pour anticiper l'action de l'alcool en condition *in vivo*.

Les médicaments peuvent être des composés endogènes, dans ce cas-là, la mesure de la substance est difficile. Il est donc recommandé de déterminer approximativement la concentration basale et de la soustraire à toutes les valeurs des concentrations déterminées. Le niveau basal doit être déterminé pour chaque période. La détermination des paramètres pharmacocinétiques et l'analyse statistique doit être faite avec les concentrations corrigées et non corrigées alors que la détermination de la bioéquivalence est basée sur les concentrations corrigées.

Dans certain cas, d'autres études de bioéquivalence sont recommandées en support de la démonstration de la bioéquivalence. On retrouve la corrélation *in vitro-in vivo* qui décrit les relations entre les propriétés *in vitro* d'une forme pharmaceutique et une réponse *in vivo* importante (*Extended release oral dosage forms development evaluation and application of in vitro in vivo correlations 1997*). Ce modèle facilite le développement et l'évaluation de forme à libération prolongée mais est aussi un outil de « screening » de formulation en fonction des critères d'acceptation de dissolution du médicament.

Pour des produits spécifiques, il est recommandé de consulter la ligne directrice : « *Bioequivalence recommendations for specific products* » de Juin 2010.

2.3.3.2.1.2. « Bioavailability and bioequivalence studies submitted in NDAs or INDs »

La recommandation de 2014 est relative aux études de biodisponibilité et bioéquivalence pour les NDA et IND. Un certain nombre de recommandations est identique avec la ligne directrice de 2013. Seules les recommandations nouvelles ou spécifiques aux NDA et IND sont présentées.

Il est recommandé que les approches utilisées pour la détermination de la biodisponibilité soient réutilisées pour les études de bioéquivalence. Dans le cas d'un échec au test de bioéquivalence, le sponsor doit démontrer que la différence de facteur de biodisponibilité n'affecte pas de manière significative la sécurité et l'efficacité du médicament. Pour cela, il doit conduire des études de dose-réponse ou de concentration-réponse. En cas d'échec à ce nouveau test, le produit doit être reformulé, la méthode de fabrication changée ou des données de sécurité et d'efficacité supplémentaires doivent être apportées.

Le lot d'essai doit être représentatif des lots de production. Pour cela le lot d'essai doit représenter 10% des lots de production ou un minimum de 100 000 unités.

Pour les études de bioéquivalence, dans le cas de changement avant validation, pour les IND, les études de bioéquivalence sont utiles pour :

- Comparer les formulations utilisées lors des phases précoces et terminales des essais cliniques
- Comparer les formulations utilisées dans les essais cliniques et les tests de stabilités
- Comparer les formulations utilisées dans les essais cliniques et les médicaments destinés à être vendus
- Comparer les produits de concentration équivalente

Les méthodes de documentations de la biodisponibilité et de la bioéquivalence sont les mêmes que pour la ligne directrice de 2013 avec une importance de l'approche utilisant la pharmacocinétique.

Les conditions pour utiliser une dose répétée sont :

- Une différence sur le taux mais pas sur l'étendue de l'absorption
- Une variabilité interindividuelle importante du facteur de biodisponibilité
- Une concentration trop faible pour une bonne détermination par une méthode de bioanalyse
- La formulation est une forme à libération prolongée

Il est recommandé d'étudier l'état d'équilibre dans le cas d'administrations répétées.

Le choix des méthodes comparatives pour les études de biodisponibilité et bioéquivalence pour les formes pharmaceutiques à libération modifiée sont sujettes à de nombreux cas de figure :

- Comparaison d'une nouvelle forme à libération prolongée (ER, « Extended release ») avec une forme à libération immédiate (IR, « Immediate release ») pré-validée
- Comparaison d'un nouveau produit ER à un produit ER pré-validé avec une fréquence d'administration différente
- Comparaison d'un nouveau produit ER à un produit ER pré-validé avec la même fréquence d'administration de dose

Dans le premier cas, pour un médicament à pharmacocinétique linéaire sur l'intervalle de dose thérapeutique, il est recommandé de faire une étude comparative en condition de jeun entre le produit

ER en dose unique à la concentration la plus élevée et l'IR de référence sur un même intervalle de temps qui permet une dose totale équivalente. Pour un médicament à pharmacocinétique non linéaire sur l'intervalle de dose thérapeutique, il est recommandé de mener des études comparatives entre l'ER en dose unique à la concentration la plus forte et à la concentration la plus faible par rapport à l'IR à une concentration correspondante. La fréquence d'administration utilisée est celle de l'ER. Quand les concentrations de l'ER ne sont pas proportionnellement similaires en composition, une étude d'évaluation de l'équivalence de la concentration (en dose unique et en condition nourrie) ou une étude de la proportionnalité de la concentration doit être conduite. Une étude de l'effet de la nourriture doit être menée sur l'ER (en dose unique et à la plus forte concentration) et une étude à l'état d'équilibre doit être conduite entre l'ER à la concentration la plus forte et l'IR de référence à une dose équivalente à la dose totale de l'ER.

Dans le deuxième cas, les recommandations sont les mêmes sauf que le produit de référence est dans ce cas l'ER pré-approuvé.

Dans le dernier cas, on doit mener une étude de comparaison entre le nouveau ER et l'ancien ER à la concentration la plus forte (en dose unique et en condition de jeun) et une étude de l'effet de la nourriture sur le nouveau ER (en dose unique et à la plus forte concentration). Quand les concentrations de l'ER nouveau ne sont pas proportionnellement similaires en composition, une étude d'évaluation de l'équivalence de la concentration (en dose unique et en condition nourrie) ou une étude de la proportionnalité de la concentration doit être conduite.

Pour les sujets spéciaux, les recommandations suivent celles de la ligne directrice de 2013, avec cependant un certain nombre de modification :

- Ajout d'une condition supplémentaire pour faire le choix de la mesure d'un énantiomère (présence d'une absorption non linéaire)
- Pour le cas des combinaisons de principes actifs, les études de biodisponibilité et bioéquivalence doivent être basées sur un nombre défini de composés et utiliser l'approche pharmacodynamique, clinique ou *in vitro* si l'approche pharmacocinétique n'est pas adaptée
- Pour les médicaments à administration orale et à action locale, il est recommandé d'effectuer une étude supplémentaire de caractérisation de la sécurité locale du produit
- Pour la détermination de la biodisponibilité ou de la bioéquivalence des produits contenant des médicaments en combinaison, il est recommandé de comparer le facteur de biodisponibilité de chaque médicament dans le produit combiné à celui de chaque médicament administré de manière indépendante. Pour cela, l'étude conduite est un test de comparaison (en dose unique

et en condition à jeun) entre le produit combiné et le produit administré de manière indépendante. Les concentrations utilisées sont la plus forte pour le produit combiné et la même concentration pour le médicament administré de manière unique. Il est également recommandé d'étudier l'effet de la nourriture (en dose unique) sur le produit combiné. Pour les études de bioéquivalence des médicaments co-administrés, le « second » médicament (qui est utilisé pour augmenter l'exposition du premier) doit être administré avec le médicament en test et le médicament de référence

- Pour les études de bioéquivalence pour les médicaments à haute variabilité interindividuelle en design répété, il est recommandé d'utiliser une référence échelonnée (limite de l'intervalle de confiance en fonction du coefficient de variation de la variabilité).

2.3.3.2.2. Médicaments vétérinaires

La ligne directrice de Novembre 2006 « *Bioequivalence guidance* » provient du centre de médecine vétérinaire (CVM « Center for veterinary medicine ») et fait référence à des études de bioéquivalence pour des médicaments vétérinaires. Un des cadres législatifs des études de bioéquivalence pour les médicaments vétérinaire est la loi 21 USC 360 b (n) (1) (E). Des nombreuses recommandations sont communes avec celles du VICH. Seules les précisions ou les différences sont présentées ici.

La ligne directrice de 2006 précise que dans le cas où la détermination des paramètres de pharmacocinétique par études des concentrations des prélèvements sanguins n'est pas possible, les études de bioéquivalence peuvent utiliser différents systèmes d'évaluation comme par exemple l'étude de l'effet pharmacologique ou l'étude des signes cliniques. Dans ces deux cas, une étude de résidus doit être associée à l'étude de bioéquivalence.

Une étude de résidus est aussi recommandée dans le cas d'une étude non à jeun avec une dose supérieure à la dose maximale.

Dans le cas d'une étude de bioéquivalence d'une forme orale à plusieurs concentrations, l'étude est réalisée sur la concentration la plus forte (si les différentes concentrations possèdent le même ratio entre ingrédients actifs et inactifs et que les formulations sont les mêmes) alors que pour les études de dissolution toutes les concentrations doivent être testées.

Les cas justifiant un design en dose répétée sont :

- Médicament à pharmacocinétique non linéaire
- Médicament à faible fenêtre thérapeutique
- Sensitivité de la méthode ne permettant pas de déterminer trois points de la phase terminale
- Médicament à absorption prolongée ou retardée

L'étude peut être conduite chez un seul genre, le même que celui utilisé lors de l'étude du médicament princeps.

Certaines classifications de produits ou entités de médicament nécessitent une étude en condition nourrie et à jeun. On retrouve les composés entéro-solubles ou à libération prolongée.

Le nombre total de prélèvements doit permettre de déterminer le profil des concentrations et l'amplitude de la variabilité associée. Les prélèvements doivent s'étendre à $3 t_{1/2}$ au-delà du T_{max} .

La détermination des concentrations libre et totale est nécessaire dans le cas de liaison protéique non linéaire ou d'internalisation non linéaire du médicament dans les érythrocytes.

Une période de wash-out de $10 t_{1/2}$ est préconisée.

Lors des études à dose répétée, on doit déterminer le C_{max} mais aussi le C_{min} lors de l'état d'équilibre.

L'analyse statistique peut s'effectuer sur des données non transformées. Dans ce cas, les critères d'acceptation de l'intervalle de confiance sont de 80 à 120%.

Dans le cas où les études de bioéquivalence se basent sur une étude de pharmacologie, on retrouve le même design que pour l'étude des concentrations et le nombre de sujets et de prélèvement dépendra de l'effet pharmacologique mesuré. Un profil effet-temps est généré et l'analyse statistique se fait sur les paramètres pharmacologiques mesurés.

L'étude de paramètres cliniques se fait lorsque les études des concentrations et l'étude pharmacologique ne sont pas adaptées. Un design en parallèle avec trois groupes (contrôle négatif, contrôle positif et médicament générique en test) est utilisé. Une analyse statistique utilisant un intervalle de confiance à 90% est requise entre le médicament générique en test et le contrôle positif. Une nouvelle analyse statistique avec cette fois-ci un risque alpha de 5% (intervalle de confiance à 95%) est nécessaire entre le contrôle négatif et le contrôle positif et entre le contrôle négatif et le médicament générique en test.

Pour des raisons de sécurité alimentaire humaine, les animaux ayant participé à des études de bioéquivalence basées sur l'effet pharmacologique ou à des études des signes cliniques doivent subir une étude de résidus dans les tissus. Pour cela, 20 animaux sont sélectionnés et divisés en 4 groupes de 5 individus ou 5 groupes de 4 individus. Chaque groupe représente un temps de prélèvement des tissus différent après la dernière administration. Pour que les études soient concluantes avec une assurance à 95%, 99% des animaux traités doivent avoir un résidu tissulaire inférieur à la limite prédéfinie.

2.3.3.3. Lignes directrices émises par l'EMA

Les lignes directrices de l'EMA sont émises par deux comités différents :

- Le comité pour l'usage des médicaments humains (CHMP « Committee for medicinal products for human use » anciennement comité des spécialités pharmaceutiques (CPMP « Committee for proprietary medicinal products ») :
 - « *Guideline on the investigation of bioequivalence* » de Janvier 2010, elle remplace celle de Décembre 1991.
 - Une autre ligne directrice est disponible pour les médicaments humains, c'est une note relative à un texte du CPMP et qui date du 26 Juillet 2001 « *Note for guidance on the investigation of bioavailability and bioequivalence* ».
- Le comité pour l'usage des médicaments vétérinaires (CVMP « Committee for medicinal products for veterinary use ») :
 - « *Guidelines on the conduct of bioequivalence studies for veterinary medicinal products* » Avril 2011.
 - Cette dernière est une actualisation de « *Guidelines for the conduct of bioequivalence studies for veterinary medicinal products* » de Janvier 2000

2.3.3.3.1. Médicaments humains

Concernant la ligne directrice de 2010 du CHMP, celle-ci nous spécifie le design, la conduite et l'évaluation des études de bioéquivalence pour les médicaments humains à libération immédiate et à action systémique.

Elle se concentre sur les entités chimiques et s'appuie sur de nombreuses lignes directrices listées en Annexe 21. Les directives 2001/83/EC et 2001/20/EC font parties du cadre législatif pour ce type d'étude.

○ *Choix des produits*

Le choix du médicament de référence s'effectue de la même façon et suit les mêmes recommandations que pour les médicaments vétérinaires énoncées par le VICH. Afin de s'assurer que le produit utilisé pour l'étude soit bien représentatif du produit commercialisé, différentes exigences sont requises :

- Le produit en test doit être originaire d'un lot représentant au moins 1/10 de la production ou 100 000 unités
- La production du lot utilisé doit fournir un haut niveau d'assurance que le produit et le processus de fabrication seront réalisables à l'échelle industrielle
- La caractérisation et la spécification des critères de qualité, comme les tests de dissolution, doivent être établis pour le lot testé
- Les produits d'études pilotes additionnelles, soumis pour ces études, doivent être comparés avec ceux ayant subi le test de bioéquivalence et doivent présenter les mêmes propriétés de dissolution que ces derniers

○ *Caractéristiques de la population de l'étude*

Le nombre de sujet ne doit pas être inférieur à 12 et les sujets sélectionnés pour l'étude doivent permettre de détecter les différences entre les deux produits. Les sujets doivent être en bonne santé, âgés de plus de 18 ans et posséder un indice de masse corporel (IMC) compris entre 18.5 et 30 kg/m².

Ce modèle permet d'extrapoler le résultat à des populations pour qui le médicament de référence est approuvé.

○ *Design d'étude*

Le design standard pour la comparaison des deux formulations (produit en test et de référence) est un design en cross-over, deux périodes et deux séquences avec une période de wash-out de 5 $t_{1/2}$ entre les deux périodes. Des designs alternatifs existent en fonction des caractéristiques du médicament. Un design en parallèle est privilégié dans le cas d'un $t_{1/2}$ long et un design répété dans le cas de paramètres pharmacocinétiques hautement variables. Une dose répétée est acceptable quand une dose simple ne peut pas être utilisée chez des sujets sains à cause d'un problème de tolérance ou quand une dose simple ne permet pas d'avoir une mesure précise de la concentration et qu'une concentration à l'état d'équilibre est assez haute pour être mesurée.

- *Conduites de l'étude*

Les conditions de la conduite de l'étude sont standardisées dans le but de minimiser la variabilité de tous les facteurs impliqués à part celui du produit testé. On standardise donc la nourriture, les liquides et l'exercice physique. L'heure du repas doit être spécifiée, les sujets doivent être à jeun au minimum 8 heures avant l'administration et jusqu'à 4 heures après. La quantité de liquide administrée avant le médicament doit être au minimum de 150 mL et l'eau est autorisée jusqu'à 1 heure avant et à partir de 1 heure après l'administration. Le sujet doit s'abstenir de nourriture ou de boisson qui pourrait interagir avec la circulation et les fonctions gastro-intestinale, hépatique ou rénale. Le sujet ne doit pas prendre de médicaments concomitantes aux médicaments en test et/ou de référence.

Dans le cas d'étude de bioéquivalence de substance endogène, les facteurs qui pourraient influencer le niveau basal doivent être contrôlés.

- *Modalités des prélèvements*

On standardise aussi les temps de prélèvement. Comme vu précédemment, il faut éviter que le premier prélèvement corresponde au C_{max} et l'ensemble des points doit pouvoir couvrir 80% de l' AUC_{inf} . Au moins 3 ou 4 points doivent définir la droite de la phase terminale. Dans le cas de doses répétées, le prélèvement de la prédose doit être effectué immédiatement après la première administration (dans les 5 minutes) et le dernier prélèvement de la première administration doit être effectué dans les 10 minutes qui suivent la deuxième administration pour s'assurer une détermination précise de l' AUC_{tau} .

Dans le cas de prélèvements urinaires, la durée de la collecte ne doit pas s'étendre sur plus de 3 $t_{1/2}$. De plus, si on veut déterminer le taux d'excrétion, il faut être le plus près possible de la phase d'absorption.

Pour déterminer le taux basal des substances endogènes, il faut effectuer 2 ou 3 prélèvements 1 à 2 jours avant l'administration à chaque période.

- *Phase de bioanalyse*

La méthodologie de la phase de bioanalyse doit respecter les BPL et la méthode d'analyse doit être bien caractérisée, pleinement validée et documentée. La LLOQ doit être égale ou inférieure à 1/20 du C_{max} et la valeur de la prédose ne doit pas excéder 5% du C_{max} . Si les paramètres pharmacocinétiques obtenus ne sont pas concluants, il n'est pas possible de ré-analyser les prélèvements.

○ *Analyse pharmacocinétique*

Les paramètres pharmacocinétiques à déterminer, par analyse non compartimentale, en cas de dose simple sont :

- AUC_{last}
- AUC_{inf}
- AUC_{extra}
- C_{max}
- T_{max}
- Kel
- $t_{1/2}$

Les valeurs d' AUC_{last} avec un pourcentage d' AUC_{extra} supérieur ou égal à 20% ne sont pas à exclure.

Pour les formes à libération immédiate la ligne directrice recommande l'utilisation de l' AUC_{72} par rapport à l' AUC_{last} si la phase d'absorption est complètement réalisée pendant les 72 premières heures. Dans le cas de données urinaires, on peut déterminer $Ae_{(0-t)}$ et R_{max} , en cas de dose répétée AUC_{tau} , $C_{max,ss}$ et $T_{max,ss}$ et pour les substances endogènes on doit effectuer la même correction par le niveau basal que pour les recommandations des médicaments vétérinaires.

○ *Analyse statistique*

Dans le cas de médicaments à faible fenêtre thérapeutique, l'intervalle de confiance de l'AUC doit être compris entre 90.00 et 111.11%. Une modification des critères d'acceptation de l'intervalle de confiance est aussi retrouvée pour les médicaments hautement variables (HVDP « High variable drug products »), médicaments avec un coefficient de variation supérieur ou égal à 30%, et calculé selon la formule présentée en dessous de la [Figure 15](#).

Within-subject CV (%)*	Lower Limit	Upper Limit
30	80.00	125.00
35	77.23	129.48
40	74.62	134.02
45	72.15	138.59
≥50	69.84	143.19

$$* CV(\%) = 100 \sqrt{e^{\frac{s^2}{\bar{x}^2}} - 1}$$

Figure 15: Limites de l'intervalle de confiance en fonction du coefficient de variation

Une étude en deux phases (« Two-stage design ») est possible mais nécessite une adaptation de la méthode de l'analyse statistique.

- Rédaction du rapport final

La présentation des données et le rapport d'étude sont les mêmes que pour les médicaments vétérinaires.

- Établissement de la bioéquivalence

L'évaluation de la bioéquivalence se fait généralement grâce à la détermination des paramètres pharmacocinétiques après la détermination des concentrations à différents temps de prélèvement. Les paramètres pharmacocinétiques ne doivent pas être ajustés. Les données de tous les sujets traités doivent être utilisées. Il existe tout de même deux exceptions :

- Un manque total de concentration ou une AUC extrêmement faible (inférieure à 5% de la moyenne géométrique de l'AUC du médicament de référence)
- Une concentration en pré-dose supérieure à 5% du C_{max}

En plus des formes à libération immédiate d'autres situations peuvent être retrouvées pour les études de bioéquivalence. Cette ligne directrice traite seulement des formes à libération immédiate mais fait une synthèse rapide pour les autres situations :

- Pour les différentes formes pharmaceutiques (sel, ester, ...), des études de dissolution *in vitro* sont requises en plus des études *in vivo* de bioéquivalence
- Pour les formes à combinaison fixée, il faut faire référence à la « *Guideline on fixed combination medicinal products* » Février 2008
- Pour les formes orales à libération immédiate et à action systémique, voir l'[Annexe 22](#) pour les tablettes orodispersibles et l'[Annexe 23](#) les solutions orales
- Pour les formes non orales à libération immédiate et à action systémique (formes rectales), des études classiques de bioéquivalence sont requises
- Pour les formes à libération modifiée et à action systémique, pour les formes orales et transdermiques il faut faire référence à la « *Note for guidance on modified release oral and transdermal dosage forms* » du 28 Juillet 1999 et à sa forme actualisée du 20 Novembre 2014 « *Guideline on the pharmacokinetic and clinical evaluation of modified release dosage forms* », et pour les formes intramusculaires (IM) et sous-cutanées (SC), il faut suivre les lignes directrices des formulations extravasculaires à libération modifiées (Cf. « *Note for guidance on modified release oral and transdermal dosage forms* »)

- Pour les solutions parentérales, des études de bioéquivalence ne sont pas requises si le produit en test est administré comme une solution aqueuse IV et qu'il contient les mêmes principes actifs que le produit validé
- Pour les formes liposomales, micellaires ou émulsions à usage IV, voir respectivement Annexe 24, Annexe 25 et Annexe 26
- Pour les produits à action locale, il faut faire référence aux lignes directrices CPMP/EWP/4151/00 rev 1 et « *Note for guidance on the clinical requirements for locally applied* » 1995
- Pour les gaz, des études de bioéquivalence ne sont pas requises.

Plusieurs concentrations peuvent exister pour le produit en test et il peut être suffisant d'établir la bioéquivalence pour une ou deux concentrations pour prouver la bioéquivalence pour toutes les autres concentrations. Pour cela, le produit doit posséder une pharmacocinétique linéaire et respecter les conditions suivantes :

- Les produits doivent être fabriqués par le même fabricant
- La composition qualitative des différentes concentrations est la même
- La composition des concentrations est quantitativement proportionnelle
- La validation d'une étude de dissolution *in vitro* à une concentration qui a déjà été validé par une étude de bioéquivalence.

Pour les médicaments à pharmacocinétique linéaire, si les quatre conditions ci-dessus sont respectées cela suffit à établir la bioéquivalence pour les différentes concentrations. En revanche, pour les médicaments à pharmacocinétique non linéaire deux situations peuvent être rencontrées : une augmentation de l'AUC plus importante lors de l'augmentation de la dose et dans ce cas-là on utilisera la dose la plus forte, et une diminution de l'AUC moins importante lors de l'augmentation de la dose et dans ce cas-là on utilisera la dose la plus faible et la dose la plus forte.

Une autre approche est possible. Par encadrement (« Bracketing approach »), en sélectionnant les doses extrêmes et en conduisant une étude de bioéquivalence pour chaque dose.

Les tests de dissolution *in vitro* sont utilisés en complément des études de bioéquivalence et en support des dérogations pour les études de bioéquivalence avec plusieurs concentrations.

2.3.3.3.2. Médicaments vétérinaires

Un des cadres législatifs pour les études de bioéquivalence pour les médicaments vétérinaires est la « Directive 2001/82/EC ». La ligne directrice de 2011 du CVMP, fait une nouvelle fois référence aux recommandations de la VICH mais prête une attention toute particulière aux tests de dissolution. Dans un premier temps elle précise dans quel cas les études de bioéquivalence sont applicables :

- Pour les nouvelles entités chimiques (NCE, « New chemical entity ») ou pour les principes actifs connus dans le but d'étudier les différentes formulations entre les études pilotes et les études cliniques
- Pour les extensions ou variations relatives à de nouvelles formes pharmaceutiques, de nouveaux dosages, de nouvelles voies d'administration, de nouvelles compositions ou de nouveaux lieux de fabrication qui pourraient avoir un impact sur la biodisponibilité
- Pour des études où la stricte définition du générique n'est pas respectée, en référence à la directive 2001/82/EC Article 13 (3)
- Pour des études, d'une substance connue, où la stricte définition du générique est respectée, en référence à la directive 2001/82/EC Article 13 (2)(b).

Elle apporte un éclaircissement sur la dose utilisée. Les études de bioéquivalence peuvent se porter sur n'importe quelle dose disponible. La dose peut être exprimée en mg/kg et dans ce cas-là, il existe une infinité de doses individuelles où la dose est exprimée en mg et un effet spécifique est observé en fonction de la dose utilisée.

Elle introduit la notion de supradisponibilité. Dans les études de bioéquivalence, la présence d'une supradisponibilité ne peut pas être une preuve de bioéquivalence selon l'article 13(3) de la directive 2001/82/EC.

Elle s'intéresse également au cas où la substance administrée est un composé endogène, ce qui peut poser des problèmes de quantification pour la méthode analytique. On effectue alors une correction en fonction de la valeur de base : on calcule la concentration moyenne au moment la prédose et on corrige toutes les autres valeurs de concentrations par cette valeur.

La prédose doit être prélevée immédiatement après l'administration et si aucune prédose n'est prévue par le protocole dans le cas de composé endogène, la concentration basale est déterminée par 2 ou 3 prélèvements avant l'administration pour chaque animal et pour chaque période.

Elle préconise que le premier point de concentration (hors prédose) ne soit pas le C_{max} , et que la droite de la phase terminale soit déterminée par 3 ou 4 points.

Elle rappelle que le $C_{min,ss}$ est un paramètre important à déterminer dans les études à doses répétées et que l'étude de bioéquivalence se porte sur l' AUC_{last} et le C_{max} pour le design en dose simple et sur l' AUC_{last} , le $C_{min,ss}$ et le $C_{max,ss}$ pour le design en dose répétée.

Une nouvelle fois, l'analyse non-compartimentale est l'analyse pharmacocinétique recommandée et l'utilisation de méthode compartimentale n'est pas acceptée.

Elle rapporte que la LOQ (« Lower limit of quantification », doit être inférieure ou égale à 1/20 du C_{max} et que la concentration de la prédose doit être détectable à partir de 5% du C_{max} . Il n'est pas acceptable de ré-analyser des échantillons si les valeurs pharmacocinétiques sont jugées non concluantes et l'exclusion de données est exceptionnelle, limitée aux cas suivants :

- Un manque total de concentration ou une AUC extrêmement faible (inférieur à 5% de la moyenne géométrique de l'AUC du médicament de référence)
- Une concentration en prédose supérieure à 5% du C_{max}

Elle élargit les critères d'acceptation de l'intervalle de confiance lors de l'analyse statistique dans le cas exceptionnel d'une forte variabilité intra-individuelle de 70 à 143%. (« *Guideline on statistical principles for veterinary clinical trials* » 20 Septembre 2010).

Les termes utilisés dans le modèle de l'ANOVA sont la séquence, la période et la formulation.

La ligne directrice propose aussi une présentation pour des données et le rapport final. Les données des concentrations et des paramètres pharmacocinétiques individuels doivent être listées par formulation avec les moyennes géométrique et arithmétique, les valeurs médiane, maximale et minimale, l'écart type et le coefficient de variation. Les courbes individuelles des concentrations en fonction du temps doivent être données en échelle linéaire et en échelle logarithmique. Pour l'analyse pharmacocinétique, le nombre de points pour la détermination de K_{el} doit être précisé et pour l'analyse statistique (pour le design en cross-over), les tables de l'ANOVA doivent contenir les tests statistiques pour tous les effets dans le modèle selon le schéma suivant : table 2x2 avec la séquence en ligne et la période en colonne, la moyenne, l'écart type et le nombre d'observation pour chaque ligne et colonne.

Les données des concentrations doivent être assez détaillées pour pouvoir répéter les analyses pharmacocinétique et statistique sans autre information.

Le rapport final doit contenir la documentation qui permet une conduite parfaite de l'étude et une évaluation de son protocole. En plus des données administratives, le rapport doit inclure la preuve que le médicament de référence utilisé est bien la référence pour les études de bioéquivalence ainsi que le nom, la concentration, la forme pharmaceutique, le numéro de lot, le fabricant, la date d'expiration et le pays d'achat. Le nom, la composition, la taille du lot, le numéro de lot, la date de fabrication et la date d'expiration du médicament en test doivent être précisés. Les certificats d'analyses des lots des médicaments en test et de référence doivent être inclus.

Le rapport final doit aussi contenir la documentation de la méthode analytique (dans le cas d'un analyte chiral il faut faire référence à la « *Note for guidance Investigation of chiral active substances* » 1995), un nombre représentatif (au moins 20%) des chromatogrammes, ainsi que les QC et droites de calibration apparentés. Il doit également comporter une déclaration signée que le médicament générique en test pour l'étude possède la même composition quantitative et que sa fabrication a suivi le même processus que les médicaments génériques non testés.

Il doit aussi contenir la comparaison des profils de dissolution.

Les cas de dérogation pour ne pas effectuer les études de bioéquivalence pour des formes à libération immédiate contenant le même principe actif sont :

- Les solutions aqueuses à administration IV, à condition de présenter les mêmes excipients que la solution de référence
- Les produits à administration intramusculaire, sous-cutané ou topique à action systémique, à condition de présenter les mêmes concentrations en principe actif et les mêmes quantités en excipients que le produit de référence
- Les produits sous forme de solutions orales aqueuses lors d'administration, à condition de présenter la même concentration en principe actif que le produit de référence et que les excipients n'affectent pas le transit gastro-intestinal, l'absorption ou la stabilité *in-vivo* du principe actif
- Des formulations identiques
- Les produits classifiés comme dispensés d'étude de bioéquivalence par le système de classification biopharmaceutique (BCS « Biopharmaceutical classification system »)
- Les produits sous forme de gaz lors de l'administration

- Les produits reformulés par le même fabricant que le médicament de référence avec le même processus de fabrication à l'exception des agents colorants, d'arômes, de conservateurs et tous les autres excipients reconnus pour ne pas avoir d'influence sur la biodisponibilité.

Des exceptions existent aussi pour le cas de médicaments présentant plusieurs concentrations et où une seule concentration a fait l'étude d'un test de bioéquivalence et qui a permis de générer toutes les autres concentrations. Pour cela, l'ensemble des prérequis suivant doit être respectés :

- Les produits doivent être fabriqués par le même fabricant
- La composition qualitative des différentes concentrations est la même
- La composition des concentrations est quantitativement proportionnelle
- La validation d'une étude de dissolution *in vitro* à une concentration qui a déjà été validée par une étude de bioéquivalence

La connaissance de ces lignes directrices permet de construire des modèles d'analyse de pharmacocinétiques en adéquation avec les différentes situations.

3. Présentation et évaluation des modèles d'analyse de pharmacocinétique mis au point chez un sous-traitant pharmaceutique

Dans un premier temps, après une présentation générale des modèles et plus particulièrement des modèles d'analyse de pharmacocinétique, ceux mis au point pour ce travail seront présentés ainsi que les résultats obtenus suite à leur utilisation. Dans un second temps, une évaluation de modèles sera effectuée autour du gain de temps.

Le choix de développer les modèles d'analyse de pharmacocinétique pour les études de toxicocinétique et de bioéquivalence/biodisponibilité a été basé d'une part sur le caractère réglementaire et donc obligatoire de ces études et d'autre part sur le grand intérêt qu'un modèle peut avoir pour ces études.

3.1. Présentation des modèles

3.1.1. Définition et intérêt des modèles

Un modèle (ou « template » en anglais) est l'architecture d'une analyse. Cette analyse permet de traiter les données et de présenter les résultats comme souhaité dans le modèle. Cela permet de ne pas avoir à re-crée le schéma d'une l'analyse et de partir d'une base vierge, sans les données d'une précédente analyse, comme ce serait le cas pour un copier-coller d'une analyse d'une étude similaire. De plus, en utilisant un modèle validé et verrouillé, cela permet de supprimer les erreurs effectuées lors de la construction du schéma de l'analyse.

Lors de la rédaction de ce travail, l'objectif était d'optimiser au maximum les différentes possibilités offertes par le logiciel Phoenix WinNonlin, dans la mise en place de modèles d'analyse de pharmacocinétique pour les études de toxicocinétique et de biodisponibilité/bioéquivalence.

3.1.2. Modèles d'analyse de pharmacocinétique (modèle PK)

Un modèle d'analyse de pharmacocinétique est un modèle qui effectue une analyse pharmacocinétique et présente les paramètres pharmacocinétiques sous forme de tableau avec les paramètres statistiques choisis (moyennes arithmétique et géométrique, écart type et coefficient de variation) ainsi que les valeurs minimale, médiane et maximale. Il présente aussi les concentrations d'une part sous forme de tableau avec la moyenne, l'écart type et le coefficient de variation et d'autre part sous forme de graphique (concentration en fonction du temps). En fonction du modèle d'analyse de pharmacocinétique choisi, des calculs (pour le modèle PK toxicocinétique et biodisponibilité) ou des

modules de test statistique (pour le modèle PK bioéquivalence) sont utilisés et les résultats sont aussi présentés sous forme de tableau ou de graphique.

Pour fonctionner correctement, un modèle d'analyse de pharmacocinétique a besoin qu'on lui amène les données dont il a besoin et que ces données soient dans le format souhaité. Les données nécessaires ainsi que leurs formats pour les modèles PK toxicocinétique et biodisponibilité/bioéquivalence sont détaillés dans le protocole d'utilisation (voir [Annexe 30](#)).

3.1.3. Logiciel Phoenix WinNonlin

Le logiciel utilisé pour la construction et l'utilisation des modèles d'analyse de pharmacocinétique est le logiciel Phoenix WinNonlin. C'est une interface qui permet d'utiliser différents logiciels. On y retrouve bien évidemment le logiciel WinNonlin mais aussi NONMEM, SAS, SigmaPlot, S-Plus, PSN et R. Les différents logiciels sont disponibles sous forme de modules qu'il est possible d'associer avec d'autres modules propres au logiciel Phoenix WinNonlin.

On retrouve les modules qui traitent les données (filtre, sépare, réunit, remplace une valeur BLQ par une valeur choisie, fait pivoter les données), réalisent des tableaux et des représentations graphiques (courbes, histogramme, boxplot) et effectuent des calculs ou des tests statistiques.

Il possède un plan de travail (« workflow » en anglais) qui recense les différentes opérations (assemblage de module). Les modules sont représentés sous forme de cubes et un exemple est présenté en [Figure 16](#).

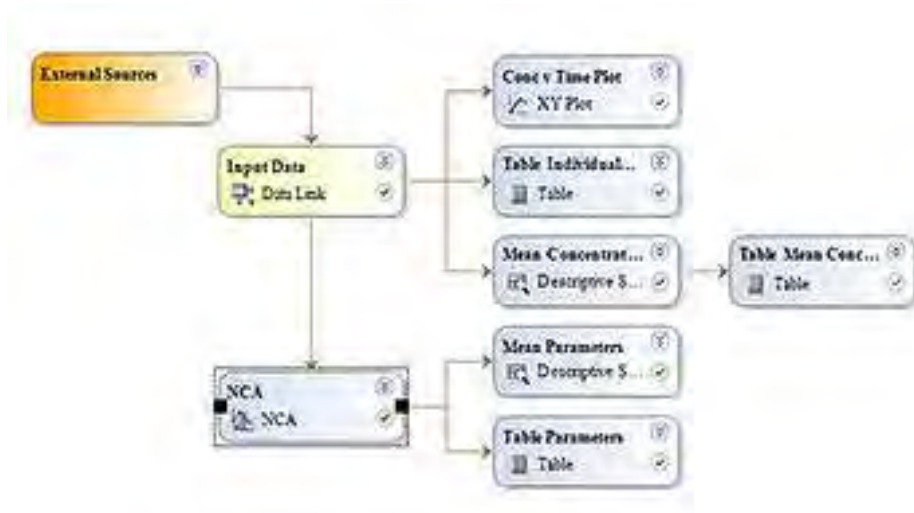


Figure 16: Workflow WinNonlin

Le module du logiciel WinNonlin permet d'effectuer des analyses pharmacocinétiques (« setup » du module NCA en [Figure 17](#)).



Figure 17: « Setup » du module NCA

L'onglet « dosing » traite les informations concernant la dose et la voie d'administration, l'onglet « slopes » permet de visualiser les points choisis pour déterminer la droite de régression ainsi que le R^2 , l'onglet « partial areas » permet de calculer des AUC partielles (exemple : AUC_{72}) et l'onglet « parameter names » permet de visualiser et de renommer tous les paramètres pharmacocinétiques que l'on peut obtenir avec ce module (voir [Annexe 27](#)).

Pour réaliser un rapport avec les résultats obtenus (tableaux, graphiques et texte de sortie des modules d'analyses), il est possible de les exporter sous document Word®.

3.1.4. Intérêt des modèles d'analyse de pharmacocinétique sur le logiciel Phoenix WinNonlin

L'utilisation du logiciel Phoenix WinNonlin pour mettre au point et utiliser les modèles d'analyse de pharmacocinétique offre plusieurs intérêts en plus de celui de réaliser l'analyse pharmacocinétique.

D'une part, le fait de pouvoir effectuer les calculs avec le module « Data wizzard » ou « Descriptive stats » ce qui permet de ne pas avoir recours au logiciel Excel® et donc d'éviter d'effectuer des erreurs de report et/ou de rédaction de formule de calcul, et d'autre part le fait de pouvoir manipuler les données avec les nombreux modules disponibles ce qui permet d'importer une seule fois les données et de pouvoir travailler sur elles sans avoir recours à une interface extérieure. Enfin, le logiciel permet de présenter les résultats sous forme de tableau ou de graphique ce qui permet de présenter clairement les données et de réduire le temps de mise en forme des résultats sous le logiciel Word®.

De plus, le format des modèles PK (« wnlt ») permet de répondre aux exigences de validation informatique et il permet aussi un échange et un stockage faciles.

3.1.5. Construction d'un modèle d'analyse de pharmacocinétique sur le logiciel Phoenix WinNonlin

Avant la construction d'un modèle PK, il faut étudier les lignes directrices et recenser les différentes situations rencontrées en pratique pour le type d'étude concerné. Cela permet d'apporter une solution qui respecte la réglementation et réponde au plus grand nombre de cas possibles.

À la suite de cela, la construction de l'analyse sur le logiciel Phoenix WinNonlin sous format « phxproj » est réalisée. Quand la construction est terminée, un modèle PK au format « wnlt » est généré. Pour valider informatiquement le modèle, ce dernier est testé avec des données déjà utilisées et les résultats sont comparés.

Suite à la validation, le modèle PK est stocké dans la banque de modèle.

3.2. Modèles d'analyse de pharmacocinétique pour les études de toxicocinétique (modèle PK/TK)

3.2.1. Présentation

Les modèles PK/TK s'appliquent à des études qui utilisent trois doses exprimées en mg/kg (notées L, I et H pour « low », « intermediate » et « high »), administrées de manière quotidienne pendant toute la durée de l'étude. Les prélèvements sont effectués sur 24 heures le premier jour et une ou deux fois supplémentaires en fonction du type d'étude de toxicocinétique (en semaine 4 pour les études de 4 semaines, en semaines 4 et 13 pour les études de 13 semaines et en semaine 13 et 26 pour les études de 26 semaines).

Les modèles PK/TK sont construits de manière à pouvoir prendre en charge les données de design « spare » ou « non spare ». La notion de « spare » implique que plusieurs animaux (par dose et par genre) sont prélevés pour le même temps de cinétique (la valeur moyenne de chaque temps est alors utilisée pour l'analyse pharmacocinétique) et que ce ne sont pas les mêmes groupes d'animaux qui sont prélevés pour tous les temps de cinétique (par exemple : un groupe pour les temps 0.25, 2 et 8 heures et un autre pour les temps 0.5, 4 et 24 heures) C'est pour cela, qu'en cas de données « spare » aucune moyenne, coefficient de variation (pour C_{max} et AUC_{24}), minimum, médian ou maximum (pour T_{max}) ne sont présentés dans les tableaux des paramètres pharmacocinétiques. Cette méthode est utilisée dans le cadre d'expérimentation animale où par contrainte physiologique de l'animal (volume et nombre de prélèvement), il n'est pas possible de prélever tous les animaux pour tous les temps de la cinétique.

Le choix a été fait de créer un modèle différent pour chaque possibilité (un design « spare » et « non spare » pour chaque durée d'étude (4, 13 et 26 semaines)).

Dans la gestion des valeurs BLQ, pour les concentrations, toutes les valeurs BLQ sont transformées en zéro et pour l'analyse pharmacocinétique, avant le T_{max} , les valeurs BLQ sont transformées en zéro et après le T_{max} en valeur « missing ». Par ailleurs, l'analyse pharmacocinétique non compartimentale est effectuée selon la méthode « Linear Up/Log Down » sur les données des concentrations moyennes (pour le design « spare ») ou individuelle (pour le design « non spare »).

Les modèles PK/TK permettent la construction des cinétiques ainsi que les tableaux des concentrations. Pour l'interprétation des effets genre, temps et dose, les données pharmacocinétiques utilisées dépendent du type de design et de l'effet étudié. Les calculs dépendent de l'effet étudié. Les données utilisées sont recensées dans le Tableau 1 et les calculs effectués dans le Tableau 2.

	Effet genre	Effet temps	Effet dose
Desing « spare »	Données PK moyennes	Données PK moyennes	Données PK moyennes
Design « non spare »	Données PK moyennes	Données PK individuelles	Données PK moyennes

Tableau 1: Données pharmacocinétiques utilisées en fonction du design et de l'effet étudié

	Effet genre	Effet temps	Effet dose	
			Dose linéarité	Dose proportionnalité
C_{max}	$C_{max}^{Male}/C_{max}^{Femelle}$	/	$C_{max}/Dose$	$C_{max}^{DoseX}/C_{max}^{DoseX+1 \text{ ou } 2}$
AUC	$AUC^{Male}/AUC^{Femelle}$	$AUC^{SemaineX}/AUC^{Jour1}$	$AUC/Dose$	$AUC^{DoseX}/DoseX+1 \text{ ou } 2$

Tableau 2: Calculs effectués en fonction de l'effet étudié

Une présentation des résultats est faite avec les données d'une étude en design « non spare », 4 semaines et avec 3 doses (20, 60 et 100 mg/kg/jour). Si la présentation des résultats diffère entre un design « non spare » et « spare » cela est précisé. Dans un souci de clarté tous les résultats ne sont pas présentés. Pour les tableaux des concentrations et des paramètres pharmacocinétiques seuls les résultats pour l'occasion semaine 1, le genre femelle et la dose 20 mg/kg/jour (groupe 2) sont présentés. Pour les cinétiques, seule l'occasion 1 est présentée. Pour les résultats des effets :

- Pour l'effet temps, seul le genre femelle est présenté
- Pour l'effet dose linéarité seuls l'occasion 1 semaine et le genre femelle sont présentés

La présentation des résultats est exactement la même pour les cas non présentés.

3.2.2. Tableaux des concentrations et courbes des cinétiques

On retrouve les tableaux des concentrations individuelles par temps de prélèvement classés en fonction de l'occasion, du genre et du groupe (en [Figure 18](#)). L'onglet statistique présente la moyenne arithmétique et le coefficient de variation (à partir de trois valeurs). Le coefficient de variation permet d'apprécier la dispersion des concentrations pour un même temps de prélèvement. Un coefficient de variation élevé peut être expliqué par une variabilité interindividuelle importante (entre animaux) et/ou de la performance de la méthode analytique.

				Hour (h)						
				0.0	0.5	1.0	2.0	4.0	6.0	24.0
Occasion	Gender	Group	Animal	X (ng/mL)						
Day 1	Female	2	10	0.00	6450	3460	1130	123	57.6	0.00
			11	0.00	6830	2760	731	90.6	29.9	0.00
			12	0.00	6020	2810	719	69.7	24.2	0.00
			Mean	0.00	6430	3010	860	94.4	37.2	0.00
			CV%	NA	6.30	13.0	27.2	28.4	48.0	NA

Figure 18: Exemple de tableau des concentrations pour le modèle PK/TK 4 semaines « non spare »

Les courbes des concentrations moyennes par occasion sont classées par genre et dose et sont présentées avec une échelle linéaire et une échelle logarithmique (en [Figure 19](#)). L'échelle logarithmique permet d'apprécier plus clairement les faibles concentrations.

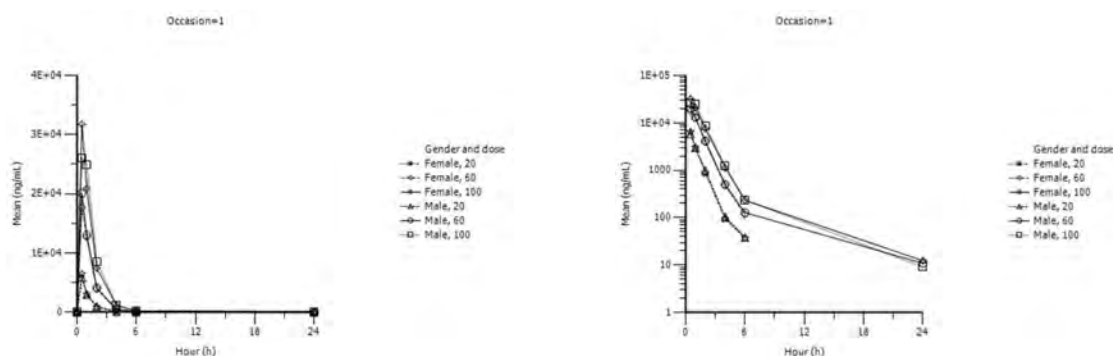


Figure 19: Exemple des cinétiques moyennes pour le modèle PK/TK 4 semaines « non spare »

3.2.3. Paramètres pharmacocinétiques

De nombreux paramètres pharmacocinétiques sont disponibles en sortie de logiciel mais seuls les paramètres suivants sont utilisés :

- $C_{\max}$
- $T_{\max}$
- AUC

Le $C_{\max}$ (et le $T_{\max}$) dépend grandement des temps de prélèvement et de la performance de la méthode analytique. Si l' AUC_{24} ne peut pas être calculée pour toutes les cinétiques, on doit calculer une AUC_{last} commune à tous les animaux (données « non spare ») ou groupes d'animaux (données « spare ») afin de pouvoir comparer les AUC ou les calculs effectués à partir de ces AUC.

Les paramètres pharmacocinétiques sont présentés sous forme de tableau et classés par occasion, genre et dose (en mg/kg) (voir *Figure 20*). Dans le cas d'un design « non spare », les paramètres pharmacocinétiques individuels sont présentés ainsi que l'onglet statistique alors que dans le cas d'un design « spare », les concentrations étant moyennées, on obtient directement les paramètres pharmacocinétiques moyens.

Occasion	Gender	Dose (mg base/kg/day)	Animal	$C_{\max}$ ($\mu\text{g/mL}$)	AUC_{last} ($\mu\text{g.h/mL}$)
Day 1	Female	20	10	6.45	7.49
			11	6.83	6.40
			12	6.02	5.96
			Mean	6.43	6.62
			CV%	6.30	11.9

Occasion	Gender	Dose (mg base/kg/day)	Animal	$t_{\max}$ (h)
Day 1	Female	20	10	0.5
			11	0.5
			12	0.5
			Min	0.5
			Median	0.5
			Max	0.5

Figure 20: Exemple des tableaux des paramètres pharmacocinétiques pour le modèle PK/TK 4 semaines « non spare »

3.2.4. Effet genre, temps et dose

Les résultats des calculs des effets genre (voir [Figure 21](#)) et temps (voir [Figure 22](#)) sont présentés sous forme de graphique. Les résultats sous forme de tableau sont disponibles en [Annexe 28](#) et [Annexe 29](#).

- Pour l'effet genre, la classification se fait sur l'occasion : chaque occasion correspond à une droite différente. Sur chacun de ces graphiques, on retrouve en abscisse la dose (en mg/kg) et en ordonnée le ratio Male/Femelle ($C_{\max}$ Male/ $C_{\max}$ Femelle ou AUC Male/ AUC Femelle).

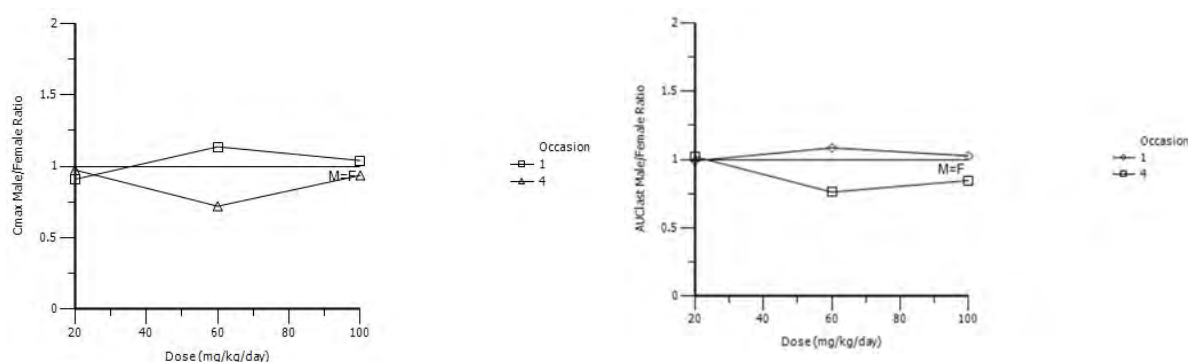


Figure 21: Exemple de graphique effet genre pour le modèle PK/TK 4 semaines « non spare »

La droite horizontale représente le rapport de 1, et dans ce cas-là les valeurs des paramètres pharmacocinétiques sont les même entre les mâles et les femelles.

- Pour l'effet temps, la classification se fait sur le genre. Sur chaque graphique, on retrouve la dose en abscisse et le ratio AUC SemaineX/Jour1 en ordonnée

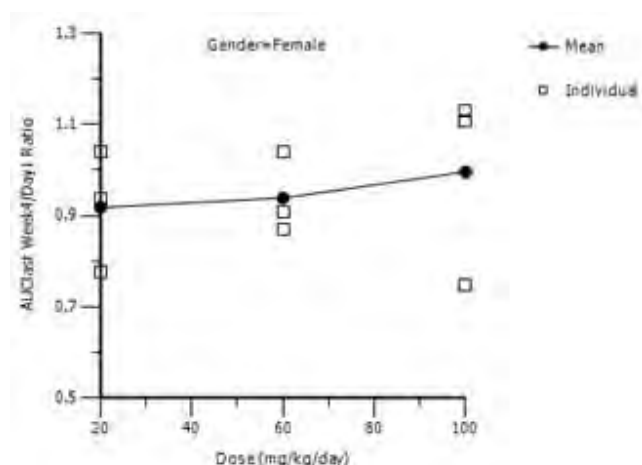


Figure 22: Exemple de graphique effet temps pour le modèle PK/TK 4 semaines « non spare »

Dans le cas de données « spare », les données individuelles ne sont pas disponibles.

- Pour l'effet dose, dans le cas de l'exploration de la dose linéarité, le C_{max} et l'AUC sont normalisés par la dose et retrouvés en ordonnée du graphique. La dose est présentée en abscisse et la classification s'intéresse au genre et à l'occasion (voir Figure 23).

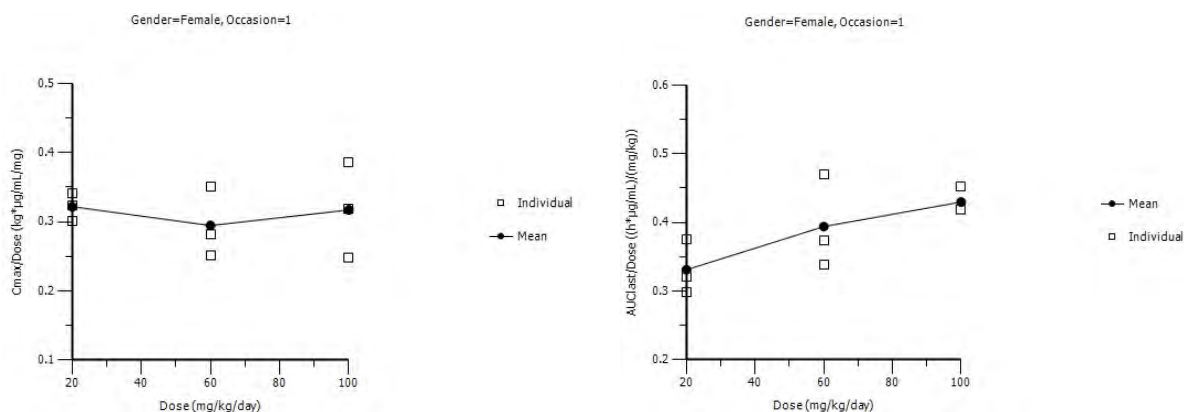


Figure 23: Exemple de graphique pour la dose linéarité pour le modèle PK/TK 4 semaines « non spare »

Dans le cas de données « spare », les données individuelles ne sont pas disponibles.

Dans le cas de la dose proportionnalité, on compare les ratios des paramètres pharmacocinétiques des différentes doses au ratio des doses. Les résultats sont présentés sous forme de tableaux comme présentés en Figure 24.

Occasion	Gender	C_{max} I/L Ratio (3)	C_{max} H/I Ratio (1.66)	C_{max} H/L Ratio (5)
Day 1	Female	2.75	1.79	4.93
	Male	3.43	1.64	5.64
Week 4	Female	3.49	1.65	5.78
	Male	2.58	2.15	5.55

Occasion	Gender	AUC_{last} I/L Ratio (3)	AUC_{last} H/I Ratio (1.66)	AUC_{last} H/L Ratio (5)
Day 1	Female	3.57	1.82	6.49
	Male	3.91	1.72	6.73
Week 4	Female	3.61	1.93	6.95
	Male	2.69	2.14	5.76

Figure 24: Exemple des tableaux pour la dose proportionnalité pour le modèle PK/TK 4 semaines « non spare »

3.3. Modèle d'analyse de pharmacocinétique pour les études de biodisponibilité/bioéquivalence (modèle PK/BD/BE)

3.3.1. Présentation

Ce modèle PK est divisé en deux sous modèles PK, un premier qui calcule la biodisponibilité d'une formulation en fonction de la forme IV (biodisponibilité absolue) et un deuxième qui effectue un test statistique de bioéquivalence entre deux médicaments (en test et de référence) (biodisponibilité relative).

La présentation des concentrations et des cinétiques est faite de manière à respecter les lignes directrices à ce sujet. Les règles de gestion des BLQ sont les mêmes que pour le modèle PK/TK.

3.3.2. Tableaux des concentrations et courbes des cinétiques

Pour le sous modèle PK biodisponibilité, on retrouve un tableau des concentrations individuelles par temps de prélèvement classées en fonction de la période (voir [Figure 25](#)). En effet, ce sont les mêmes animaux qui sont utilisés pour tester toutes les formulations afin de ne pas avoir de variabilité interindividuelle et chaque période correspond à une formulation. L'onglet statistique présente la moyenne arithmétique et le coefficient de variation. Les courbes des concentrations individuelles (seules ou groupées) et moyennes (voir [Figure 26](#)) sont classées par période et sont présentées avec une échelle linéaire et une échelle logarithmique.

		Time (h)											
		0.00	0.08	0.25	0.50	1.00	2.00	3.00	4.00	6.00	8.00	12.00	24.00
Period	Working no	X (ng/mL)											
P1	219040	0.00	4381.52	1259.25	695.11	264.08	76.13	39.26	17.73	4.21	2.73	3.11	1.73
	219055	0.00	3556.59	1455.02	763.86	288.56	79.06	26.44	10.01	7.71	4.41	3.18	1.30
	219365	0.00	4673.68	1537.58	847.32	384.41	117.42	44.57	22.88	9.85	4.95	2.00	1.73
	854961	0.00	4229.83	1761.17	967.79	456.79	114.01	46.16	18.00	7.03	4.05	2.30	1.78
	Mean	0.00	4210.41	1503.26	818.52	348.46	96.66	39.11	17.16	7.20	4.04	2.65	1.64
	CV%	NA	11.2	13.8	14.3	25.5	22.8	22.9	31.0	32.3	23.4	22.2	13.7

		Time (h)											
		0.00	0.25	0.50	1.00	1.50	2.00	4.00	6.00	8.00	12.00	24.00	
Period	Working no	X (ng/mL)											
P2	219040	0.00	173.23	912.36	206.71	76.25	44.62	8.48	4.91	2.80	3.29	0.00	
	219055	0.00	309.92	722.22	245.33	67.68	41.03	14.94	9.65	6.44	2.41	0.00	
	219365	0.00	765.83	747.72	184.03	70.99	40.24	9.17	5.26	5.26	3.03	0.00	
	854961	0.00	406.83	182.04	94.09	66.04	48.89	40.19	13.97	6.33	1.69	1.30	
	Mean	0.00	413.95	641.09	182.54	70.24	43.70	18.20	8.45	5.21	2.61	0.33	
	CV%	NA	61.2	49.5	35.2	6.4	9.0	82.1	50.5	32.5	27.4	NA	

Figure 25: Exemple des tableaux des concentrations pour le sous modèle PK biodisponibilité

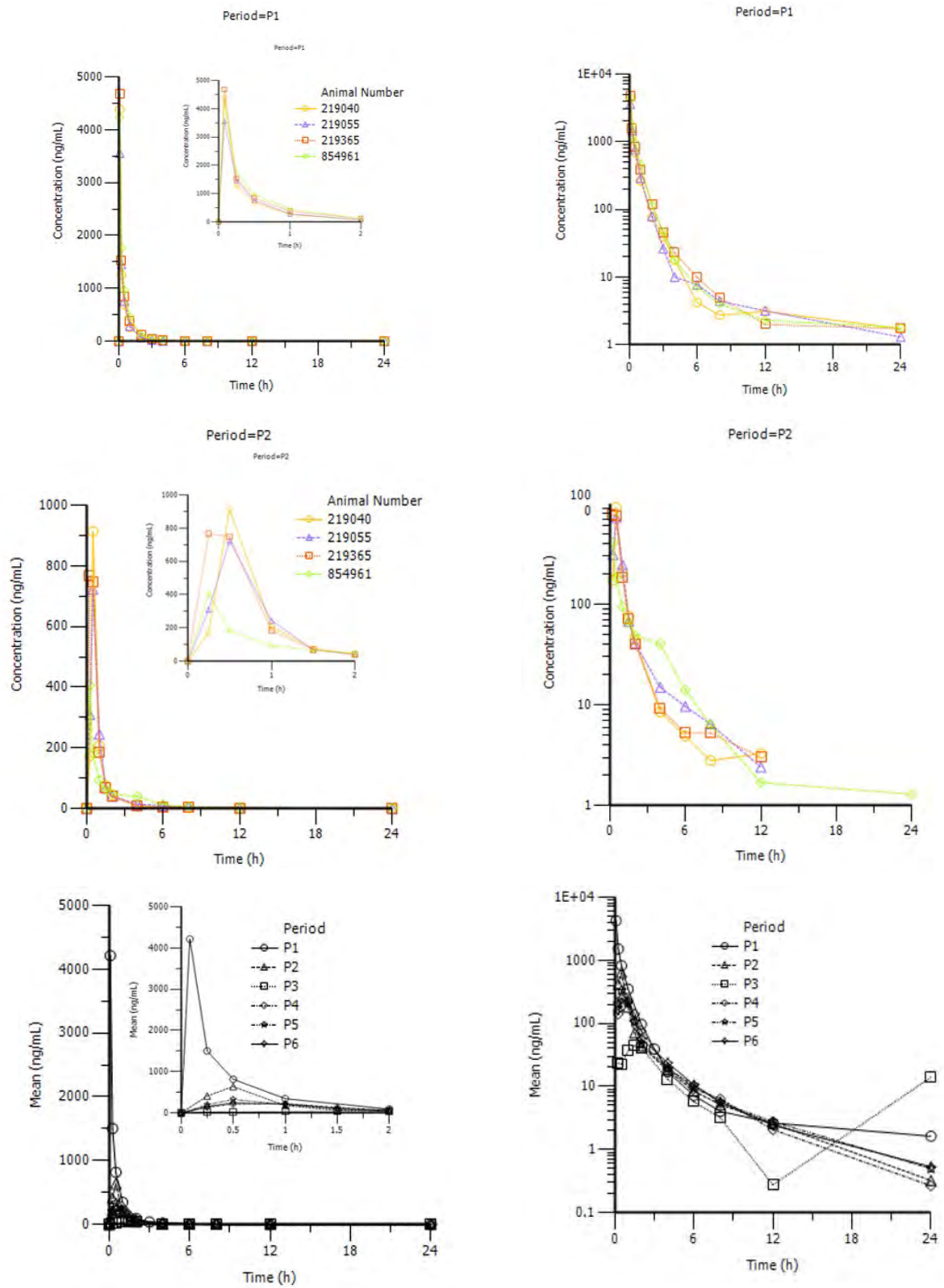


Figure 26: Exemple des cinétiques pour le sous modèle PK biodisponibilité

Pour le sous modèle PK bioéquivalence, on retrouve un tableau des concentrations individuelles par temps de prélèvement classées en fonction du traitement (médicament de référence (R) ou en test (T)), du groupe et de la période (voir [Figure 27](#)). L'onglet statistique présente la moyenne arithmétique et le coefficient de variation. Les courbes des concentrations individuelles (seules ou groupées) et moyennes (voir [Figure 28](#)) sont classées par produit (en test et de référence) et sont présentées avec une échelle linéaire et une échelle logarithmique.

				Time (h)												
				0.0	0.25	0.50	0.75	1.0	1.5	2.0	4.0	6.0	12	24	36	48
Treatment	Group	Period	Working number	X (ng/mL)												
R	1	1	545	0	0	2603	9151	39311	40346	29308	21260	13834	3020	1350	0	0
	1	1	1009	0	488	52013	47051	43155	34578	27255	20573	14670	4054	746	0	0
	1	1	1090	0	14315	18512	18134	20829	17999	16384	16175	10865	2131	1965	331	0
	1	1	1143	0	3166	30655	52130	42951	35260	26298	19428	10083	2876	1022	0	0
	1	1	37581	0	4600	49447	39891	36863	31016	25985	21544	12604	2930	2433	473	0
	1	1	58195	0	39444	47734	40233	36292	30782	22252	19118	10139	2226	1706	374	0
	1	1	58545	0	1009	24154	62560	44527	36506	27340	21750	16298	4733	2697	423	357
	1	1	58948	0	17275	39411	35323	35652	31593	23965	17183	9621	2726	845	0	0
	1	1	65447	0	4809	13001	16820	18289	20510	31490	21146	13196	2912	1724	533	269
	1	1	66759	0	0	50286	50297	39698	32288	26649	18430	10275	2471	833	0	0
	1	1	406238	0	0	726	2754	20552	41881	40023	25185	15360	3142	729	0	0
	1	1	406367	0	38752	49681	41029	45303	38408	32257	22977	14100	10096	2542	564	290
	2	2	57	0	24558	59066	50074	44822	37520	30178	23206	13655	4341	1207	0	0
	2	2	1099	0	23705	46353	45295	31549	24414	17557	15060	12601	3503	935	0	0
	2	2	1384	0	24770	44230	45441	43150	34120	28980	20990	16902	5125	1531	0	0
	2	2	1399	0	48440	52238	49166	44090	37589	33911	22902	19616	5917	1846	283	0
	2	2	14139	0	0	997	8597	29010	46810	36392	23472	19718	10072	4324	866	1096
	2	2	58436	0	420	3854	9976	18108	41410	33555	21247	11792	3314	1402	369	460
	2	2	58616	0	43774	45973	42305	41250	33709	29664	22868	13809	6284	2601	782	477
	2	2	65693	0	0	1077	22026	25474	30859	33831	22918	12152	2940	2035	840	296
	2	2	406078	0	18705	30079	29585	43263	32755	26649	19757	13247	3399	1320	276	0
	2	2	406086	0	5746	7871	11536	16221	33941	29778	13506	10830	5055	1773	660	0
	2	2	406322	0	0	1008	2859	37398	39436	33550	21755	12392	4492	1089	255	0
	2	2	406392	0	384	3216	58869	59449	43763	35692	21464	17126	3333	1150	0	0
Mean				0	13098	28091	32963	35717	34479	29123	20580	13537	4212	1659	293	135
CV%				0	81.6	131.4	175.5	324.8	507.1	519.4	727.0	478.3	198.4	200.1	98.0	51.5

Figure 27: Exemple de tableau des concentrations pour le sous modèle PK bioéquivalence

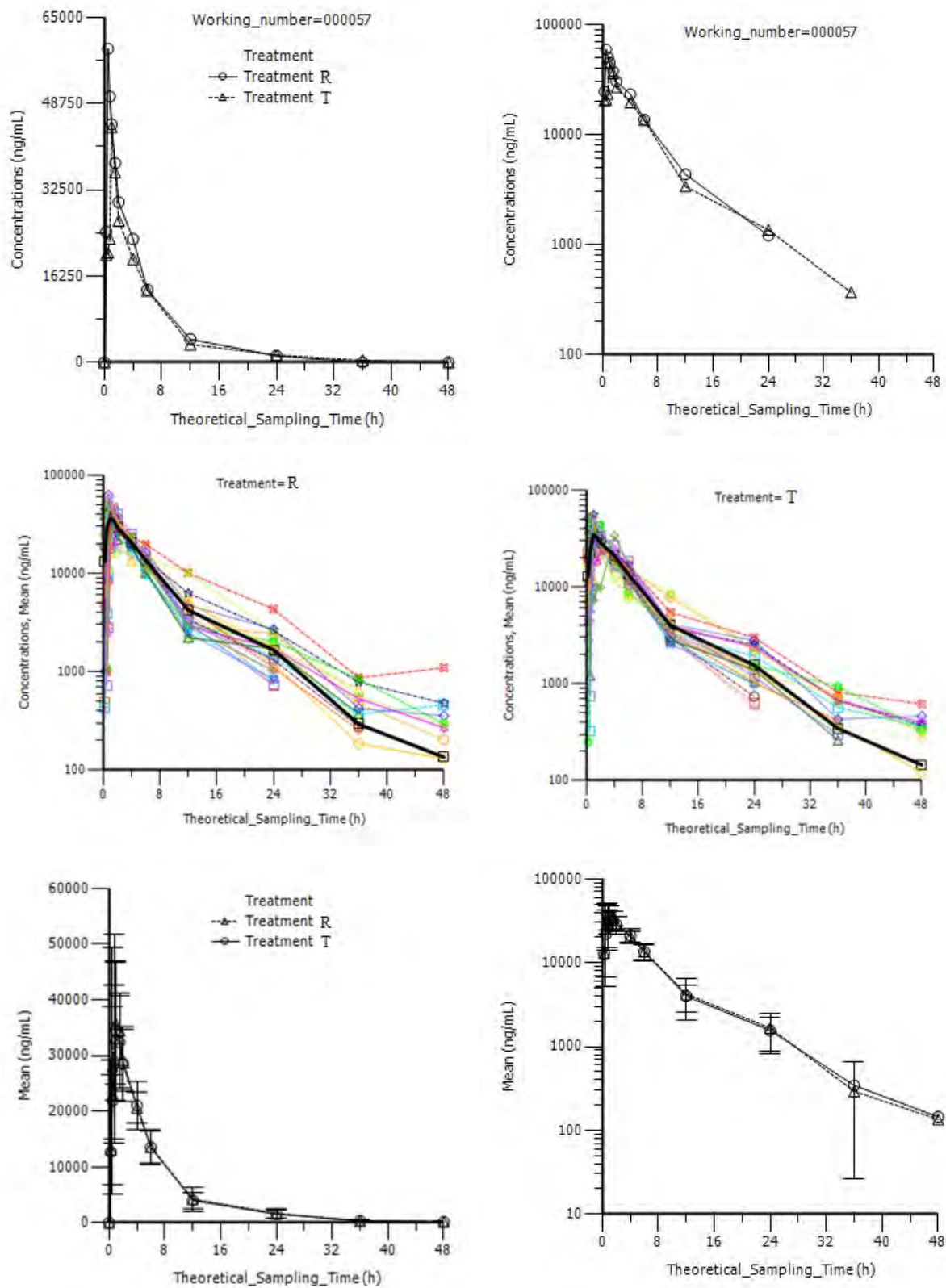


Figure 28: Exemple des cinétiques pour le sous modèle PK bioéquivalence

3.3.3. Paramètres pharmacocinétiques

Les paramètres pharmacocinétiques sont calculés selon une analyse pharmacocinétique non compartimentale comme recommandé par les lignes directrices. Le tableau des paramètres pharmacocinétiques (voir *Figure 29*) présente le T_{max} , le C_{max} , l' AUC_{last} ainsi que l' AUC_{inf} mais aussi le R^2 , et le pourcentage d' AUC extrapolée. On y trouve aussi le Kel et le $t_{1/2}$. L'onglet statistique comprend la moyenne arithmétique, le coefficient de variation, les valeurs minimale, médiane, maximale et la moyenne harmonique.

Period	Working no	R ²	Kel (1/h)	t _{1/2} (h)	T _{max} (h)	C _{max} (ng/mL)	AUC _{last} (h*ng/mL)	%AUC _{extra} (%)	AUC _{inf} (h*ng/mL)	C ₀ (ng/mL)
P1	219040	0.74	0.04	16.63	0.08	4381.52	1684	2.41	1725	8172.69
	219055	1.00	0.08	9.13	0.08	3556.59	1574	1.08	1591	5560.38
	219365	0.62	0.17	4.04	0.08	4673.68	1987	0.50	1997	8148.08
	854961	0.61	0.07	10.61	0.08	4229.83	2006	1.34	2034	6554.99
	Mean	/	/	10.10	0.08	4210.41	1813	/	1837	7109.04
	Min	/	/	4.04	0.08	3556.59	1574.30	/	1591.42	5560.38
	Median	/	/	9.87	0.08	4305.68	1835.22	/	1861.01	7351.54
	Max	/	/	16.63	0.08	4673.68	2006.30	/	2033.55	8172.69
	CV%	/	/	NA	NA	11.24	11.97	/	11.64	18.01
	Harmonic Mean	/	/	7.82	NA	NA	NA	NA	NA	NA

Period	Working no	R ²	Kel (1/h)	t _{1/2} (h)	T _{max} (h)	C _{max} (ng/mL)	AUC _{last} (h*ng/mL)	%AUC _{extra} (%)	AUC _{inf} (h*ng/mL)
P2	219040	0.70	0.37	1.89	0.50	912.36	568	1.55	577
	219055	1.00	0.23	3.04	0.50	722.22	595	1.75	605
	219365	0.87	0.13	5.48	0.25	765.83	656	3.52	680
	854961	0.79	0.20	3.54	0.25	406.83	445	1.47	452
	Mean	/	/	3.49	0.38	701.81	566	/	579
	Min	/	/	1.89	0.25	406.83	445.12	/	451.77
	Median	/	/	3.29	0.38	744.03	581.61	/	591.38
	Max	/	/	5.48	0.50	912.36	656.44	/	680.40
	CV%	/	/	NA	NA	30.32	15.67	/	16.44
	Harmonic Mean	/	/	3.02	NA	NA	NA	NA	NA

On retrouve la même chose avec le groupe et la séquence pour les études de bioéquivalence.

Treatment	Group	Period	Working_number	R ²	Kel (1/h)	t _{1/2} (h)	T _{max} (h)	C _{max} (ng/mL)	AUC _{last} (h*ng/mL)	%AUC _{extra} (%)	AUC _{inf} (h*ng/mL)
			Mean								
			SD								
			Min								
			Median								
			Max								
			CV%								
			Harmonic Mean								

Figure 29: Exemple des tableaux des paramètres pharmacocinétiques pour le modèle PK/BD/BE

3.3.4. Calcul du facteur de biodisponibilité

Le calcul du facteur de biodisponibilité est effectué par un module de calcul qui effectue le calcul suivant :

$$F\% = \frac{AUC_{ev}}{AUC_{iv}} \times \frac{Dose_{iv}}{Dose_{ev}} \times 100$$

Dans un tableau résumé (voir [Figure 30](#)), on retrouve les valeurs individuelles du facteur de biodisponibilité classées par formulation, ainsi que la moyenne par formulation.

Period 2 (IV/VO formulation 1)					
Working no	Dose mg IV	AUC _{last} IV (h*ng/mL)	Dose mg VO	AUC _{last} VO (h*ng/mL)	F
219040	42.6	1680	52.5	568	0.274
219055	42.2	1570	52.0	595	0.308
219365	45.9	1990	53.2	656	0.284
854961	42.3	2010	52.6	445	0.178
Mean					0.261

Figure 30: Exemple de tableau des facteurs de biodisponibilité pour le sous modèle PK
biodisponibilité

3.3.5. Calcul de bioéquivalence

Le test statistique de la bioéquivalence se fait par le module bioéquivalence du logiciel Phoenix WinNonlin. Les paramètres considérés pour l'analyse statistique sont déjà sélectionnés dans le module bioéquivalence (voir [Figure 31](#)) et correspondent aux recommandations des lignes directrices. De plus, la lecture des intervalles de confiance se fait sur le texte de sortie du module (voir [Figure 32](#)).

Model | Fixed Effects | Variance Structure | Options | General Options

Type of study
☐ Parallel/Other ☒ Crossover

Type of Bioequivalence
☒ Average ☐ Population/Individual

Reference Formulation
R

On définit le type d'étude en cross-over et la formulation de référence en R.

Model | Fixed Effects | Variance Structure | Options | General Options

Model Specification
+ - ()

Sequence+Treatment_type+Period

Classification
Working_number
Period
Treatment_type
Sequence

Regressors/Covariates

Weight Variable

Dependent Variables Transformation
Ln(x)

Fixed Effects Confidence Level
95 %

☐ No Intercept

Les paramètres à tester sont : la séquence, le traitement et la période.

Les paramètres pharmacocinétiques (C_{max} et AUC_{last}) sont log-transformés.

Model | Fixed Effects | Variance Structure | Options | General Options

Classification Variables
Working_number
Period
Treatment_type
Sequence

Regressors/Covariates

Add Random Delete Random + - ()

Repeated Random 1

Random Effects
Working_number(Sequence)

Variance Blocking Variables (Subject)
Group

☐ Random Intercept
Type
Variance Components

On fixe l'effet aléatoire sur l'individu.

Model | Fixed Effects | Variance Structure | Options | General Options

Confidence Level 90 %

Percent of Reference to Detect 20 %

Anderson-Hauck Lower Limit 0.8

Anderson-Hauck Upper Limit 1.25

On définit l'intervalle de confiance à 90% et les limites de l'intervalle de confiance à 0.8 et 1.25.

Figure 31: Onglets statistiques du module bioéquivalence

Tests of Model Effects					
Hypothesis	Numer_DF	Denom_DF	F_stat	P_value	
int	1	22	110008	0.0000	
Sequence	1	22	0.746141	0.3970	
Treatment	1	22	1.95808	0.1757	
Period	1	22	11.6959	0.0025	

On vérifie que la séquence ou la période n'ont pas d'effet sur la valeur de l'AUC_{last} du traitement (« p value » > 0.05). Dans notre exemple, la période a significativement un effet.

```

Classical          Westlake
CI 80% = ( 95.3892, 99.8646) ( 96.1533, 103.8467)
CI 90% = ( 94.7361, 100.5530) ( 95.3861, 104.6139)
CI 95% = ( 94.1515, 101.1773) ( 94.7339, 105.2661)
Average bioequivalence shown for confidence=90.00 and percent=20.0.

```

On s'intéresse à l'intervalle de confiance à 90%.

Figure 32: Exemple de texte de sortie du module de bioéquivalence pour AUC_{last} du traitement R

Par la suite on recense les quatre intervalles de confiance (C_{max} et AUC_{last} pour le traitement R et T) dans un tableau (voir Figure 33).

	R		T	
Pivotal Parameters	C _{max}	AUC _{last}	C _{max}	AUC _{last}
90% Confidence interval	[85.7424-99.1658]	[94.7361-100.5530]	[100.8412-116.6284]	[99.4500-105.5564]
Point estimate (ratio (%ref))	92.21	97.60%	108.45%	102.46%
Intrasubject CV	14.8%	6.0%	14.8%	6.0%

Figure 33: Résumé des intervalles de confiance

Si les intervalles de confiance se chevauchent alors il n'y a pas de différence significative entre les moyennes des valeurs (C_{max} ou AUC_{last}), et la bioéquivalence est statistiquement démontrée (exemple : AUC_{last}). À l'inverse, si les intervalles de confiance ne se chevauchent pas, il y a une différence significative entre les moyennes des valeurs, et la bioéquivalence n'est pas statistiquement démontrée (exemple : C_{max}).

3.4. Utilisation des modèles PK

Un protocole a été rédigé afin d'utiliser correctement les différents modèles PK (voir [Annexe 30](#)). Il doit permettre à n'importe quelle personne possédant des bases d'utilisation du logiciel Phoenix WinNonlin d'utiliser les modèles d'analyse de pharmacocinétique validés.

L'étape la plus importante est la sélection et la mise au format des données. Le protocole doit être scrupuleusement respecté.

Il est possible de modifier et/ou d'ajouter des modules après avoir chargé le modèle PK dans le logiciel Phoenix WinNonlin.

3.5. Évaluation de modèles d'analyse de pharmacocinétique

L'évaluation d'un modèle PK est faite sur le modèle PK/TK pour les études de PK/TK. Ce choix a été fait car c'est sur ce genre d'étude, avec une partie d'analyse pharmacocinétique assez importante, que l'utilisation d'un modèle PK a le plus d'intérêt.

3.5.1. Place des études de toxicocinétique dans le service de Bioservices de l'entreprise AmatsiAvogadro

AmatsiGroup est une CDMO, elle possède différentes entreprises pharmaceutiques avec chacune leur propre domaine d'activité. AmatsiAvogadro possède deux domaines majeurs d'activités : Bioservices et Analyse pharmaceutique (contrôle qualité pour la libération analytique de lots, études de stabilité et tests physico-chimiques). Le service Bioservices réalise l'analyse et l'interprétation (PK/TK ou analyse structurale) des résultats d'échantillons biologiques (plasma ou tissus).

Les études de toxicocinétique représentent 12% des études du service et 3% du chiffre d'affaire total comme représentés respectivement sur la Figure 34 et la Figure 35.



Figure 34: Répartition du nombre d'étude du service

Chiffre d'affaire des études du service

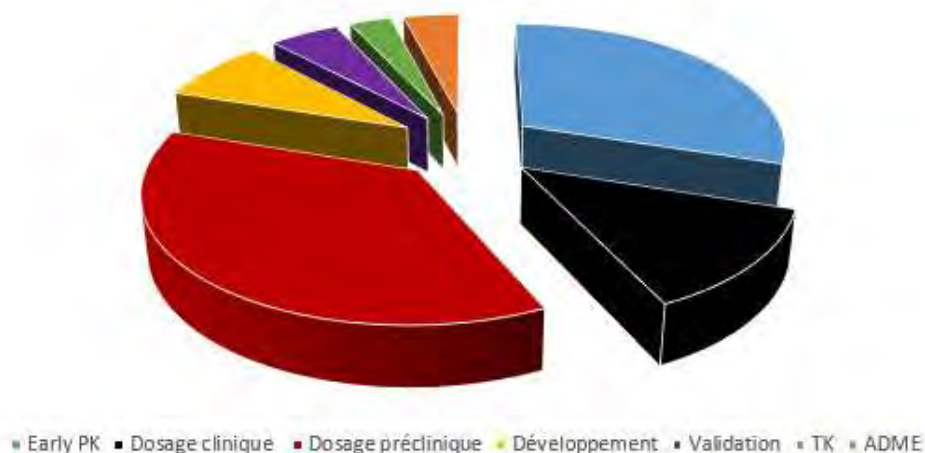


Figure 35: Répartition du chiffre d'affaire en fonction du type d'étude

Les études de toxicocinétique représentent un nombre d'étude relativement important mais ne dégagent pas un chiffre d'affaire aussi important que celui auquel on pourrait s'attendre. L'utilisation de modèle PK/TK permettrait d'offrir des possibilités d'amélioration à ce sujet.

3.5.2. Place de l'étude pharmacocinétique dans les études de toxicocinétique

Généralement une étude est constituée de quatre grandes étapes : la rédaction du protocole, la réalisation de l'étude (expérimentation animale), la génération des résultats et l'interprétation des résultats avec la rédaction du rapport final. Lors d'une étude de toxicocinétique, la génération des résultats est découpée en deux sous parties. D'une part la sous partie pharmacocinétique avec la génération des paramètres pharmacocinétiques (analyse pharmacocinétique) et des résultats des différents effets (calculés à partir des paramètres pharmacocinétique), et d'autre part la sous partie PK/PD avec la corrélation des données cliniques et biologiques avec les données pharmacocinétiques.

Seule la sous partie pharmacocinétique des études de toxicocinétique est réalisée dans le service. L'expérimentation animale est effectuée dans un centre spécialisé, et les concentrations proviennent d'un centre doseur ou directement du lieu où a été réalisée l'expérimentation animale. La corrélation des résultats pharmacocinétiques avec les données cliniques et biologiques est faite par le client.

La sous partie pharmacocinétique des études de toxicocinétique est donc considérée comme une étude à part entière pour le service. On l'appelle étude PK/TK. Pour faciliter la lecture et la compréhension, on considère que l'étude pharmacocinétique est l'étape qui permet de générer et de mettre en forme les résultats de l'étude PK/TK. Par la suite, les résultats mis en forme sont intégrés et interprétés lors de la rédaction du rapport final.

Selon le type d'étude, l'étude pharmacocinétique représente une part plus ou moins importante. Dans le cas des études PK/TK, elle correspond à 40% du temps total de l'étude (Figure 36). Les temps de rédaction du protocole et de l'expérimentation animale ne sont pas pris en compte car ces deux étapes ne sont pas gérées par le responsable principal (RPE) du service. En revanche, un temps supplémentaire est à allouer à la mise en forme des données car elles viennent d'une entreprise extérieure. Le temps d'audit du rapport final avant le rendu au client n'est pas non plus pris en compte car il est réalisé par le service d'assurance qualité d'AmatsiAvogadro.

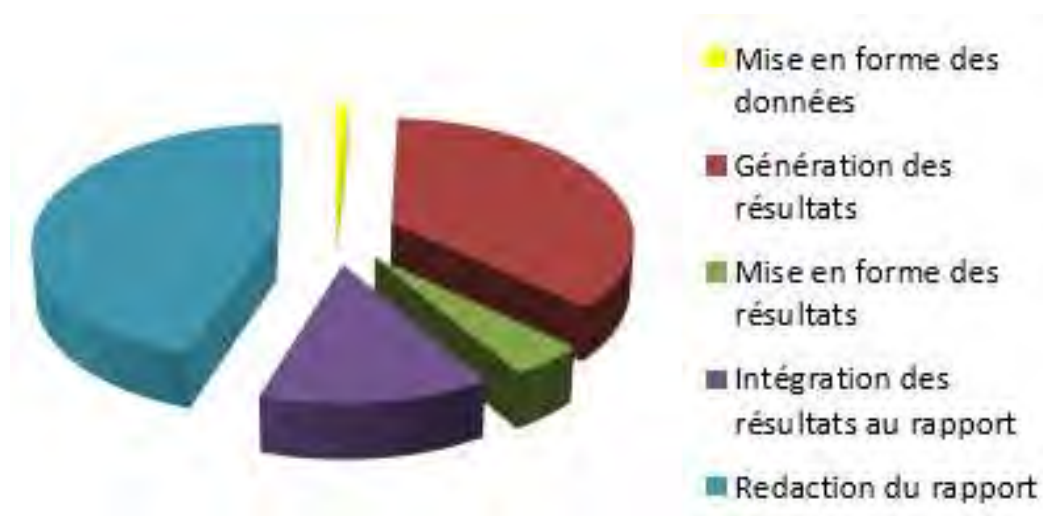


Figure 36: Répartition du temps de travail pour une étude de PK/TK

L'utilisation du modèle PK/TK permet d'économiser du temps sur l'étude pharmacocinétique. Le temps économisé est le temps d'assemblage des différents modules et le temps de modification des paramètres de ces derniers (mise en forme des tableaux des concentrations, des cinétiques, paramétrage de l'analyse pharmacocinétique et mise en forme des tableaux et des graphiques des résultats).

3.5.3. Impact de l'utilisation de modèle PK/TK sur le temps total d'une étude de PK/TK

Une distinction a été faite entre une utilisation directe (sans modification) (voir [Figure 37](#)) et une utilisation après modification du modèle PK/TK (voir [Figure 38](#)). La plupart du temps, une utilisation sans modification est effectuée et les temps utilisés pour la sont des estimations.

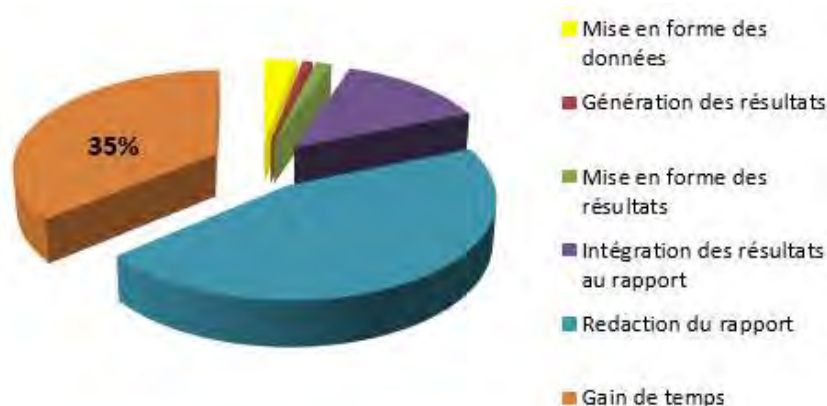


Figure 37: Gain de temps sur une étude de PK/TK grâce à l'utilisation de modèle PK/TK sans modification

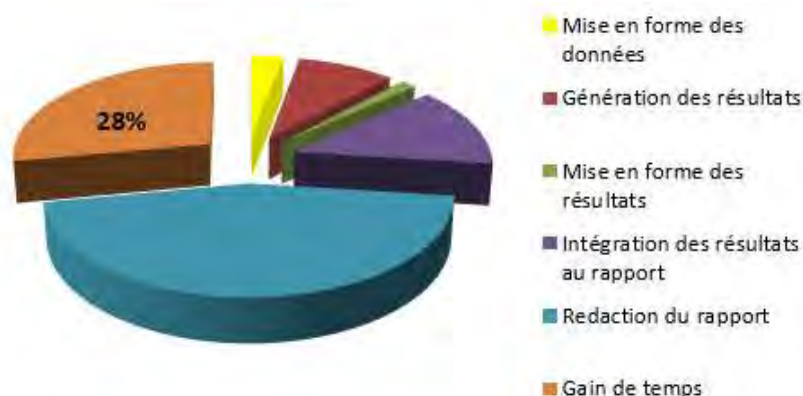


Figure 38: Gain de temps sur une étude de PK/TK grâce à l'utilisation de modèle PK/TK avec modification

L'utilisation de modèle PK/TK permet un gain de temps de 35 à 28% sur le temps d'une étude PK/TK, respectivement sans et avec modification. Cela représente une part très importante et montre l'impact que peut avoir un modèle PK pour ce genre d'étude. L'intérêt par la suite est l'utilisation de ce gain de temps.

La mise en forme des résultats est une partie chronophage et qui ne nécessite pas de compétence scientifique avancée. Il est donc très intéressant de pouvoir s'en affranchir.

3.5.3.1. Utilisation du gain de temps

Ce gain de temps peut avoir plusieurs utilisations. Premièrement, dans la gestion de l'étude PK/TK par le directeur d'étude et deuxièmement dans la gestion globale des études par le responsable de service.

3.5.3.1.1. Intérêt dans la gestion d'une étude de PK/TK pour le directeur d'étude

La diminution du temps de l'étude pharmacocinétique a un impact immédiat sur le temps total de l'étude PK/TK et permet donc un rendu plus rapide du rapport final au client. Une partie de ce gain de temps peut être utilisée pour passer plus de temps sur l'interprétation des résultats et donc augmenter la qualité du rapport final.

3.5.3.1.2. Intérêt dans la gestion globale des études pour le responsable de service

La diminution du temps des études de PK/TK permet une augmentation du nombre d'études réalisables par le service. Cela permettrait de réaliser d'autres types d'études tout en restant présent sur le marché des études de PK/TK.

3.5.4. Autres avantages à l'utilisation de modèle PK/TK

Les modèles PK/TK permettent une modification dans l'approche de proposition de services pour les études de toxicocinétique (rendu rapide du rapport) et un réel positionnement sur ces études (grâce à la possession et l'utilisation de modèle PK/TK).

Les modèles PK n'apportent pas uniquement un avantage suite à leur utilisation. La phase de construction permet de perfectionner ses connaissances dans l'utilisation du logiciel et de consolider ses connaissances scientifiques d'ordre pharmacocinétique.

4. Conclusion/discussion

La recherche et le développement d'un médicament sont des procédés complexes qui font intervenir de nombreux acteurs et nécessitent la réalisation de plusieurs études. Les études de développement doivent respecter les lignes directrices des agences de santé.

Les lignes directrices permettent de définir une base de travail pour la réalisation de certaines études. Une étude et une synthèse de ces lignes directrices permettent de mettre à jour ces connaissances. Parfois les lignes directrices se heurtent à la réalité de l'expérimentation et une adaptation ou une modification de celles-ci est nécessaire.

Les modèles constituent un outil intéressant dans la réalisation d'une tâche redondante et/ou standardisée. Dans le cadre d'études réglementaires, ils trouvent parfaitement leur place. En revanche, certains choix dans la construction des modèles restent subjectifs et certains modèles nécessitent une modification avant leur utilisation.

Les modèles d'analyse de pharmacocinétique du logiciel Phoenix WinNonlin sont assez flexibles pour s'adapter à différentes situations et la standardisation des données permet de gommer les défauts de fonctionnement des modèles dus à des formats et à des classifications disparates. Les modèles d'analyse de pharmacocinétique présentés ici sont encore perfectibles mais sont déjà efficaces et constituent un bon point de départ pour la réalisation d'autres modèles pour d'autres types d'études (« early PK », clairance urinaire).

L'évaluation de modèles est plus ou moins facile à réaliser et dépend du contexte dans lequel ces modèles sont utilisés. Toutefois de nombreux standards d'évaluation existent et certains paramètres sont transposables d'un contexte à un autre.

Dans le cas des modèles d'analyse de pharmacocinétique, le choix a été fait de raisonner sur le gain de temps et l'utilisation de ce gain. Les choix sont subjectifs et peuvent donc prêter à discussion mais les conclusions qui ont pu en être tirées semblent pertinentes. Il aurait aussi été intéressant d'évaluer le temps gagné en fonction du temps dédié à la construction et à l'optimisation de ces modèles.

5. Bibliographie

5.1. Directives

21 CFR part 320 (FDA)

21 USC 360 b (n) (1) (E) (FDA)

Article L.5121-1 (CSP)

Council Decision on the European Convention on the protection of vertebrate animals, 1999/157/EC.

Council Directive 75/318/EEC

Council Directives 87/18/EEC

Council Directives 88/320/EEC

Directive 2001/20/EC

Directive 2001/82/EC Article 13 (2)(b)

Directive 2001/82/EC Article 13 (3)

Directive 2001/83/EC

Directive 2004/27/CE

The Council Directive on animal welfare 86/609/EEC

5.2. Enseignement universitaire

A. Bousquet-Melou, 2016

D. Condordet, 2016

E. Chatelut, 2016

5.3. Lignes directrices

Bioanalytical method validation (FDA) 2013

Bioavailability and bioequivalence studies submitted in NDAs or INDs (FDA) Mars 2014

Bioequivalence Blood level bioequivalence study (VICH) GL52 Aout 2015

Bioequivalence guidance (FDA) Novembre 2006

Bioequivalence recommendations for specific products (FDA) Juin 2010

Bioequivalence studies with PK endpoints for drugs submitted under an ANDA (FDA) Décembre 2013

CPMP/EWP/4151/00 rev 1 (EMA)

Dissolution testing of immediate release solid oral dosage forms (FDA) 1997

Extended release oral dosage forms development evaluation and application of in vitro in vivo correlations (FDA) 1997

Guidance for industry : Bioavailability and bioequivalence studies for orally administered drug products (FDA) Mars 2003

Guideline for the testing of chemicals (OCDE) Juillet 2010

Guideline on bioanalytical method validation (EMA) 21 Juillet 2011

Guideline on repeated dose toxicity (EMA) 18 Mars 2010

Guideline on statistical principles for veterinary clinical trials (EMA) 20 Septembre 2010

Guideline on the investigation of bioequivalence (EMA) 2010

Guideline on the pharmacokinetic and clinical evaluation of modified release dosage forms (EMA) 20 Novembre 2014

Guidelines for the conduct of bioequivalence studies for veterinary medicinal products (EMA) Janvier 2000

Guidelines for the conduct of pharmacokinetic studies on target animal species (CVMP) 1999

Guidelines on the conduct of bioequivalence studies for veterinary medicinal products (EMA) Avril 2011

M2 (R2) « Guidance on nonclinical safety studies for the conduct of human clinical trials and marketing authorization for pharmaceuticals » (ICH) 11 Juin 2009

Note for guidance Investigation of chiral active substances (EMA) 1995

Note for guidance on duration of chronic toxicity testing in animal (EMA) Mai 1999

Note for guidance on modified release oral and transdermal dosage forms (EMA) 28 Juillet 1999

Note for guidance on non-clinical safety studies for the conduct of human clinical trials for pharmaceuticals (EMA) Juillet 2008

Note for guidance on repeated dose toxicity (EMA) 27 Juillet 2000

Note for guidance on the clinical requirements for locally applied (EMA) 1995

Note for guidance on the investigation of bioavailability and bioequivalence (EMA) 26 Juillet 2001

Note for guidance on toxicokinetics A guidance for assessing systemic exposure in toxicology studies (EMA) Juin 1995

Pharmacokinetics studies in man (CHMP) 1987

Procedure for european union guidelines and related documents within the pharmaceutical legislative framework (EMA) 18 Mars 2009

S1 « Carcinogenicity studies » (ICH)

S2 « Genotoxicity studies » (ICH)

S3A « Note for guidance on toxicokinetics : The assessment of systemic exposure in toxicity studies » (ICH) 27 Octobre 1994

S4 « Duration of chronic toxicity testing in animals » (ICH) 2 Septembre 1998

S5 « Reproductive toxicologys » (ICH)

Statistical approaches to establishing bioequivalence (FDA) Janvier 2001

SUPAC-IR (FDA) Novembre 1995

SUPAC-MR (FDA) Septembre 1997

Toxicokinetics : The assesement of systemic exposure in toxicity studies (FDA) Mars 1995

Waiver of in vivo bioavailability and bioequivalence studies for immediate-release forms (FDA) Mai 2005

5.4. Publications

Basic pharmacokinetics, Soraya Dhillon and Kiren Gill

Hellriegel et al. 1996

La biodisponibilité et son évaluation, P.L Toutain & A. Bousquet-Melou

Pharmacocinétique : éléments de méthodologie, P.L Toutain et M. Oukessou

Volumes of distribution, P.L Toutain and A. Bousquet-Melou

5.5. Sites internet

<http://ansm.sante.fr/>

<http://lemedicamentveterinaire.simv.org/>

<http://new.medicamentsgeneriques.info/>

<http://pharmacomedicale.org/>

<http://www.ema.europa.eu/ema/>

<http://www.fda.gov/>

<http://www.ich.org/home.html>

<http://www.leem.org/>

<http://www.simv.org/>

<http://www.vichsec.org/>

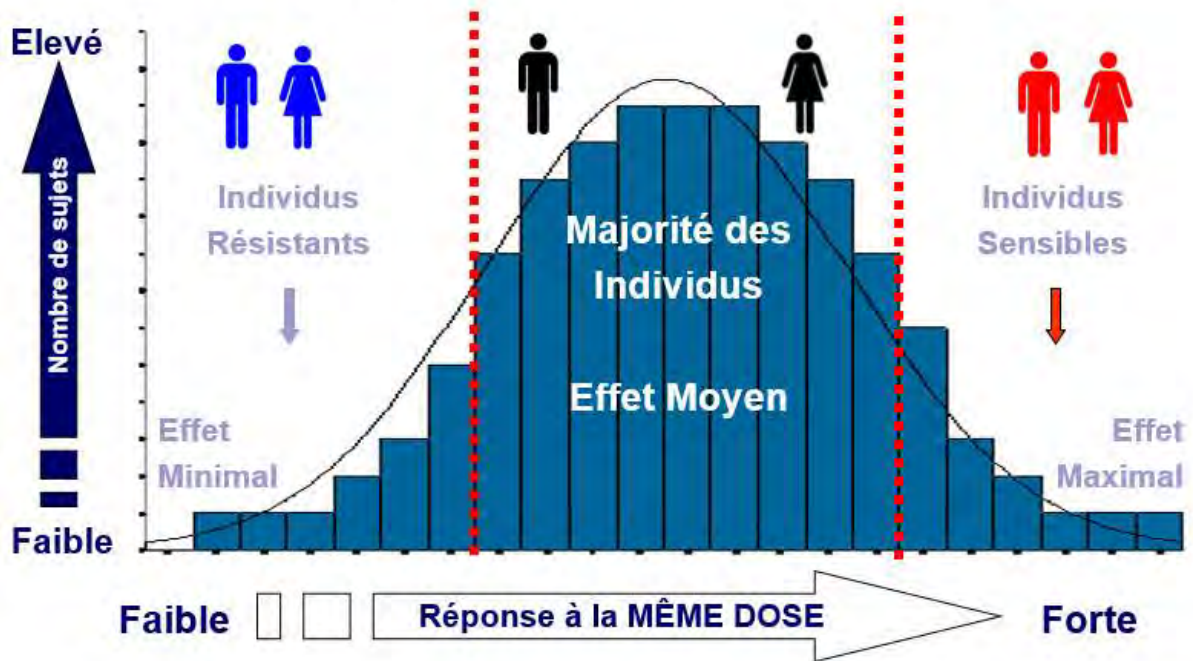
<http://www.who.int/en/>

6. Annexes

6.1. Annexe Pharmacocinétique

Annexe 1: Relation dose-réponse dans une population

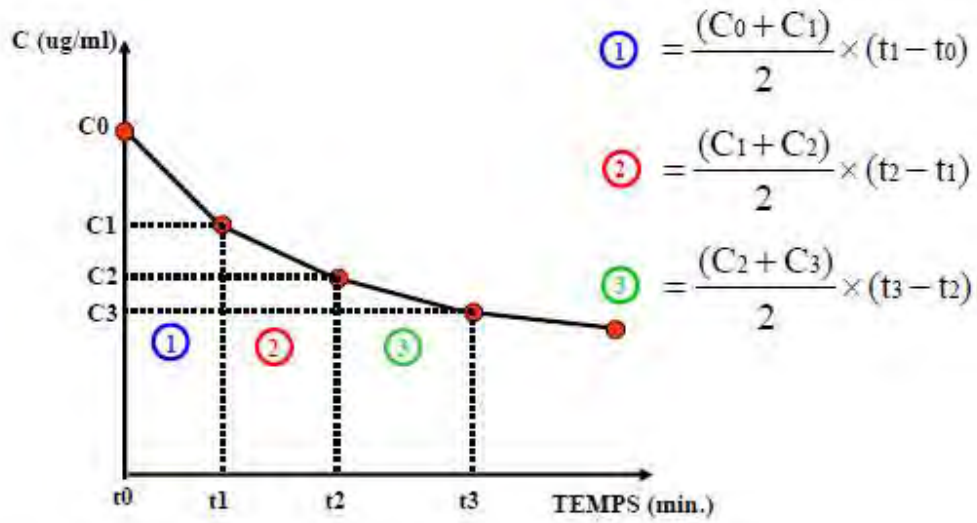
Relation Dose-Response dans une population



Annexe 2: Paramètres pharmacocinétiques

$t_{1/2}$ (Temps de demi-vie, unité de temps)	Temps au bout duquel 50% du médicament est éliminé de l'organisme
Kel (Constante de vitesse d'élimination, unité de temps⁻¹) = $\text{Ln}(2) / t_{1/2}$	/
AUC	Exposition de l'organisme au médicament
Cl (Clairance, unité de débit)	Débit d'élimination du médicament par l'organisme
Vd (Volume de distribution, unité de volume)	Volume hypothétique qui permettrait une concentration identique dans tous les compartiments de l'organisme
F (Facteur de biodisponibilité, %)	Fraction de médicament administré par voie extravasculaire qui atteint la circulation générale
C_{max} (Unité de quantité par unité de volume)	Concentration maximale observée
T_{max} (Unité de temps)	Temps du Cmax

Annexe 3: Calcul de l'AUC par méthode des trapèzes

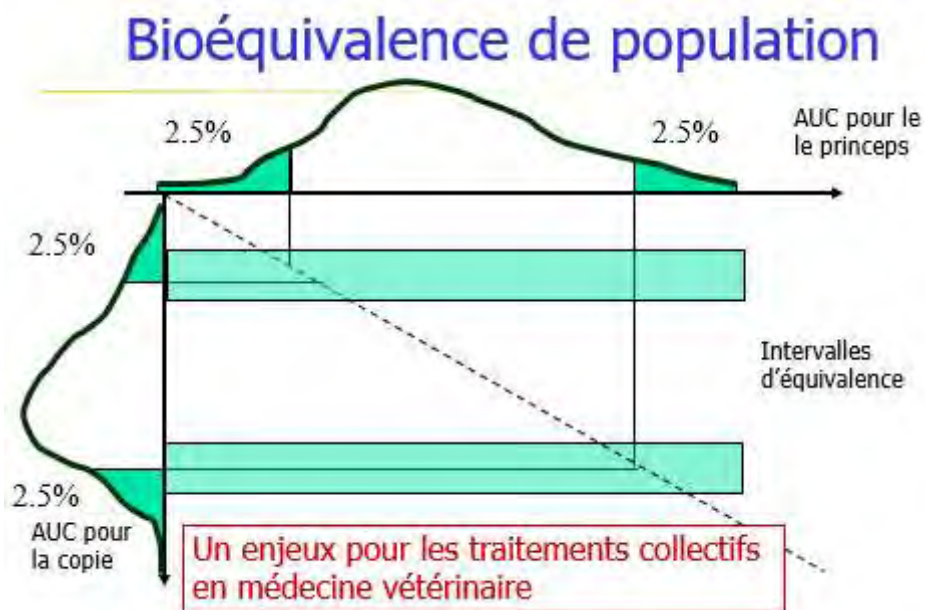
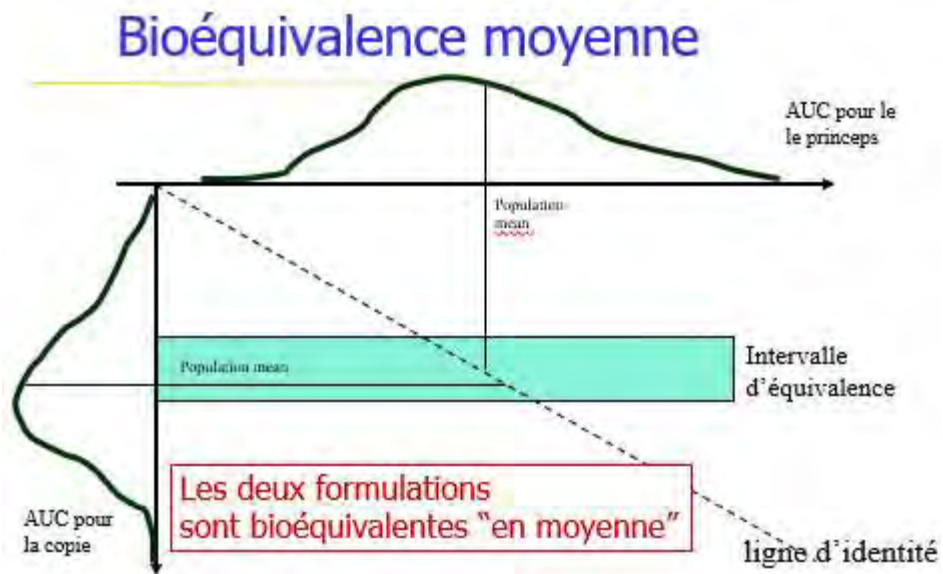


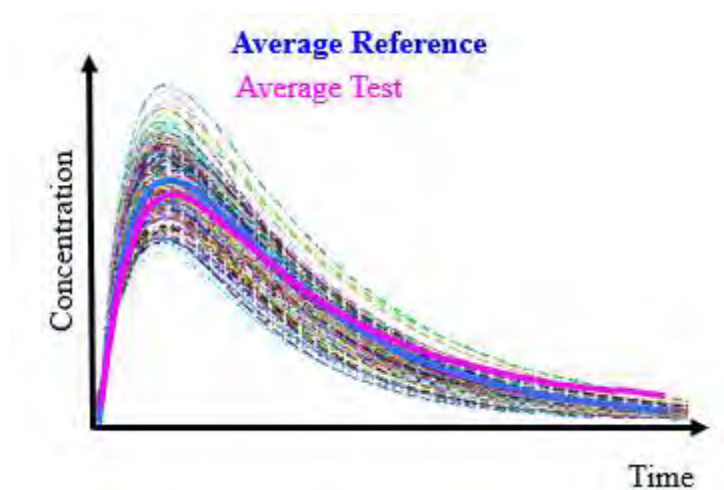
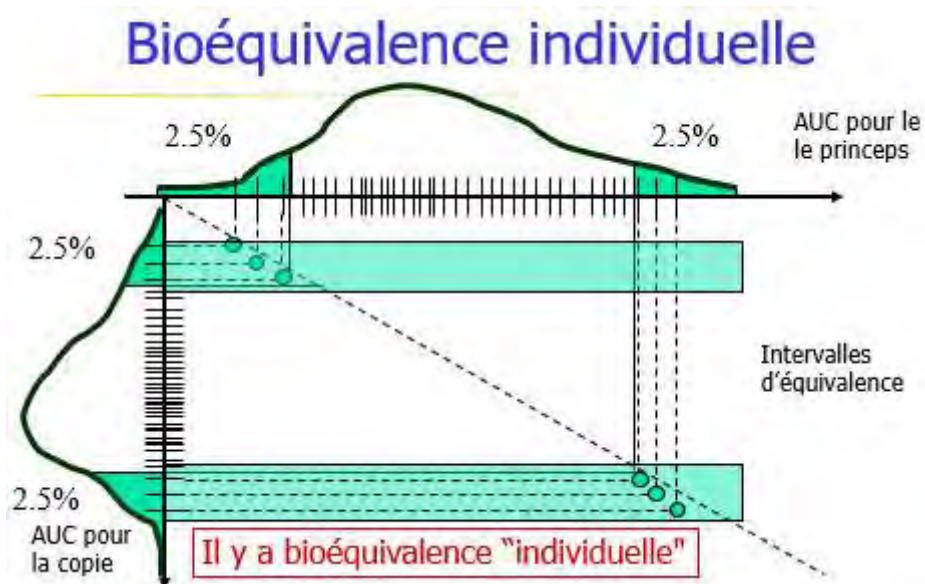
$$SSC_{0 \rightarrow t} = \sum_{i=0}^{n-1} \frac{(C_i + C_{i+1})}{2} \times (t_{i+1} - t_i)$$

$$SSC_{0 \rightarrow \infty} = \sum_{i=0}^{n-1} \frac{(C_i + C_{i+1})}{2} \times (t_{i+1} - t_i) + \frac{C_n}{k_e}$$

Annexe 4: Formules de pharmacocinétique

PHARMACOCINÉTIQUE			
DESCRIPTION	FORMULES		INTERETS
Somme de toutes les Surfaces des Trapèzes = Surfaces Sous la Courbe = AUC	$SSC_{0 \rightarrow t} = \sum_{i=0}^{n-1} \frac{(C_i + C_{i+1})}{2} \times (t_{i+1} - t_i)$	$SSC = \frac{C_0}{K_{el}}$ $SSC = \frac{C_0 - C_0}{K_{el} K_a}$	Niveau d'exposition de la drogue = Amplitude de l'effet pharmacologique
Concentration (en mg/l) Constante d'élimination (en heure ⁻¹)	$C_1 = C_0 \times e^{-K_{el} \times t}$ $K_{el} = \frac{\ln C_0 - \ln C_1}{t}$	$C_1 = C_0 e^{-K_{el} \times t} + C_0 e^{-K_a \times t}$ $K_{el} = \frac{\ln C_i - \ln C_{i+1}}{t_{i+1} - t_i}$	Concentration dans les différents compartiments Elimination du médicament de l'organisme
Biodisponibilité Absolue	$F = \frac{SSC \text{ (Orale)}}{SSC \text{ (IV)}}$	$F = \frac{SSC \text{ (Orale)} \times Dose \text{ IV}}{SSC \text{ (IV)} \times Dose \text{ Orale}}$	Comparaison de deux formes
Demi - Vie (en heure)	$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{K_{el}}$	$t_{1/2} = \frac{0.693}{K_{el}}$ $t_{1/2} = \frac{\ln 2 \times V_d}{Cl}$	Temps de rémanence dans l'organisme = Durée de l'effet pharmacologique
Volume de Distribution (en l ou l/kg)	$V_d = \frac{Dose}{C_0}$		Diffusion dans l'organisme
Clairance Totale (Débit en ml/min, ml/min/kg, l/h/kg,...)	$Cl = \frac{Dose}{SSC}$	$Cl = \frac{F \times Dose}{SSC}$ $Cl = V_d \times K_{el}$ $Cl = Cl_R + Cl_M + Cl_B$	Capacité de l'organisme à éliminer un médicament → Cinétique Linéaire si Clairance Constante → Cinétique Non Linéaire
Clairance Rénale Constante d'Excrétion Rénale Clairance de Filtration	$Cl_R = \frac{U \times V}{C}$	$Cl_R = V_d \times K_R$ $K_R = \frac{q_u \times K_{el}}{q_0}$ $Cl_F = F_e \times DFG$	U : Concentration Urinaire V : Débit Urinaire C : Concentration veineuse périphérique Fe : Fraction Libre du Médicament qu : Quantité excrétée lorsque t = ∞
Clairance Métabolique Rapport d'Excrétion	$R_{ex} = \frac{Cl_R}{F_e \times DFG}$	$R_{ex} = \frac{Cl_R}{Cl_F}$	Rex = 1 : produit uniquement filtré et/ou S=R Rex < 1 : produit filtré sécrété, réabsorbé avec R>S Rex > 1 : produit filtré sécrété, réabsorbé avec S>R





6.2. Annexe Lignes directrices

Annexe 9: Durée recommandée pour des études de toxicité en dose répétée en fonction de la durée des études cliniques

Table 1 Recommended Duration of Repeated-Dose Toxicity Studies to Support the Conduct of Clinical Trials

Maximum Duration of Clinical Trial	Recommended Minimum Duration of Repeated-Dose Toxicity Studies to Support Clinical Trials	
	Rodents	Non-rodents
Up to 2 weeks	2 weeks ^a	2 weeks ^a
Between 2 weeks and 6 months	Same as clinical trial ^b	Same as clinical trial ^b
> 6 months	6 months ^{b, c}	9 months ^{b, c, d}

APPENDIX A

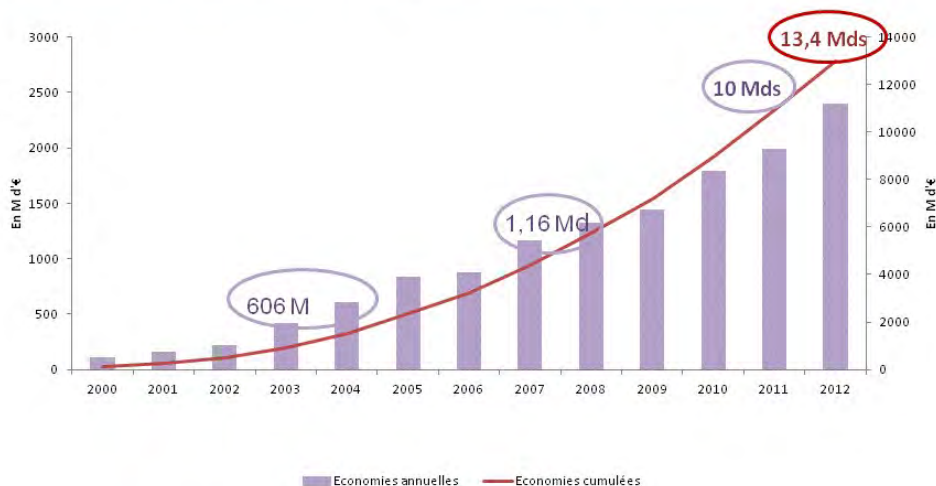
LIST OF TISSUES TO BE STUDIED HISTOLOGICALLY IN A REPEATED DOSE TOXICITY STUDY

- Application site (when relevant)
- Gross lesions
- Tissue masses of tumours
- Blood smears
- Lymph nodes (mesenteric and any peripheral)
- Mammary glands
- Salivary glands (mandibular, parotid, sublingual)
- Skeletal muscle
- Sternebrae, femur or vertebrae (including bone marrow)
- Pituitary gland
- Thymus
- Trachea
- Lungs with bronchi and bronchioles
- Heart
- Aorta
- Thyroid / Parathyroid glands
- Oesophagus
- Stomach
- Small intestines
- Large intestines (when relevant including Peyer's Patches)
- Liver
- Gall-bladder (when relevant)
- Pancreas
- Spleen
- Kidneys and ureters
- Adrenal glands
- Urinary bladder
- Prostate
- Testes
- Epididymides
- Seminal vesicles (rodents)
- Ovaries
- Uterus with uterine cervix and oviducts
- Vagina
- Brain (coronal sections at three levels to include cerebrum, cerebellum and brain stem)
- Peripheral nerves
- Eyes and optic nerves
- Spinal cord
- Skin and subcutaneous tissue
- Joint with bone
- Larynx
- Tongue

Annexe 11: Le développement des économies génériques en milliards d'euro pour la Sécurité Sociale (Gemme)



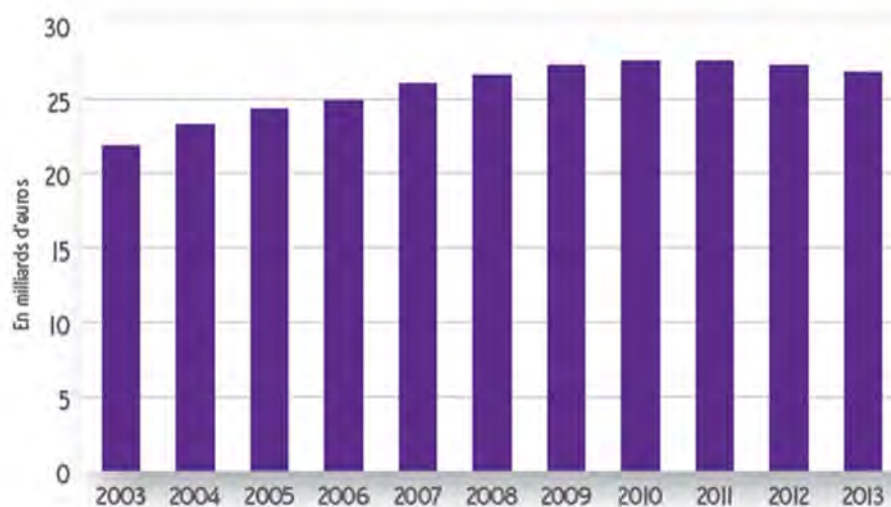
Le développement des économies génériques



➡ 3 Mds € de CA / 3 Mds € d'économies

Annexe 12: Evolution du chiffre d'affaires en milliards d'euros des spécialités pharmaceutiques en France (ANSM)

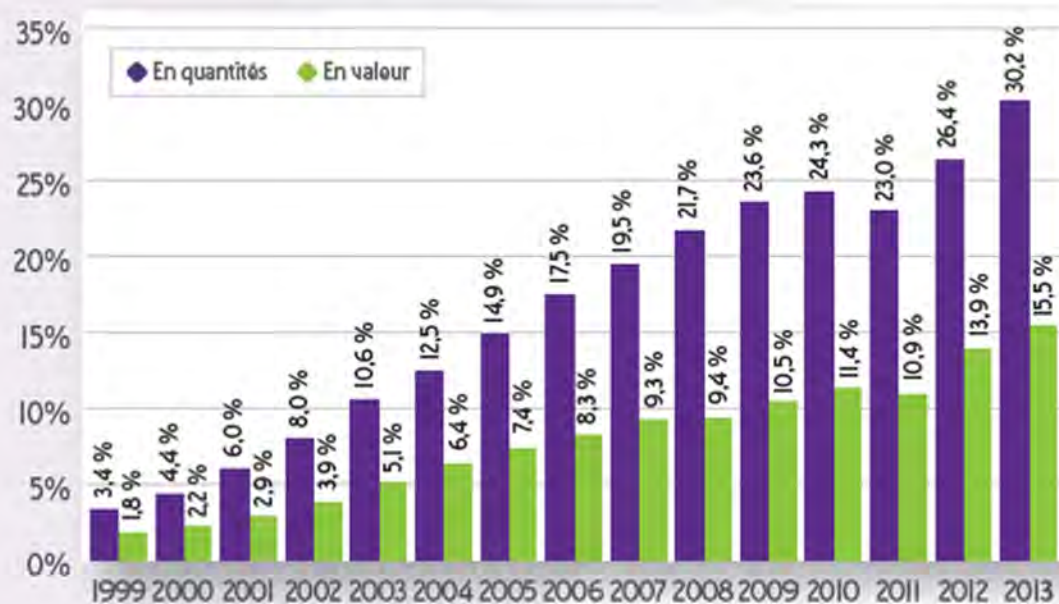
Figure 1 : évolution du chiffre d'affaires en milliards d'euros des spécialités pharmaceutiques en France



Source : ANSM

Annexe 13: Evolution de la part des génériques dans le marché des spécialités remboursables (ANSM)

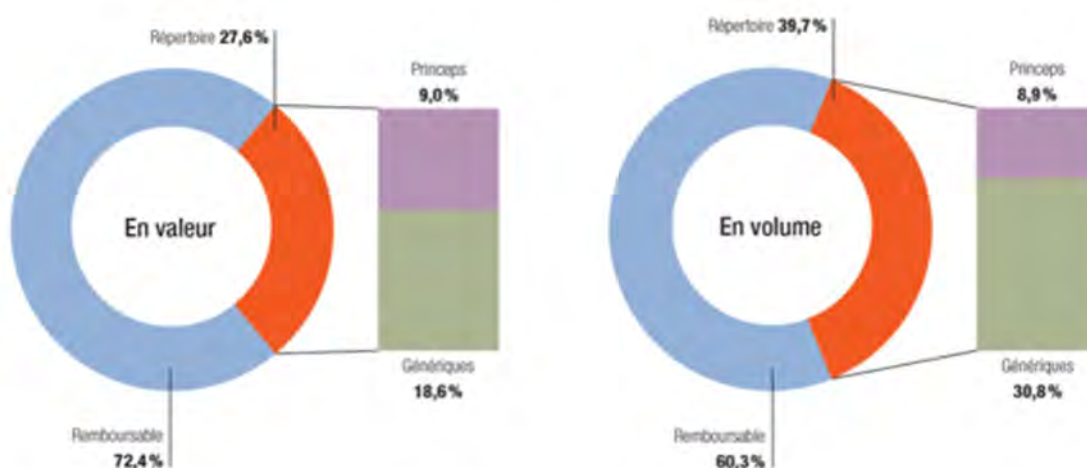
Figure 4 : évolution de la part des génériques dans le marché des spécialités remboursables



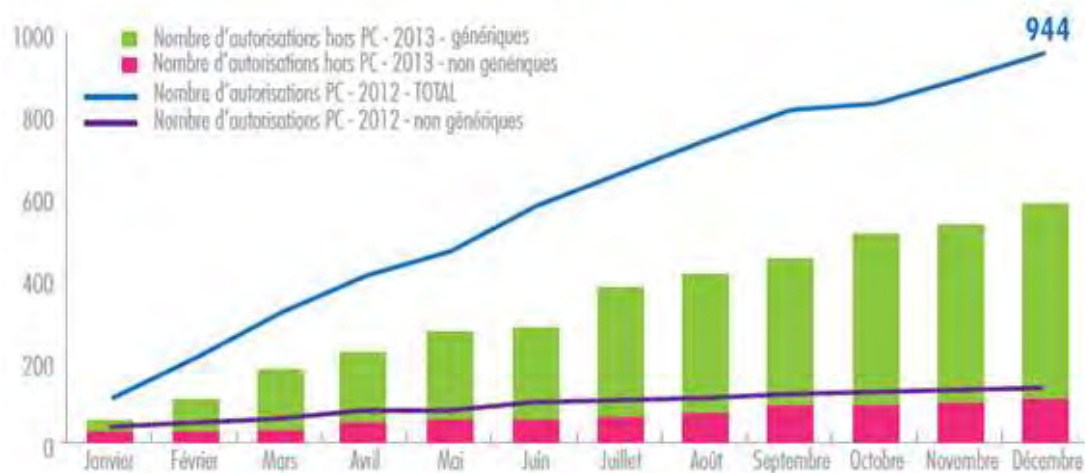
Annexe 14: Marché des génériques en valeur et en volume en 2013 (LEEM)

07 MARCHÉ DES GÉNÉRIQUES EN VALEUR ET EN VOLUME EN 2013

Source : Leem d'après Gers.



**AMM autorisées en cumulé en nombre de spécialités -
Hors procédures centralisées - comparaison 2012 vs 2013**



DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES**Food and Drug Administration**

(Docket No. 00D-1513)

Guidance for Industry on Bioavailability and Bioequivalence Studies for Orally Administered Drug Products—General Considerations; Availability**AGENCY:** Food and Drug Administration, HHS.**ACTION:** Notice.

SUMMARY: The Food and Drug Administration (FDA) is announcing the availability of a guidance for industry entitled "Bioavailability and Bioequivalence Studies for Orally Administered Drug Products—General Considerations." This guidance provides recommendations to sponsors and applicants intending to submit bioavailability (BA) and/or bioequivalence (BE) information on investigational new drug applications (IND's), new drug applications (NDA's), abbreviated new drug applications (ANDA's), and their supplements, to the Center for Drug Evaluation and Research (CDER). This guidance provides general information on how to comply with the BA and BE requirements for orally administered dosage forms under the bioavailability and bioequivalence requirements regulations. It is not a set of platform common guidelines designed to reduce or eliminate the need for FDA drug-specific guidance.

DATES: Submit written comments on agency guidance at any time.

ADDRESSES: Copies of this guidance for industry are available on the Internet at <http://www.fda.gov/cder/guidance/index.htm>. Submit written requests for single copies of "Bioavailability and Bioequivalence Studies for Orally Administered Drug Products—General Considerations" to the Drug Information Branch (HFD-210), Center for Drug Evaluation and Research, Food and Drug Administration, 5600 Fishers Lane, Rockville, MD 20857. Send one self-addressed adhesive label to assist that office in processing your requests. Submit written comments on the guidance to the Dockets Management Branch (HFA-305), Food and Drug Administration, 5600 Fishers Lane, rm. 1063, Rockville, MD 20852.

FOR FURTHER INFORMATION CONTACT: Mel-Ling Chen, Center for Drug Evaluation and Research (HFD-350), Food and Drug Administration, 5600 Fishers Lane, Rockville, MD 20857, 301-594-5658.

SUPPLEMENTARY INFORMATION:**I. Background**

FDA is announcing the availability of a guidance for industry entitled "Bioavailability and Bioequivalence Studies for Orally Administered Drug Products—General Considerations." This guidance provides recommendations to sponsors and applicants intending to provide BA and BE information to IND's, NDA's, ANDA's, and their supplements that complies with the BA and BE requirements in part 320 [21 CFR part 320] as it applies to dosage forms intended for oral administration.

In September 1999, FDA announced the availability of a draft guidance entitled "BA and BE Studies for Orally Administered Drug Products—General Considerations" (64 FR 45409, September 3, 1999). When the draft guidance was published, FDA requested comments on the use of the new criteria. A total of 16 public comments were received. Most of these comments were supportive of the recommendations in the draft guidance, but FDA received a number of comments that expressed concern about the use of the individual BE criterion.

The public comments fell into four general categories as follows: (1) Comments on the justification for an individual BE criterion (absence of documentation of public health risk, absence of evidence that subject-by-formulation interaction is clinically relevant); (2) comments on the burden of conducting replicate study designs (recruitment costs, institutional review board approval, capacity constraints, study delays, increased monitoring for adverse drug reactions, subject dropouts, increased drug exposure, and increased volume of blood collected); (3) comments on statistical issues (aggregate versus disaggregate criterion, discontinuity, and mean/variance trade-off); and (4) miscellaneous comments (experimental aspects of 2-year period recommended in the notice, absence of community consensus, barriers to international harmonization and globalization).

II. Discussion

Many aspects of this guidance represent departures from past practices used to document BE. The general intent of many of these changes is to reduce the regulatory burden while maintaining sound scientific principles consistent with public health objectives. Examples of ways these changes might reduce the regulatory burden include: (1) Enabling biowaivers (i.e., waivers of in vivo BE studies) for lower strengths

of modified-release dosage forms; (2) eliminating multiple dose BE studies for modified-release dosage forms; (3) enabling biowaivers for higher strengths of immediate-release dosage forms; and (4) reducing emphasis on measuring metabolites in BE studies.

FDA acknowledges the public concerns about the use of the individual criterion for BE studies. These concerns were also considered in a meeting of the Advisory Committee for Pharmaceutical Science on September 23, 1999 (September 23 meeting). The committee concluded that replicate study designs should be recommended for modified-release drug products and should be strongly encouraged for other drug products, subject to certain exceptions.

In finalizing the guidance, FDA has followed the advisory committee's recommendations. FDA believes that replicate study designs offer significant advantages compared to nonreplicate designs. Replicate study designs: (1) Allow comparison of within-subject variances for the test and reference products; (2) indicate whether a test product exhibits higher or lower within-subject variability in the BA measures when compared to the reference product; (3) suggest whether a subject-by-formulation interaction may be present; (4) provide more information about factors underlying formulation performance; and (5) reduce the number of subjects needed in the BE study.

In accordance with the advisory committee's recommendation, FDA recommends in the guidance the use of an average BE criterion for both replicate and nonreplicate studies. A further committee conclusion in the September 23 meeting was that an individual BE criterion can be used to allow market access of drug products in compelling circumstances. For this reason, the guidance states that sponsors have the option to choose an individual criterion for highly variable drugs. The use of an individual criterion with reference scaling in this circumstance can permit a further reduction in the number of subjects in BE studies. Reduction in the number of subjects in BE studies of highly variable drugs is in keeping with the basic regulatory principle that no unnecessary human research should be done (5 320.25(a)(7)).

By continuing to recommend the use of the average BE criterion in most circumstances, the agency has addressed many of the public comments expressing concern about the use of the individual BE criterion. To avoid a large test and reference difference, constraints on the allowable difference has been recommended in this guidance. Use of the individual BE criterion for highly

variable drugs is expected to occur rarely, in these instances, FDA believes that all relevant statistical issues have been sufficiently resolved and that no important public health risk will arise if the criterion is used to allow market access.

This guidance replaces the following guidances: (1) "Guidelines for the Evaluation of Controlled Release Drug Products" (April 1984); (2) "Oral Extended (Controlled) Release Dosage Form: In Vivo Bioequivalence and In Vitro Dissolution Testing" (September 1993); (3) "Statistical Procedures for Bioequivalence Studies Using a Standard Two-Treatment Crossover Design" (July 1992); (4) the preliminary draft guidance on "In Vivo Bioequivalence Studies Based on Population and Individual Bioequivalence Approaches" (October 1997), and (5) the draft guidance on "BA and BE Studies for Orally Administered Drug Products—General Considerations." This guidance supersedes any prior guidance, or any relevant part of a prior guidance issued to assist sponsors in meeting the requirements in part 320.

This level 1 guidance is being issued consistent with FDA's good guidance practices (65 FR 58468, September 19, 2000). This guidance document represents the agency's current thinking on BA and BE studies for orally administered drug products. It does not create or confer any rights for or on any person and does not operate to bind FDA or the public. An alternative approach may be used if such an approach satisfies the requirements of the applicable statutes and regulations.

Interested persons may submit written comments on the guidance to the Dockets Management Branch (address above). Two copies of any comments are to be submitted, except that individuals may submit one copy. Comments are to be identified with the docket number found in brackets in the heading of this document. The guidance and received comments are available for public examination in the Dockets

Management Branch between 9 a.m. and 4 p.m., Monday through Friday.

Dated: October 14, 2000.
Margaret M. Dotzel,
Associate Commissioner for Policy
(FR Doc. 00-27602 Filed 10-26-00; 6:45 am)
BILLING CODE 4150-01-F

DEPARTMENT OF HOUSING AND URBAN DEVELOPMENT

[Docket No. FH-8561-N-87]

Notice of Submission of Proposed Information Collection to OMB; Uniform Physical Standards and Physical Inspection Requirements for Certain HUD Housing, Administrative Process for Assessment of Insured and Assisted Properties

AGENCY: Office of the Chief Information Officer, HUD.

ACTION: Notice.

SUMMARY: The proposed information collection requirements described below have been submitted to the Office of Management and Budget (OMB) for review, as required by the Paperwork Reduction Act. The Department is soliciting public comments on the subject proposal.

DATES: Comments Due Date: November 27, 2000.

ADDRESSES: Interested persons are invited to submit comments regarding this proposal. Comments should refer to the proposal by name and/or OMB approval number (2512-0369) and should be sent to: Joseph F. Lackey, Jr., OMB Desk Officer, Office of Management and Budget, Room 10235, New Executive Office Building, Washington, DC 20503.

FOR FURTHER INFORMATION CONTACT: Wayne Eddins, Reports Management Officer, O, Department of Housing and Urban Development, 451 Seventh Street, Southwest, Washington, DC 20410; e-mail: Wayne.Eddins@HUD.gov; telephone (202) 708-2374. This is not a toll-free number. Copies of the proposed

forms and other available documents submitted to OMB may be obtained from Mr. Eddins.

SUPPLEMENTARY INFORMATION: The Department has submitted the proposal for the collection of information, as described below, to OMB for review, as required by the Paperwork Reduction Act (44 U.S.C. Chapter 35). The Notice lists the following information: (1) The title of the information collection proposal; (2) the office of the agency to collect the information; (3) the OMB approval number, if applicable; (4) the description of the need for the information and its proposed use; (5) the agency form number, if applicable; (6) what numbers of the public will be affected by the proposal; (7) how frequently information submissions will be required; (8) an estimate of the total number of hours needed to prepare the information submission including number of respondents, frequency of response, and hours of response; (9) whether the proposal is new, an extension, reinstatement, or revision of an information collection requirement; and (10) the name and telephone number of an agency official familiar with the proposal and of the OMB Desk Officer for the Department.

This Notice also lists the following information:

Title of Proposal: Uniform Physical Standards and Physical Inspection Requirements for Certain HUD Housing, Administrative Process for Assessment of Insured and Assisted Properties.

OMB Approval Number: 2512-0369.

Form Numbers: None.

Description of the Need for the Information and its Proposed Use: The uniform physical condition standards are intended to ensure that HUD program participants carry out their legal obligations to maintain HUD properties in a condition that is decent, safe, sanitary, and in good repairs.

Respondents: Business or Other For-Profit.

Frequency of Submission: Annually.

Reporting Burden:

Number of respondents	Frequency of response	Hours per response	Burden hours
7,100	1	8	151,900

Annexe 17: Définition FDA de la biodisponibilité

Bioavailability is defined in § 320.1 as:

the rate and extent to which the active ingredient or active moiety is absorbed from a drug product and becomes available at the site of action. For drug products that are not intended to be absorbed into the bloodstream, bioavailability may be assessed by measurements intended to reflect the rate and extent to which the active ingredient or active moiety becomes available at the site of action.

Annexe 18: Définition FDA de la bioéquivalence

Bioequivalence is defined in § 320.1 as:

the absence of a significant difference in the rate and extent to which the active ingredient or active moiety in pharmaceutical equivalents or pharmaceutical alternatives becomes available at the site of drug action when administered at the same molar dose under similar conditions in an appropriately designed study.

Annexe 19: Composition FDA du repas d'une étude nourrie

Fed studies test meal composition:

We recommend that applicants conduct fed BE studies using meals that provide the greatest effects on gastrointestinal (GI) physiology and systemic drug availability. We recommend a high-fat (approximately 50 percent of total caloric content of the meal), high-calorie (approximately 800 to 1000 calories) test meal for fed BE studies. This test meal should derive approximately 150, 250, and 500-600 calories from protein, carbohydrate, and fat, respectively. The caloric breakdown of the test meal should be provided in the study report.

Annexe 20: Définition FDA de proportionnellement similaire

This guidance defines *proportionally similar* in the following ways:

- All active and inactive ingredients are in similar proportion between different strengths (e.g., a tablet of 50-mg strength has all the inactive ingredients—almost exactly half that of a tablet of 100-mg strength, and almost twice that of a tablet of 25-mg strength).
- For high-potency drug substances (where the amount of active drug substance in the dosage form is relatively low): (1) the total weight of the dosage form remains nearly the same for all strengths (within $\pm 10\%$ of the total weight of the strength on which a biostudy was performed), (2) the same inactive ingredients are used for all strengths, and (3) the change in any strength is obtained by altering the amount of the active ingredients and one or more of the inactive ingredients.
- Active and inactive ingredients that are not in similar proportion between different strengths can be considered proportionally similar with adequate justification (such as dosage form proportionality studies that demonstrate equivalent in vivo bioavailability).

Annexe 21: Base légale de la ligne directrice du 20 Janvier 2010 de l'EMA

This guideline should be read in conjunction with the Annex I of Directive 2001/83/EC as amended, as well as European and ICH guidelines for conducting clinical trials, including those on:

- General Considerations for Clinical Trials (ICH topic E8, CPMP/ICH/291/95)
- Guideline for Good Clinical Practice (ICH E6 (R1), CPMP/ICH/135/95)
- Statistical Principles for Clinical Trials (ICH E9, CPMP/ICH/363/96)
- Structure and Content of Clinical Study Reports (ICH E3, CPMP/ICH/137/95)
- CHMP guidance for users of the centralised procedure for generics/hybrid applications (EMA/CHMP/225411/2006)
- Pharmacokinetic studies in man (Eudralex, Volume 3, 3CC3a)
- Modified Release Oral and Transdermal Dosage Forms: Sections I and II (CPMP/QWP/604/96, CPMP/EWP/280/96)
- Fixed Combination Medicinal Products (CPMP/EWP/240/95 Rev 1)
- Requirements for clinical documentation for orally inhaled products (OIP) including the requirements for demonstration of therapeutic equivalence between two inhaled products for use in the treatment of Asthma and Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD) (CPMP/EWP/4151/00 rev 1)
- Clinical Requirements for Locally Applied, Locally Acting Products containing Known Constituents (CPMP/EWP/239/95)

Annexe 22: Recommandations EMA pour les tablettes orodispersibles

Orodispersible tablets

An orodispersible tablet (ODT) is formulated to quickly disperse in the mouth. Placement in the mouth and time of contact may be critical in cases where the active substance also is dissolved in the mouth and can be absorbed directly via the buccal mucosa. Depending on the formulation, swallowing of the e.g. coated substance and subsequent absorption from the gastrointestinal tract also will occur. If it can be demonstrated that the active substance is not absorbed in the oral cavity, but rather must be swallowed and absorbed through the gastrointestinal tract, then the product might be considered for a BCS based biowaiver (see Appendix III). If this cannot be demonstrated, bioequivalence must be evaluated in human studies.

If the ODT test product is an extension to another oral formulation, a 3-period study is recommended in order to evaluate administration of the orodispersible tablet both with and without concomitant fluid intake. However, if bioequivalence between ODT taken without water and reference formulation with water is demonstrated in a 2-period study, bioequivalence of ODT taken with water can be assumed.

If the ODT is a generic/hybrid to an approved ODT reference medicinal product, the following recommendations regarding study design apply:

- if the reference medicinal product can be taken with or without water, bioequivalence should be demonstrated without water as this condition best resembles the intended use of the formulation. This is especially important if the substance may be dissolved and partly absorbed in the oral cavity. If bioequivalence is demonstrated when taken without water, bioequivalence when taken with water can be assumed.
- if the reference medicinal product is taken only in one way (e.g. only with water), bioequivalence should be shown in this condition (in a conventional two-way crossover design).
- if the reference medicinal product is taken only in one way (e.g. only with water), and the test product is intended for additional ways of administration (e.g. without water), the conventional and the new method should be compared with the reference in the conventional way of administration (3 treatment, 3 period, 6 sequence design).

Annexe 23: Recommandations EMA pour les solutions orales

Oral solutions

If the test product is an aqueous oral solution at time of administration and contains an active substance in the same concentration as an approved oral solution, bioequivalence studies may be waived. However if the excipients may affect gastrointestinal transit (e.g. sorbitol, mannitol, etc.), absorption (e.g. surfactants or excipients that may affect transport proteins), *in vivo* solubility (e.g. co-solvents) or *in vivo* stability of the active substance, a bioequivalence study should be conducted, unless the differences in the amounts of these excipients can be adequately justified by reference to other data. The same requirements for similarity in excipients apply for oral solutions as for Biowaivers (see Appendix III, Section IV.2 Excipients).

In those cases where the test product is an oral solution which is intended to be bioequivalent to another immediate release oral dosage form, bioequivalence studies are required.

Annexe 24: Recommandations EMA pour formulation liposomale

- *Liposomal formulations*: Pharmacokinetic issues related to liposomal formulations for iv administration require special considerations which are not covered by the present guideline.

Annexe 25: Recommandations EMA pour formulation micellaire

- *Micelle forming formulations*: micelle solutions for intravenous administration may be regarded as ‘complex’ solutions and therefore normally do not qualify for a biowaiver. However, micelle formulations may be considered eligible for a biowaiver where:
 - (a) rapid disassembly of the micelle on dilution occurs and the drug product is not designed to control release or disposition
 - (b) the method and rate of administration is the same as the currently approved product
 - (c) the excipients do not affect the disposition of the drug substance.

In these cases, the composition of the micelle infusion, immediately before administration, should be qualitatively and quantitatively the same as that currently approved and satisfactory data should be provided to demonstrate similar physicochemical characteristics. For example, the critical micelle concentration, the solubilisation capacity of the formulation (such as Maximum Additive Concentration), free and bound active substance and micelle size.

Annexe 26: Recommandations EMA pour émulsion

- *Emulsions*: emulsions normally do not qualify for a biowaiver. However, emulsion formulations may be considered eligible for a biowaiver where:
 - (a) the drug product is not designed to control release or disposition
 - (b) the method and rate of administration is the same as the currently approved product

In these cases, the composition should be qualitatively and quantitatively the same as the currently approved emulsion and satisfactory data should be provided to demonstrate very similar physicochemical characteristics, including size distribution of the dispersed lipid phase, and supported by other emulsion characteristics considered relevant e.g. surface properties, such as Zeta potential and rheological properties.

6.3. Annexe Modèles d'analyse de pharmacocinétique

Annexe 27: Paramètres pharmacocinétiques disponibles dans le module NCA

Parameter Name	Parameter Name	Parameter Name
Rsqr	AUC_%Extrap_pred	AUMClast
Rsqr_adjusted	Tmin	AUMCINF_obs
Corr_XY	Cmin	AUMC_%Extrap_obs
No_points_lambda_z	Cavg	AUMCINF_pred
Lambda_z	Fluctuation%	AUMC_%Extrap_pred
Lambda_z_lower	CLss_F	MRTlast
Lambda_z_upper	MRTINF_obs	Vz_obs
HL_Lambda_z	MRTINF_pred	Cl_obs
Tlag	Vz_F	Vz_pred
Tmax	Accumulation_Index	Cl_pred
Cmax	C0	
Cmax_D	AUC_%Back_Ext_obs	
Tlast	AUC_%Back_Ext_pred	
Clast	CLss	
AUMClast	Vz	
AUMCall	Vss_obs	
AUCINF_obs	Vss_pred	
AUCINF_D_obs	Vz_F_obs	
AUC_%Extrap_obs	Cl_F_obs	
AUCINF_pred	Vz_F_pred	
AUCINF_D_pred	Cl_F_pred	

Annexe 28: Tableaux résultats effet genre

Occasion	Dose (mg/kg/day)	AUC _{last} Male (µg.h/mL)	AUC _{last} Female (µg.h/mL)	AUC _{last} Male/Female Ratio
Day 1	20	6.55	6.62	0.990
	60	25.6	23.6	1.08
	100	44.1	43.0	1.03
Week 4	20	6.24	6.11	1.02
	60	16.8	22.1	0.761
	100	36.0	42.5	0.846

Occasion	Dose (mg/kg/day)	C _{max} Male (µg/mL)	C _{max} Female (µg/mL)	C _{max} Male/Female Ratio
Day 1	20	5.85	6.43	0.909
	60	20.1	17.7	1.14
	100	33.0	31.7	1.04
Week 4	20	4.85	4.98	0.974
	60	12.5	17.4	0.720
	100	26.9	28.8	0.936

Annexe 29: Tableaux résultats effet temps

Gender	Dose (mg base/kg/day)	Animal	AUC _{last} Day1 (µg.h/mL)	AUC _{last} Week4 (µg.h/mL)	AUC _{last} Week4/Day1 Ratio
Female	20	10	7.49	7.78	1.04
		11	6.40	4.97	0.777
		12	5.96	5.59	0.937
		Mean	6.62	6.11	0.918

Utilisation de modèles

Objectif

Le but de ce protocole est d'utiliser correctement les modèles PK dans le logiciel Phoenix WinNonlin.

Principales étapes

L'assemblage des modules étant déjà prédéfini par avance les différentes étapes consisteront à :

- Charger correctement le modèle au format « .wnlt » dans un fichier phoenix (format « .phuproj »)
- Apporter les informations nécessaires au fonctionnement du modèle et les mettre correctement en forme
- Intégrer les données correctement mises en forme dans le modèle
- Lancer le modèle

Charger le modèle

1/ Ouvrir le logiciel Phoenix WinNonlin

2/ Ouvrir un nouveau fichier phoenix

3/ Sélectionner le « Workflow » en cliquant une fois sur l'icône « Workflow » du fichier phoenix d'intérêt. Cliquer sur « file » puis « import » et sélectionner le modèle approprié (s'il existe plusieurs versions du modèle, prendre la version la plus à jour)

Informations nécessaires et mise en forme

Selon le modèle utilisé, les données requises ou le format des données requises peut différer. Pour connaître les données et le format requis, se référer aux tableaux ci-dessous :

Informations nécessaires

Colonne/Modèle	PK/TK	PK/BD/BE
Working number	X	X
Order number	R	X
Gender	S	X
Period		X
Group	X	X
Treatment		X
Dose_type	X	X
Theoretical_dose	X	X
Dose_	X	
Daily_dose	X	X
Dosage	R	
Occasion	R	
Theoretical_sampling_time	X	X
Sampling_time	X	X
Concentration	R	X
Time of dose	X	X
Tau	X	

Définition et Mise en forme

Working_number = Numéro personnel de l'animal, format numérique

Order_number = Numéro attribué à l'animal lors d'une étude, format numérique

- Les « Working number » seront utilisés dans les graphiques et les tableaux. L'utilisation des « Order number » est possible après modification dans le « setup » du module.

Gender = Genre de l'animal, format texte UNIQUEMENT selon le modèle suivant : « Male » ou « Female »

Attention ! Une mauvaise orthographe du genre peut entraîner le mauvais fonctionnement du modèle

Period = Période, format numérique (1, 2, 3...) ou texte (P1, P2, P3...)

Group = Groupe de l'animal, format numérique

Attention ! Pour les modèles PK/TK, le groupe 1 est par défaut le groupe contrôle, s'il n'y a pas ou au contraire s'il y a plusieurs groupes contrôles, modifier les groupes à exclure dans le fichier « Data wizard ».

Treatment = Traitement de référence (R) ou en test (T)

Dose_type = Voie d'administration, format texte UNIQUEMENT selon les modèles suivant : Extravasculaire, IV bolus ou IV infusion

Attention ! Une mauvaise orthographe de la voie d'administration peut entraîner le non fonctionnement du modèle

Theoretical_dose = Dose théorique, format numérique

- Les doses réelles (ou théoriques si on ne connaît pas la dose réelle) seront utilisées. L'utilisation des doses théoriques est possible après modifications dans le « setup » du module

Dose_ = Dose basse, intermédiaire ou haute, format texte UNIQUEMENT selon les modèles suivant : L / ou H

Daily_dose = Dose totale de la journée, format numérique

Dosage = Posologie de la dose, format texte, (exemple : si la molécule est prise 3 fois par jour noter dose de la prise/nombre totale de prises). Si la prise n'a lieu qu'une fois par jour, noter uniquement la dose (exemple : dose de la prise).

- Dans les graphiques, la colonne dosage sera utilisée mais sera notée dose dans la légende. Il en sera de même dans les tableaux.

Occasion = Semaine de prélèvement, format numérique avec comme modèle : « Day 1 » et « Week 4 » pour les TK week 4, « Day 1 », « Week 4 » et « Week 13 » pour les TK week 13 et « Day 1 », « Week 14 » et « Week 26 » pour les TK week 26.

(Attention : l'occasion devra être calculée en semaine et choisir le modèle PK/TK approprié sinon le modèle ne fonctionnera pas correctement. L'espace entre Day/Week et 1/4/13/26 devra être conservé ! L'utilisation de jour est possible mais demandera une modification complète du « workflow » « Time effect ».

Theoretical_sampling_time = Temps théorique de prélèvement, format numérique

- Les temps théoriques de prélèvements seront utilisés. L'utilisation des temps réels (« sampling time ») est possible après modification dans le setup du module.

Sampling_time = Temps de prélèvement, format numérique

Concentration = Concentration, format texte

Time of dose = Temps de l'administration (généralement zéro), format numérique

Tau = Temps supposé de la concentration minimale afin que cette valeur soit reportée dans la case concentration attribuée au temps zéro lors des administrations suivant la première administration.

- Pour le premier jour du traitement, entrer la valeur 0
- Pour les jours suivant le premier jour du traitement, entrer la valeur du temps de prélèvement correspondant au temps de la concentration minimale détectable.

Attention ! Bien vérifier dans le « core output » du NCA que la valeur minimale ou zéro est bien prise pour le temps zéro ! Dans le cas d'une valeur BLQ changée en valeur LLOQ/2 utiliser zéro comme valeur de la concentration minimale.

Attention ! L'utilisation du « underscore » est OBLIGATOIRE dans le nom des colonnes et dans la création d'une nouvelle valeur dans le module « Data wizard ».

Attention ! Vérifier les légendes en abscisses et ordonnées de tous les graphiques afin qu'ils correspondent à votre étude.

Intégrer les données dans le module « Raw data »

- 1/ Cliquer sur l'icône « Workflow » du modèle puis sur le module « Raw data »
- 2/ Charger vos données CORRECTEMENT mises en forme et faire correspondre les lignes et colonnes (si les noms correspondent la correspondance doit se faire automatiquement)
- 3/ Lancer le module « Raw data » en cliquant sur l'icône exécuter ou en appuyant sur la touche F7

Lancer le modèle

AVANT de lancer le modèle, créer et charger les règles BLQ (concentration et PK) dans les modules BLQ C OU BLQ PK respectivement.

Attention ! Il est préférable de lancer le modèle « workflow » par « workflow ».

! Si après avoir lancé le modèle une erreur apparaît, il est préférable de supprimer et re-charger un nouveau modèle !

Nombre de décimales ou chiffres significatifs

Le choix entre nombre de décimales ou chiffres significatifs a déjà été pré-défini dans les différents modèles tout comme le nombre de décimales et le nombre de chiffres significatifs. Il est possible de le modifier dans le setup du module table.

Title : Selected review and synthesis of the guidelines for regulatory studies and presentation and evaluation of pharmacokinetics analysis templates developed within a subcontractor for the pharmaceutical industry.

ABSTRACT :

Research and development of new drugs is subject to many rules. These rules arise from the very essence of the drugs that ought to be safe, efficient and of quality. In order to ensure compliance with those criteria, many studies are carried out, themselves having to abide by the guidelines set out by health agencies.

To meet increasingly important requirements and to stay in the innovation race, the pharmaceutical industry had to evolve, which resulted in its specialization. In order to do that, global pharmaceutical laboratories resorted to job outsourcing. At first, this concerned only manufacturing/production functions, then, more recently, it tackled R&D, marketing and sales functions.

The research world may be subject to partnership and/or buying-up systems, but the development sector is governed by a set of contracts. Pharmaceutical laboratories use the services of specific subcontractors for the pharmaceutical industry. Thus, the pharmaceutical outsourcing industry must be aware of ongoing regulations and must be capable of quickly meeting study expectations with increasingly shorter turnaround time.

Nicolas Cottura

Titre : Étude et synthèse des lignes directrices d'études réglementaires et présentation et évaluation des modèles d'analyse de pharmacocinétique développés chez un sous-traitant pharmaceutique

RESUME : La recherche et le développement d'un nouveau médicament est soumis à de nombreuses règles. Ces règles sont dues à l'identité propre du médicament qui doit être sûr, efficace et de qualité. Pour s'assurer de ces critères, de nombreuses études sont réalisées et elles-mêmes doivent suivre les lignes directrices énoncés par les agences de santé.

Pour répondre à une demande d'exigences de plus en plus importante et rester dans la course à l'innovation, l'industrie pharmaceutique a dû muter et s'est spécialisée. Pour cela, les grands laboratoires pharmaceutiques mondiaux ont recours à l'externalisation des métiers. À l'origine, les métiers touchés étaient ceux de la fabrication/production puis plus récemment cela toucha des fonctions de recherche et développement, marketing et commerciales.

Si le monde de la recherche bénéficie d'un jeu de partenariat et/ou de rachat, celui du développement est régi par celui des contrats. Les grands laboratoires pharmaceutiques ont recours aux services de sociétés dites de sous-traitance. L'industrie de la sous-traitance pharmaceutique doit donc connaître la réglementation en cours et pouvoir répondre rapidement aux demandes d'études avec un délai de rendu de résultats de plus en plus court.

Titre et résumé en Anglais : voir au recto de la dernière page de la thèse

DISCIPLINE administrative : Recherche et développement

MOTS-CLES : Pharmacocinétique, lignes directrices, toxicocinétique, bioéquivalence et modèles

INTITULE ET ADRESSE DE L'UFR OU DU LABORATOIRE :

**UFR des Sciences Pharmaceutiques
Université Paul Sabatier Toulouse III
35 chemin des Maraîchers
31062 TOULOUSE Cedex 09**

Directeur de thèse : Madame Théodora Mezzasalma