

UE 6

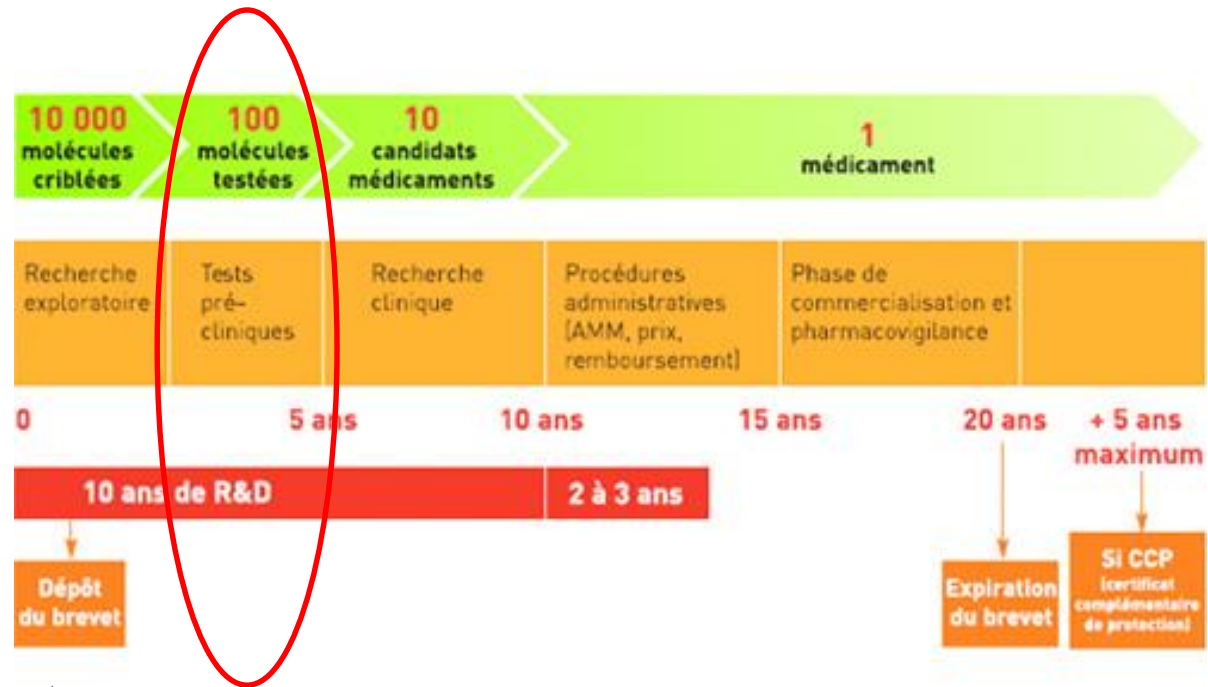
INITIATION À LA CONNAISSANCE DU MÉDICAMENT

**Développement préclinique
du médicament**

Développement préclinique du médicament



Développement préclinique



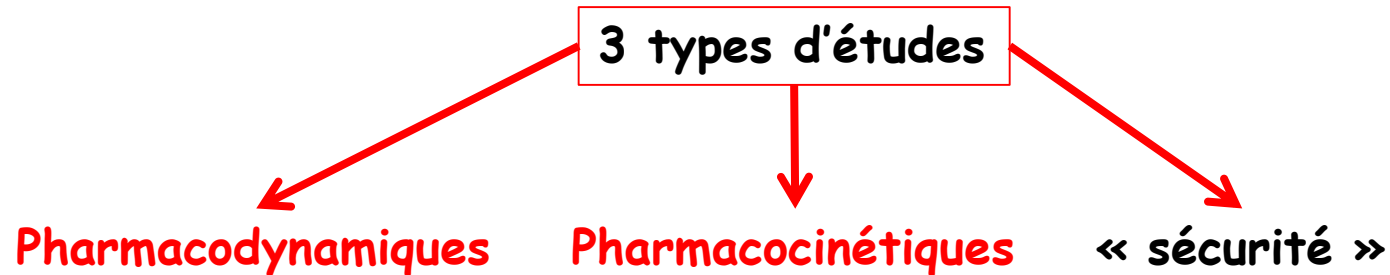
(D'après le LEEM: les entreprises du médicament)

Conception du médicament

Développement préclinique du médicament

Définition:

Ensemble des études permettant d'acquérir les **informations indispensables au préalable à la mise en œuvre d'une première administration chez l'homme.**



Déclaration
d'Helsinki

La question doit être valide et sûre (prérequis)

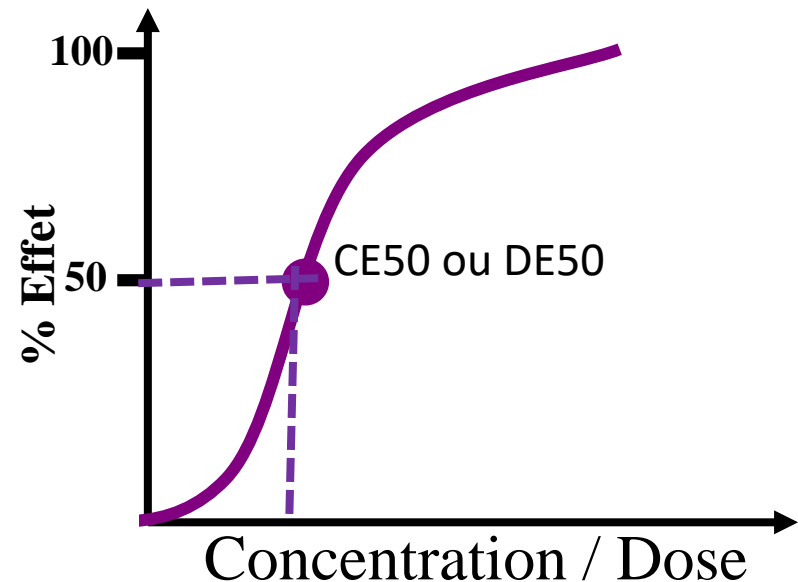
La recherche est justifiée si elle se fonde sur le dernier état des connaissances et possède des prérequis précliniques suffisants

Développement préclinique du médicament

A. Les études pharmacodynamiques

Elles reposent sur une batterie de tests « in vitro » et « vivo » dans des modèles appropriés permettant de:

1. **Définir le mode d'action** et les caractéristiques de l'interaction sur la cible visée;
2. **Connaitre le profil d'interaction** de la molécule avec d'autres cibles potentiellement responsables d'effet latéraux
3. **Quantifier l'effet de la molécule**
 - a. Relation effet-dose
 - b. Relation effet-temps...



Développement préclinique du médicament

B. Les études pharmacocinétiques (cf cours sur le sujet)

Etude du devenir du médicament dans l'organisme (ADME)

1. Absorption
2. Diffusion
3. Métabolisme
4. Excrétion

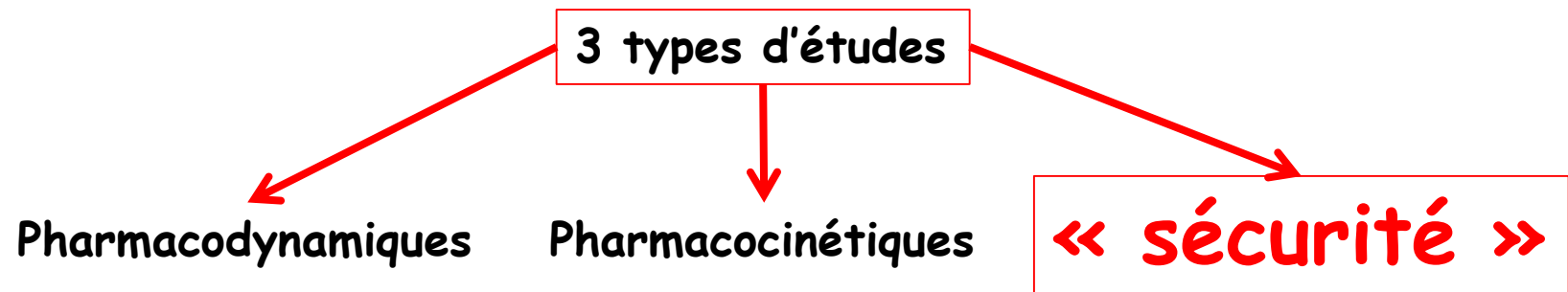
A noter que ces études sont:

- réalisées sur **3 espèces** animales différentes
- En utilisant **la voie d'administration la plus pertinente** cad celle qui sera utilisée chez l'homme

Développement préclinique du médicament

Définition:

Ensemble des études permettant d'acquérir les informations indispensables au préalable à la mise en œuvre d'une première administration chez l'homme.



Déclaration d'Helsinki

La question doit être valide et sûre (prérequis)

La recherche est justifiée si elle se fonde sur le dernier état des connaissances et possède des prérequis précliniques suffisants

Développement préclinique du médicament

- **Contexte juridique:**
 - **Réglementation** sous la responsabilité du Ministère de l'Agriculture, en application de la directive 2010/63/UE :
 - **Décret 2013-118 et arrêtés du 1^{er} février 2013**
 - Agrément des établissements utilisateurs
 - Origine des animaux...
 - Projet de recherche animale
 - Validé par un Comité d'Ethique de l'Expérimentation Animale (CEEA)
 - Autorisé par le Ministère de la Recherche
 - Résumé rendu publique (<http://www.enseignementsup-recherche.gouv.fr/>)

Les cellules contractiles du cœur, les cardiomyocytes (CM), se caractérisent chez l'individu sain et adulte par une surface de leur membrane latérale extrêmement structurée se caractérisant par une alternance périodique de creux et de crêtes dont les propriétés biomécaniques (élasticité) s'avèrent différentes. Les mécanismes/cellulaires qui contribuent à la formation des creux/crêtes du CM ne sont pas connus mais cette structuration, qui apparaît progressivement au cours de la maturation post-natale, ne devient complète qu'à l'âge adulte et est altérée précocement lors de l'insuffisance cardiaque.

Des résultats préliminaires indiquent que les CMs présentent une structuration plus ou moins organisée en fonction du compartiment cardiaque. Ainsi, la périodicité de l'alternance creux/crêtes et la hauteur des crêtes liées à l'accumulation de mitochondries subsarcolemmales (SSM) est moins importante au niveau du ventricule droit que dans le ventricule gauche et s'avère même quasi absente au niveau de l'oreillette droite. Le but de ce projet est donc d'augmenter expérimentalement la charge barométrique dans une cavité à faible pression, le ventricule droit, afin de vérifier si l'augmentation de la tension pariétale s'accompagne d'une modification du phénotype des CM et en particulier une modification de l'architecture de leur membrane cytoplasmique la rendant similaire à celle observée dans le ventricule gauche. La surcharge en pression du ventricule droit sera induite par l'injection d'une dose de monocrotaline. Dans ce modèle bien étudié la monocrotaline induit une augmentation des résistances artérielles pulmonaires et une augmentation de pression dans le ventricule droit. Les modifications éventuelles sur l'architecture de la membrane des CM du ventricule droit (périodicité creux/crêtes, hauteur des crêtes et densité des SSM) seront évaluées en microscopie électronique.

La règle des 3R sera appliquée dans le cadre de ce projet:

-Les conditions d'expérimentations feront l'objet de procédures de suivi du bien-être des animaux adaptées à l'expérience et aux potentiels effets indésirables de la monocrotaline sur l'état de santé global des animaux ;

-L'expérience a été organisée de manière afin de réduire au maximum le nombre d'animaux. En fonction des critères de jugement choisis, **40 rats** mâles au maximum seront nécessaires dont 20 dans le groupe traité et 20 dans le groupe contrôle.

-Il n'existe **pas à l'heure actuelle de moyens alternatifs** mieux comprendre le rôle de la tension pariétale en tant que déterminant essentiel de la structuration de la membrane du CM. Il est à noter que dans l'ischémie cardiaque, des anomalies profondes de cette architecture surviennent dans les heures qui suivent l'induction de l'infarctus. Ces anomalies sont sans doute à l'origine de la décompensation progressive des CM survivant à l'infarctus et donc impliquées dans l'évolution vers l'insuffisance cardiaques.

Développement préclinique du médicament

- **Contexte éthique**

- **Bien-être animal** (conditions d'élevage, formation des expérimentateurs)
- **Prise en charge de la douleur:**
 - parfois inévitable mais doit être systématiquement prévenue,
 - définition de « points d'arrêt » (perte de poids ou d'appétit, changement de comportement...)
- **Conditions d'anesthésie et d'euthanasie**
- **« Licéité » (règle des 3 R):** conformité à la loi et à l'éthique
 - **Remplacement:** substitution par une méthode de remplacement n'utilisant pas l'animal (8 méthodes approuvées: toxicité cutanée et oculaire uniquement)
 - **Réduction:** calcul statistique préalable, non répétition d'expériences déjà faites, sélection génétique (↓ variabilité inter-individus)
 - **Raffinement:** nourriture, eau, température, éclairage...

Développement préclinique du médicament

C. Les études dites « de sécurité »

Définition:

Etudes « **toxicologiques** » réalisées chez l'animal, dans le respect des bonnes pratiques et en suivant des **règles strictes** au préalable à la mise en œuvre d'une première administration chez l'homme.

Objectifs

Éliminer les candidats médicaments à risque toxique chez l'Homme:

- **toxicité** proprement dite
- **mutagénicité**
- **cancérogénèse**
- « **repro-toxicité** »

Les limites de ces études:

- La **transférabilité** à l'Homme n'est pas toujours vérifiée;
- Le potentiel de toxicité explique les **précautions d'emploi systématiques** lors de la commercialisation d'un nouveau médicament et la nécessité de poursuivre des études chez l'Homme.
- **le cadre de ces études est évolutif** et défini par l'ICH (International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use) (www.ich.org)

Développement préclinique du médicament

1. Etudes de toxicité a/ aiguë ou à dose unique impérativement terminées avant toute administration à l'homme.

Procédures:

- 2 espèces de mammifères (rat, souris),
- 2 voies d'administration
 - Celle prévue chez l'homme
 - Une voie systémique
- 2 semaines d'exposition minimum
- Sacrifice et examen macro et microscopique

Objectifs:

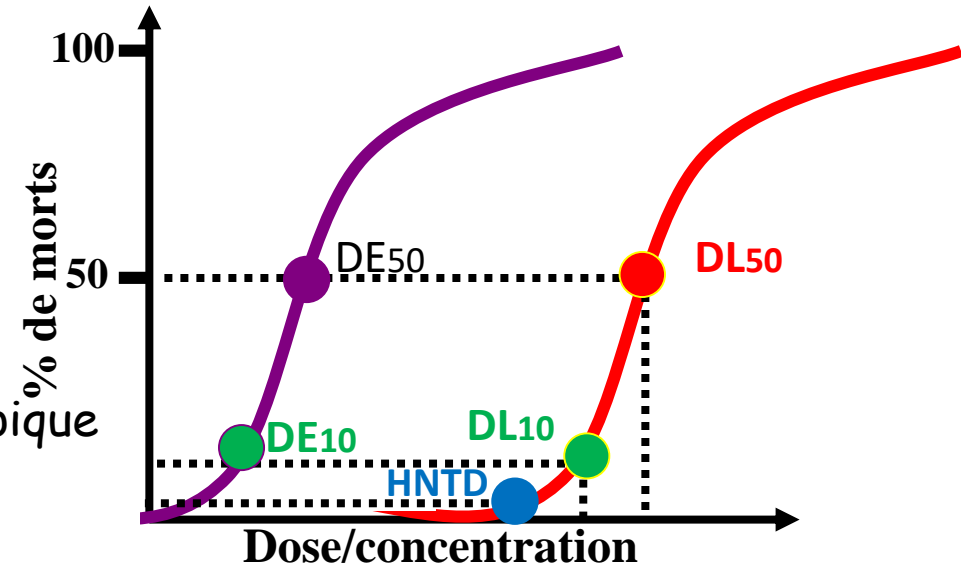
1. Déterminer:

- La **DL₁₀/CL₁₀** : dose (létale) tuant 10% des animaux
 - Valeur propre à une espèce à confronter à la DE_{10}
 - $DL_{10} / DE_{10} = \infty$
- la **HNTD** (highest non toxic dose): dose la plus forte et non toxique
- La Relation BSA/toxicité, (BSA: body surface area)

2. Autres paramètres: CL_{50}/DL_{50}

- dose (létale) tuant la moitié des animaux
- N'est plus obligatoire: 3R (réduction)

3. Orienter les études de toxicité chronique



Développement préclinique du médicament

1. b/ Etudes de toxicité b/ chronique ou à doses réitérées impérativement terminées avant toute administration à l'homme.

Définition

Etude **qualitative** et **quantitative** des phénomènes toxiques et de leur apparition en fonction du temps après administration répétée d'une substance ou d'une association de substances.

Procédures

- 1 **voie d'administration**: celle choisie pour les indications humaines.
- 2 **espèces animales** dont un non-rongeur (ex: rat et chien).
- 3 **doses** seront étudiées (faible, intermédiaire, forte)
- 2 **durées** possibles selon l'espèce étudiée:

Espèce	Durée de l'étude chez l'animal
rongeur	6 mois
Non rongeur	9 mois

Développement préclinique du médicament

1. b/ Etudes de toxicité b/ chronique ou à doses réitérées impérativement terminées avant toute administration à l'homme.

Objectifs

1/ Pendant l'exposition:

- Surveillance du poids, de la prise alimentaire...
- Evaluation comportementale...

2/ A l'issue de l'exposition:

- Analyse macroscopique de tous les organes
- Analyse microscopique des organes suspects
- Analyses biochimiques, hématologiques...
- Etudes toxico-cinétiques pour préciser le degré d'exposition systémique
 - En fonction de la dose
 - De la durée de l'exposition

3. Déterminer la dose maximale sans effet toxique :

- NOAEL**: (Non Observed Adverse Effect Level) indispensable au choix de la première dose administrée chez l'homme (phase I): 1/10^{ème} NOAEL
- NOEL**: (Non observed Effect Level, USA)

Développement préclinique du médicament

2. Etudes de mutagenèse

Pas toujours terminées avant toute administration à l'homme

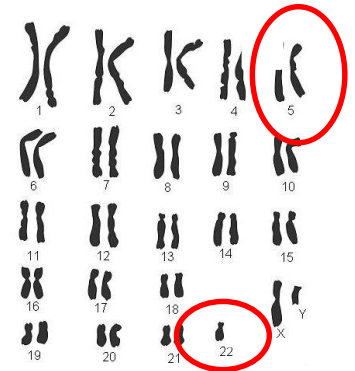
Définition:

Tests réalisés dans le but de détecter un éventuel **effet mutagène ou clastogène** de la molécule et évaluer le **risque potentiel pour les générations futures** ainsi que le **risque de cancer** pour la génération exposée.

Procédures: tests « in vitro » et « in vivo »

1/, deux types de tests sont **obligatoirement** réalisés :

- 1 test de mutation génique
- 1 test d'aberration chromosomique (clastogénicité)



2/ Des test **supplémentaires sont effectués en cas de doute** et dans tous les cas avant les essais cliniques de phase II :

- 1 test de mutation génique sur bactéries (**test d'Ames**)
- 1 test d'aberrations chromosomiques « in vitro » sur cellules de mammifères ou sur lymphome murin
- 1 test d'aberrations chromosomiques « in vivo » sur cellules hématopoïétiques de rongeur.

Développement préclinique du médicament

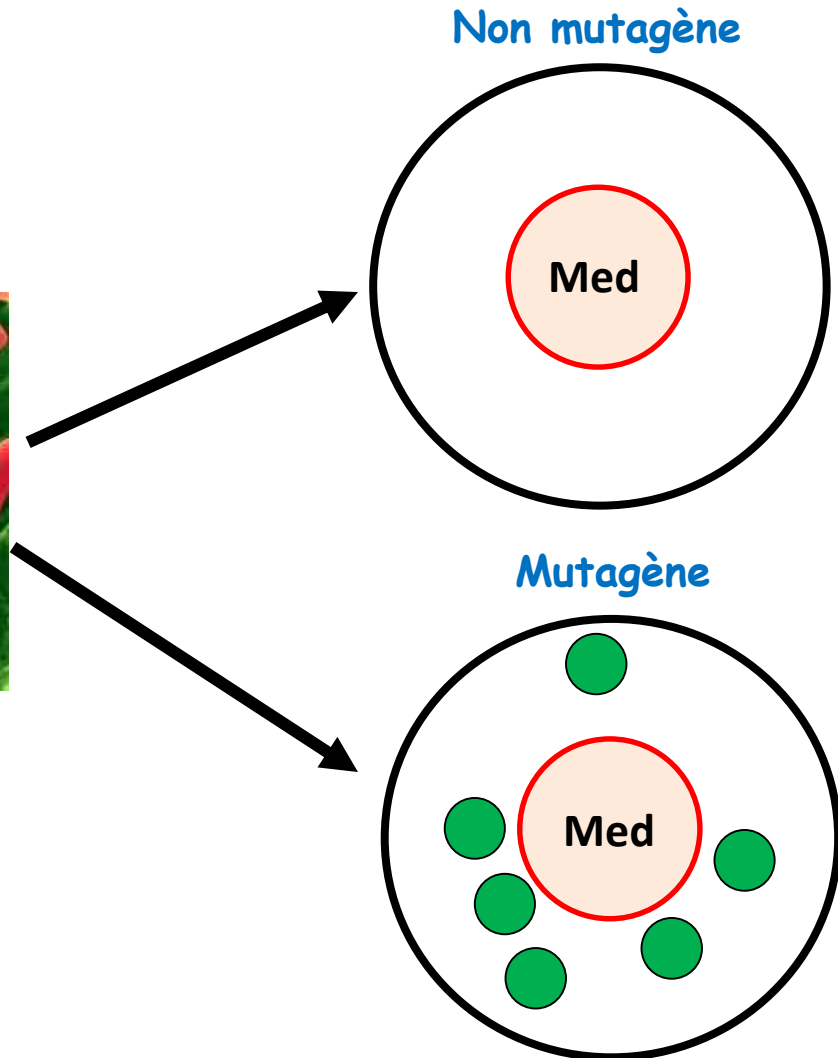
2. Etudes de mutagenèse

Pas toujours érinées avant toute administration à l'homme

Test d'Ames



E. Coli
Milieu His-



Développement préclinique du médicament

3. Etudes de cancérogenèse

Peuvent en partie être effectués en parallèle des essais cliniques

Objectifs:

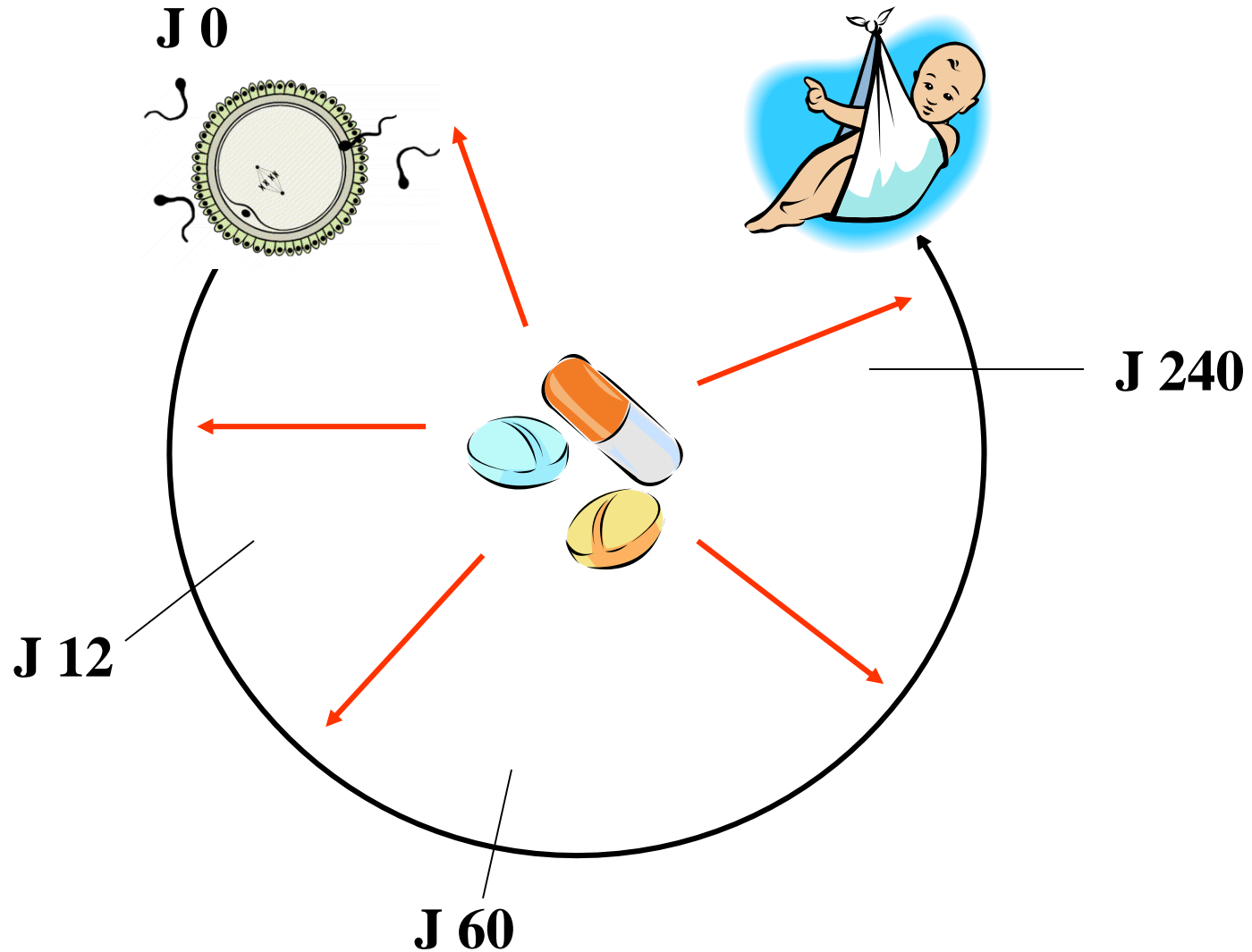
-Mettre en évidence l'apparition de **tumeurs** sur des lots d'animaux recevant le produit durant la plus grande partie de leur vie.

Procédures

- **1 voie d'administration**: identique à celle utilisée en clinique.
- **2 espèces**: 1 rongeur (rat souris), 1 non rongeur (lapin...)
- **3 doses**: faible (NOAEL), intermédiaire (équivalence à celle envisagée chez l'homme), forte.
- **Longue durée**
 - 24 mois chez le rat
 - 18 à 24 mois chez la souris

Développement préclinique du médicament

4. Etudes sur les fonctions de reproduction (repro-toxicité)



Développement préclinique du médicament

4. Etudes de repro-toxicité

Segment I: fertilité et « embryogenèse »

Objectifs:

Mettre en évidence un effet sur le comportement d'accouplement, le maintien ou la perte de fœtus.

Procédures

a/ Animaux:

- Mâles et femelles avant l'accouplement (**fertilité**)
- Femelles en gestation (**qualité de l'implantation de l'embryon**)
- Deux espèces de mammifères dont **1 non rongeur**

b/ Modalités

- Différentes doses: faible (NOAEL), intermédiaire (celle prévue chez l'Homme), forte;
- Voie d'administration identique à celle prévue chez l'Homme.

Paramètres évalués

- Comportement sexuel
- Nombre d'implantations,
- Nombre de fœtus vivants ou morts (existe-t-il des anomalies) ,
- Sex-ratio...

Développement préclinique du médicament

4. Etudes de repro-toxicité

Segment II: embryo-foeto-toxicité et tératogénèse

Objectifs

Mettre en évidence un effet sur l'apparition d'anomalies fœtales et les atteintes de la descendance liées au passage de la barrière placentaire.

Procédures

a/ Animaux:

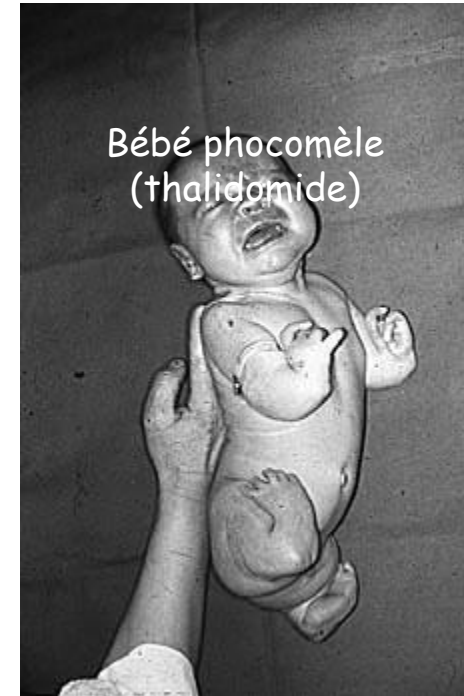
- femelles gestantes
- 2 espèces de mammifères dont un non rongeur

b/ Modalités

- différentes doses...
- Voie d'administration identique à celle prévue...

Paramètres évalués

- Après prélèvement de l'utérus avant la mise bas:
 - Recherche d'anomalies morphologiques (malformations visibles)
 - Histopathologie et examen des différents organes malformations non visibles)



Développement préclinique du médicament

4. Etudes de repro-toxicité

Segment III: péri- et post-natalité

Objectifs

Mettre en évidence un effet sur la croissance du fœtus, la lactation et le développement postnatal de la descendance.

Procédures

a/ Animaux:

- femelles en fin de gestation
- 2 espèces de mammifères dont un non rongeur

b/ Modalités

- Administration de différentes doses
- Voie d'administration identique à celle prévue chez l'Homme

Paramètres évalués

-Avant la mise bas:

- Mort in utero
- Déroulement de la mise bas
- Viabilité immédiate du fœtus

-Après la mise bas:

- Poids et sexe des fœtus
- Histopathologie et examen des différents organes

Développement préclinique du médicament

4. Autres études

Non encore obligatoires mais fortement recommandées

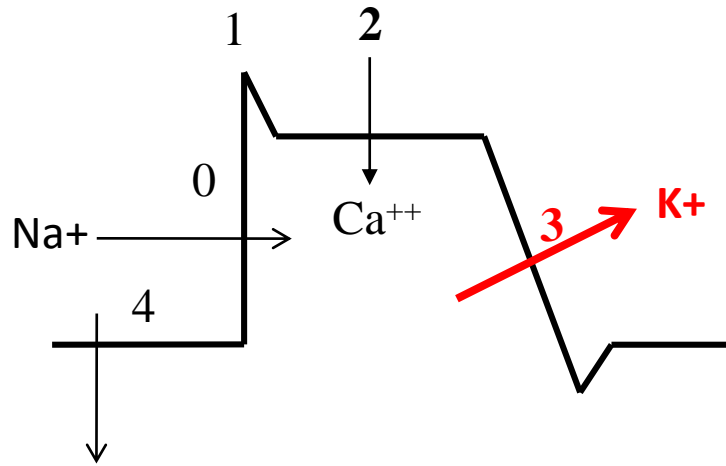


Potentiel arythmogène d'un médicament:
effet de la molécule sur les canaux hERG *in vitro*

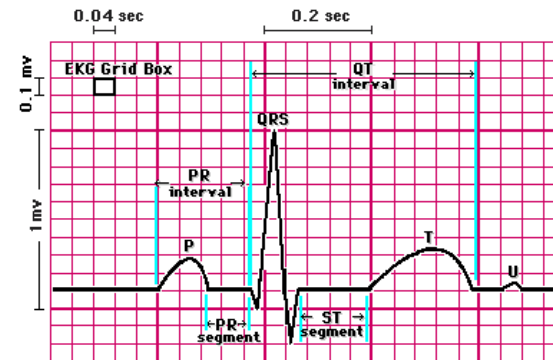
Exemples:

- cisapride (agoniste 5HT₄) et reflux gastro-oesophagien
- citalopram (inhibiteur SERT) et traitement de la dépression

Blocage des canaux potassiques VOC



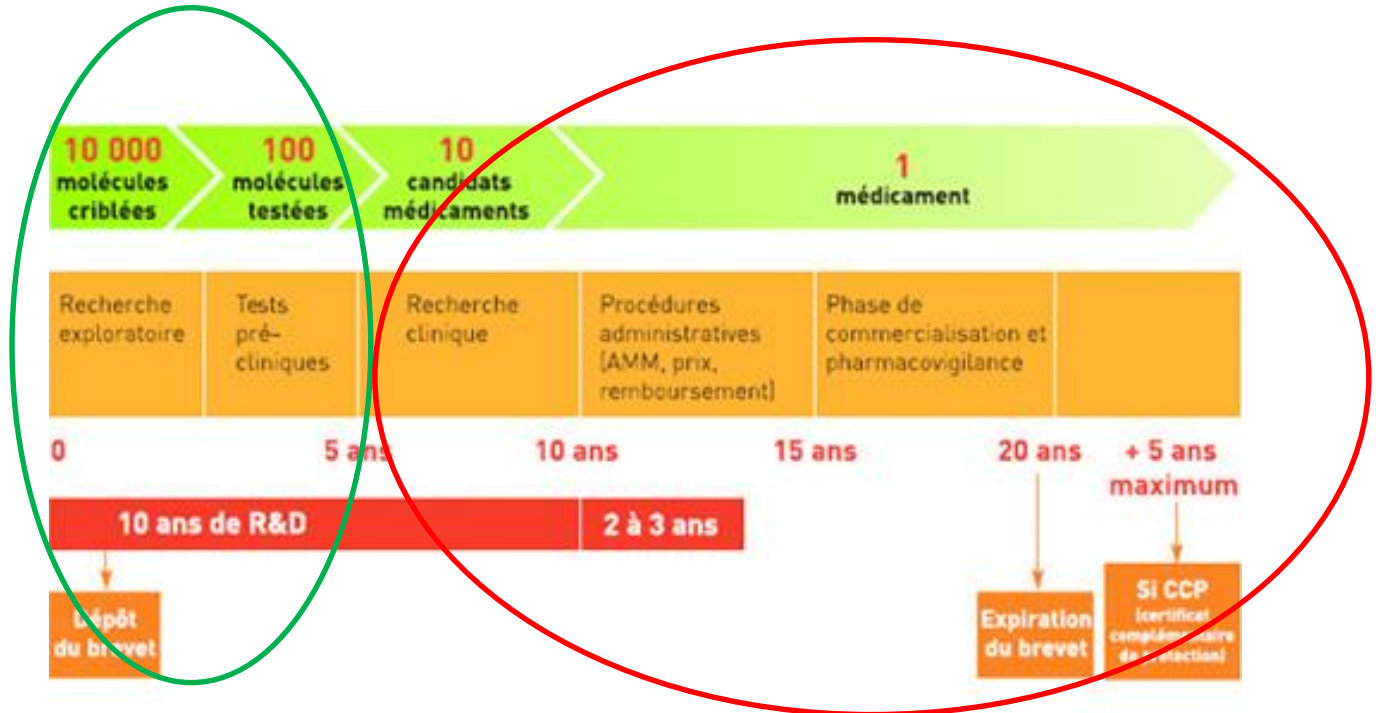
Na⁺, Ca⁺⁺



Torsades de Pointes



Développement préclinique du médicament



(D'après le LEEM: les entreprises du médicament)