

DEVELOPPEMENT DU MEDICAMENT

I) INTRODUCTION.

1. Définition du développement du médicament

C'est l'ensemble des études qui font suite à la découverte ou à la conception d'une molécule médicamenteuse et qui aboutissent à la demande d'AMM auprès des instances de régulation. Cette phase dure environ 10 ans.

L'environnement réglementaire pharmaceutique définit le cadre du développement d'un nouveau médicament dont les objectifs sont :

- La qualité
- L'efficacité
- La sécurité.

2. Le dossier d'AMM

Regroupe les études effectuées lors du développement du médicament. 4 parties principales :

Partie 1 : administrative.

On la développe pas OSEF.

Partie 2 : études physico-chimiques, galéniques et biologiques.

Ces études certifient la qualité, apportent des informations sur la composition, la méthode de préparation, et le contrôle du médicament.

Partie 3 : études pharmacologiques et toxicologiques

qui donnent les critères de sécurité et d'efficacité.

Les essais pharmacodynamiques et pharmacocinétiques de tolérance et de résistance garantissent l'efficacité. Ce sont les données toxicologiques qui garantissent la sécurité. L'évaluation de la sécurité est essentielle dans le dossier du médicament. Elle fait appel à l'expérimentation animale pour déterminer

- la toxicité par administration unique et répétée
- les effets potentiels sur la reproduction,
- la génotoxicité,
- le potentiel cancérigène,
- la tolérance locale.

Partie 4 : Les études cliniques.

Elles sont réalisées chez l'homme et garantissent efficacité et sécurité. L'efficacité est évaluée par l'ensemble des données et des résultats des études cliniques menées chez l'homme volontaire qu'il soit sain ou malade. Elles visent à explorer :

- l'activité pharmacologique,
- l'efficacité thérapeutique,
- le rapport bénéfice risque chez l'homme malade.

Point très important : Ces études doivent être menées selon des critères stricts, dans le respect des bonnes pratiques de laboratoire (BPL) et des bonnes pratiques cliniques (BPC). Ces critères stricts permettent d'assurer la fiabilité des résultats.

Toute étude rapportée dans les dossiers d'AMM doit satisfaire aux directives élaborées par l'ICH (Conférence Internationale sur l'Harmonisation des exigences techniques relatives à l'homologation des médicaments à usage humain)

Le but de l'ICH est d'obtenir dans tous les pays des médicaments de bonne qualité avec des niveaux de sécurité et d'efficacité satisfaisants.

Les documents élaborés par l'ICH regroupent 4 grandes rubriques :

- Q : Qualité
- S : Sécurité
- E : Efficacité
- M : Multidisciplinaire.

II) LES ETUDES PHYSICO-CHIMIQUES, GALENIQUES ET BIOLOGIQUES

Réalisées sur le **principe actif**, les **excipients**, et le **produit fini**

Les protocoles expérimentaux doivent tenir compte pour réaliser ces études :

- Des monographies de la pharmacopée
- Des règles Q de l'ICH
- Et des BPL

1. Les études physico-chimiques

a. Pour le principe actif

Réalisées pour la substance active. Elles déterminent pour le principe actif.

- **La formule brute**

- **La masse moléculaire**

important car le transfert rapide de la molécule dans le compartiment sanguin diminue quand la masse moléculaire augmente.

- **Caractères organoleptiques** : tout ce qu'on observe avec les sens.

- *aspect*,
- *goût*...ajout d'édulcorant ? Enrobage ?
- *odeur* peut être masquée

- **La Solubilité** :

Orienté le choix de la forme d'administration et joue un grand rôle dans la biodisponibilité. Le PA doit avoir une certaine solubilité. C'est la lipophilie qui conditionne le passage à travers les membranes et donc la diffusion du PA.

Solubilité à différents pH, et comment le PA se partage en fonction du pH en présence de 2 phases : l'une aqueuse, l'autre huileuse.

● **Les méthodes d'identification de la substance active :**

- Point de fusion
- Réaction colorée
- Méthodes chromatographiques
- Les méthodes spectroscopiques dans l'UV, le visible, l'infrarouge, les méthodes de résonance magnétique ou nucléaire.

Les méthodes de dosage :

La pureté du PA.

La recherche d'impuretés organiques ou inorganiques ainsi que la recherche de solvants résiduels ou encore la recherche de contamination microbologique ou virale permet de connaître la pureté de la substance active.

La stabilité de la substance active.

Comment elle résiste aux variations :

- Température
- Humidité
- Oxygène
- Lumière

Il faut connaître les produits de dégradation pour les identifier facilement. Pour cela, la substance active est soumise à des variations exagérées de température, d'humidité d'éclairage, et présence ou non d'oxygène, de façon à obtenir des produits de dégradation en quantité suffisante pour pouvoir les étudier, et mettre au point les méthodes d'identification. Elles permettent par la suite de suivre l'évolution de la formation des produits de dégradation dans des conditions normales de conservation et de fixer la durée limite d'utilisation du médicament.

b. Pour le produit fini

Détermination du mode de conditionnement et de la date de péremption. Elles permettent de décider de la nature du conditionnement. (Qualité des matériaux, sensibilité à l'humidité, à la lumière, si il est sensible à la lumière : verre coloré, blister opaque)

2. Les études galéniques et biologiques

Galien était médecin sous Marc Aurèle. C'est le premier à s'être intéressé à la mise en forme du médicament.

Deux temps dans la vie du médicament.

Dans un premier temps,

Le galéniste en étroite collaboration avec l'analyste met tout en œuvre pour réaliser une formule de médicament la meilleure possible dans l'état des connaissances scientifiques du moment.

La formule du médicament en donne la composition qualitative et quantitative en substance active et en substance(s) auxiliaires(s)

Dans un deuxième temps,

L'objectif du galéniste est de reproduire en quantités industrielles des médicaments conformes à la qualité du lot prototype qui a servi aux essais cliniques. Le tout en appliquant les bonnes pratiques de fabrication BPF.

Après la période de recherche qui aboutit à la découverte ou la conception d'une nouvelle molécule médicamenteuse, la période de développement conduit à la réalisation d'un seul lot de médicaments rigoureusement définis, et dont les unités sont soumises aux essais cliniques. Ces essais cliniques ayant permis de préciser les indications thérapeutiques, une demande d'AMM est adressée aux autorités compétentes et seulement lorsque l'AMM est obtenue, la fabrication peut commencer pour la vente.

Tout au long de la mise au point d'un médicament nouveau, il y a des choix à faire, qui nécessitent une bonne connaissance de la substance active et qui concernent :

- La voie d'administration
- La forme galénique
- Excipients
- Procédés de fabrication
- Matériaux et articles de conditionnement
- Contrôles à réaliser
- Conditions de conservation.

a. Connaissance de la substance active.

Propriétés de la SA à connaître avant d'aborder une formulation :

- propriétés physico-chimiques
- devenir dans l'organisme
- activité thérapeutique.

Devenir dans l'organisme :

Il faut chercher à savoir comment la SA peut pénétrer dans l'organisme. Ce sont les études préalables de biodisponibilité qui vont le dire. La biodisponibilité d'un médicament étant définie comme la fraction de la dose administrée ou de la substance active libérée par la forme pharmaceutique qui atteint la circulation générale sous forme inchangée et la vitesse avec laquelle elle l'atteint.

L'idéal avant toute étude de formulation serait de connaître le profil optimal de biodisponibilité à réaliser. Les études pharmacocinétiques préalables renseignent sur

- L'absorption de la SA,
- Sa distribution
- Des biotransformations
- Son élimination.

Activité thérapeutique :

A ce sujet, nous devons nous efforcer d'en savoir le plus possible sur

- Le lieu d'action,
- Le mécanisme d'action
- La marge thérapeutique = l'écart entre la dose thérapeutique et la dose pour laquelle les effets secondaires ou toxiques apparaissent.

Les éléments concernant le sort du PA dans l'organisme et l'activité thérapeutique sont fournis par le pharmacologue et sont complétés ensuite par le clinicien.

b. La voie d'administration

Le choix de la voie d'administration dépend surtout de la **localisation anatomique de la cible**.

Mais aussi

- De la vitesse d'action désirée
- De la durée du traitement
- Du nombre de prises par jour
- Du type de malade (nourrisson ? Enfant ? Adulte ? Personne âgée ?)
- De la situation du malade.
- Des symptômes du patient.

En effet, il faut faire le choix entre une administration par voie locale, et une administration assurant une distribution générale ou systémique.

La voie d'administration la plus normale est la voie orale. (3/4 des prescriptions)

Distribution systémique :

La question principale est alors « la substance active est-elle stable dans l'appareil digestif ? »

C'est à réponse à cette question qui permettra de faire le choix entre une administration entérale (= par voie digestive) et une administration par voie parentérale (le plus généralement)

c. La mise en forme galénique

Les procédés de mise en forme galénique relèvent de la pharmacie galénique ou pharmacotechnie.

La fabrication industrielle des médicaments doit satisfaire aux BPF issues des décisions de l'UE.

Le choix de la forme galénique est conditionné par la voie d'administration pressentie en thérapeutique : en effet la forme galénique la répartition du médicament dans l'organisme.

Voie d'administration	Biodisponibilité
Intraveineuse	100%
Orale	< 100%
Intra-musculaire et sous cutanée	< ou = 100%
Rectale	< 100 %
intradermique	< ou = 100%

La forme galénique assure une bonne conservation de la SA. Elle doit avoir des caractères organoleptiques favorisant une bonne observance du traitement (= strict respect des prescriptions et des recommandations formulées par le prescripteur tout au long du traitement).

Observance = compliance = adhérence au traitement.

Les substances auxiliaires

La forme galénique comporte forcément une ou plusieurs substances auxiliaires ou excipients. Aucune action sur la maladie, ils participent uniquement à la mise en forme pharmaceutique.

Qualités des excipients :

- **Permettre la réalisation technique de la forme pharmaceutique.**
 - *Exemple* : Il est impossible de faire un comprimé effervescent sans ajouter un acide et un carbonate ou un bicarbonate qui réagiront rapidement en présence d'eau pour libérer du dioxyde de carbone.

- **Stabiliser le PA.**
 - *Exemple* : Conservateurs.

- **Solubiliser le PA s'il est hydrophobe.**
 - *Exemple* : cyclodextrines qui sont des sucres formant des cages hydrophiles extérieurement et hydrophobes à l'intérieur de la cage.

- **Assurent la dissolution dans un milieu particulier.**
 - Verre d'eau, bouche, estomac, intestin....on choisit des excipients différents en fonction du lieu souhaité de dissolution.

- **Donner un aspect et un goût agréable**
 - Aspect : colorants
 - Goût : édulcorants

- **Etre dénué d'effets toxiques aux doses d'administration utilisées**, ce qui est toujours le cas cependant, de nombreux excipients ont des effets propres défavorables que l'on appelle effets notoires pour certaines catégories de patients

Substances auxiliaires à effet notoire

Tout excipient dont la présence peut nécessiter des précautions d'emploi.

- Ethanol :
 - o conduite, femmes enceintes, enfants de moins de 12 ans, alcooliques, épileptiques, personnes présentant des troubles hépatiques.
L'éthanol est parfois utilisé comme diluant, notamment dans les formes liquides.
Exemple : Aesculus → homéopathie avec de l'éthanol dedans.

- Amidon de blé : Dans quasiment toutes les formes orales solides.
 - o Intolérances au gluten, maladies cœliaques

- Sucres : Le saccharose (fructose et le glucose) ainsi que le lactose et ses composants (galactose et glucose) sont présents dans les formes orales. Mais contre-indiqués chez :
 - o Diabétiques, intolérances au lactose, sujets atteints de galactosémie.

- Aspartame : on en trouvera bientôt dans tout. C'est un édulcorant qui contient de la phénylalanine. Contre indiqué :
 - o Patients atteints de phénylcétonurie.

- La lanoline
- Les huiles végétales

Les formes galéniques classiques

Formes galéniques solides pour voie orale.

Comprimés.

Généralement obtenus par simple compression du mélange de poudre PA + excipients. Le choix des excipients assure :

- Le délitement dans l'eau avant absorption (formes effervescentes, solubles, dispersives)
- Libération lente du ou des PA (formes à libération prolongée)
- Délitement dans l'intestin et non dans l'estomac (formes gastro-résistantes à libération retardée)

Gélules ou capsules dures.

Généralement une capsule de gélatine qui permet d'administrer des poudres ou des micro granules. Certaines peuvent être à libération prolongée ou retardée

Comprimés et gélules sont des formes unitaires multidoses.

Forme unitaire = une seule dose de substance active par comprimé ou gélule.

Avantages des comprimés et gélules :

- Conservation
- Convient aux traitements ambulatoires
- Peuvent être fabriqués industriellement avec précision et avec de très hauts rendements.

Capsule molle

Contiennent un liquide. Paradoxalement, leur paroi est plus épaisse que celle des gélules.

Granulés

Grains solides secs formant chacun un agrégat de particules de poudre suffisamment solide. Ils sont avalés tels quels ou désagrégés dans l'eau avant administration.

Les sachets

Les sachets contiennent le plus souvent une poudre mais aussi parfois des granulés.

Les pilules

Forme sphérique. Les pilules peuvent être enrobées. Il n'en subsiste qu'une seule spécialité utilisée dans le traitement de l'Angor.

Les cachets

Ça existe plus mais c'était deux cupules de pain azyme contenant une poudre.

Formes galéniques liquides pour voie orale

Solutions

Sirops : Solution aqueuse avec du saccharose contenant un édulcorant : aspartame, sorbitol, saccharine.

Ces solutions doivent être limpides.

Suspension :

Constituées d'un ou plusieurs solides (fines particules) dans un milieu liquide appelé phase dispersante.

Particularité : il faut agiter avant emploi.

Solutions et suspensions sont des formes multidose.

C'est le malade lui-même qui détermine la dose.

- Cuillère à soupe (15ml) ou à café (5ml) ou cuillère mesure spécifique à la spécialité
- Seringue graduée
- Compte gouttes.

Formes galéniques pour voies parentérales.

Doivent être **stériles, apyrogènes**, et le plus souvent **isotoniques**.

Les solutions pour voie parentérales sont généralement aqueuses, cependant, la présentation en poudre à diluer extemporanément dans un liquide s'accroît de façon importante pour une question de conservation.

Les principes actifs que l'on découvre sont de plus en plus fragiles d'où la nécessité de les mettre en solution au dernier moment.

Les présentations sous forme d'émulsion et de ??? hypertonique, mais à condition qu'elles soient sous un faible volume peuvent être injectées en IV lente.

injection	Formes pharmaceutiques
I.V.	Solutions aqueuses inj. et pour perfusion, émulsions inj. et pour perfusion, poudre à diluer
I.M	Solutions aqueuses inj. et huileuses, suspensions aqueuses et huileuses
S.C.	Solutions injectables aqueuses (petit volume), comprimés
Intradermique	solutions
Intra-artérielle	Solutions et suspensions

Formes pour voies locales à visée systémique

Voies d'administration :

Sublinguale :

Comprimés et solutions déposés sous la langue. Le passage systémique est alors rapide du fait de la très riche vascularisation sous la langue.

Rectale :

Suppositoires, capsules molles, lavements.

Sous cutanée :

Comprimés stériles ou implants : libération très lente du PA. Sont notamment utilisés dans les traitements hormonaux à long terme.

Voie percutanée ou transdermique

Patchs : dispositif autocollant que l'on place sur la peau. Libération continue du PA plusieurs heures à plusieurs jours. Exemples : traitement substitutif à la ménopause, sevrage tabagique (nicotine) traitement de l'angor (trinitrine) mal des transports (scopolamine)

Formes pour voies locales à visée locale

Formes percutanées :

Une administration locale à visée locale reste au niveau de la couche cornée de l'épiderme et du derme, mais si l'application se fait sur une surface importante ou lésée, elle peut avoir un effet généralisé ; Ca peut être mis à profit volontairement, mais lorsque seul un effet local est visé, la dose de PA doit être suffisamment faible pour minimiser l'effet systémique.

- Poudres, pommades, crèmes, gels, solutions et suspensions à usage externe.

Formes pour anesthésie locale.

- **Patches**
 - o Utilisés notamment chez les enfants avant une injection ou une petite intervention.
- **Solutions**
 - o Contiennent un anesthésique local et éventuellement un vasoconstricteur, dans le but de retarder la diffusion systémique. Elles sont à injecter, mais pas en IV.
- **Spray** (forme pressurisée)

Formes vaginales

- **Comprimés vaginaux, ovules, capsules vaginales**

Formes oculaires

- **Collyres** (solutions ou suspensions) et **pommades ophtalmiques**.

Formes nasales ou auriculaires.

- **Solutions**

Formes à visée buccale ou pharyngée.

- Solutions pour bain de bouche, collutoires, gargarismes.
- Doivent être recrachées

Formes à visée pulmonaire

- Solutions dispensées en fines gouttelettes sous forme d'un aérosol
- Poudres présentées dans un dispositif aérosol doseur
- Exemple : SYNBYCORT

III) LA PRODUCTION

Les principes de production du PA doivent être envisagés précocement au cours du développement. Il est nécessaire de synthétiser des quantités croissantes de cette SA en vue de son développement préclinique et clinique.

1. Les structures de production.

La fabrication du PA est couverte par un brevet et elle fait l'objet en permanence de recherches visant à améliorer la productivité.

Entre la phase de développement d'une nouvelle molécule et celle de sa production industrielle, il y a **la transposition d'échelle**. Son but est de permettre le passage des lots essais aux lots pilotes et enfin aux lots industriels. Cette étape est critique mais systématique.

Les changements d'échelle depuis le **pilote industriel** jusqu'à la construction d'usines chimiques aboutissent à la production industrielle du PA.

Enfin, après détermination de la forme galénique, la fabrication du médicament mis en forme peut alors commencer dans des **usines pharmaceutiques**.

2. Les structures de contrôle.

Les structures de contrôle permettent d'effectuer le dosage de la substance active, des métabolites, et des produits de dégradation dans les échantillons. Elles permettent également de rechercher d'éventuelles impuretés de synthèse, ainsi que des intermédiaires de fabrication. Elles permettent également de réaliser des essais de stabilité qui conduisent à la détermination des conditions de conservation et de conditionnement.

3. L'assurance qualité.

Le contrôle qualité est effectué par prélèvement d'échantillons tout le long de la chaîne de fabrication dans le respect des BPF.

4. La surveillance par l'ANSM

a. Ses missions.

L'industrie pharmaceutique française est soumise à une surveillance étroite par l'ANSM.

Elle intervient dans les **autorisations d'ouverture ou de modifications techniques ou administratives des établissements pharmaceutiques**.

Elle **surveille les activités de fabrication, d'importation et de distribution des matières premières** à usage pharmaceutique.

Elle est également dotée de laboratoires de contrôle physico-chimiques, microbiologiques, immunologiques, et biologiques des produits de santé et leurs constituants.

Ces laboratoires de contrôle ont pour mission de confirmer la **qualité des produits**, d'engager des **actions correctives ou préventives** en cas de détection de défauts de qualité. De **détecter des contrefaçons**, de contribuer à **l'élaboration de nouvelles normes de qualité**. Et enfin de **libérer des lots de vaccins et de médicaments dérivés du sang**.

Chaque lot produit est systématiquement contrôlé avant sa mise sur le marché.

IV) LES ETUDES PHARMACO-TOXICOLOGIQUES

1. Les expérimentations.

Le but de ces expérimentations est de prouver l'innocuité du candidat médicament et son efficacité pharmacologique, ce qui permet d'établir un profil de sécurité du médicament.

Le développement préclinique consiste à expérimenter le candidat médicament sur l'animal ou chaque fois que cela est possible à l'aide de méthodes alternatives et notamment sur des cellules en culture.

2. Selon l'ICH (conférence internationale d'harmonisation) Ces études comprennent...

a. En systématique

- La pharmacologie de sécurité et les études de pharmacocinétique **non cliniques**.
- La toxicité générale et la toxicocinétique **non cliniques**. La toxicocinétique étant l'étude descriptive et quantitative du devenir des toxiques dans l'organisme.
- La toxicité pour la reproduction et la génotoxicité.

b. Au cas par cas.

- **L'étude de phototoxicité** (propriété de rendre la peau hypersensible aux UV)
- **L'étude d'immunotoxicité**
L'immunotoxicologie étudie les interférences des xénobiotiques (càd des substances possédant des propriétés toxiques même à très faible concentration) avec le système immunitaire.
- **L'étude de toxicité chez le jeune animal**
- **Etude de susceptibilité d'usage détourné.**

3. Conditions d'efficacité d'une molécule.

Pharmacodynamie : impact d'une substance sur l'organisme

Pharmacocinétique : impact de l'organisme sur la molécule.

a. Les études pharmacodynamiques.

Elles comportent de la **pharmacologie générale** qui étudie les effets du médicament sur tout l'organisme et de la **pharmacologie orientée** (effets sur un organe en particulier)

Leur but :

Définir l'effet thérapeutique d'une molécule avec mise en évidence d'une **relation dose-effet et effet-temps**. Ces études permettent de connaître les caractéristiques de l'effet principal et des effets indésirables éventuels et de positionner le produit en comparaison à ceux déjà existants. Ces études se fondent sur l'animal entier et sur organe isolé.

- **Détermination de la DE₅₀.**

→ Dose entraînant l'effet recherché chez 50% de la population d'animaux testés

- **Détermination du mécanisme d'action.**

→ Mise en jeu de récepteurs et de médiateurs

- **Mise en évidence des éventuelles interactions.**

Au bilan de ces études pharmacodynamiques, si chez l'animal aucune activité n'est détectée, les essais cliniques ne seront pas poursuivis chez l'homme.

b. Les études pharmacocinétiques animales.

Leur but est d'étudier le devenir du médicament dans l'organisme. Toutes ces études sont réalisées **sur trois espèces animales** en utilisant la voie d'administration la plus pertinente compte tenu de la voie d'administration clinique.

En phase préclinique : La pharmacocinétique d'une dose unique de médicament chez l'animal est considérée comme suffisante par l'ICH.

Suite à une dose unique, le recours à l'étude d'une dose réitérée du médicament peut se faire, lorsqu'une accumulation importante dans un tissu est observée, ou lorsqu'une lésion tissulaire est observée.

4. Conditions de sécurité d'une molécule.

a. La pharmacologie de sécurité.

Définition :

Ensemble d'études systématiques

- in-vitro sur des séries de cibles moléculaires
- ex-vivo sur des organes, des tissus ou des cellules isolées
- in-vivo chez l'animal.

Leurs buts :

- Connaître l'effet du médicament sur les grandes fonctions de l'organisme sans a priori.
- Définir leur mécanisme d'action.
- Mettre en évidence les effets indésirables éventuels.

Contrairement aux études de toxicité, les approches expérimentales de la pharmacologie de sécurité ne sont pas actuellement strictement définies.

Deux niveaux d'étude pour les AMM sont définis selon l'ICH.

Etude des fonctions vitales : Elles sont prioritaires et comprennent les études sur le SNC, notamment l'effet du médicament in vivo chez le rat, sur l'activité motrice et la coordination motrice, mais aussi sur le comportement, les réflexes et la température corporelle.

- **Études sur le système cardio-vasculaire**
 - Pression sanguine
 - Rythme cardiaque
 - Effet sur l'ECG.
- **Études sur la fonction respiratoire**
 - Rythme, volume, et saturation sanguine en oxygène.

Etudes complémentaires :

Pour le SNC : Effet sur l'apprentissage et la mémoire.

Pour le système cardiovasculaire, c'est l'effet sur la contractilité ventriculaire et la résistance vasculaire.

Pour la fonction respiratoire : pH sanguin, gaz sanguins.

Système rénal et urinaire : effet sur le volume, le pH, les électrolytes, et composés urinaires.

Etudes également sur le SNA et le système gastro-intestinal.

Pour le système gastro intestinal : effet sur la sécrétion et le pH gastrique, sur la sécrétion biliaire, mais aussi sur l'intégrité de la paroi gastrique et intestinale.

Etudes sur le transit.

b. Les études toxicologiques

Elles sont menées dans le respect des BPL.

Elles sont réalisées précocement et permettent de déterminer une posologie d'emploi pour les études ultérieures.

Leur but est de déterminer la toxicité du médicament lors de son utilisation et par la suite sa sécurité d'utilisation.

Les symptômes de l'intoxication aiguë et chronique ainsi que les causes de la mort lors de l'intoxication sont étudiées.

Le DL50 (dose létale 50) = qui entraîne la mort de 50% des individus.

Plus ce nombre est petit, plus la substance est toxique. Cette dose n'est valable que pour une espèce donnée.

Cette DL50 est ensuite comparée à la dDE50 et l'index thérapeutique est déterminé par le rapport $DL50 / DE50$.

La toxicité est d'autant plus faible que ce rapport est plus élevé.

ETUDE DE LA TOXICITE AIGUE :

C'est la première étude réalisée avant toute administration à l'homme. C'est l'étude qualitative et quantitative des phénomènes toxiques et de leur apparition en fonction du temps après administration unique de la substance ou d'une association de substances.

Les objectifs :

- **Évaluer la Dose létale zéro = DL0**
dose maximale tolérée sans effet léthal dans la population d'organismes étudiés pendant un temps donné, par administration unique.
- **Évaluer la dose maximale tolérable = DMT ou NOAEL**
dose maximale qui produit l'effet thérapeutique et n'engendre pas d'effet secondaire.
(no observable adverse effect)
- **Évaluer la DL50**
- **Établir une relation entre la dose administrée et l'intensité des effets observés.**
- **Déterminer la nature des effets toxiques aigus.**
- **Donner des indications sur les effets probables d'une exposition chez l'homme**
- **Orienter les études ultérieures de toxicité chronique**
- **Réaliser des prélèvements pour la toxico-cinétique dose unique**

Modalités

Au moins deux espèces de mammifères des deux sexes.

4 à 5 doses sont testées + les doses témoins.

5 animaux par dose et par sexe.

2 voies d'administration : voie thérapeutique et voie systémique.

L'observation des animaux se fait pendant deux semaines puis tous les animaux sont autopsiés.

ETUDE DE LA TOXICITE CHRONIQUE

Définition :

Étude qualitative et quantitative des phénomènes toxiques et de leur apparition dans le temps après administration répétée de la substance ou de l'association de substance.

Objectifs :

- Rechercher des effets toxiques potentiels
- Observer d'éventuels effets cumulatifs ou retardés.
- Déterminer la nature de l'effet toxique (réversible ou non)
- Identifier les organes cibles
- Définir une dose sans effet
- Mettre en évidence l'existence d'une relation dose – réponse.
- Choisir des doses pour les études à long terme.

Les différentes études.

Subaiguë : obtenue après administration répétée de moins d'un mois.

Subchronique : après administration répétée de 1 à 3 mois

Chronique : + de 3mois.

Modalités :

Sur 2 espèces de mammifères dont un est obligatoirement non rongeur. (Généralement le rat et le chien). Le choix de l'espèce dépend du métabolisme qui doit être proche de celui de l'homme.

4 groupes d'animaux dont un témoin.

10 rongeurs et 6 chiens sont testés par dose et par sexe.

Une seule voie d'administration : celle utilisée chez l'homme.

Les animaux subiront un examen clinique puis biologique et seront autopsiés.

La durée de l'étude de toxicité par administration répétée est fonction de la durée d'exposition envisagée chez l'homme.

c. La toxicocinétique

C'est l'étude descriptive et quantitative du devenir des toxiques dans l'organisme. Ce sont donc les études pharmacocinétiques des toxiques du médicament.

Elles sont limitées à l'étude chez l'animal, et sont réalisées simultanément à celles de pharmacologie et de toxicologie.

d. La reprotoxicité.

Les reprotoxiques sont des substances qui affectent la fécondité et/ ou la fertilité soit par une toxicité directe pour les gonades ou le système reproducteur, soit en induisant un comportement ne permettant plus la reproduction.

Etudes d'embryogenèse :

Ces études comprennent des études de fertilité et embryogenèse réalisées chez le rat, avec administration du médicament plusieurs semaines avant la copulation.

Trois doses sont testées et la comparaison se fait par rapport à un lot témoin.

Les études portent sur l'examen histologique après sacrifice des organes sexuels des rats traités et notamment chez les rats mâles on observe les testicules et les glandes annexes.

Etudes d'embryo-foeto-toxicité et de tératogenèse.

But : mettre en évidence tout effet sur le comportement d'accouplement, sur le maintien ou la perte du fœtus, l'apparition d'anomalie fœtale et les éventuelles atteintes sur la descendance.

Etudes sur la femelle en gestation (rat et lapin)

Trois doses différentes.

Etudes de péri et post natalité :

Le traitement se fait de la fin de l'organogenèse jusqu'au sevrage des petits sur au moins une espèce, généralement 12 femelles gravides et trois niveaux de doses.

Ces études mettent en évidence tout effet du médicament sur le développement du fœtus sur la lactation, l'allaitement, le comportement maternel, et le développement du nouveau né.

e. Mutagenèse

Savoir si la molécule risque de transformer le patrimoine génétique cellulaire de l'individu. La mutagenèse correspond à toute modification **brusque et permanente** des caractères héréditaires par changement dans le **nombre et la qualité des gènes**.

Objectifs :

- Évaluer si le médicament entraînera une modification génétique
- Évaluer le risque potentiel pour les générations futures
- Évaluer le risque potentiel de cancer pour la génération actuelle

Modalités :

Trois tests obligatoires :

- Test de mutation génique sur les bactéries (le plus courant : test d'AMES)
- Test d'aberration chromosomique in vitro sur cellules de mammifères
- Test d'aberration chromosomique in vivo sur moelle osseuse de rongeur. (rat ou souris)

Ces deux derniers tests de transformation cellulaire évaluent la capacité d'un toxique à transformer des cellules de mammifère en cellules indifférenciées à potentiel néoplasique.

f. Cancérogenèse ou carcinogénicité.

Objectif :

Mettre en évidence l'apparition de tumeurs sur des lots d'animaux recevant le produit pendant une grande partie de leur vie. La preuve de l'exposition des animaux aux médicaments doit être apportée par des mesures de concentration plasmatique de ce médicament.

Modalités :

5 animaux sevrés sont traités.

Deux espèces de rongeurs reçoivent trois doses différentes.

La voie d'administration est celle pressentie chez l'homme et la comparaison se fait à un lot témoin.

g. Les études d'immunotoxicité.

L'immunotoxicologie étudie les interférences des xénobiotiques avec le système immunitaire sous trois aspects distincts.

- **L'immunotoxicité directe :**

- Modification quantitative d'une réponse immunitaire qui est qualitativement normale. Diminution ou augmentation (immunostimulation)

- Allergies
 - Le pouvoir de sensibilisation d'un médicament chez l'individu est généralement liée à sa capacité de liaison covalente aux protéines de l'organisme.

- L'auto-immunité.
 - Il s'agit de la stimulation de réponses immunitaire spécifiques dirigées contre les antigènes endogènes du soi.
L'auto-immunité induite peut résulter d'une perturbation de l'équilibre des lymphocytes T régulateurs ou de la liaison d'un xénobiotique avec des composants tissulaires normaux les rendant immunogènes. Les médicaments en général connus pour induire fortuitement une maladie auto-immune chez les individus sensibles sont des composés de faible poids moléculaire (100 à 500 Da).

Modalités : chez le rat.

5. Expérimentation animale.

Elle est indispensable, mais très encadrée suite à la directive européenne de 2010 relative à la protection des animaux utilisés à des fins scientifiques. Elle s'applique à l'utilisation d'animaux lors d'expériences pratiquées pour la mise au point, la production, et les essais de qualité, d'efficacité et d'innocuité des médicaments.

En France, les expérimentateurs et les locaux doivent avoir un agrément du service vétérinaire de la préfecture.

Les protocoles expérimentaux doivent avoir un agrément du comité d'éthique.

a. La CNEA : commission nationale de l'expérimentation animale.

Elle est auprès des ministres chargés de la recherche et de l'agriculture.

Sa mission principale : donner un avis sur tout projet de modification de la législation.

b. le CNREFA

Comité National de Réflexion Ethique ??

Composition :

?

But : harmoniser les principes et fonctionnement des différents comités d'éthiques.

c. Les comités d'éthique en expérimentation animale.

Ce sont des instances consultatives.

Leur rôle est de promouvoir l'ensemble des principes et pratiques éthiques en expérimentation animale.

Out établissement d'expérimentation animale, que ce soit un laboratoire public ou privé doit relever d'un et d'un seul comité d'éthique. Par contre, plusieurs établissements peuvent dépendre du même comité d'éthique en s'associant.