UNIVERSITÉ DE NANTES
UFR SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES

ANNÉE 2015 **N° 008**

THÈSE

pour le

DIPLÔME D'ÉTAT

DE DOCTEUR EN PHARMACIE

par

Lénaïg TANNEAU

Présentée et soutenue publiquement
le mercredi 14 Janvier 2015

Développement pharmacocinétique & pharmacodynamique des Antibody-drug conjugates

Revue de leurs propriétés & Approche en modélisation

Président : **M Alain PINEAU, Professeur de Toxicologie**

Membres du jury : **Mme Christine BOBIN-DUBIGEON,**
Maître de Conférences de Pharmacologie

M Eric DIDIER, Pharmacien

Mme Laurence DEL FRARI, Pharmacien

Remerciements

Je souhaite remercier tout d'abord, Alain PINEAU, d'avoir accepté d'être le président de mon jury de thèse. Puis, mes remerciements iront à Christine BOBIN-DUBIGEON, ma co-directrice de thèse, qui a volontiers accepté de m'encadrer dans ce projet.

Je remercie par la suite, Eric DIDIER, mon co-directeur de thèse et maitre de stage aux Laboratoires Pierre Fabre, qui m'a fait confiance tout au long de notre collaboration, qui a su me guider et a toujours été de bon conseil. Je le remercie de m'avoir fait partager son expérience et de m'avoir accompagnée dans la découverte de cette vaste thématique, que sont les Antibody Drug Conjugates.

Une pensée chaleureuse pour Laurence DEL FRARI, modélisatrice PK aux Laboratoires Pierre Fabre, sans qui ce stage n'aurait pas été mené à bien de la même façon. Je la remercie pour son écoute, son aide, sa patience et sa bonne humeur.

Je souhaiterais remercier toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à mon parcours et qui ont partagé avec moi ces 6 années d'études, tout au long de mes différentes expériences. Merci de m'avoir toujours soutenue (et supportée…) !
Un énorme merci à mes parents, qui m'ont toujours encouragée et m'ont donné l'opportunité de réussir dans les meilleures conditions. J'espère que vous serez fiers de moi.

Enfin, ma dernière pensée, *the last but not the least,* ira à Thomas qui aura participé à cette thèse aussi bien moralement que physiquement ! Un immense merci pour ton optimisme et ta confiance.

Table des matières

Liste des illustrations I

Liste des abréviations II

Avant-propos 1

I. Généralités 3

1. La thérapie ciblée 3
2. Les ADCs 5
   a) Le mécanisme d'action 5
   b) La cible 5
   c) La composition d'un ADC 6
      (1) L'anticorps monoclonal 6
      (2) Le linker 7
      (3) Le cytotoxique 9
      (4) Synthèse 11
   d) Les ADCs sur le marché 12
3. La modélisation 13
   a) La pharmacocinétique et la pharmacodynamie 13
   b) Les modèles pharmacocinétiques 15
      (1) L'analyse non compartimentale 15
      (2) L'analyse compartimentale 16
      (3) L'analyse physiologique 18
      (4) L'approche de population 19
   c) La modélisation PK/PD 20
   d) Focus sur les modèles précoces translationnels 21

II. Travaux réalisés 23

Partie I : Compréhension des ADCs : approche de Knowledge management 23

1. Introduction 23
2. Matériel & méthode 24
   a) Mise en place de l'étude 24
   b) La base de données 24
   c) Collection de données et création d'alertes 25
3. Résultats de l'étude 26
   a) L'état de l'art de la littérature 26
   b) Les constituants des ADCs 28
   c) Les paramètres cliniques 30
4. Discussion de l'approche de Knowledge Managment 32
   a) Les constituants de l'ADC 32
   b) Les paramètres cliniques 34
   c) Les échecs 34
      (1) La première génération 34
      (2) Les échecs en développement 35
5. Conclusion 37

Partie II : Approche par la modélisation PK/PD 38

1. Introduction 38
2. Matériel & méthode 39
a) Elaboration du modèle 39
(1) Choix du modèle 39
(2) Description du modèle 40
(3) Méthodologie de la reproduction du modèle 44
(4) Données d'input 46
(5) Molécule étudiée 46
(6) La modélisation 47
(7) Obtention des paramètres 50
(8) Version des logiciels utilisés 51
b) Application du modèle : Analyse de sensibilité 51
3. Résultats 54
a) Elaboration du modèle 54
(1) Analyse pharmacocinétique 54
(2) Analyse pharmacodynamique 54
b) Application du modèle 57
(1) Analyse de sensibilité 57
4. Discussion de la modélisation PK/PD 59
a) Etude des résultats de l'analyse de sensibilité 59
b) Avantages & limites des modèles PK/PD 60
c) Optimisation de ce modèle 61
5. Conclusion 62
III. Conclusion générale 63
Bibliographie 65
Annexes 71

Liste des illustrations

Figure 1. Représentation schématique d'un Antibody-Drug Conjugate. *Extrait de* (3) 1
Figure 2. Mécanisme d'action des voies cytotoxiques ADCC & CDC. *Extrait de :(9)*..... 3
Figure 3. Elargissement de la fenêtre thérapeutique grâce aux ADCs par rapport à la chimiothérapie classique. *Extrait de :* (11)..... 4
Figure 4. Mécanisme d'action des ADCs. *Extrait de :* (12)..... 5
Figure 5. Méthodes de conjugaison des molécules cytotoxiques sur l'anticorps monoclonal. *Extrait de :* (11)..... 7
Figure 6. Devenir de l'ADC après administration, jusqu'au site d'action. *Extrait de :* (22)..... 9
Figure 7. Mécanisme d'action des ADCs ainsi que des cytotoxiques après libération intracellulaire. *Extrait de :* (23)..... 10
Figure 8. Caractéristiques de chaque composant de l'ADC et de sa cible 11
Figure 9. Les différentes phases ADME en fonction d'un profil pharmacocinétique. *Extrait de :* (26). 13
Figure 10. Représentation semi-logarithmique de la marge thérapeutique 14
Figure 11. Détermination graphique des paramètres propres à une substance agoniste. *Extrait de :*(27) 15
Figure 12. Schéma d'un modèle mono-compartimental 17
Figure 13 .Représentation schématique du modèle de TMDD,..... 18
Figure 14. Représentation schématique du modèle de PBPK pour un mAb. *Extrait de :* (30)..... 19
Figure 15. Les constituants des systèmes PK/PD. *Extrait de :*(32) 20
Figure 16. Phases de développement des ADCs 26
Figure 17. Indication / Aire thérapeutique des ADCs..... 26
Figure 18. Gamme de premières doses administrées chez l'Homme et dose maximale tolérée,..... 31
Figure 19. Raisons d'arrêt des molécules en développement pharmaceutique. *Extrait de* (58)..... 37
Figure 20. Représentation schématique du modèle PK/PD d'un ADC. *Extrait de :* (59) 40
Figure 21. Représentation semi-logarithmique des profils pharmacocinétiques de l'ADC dans le plasma (Cp_ADC), du cytotoxique dans le plasma (Cp_PL) et dans la tumeur (Ct_PL), chez la souris xénogreffée L540cy, à une dose de 2mg/kg de SGN-35. 45
Figure 22. Représentations du modèle d'erreur additif (à gauche) et multiplicatif (à droite) 48
Figure 23. Résultats de la modélisation (à gauche) et de la publication (60) (à droite), représentant les profils pharmacocinétiques de l'ADC et du cytotoxique..... 54
Figure 24. Représentation de l'évolution du volume tumoral en fonction du temps. 55
Figure 25. Graphes des VPC 56

……

Tableau I. ADCs en développement clinique aux USA 27
Tableau II. Les constituants des ADCs 29
Tableau III. Combinaison linker/cytotoxique des ADCs 33
Tableau IV. Causes d'arrêt en développement des ADCs. 35
Tableau V. Description et analyse du modèle PK/PD..... 40
Tableau VI. Méthode d'obtention des paramètres du modèle PK/PD 50
Tableau VII. Choix des paramètres pour l'analyse de sensitivité 52
Tableau VIII. Résultats obtenus par la méthode des Bootstraps 56
Tableau IX. Analyse de sensibilité pharmacocinétique, avec un facteur multiplicatif de 2, pour la dose de 3mg/kg..... 57
Tableau X. Analyse de sensibilité pharmacocinétique, avec un facteur multiplicatif de 10, pour la dose de 3mg/kg..... 58

Liste des abréviations

ADC	Antibody Drug Conjugate
ADCC	Antibody Dependent Cell-mediated Cytotoxicity
ALCL	Anaplastic large cell lymphoma
ALL	Acute lymphoblastic leukemia
AML	Acute myeloid leukemia
AMM	Autorisation de mise sur le marché
AUC	Area Under the Curve
ccRCC	Clear Cell Renal Cell Carcinoma
CDC	Complement Dependent Cytotoxicity
CDM	Cell Distribution Model
CDR	Complementary Determining Region
DAR	Drug to Antibody Ratio
DCI	Dénomination Commune Internationale
DLBCL	Diffuse large B-cell lymphoma
DM1	N2'-deacetyl-N2'-(3mercapto-1-oxopropyl)-maytansine
DM4	N2'-deacetyl-N2'-(4mercapto-4-methyl-1-oxopropyl)-maytansine
EC50	half maximal effective concentration
Fab	Fragment antigen binding
FDA	Food and Drug Administration
FIH	First in Human
fNHL	follicular Non-Hodgkin lymphoma
FO	Fonction Objective
FOCEi	First Order Conditionnal Estimation with interaction
GMP	Good Manufacturing Pratices
GOF	Goodness of Fit Plot
HL	Hodgkin lymphoma
IgG	Immunoglobuline de type G
LRT	Likelihood Ratio Test
mAbs	monoclonal Antibodies
mdr	multidrug resistance
MM	Multiple Myeloma
MMAE	Monomethyl autistatine E
MMAF	Monomethyl auristatine F
MFI	Mean Fluorescence Intensity
MTD	Maximum Tolerated Dose
NHL	Non-Hodgkin lymphoma
NSCLC	Non-small cell lung cancer
PBD	Pyrrolobenzodiazepine
PBPK	Physiologically based pharmacokinetic
PD	Pharmacodynamique
PK	Pharmacocinétique
RCC	Renal Cell Carcinoma
SCLC	Small cell lung cancer
SMCC	N-succinimidyl 4-(N-maleimidomethyl) cyclohexane-1 carboxylate
SPDB	N-succinimidyl-4-(2-pyridyldithio) butyrate
SPP	N-succinimidyl 4-(2-pyridyldithio) pentanoate
TCR	Tissue Cross Reactivity
TMDD	Target Mediated Drug Disposition
TV	Tumor Volume
VII	Variabilité Inter-Individuelle
VPC	Visual Predictive Check
VR	Variabilité Résiduelle

Avant-propos

Le cancer est l'une des causes majeures de décès dans le monde (8,2 millions de décès en 2012, (1)), avec l'apparition de plus de 14 millions de nouveaux cas par an. Le cancer est considéré comme la « maladie du XXI^{ème} siècle » tant il est en expansion (+107,6 % chez la femme et +111,4 % chez l'homme entre 1980 et 2012 en France, (2)), c'est notamment dû à la modification du mode de vie et au vieillissement de la population. Le cancer provient du dérèglement d'une seule cellule, qui va proliférer de manière incontrôlée et échapper aux mécanismes de régulation mis en œuvre par l'organisme. L'enjeu est d'une telle ampleur, que cette pathologie met au défi l'ensemble du monde scientifique afin de trouver de nouveaux traitements.

Les ADCs (Antibody-Drug Conjugates) ou immunoconjugués représentent une classe thérapeutique innovante qui connait un grand essor depuis ces dix dernières années dans le domaine de la thérapie ciblée en oncologie.

Un ADC est basé sur l'alliance d'un anticorps monoclonal (mAb) spécifique d'un antigène à de petites molécules cytotoxiques puissantes, reliés par un agent de liaison appelé linker (Figure 1).

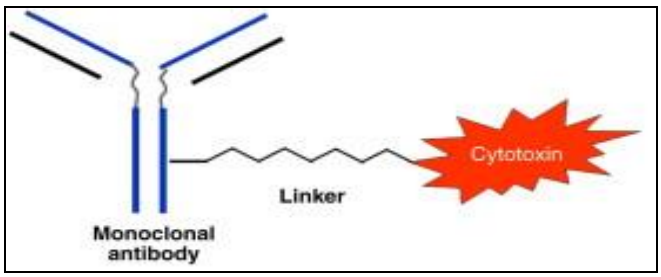


Figure 1. Représentation schématique d'un Antibody-Drug Conjugate. *Extrait de* **(3)**

Dans le cadre de mon stage de fin d'études, j'ai été amenée à réaliser ce travail au sein du département de développement pharmacocinétique des Laboratoires Pierre Fabre, sur le site de Recherche et Développement de l'Oncopole de Toulouse.

Après quelques généralités, les principaux axes abordés au sein de cette thèse seront :

- l'élaboration d'une base de données regroupant les ADCs ayant atteints le stade de développement clinique, afin d'en explorer les principales caractéristiques, d'un point de vue statistique, dans le but d'analyser les stratégies employées et d'apprendre sur la base des expériences accumulées au cours de leur développement clinique et préclinique.

- l’approche de modélisation pharmacocinétique afin de comprendre en quoi elle est utile à un stade précoce du développement d’une nouvelle molécule, pour limiter les échecs et les coûts de développement.
- l’utilisation de la modélisation pour connaitre les propriétés des ADCs et de déterminer les facteurs critiques ayant un impact majeur sur le profil PK/PD d’un ADC.

Le développement pharmacocinétique préclinique étant à la frontière entre la Recherche et le Développement, l’objectif de cette étude fut de contribuer à l’élaboration d’un plan de développement des Antibody-Drug Conjugates sous tous les aspects pharmacocinétiques, dans l’optique de l’utiliser dans un futur proche au sein du département.

I. Généralités

1. La thérapie ciblée

Le concept de thérapie ciblée est apparu dès le début des années 1900, avec la théorie du « Magic Bullet » du physicien allemand Paul Ehrlich(4), selon laquelle un organisme responsable d'une maladie, pourrait être ciblé sélectivement dans un but thérapeutique grâce à un agent cytotoxique. Il faudra attendre la fin du XX^{ème} siècle pour que la théorie se concrétise avec le développement exponentiel des anticorps monoclonaux (5). En effet, les premiers mAbs sont élaborés par Kohler et Milstein en 1975, par le biais d'hybridomes(6), et le premier à recevoir son autorisation de mise sur le marché (AMM) en 1986 est le Muromonab-CD3(7). Puis, ce n'est qu'en 1997 que le premier mAb dans le traitement du cancer a reçu son autorisation de mise sur le marché, le Rituximab (Rituxan®). A l'heure actuelle, une trentaine de mAbs utilisés seuls, ont reçu l'AMM aux Etats-Unis et en Europe, dont 12 d'entre eux sont utilisés en oncologie (8).

Leur mécanisme d'action est basé sur le fait, qu'une fois fixé à l'antigène exprimé par la cellule cancéreuse, ils peuvent induire la mort cellulaire, notamment par leurs fonctions effectrices. Le mAb peut dans un premier temps se fixer à l'antigène par le biais de son fragment Fab (Fragment antigen binding), responsable de la liaison spécifique de forte affinité via le CDR (Complementary Determining Region), et bloquer son fonctionnement. Puis, grâce à la fixation au récepteur FcγR situé sur la cellule effectrice, il va pouvoir activer la voie cytotoxique ADCC (Antibody Dependent Cell Mediated Cytotoxicity), alors que la fixation au complexe C1q, activera la voie cytotoxique CDC (Complement Dependent Cytotoxicity) (Figure 2). A noter, que seuls les IgG1 possèdent ces deux mécanismes.

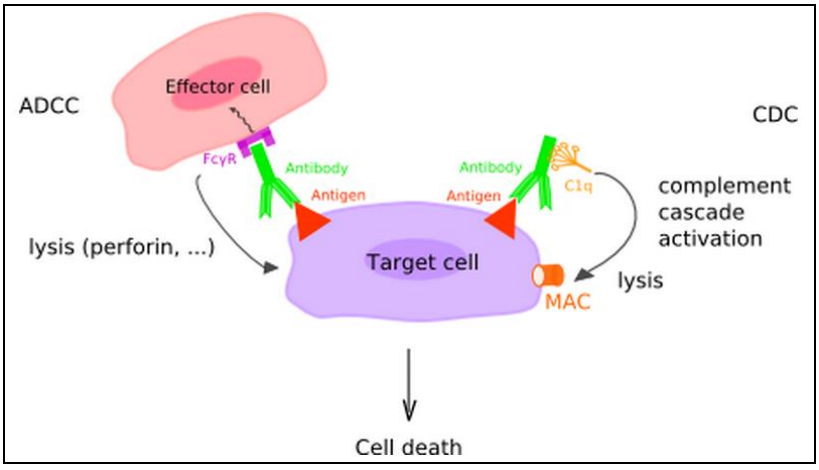


Figure 2. Mécanisme d'action des voies cytotoxiques ADCC & CDC. *Extrait de :(9)*

Bien que les mAbs connaissent de grandes avancées et représentent la thérapie de choix dans le traitement du cancer, ils sont encore réservés à des indications particulières.

L'arsenal thérapeutique utilisé communément dans le traitement du cancer comprend : la chirurgie et la radiothérapie, en tant que traitements locaux, et la chimiothérapie (ou l'hormonothérapie pour certains types de cancers) pour une action systémique. Ainsi, les mAbs utilisés aujourd'hui en oncologie sont souvent administrés avec une chimiothérapie, car la plupart souffrent d'une faible cytotoxicité en tant qu'acteur seul et d'une mauvaise pénétration dans les tumeurs solides (10). La chimiothérapie classique emploie un cocktail de molécules cytotoxiques qui ciblent aussi bien les cellules tumorales que les cellules saines, car elles agissent sur les cellules à différenciation rapide. Cela résulte en un faible index thérapeutique car elles doivent souvent être administrées à une dose proche de la MTD (Maximum Tolerated Dose) (Figure 3). Cela provoque de nombreux effets indésirables et le développement de résistances au traitement (mdr : multidrug resistance).

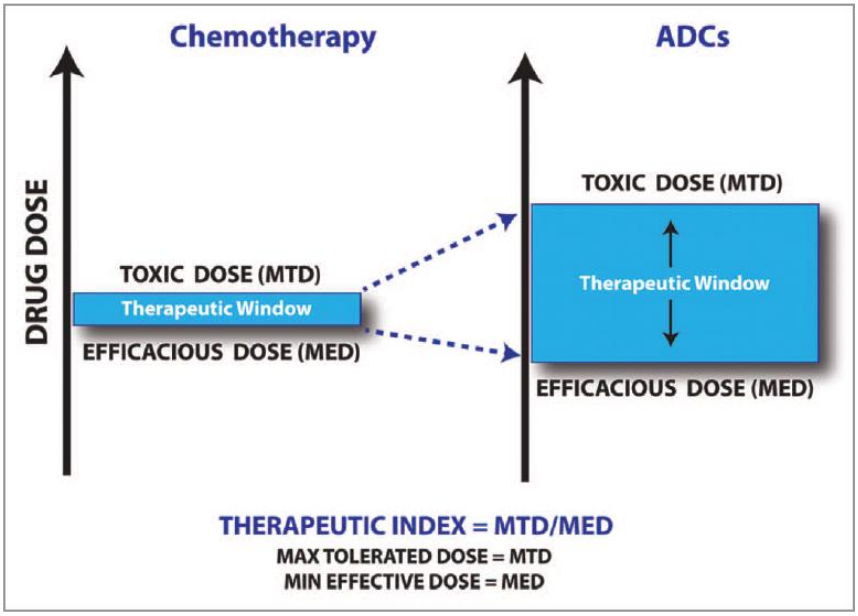


Figure 3. Elargissement de la fenêtre thérapeutique grâce aux ADCs par rapport à la chimiothérapie classique.
Extrait de : **(11)**
L'ADC en atteignant spécifiquement la cible permet de diminuer la dose minimale effective et d'augmenter la dose maximale tolérée.

Ainsi, combiner en une seule entité le mAb et la molécule cytotoxique, est la stratégie développée pour les ADCs. Le but est donc de ne garder que le meilleur des deux composés : la spécificité, la pharmacocinétique et la biodistribution du mAb ainsi que la puissance cytotoxique de la petite molécule.

2. *Les ADCs*

a) Le mécanisme d'action

Pour optimiser les propriétés bénéfiques de chaque acteur, le but de l'action de l'ADC est d'atteindre une cible (antigène surexprimé à la surface des cellules cancéreuses) grâce à la reconnaissance spécifique de l'anticorps, puis après internalisation, libérer le cytotoxique à l'intérieur de la cellule, pour provoquer la mort cellulaire (Figure 4).

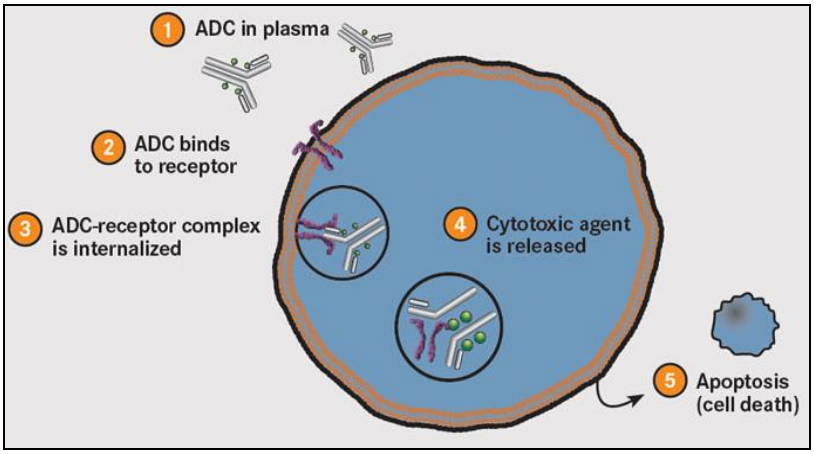


Figure 4. Mécanisme d'action des ADCs. *Extrait de :* **(12)**
L'ADC dans la circulation systémique ① se fixe spécifiquement sur sa cible cellulaire ②.
Une fois le complexe formé, il s'internalise ③. L'ADC libère sa charge intracellulairement ④,
et l'action de la molécule cytotoxique va provoquer la mort cellulaire ⑤.

L'ADC va agir comme une prodrogue. En effet, le mAb est le vecteur de la molécule cytotoxique, en la transportant à l'intérieur de la cellule tumorale.
Ainsi pour que la théorie fonctionne, de nombreux paramètres sont à prendre en compte.

b) La cible

Choix déterminant dans le développement d'un nouvel ADC, la cible est souvent le premier élément à prendre en considération. Idéalement, le récepteur antigénique doit être exprimé uniquement sur la cellule tumorale, de façon à cibler spécifiquement la tumeur et limiter l'action sur les cellules saines de l'organisme. L'expression d'un antigène uniquement sur les cellules cancéreuses ne semblant pas exister, seront donc privilégiés les récepteurs largement surexprimés à la surface des cellules cancéreuses, et pour lesquels l'anticorps a une haute affinité.
La deuxième propriété à prendre en compte est l'internalisation du récepteur. En effet, l'un des modes d'action classique d'un mAb est le blocage du récepteur, pour empêcher la liaison du ligand naturel; il ne nécessite donc pas d'entrer dans la cellule.

Dans le cas des ADCs, le complexe ADC-récepteur doit être internalisé afin de libérer la charge cytotoxique uniquement à l'intérieur de la cellule tumorale (Figure 4).
La voie d'internalisation la plus courante est l'endocytose clathrine-dépendante (13). Elle va former des vacuoles dans le cytoplasme qui vont converger vers les lysosomes, où l'environnement acide, ou la présence d'enzymes, vont provoquer la libération du cytotoxique par rupture du linker. Deux autres voies d'internalisation minoritaires existent, l'endocytose cavéoline-dépendante (par invagination de la membrane plasmique) et la pinocytose (sans intervention de récepteur).

c) La composition d'un ADC

(1) L'anticorps monoclonal

L'anticorps monoclonal représente plus de 90% de la masse totale de l'ADC (14) et confère l'affinité (le Kd doit être inférieur à 10 nM) et la spécificité pour la cible de l'ADC. Ainsi, le but est de mimer au mieux les propriétés de l'anticorps seul pour conserver ses propriétés physico-chimiques qui garantiront sa bonne stabilité, ses fonctions de reconnaissance de l'antigène et ses propriétés PK (faible clairance, longue demi-vie, faible volume de distribution) (3).
L'isotype d'anticorps le plus couramment choisi est l'IgG1. Ce choix peut être expliqué par le fait que les premiers ADCs réutilisaient les mAbs déjà développés seuls (principalement des IgG1), ou bien parce que les anticorps de cette classe ont des fonctions effectrices qui peuvent contribuer à la mort cellulaire, comme démontré avec Kadcyla® (Trastuzumab Emtansine). Cependant, la contribution de ces propriétés effectrices, à l'activité de l'ADC, n'a pas encore été réellement mise en évidence (15,16), d'autant plus, si l'on considère la puissance du cytotoxique libéré.
De plus, il est possible d'augmenter ou diminuer la réponse immunitaire en élaborant des variantes génétiques de fragment Fc sur des IgG1 mutés (17,18).

L'anticorps monoclonal doit, de plus, être à même d'accueillir les molécules cytotoxiques et donc présenter des sites de conjugaison disponibles, sans que la liaison à l'antigène en soit altérée. La méthode classique de conjugaison consiste en la réduction d'un des quatre ponts disulfures situé entre deux acides aminés de la chaine peptidique, la lysine ou la cystéine (Figure 5). Cette opération s'effectue de façon randomisée et résulte en la conjugaison de 0 à 8 molécules cytotoxiques par mAb. Le nombre moyen de molécules cytotoxiques fixées est déterminé par le DAR (Drug to Antibody Ratio).

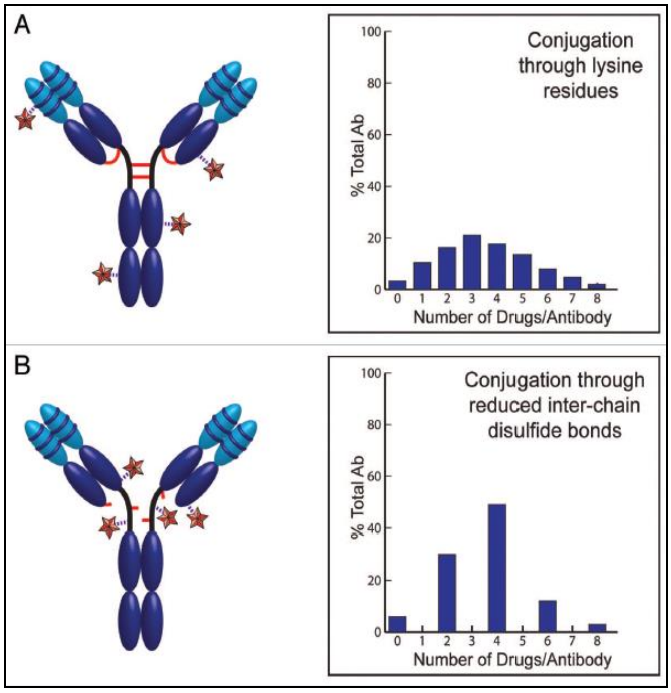


Figure 5. Méthodes de conjugaison des molécules cytotoxiques sur l'anticorps monoclonal. *Extrait de :* **(11)**
Par réduction des résidus lysine (fig.A, ~ 40 résidus lysine conjugués potentiellement/mAb) ou
par réduction des résidus cystéine (fig.B, 8 résidus cystéine conjugués potentiellement/mAb).

Pour limiter l'hétérogénéité du nombre de molécules fixées et maitriser la production des ADCs, des méthodes plus élaborées de liaison sur un site spécifique du mAb, ont été développées (à partir d'acides aminés synthétiques ou par conjugaison enzymatique). Elles permettent d'améliorer la stabilité des ADCs ainsi que leur pharmacocinétique, et donc d'élargir leur fenêtre thérapeutique (11). Parmi ces méthodes, on peut citer :

- L'utilisation de 2 résidus cystéines implantés sur le mAb à une position précise
- L'implantation d'acides aminés non naturels, par la substitution d'un codon stop
- La conjugaison enzymatique via des glycotransferases ou des transglutaminases

Grace à ces méthodes, le DAR est maitrisé, il oscille entre 2 et 4, avec une moindre hétérogénéité dans sa distribution.

(2) Le linker

Le linker peut être considéré comme un constituant difficile à maitriser car il a souvent été la cause d'échec dans le développement de nouveaux ADCs.

Le linker doit assurer la stabilité de l'ADC jusqu'à la cible, ainsi être stable dans la circulation générale (administration en intraveineuse uniquement) mais être capable de libérer le cytotoxique une fois dans la cellule. Le linker doit aussi être capable de libérer la charge cytotoxique sous sa forme active, pour provoquer la mort cellulaire.

La plupart des procédés de déconjugaison intracellulaire entre le cytotoxique et le linker mettent à profit l'internalisation du complexe dans la cellule via la voie lysosomale ; ainsi l'environnement qui entoure l'ADC est à pH acide et de nombreuses enzymes sont présentes.

A l'heure actuelle, il existe essentiellement quatre types de linkers qui sont répartis en deux classes : clivables ou non clivables.

Parmi les linkers clivables, on trouve :

- Les linkers sensibles au pH. Il s'agit de linkers stables au pH sanguin neutre, qui une fois dans le lysosome, libèrent le cytotoxique par hydrolyse acide d'un groupement labile, comme les hydrazones. C'est la technologie qui a été utilisée dans Mylotarg® (Gemtuzumab ozogamicin), le premier ADC à avoir été mis sur le marché.
- Les linkers clivés au niveau d'un pont disulfure. Leur fonctionnement est basé sur la forte quantité de glutathion présente dans la cellule. Les fonctions thiols vont pouvoir réduire les ponts disulfures et libérer le cytotoxique.

  La stabilité de ce linker est parfois augmentée en ajoutant des groupements méthyls qui préviennent le clivage prématuré dans la circulation générale, en provoquant une gêne stérique (15).
- Les linkers sensibles aux protéases. Ce clivage enzymatique s'effectue sur une séquence peptidique, généralement Valine-Citrulline, via une hydrolyse par les cathepsines lysosomales. Cette stratégie est présente dans Adcetris® (Brentuximab Vedontin), deuxième ADC mis sur le marché en 2012.

Les linkers non clivables, incluant notamment les groupements thioethers, nécessitent la totale dégradation de l'ADC dans la cellule pour libérer le cytotoxique et donc exercer une action anti-tumorale. Lors de la dégradation de l'ADC, le cytotoxique libéré restera lié à un ou plusieurs acides aminés du mAb, il faudra donc qu'il puisse être actif en étant chimiquement modifié. Cette stratégie bénéficie du fait que ce type de linker est très stable dans la circulation générale, mais est donc fortement dépendant du taux d'internalisation de l'ADC. Ce type de linker est utilisé dans Kadcyla® (Trastuzumab Emtansine), troisième et dernier ADC mis sur le marché en 2013.

(3) Le cytotoxique

Les cytotoxiques de la chimiothérapie classique, tels que la doxorubicine (19), le méthotrexate (20), et les vinca-alcaloïdes (21), ont dans un premier temps, été utilisés dans le développement des ADCs mais ce sont avérés être un échec, car les concentrations intracellulaires étaient trop faibles. En effet, comme l'illustre la figure 6, la complexité de fonctionnement d'un ADC permet la libération d'un faible pourcentage de cytotoxique sur le site d'action. De plus, on estime que pour les tumeurs solides, seul 0,003 à 0,08% de la dose injectée par gramme de tumeur atteindra sa cible (11).

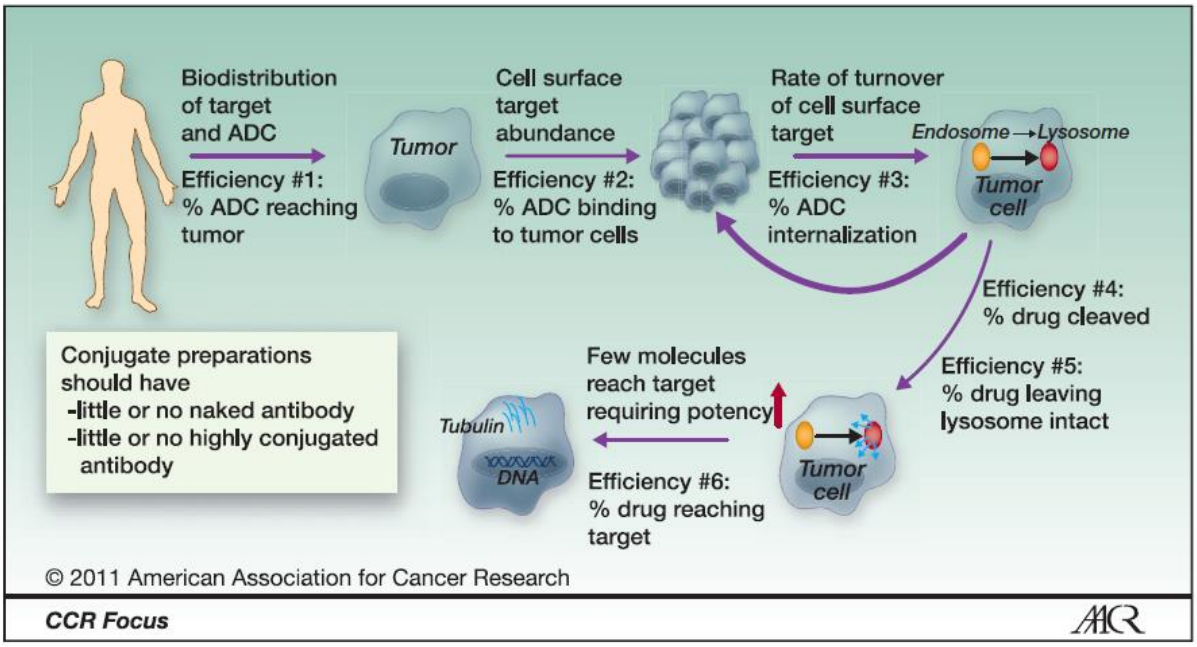


Figure 6. Devenir de l'ADC après administration, jusqu'au site d'action. *Extrait de :* **(22)**
Pour chacune de ces étapes, si l'efficacité est de 50% alors seul 1,56% de la dose administrée atteindra sa cible.

Ainsi, les agents cytotoxiques qui ont été développés par la suite se sont avérés être 100 à 1000 fois plus puissants que les cytotoxiques classiques (10,14), car ils doivent agir à de très faibles concentrations.

Les principaux cytotoxiques actuellement développés pour les ADCs entrent dans l'une de ces deux catégories : perturbation de la cohésion des microtubules ou dommage irréversible sur l'ADN (Figure 7).

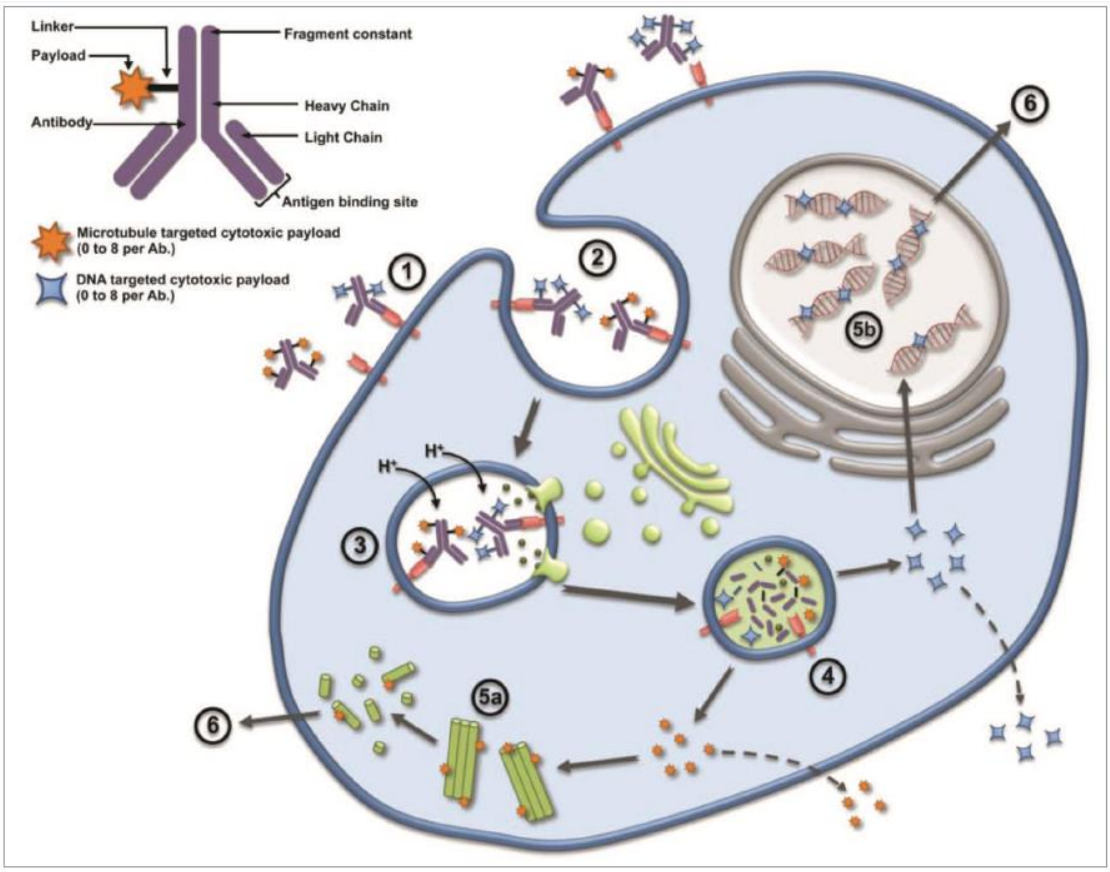


Figure 7. Mécanisme d'action des ADCs ainsi que des cytotoxiques après libération intracellulaire. *Extrait de :* **(23)** Une fois dans la cellule, le linker de l'ADC va être clivé (digestion enzymatique, lyse acide, etc) et le cytotoxique va pouvoir aller agir sur sa cible intracellulaire pour provoquer la mort cellulaire (6), soit par perturbation de la cohésion de la tubuline (5a), soit par action directe sur l'ADN (5b).

La classe des perturbateurs de microtubules inclut les dérivés de la maytansine (DM1 et DM4) et ceux de l'auristatine (MMAE et MMAF), qui agissent en tant qu'inhibiteurs de la polymérisation de la tubuline et causent l'arrêt du cycle cellulaire en phase G2/M des cellules à division rapide.

La famille des maytansinoïdes a été développée par la société Immunogen et est utilisée dans Kadcyla® (Trastuzumab Emtansine), alors que la famille des analogues de l'auristatine a été créée par la société Seattle Genetics et est présente dans Adcetris® (Brentuximab Vedontin).

La seconde classe des perturbateurs de l'ADN, comprend des analogues de l'anthracycline, de la calicheamycine, de la duocarmycine et les pyrrolobenzodiazepines (PBDs), qui provoquent la casse, l'alkylation ou bien la réticulation de l'ADN. Mylotarg® (Gemtuzumab ozogamicin) utilisait un dérivé de la calicheamycine comme cytotoxique.

Le nombre de molécules cytotoxiques liées à l'anticorps (DAR) est important à maitriser. La tentation serait d'obtenir le DAR le plus élevé possible pour augmenter les concentrations en

cytotoxique sur le site actif. Cependant, cela pourrait potentialiser la déconjugaison non contrôlée hors de la cellule tumorale.

De plus, augmenter le nombre de petites molécules hydrophobes liées au mAb hydrophile peut entrainer une modification de ses propriétés physico-chimiques et une baisse d'affinité pour la cible.

Enfin, des phénomènes d'agrégation et de précipitation peuvent apparaitre du fait d'une solubilité réduite et d'une clairance de l'ADC augmentée (10,24). La plupart des ADCs en développement ont donc un DAR entre 2 et 4.

(4) Synthèse

L'arrivée de nouvelles thérapies ciblées telles que les ADCs, nécessite de prendre en compte de nombreux paramètres et caractéristiques.

La figure 8 ci-dessous récapitule les caractéristiques nécessaires pour l'obtention d'un nouvel ADC.

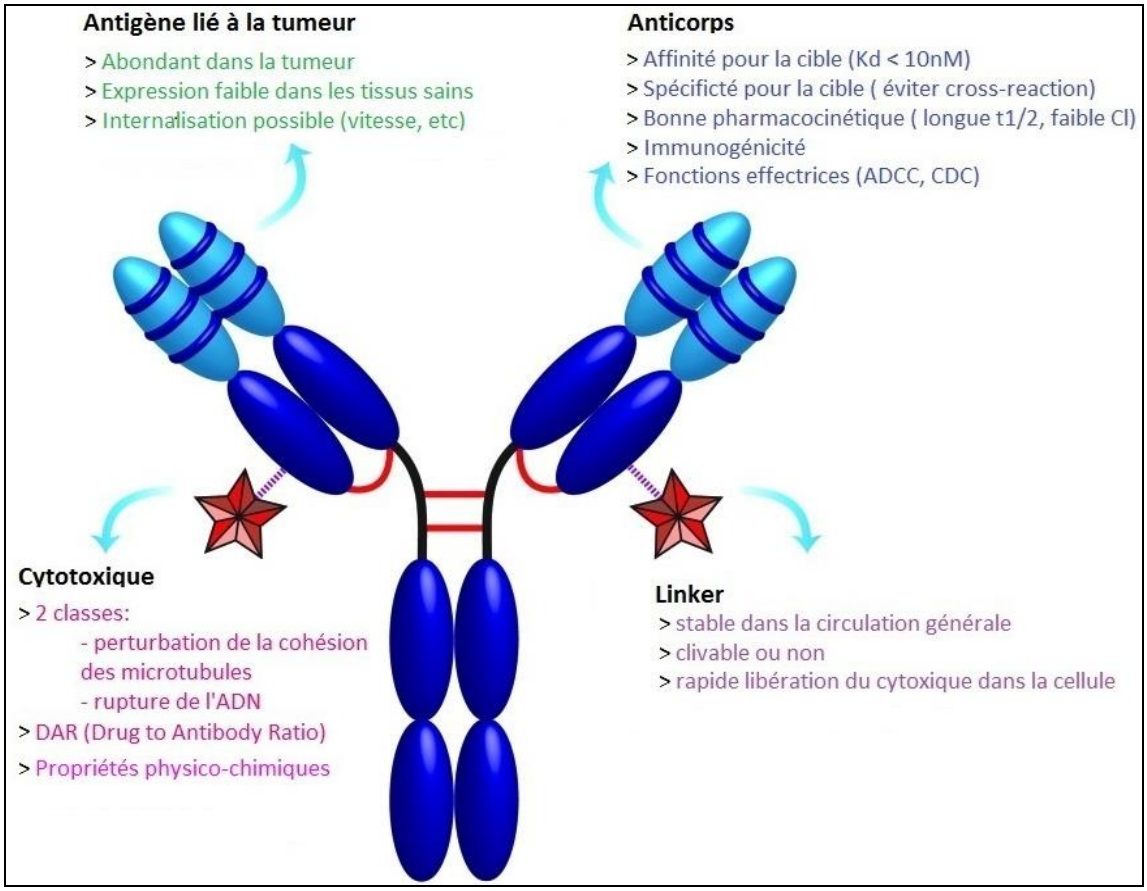


Figure 8. Caractéristiques de chaque composant de l'ADC et de sa cible

d) Les ADCs sur le marché

C'est au début des années 90's, que les premiers ADCs sont arrivés en développement clinique. Cependant, l'homogénéité et la stabilité de l'ADC étant difficiles à obtenir, les premières tentatives seront des échecs, essentiellement en raison de leur toxicité (linker instable, expression ubiquitaire de l'antigène) et de leur immunogénicité (mAbs murins).

C'est en l'an 2000, que le premier ADC, Mylotarg® (Gemtuzumab Ozogamicin) sera approuvé par la FDA (Food and Drug Administration) via une procédure accélérée, et mis sur le marché aux USA (il n'a pas reçu d'AMM en Europe). Cependant, il sera par la suite retiré du marché (aux USA) volontairement par *Pfizer*, en 2010, pour cause de manque d'efficacité et de toxicité excessive.

A l'heure actuelle, seuls deux ADCs sont sur le marché aux Etats Unis et en Europe, Adcetris® (Brentuximab Vedotin, *Seattle Genetics*) et Kadcyla® (Trastuzumab Emtansine, *Roche*).

Adcetris® est un ADC indiqué dans le traitement du lymphome hodgkinien récidivant. Il s'agit d'un mAb chimérique IgG1 anti-CD30 combiné à un dérivé de l'auristatine (MMAE), par un linker peptidique clivable. Il a reçu son autorisation de mise sur le marché aux USA en 2011, via une procédure accéléré, puis en Europe en 2013.

Kadcyla® est lui indiqué dans le traitement un cancer du sein. Il combine le mAb humanisé IgG1 anti-HER2, Trastuzumab (déjà utilisé seul en thérapeutique), au cytotoxique DM1, dérivé de la maytansine, via un linker thioether non clivable. A la suite de l'essai clinique EMILIA(25), il a reçu son autorisation de mise sur le marché aux USA en 2013, puis en Europe début 2014.

Après cet aperçu de ce que sont les ADCs, le chapitre suivant s'appliquera à introduire l'autre aspect de cette thèse, la modélisation pharmacocinétique.

3. *La modélisation*

a) La pharmacocinétique et la pharmacodynamie

La pharmacocinétique (PK) est l'étude du devenir d'un médicament depuis son administration jusqu'à son élimination. Elle s'intéresse à connaitre comment l'organisme agit sur le médicament. On distingue classiquement quatre grandes phases (ADME) :

- L'absorption (A) qui représente le passage du médicament du site d'administration vers la circulation sanguine.
- La distribution (D) qui correspond à la dispersion et à la diffusion du médicament dans les tissus à partir de la circulation générale.
- La métabolisation (M) qui est la dégradation et la transformation du médicament par l'organisme et s'effectue essentiellement au niveau du foie.
- L'élimination ou excrétion(E) qui décrit les différents mécanismes d'évacuation de la substance hors de l'organisme.

Un ADC, est une grosse molécule de plus de 150 kDa, représenté à plus de 90% du poids moléculaire, par l'anticorps monoclonal. Ainsi les propriétés ADME de l'ADC vont être grandement influencées par le mAb.

Par exemple, au niveau de l'absorption, l'environnement gastrique peut représenter un lieu hostile pour les ADCs. En effet, le pH gastrique peut dégrader et dénaturer la molécule, et la forte polarité de la molécule ainsi que son poids moléculaire rendent la diffusion à travers les membranes difficile. Ainsi tous les ADCs, à l'heure actuelle, sont administrés par voie intraveineuse, qui permet une distribution directe et rapide dans la circulation systémique.

Ainsi la PK est la discipline qui relie la dose de médicament administré, aux concentrations plasmatiques et qui étudie son évolution en fonction du temps (Figure 9). Elle permet de définir un schéma posologique en optimisant la dose et le rythme posologique pour une nouvelle molécule. Un profil pharmacocinétique est ainsi défini pour chaque nouveau médicament.

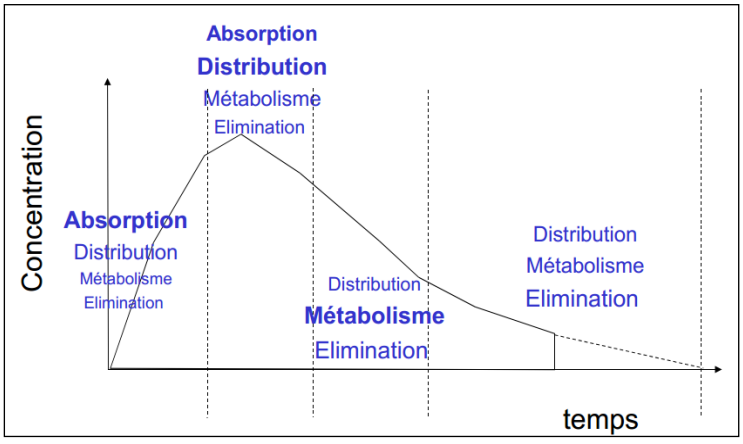


Figure 9. Les différentes phases ADME en fonction d'un profil pharmacocinétique. *Extrait de :* **(26)**

Il va pouvoir être influencé par des facteurs physiologiques (comme l'âge, le poids, le sexe, l'ethnie, le polymorphisme génétique, etc.), pathologiques (insuffisance rénale ou hépatique), les habitudes du patient (tabac, alimentation, etc.), ou bien la co-administration de médicaments (intéractions médicamenteuses de type inhibition ou induction).

La pharmacodynamie (PD) retranscrit l'effet du médicament sur l'organisme. La substance active possède une ou plusieurs cibles dans l'organisme, ainsi la réponse biologique à ces intéractions va se traduire par des phénomènes plus ou moins mesurables. Ces phénomènes peuvent être d'ordre quantitatif, lors de modifications physiologiques (rythme cardiaque, pression artérielle, etc.), ou bien qualitatif (décès/survie, amélioration de l'état général, etc.).

L'analyse pharmacodynamique peut corréler la dose ou la concentration en médicament (ou en biomarqueur, prédictif de l'activité pharmacologique du médicament) à l'effet observé ou mesuré. Ainsi les relations dose/effet permettent de définir la marge thérapeutique, qui est l'intervalle entre la dose minimale efficace et la dose toxique où apparaissent les premiers effets indésirables (Figure 10).

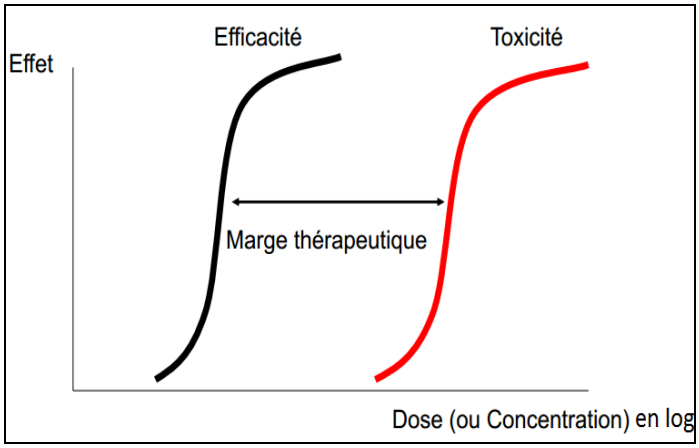


Figure 10. Représentation semi-logarithmique de la marge thérapeutique

La relation entre l'effet et la concentration est influencée par le mécanisme d'action de la substance active au niveau moléculaire. En effet, un médicament qui agit en remplacement d'une substance endogène (insuline chez le patient diabétique ou vitamine D dans le rachitisme) va agir comme agoniste du récepteur cible, alors qu'un médicament qui a pour but de contrer un phénomène physiologique (antagoniste des récepteurs histaminiques dans le cas des allergies) va agir comme antagoniste du récepteur cible.

Par exemple, pour une substance agoniste, on va pouvoir définir sa puissance et son efficacité, selon la figure suivante :

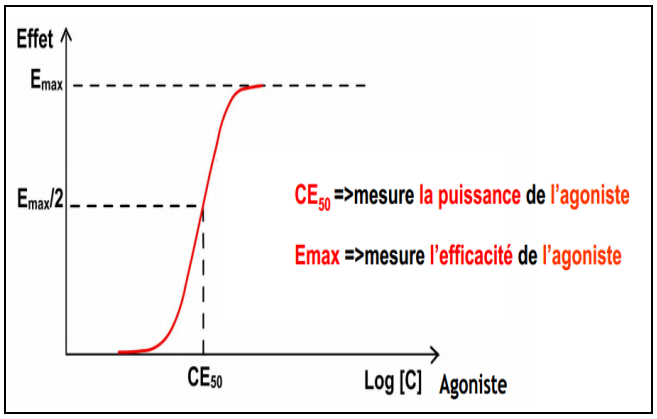


Figure 11. Détermination graphique des paramètres propres à une substance agoniste. *Extrait de :***(27)**

Les relations PK/PD permettent de relier l'exposition et l'effet d'un médicament et ainsi d'évaluer l'efficacité d'un médicament en fonction du temps.

Dans le cadre du développement d'un médicament, ces relations permettent d'optimiser la dose à administrer et le rythme posologique à suivre. De plus, des populations particulières peuvent être mises en évidence, en présentant des profils atypiques.

Lorsqu'une faible marge thérapeutique est déterminée pour une molécule, un ajustement posologique est nécessaire pour chaque patient, pour déterminer le bon dosage, car la limite entre l'efficacité et la toxicité est très proche.

Aujourd'hui, des modèles mathématiques et statistiques permettent d'évaluer et de prédire ces approches dynamiques, qui évoluent en fonction du temps, et d'étudier les facteurs de variabilité.

b) Les modèles pharmacocinétiques

(1) L'analyse non compartimentale

L'approche de pharmacocinétique la plus simple est l'analyse non compartimentale qui consiste à déterminer les principaux paramètres primaires et secondaires, à partir du graphe de la concentration en médicament en fonction du temps.

Les paramètres primaires ne reflètent en général qu'un seul phénomène, et les paramètres secondaires dépendent de plusieurs étapes et découlent des paramètres primaires.

Ainsi, les principaux paramètres primaires sont :

- La biodisponibilité (F) qui représente la fraction de la dose administrée qui atteint la circulation systémique. Elle est le reflet de l'absorption.
- Le volume de distribution (Vd) qui se définit comme le volume fictif dans lequel se distribue le médicament pour être en équilibre avec la concentration plasmatique.
- La clairance (Cl) qui est la capacité d'un organe (rein, foie) à épurer un volume de sang par unité de temps. Elle représente les phases de métabolisme et d'élimination.

Parmi les paramètres secondaires qui en découlent, on peut noter : l'AUC (Area Under the Curve), qui représente l'exposition du médicament dans l'organisme, ainsi que la demi-vie d'élimination ($t_{1/2}$) qui définit le temps nécessaire pour que la concentration plasmatique d'un médicament diminue de moitié.

Pour ce qui est de l'ADC, aux vues de son mécanisme d'action, où il doit fixer sa cible puis s'internaliser pour libérer sa charge toxique, il aura tendance à être décrit par un faible volume de distribution et une clairance lente, donc une demi-vie longue.
En effet, aux vues de son poids moléculaire et de sa polarité, il sera peu à même de se distribuer dans les tissus (ie.faible volume de distribution). Puis, la clairance de l'ADC va être largement déterminée par la fixation du mAb au récepteur cible (nombre de récepteurs, affinité de l'ADC). Le processus d'internalisation et le cheminement intracellulaire de l'ADC vont être en faveur d'une persistance de l'ADC dans l'organisme et donc ainsi d'une demi-vie longue.

(2) L'analyse compartimentale

La notion de compartiment se définit comme un espace virtuel (ou réel, exemple du compartiment sanguin) dans lequel la substance est instantanément répartie de manière *homogène*. Ainsi, la pharmacocinétique est *identique* en tout point du compartiment. En fonction de la dose, les paramètres primaires vont être constants, alors que les paramètres dits secondaires vont être proportionnels à la dose : il y a donc *linéarité* des fonctions utilisées.
Le transfert de matière entre deux compartiments suit la loi de conservation de masse (Figure 12), donc : ΔQ = Q entrante – Q sortante

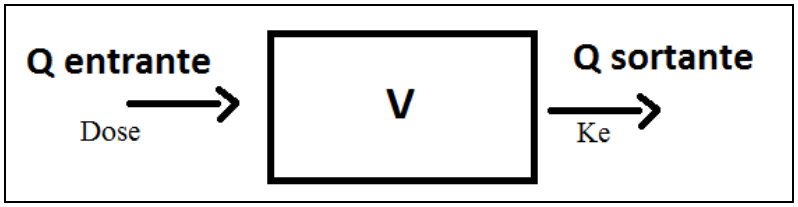


Figure 12. Schéma d'un modèle mono-compartimental
Avec Q : quantité de matière, V : volume du compartiment et Ke : constante d'élimination

La vitesse de transfert de masse est donc :

$$\frac{dQ(t)}{dt} = -Ke.Q(t)$$

La solution analytique de cette équation différentielle, peut s'écrire de la façon suivante :

$$Q(t) = Dose\ .\ e^{-Ke.t}$$

Donc la concentration dans le compartiment à chaque temps t est :

$$C(t) = \frac{Dose}{V}\ .\ e^{-Ke.t}$$

Dans certains cas, la vitesse de transfert peut être constante, la cinétique est dite d'ordre 0 ; cela concerne, l'administration en IV par infusion. La constante de vitesse peut aussi parfois être de type michaëlienne pour décrire le phénomène de saturation de certains complexes enzymatiques. Ainsi le transfert de masse s'écrit :

$$\frac{dQ(t)}{dt} = -\frac{Vm\ .\ Q(t)}{Km + Q(t)}$$

avec Vm : vitesse maximale pour une quantité saturante et Km : constante de Mickaëlis spécifique de l'enzyme.

Le nombre de compartiments et leur organisation, se détermine en fonction du profil pharmacocinétique et des données observées. Aussi, cette méthodologie est appelée "basée sur les données" ou "data based".

En ce qui concerne les ADCs, le couple Gibiansky (Leonid & Ekaterina) s'est intéressé à décrire le profil pharmacocinétique d'un ADC via un modèle de TMDD (Target Mediated Drug Disposition), qui consiste à prendre en compte les caractéristiques du complexe ADC-récepteur (production et la dégradation du récepteur, l'association et la dissociation du complexe et l'internalisation du complexe), qui subit une cinétique non linéaire (eg. de type michaëlienne) (Figure 13).

De plus, le nombre de molécules cytotoxiques liées à l'anticorps qui décroit en fonction du temps est pris en compte dans ce modèle (28). En effet, une fois injecté, un ADC peut se distribuer dans un compartiment périphérique, ou subir une clairance non-spécifique (protéolyse), ou comme souhaité, se lier à sa cible, s'internaliser, et être dégradé intracellulairement. Tout au long de ces processus, le cytotoxique peut être amené à se détacher du mAb, et à évoluer seul dans les compartiments périphériques ou la circulation générale.

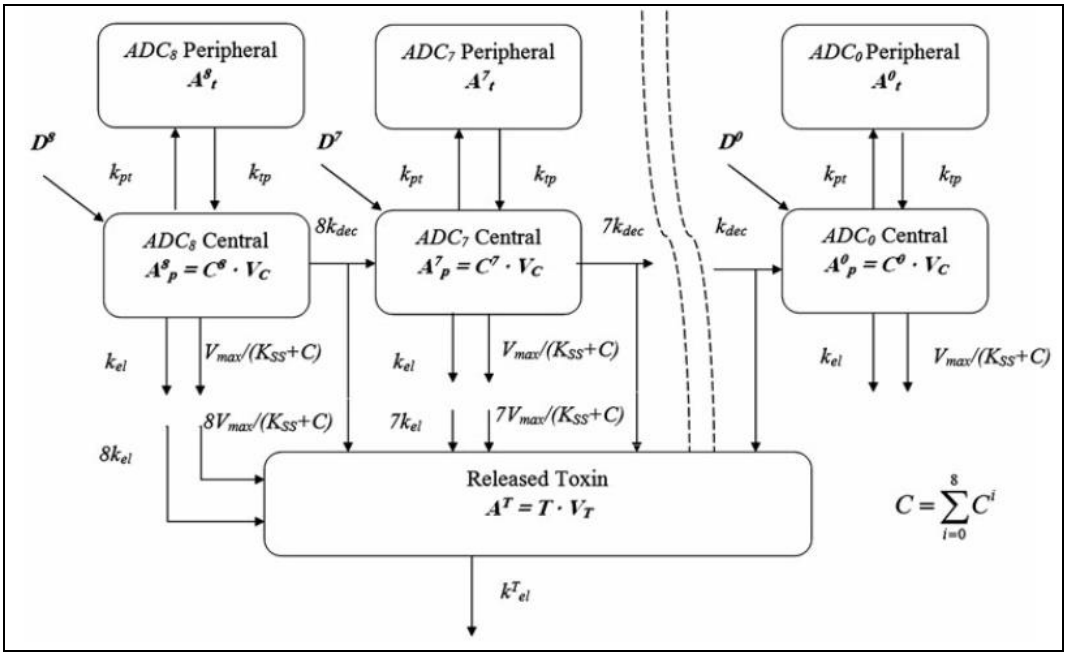


Figure 13 . Représentation schématique du modèle de TMDD, où le nombre de cytotoxiques lié au mAb varie de 0 à 8. *Extrait de :* **(28)**

(3) L'analyse physiologique

Cette approche se base aussi sur des compartiments, mais contrairement aux modèles précédents, les compartiments représentent un organe ou une unité physiologique (circulation sanguine) pour décrire de façon la plus fidèle l'organisme humain. Par opposition à la modélisation "basée sur les données", cette technique est appelée "modélisation basée sur la physiologie" ou "Physiologically based pharmacokinetic modeling" (PBPK modeling"). La mise en place de tels modèles, nécessite d'intégrer de nombreux paramètres, ainsi la bonne connaissance de la substance et de son comportement (mécanisme d'action) est requise.

Les échanges entre chaque compartiment sont essentiellement régis par les lois de Fick sur la diffusion et la perfusion de la matière (29).

Par exemple, l'équipe du Dr.Shah a décrit un modèle de PBPK pour les mAbs (Figure 14), afin de décrire leur distribution dans les différents tissus sur différentes espèces animales, et puis, par la suite, d'évaluer le potentiel d'extrapolation à l'Homme. Le modèle décrit 15 compartiments, qui correspondent à des parties anatomiques de l'organisme. Ce modèle de PBPK prend aussi en compte une situation pathologique, où un compartiment est dédié à la tumeur.

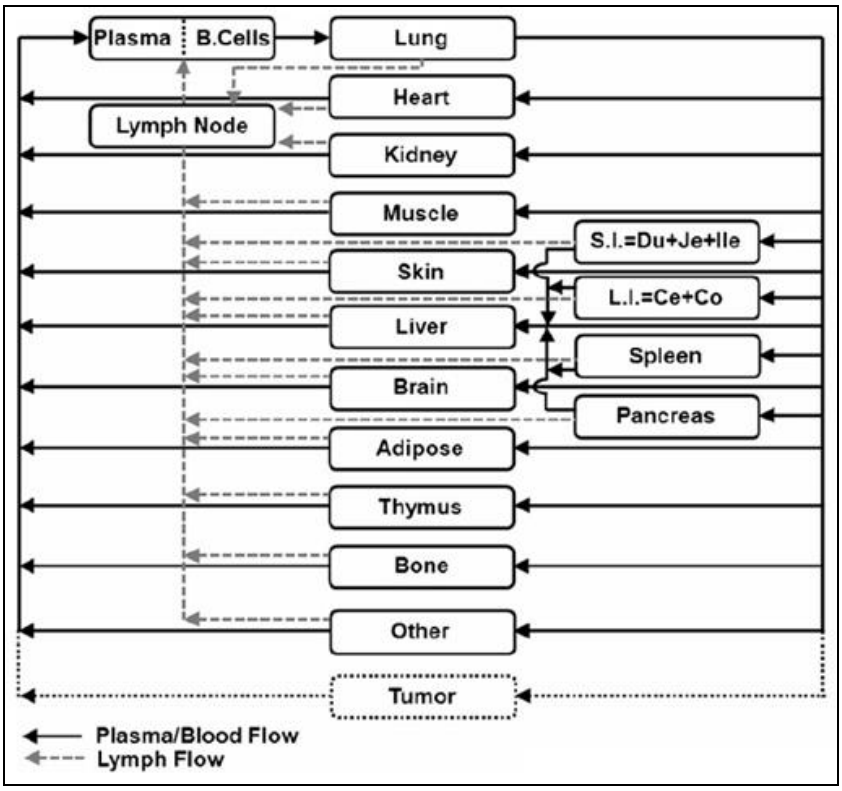


Figure 14. Représentation schématique du modèle de PBPK pour un mAb. *Extrait de :* **(30)**
SI : Small Intestine ; Du : Duodenum ; Je :Jejunum ; Ile : Ileum ; Other = Stomach+Bladder+Gallbladder+Thyroid…

(4) L'approche de population

Comme il a été évoqué précédemment, un profil pharmacocinétique peut être influencé par des facteurs environnementaux, pathologiques et génétiques, cela induit donc une grande variabilité inter et intra-patients. De plus, les erreurs de mesure liées à l'expérience ainsi que les approximations effectuées, peuvent être une source de variabilité. C'est pourquoi, l'approche dite de population a été mise en place. Elle consiste à prendre en compte toutes les données chez tous les patients, c'est-à-dire que le protocole de recueil de données peut varier d'un sujet à l'autre, ainsi que le nombre de mesures par sujet.

Cette approche est souvent utilisée durant les phases cliniques de développement car elle facilite l'inclusion des patients dans le protocole, notamment pour les populations

particulières (enfants, personnes âgées), où les données récoltées sont souvent éparses, et où peu de prélèvements sont possibles.

Elle permet une analyse de toutes les données en une seule étape, en modélisant le profil pharmacocinétique d'un individu moyen (appelée prédiction de population), auquel on ajoute un modèle d'erreur sur la prédiction (erreurs de mesure). A ce modèle est greffé un modèle de variabilité interindividuelle pour décrire les différences entre chaque patient, ainsi que l'influence de certains facteurs choisis, comme l'âge, le sexe, le poids, ou bien le polymorphisme génétique par exemple. La démarche classique adoptée est de d'abord de décrire les données via une analyse compartimentale, pour ensuite y joindre le modèle qui décrit les variations entre les patients.

c) La modélisation PK/PD

La modélisation PK/PD établit la relation entre les concentrations plasmatiques (PK) et l'effet observé (PD). Généralement, cette relation n'est pas évidente, donc la réponse biologique ne coïncide pas avec les concentrations mesurées. Ainsi, la modélisation mathématique par ordinateur permet d'établir le lien entre ces deux disciplines, que sont la pharmacocinétique et la pharmacodynamique.

Les systèmes PK/PD peuvent être classifiés selon la figure suivante, établi par une équipe de l'université de Buffalo (31).

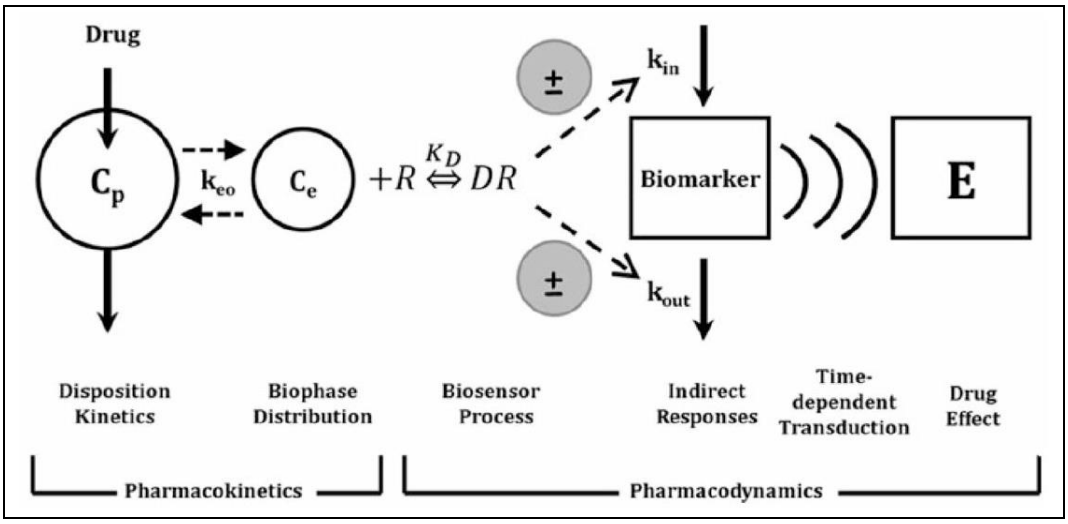


Figure 15. Les constituants des systèmes PK/PD. *Extrait de :***(32)**

La partie dédiée à la Pharmacocinétique va servir de moteur de l'efficacité, au niveau plasmatique (Cp) ou au niveau du site d'action de la molécule, c'est-à-dire dans la biophase (Ce).

Le processus biosenseur, retranscrit l'intéraction entre la molécule et la cible cellulaire, en décrivant le phénomène de formation et dissociation du complexe (théorie de l'occupation des récepteurs) et en prenant en compte l'affinité de la molécule pour sa cible (Kd). Il s'agit d'une action directe, où cette intéraction peut être mesurable.

Dans de nombreux autres cas, l'intéraction entre le ligand et sa cible n'est pas quantifiable directement, on utilise donc des biomarqueurs endogènes, qui retranscrivent fidèlement l'action du médicament (eg. surexpression de HER2 dans le cancer du sein). Ainsi le processus biosenseur, sert à stimuler ou à inhiber la production ou la perte de la substance endogène. Ce sont les réponses indirectes.

Pour finir, il existe des cas, où l'action du médicament est à effet retardé, c'est-à-dire que la molécule dosée est totalement éliminée de l'organisme alors que l'effet n'est pas encore observé. Ces phénomènes sont décrits par des modèles temps-dépendant, où le temps de latence est modélisé par un enchainement de compartiments de transit.

Dans le cas de l'utilisation en oncologie, des modèles ont été conçus pour décrire l'action des molécules anticancéreuses , en se basant sur la réduction du volume tumoral (Simeoni, (33), Lobo & Balthasar (34)). Plus récemment, l'équipe de Jumbe a adapté un modèle semblable de régression tumorale, aux ADCs , en différenciant les cellules tumorales sensibles et celles non sensibles au traitement (35). Le modèle a su décrire la relation PK/PD de Kadcyla® (Trastuzumab Emtansine) chez la souris.

d) Focus sur les modèles précoces translationnels

Les modèles translationnels offrent la possibilité d'intégrer des données très précoces du développement (précliniques) pour prédire une activité chez l'Homme. Des données in-silico, in-vitro et in-vivo peuvent être implémentées dans les modèles afin d'anticiper les effets d'une nouvelle molécule.

Ainsi, dans le développement précoce d'une nouvelle molécule, ces modèles sont utiles pour :

- Sélectionner et valider la cible ou le composé, si plusieurs possibilités existent
- Prédire l'efficacité du composé (EC50)
- Optimiser la dose et le rythme posologique
- Supporter les essais de « proof of concept »

Les modèles translationnels nécessitent de pouvoir doser la molécule au site d'action ou d'obtenir un biomarqueur adéquat. La quantification de l'effet doit être sensible, reproductible, proportionnelle, objective (sans biais) et significative (29). Pour cela, la méthode de dosage analytique doit être validée selon les GMP (Good Manufacturing Practices).

De plus, afin de pouvoir prédire une activité chez l'Homme, le choix du modèle animal est important afin de refléter au mieux les processus physiologiques et biologiques chez l'humain.

Des hypothèses et approximations doivent souvent être effectuées afin de rendre la transposition possible.

Classiquement, l'extrapolation à l'Homme est effectuée par une relation d'allométrie qui consiste à associer un phénomène physiologique, θ (par exemple: clairance, rythme cardiaque, etc.) au volume du corps humain, grâce à la relation :

$$\theta = a \, . P^b$$

où θ représente le processus physiologique ou biologique, P, le poids du corps humain, a et b, les coefficients allométriques.

Une approche plus récente est l'utilisation des modèles PBPK pour permettre une extrapolation chez l'homme plus physiologique et vraisemblable. Cette approche repose sur le principe selon lequel l'organisation anatomique et physiologique des différentes espèces mammifères est sensiblement la même. Il en résulte que l'on peut passer d'une espèce à l'autre en changeant simplement les paramètres physiologiques (taille des organes, débit sanguin, etc.).

Après cette première partie de généralités sur les ADCs et la modélisation pharmacocinétique et pharmacodynamique, la suite de la thèse s'intéressera aux travaux réalisés.

II. Travaux réalisés

Partie I : Compréhension des ADCs : approche de Knowledge management

1. Introduction

En 2014, lorsque ces travaux ont été réalisés, les Antibody-Drug Conjugates sont de plus en plus publiés et de nombreux laboratoires pharmaceutiques s'intéressent au sujet. Un grand nombre d'informations sont ainsi diffusées, de nouvelles avancées et des technologies originales régulièrement explorées.
L'état de l'art actuel de la connaissance et la mise en place d'une revue systématique des données se sont donc avérés nécessaires pour élaborer le plan de développement.

Le Knowledge management est une approche qui consiste à identifier et capitaliser des connaissances afin notamment de les standardiser, puis de les organiser afin de les analyser. Le but étant que des données deviennent information et que par la suite, l'information devienne une valeur ajoutée à la connaissance de l'entreprise.
La collaboration avec les différents départements ou sites de l'entreprise et donc la mise en commun d'informations diverses se prêtait ainsi à cette gestion de connaissances.

2. Matériel & méthode

a) Mise en place de l'étude

Le processus de gestion des connaissances s'organise en plusieurs étapes :

- la synthèse de l'information via la mise en place d'une base de données, dans le but de mieux comprendre et maitriser le sujet avec l'information existante d'une part, et de mieux organiser les nouvelles connaissances de façon qu'elles soient compréhensibles et réutilisables, d'autre part. Cette synthèse a été réalisée sur Excel.
- la mise en place d'une revue systématique et quotidienne par la création d'alertes.

Une fois l'information récoltée, il est possible de l'exploiter de manière statistique et de mettre en évidence des tendances et des relations entre les différentes catégories.

L'exploitation des résultats soulèvent des interrogations et permettent de mettre en évidence les améliorations et évolutions effectuées pour parfaire le développement de nouvelles molécules.

b) La base de données

Les informations recueillies dans la base de données sont les suivantes :

- <u>Généralités:</u>
  - DCI
  - Compagnies développant la molécule et le cytotoxique
  - Stade de développement
  - Aire thérapeutique, indications et antigène ciblé

- <u>Structure de l'ADC :</u>
  - Type d'IgG et biotechnologie utilisée (chimérique, humanisé, etc)
  - Linker utilisé, nature du linker (clivable ou non)
  - Cytotoxique utilisé, mécanisme d'action, DAR

- <u>Données cliniques :</u>
  - Panel de 1ères doses et rythme posologique
  - MTD et cause de la MTD
  - Thérapies associées
  - Cause d'arrêt du développement clinique

c) Collection de données et création d'alertes

L'étude s'est basée sur les ADCs en développement clinique aux Etats Unis, par faute d'information sur le développement des ADCs en Europe, et sur les stades précoces du développement (étapes précliniques).

Dans un premier temps, la collection de données s'est effectuée grâce au site internet *ClinicalTrials.gov* qui répertorie tous les essais cliniques se déroulant aux Etats-Unis, de la phase I à la phase IV. Il s'agit d'un site sous la responsabilité des « National Institutes of Health » américains, institutions gouvernementales des Etats-Unis.
ClinicalTrials.gov a permis de mettre en évidence 220 essais cliniques concernant les ADCs, en sachant que plusieurs essais cliniques s'intéressent au même ADC.
Pour chaque essai clinique, sont répertoriés tous les éléments et les modalités des protocoles, ainsi des données préliminaires, comme le rythme posologique, les modalités d'administration et le panel des premières doses administrées pour évaluer la MTD.
Par la suite, l'utilisation de *Pharmaprojects,* un outil du site internet *Citeline.com* a permis d'obtenir des informations sur la composition des ADCs et leurs indications. La mise en place d'une alerte a permis de connaitre quotidiennement les nouveaux ADCs arrivant en développement clinique ou préclinique.
Des alertes sur les sites répertoriant les articles scientifiques comme *Science Direct*, *Springer*, *Pubmed*, ou bien *Google Scholar* ont permis de connaitre les données publiées par les laboratoires, notamment en ce qui concerne les résultats d'essai clinique de phase I.

3. *Résultats de l'étude*

a) L'état de l'art de la littérature

L'étude a permis de mettre en évidence 55 ADCs qui sont ou qui ont été, en développement clinique (Tableau I).

Parmi eux, seulement 2 sont actuellement sur le marché aux Etats-Unis. La moitié des ADCs sont en phase I de développement (Figure 16) ce qui corrobore avec le fait que c'est une technologie nouvelle, pour laquelle de nombreuses études sont faites.

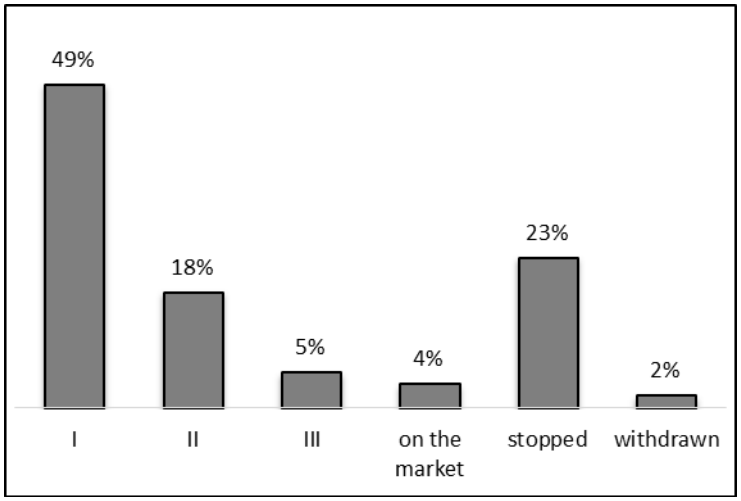


Figure 16. Phases de développement des ADCs

A noter, la difficulté de mettre en place une telle thérapeutique, car la deuxième classe prédominante est représentée par les ADCs arrêtés en développement (23%).

Les ADCs sont indiqués dans un domaine thérapeutique unique qui est l'oncologie.

Par contre, les indications des ADCs et leur champ d'action thérapeutique, sont diversifiés, car en effet aucune cible n'est privilégiée, et les cancers ciblés sont très variés.

A noter, cependant, une légère tendance (Figure 17), où les 2/3 des cancers, sont des tumeurs solides.

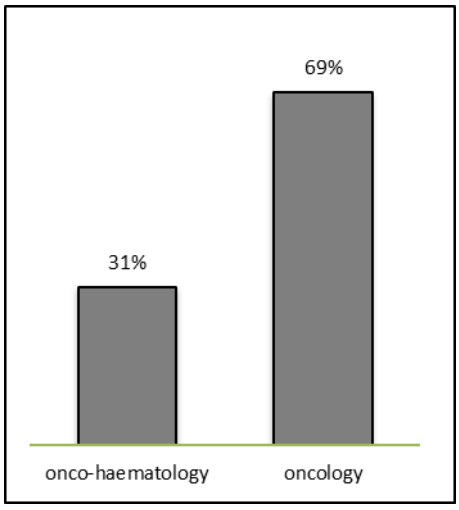


Figure 17. Indication / Aire thérapeutique des ADCs

Tableau I. ADCs en développement clinique aux USA

Nom	*Etapes du dvpmt*	*Aire thérapeutique*	*Indication*	*Cible*
Adcetris®, brentuximab vedotin, SGN35	on the market (2012)	onco-haemato	HL, ALCL	CD30
Kadcyla®, trastuzumab emtansine, T-DM1	on the market (2013)	oncology	solid tumors (breast)	HER2/neu
Mylotarg®, gemtuzumab ozogamicin	withdrawn: 2010; approved: 2000	onco-haemato	acute myeloid leukemia (AML)	CD33
CDX-011, CR011-vcMMAE, glembatumumab vedotin	III / IIb	oncology	solid tumors (breast, melanoma)	glycoprotein NMB
CMC-544, inotuzumab ozogamicin	III	onco-haemato	B cells malignancies (ALL)	CD22
ABR-217620, naptumomab estafenatox	II/III	oncology	solid tumors (ccRCC, NSCLC, pancreatic)	5T4
IMMU-130 (labetuzumab-SN-38, hMN14-SN38)	II	oncology	solid tumors (colorectal)	CD66e (CEA)
IMMU-132 (hRS7-SN-38)	II	oncology	solid tumors (pancreatic, NSCLC)	TACSTD2 (TROP2 or EGP1)
MLN0264	II	oncology	solid tumors (gastric)	Guanylyl cyclase C
PSMA ADC	II	oncology	solid tumors (prostate)	PSMA
RG-7593, DCDT2980S, pinatuzumab vedotin	II	onco-haemato	B cells malignancies (DLBCL, fNHL)	CD22
RG-7596, DCDS4501A, polatuzumab vedotin	II	onco-haemato	B cells malignancies (DLBCL, fNHL)	CD79b
SAR3419, huB4-DM4, coltuximab ravtansine	II	onco-haemato	B cells malignancies (DLBCL, fNHL)	CD19
BT062-SPBD-DM4, BT-062, indatuximab ravtansine	I/IIa	onco-haemato	MM	SDC1 (CD138)
ABT-414	I/II	oncology	solid tumors (glioblastoma, NSCLC)	EGFRvIII
SC16LD6.5	I/II	oncology	solid tumors (recurent SCLC)	Fyn3
ABBV-399	I/Ib	oncology	solid tumors	-
A1mcMMAF, PF-06263507	I	oncology	solid tumors (Tumor Initiating Cells)	5T4
AGS-16C3F	I	oncology	solid tumors (RCC)	ENPP3
AGS-16M8F	I	oncology	solid tumors (RCC)	ENPP3
AMG-172	I	oncology	solid tumors (ccRCC)	CD27L, CD70
AMG-595	I	oncology	solid tumors (glioblastoma)	EGFRvIII
ASG-15ME	I	oncology	solid tumors (bladder, lung)	SLITRK6
ASG-22ME, enfortumab vedotin	I	oncology	solid tumors (bladder, breast, lung, pancreatic)	Nectin-4
BAY 94-9343, anetumab ravtansine	I	oncology	solid tumors	mesothelin
BAY1129980	I	oncology	solid tumors (lung)	C4.4a
GSK2857916, J6M0-mcMMAF	I	onco-haemato	MM	BCMA
hLL1-DOX,IMMU-110, milatuzumab doxorubicin	I	onco-haemato	MM	CD74
HuMax-TF-ADC	I	oncology	solid tumors	TF (CD142)
IMGN-289	I	oncology	solid tumours (head,neck, SCLC)	EGFR (ErbB1)
IMGN-529	I	onco-haemato	B cells malignancies (ALL, NHL)	CD37
IMGN-853	I	oncology	solid tumors (ovarian, NSCLC)	FOLR-1 (Folate receptor 1)
IMGN-901, BB-10901, lorvotuzumab mertansine	I	onco-haemato	MM	NCAM1 (CD56)

Nom	*Etapes du dvpmt*	*Aire thérapeutique*	*Indication*	*Cible*
MDX-1203 (BMS-936561)	I	onco-haemato and oncology	solid tumors (ccRCC) NHL	CD70
RG-7450 (DSTP30865)	I	oncology	solid tumors (prostate)	STEAP1
RG-7458 (DMUC5754A)	I	oncology	solid tumors (ovarian)	Mucin 16
RG-7599 (DNIB0600A)	I	oncology	solid tumors (ovarian, NSCLC)	NaPi2b
RG-7600	I	oncology	solid tumors (ovarian, NSCLC)	mesothelin (MSLN)
RG-7636 (DEDN6526A)	I	oncology	solid tumors (melanoma)	ETBR (endothelin B)
RG-7882 (DMOT4039A)	I	oncology	solid tumors (ovarian, pancreatic)	mesothelin (MSLN)
SAR566658 (HuDS6-DM4)	I	oncology	solid tumors (CA6-positive)	CA6 (Mucin 1)
SGN-CD19A	I	onco-haemato	B cells malignancies (ALL, NHL)	CD19
SGN-CD33A	I	onco-haemato	AML	CD33
SGN-LIV1A	I	oncology	solid tumors (breast)	LIV1 (SLC39A6)
*CMC-544, inotuzumab ozogamicin	stopped (III)	onco-haemato	NHL	CD22
*IMGN-901, BB-10901, lorvotuzumab mertansine	stopped (II)	oncology	SCLC	NCAM1 (CD56)
IMGN-242, hu242-DM4, cantuzumab ravtansine	stopped (II)	oncology	solid tumors (gastric)	CanAg
ASG-5ME	stopped (I)	oncology	solid tumors (pancreatic, prostate)	SLC44A4 (AGS-5)
AVE9633	stopped (I)	onco-haemato	AML	CD33
BAY 79-4620	stopped (I)	oncology	solid tumors	CA-IX
bivatuzumab mertansine	stopped (I)	oncology	squamous cell carcinomas	CD44v6
huC242-DM1, cantuzumab mertansine	stopped (I)	oncology	solid tumors (colorectal, pancreas, NSCLC)	CanAg
IMGN-388	stopped (I)	oncology	solid tumors	Integrin
MEDI-547	stopped (I)	oncology	solid tumors	EphA2
MLN2704	stopped (I)	oncology	prostate cancer	PSMA
RG-7598	stopped (I)	onco-haemato	MM	-
SGN-75, vorsetuzumab mafodotin	stopped (I)	onco-haemato and oncology	solid tumors (RCC) NHL	CD70

ALCL, Anaplastic large cell lymphoma; ALL, Acute lymphoblastic leukemia; AML, Acute myeloid leukemia; ccRCC, Clear Cell Renal Cell Carcinoma; DLBCL, Diffuse large B-cell lymphoma; dvpmt, développement; fNHL, follicular Non-Hodgkin lymphoma ; HL, Hodgkin lymphoma ; MM, Multiple Myeloma ; NHL, Non-Hodgkin lymphoma ; NSCLC, Non-small cell lung cancer ; RCC, Renal Cell Carcinoma ; SCLC, Small cell lung cancer.

b) Les constituants des ADCs

La lecture du tableau II révèle que *la majorité* des ADCs ont :

- Des mAbs de type IgG1 (65%), humanisés (58%)
- Des linkers clivables (64%) par cassure enzymatique (33%)
- Des cytotoxiques qui perturbent la cohésion des microtubules (81%), dérivés de l'auristatine (47%)

Tableau II. Les constituants des ADCs

Nom	*Type IgG*	*biotech*	*linker*	*type de linker*	*cytot*	*MA*
Adcetris®, brentuximab vedotin, SGN35	IgG1	Chi.	dipeptide (vc)	c (protease)	MMAE	antimitotic
Kadcyla®, trastuzumab emtansine, T-DM1	IgG1	Hum.	SMCC	nc	DM1	antimitotic
Mylotarg®, gemtuzumab ozogamicin	IgG4	Hum.	hydrazone	c (acid lysis)	Calichea.	DNA break
CDX-011, CR011-vcMMAE, glembatumumab vedotin	IgG2	F.Hum.	dipeptide (vc)	c (protease)	MMAE	antimitotic
CMC-544, inotuzumab ozogamicin	IgG4	Hum.	hydrazone	c (acid lysis)	Calichea.	DNA break
ABR-217620, naptumomab estafenatox	-	Mu.	-	-	-	-
IMMU-130 (labetuzumab-SN-38, hMN14-SN38)	IgG1	Hum.	benzyl carbonate	c (pH sensitive)	SN38	TOPO inhib
IMMU-132 (hRS7-SN-38)	IgG1	Hum.	benzyl carbonate	c (pH sensitive)	SN38	TOPO inhib
MLN0264	IgG1	F.Hum.	dipeptide (vc)	c (protease)	MMAE	antimitotic
PSMA ADC	IgG1	F.Hum.	dipeptide (vc)	c (protease)	MMAE	antimitotic
RG-7593, DCDT2980S, pinatuzumab vedotin	IgG1	Hum.	dipeptide (vc)	c (protease)	MMAE	antimitotic
RG-7596, DCDS4501A, polatuzumab vedotin	IgG1	Hum.	dipeptide (vc)	c (protease)	MMAE	antimitotic
SAR3419, huB4-DM4, coltuximab ravtansine	IgG1	Hum.	SPDB	c (glutathione)	DM4	antimitotic
BT062-SPBD-DM4, BT-062, indatuximab ravtansine	IgG4	Chi.	SPDB	c (glutathione)	DM4	antimitotic
ABT-414	-	Hum.	mc	nc	MMAF	antimitotic
SC16LD6.5	-	-	-	-	D6.5	antimitotic
ABBV-399	-	-	-	-	-	-
A1mcMMAF, PF-06263507	IgG1	Hum.	mc	nc	MMAF	antimitotic
AGS-16C3F	IgG2	F.Hum.	mc	nc	MMAF	antimitotic
AGS-16M8F	IgG2	F.Hum.	mc	nc	MMAF	antimitotic
AMG-172	IgG1	F.Hum.	SMCC	nc	DM1	antimitotic
AMG-595	-	F.Hum.	SMCC	nc	DM1	antimitotic
ASG-15ME	-	F.Hum.	dipeptide (vc)	c (protease)	MMAE	antimitotic
ASG-22ME, enfortumab vedotin	IgG1	F.Hum.	dipeptide (vc)	c (protease)	MMAE	antimitotic
BAY 94-9343, anetumab ravtansine	IgG1	F.Hum.	SPDB	c (glutathione)	DM4	antimitotic
BAY1129980	-	-	-	-	-	-
GSK2857916, J6M0-mcMMAF	IgG1	Hum.	mc	nc	MMAF	antimitotic
hLL1-DOX,IMMU-110, milatuzumab doxorubicin	IgG1	Hum.	hydrazone	c (acid lysis)	doxo	DNA break
HuMax-TF-ADC	IgG1	F.Hum.	dipeptide (vc)	c (protease)	MMAE	antimitotic
IMGN-289	IgG1	Hum.	SMCC	nc	DM1	antimitotic
IMGN-529	IgG1	Hum.	SMCC	nc	DM1	antimitotic
IMGN-853	-	Hum.	SPDB	c (glutathione)	DM4	antimitotic
IMGN-901, BB-10901, lorvotuzumab mertansine	IgG1	Hum.	SPP	c	DM1	antimitotic
MDX-1203 (BMS-936561)	IgG1	F.Hum.	dipeptide (vc)	c (protease)	Duo.	DNA break
RG-7450 (DSTP30865)	IgG1	Hum.	dipeptide (vc)	c (protease)	MMAE	antimitotic

Nom	*Type IgG*	*biotech*	*linker*	*type de linker*	*cytot*	*MA*
RG-7458 (DMUC5754A)	IgG1	Hum.	dipeptide (vc)	c (protease)	MMAE	antimitotic
RG-7599 (DNIB0600A)	IgG1	Hum.	dipeptide (vc)	c (protease)	MMAE	antimitotic
RG-7600	-	-	dipeptide (vc)	c (protease)	MMAE	antimitotic
RG-7636 (DEDN6526A)	IgG1	Hum.	dipeptide (vc)	c (protease)	MMAE	antimitotic
RG-7882 (DMOT4039A)	IgG1	Hum.	dipeptide (vc)	c (protease)	MMAE	antimitotic
SAR566658 (HuDS6-DM4)	IgG1	Hum.	SPDB	c (glutathione)	DM4	antimitotic
SGN-CD19A	-	Hum.	mc	nc	MMAF	antimitotic
SGN-CD33A	IgG1	Hum.	cysteine residues (va)	c	PBD	DNA break
SGN-LIV1A	-	Hum.	dipeptide (vc)	c (protease)	MMAE	antimitotic
*CMC-544, inotuzumab ozogamicin	IgG4	Hum.	hydrazone	c (acid lysis)	Caliche.	DNA break
*IMGN-901, BB-10901, lorvotuzumab mertansine	IgG1	Hum.	SPP	c	DM1	antimitotic
IMGN-242, hu242-DM4, cantuzumab ravtansine	IgG1	Hum.	SPDB	c (glutathione)	DM4	antimitotic
ASG-5ME	IgG2	F.Hum.	dipeptide (vc)	c (protease)	MMAE	antimitotic
AVE9633	IgG1	Hum.	SPDB	c (glutathione)	DM4	antimitotic
BAY 79-4620	IgG1	F.Hum.	dipeptide (vc)	c (protease)	MMAE	antimitotic
bivatuzumab mertansine	IgG1	Hum.	SMCC	nc	DM1	antimitotic
huC242-DM1, cantuzumab mertansine	IgG1	Hum.	SMCC	nc	DM1	antimitotic
IMGN-388	IgG1	F.Hum.	SPDB	c (glutathione)	DM4	antimitotic
MEDI-547	IgG1	F.Hum.	mc	nc	MMAF	antimitotic
MLN2704	IgG1	Hum.	SMCC	nc	DM1	antimitotic
RG-7598	-	-	-	-	-	antimitotic
SGN-75, vorsetuzumab mafodotin	IgG1	Hum.	mc	nc	MMAF	antimitotic

Biotech, biotechnologie; c, cleavable ; calichea., calicheamycin; cytot, cytotoxique; Doxo, Doxorubicin; Duo., Duocarmycin; F.Hum., Fully Human; H, Humanized; inhib, inhibitor; mc, maleimidocaproyl; MA, Mecanism of action; Mu, Murine ; nc, non cleavable; PBD, Pyrrolobenzodiazepine; SMCC, N-succinimidyl 4-(N-maleimidomethyl) cyclohexane-1 carboxylate; SPDB, N-succinimidyl-4-(2-pyridyldithio) butyrate; SPP, N-succinimidyl 4-(2-pyridyldithio) pentanoate; TOPO, topoisomerase; va, valine alanine; vc, valine citrulline;
* ADC déjà dans le tableau, mais développé/stoppé pour une autre indication

c) Les paramètres cliniques

Le schéma posologique des premières doses administrées chez l'Homme durant les essais cliniques de phase I a pu être récupéré pour 29 ADCs qui sont administrés une fois toutes les 3 semaines (q3w), rythme posologique le plus fréquent. La dose maximale tolérée (MTD) a ainsi été décrite pour 26 ADCs pour le même rythme posologique; les MTDs n'ayant pas encore été atteintes pour les 3 autres ADCs.

La figure 18 indique la gamme de doses et la MTD (bulle), selon le cytotoxique (forme) et le type de linker (couleur). Les ADCs arrêtés en cours de développement sont aussi pris en compte dans les représentations (nom grisé).

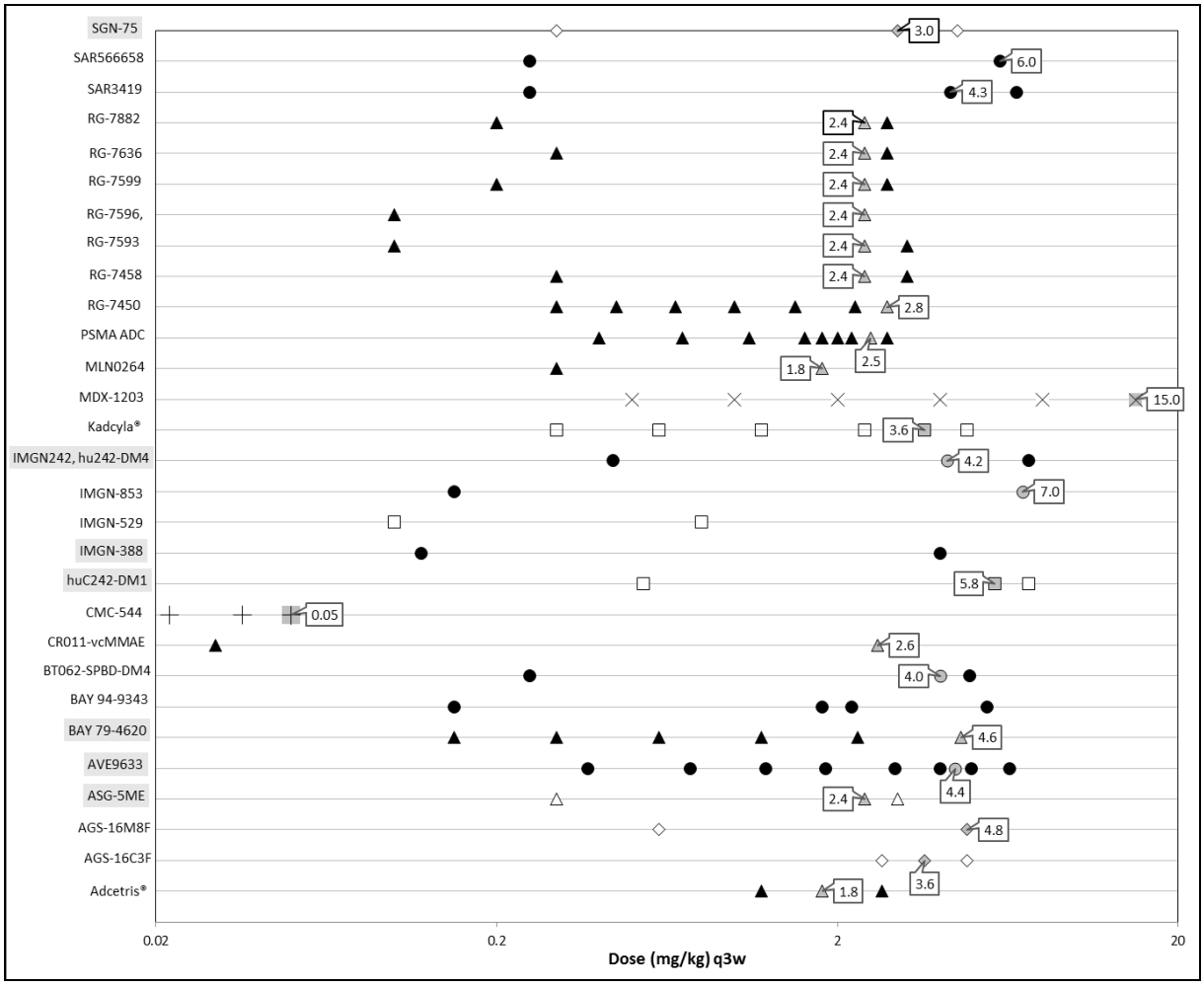
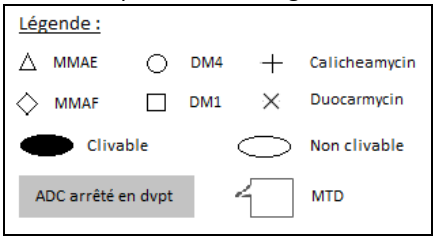


Figure 18. Gamme de premières doses administrées chez l'Homme et dose maximale tolérée, selon un rythme de q3w.

Lorsque seuls 2 points sont représentés, il s'agit d'un intervalle de 1ères doses.



4. Discussion de l'approche de Knowledge Managment

a) Les constituants de l'ADC

Comme l'étude l'a montré, la demande concernant le traitement des tumeurs solides est telle que les ADCs développés actuellement ciblent préférentiellement ces pathologies. En effet, les tumeurs solides possèdent des barrières physiologiques à franchir et présentent de plus une pression intratumorale élevée, les petites molécules utilisées classiquement en chimiothérapie atteignent difficilement leur site d'action.

De plus, les tumeurs solides possèdent une circulation sanguine désordonnée, la vascularisation de la tumeur n'étant pas homogène. Ainsi, la distribution de toute molécule va être hétérogène, et des portions de tumeurs peuvent rester non traitées. La masse moléculaire élevée (env. 150 kDa) de l'ADC peut aussi être un frein à la distribution dans les compartiments profonds de la tumeur solide (36).

En ce qui concerne les cibles, l'étude a révélé qu'il n'existe pas de cibles qui font l'objet d'un intérêt majoritaire. On peut cependant citer pour exemple le cas du récepteur CD33, surexprimé dans les pathologiques hématologiques telles que l'AML (Acute myeloid leukemia). Il s'agit du récepteur qui était visé par Mylotarg®, et pour lequel il a été retiré du marché car la combinaison provoquait une toxicité non acceptable. Pour rappel, Mylotarg® est composé d'un mAb IgG4 humanisé associé à la calicheamycine, via un linker hydrazone, clivable grâce à l'acidité intracellulaire. Paradoxalement, l'association de ce même récepteur et de l'AVE9633, un ADC composé d'un IgG1 humanisé et de dérivés de la maytansine (DM4) par un linker clivable, ne s'est pas montrée convaincante, en raison du manque d'efficacité à des concentrations saturantes (37). L'AVE9633 a été arrêté en développement. Pour finir, le seul encore en développement (phase I) qui vise le CD33 est SGN-CD33A, un mAb IgG1 humanisé couplé à un dimère PDB via des résidus cystéines incorporés à la position 239 de la chaine lourde du mAb. Le DAR de 2 est ainsi maitrisé, ce qui améliore le ratio bénéfice/ risque par rapport aux 2 ADCs précédents.

Pour ce qui est de la constitution de l'ADC, le tableau III montre que le cytotoxique est souvent lié à un linker particulier.

Tableau III. Combinaison linker/cytotoxique des ADCs

cytotoxique	compagnie du cytotoxique	linker	type de linker	% (nombre équivalent d'ADC)
MMAE	Seattle Genetics	dipeptide (valine citrulline)	clivable (rupture enzymatique : protease)	33 (18)
DM4	Immunogen	hindered disulfide (SPDB)	clivable (glutathione)	15 (8)
SN38	Immunomedics	benzyl carbonate	clivable (sensible au pH)	4 (2)
calicheamycine	Wyeth (Pfizer)	hydrazone linker	clivable (hydrolyse acide)	4 (2)
doxorubicine	Immunomedics	hydrazone linker	clivable (hydrolyse acide)	2 (1)
duocarmycine	-	dipeptide (valine citrulline)	clivable (rupture enzymatique : protease)	2 (1)
DM1	Immunogen	thioether (SPP)	clivable	2 (1)
PBD	Seattle Genetics	engineered cysteine residues (valine-alanine)	clivable	2 (1)
MMAF	Seattle Genetics	maleimidocaproyl (mc)	non clivable	15 (8)
DM1	Immunogen	thioether (SMCC)	non clivable	15 (8)

En effet, les cytotoxiques développés spécialement pour les ADCs ont demandé de la part des chercheurs, d'élaborer le linker adéquat pour la fixation sur le mAb. C'est pourquoi, un cytotoxique est souvent lié au même linker, bien que de meilleures combinaisons puissent exister.

Par exemple, des études menées par Immunogen (38), sur un ADC anti-CanAg lié à un dérivé maytansinoïde ont montré que les linkers clivables (SPP) et non clivables (SMCC) ont une activité similaire in-vitro, mais que seul le linker clivable est efficace in-vivo. En revanche, dans le cas de Trastuzumab, l'ADC avec le linker SMCC lié à DM1 a une activité supérieur à celui avec le linker SPP, car la clairance du conjugué SPP-DM1 est 3 fois supérieure à celle du SMCC-DM1 (39,40).

Le peu d'informations récoltées à propos du DAR des ADCs n'a pas permis de mettre en évidence une tendance particulièrement notable, vis-à-vis de la structure de l'ADC et de son stade de développement (cf. *Annexe 1*). Le DAR étant une moyenne du nombre de molécules attachées au mAb, pour un DAR de 3, 0 à 8 molécules par mAb peuvent être présentes, selon une approche classique.

L'équipe de Hamblett et al. (41), a étudié l'effet de la charge sur l'exposition au médicament. Il s'est avéré qu'un DAR de 4 ou 8 (MMAE sur un anti-CD30 mAb) a la même activité in-vivo, en raison de la modification de la clairance. Ainsi, diminuer le nombre de molécules de 8 à 4, double l'index thérapeutique.

b) Les paramètres cliniques

L'analyse de la gamme des premières doses administrées à l'Homme et des doses maximales tolérées (Figure 18) permet de mettre en évidence que les gammes de premières doses testées chez l'Homme sont similaires (0,1-5 mg/kg), quels que soient les cytotoxiques et linkers utilisés. Seuls les ADCs contenant de la calicheamycine se démarquent du lot par leur efficacité à faibles doses (Figure 18). A noter que Mylotarg, contenant aussi de la calicheamycine, qui suit un rythme posologique d'une dose toutes les 2 semaines, suit la même tendance, avec une MTD de 0.22 mg/kg. De plus, l'ADC constitué d'un dérivé de duocarmycine, se démarque avec une gamme de doses élevées, et une MTD fixée à 15 mg/kg, toutes les 3 semaines.

Comme le montre la figure 18, il est possible de noter des MTDs légèrement plus élevées pour les dérivés de la maytansine (DM1 et DM4) que pour les dérivés de l'auristatine (MMAE et MMAF).

c) Les échecs

(1) La première génération

Les premiers ADCs développés ont été basés sur l'alliance de cytotoxiques utilisés en chimiothérapie classique comme le méthotrexate, et des anticorps murins.

L'une des premières causes d'échec est une réponse immunitaire contre ces mAbs de souris, avec la production d'ADA (Anti-Drug Anticorps) par le corps humain. Ces phénomènes sont de nos jours moins courants (bien que toujours contrôlés) grâce à la large utilisation de mAbs humains ou humanisés (86% sur les 91% des ADCs de l'étude dont la biotechnologie utilisée est connue).

La deuxième cause d'échec des premiers ADCs est la stabilité du linker utilisé. Le linker était soit trop stable, donc l'ADC manquait de puissance et d'efficacité, soit trop labile, résultant en une toxicité systémique élevée.

Puis, pour finir les cytotoxiques utilisés n'étaient pas assez puissants, car ceux utilisés maintenant sont 100 à 1000 fois plus puissant.

De nos jours, les problèmes de manque d'efficacité sont surtout observés via des évènements de « drug resistance ». En effet, les cytotoxiques comme MMAE, DM1 et la calicheamycine sont substrats des pompes d'efflux. C'est pourquoi, par exemple, à la suite de MMAE, la société Seattle Genetics a mis au point MMAF, qui présente des propriétés hydrophiles, donc moins sujet à l'efflux ou à la perméabilité. Pour contrecarrer cette sortie du cytotoxique hors de la cellule, de nouveaux linkers comme PEG4Mal ont été développés, pour former un métabolite ionisé dans la cellule, donc moins à même d'être substrat d'une pompe d'efflux (42,43).

Dans d'autres situations, l'efflux du cytotoxique hors de la cellule est un effet recherché. Il s'agit du « bystander effect » qui a pour but d'atteindre les cellules voisines de la cellule cible. Par exemple, dans le cas d'Adcetris® (Brentuximab Vedotin) qui cible les récepteurs CD30+, l'efflux de MMAE hors de la cellule permet d'atteindre également les cellules CD30-, et donc d'augmenter l'efficacité et de réduire les doses (44). Ainsi pour les tumeurs solides, qui ont une distribution hétérogène, cet effet peut être un aspect intéressant (45).

(2) Les échecs en développement

Les causes d'arrêts en développement des ADCs (Tableau IV) sont dues à un manque d'efficacité, à une toxicité non tolérable, à un manque de patients cible (le développement n'est donc plus justifié au regard du coût engendré), ou bien simplement dû à des raisons stratégiques de l'entreprise.

Tableau IV. Causes d'arrêt en développement des ADCs.

Nom	Phase de dvpmt	Cause d'arrêt en développement	Source
Mylotarg®	retiré en 2010	Toxicité hépatique: syndrome véno-occlusif dû à l'expression du récepteur CD33+ sur les cellules de Kupffer	(46)
inotuzumab ozogamicin	III	Efficacité non suffisante, en combinaison avec Rituximab pour cette indication	(47)
cantuzumab ravtansine	II	Manque de patients répondant aux critères	(38)
lorvotuzumab mertansine	II	Efficacité non suffisante pour cette indication	-
ASG-5ME	I	Raisons stratégiques	(48)
AVE9633	I	Manque d'activité à des concentrations saturantes pour le récepteur CD33	(37,49)
BAY 79-4620	I	Deux décès	(50)
bivatuzumab mertansine	I	Toxicité dermique importante : nécrose due à l'expression du récepteur CD44v6 sur les kératinocytes	(51)
cantuzumab mertansine	I	Manque de patients répondant aux critères	(52)
IMGN-388	I	Raisons stratégiques	(53)
MEDI-547	I	Toxicité hématologique: Saignement et problème de coagulation	(54)
MLN2704	I	Fenêtre thérapeutique considérée comme trop faible : effets indésirables hépatiques, neurologiques et hématologiques	(55)
SGN-75	I	Réaction immunodéficitaire : purpura thrombocytopénique idiopathique	(56,57)
RG-7598	I	-	-

Au stade préclinique, certains échecs ultérieurs en développement peuvent être évités. Par exemple, pour améliorer la prédiction de la translation entre l'animal et l'humain, des études de TCR (Tissue Cross Reactivity) peuvent être menées. Elles consistent à révéler et à comparer l'intensité d'expression de récepteurs dans différents tissus animaux et humains, par coloration immunohistochimique. Ainsi, la toxicité « off-target / on-target » peut être anticipée.

Les phénomènes de « off-target » réfèrent à la liaison non spécifique de l'ADC à d'autres récepteurs que la cible visée, ou bien à l'action, par exemple, des petites molécules cytotoxiques sur des cellules environnantes indifféremment.

La toxicité « on-target » représente la liaison ubiquitaire de l'ADC au récepteur cible mais sur des tissus non désirés. Ainsi un effet pharmacologique exacerbé ou des effets indésirables peuvent être observés.

Ainsi les données précliniques, en termes de sécurité et d'efficacité, sont importantes à prendre en compte pour la sélection de dose ou de rythme posologique, dans les études de FIH, notamment par leur implémentation dans des modèles de simulation PK/PD.

Le cas de Mylotarg®, est un bon exemple d'illustration. Mylotarg est le premier ADC à avoir été mis sur le marché aux Etats-Unis en 2000, via une procédure d'autorisation accélérée. Il a été enregistré dans le traitement des leucémies myéloïdes aigües, selon un rythme posologique de 2 doses de 9mg/m² espacées de 14 jours. Il a été retiré du marché volontairement en 2010, car il manquait d'efficacité et montrait une toxicité excessive. Une étude récente [18] a ré-évalué le rythme posologique selon 3 doses de 3mg/m² aux jours 1, 4 et 7 du traitement. Le fait que 80% des récepteurs CD33 soient occupés après une seule dose de 2mg/m² et que la cible subisse un turn-over très rapide, justifie cette dose plus faible et répétée pour maintenir un taux constant d'occupation des récepteurs.

Ainsi une approche en PK/PD intégrant les données précliniques comme le turn-over de la cible et l'expression des récepteurs, ainsi que des concentrations intra-tumorales en cytotoxique, aurait peut-être pu permettre d'éviter cet échec.

5. Conclusion

Cette approche de l'analyse a permis de se rendre compte de l'état actuel de la connaissance des ADCs et d'avoir une vue d'ensemble sur ce qui a été fait et ce qui reste à faire, en matière de recherche et développement de cette thérapeutique.

Elle a mis en évidence que les ADCs sont encore une innovation récente, car la plupart sont au stade du développement précoce et seulement 2 ADCs sont sur le marché.

Cependant, une évolution, surtout du point de vue technique, est notable, en comparaison avec la première génération d'ADCs développés. Cela prouve le grand intérêt de la communauté scientifique pour cette nouvelle technologie, qui est prometteuse dans le domaine de la thérapie ciblée en oncologie.

Pour améliorer le développement de ces nouvelles molécules et réduire le risque d'échec, de nouveaux outils sont de nos jours pris en considération.

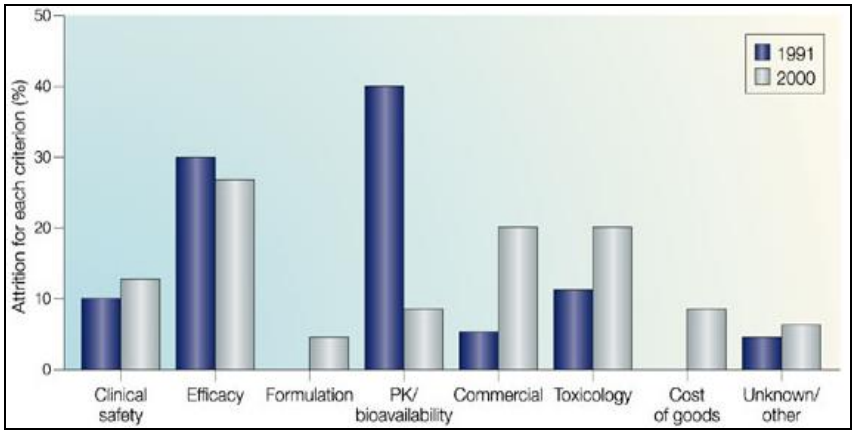


Figure 19. Raisons d'arrêt des molécules en développement pharmaceutique. *Extrait de* **(58)**

En effet, selon Kola et al. (Figure 19), durant les années 90's, la plus grande partie des arrêts en développement étaient dûs à des problèmes liés à la pharmacocinétique et à la biodisponibilité, alors qu'au début des années 2000, ils ne représentaient plus que 10% des arrêts. Une des clefs de ce changement a été la mise en place et l'utilisation plus régulière de la modélisation et de la simulation en développement. Les mauvais candidats médicaments sont plus facilement identifiables, ce qui permet de concentrer les efforts de développement sur des candidats plus prometteurs, avec un développement plus rapide et un gain d'argent.

La modélisation et la simulation vont permettre d'utiliser des données précoces, tels que les données in-vitro et in-vivo chez l'animal, pour sélectionner un candidat, l'optimiser et soutenir les essais de « proof of concept ».

La partie suivante s'appliquera donc à décrire une approche de modélisation et simulation possible pour les ADCs.

Partie II : Approche par la modélisation PK/PD

1. Introduction

Le travail de modélisation de cette étude a consisté, tout d'abord, à rechercher et se documenter sur les modèles PK/PD dédiés aux ADCs, décrits dans la littérature. Par la suite, le but a été de choisir un modèle et de le reproduire grâce aux données disponibles dans la littérature, afin de comprendre et évaluer le potentiel de ces modèles. Pour finir, une utilisation possible du modèle a été envisagée, pour pouvoir déterminer les paramètres pharmacocinétiques critiques à prendre en compte en développement.

2. Matériel & méthode

a) Elaboration du modèle

(1) Choix du modèle

Ce travail s'est intéressé à un modèle PKPD, translationnel chez l'Homme, qui permet de prédire l'efficacité d'un ADC à partir de concentrations plasmatiques. Ce choix a été effectué pour pouvoir soutenir dans le futur, au sein du département, le développement préclinique d'un nouvel ADC, tout en permettant de proposer une première dose chez l'Homme ou d'élaborer des plans d'essais cliniques.

Une équipe (DK Shah, NH Berhane, A.Betts) a, à l'heure actuelle, déjà publié de nombreux articles (59–63). Ils s'intéressent à décrire aussi bien la pharmacocinétique et la pharmacodynamie, par une approche physiologique, en intégrant 3 parties bien distinctes : la distribution plasmatique, la distribution tumorale et un modèle d'efficacité.

Pour un composé donné, il est possible de prédire :

1 - les concentrations intra tumorales en cytotoxique

2 - l'impact de ces concentrations sur l'évolution de la masse tumorale en fonction de la dose administrée et des intervalles de doses.

Il s'agit de modèles mécanistiques car ils décrivent les processus de distribution de la molécule jusqu'au site d'action puis la liaison à la cible et son activation, et pour finir l'intéraction entre l'effet du médicament et sa répercussion sur la maladie. Un élément clef de ces modèles est la distinction entre les paramètres dits « drug-specific » qui décrivent l'intéraction entre la molécule et le système biologique (affinité, activation, etc.) et ceux dits « system-specific » qui s'intéressent au fonctionnement du système biologique (expression, turn over, etc.) (64).

L'extrapolation chez l'Homme est ensuite possible, à partir des données in-vitro et in-vivo chez l'animal.

Sur la base de ce potentiel très intéressant, la décision a été prise de fonder le travail de modélisation sur un article de cette équipe, intitulé « Bench to bedside translation of Antibody drug conjugates using a multiscale mechanistic PK/PD model : a case study with Brentuximab Vedotin» (59).

(2) Description du modèle

Il s'agit d'un modèle qui a été développé pour Brentuximab vedotin (Adcetris®).

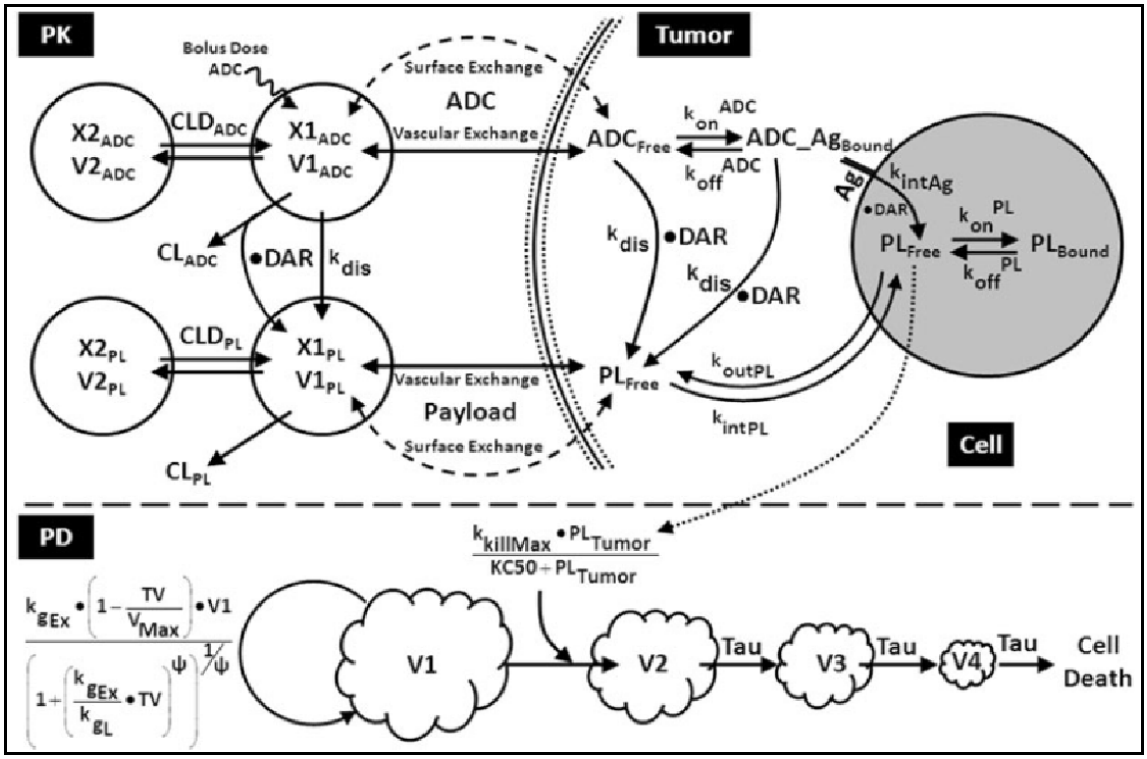
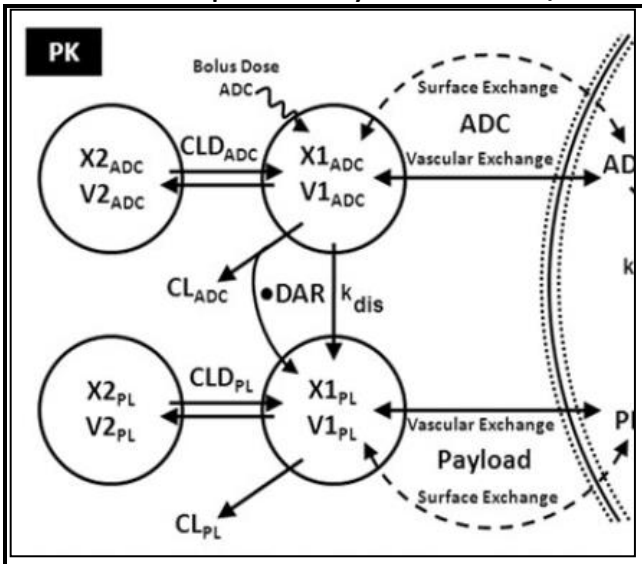


Figure 20. Représentation schématique du modèle PK/PD d'un ADC. *Extrait de :* **(59)**

Ce modèle (Figure 20) se décompose en 3 grandes parties : deux parties dédiées à la pharmacocinétique en différenciant la circulation systémique de la pénétration dans la tumeur cancéreuse, et une partie dédiée à la pharmacodynamie.

Tableau V. Description et analyse du modèle PK/PD

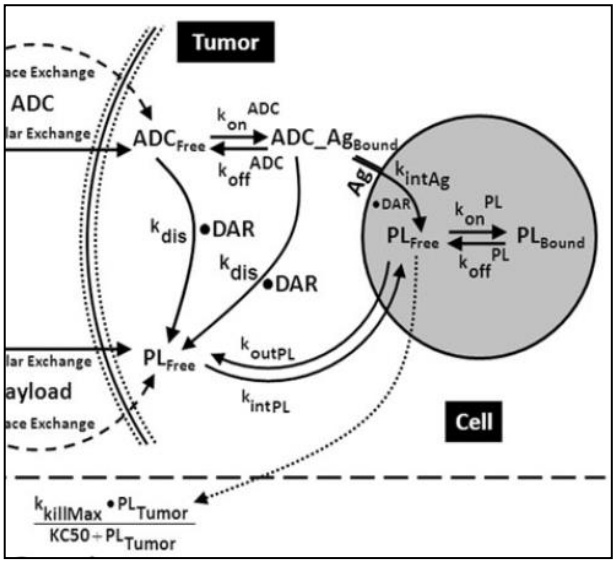


Les concentrations plasmatiques de l'ADC et du cytotoxique chez la souris sont décrites en fonction du temps par un *modèle bi-compartimental* avec une clairance linéaire à partir du compartiment central, qui correspond à la protéolyse non spécifique (non due à l'entrée dans la tumeur).

La stabilité du linker est décrite par l'équation exponentielle : dDAR/dt= - Kdis. DAR

DAR est le nombre moyen de cytotoxiques présent sur le mAb.

Les échanges entre le compartiment plasmatique et l'environnement tumoral sont définis par des modèles mathématiques, représentant les échanges vasculaires et de surface.

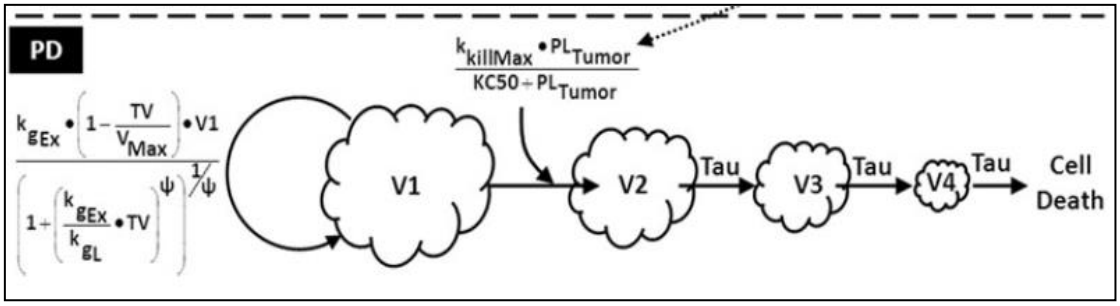


Les concentrations intra-tumorales sont décrites par un modèle de distribution qui différencie, dans la tumeur, les concentrations extracellulaires et intracellulaires. Cela permet de décrire les propriétés « bystander » du cytotoxique, c'est-à-dire l'action du cytotoxique dans l'environnement proche de la tumeur (k_{outPL}).

Une fois entré dans l'environnement tumoral, l'ADC se fixe à l'antigène (Ag), selon la constante d'affinité Kd ($k_{off}^{ADC}/k_{on}^{ADC}$). Avant que le complexe ADC-Ag ne s'internalise dans la cellule tumorale, le cytotoxique peut être amené à se détacher de l'ADC (PL_{free}) comme précédemment, selon la constante de dissociation k_{dis}.

Une fois entré dans la cellule tumorale, l'ADC libère le cytotoxique, qui va aller se fixer sur sa cible intracellulaire (la tubuline ou l'ADN), selon la constante d'affinité Kd (k_{off}^{PL}/k_{on}^{PL})
La quantité de récepteurs membranaires et intracellulaires est également implémentée dans le modèle. Le cytotoxique seul (PL_{free}) peut être amené, à moindre échelle, à diffuser au sein de la cellule tumorale, selon la constante de vitesse k_{intPL}.

La concentration de cytotoxique intracellulaire PL_{free}, représente la concentration efficace au site d'action, elle va donc être le moteur du modèle pharmacodynamique, de réduction tumorale (flèche en pointillé).



La partie pharmacodynamique est décrite par une adaptation d'un « Cell Distribution Model » (CDM) (61).

Le volume tumoral V1 grossit de manière exponentielle puis linéaire. Une fois en contact avec le cytotoxique, la réduction tumorale est décrite par des compartiments de transit à vitesse de transduction 1/Tau constante.

La réduction du volume tumoral est guidée dans les équations différentielles soit par PL_{free}, la quantité de cytotoxique dans la cellule tumorale, soit par PL_{Tumor}, la quantité de cytotoxique présente dans la tumeur entière, si l'effet « bystander » est pris en compte.

Ce modèle est décrit par les équations différentielles suivantes :

- Le modèle pharmacocinétique de l'ADC dans la circulation systémique

$$\frac{dX1_{\mathrm{ADC}}}{dt} = -\frac{CL_{\mathrm{ADC}}}{V1_{\mathrm{ADC}}} \cdot X1_{\mathrm{ADC}} - \frac{CLD_{\mathrm{ADC}}}{V1_{\mathrm{ADC}}} \cdot X1_{\mathrm{ADC}} + \frac{CLD_{\mathrm{ADC}}}{V2_{\mathrm{ADC}}} .X2_{\mathrm{ADC}}$$
$$- \frac{2 \cdot P_{\mathrm{ADC}} \cdot R_{\mathrm{CAP}}}{R_{\mathrm{Krogh}}{}^2} \cdot \left(\mathcal{E}_{\mathrm{ADC}} \cdot \frac{X1_{\mathrm{ADC}}}{V1_{\mathrm{ADC}}} - ADC^{Free}_{Tumor-ExtraCellular}\right) \cdot TV$$
$$- \frac{6 \cdot D_{\mathrm{ADC}}}{R_{\mathrm{Tumor}}{}^2} \cdot \left(\mathcal{E}_{\mathrm{ADC}} \cdot \frac{X1_{\mathrm{ADC}}}{V1_{\mathrm{ADC}}} - ADC^{Free}_{Tumor-ExtraCellular}\right) \cdot TV$$

$$\frac{dX2_{\mathrm{ADC}}}{dt} = -\frac{CLD_{\mathrm{ADC}}}{V1_{\mathrm{ADC}}} \cdot X1_{\mathrm{ADC}} - \frac{CLD_{\mathrm{ADC}}}{V2_{\mathrm{ADC}}} \cdot X2_{\mathrm{ADC}} \; ; IC = 0$$

- Le modèle pharmacocinétique dans l'environnement tumoral et la tumeur

$$\frac{dADC^{Free}_{Tumor-ExtraCellular}}{dt} = \frac{2 \cdot P_{\mathrm{ADC}} \cdot R_{\mathrm{CAP}}}{R_{\mathrm{Krogh}}{}^2} \cdot \left(\mathcal{E}_{\mathrm{ADC}} \cdot \frac{X1_{\mathrm{ADC}}}{V1_{\mathrm{ADC}}} - ADC^{Free}_{Tumor-ExtraCellular}\right)$$
$$+ \frac{6 \cdot D_{\mathrm{ADC}}}{R_{\mathrm{Tumor}}{}^2} \cdot \left(\mathcal{E}_{\mathrm{ADC}} \cdot \frac{X1_{\mathrm{ADC}}}{V1_{\mathrm{ADC}}} - ADC^{Free}_{Tumor-ExtraCellular}\right)$$
$$- k_{\mathrm{on}}{}^{ADC}_{Antigen} \cdot ADC^{Free}_{Tumor-ExtraCellular} \cdot \left(Ag_{\mathrm{Total}} - ADC^{Bound}_{Tumor-ExtraCellular}\right)$$
$$+ k_{\mathrm{off}}{}^{ADC}_{Antigen} \cdot ADC^{Bound}_{Tumor-ExtraCellular}$$
$$Initial\ Condition = Dose_{\mathrm{ADC}}$$

$$\frac{dADC^{Bound}_{Tumor-ExtraCellular}}{dt} = k_{\mathrm{on}}{}^{ADC}_{Antigen} \cdot ADC^{Free}_{Tumor-ExtraCellular} \cdot \left(Ag_{\mathrm{Total}} - ADC^{Bound}_{Tumor-ExtraCellular}\right)$$
$$- k_{\mathrm{off}}{}^{ADC}_{Antigen} \cdot ADC^{Bound}_{Tumor-ExtraCellular}$$
$$- k_{\mathrm{int\,Ag}} \cdot ADC^{Bound}_{Tumor-ExtraCellular}$$

$$\frac{dPL^{Tumor}_{Intra-Cellular}}{dt} = k_{\mathrm{int\,Ag}} \cdot ADC^{Bound}_{Tumor-ExtraCellular} \cdot DAR$$
$$+ k_{\mathrm{int\,PL}} \cdot PL^{Tumor}_{Extra-Cellular} - k_{\mathrm{out\,PL}} \cdot PL^{Tumor}_{Intra-Cellular}$$
$$- k_{\mathrm{on}}{}^{PL}_{Tubulin} \cdot PL^{Tumor}_{Intra-Cellular} \cdot \left(Tubulin_{\mathrm{Total}} - PL^{Bound}_{Tubulin}\right)$$
$$+ k_{\mathrm{off}}{}^{PL}_{Tubulin} \cdot PL^{Bound}_{Tubulin}$$

$$\frac{dPL_{Tubulin}^{Bound}}{dt} = k_{on\,Tubulin}^{PL} \cdot PL_{Intra-Cellular}^{Tumor} \cdot \left(Tubulin_{\text{Total}} - PL_{Tubulin}^{Bound}\right) - k_{off\,Tubulin}^{PL} \cdot PL_{Tubulin}^{Bound}$$

$$\frac{dPL_{Extra-Cellular}^{Tumor}}{dt} = \frac{2 \cdot P_{\text{ADC}} \cdot R_{\text{CAP}}}{R_{\text{Kroeh}}^{\ 2}} \cdot \left(\mathcal{E}_{\text{PL}} \cdot C1_{\text{PL}} - PL_{Extra-Cellular}^{Tumor}\right) + \frac{6 \cdot D_{\text{PL}}}{R_{\text{Tumor}}^{\ 2}} \cdot \left(\mathcal{E}_{\text{PL}} \cdot C1_{\text{PL}} - PL_{Extra-Cellular}^{Tumor}\right) - k_{\text{int PL}} \cdot PL_{Extra-Cellular}^{Tumor} + k_{\text{out PL}} \cdot PL_{Intra-Cellular}^{Tumor} + DAR \cdot k_{\text{dis}} \cdot \left(ADC_{Tumor-ExtraCellular}^{Free} + ADC_{Tumor-ExtraCellular}^{Bound}\right)$$

- Le modèle pharmacocinétique du cytotoxique dans la circulation systémique

$$\frac{dC1_{PL}}{dt} = -\frac{CL_{\text{PL}}}{V1_{\text{PL}}} \cdot C1_{\text{PL}} - \frac{CLD_{\text{PL}}}{V1_{\text{PL}}} \cdot C1_{\text{PL}} + \frac{CLD_{\text{PL}}}{V1_{\text{PL}}} \cdot C2_{\text{PL}} - \frac{2 \cdot P_{\text{PL}} \cdot R_{\text{CAP}}}{R_{\text{Kroeh}}^{\ 2}} \cdot \left(\mathcal{E}_{\text{PL}} \cdot C1_{\text{PL}} - PL_{Extra-Cellular}^{Tumor}\right) \cdot TV - \frac{6 \cdot D_{\text{PL}}}{R_{\text{Tumor}}^{\ 2}} \cdot \left(\mathcal{E}_{\text{PL}} \cdot C1_{\text{PL}} - PL_{Extra-Cellular}^{Tumor}\right) \cdot TV + \frac{X1_{\text{ADC}} \cdot DAR \cdot Kdis}{V1_{\text{PL}}} + \frac{CL_{\text{ADC}} \cdot DAR \cdot \frac{X1_{\text{ADC}}}{V1_{\text{ADC}}}}{V1_{\text{PL}}}$$

$$\frac{dC2_{PL}}{dt} = -\frac{CLD_{\text{PL}}}{V2_{\text{PL}}} \cdot C1_{\text{PL}} - \frac{CLD_{\text{PL}}}{V2_{\text{PL}}} \cdot C2_{\text{PL}}$$

$$\frac{dDAR}{dt} = -kdis \cdot DAR$$

- Le modèle pharmadynamique

$$\frac{dV1}{dt} = -\frac{k_{\text{gExponential}} \cdot \left(1 - \frac{TV}{Vmax}\right) \cdot V1}{\left(1 + \left(\frac{k_{\text{gExponential}}}{k_{\text{gLinear}}} \cdot TV\right)^{\psi}\right)^{1/\psi}} - \frac{k_{\text{kill}_{\text{Max}}} \cdot PL_{\text{Tumor}}}{KC50 + PL_{\text{Tumor}}} \cdot V1; Initial\ Condition = V1_{\text{Initial}}$$

$$\frac{dV2}{dt} = -\frac{k_{\text{kill}_{\text{Max}}} \cdot PL_{\text{Tumor}}}{KC50 + PL_{\text{Tumor}}} \cdot V1 - \frac{V2}{Tau}$$

$$\frac{dV3}{dt} = -\frac{(V2 - V3)}{Tau}$$

$$\frac{dV4}{dt} = -\frac{(V3 - V4)}{Tau}$$

Les paramètres utilisés dans le modèle sont décrits dans l'*Annexe 2.*

(3) Méthodologie de la reproduction du modèle

Afin de reproduire fidèlement un modèle décrit dans la littérature, il est nécessaire de connaitre les équations différentielles du modèle ainsi que la valeur des paramètres décrivant le modèle. C'est une approche qui est dite de simulation, car tous les paramètres sont fixés. Elle s'oppose à la démarche dite d'estimation, où les paramètres du modèle sont déterminés à partir des données expérimentales.

La démarche adoptée pour reproduire un modèle est de procéder de façon séquentielle, en modélisant d'abord le modèle pharmacocinétique, puis la relation pharmacocinétique/pharmacodynamique.

La reproduction du modèle pharmacocinétique a nécessité des adaptations par rapport au modèle décrit dans la publication :

- La dose administrée étant indiquée en mg/kg, elle est transcrite en nM/kg afin d'être homogène en unités avec les équations différentielles. Pour cela, une conversion grâce au poids moléculaire (exprimé en kDa) est nécessaire.
- Le rayon de la tumeur décrit comme « dynamique » dans la publication a été calculé par la formule du volume d'une sphère, à partir du volume tumoral (marqueur de l'efficacité)
- Le volume tumoral (TV) mesuré sur la souris xénogreffée en mm^3 est converti en Litre (uniquement pour la partie pharmacocinétique) afin d'être homogène en unités.

Dans la partie pharmacodynamique, la concentration intratumorale en cytotoxique ($PL_{tumor,}$ eq. $\frac{dV1}{dt}$) à prendre en compte est la somme des concentrations intra-tumorales et intra-cellulaires, et non la concentration intracellulaire en cytotoxique libre, comme l'indique la figure représentant le modèle. En effet, comme il s'agit de MMAE comme cytotoxique qui peut démontrer des propriétés « by-stander », la totalité du cytotoxique compris dans l'environnement tumoral est utilisée comme moteur de l'efficacité.

Les données disponibles dans la publication n'ont pas permis de reproduire le modèle pharmacocinétique, malgré des recherches poussées et de nombreuses tentatives.

En effet, les données de la concentration plasmatique en ADC (Cp_ADC) n'ont pas pu être décrites par le modèle reproduit (lignes pleines sur la figure 21). Alors que les concentrations en cytotoxique dans le plasma (Cp_PL) et la tumeur (Ct_PL) ont été aussi bien décrites par le modèle de l'équipe du Dr.Shah (lignes pointillées), que par le modèle reproduit.

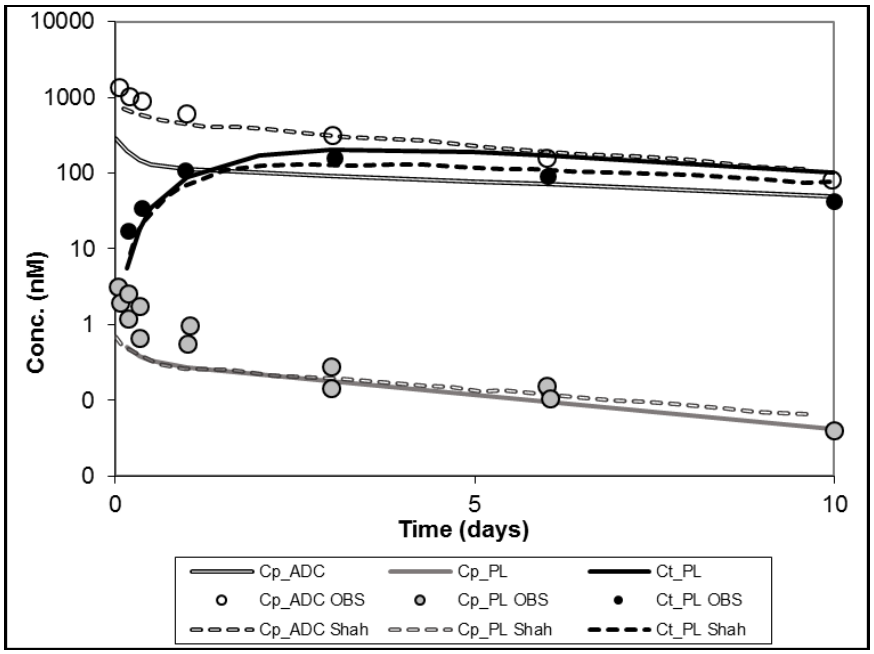


Figure 21. Représentation semi-logarithmique des profils pharmacocinétiques de l'ADC dans le plasma (Cp_ADC), du cytotoxique dans le plasma (Cp_PL) et dans la tumeur (Ct_PL), chez la souris xénogreffée L540cy, à une dose de 2mg/kg de SGN-35.

Des interrogations au sujet de la conformité du modèle ont ainsi surgi. Notamment, quant à l'homogénéité en unité de l'éq. $\frac{dC1_{PL}}{dt}$ qui devrait être une concentration par un temps, mais où la multiplication par TV introduit un facteur « volume », qui n'est pas compensé.

Cependant, des recherches ultérieures ont permis de récolter suffisamment de données et d'éléments pour envisager la modélisation pour une autre molécule : A1mcMMAF.
Le travail de modélisation a ainsi pu être réalisé et mené à bien. La reproduction du modèle n'a pas été réalisée entièrement par simulation, car les paramètres de la relation PK/PD n'étaient pas disponibles. Pour la nouvelle molécule, une analyse par estimation de cette relation a donc été effectuée.

(4) Données d'input

Les données observées et la valeur des paramètres ont été recueillies dans deux articles principaux: « A priori prediction of tumor payload concentrations : preclinical case study with an auristatin-based anti-5T4 Antibody-drug conjugate » (60) et « On translation of antibody drug conjugates efficacy from mouse experimental tumors to the clinic : a PK/PD approach » (61). Le premier, paru en Mars 2014, a permis d'étudier la pharmacocinétique du produit, alors que le deuxième article, écrit par la même équipe en 2013, s'applique à décrire plus précisément le modèle d'efficacité, en étudiant l'évolution du volume tumoral (TV) en fonction du temps.

Les données utilisées dans ces deux articles proviennent d'études in-vitro et in-vivo chez la souris xénogreffée sur plusieurs lignées cellulaires. Le modèle a été reproduit avec la lignée cellulaire H1975. La pharmacocinétique a été étudiée après une dose unique de 3 mg/kg sur une durée de 250h (soit environ 10 jours).
De la même façon, l'étude de la régression tumorale s'est effectuée pendant 28 jours, sur la même lignée cellulaire, pour un véhicule et aux doses de 1, 3 et 10 mg/kg q4dx4 (1 administration tous les 4 jours, à 4 reprises).

(5) Molécule étudiée

L'A1mcMMAF (PF-06263507) est une molécule développée par Pfizer, qui cible le récepteur 5T4 (aussi connus sous le nom de TPBG), antigène présent sur les tumeurs solides et peu exprimé sur les tissus sains.
L'ADC a été conçu en associant un anticorps humanisé anti-5T4 (A1) et l'inhibiteur de polymérisation de tubuline MMAF (monomethylauristatin F). Ces deux entités sont reliées via le linker maleimidocaproyl (mc) de manière à obtenir un DAR d'environ 4.
L'anticorps A1 présente une bonne affinité pour sa cible 5T4 avec un Kd de 0,9nM, et de plus s'internalise rapidement (66% d'internalisation en 4h)(65). Ainsi, les propriétés de l'anticorps sont cherchées à être conservées chez l'ADC.

(6) La modélisation

Pour la partie pharmacocinétique, l'étude s'est basée sur de la simulation, c'est-à-dire en prenant des paramètres issus de la bibliographie et en les fixant dans le modèle pour tenter de reproduire des graphes de résultats décrits dans la littérature.
Pour la partie pharmacodynamique, les paramètres mettant en relation les concentrations intra-tumorales et le volume tumoral n'étaient pas disponibles dans la littérature ; ils ont été estimés à partir de données de volumes tumoraux digitalisés dans la littérature.

Le modèle a été codé sur le logiciel NONMEM (Non Linear Mixed Effects Model), logiciel dédié aux approches de population, en vue de son utilisation future au sein du département.

Le modèle de population est décrit par un modèle dit de structure qui comprend des variables indépendantes (temps, dose, etc.) et des paramètres cinétiques (Cl, V, F, etc.) dits «à effets fixes » ; puis par un modèle d'erreurs, regroupant les effets aléatoires qui représentent les variabilités interindividuelles (explicables) et les variabilités intra-individuelles (dites résiduelles, non explicables). La concentration est la variable dépendante du modèle. La modélisation avec des effets fixes et aléatoires est dite à effets mixtes.
L'expression générale du modèle s'écrit, pour une population de N individus *i*, avec pour chacun *j* concentrations (66,67):

$$C_{ij} = f(\theta, x_{ij}, \eta_i) + \varepsilon_{ij}$$

Où

C_{ij}: Variable dépendante du modèle
f : Modèle de structure
θ: Vecteur des paramètres du modèle à estimer ou effets fixes du modèle (CL/F, V,…)
x_{ij}: Ensemble des deux variables indépendantes ou explicatives, la dose administrée à l'individu *i* (d_i) et le temps correspondant à la $j_{ème}$ concentration (t_{ij})
η_i : Effets aléatoires interindividuels.
Les vecteurs ηi suivent une distribution normale de moyenne nulle, d'écart-type ω et de matrice de variance-covariance Ω constante,
ε_{ij} : Erreur résiduelle ou effet aléatoire intra-individuel qui affecte la concentration *j* de l'individu *i*.
Cet effet aléatoire a une hypothèse de distribution normale de moyenne nulle, d'écart-type σ et de matrice de variance-covariance Σ constante.

Plusieurs modèles de variance existent pour ces erreurs aléatoires :

- Additif : la variance de l'erreur est constante (homoscédasticité)

$$Var(\varepsilon) = \sigma^2$$

- Multiplicatif : la variance est proportionnelle (hétéroscédasticité)

$$Var(\varepsilon) = \sigma^2 \times f(t_{ij}, d_i, \eta_i)^2$$

- Combiné ou mixte (additive et multiplicatif) :

$$Var(\varepsilon) = \sigma_1^2 + \sigma_2^2 \times f(t_{ij}, d_i, \eta_i)^2$$

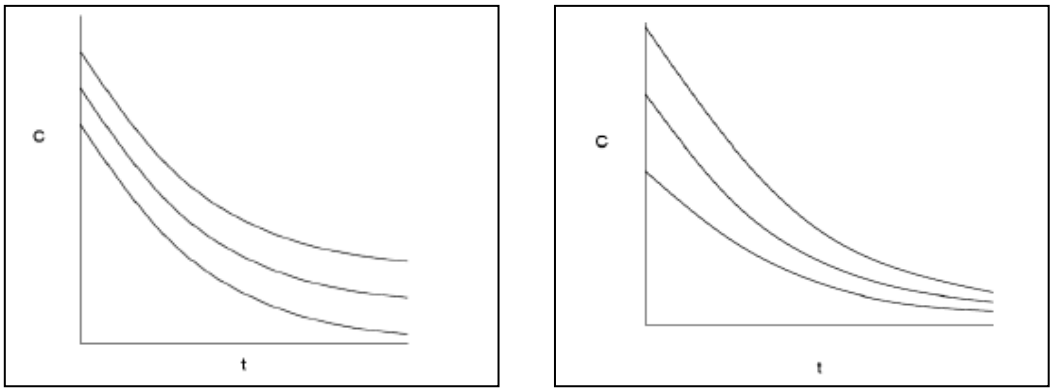


Figure 22. Représentations du modèle d'erreur additif (à gauche) et multiplicatif (à droite)

Dans le cadre de l'étude, le modèle de structure a été choisi *a priori*, car il s'agit d'une reproduction de modèle. Il correspond au modèle décrit dans l'article « Bench to bedside translation of Antibody drug conjugates using a multiscale mechanistic PK/PD model : a case study with Brentuximab Vedotin»(59).

Le travail du modèle PK/PD a consisté à estimer les paramètres de structure et la variabilité résiduelle (VR) puis à déterminer et estimer les variabilités interindividuelles (VII).

Les paramètres de population (θ, Ω, Σ) ont été estimés grâce à la méthode FOCEi (First Order Conditionnal Estimation with interaction), qui est une méthode de linéarisation du modèle au niveau individuel, basée sur le maximum de vraisemblance (valeurs prédites le plus proche possible des valeurs observées) en utilisant la dérivée première. Contrairement aux deux autres méthodes existantes (FO et FOCE), la méthode FOCEi prend en compte l'interaction entre les variabilités interindividuelles et la variabilité résiduelle, lorsque le modèle d'erreur résiduelle est multiplicatif ou mixte. Dans le cas de ce modèle de pharmacodynamique, le nombre de données pour chaque profil a permis de se rapprocher d'un cas de « rich data », donc de privilégier la méthode FOCEi.

Le choix du meilleur modèle est basé sur des critères statistiques et graphiques.

Le critère statistique est conditionné par la fonction objective (FO) qui est égale à -2 fois le logarithme de vraisemblance des données. Pour maximiser la vraisemblance, il faut diminuer la FO. Le critère statistique correspond au test du rapport de vraisemblance (Likelihood Ratio Test ou LRT). On recherche le modèle avec la plus petite fonction objective et le LRT va nous permettre de tester la différence de fonction objective entre 2 modèles.

On appelle Likelihood ratio le rapport des vraisemblances. En prenant le log népérien, cela correspond à la différence des ln(vraisemblance).

Sous H0 (i.e. pas de différence entre les 2 modèles), la différence des –2ln(L) suit une loi du χ^2 à q degrés de libertés, q étant le nombre de paramètres estimés en plus dans le modèle complet par rapport au modèle réduit.

$$\text{Différence } (-2\ln(L)) = \text{OFinitiale} - \text{OFfinale}$$

Si la différence des –2ln(L) est significative (i.e. supérieure à la différence attendue sous H0 pour α=5% et q degrés de liberté), le modèle final sera considéré comme supérieur au modèle initial.

D'autre part, les critères graphiques permettent d'évaluer la qualité d'ajustement (GOF : Goodness of Fit Plot) :

- DV (concentrations observées) et IPRED (concentrations prédites individuelles) vs TIME
- DV (concentrations observées) vs IPRED (concentrations prédites individuelles)
- IWRES (« Individual Weighted Residual ») vs TIME

Toujours dans le but d'évaluer le modèle, des "Visual Predictive Check" (VPC) ont été réalisés. Cette méthode consiste à effectuer 1000 simulations (réplications) à partir de l'ensemble du jeu données (dataset) initial. Les données simulées sont comparées aux observations sur les graphes présentant les concentrations (observées et simulées) en fonction du temps. Pour cela, les $5^{ème}$, $50^{ème}$ (médiane) et $95^{ème}$ percentiles des données simulées ont été calculées, afin de construire un intervalle de prédiction à 90%.

Enfin, un Bootstrap du modèle final a été réalisé afin d'estimer plus précisément les paramètres du modèle. La méthode de Bootstrap consiste à obtenir l'estimation des paramètres, leur écart-type et leur intervalle de prédiction. Elle est basée sur 1000 simulations qui représentent de « nouveaux échantillons » obtenus par tirage avec remise à partir de l'échantillon initial, c'est pourquoi on parle de ré-échantillonnage.

Ces deux méthodes de simulation (VPC et Bootstrap) sont des méthodes de validation interne des modèles, le même jeu de données étant réutilisé (66,68).

(7) Obtention des paramètres

Dans notre démarche de simulation, les paramètres ont été fixés sur la base de ceux décrits dans la littérature.

Dans la démarche d'estimation, envisagée ultérieurement pour le développement « classique » d'une molécule, un grand nombre d'équations et de paramètres, ne permettent pas toujours aux équations différentielles d'être identifiables si le nombre d'observations est limité (par exemple, peu d'information sur les concentrations intratumorales). Ainsi tous les paramètres ne peuvent être estimés par le modèle. De plus, pour permettre au modèle d'être plus performant et de converger plus rapidement, il est recommandé d'obtenir des valeurs de paramètres par l'expérimentation (afin de pouvoir les fixer dans le modèle).

Le tableau VI décrit la façon dont les paramètres du modèle ont été obtenus.

Tableau VI. Méthode d'obtention des paramètres du modèle PK/PD

Paramètre	Méthode
CL_{ADC}, CLD_{ADC}, CL_{PL}, CLD_{PL} $V1_{ADC}$, $V2_{ADC}$, $V1_{PL}$, $V2_{PL}$	Estimés grâce à des données in-vivo
Kdis/DAR	Mesuré
$Kout_{PL}$	Mesuré
Kon_{ADC}, $Koff_{ADC}$	Mesuré
Ag_{total}	Mesuré
$Kint_{Ag}$	Mesuré
$Koff_{PL}$	Fixé
$Kint_{PL}$	Estimé
R_{cap}, R_{Krogh}, P_{ADC}, D_{ADC}, ε_{ADC}	Dérivé de la littérature (calcul mathématique)
Kg_{Exp}, Kg_{Lin}, KC_{50}, $Kkill_{max}$	Estimés
Vmax	Fixé

Parmi ces paramètres, on peut décrire la méthode d'obtention pour les paramètres mesurés :

- le DAR : en fonction de la structure du linker et du site de conjugaison, de nombreuses méthodes analytiques ont été développées (UV/VIS, LC/MS-MS, HIC, etc.) pour déterminer le DAR moyen pour un ADC (69).

- la constante d'efflux du cytotoxique hors de la cellule cancéreuse, KoutPL : elle est déterminée en injectant une quantité connue de cytotoxique radio marqué (^{14}C-MMAE) dans la cellule tumorale, puis la sortie est quantifiée par LC/MS-MS (44).

- la constante de dissociation à l'équilibre, Kd (k_{off}/ k_{on}) : l'affinité pour une cible peut être déterminée via la technique Biacore® par exemple, où la liaison de l'Ac au récepteur est détectée par SPR (surface plasmon resonance)(65).

- la vitesse d'internalisation du récepteur après fixation du ligand: elle est déterminée in-vitro, par fluorescence, en mesurant la perte de signal en surface, en fonction du temps(60).

- le nombre de récepteurs présents sur la tumeur : il peut être déterminé par cytométrie en flux, en déterminant la capacité de liaison des récepteurs. Il faut calculer la MFI (Mean Fluorescence Intensity) via à une molécule fluorescente liée à l'anticorps secondaire((65), supplementary material). Grâce à une courbe de calibration, l'intensité fluorescente est transcrite en quantité de récepteurs.

(8) Version des logiciels utilisés

La modélisation a été réalisée sur le logiciel d'analyse de population NONMEM VI. Afin de rendre l'utilisation de NONMEM plus aisée, l'interface Pdx-Pop y a été associée. Elle facilite surtout l'ouverture des fichiers générés par NONMEM.

Pour obtenir des valeurs de données observées, la digitalisation des données sur les graphes des publications, s'est effectuée via le logiciel PlotDigitizer 2.6.6.

Pour la lecture des résultats, les logiciels R 3.0.3 et Excel 2003 qui ont été utilisés.

b) Application du modèle : Analyse de sensibilité

Les approches de modélisation en PK/PD ont leur utilité à tous les stades de la vie du médicament (63), il s'agit d'un outil continu. En amont du développement préclinique, au stade de la sélection de la cible et du médicament, un tel modèle peut permettre d'analyser les paramètres critiques, via une analyse de sensibilité, en jouant sur la variabilité des paramètres. Puis, à un stade plus avancé, dans la translation en clinique, il servira à prédire la dose efficace et à soutenir la posologie optimale pour les premières études chez l'Homme (FIH : First-In Human).

L'analyse de sensibilité a permis d'évaluer les paramètres pharmacocinétiques qui ont potentiellement un impact critique sur l'exposition intratumorale en cytotoxique.
En effet, en faisant varier un paramètre (en le divisant ou en le multipliant par des valeurs arbitrairement choisies), on peut mesurer le pourcentage de variation de l'exposition intratumorale en cytotoxique par rapport à la valeur de base.

$$\% \text{ change} = \frac{AUCchange - AUCsim}{AUCsim} x100$$

AUCsim représente l'AUC obtenue simulée avec le modèle final, et AUCchange représente l'AUC calculée après le changement de l'un des paramètres.

Pour cette étude de sensibilité, seule la partie dite PK est nécessaire car la partie pharmacodynamique n'a pas ou peu d'influence sur la pharmacocinétique (ce qui a été testé). L'analyse s'effectue par une simple simulation où le paramètre est divisé ou multiplié par un facteur donné arbitrairement (cf. *Annexe 5*). L'analyse a été effectuée selon 3 doses différentes mais avec le même rythme posologique.

Ainsi, le choix des paramètres pharmacocinétiques à faire varier s'est basé sur des interrogations pour optimiser la recherche et le développement de nouvelles molécules :

Tableau VII. Choix des paramètres pour l'analyse de sensitivité

Questions	Paramètres suivis
Choix de la cible	**Ag_{Total}, $Tubulin_{Total}$** **k_{int_Ag}, k_{int_PL}** **Kd_{ADC}, Kd_{PL} (Affinité)**
Stabilité du linker	**k_{dis}**
Puissance du Bystander effect	**k_{out_PL}**
Effet de la clairance non spécifique	**CL_{ADC}, CL_{PL}**

Pour la sélection et l'optimisation d'une cible, à un stade précoce, on veut s'assurer que le récepteur (l'antigène) est capable de transmettre l'ADC dans la cellule pour assurer l'effet pharmacologique.

Par exemple, via ce modèle, il est intéressant de regarder :

- le nombre de récepteurs présents sur la membrane cellulaire (AgTotal) ou présents sur la cible intracellulaire (TubulinTotal).
- la vitesse d'internalisation de l'antigène (k_{int_Ag}) ou la vitesse d'entrée non-spécifique du cytotoxique dans la cellule cancéreuse (k_{int_PL})
- l'affinité de l'ADC pour l'antigène (Kd_{ADC}) ou du cytotoxique pour la cible (Kd_{PL})

Par la suite, dans un souci toxicologique, il est important de s'intéresser très précocement à la stabilité de l'ADC dans la circulation systémique afin de limiter le phénomène «off-target», c'est-à-dire la libération non contrôlée du cytotoxique, qui pourrait provoquer des effets indésirables. Ce modèle permet potentiellement de faire varier la cinétique de la diminution du DAR, et donc la constante de dissociation k_{dis}.

Depuis la mise sur le marché aux USA de Brentuximab vedotin (Adcetris®), l'intérêt scientifique pour l'étude du « bystander effect » d'un ADC s'est accru (44). En effet, cet ADC est indiqué dans le lymphome Hodgkinien, cible le récepteur CD30+, mais il a été montré que le cytotoxique seul libéré par la cellule tumorale était capable de tuer les cellules environnantes, porteuses du récepteur CD30- (70). C'est pourquoi, k_{out_PL}, le taux d'efflux du cytotoxique hors de la cellule tumorale, est intéressant pour étudier la puissance de ce phénomène.

Pour finir, la clairance non spécifique (CL_{ADC}, CL_{PL}), c'est-à-dire l'élimination de l'ADC par protéolyse, par exemple, et non, par la fixation au récepteur, peut avoir un impact non négligeable sur l'exposition de la tumeur au médicament.

Le choix du facteur multiplicatif a été fixé arbitrairement à 2 dans une première approche à titre d'exemple. Pour les faibles variations d'AUC, l'analyse a été effectuée de nouveau avec un facteur multiplicatif de 10. Il pourra à l'avenir être complété par des facteurs plus pertinents en fonction de besoins concrets.

3. *Résultats*

a) Elaboration du modèle

(1) Analyse pharmacocinétique

Le profil pharmacocinétique de l'ADC A1mcMMAF a été décrit par simulation, selon le code NONMEM situé dans l'*Annexe 3*.

Les profils pharmacocinétiques ont été décrits chez la souris xénogreffée H1975, ayant reçu une dose d'A1mcMMAF de 3 mg/kg (souris de 20mg) à j0 et que l'on suit pendant 250 heures (soit environ 10 jours).

Les données suivies (cf. *Annexe 3*) sont :

- la concentration plasmatique du cytotoxique libéré
- la concentration intratumorale de l'ADC
- la concentration intratumorale du cytotoxique (extra et intracellulaire)

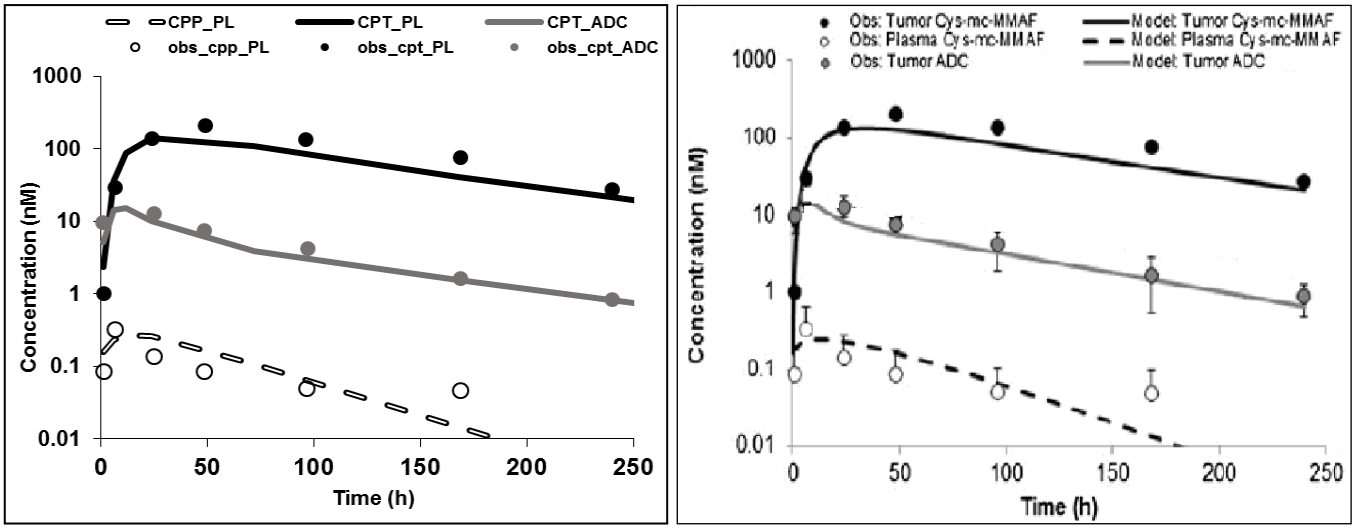


Figure 23. Résultats de la modélisation (à gauche) et de la publication (60) (à droite), représentant les profils pharmacocinétiques de l'ADC et du cytotoxique

Le modèle reproduit correctement les valeurs observées (digitalisées à partir de (60), fig 3.d), grâce à la simulation avec un set prédéfini de paramètres PK.

De plus, la comparaison avec le graphe de la publication nous assure la validité du modèle, les modélisations étant parfaitement équivalentes.

(2) Analyse pharmacodynamique

L'analyse pharmacodynamique a été réalisée par estimation. Les paramètres décrivant la relation entre les concentrations intra-tumorales et le volume tumoral ont été estimés à partir des données digitalisées (65). Le code du modèle est décrit dans l'*Annexe 4.*
Ce travail permet de relier des concentrations intra-tumorales en cytotoxique à la réduction du volume tumoral (cf *Annexe4* pour plus de détails).
La digitalisation de courbes d'efficacité à 3 doses différentes ((65), fig.4A) a permis d'estimer le modèle pharmacodynamique de cette molécule.

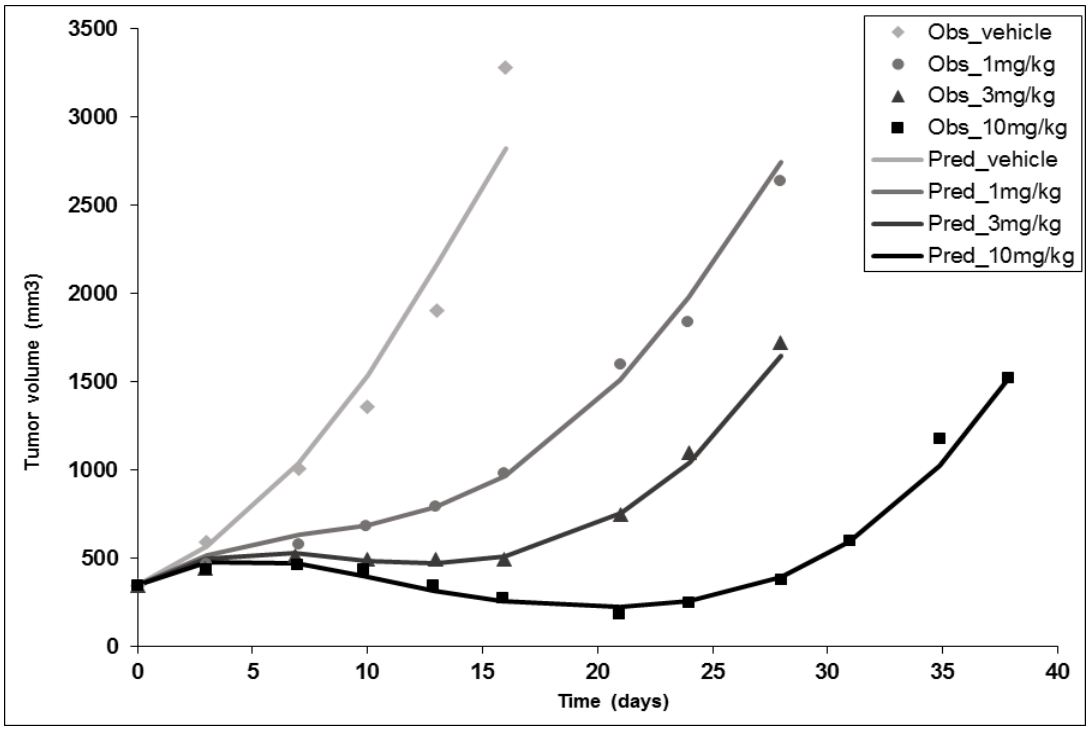


Figure 24. Représentation de l'évolution du volume tumoral en fonction du temps.
Les *marques* représentent les valeurs observées digitalisées et les *lignes* représentent la prédiction par le modèle

La représentation des volumes tumoraux prédits versus time (DV & IPRED vs TIME) permet de constater que le modèle décrit bien les données observées (Figure 24).
Cependant, l'analyse a été difficile à effectuer avec ce logiciel de par le faible nombre d'observations (une quarantaine de lignes dans le data set) pour estimer au moins sept paramètres (5 paramètres PD, 1 VR(σ), 1VII(ω)).
Le meilleur résultat a été obtenu en attribuant des variabilités interindividuelles sur KgExp et Tau, puis une variabilité résiduelle proportionnelle (multiplicative). Ce choix s'est effectué tout d'abord en fonction des graphes diagnostiques (cf. *Annexe 7*) et de la fonction objective (cf. *Annexe 6*). Les erreurs standard d'estimation n'ont pas pu être obtenues par cette méthode.

La méthode des Bootstraps (Tableau VII) a permis d'obtenir des paramètres plus exacts et la précision de ces paramètres.

Tableau VIII. Résultats obtenus par la méthode des Bootstraps

Param.	KgExp	KgLin	Kkill	KC50	Tau	ωKgExp	ωTau	σP
Unités	1/jr	1/jr	1/jr	nM	jr	mm^3/jr	jr	-
Moy.	0.19	469.04	0.60	145.59	1.93	0.0007	0.16	0.005
CV %	4%	45.3%	2.1%	6.8%	17.1%	90%	64.4%	14.8%
IP 0.05	0.17	248.71	0.58	136.61	1.46	-2.21E-06	-0.13	0.005
IP 0.95	0.20	1081.29	0.62	175.39	2.76	0.002	0.28	0.008

Les résultats de la simulation par Bootstrap montrent que les variabilités interindividuelles sont estimées avec une faible précision (la valeur nulle est comprise dans l'intervalle de prédiction à 90%). Dans un développement de modèle plus « classique », ces variabilités estimées avec une faible précision peuvent être retirées du modèle.

L'évaluation du modèle s'est aussi effectuée par la méthode des VPC (Figure 25):

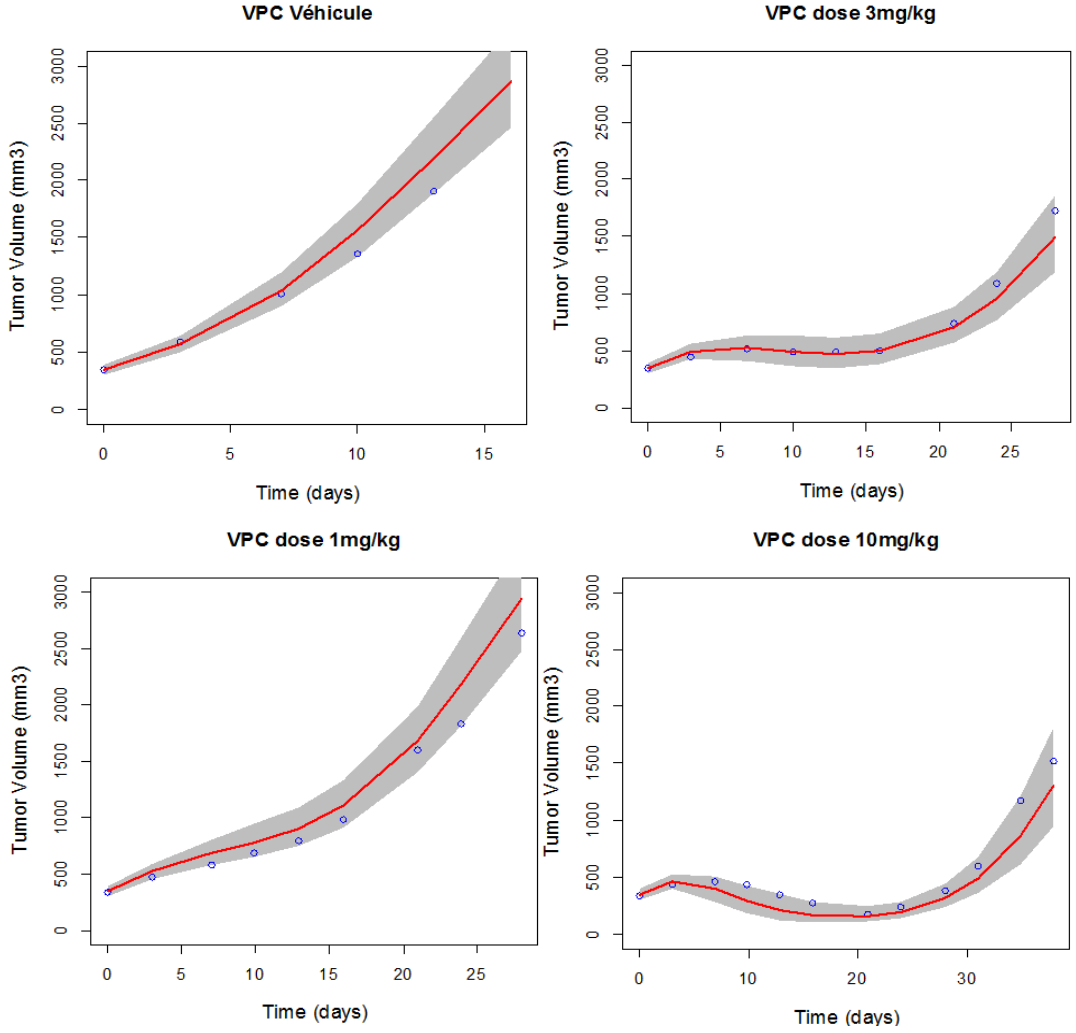


Figure 25. Graphes des VPC

La partie grisée représente l'intervalle de prédiction à 90% et la courbe rouge représente la médiane de 1000 simulations du modèle final.

Etant donné le nombre d'observation, l'analyse statistique des graphes n'est pas pertinente. L'analyse visuelle de ces graphes est suffisante et permet de dire que le modèle décrit correctement les données observées. En effet, approximativement 90% des observations (points sur Figure 25) doivent être incluses dans la partie grisée et la médiane des prédictions doit décrire les observations de manière équilibrée.

b) Application du modèle

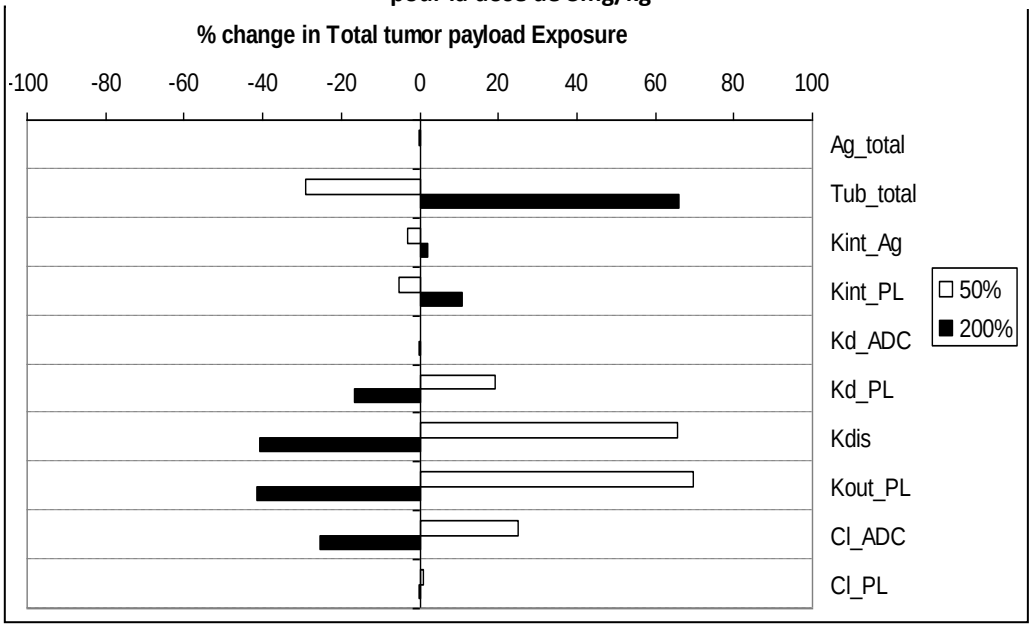
(1) Analyse de sensibilité

L'analyse de sensibilité a été effectuée sur les paramètres pharmacocinétiques, en les faisant varier arbitrairement d'un facteur multiplicatif de 2 dans un premier temps, ce qui représente une variation faible et qui est couramment utilisé comme valeur de départ dans les analyses de sensibilité. Puis, pour les paramètres n'ayant pas beaucoup d'influence, la variation importante a été fixée à 10.

Les tableaux ci-dessous (tableaux IX & X) représentent le pourcentage de changement de l'exposition du cytotoxique dans la tumeur, en fonction de chaque paramètre, pour la dose de 3 mg/kg (les graphes aux autres doses sont présentés dans l'*Annexe 8*).

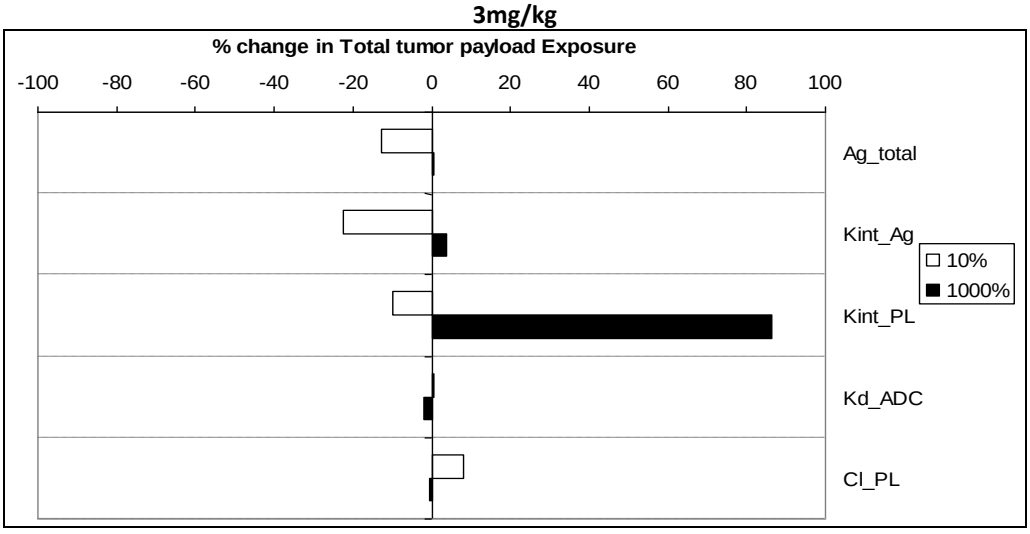
Les barres noires du tornado plot représentent l'évolution de l'AUC lorsque le paramètre est multiplié, alors que les barres blanches représentent l'évolution de l'AUC lorsqu'il est divisé. Plus les barres sont importantes, plus les paramètres vont être importants à prendre en compte car leur variation aura un impact sur l'exposition de la tumeur au cytotoxique.

Tableau IX. Analyse de sensibilité pharmacocinétique, avec un facteur multiplicatif de 2, pour la dose de 3mg/kg



Pour les paramètres qui n'ont pas beaucoup d'impact, il a été décidé d'effectuer la même analyse, avec un facteur multiplicatif de 10 :

Tableau X. Analyse de sensibilité pharmacocinétique, avec un facteur multiplicatif de 10, pour la dose de 3mg/kg



Les paramètres qui se sont révélés sensibles lors de cette analyse sont : la quantité de récepteurs intracellulaires, la constante de dissociation du cytotoxique au récepteur intracellulaire, la constante d'efflux du cytotoxique hors de la cellule tumorale, la clairance non spécifique de l'ADC et dans une moindre mesure, la constante d'internalisation du cytotoxique seul dans la tumeur.

4. Discussion de la modélisation PK/PD

a) Etude des résultats de l'analyse de sensibilité

L'analyse de sensibilité a été effectuée selon trois doses différentes mais avec le même rythme posologique, et les facteurs multiplicatifs ont été choisis arbitrairement. Ainsi, ce travail a été effectué pour illustrer une des utilisations possibles du modèle en développement. Donc, les résultats obtenus dans ce cas-là sont donnés à titre d'exemple, l'analyse doit être réitérée pour chaque nouvelle molécule et les résultats étudiés au cas par cas.

Pour la sélection de la cible, cette analyse de sensibilité a permis de mettre en évidence que, d'une façon surprenante, l'expression des récepteurs membranaires (Ag_total) ainsi que les vitesses d'internalisation (k_{int_Ag}) ou l'affinité (Kd_{ADC}, Kd_{PL}), n'ont que peu d'influence sur l'exposition tumorale, même lorsqu'ils sont multipliés ou divisés par 10 (sauf la diffusion passive du cytotoxique, k_{int_PL}, lorsque multipliée par 10).

De façon plus logique, la stabilité du cytotoxique sur l'anticorps (représentée par k_{dis}, constante de dissociation du cytotoxique sur l'anticorps) est un paramètre sensible. Ainsi lorsque k_{dis} est diminué, l'ADC est plus stable, il y a moins de libération de cytotoxique dans la circulation générale et donc plus dans la tumeur, l'exposition tumorale augmente. Cela explique pourquoi, la clairance plasmatique du cytotoxique n'a pas d'influence sur la concentration intratumorale, car la cinétique plasmatique du cytotoxique est limitée par la dissociation du complexe (elle est dite formation-limitée)(60).

De plus, l'importance de la constante d'efflux du cytotoxique (k_{out_PL}) prouve l'impact que peut avoir le « bystander effect » sur l'efficacité du médicament. Ce paramètre devient donc important à prendre en compte, car même s'il peut avoir un effet bénéfique aux alentours proches de la cellule tumorale (comme sur les cellules tumorales n'exprimant pas le récepteur), il peut générer des nombreux effets indésirables (13).

La clairance non spécifique de l'ADC (CL_{ADC}) induit une distribution du cytotoxique dans les compartiments périphériques. En effet, lorsque CL_{ADC} augmente, l'exposition intratumorale du cytotoxique diminue, car il y a moins de molécules d'ADC disponibles pour être internalisées dans la tumeur et libérer leur charge. En termes de sécurité, un tel phénomène serait donc important à étudier en développement, car le taux de cytotoxique libre dans la circulation systémique est plus important.

b) Avantages & limites des modèles PK/PD

L'élaboration d'un modèle PK/PD pour une molécule complexe, telle qu'un ADC permet d'exploiter des données obtenues in-vitro, comme le nombre de récepteurs membranaires, la vitesse d'internalisation ou bien les constantes de dissociation du complexe anticorps-antigène. Ainsi, la force de ce modèle est qu'à partir de données in-vitro, il puisse prédire l'activité chez l'Homme, en intégrant des profils pharmacocinétiques et pharmacodynamiques. Il détaille par une approche physiologique, le devenir de l'ADC et du cytotoxique dans la circulation systémique, dans la tumeur puis au sein de la cellule tumorale.

Le modèle utilise les données plasmatiques pour prédire l'évolution du volume tumoral et donc l'efficacité. En effet, la mesure de la *concentration intratumorale en cytotoxique* constitue le moteur du modèle d'efficacité. Ce modèle ne nécessite pas la mise en place du suivi d'un biomarqueur autre (qui devrait être validé, fidèle et reproductible), comme indicateur de la réponse biologique. A partir de simples dosages plasmatiques de l'ADC et du cytotoxique, l'efficacité peut être prédite.

De plus, l'élaboration du modèle est effectuée grâce aux modèles de souris xénogreffées. Ces modèles sont faciles à mettre en place selon des protocoles bien définis, où la lignée cellulaire est bien caractérisée. Ils ont l'avantage de ne pas être trop couteux (faible dose de médicament injecté) et de fournir rapidement beaucoup d'informations. Les modèles de xénogreffe sont basés sur l'injection sous cutanée de la lignée tumorale ; puis après traitement, des prélèvements sanguins sont réalisés et le volume tumoral est mesuré manuellement grâce un instrument simple comme le pied à coulisse.

L'approche translationnelle permet d'utiliser de tels modèles tout au long du développement d'un médicament, de manière à ce qu'ils évoluent continuellement et qu'ils soient nourris et améliorés par de nouvelles données.

L'exercice de reproduction a permis de mettre en évidence que ces modèles nécessitent de nombreuses informations. D'une part, la connaissance du mécanisme d'action du médicament et de l'environnement cellulaire est importante pour la construction du modèle PK/PD. D'autre part, le jeu de données qui rassemble l'ensemble des observations doit être adéquat et suffisant pour permettre au modèle d'être performant et de converger plus facilement. Ainsi des plans expérimentaux doivent être élaborés pour obtenir des données

reproductibles et sensibles, qui couvrent un large panel de doses sur un temps d'analyse assez long. Plus la récolte d'observations est grande, plus le modèle sera puissant et prédictif.

C'est pourquoi, l'élaboration du modèle PK/PD pour une nouvelle molécule suppose d'être intégrée dès le départ dans un plan de développement, afin de mettre en place en amont les études à réaliser pour obtenir les données adéquates.

Le modèle devra être validé pendant le développement afin d'être utilisé comme support décisionnel. Idéalement, pour être validé, une base de données externe (non utilisée pour la construction du modèle) serait nécessaire, pour généraliser le modèle et tester son « universalité ». Cependant, les méthodes de validation internes vues précédemment sont les plus utilisées, car le plus souvent, toutes les données sont incorporées dans la construction du modèle.

c) Optimisation de ce modèle

Ce modèle PK/PD décrit par l'équipe du Dr. Shah est très intéressant et a constitué un très bon exercice de reproduction, tant il est complexe et détaillé. Cependant, en vue d'une utilisation dans un futur développement, il semblerait préférable de simplifier le modèle pour le rendre plus accessible et plus facilement utilisable, notamment au niveau de l'entrée du médicament dans la tumeur.

En effet, ce modèle prend en compte de nombreux paramètres pré-établis (tels que R_{cap} ou R_{Krogh}, respectivement les rayons du capillaire sanguin et la distance moyenne entre 2 capillaires) qui interviennent selon des formules mathématiques complexes, ou des paramètres identifiés sur l'ADC ou le cytotoxique, difficiles à obtenir et à mesurer en développement précoce (comme ε, volume de vide entre deux molécules).

D'autre part, dans son utilisation, il serait intéressant de pouvoir obtenir une valeur limite des paramètres, pour laquelle il présente une efficacité optimale, afin de pouvoir l'utiliser comme critère de sélection de cible et/ou de maladie. Pour cela, il est à noter que l'interprétation de la non-variation d'un paramètre dans l'analyse de sensibilité reste délicate. En effet, le paramètre peut déjà avoir atteint un extremum (minimum ou maximum) et n'est donc pas influencé par la variation. Ainsi, avant de commencer une analyse, lors du développement d'une molécule, il serait intéressant de connaitre l'intervalle

de variation « naturelle » d'un paramètre, pour définir des facteurs multiplicatifs plus pertinents.

Ces informations restent difficiles à recueillir dans la littérature, mais elles peuvent être connues par les équipes de Recherche, ainsi l'utilisation de ce modèle requiert et permet la coordination entre les équipes de Recherche et de Développement.

5. Conclusion

L'approche par la modélisation pharmacocinétique et l'élaboration du modèle PK/PD a permis d'avoir une vue transversale de tout le processus du développement et d'envisager une utilisation à chaque stade : de la recherche précoce (sélection de molécule ou de cible) au développement préclinique et clinique (identification de la dose active, optimisation de posologie).

Le modèle permet d'intégrer des notions fondamentales, comme l'exposition du médicament sur le site d'action, l'affinité pour le récepteur, et l'expression de l'activité pharmacologique fonctionnelle (modulation du récepteur). Ainsi l'efficacité du médicament peut être prédite grâce à la concentration au site d'action.

Cependant, l'utilisation d'approches mathématiques empiriques dans l'écriture du modèle, pour intégrer les données précliniques, rend l'extrapolation à l'Homme encore délicate. Ainsi l'analyse de sensibilité, a permis de visualiser l'étendue des caractéristiques à évaluer pour pouvoir prédire l'efficacité d'un médicament chez l'Homme, aussi bien pour la molécule que pour la maladie ciblée.

A l'avenir, dans l'optique d'envisager une stratégie standard applicable à tout ADC, le but est donc de valider ce modèle avec de nombreux autres exemples d'ADCs. En effet, ce modèle a actuellement été testé sur deux ADCs, qui ont le même mécanisme d'action, par l'équipe de DK Shah. Ainsi le comportement du modèle pour d'autres types de cible ou d'autres combinaisons anticorps-linker-cytotoxique est à évaluer. Il pourra aussi être amené à être adapté en fonction de la molécule, au niveau cellulaire par exemple (71), ou bien dans l'étude des métabolites.

III. Conclusion générale

Les Antibody-drug conjugates représentent une classe thérapeutique innovante, pour laquelle de nombreux investissements en Recherche sont effectués, elle est donc très présente dans la littérature. L'alliance de trois entités moléculaires rend le développement pharmacocinétique d'une telle molécule d'autant plus complexe, qu'il dépend de nombreux facteurs.

L'étude de l'état de l'art de la littérature a permis de se rendre compte de l'ampleur des paramètres et des caractéristiques à prendre en compte dans le développement d'un ADC pour avoir une chance de succès. L'évolution et les améliorations dans la construction des ADCs ont permis de retranscrire et d'apprendre des expériences accumulées au cours de leur développement clinique et préclinique. Pour améliorer et faciliter le développement, l'approche par un outil de modélisation pharmacocinétique a été évaluée. Cette approche permet d'envisager qu'à partir de simples dosages plasmatiques, il est possible de prédire l'efficacité d'une molécule. Ces modèles nécessitent un grand nombre de paramètres et de données pour être performants, mais ils permettent d'utiliser et d'implémenter des données précoces du développement. Grâce à des simulations, l'effet et l'impact de certains paramètres peuvent ainsi être prédits. Ils feront donc l'objet d'une attention particulière lors du développement.

A chaque stade du développement d'un médicament, ce type de modèle peut avoir son utilité : ce qui en fait un outil compétent comme support à la prise de décision (ex : décision de go/no go).

Les outils de simulation et de modélisation sont utilisés de façon optimale lorsqu'ils sont construits avec les données accessibles et disponibles pour le système biologique et la molécule. Il est nécessaire de les insérer dès le départ dans le plan de développement, afin de les employer pour réduire les coûts de développement et les risques d'échec.

La démocratisation des techniques de modélisation ainsi que la validation des procédés permettent d'optimiser les phases de développement, en faisant en sorte que les études soient bien élaborées, ou en prédisant les chances de succès d'un développement. Ainsi, l'utilisation des logiciels pharmacocinétiques s'établit, au cours du développement, aussi

bien dans les approches de « back-up », en relation avec la Recherche, que dans les approches prospectives, en pouvant prédire l'activité ou l'efficacité.

Pour conclure cette thèse d'exercice de Pharmacie, j'aimerais à souligner que ma formation pharmaceutique pluridisciplinaire s'est avérée être un atout notable dans l'appréhension des principes de la pharmacocinétique. En effet, cette discipline fait appel à de nombreuses notions, telles que la pharmacologie, la toxicologie, ou la biologie cellulaire. Des qualités propres au Pharmacien, comme la connaissance des médicaments, permet d'intégrer rapidement le développement d'une nouvelle molécule, au centre d'une problématique générale de santé publique. Ainsi les différentes facettes de la formation de Pharmacie permettent d'interagir aisément avec tout type d'interlocuteurs et de s'intégrer facilement au sein d'un projet.

Bibliographie

1. IARC. THE GLOBOCAN PROJECT [Internet]. International Agency for Research on Cancer. 2012. Available from: http://globocan.iarc.fr/Default.aspx

2. InVS. Evolution de l'incidence et de la mortalité par cancer en France entre 1980 et 2012 [Internet]. Institut de veille sanitaire. 2013. Available from: http://www.invs.sante.fr/Espace-presse/Communiques-de-presse/2013/Evolution-de-l-incidence-et-de-la-mortalite-par-cancer-en-France-entre-1980-et-2012

3. Lin K, Tibbitts J. Pharmacokinetic considerations for antibody drug conjugates. Pharm Res. 2012 Sep;29(9):2354–66.

4. Strebhardt K, Ullrich A. Paul Ehrlich's magic bullet concept: 100 years of progress. Nat Rev Cancer. 2008 Jun;8(6):473–80.

5. De Lartigue J. Antibody-Drug Conjugates: Guided Missiles Deployed Against Cancerous Cells [Internet]. 2012 [cited 2014 Oct 2]. Available from: http://www.onclive.com/publications/Oncology-live/2012/June-2012/Antibody-Drug-Conjugates-Guided-Missiles-Deployed-Against-Cancerous-Cells

6. KöHler G, Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. Nature. 1975 Aug 7;256(5517):495–7.

7. Reichert J. Therapeutic monoclonal antibodies approved or in review in the European Union or United States [Internet]. Reichert Biotechnology Consulting LLC; 2014. Available from: http://www.antibodysociety.org/news/approved_mabs.php

8. Firer MA, Gellerman G. Targeted drug delivery for cancer therapy: the other side of antibodies. J Hematol OncolJ Hematol Oncol. 2012;5:70.

9. Lefranc M-P, Giudicelli V, Ginestoux C, Jabado-Michaloud J, Folch G, Bellahcene F, et al. IMGT(R), the international ImMunoGeneTics information system(R). Nucleic Acids Res. 2009 Jan 1;37(Database):D1006–12.

10. Iyer U, Kadambi VJ. Antibody drug conjugates - Trojan horses in the war on cancer. J Pharmacol Toxicol Methods. 2011 Dec;64(3):207–12.

11. Panowksi S, Bhakta S, Raab H, Polakis P, Junutula JR. Site-specific antibody drug conjugates for cancer therapy. mAbs. 2014 Feb;6(1):34–45.

12. Carter PJ, Senter PD. Antibody-drug conjugates for cancer therapy. Cancer J Sudbury Mass. 2008 Jun;14(3):154–69.

13. Kovtun YV, Goldmacher VS. Cell killing by antibody-drug conjugates. Cancer Lett. 2007 Oct 8;255(2):232–40.

14. Drachman JG, Senter PD. Antibody-drug conjugates: the chemistry behind empowering antibodies to fight cancer. Hematol Educ Program Am Soc Hematol Am Soc Hematol Educ Program. 2013;2013:306–10.

15. Perez HL, Cardarelli PM, Deshpande S, Gangwar S, Schroeder GM, Vite GD, et al. Antibody-drug conjugates: current status and future directions. Drug Discov Today. 2014 Jul;19(7):869–81.

16. Petricevic B, Laengle J, Singer J, Sachet M, Fazekas J, Steger G, et al. Trastuzumab mediates antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity and phagocytosis to the same extent in both adjuvant and metastatic HER2/neu breast cancer patients. J Transl Med. 2013 Dec 12;11(1):307.

17. Vincent KJ, Zurini M. Current strategies in antibody engineering: Fc engineering and pH-dependent antigen binding, bispecific antibodies and antibody drug conjugates. Biotechnol J. 2012 Dec;7(12):1444–50.

18. Hogarth PM, Pietersz GA. Fc receptor-targeted therapies for the treatment of inflammation, cancer and beyond. Nat Rev Drug Discov. 2012 Apr;11(4):311–31.

19. Trail PA, Willner D, Lasch SJ, Henderson AJ, Hofstead S, Casazza AM, et al. Cure of xenografted human carcinomas by BR96-doxorubicin immunoconjugates. Science. 1993 Jul 9;261(5118):212–5.

20. Kanellos J, Pietersz GA, McKenzie IF. Studies of methotrexate-monoclonal antibody conjugates for immunotherapy. J Natl Cancer Inst. 1985 Aug;75(2):319–32.

21. Starling JJ, Maciak RS, Law KL, Hinson NA, Briggs SL, Laguzza BC, et al. In vivo antitumor activity of a monoclonal antibody-Vinca alkaloid immunoconjugate directed against a solid tumor membrane antigen characterized by heterogeneous expression and noninternalization of antibody-antigen complexes. Cancer Res. 1991 Jun 1;51(11):2965–72.

22. Teicher BA, Chari RVJ. Antibody conjugate therapeutics: challenges and potential. Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res. 2011 Oct 15;17(20):6389–97.

23. Thudium K, Bilic S, Leipold D, Mallet W, Kaur S, Meibohm B, et al. American Association of Pharmaceutical Scientists National Biotechnology Conference Short Course: Translational Challenges in Developing Antibody-Drug Conjugates. mAbs. 2013 Jan 1;5(1):5–12.

24. Van der Velden VHJ, Boeckx N, Jedema I, te Marvelde JG, Hoogeveen PG, Boogaerts M, et al. High CD33-antigen loads in peripheral blood limit the efficacy of gemtuzumab ozogamicin (Mylotarg®) treatment in acute myeloid leukemia patients. Leukemia. 2004 Mar 18;18(5):983–8.

25. Vigne E, Sassoon I. The growing field of immunoconjugates in oncology. A successful link(er) between antibodies and small cytotoxic molecules. Médecine Sci MS. 2014 Oct;30(10):855–63.

26. Urien S. Modélisation du devenir des médicaments. Principes d'analyse des données [Internet]. 2012. Available from: http://www.rechercheclinique pariscentre.fr/wp-content/uploads/2012/03/M1_SANTE2012_Modelisation.pdf

27. Stanke-Labesque F. Aspects pharmacodynamiques [Internet]. 2011. Available from: www.medatice-grenoble.fr

28. Gibiansky L, Gibiansky E. Target-mediated drug disposition model and its approximations for antibody-drug conjugates. J Pharmacokinet Pharmacodyn. 2014 Feb;41(1):35–47.

29. Mager DE, Jusko WJ. Development of Translational Pharmacokinetic–Pharmacodynamic Models. Clin Pharmacol Ther. 2008 Mar 26;83(6):909–12.

30. Shah DK, Betts AM. Towards a platform PBPK model to characterize the plasma and tissue disposition of monoclonal antibodies in preclinical species and human. J Pharmacokinet Pharmacodyn. 2012 Feb;39(1):67–86.

31. Mager DE, Wyska E, Jusko WJ. Diversity of mechanism-based pharmacodynamic models. Drug Metab Dispos Biol Fate Chem. 2003 May;31(5):510–8.

32. Felmlee MA, Morris ME, Mager DE. Mechanism-Based Pharmacodynamic Modeling. Methods Mol Biol Clifton NJ. 2012;929:583–600.

33. Simeoni M, Magni P, Cammia C, De Nicolao G, Croci V, Pesenti E, et al. Predictive pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling of tumor growth kinetics in xenograft models after administration of anticancer agents. Cancer Res. 2004 Feb 1;64(3):1094–101.

34. Lobo ED, Balthasar JP. Pharmacodynamic modeling of chemotherapeutic effects: application of a transit compartment model to characterize methotrexate effects in vitro. AAPS PharmSci. 2002;4(4):E42.

35. Jumbe NL, Xin Y, Leipold DD, Crocker L, Dugger D, Mai E, et al. Modeling the efficacy of trastuzumab-DM1, an antibody drug conjugate, in mice. J Pharmacokinet Pharmacodyn. 2010 Jun;37(3):221–42.

36. Jackson D, Stover D. Using the Lessons Learned From the Clinic to Improve the Preclinical Development of Antibody Drug Conjugates. Pharm Res. 2014 Oct 23;

37. Lapusan S, Vidriales MB, Thomas X, de Botton S, Vekhoff A, Tang R, et al. Phase I studies of AVE9633, an anti-CD33 antibody-maytansinoid conjugate, in adult patients with relapsed/refractory acute myeloid leukemia. Invest New Drugs. 2012 Jun;30(3):1121–31.

38. Erickson HK, Widdison WC, Mayo MF, Whiteman K, Audette C, Wilhelm SD, et al. Tumor Delivery and In Vivo Processing of Disulfide-Linked and Thioether-Linked Antibody−Maytansinoid Conjugates. Bioconjug Chem. 2010 Jan 20;21(1):84–92.

39. Kratz F, Senter P, Steinhagen H. Drug Delivery in Oncology: From Basic Research to Cancer Therapy. John Wiley & Sons; 2013. 1807 p.

40. Jones L, McKnight AJ. Biotherapeutics: Recent Developments Using Chemical and Molecular Biology. Royal Society of Chemistry; 2013. 331 p.

41. Hamblett KJ, Senter PD, Chace DF, Sun MMC, Lenox J, Cerveny CG, et al. Effects of drug loading on the antitumor activity of a monoclonal antibody drug conjugate. Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res. 2004 Oct 15;10(20):7063–70.

42. Loo TW, Clarke DM. Recent progress in understanding the mechanism of P-glycoprotein-mediated drug efflux. J Membr Biol. 2005 Aug;206(3):173–85.

43. Kovtun YV, Audette CA, Mayo MF, Jones GE, Doherty H, Maloney EK, et al. Antibody-maytansinoid conjugates designed to bypass multidrug resistance. Cancer Res. 2010 Mar 15;70(6):2528–37.

44. Okeley NM, Miyamoto JB, Zhang X, Sanderson RJ, Benjamin DR, Sievers EL, et al. Intracellular activation of SGN-35, a potent anti-CD30 antibody-drug conjugate. Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res. 2010 Feb 1;16(3):888–97.

45. Kovtun YV, Audette CA, Ye Y, Xie H, Ruberti MF, Phinney SJ, et al. Antibody-drug conjugates designed to eradicate tumors with homogeneous and heterogeneous expression of the target antigen. Cancer Res. 2006 Mar 15;66(6):3214–21.

46. Ricart AD. Antibody-drug conjugates of calicheamicin derivative: gemtuzumab ozogamicin and inotuzumab ozogamicin. Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res. 2011 Oct 15;17(20):6417–27.

47. Pfizer ends late-stage study of non-Hodgkin's lymphoma drug due to lack of survival benefit [Internet]. [cited 2014 Nov 7]. Available from: http://www.firstwordpharma.com/node/1089240

48. Morris ME, Bruce J, Reyno L, Anand B, Hartford A, Jelaca-Maxwell K, et al. A Phase 1, Open-label, Multi-center, Dose Escalation Study of the Safety and Pharmacokinetics of ASG-5ME Monotherapy in Subjects with Castration-Resistant Prostate Cancer.

49. Seattle Genetics at ASH 2007 – SGN-33 (part II) | Open Reading Frame [Internet]. [cited 2014 Nov 8]. Available from: http://www.orf-blog.com/seattle-genetics-at-ash-2007-sgn-33-part-ii/

50. Clinical study report No. PH-37705 [Internet]. Bayer Health Care; 2014. Available from: http://trialfinder.bayerscheringpharma.de/html/pdf/12671_Study_Synopsis_CTP.pdf

51. Tijink BM, Buter J, de Bree R, Giaccone G, Lang MS, Staab A, et al. A phase I dose escalation study with anti-CD44v6 bivatuzumab mertansine in patients with incurable squamous cell carcinoma of the head and neck or esophagus. Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res. 2006 Oct 15;12(20 Pt 1):6064–72.

52. Tolcher AW, Ochoa L, Hammond LA, Patnaik A, Edwards T, Takimoto C, et al. Cantuzumab Mertansine, a Maytansinoid Immunoconjugate Directed to the CanAg Antigen: A Phase I, Pharmacokinetic, and Biologic Correlative Study. J Clin Oncol. 2003 Jan 15;21(2):211–22.

53. Thompson DS, Patnaik A, Bendell JC, Papadopoulos K, Infante JR, Mastico RA, et al. A phase I dose-escalation study of IMGN388 in patients with solid tumors. J Clin Oncol [Internet]. 2010 [cited 2014 Nov 8];28:15s(suppl; abstr 3058). Available from: http://meetinglibrary.asco.org/content/50232-74

54. Annunziata CM, Kohn EC, LoRusso P, Houston ND, Coleman RL, Buzoianu M, et al. Phase 1, open-label study of MEDI-547 in patients with relapsed or refractory solid tumors. Invest New Drugs. 2013 Feb;31(1):77–84.

55. Galsky MD, Eisenberger M, Moore-Cooper S, Kelly WK, Slovin SF, DeLaCruz A, et al. Phase I trial of the prostate-specific membrane antigen-directed immunoconjugate MLN2704 in patients with progressive metastatic castration-resistant prostate cancer. J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol. 2008 May 1;26(13):2147–54.

56. Thompson JA, Forero A, Heath EI, Pal SK, Ansell SM, Infante JR, et al. SGN-75 in the treatment of patients with CD70-positive malignancies including metastatic renal cell carcinoma. J Clin Oncol [Internet]. 2013 [cited 2014 Nov 8];31(suppl 6; abstr 368). Available from: http://meetinglibrary.asco.org/content/106301-134

57. Tannir NM, Forero-Torres A, Ramchandren R, Pal SK, Ansell SM, Infante JR, et al. Phase I dose-escalation study of SGN-75 in patients with CD70-positive relapsed/refractory non-Hodgkin lymphoma or metastatic renal cell carcinoma. Invest New Drugs. 2014 Aug 22;

58. Kola I, Landis J. Opinion: Can the pharmaceutical industry reduce attrition rates? Nat Rev Drug Discov. 2004 Aug;3(8):711–6.

59. Shah DK, Haddish-Berhane N, Betts A. Bench to bedside translation of antibody drug conjugates using a multiscale mechanistic PK/PD model: a case study with brentuximab-vedotin. J Pharmacokinet Pharmacodyn. 2012 Dec;39(6):643–59.

60. Shah DK, King LE, Han X, Wentland J-A, Zhang Y, Lucas J, et al. A priori prediction of tumor payload concentrations: preclinical case study with an auristatin-based anti-5T4 antibody-drug conjugate. AAPS J. 2014 May;16(3):452–63.

61. Haddish-Berhane N, Shah DK, Ma D, Leal M, Gerber H-P, Sapra P, et al. On translation of antibody drug conjugates efficacy from mouse experimental tumors to the clinic: a PK/PD approach. J Pharmacokinet Pharmacodyn. 2013 Oct;40(5):557–71.

62. Haddish-Berhane N, Betts A, Shah DK, DiJoseph J, Leal M, Gerber H-P, et al. Optimization and Use of PK/PD Modeling of Xenograft Tumor response as a Translational Strategy To Predict Efficacious Clinical Doses of Antibody Drug Conjugates. 2012.

63. Shah DK, Barletta F, Betts A, Hansel S. Key bioanalytical measurements for antibody–drug conjugate development: PK/PD modelers' perspective. Bioanalysis. 2013 May 1;5(9):989–92.

64. Danhof M, de Lange ECM, Della Pasqua OE, Ploeger BA, Voskuyl RA. Mechanism-based pharmacokinetic-pharmacodynamic (PK-PD) modeling in translational drug research. Trends Pharmacol Sci. 2008 Apr;29(4):186–91.

65. Sapra P, Damelin M, Dijoseph J, Marquette K, Geles KG, Golas J, et al. Long-term tumor regression induced by an antibody-drug conjugate that targets 5T4, an oncofetal antigen expressed on tumor-initiating cells. Mol Cancer Ther. 2013 Jan;12(1):38–47.

66. Mould DR, Upton RN. Basic Concepts in Population Modeling, Simulation, and Model-Based Drug Development. CPT Pharmacomet Syst Pharmacol. 2012 Sep 26;1(9):e6.

67. Hooker AC, Staatz CE, Karlsson MO. Conditional weighted residuals (CWRES): a model diagnostic for the FOCE method. Pharm Res. 2007 Dec;24(12):2187–97.

68. Mould DR, Upton RN. Basic Concepts in Population Modeling, Simulation, and Model-Based Drug Development—Part 2: Introduction to Pharmacokinetic Modeling Methods. CPT Pharmacomet Syst Pharmacol. 2013 Apr 17;2(4):e38.

69. Wakankar A, Chen Y, Gokarn Y, Jacobson FS. Analytical methods for physicochemical characterization of antibody drug conjugates. mAbs. 2011 Apr;3(2):161–72.

70. Okeley NM, Alley SC, Cerveny CG, Andreyka J, Sanderson RJ, Anderson M, et al. Specific Tumor Targeting and Potent Bystander Killing with SGN-35, an Anti-CD30 Antibody Drug Conjugate. ASH Annu Meet Abstr. 2006 Nov 16;108(11):231.

71. Krippendorff B-F, Oyarzún DA, Huisinga W. Predicting the F(ab)-mediated effect of monoclonal antibodies in vivo by combining cell-level kinetic and pharmacokinetic modelling. J Pharmacokinet Pharmacodyn. 2012 Apr;39(2):125–39.

Annexes

1. Etude du DAR en fonction du linker et du cytotoxique

name	dvpt phase	linker	type of linker	cytotoxic	MA	DAR
SGN-CD33A	I	cysteine residues (va)	c	PBD	DNA break	2
Mylotarg®	withdrawn:2010 approved:2000	hydrazone	c (acid lysis)	calicheamicin	DNA break	2.5
BAY 94-9343	I	SPDB	c (glutathione)	DM4	antimitotic	3.2
huC242-DM1	stopped (I)	SMCC	nc	DM1	antimitotic	3.2
Kadcyla®	market (2013)	SMCC	nc	DM1	antimitotic	3.5
SAR3419, huB4-DM4	II	SPDB	c (glutathione)	DM4	antimitotic	3.5
BT062-SPBD-DM4	I/IIa	SPDB	c (glutathione)	DM4	antimitotic	3.5
MLN2704	stopped (I)	SMCC	nc	DM1	antimitotic	3.5
AVE9633	stopped (I)	SPDB	c (glutathione)	DM4	antimitotic	3.5
IMGN901	I	SPP	nc	DM1	antimitotic	3.7
ASG-5ME	stopped (I)	dipeptide (vc)	c (protease)	MMAE	antimitotic	3.7
Adcetris®	market (2012)	dipeptide (vc)	c (protease)	MMAE	antimitotic	4
CR011-vcMMAE	III / IIb	dipeptide (vc)	c (protease)	MMAE	antimitotic	4
PSMA ADC	II	dipeptide (vc)	c (protease)	MMAE	antimitotic	4
IMGN-289	I	SMCC	nc	DM1	antimitotic	4
A1mcMMAF	I	mc	nc	MMAF	antimitotic	4
MEDI-547	stopped (I)	mc	nc	MMAF	antimitotic	4
IMMU-132	II	benzyl carbonate	c (pH sensitive)	irinotecan SN38	topoisomerase inhibitor	6
inotuzumab ozogamicin	III	hydrazone	c (acid lysis)	calicheamicin	DNA break	7.2
IMMU-130	II	benzyl carbonate	c (pH sensitive)	irinotecan SN38	topoisomerase inhibitor	7.6
IMMU-110	I	hydrazone	c (acid lysis)	doxorubicin	DNA break	8

2. Paramètres décrivant le modèle PK/PD

Symbole	Definition	Unité
CL_ADC, CLD_ADC	Clairance plasmatique et clairance de distribution de l'ADC	L/jr/kg
CL_PL, CLD_PL	Clairance plasmatique et clairance de distribution du cytotoxique	L/jr/kg
V1_ADC, V2_ADC	Volume de distribution de l'ADC dans les compartiments central et périphérique	L /kg
V1_PL, V2_PL	Volume de distribution du cytotoxique dans les compartiments central et périphérique	L /kg
k_{on}_ADC, k_{off}_ADC	Constantes d'association et de dissociation entre l'ADC et l'antigène	1/nM/jr, 1/jr
k_{on}_PL, k_{off}_PL	Constantes d'association et de dissociation entre le cytotoxique et la cible intracellulaire tumorale	1/nM/jr, 1/jr
k_{int}_Ag	Vitesse d'internalisation du récepteur membranaire (antigène)	1/jr
k_{int}_PL	Entrée non spécifique du cytotoxique dans la cellule cancéreuse	1/jr
k_{out}_PL	Taux d'efflux du cytotoxique hors de la cellule tumorale	1/jr
k_{dis}	Constante de dissociation entre l'Anticorps et le cytotoxique	1/jr
Ag_total	Capacité totale de récepteurs cellulaire pour l'ADC	nM
Tub_total	Capacité totale de récepteurs intra-cellulaire pour le cytotoxique	nM
P_ADC, D_ADC	Taux de perméabilité et de diffusion de l'ADC à travers les capillaires sanguins	µm/jr, cm^2/jr
P_PL, D_PL	Taux de perméabilité et de diffusion du cytotoxique à travers les capillaires sanguins	µm/jr, cm^2/jr
Rtumor	Rayon de la tumeur	cm
R_{Cap}, R_{Krogh}	Rayon du capillaire sanguin et la distance moyenne entre 2 capillaires	µm
ε_{ADC}, ε_{PL}	Volume de vide pour l'ADC et pour le cytotoxique	Sans unité
Kg_{Exp}, Kg_{Lin}	Constantes de croissance exponentielle et linéaire de la tumeur	1/jr, mm^3/jr
K_{kill}	Taux maximum de destruction cellulaire	1/jr
KC50	Concentration de cytotoxique pour laquelle Kkill est à la moitié de sa valeur maximale.	nM
Vmax	Volume tumoral maximum	mm^3
Psi	« Switch function » entre croissance exponentielle et croissance linéaire	Sans unité
Tau	Temps de transduction entre 2 compartiments tumoraux	jour

3. Code modèle PK

```
$PROB RUN# MODEL_PK_H1975
$INPUT C TIME CMT AMT WT DV EVID TV
$DATA MODELE_H1975_1SOURIS_TV.CSV IGNORE=C
$SUBROUTINES ADVAN13 TRANS1 TOL=5
$MODEL
  COMP=(X1_ADC,DEFDOSE)
  COMP=(X2_ADC)
  COMP=(ADC_free)
COMP=(ADC_bnd)
  COMP=(PL_cell)
  COMP=(PL_tub)
  COMP=(PL_tum)
  COMP=(C1_PL)
  COMP=(C2_PL)
COMP=(DAR)

$PK
  A_0(10)=4

;systemic ADC
  CL_ADC=THETA(1)
  V1_ADC=THETA(2)
  CLD_ADC=THETA(3)
  V2_ADC=THETA(4)

;Passage into the tumor_ADC
  FAC1=0.95      ;(2*Permeability(ADC)*Radius of tumor capillary)/(distance btw 2 capillaries)²
  EPS_ADC=0.24
  D_ADC=0.022

;in the tumor_ADC
  Kon_ADC=THETA(5)
  koff_ADC=THETA(6)
  Ag_total=104     ;in nM H1975 cell
  Kint_Ag=THETA(7)

;in the tumor cell_PL
  Kon_PL=THETA(8)
  Koff_PL=THETA(9)
  Tub_total=65     ;in nM

;in the tumor_PL
  Kint_PL=THETA(10)
  Kout_PL=THETA(11)
  Kdis=THETA(12)

;passage into the tumor_PL
  EPS_PL=0.44
FAC3=59.73    ;(2*Permeability(PL)*Radius of tumor
                  capillary)/(distance btw 2 capillaries)²
  D_PL=0.25

;systemic PL
  CL_PL=THETA(13)
  V1_PL=THETA(14)
  CLD_PL=THETA(15)
  V2_PL=THETA(16)
```

```
$DES
TVL=0.000001*TV          ; tumor volume in liter

FAC2=(6*D_ADC)/(3*TV*0.001/(4*3.14))**(2/3)      ;6*Diffusion(ADC)/(Radius of the tumor)²
FAC4=(6*D_PL)/(3*TV*0.001/(4*3.14))**(2/3)       ;6*Diffusion(PL)/(Radius of the tumor)²

;PK

RAC1=((EPS_ADC*A(1)/V1_ADC)-A(3))
DADT(1)=-(CL_ADC/V1_ADC)*A(1)-(CLD_ADC/V1_ADC)*A(1)+(CLD_ADC/V2_ADC)*A(2)-
        FAC1*RAC1*TVL-FAC2*RAC1*TVL
DADT(2)=(CLD_ADC/V1_ADC)*A(1)-(CLD_ADC/V2_ADC)*A(2)
DADT(3)=FAC1*RAC1+FAC2*RAC1-Kon_ADC*A(3)*(Ag_total-A(4))+Koff_ADC*A(4)
DADT(4)=Kon_ADC*A(3)*(Ag_total-A(4))-Koff_ADC*A(4)-Kint_Ag*A(4)
DADT(5)=Kint_Ag*A(4)*A(10)+Kint_PL*A(7)-Kout_PL*A(5)-Kon_PL*A(5)*(Tub_total-
        A(6))+Koff_PL*A(6)
DADT(6)=Kon_PL*A(5)*(Tub_total-A(6))-Koff_PL*A(6)
DADT(7)=FAC3*(EPS_PL*A(8)-A(7))+FAC4*(EPS_PL*A(8)-A(7))-Kint_PL*A(7) +Kout_PL*A(5)
        +A(10)*Kdis*(A(3) +A(4))
RAC6=(A(1)*A(10)*Kdis)/V1_PL+(CL_ADC*A(10)*(A(1)/V1_ADC))/V1_PL
DADT(8)=-(CL_PL/V1_PL)*A(8)-(CLD_PL/V1_PL)*A(8)+(CLD_PL/V2_PL)*A(9)-
        FAC3*(EPS_PL*A(8)-A(7))*TVL-FAC4*(EPS_PL*A(8)-A(7))*TVL+RAC6
DADT(9)=(CLD_PL/V1_PL)*A(8)-(CLD_PL/V2_PL)*A(9)
DADT(10)=-Kdis*A(10)

  CP8=A(8)                  ; plasma payload concentration
  CPT_PL=A(5)+A(6)+A(7)     ; tumor payload concentration
  CPT_ADC=A(3)+A(4)         ; tumor ADC concentration
```

```
$ERROR
  Y = F + ETA(1)

$THETA
0.0426  ;[CL_ADC]     in L/day/kg
0.0666  ;[V1_ADC]     in L/kg
0.0678  ;[CLD_ADC]    in L/day/kg
0.0918  ;[V2_ADC]     in L/kg
 23.2   ;[Kon_ADC]
 21.6   ;[Koff_ADC]
 4.2    ;[Kint_Ag]
 0.73   ;[Kon_PL]
 13.1   ;[Koff_PL]
 9.66   ;[Kint_PL]
 1.1    ;[Kout_PL]    similar to MMAE
 0.29   ;[Kdis]
 74.8   ;[CL_PL]      in L/day/kg
 2.22   ;[V1_PL]      in L/kg
 485    ;[CLD_PL]     in L/day/kg
 63.83  ;[V2_PL]      in L/kg

$OMEGA
0.0001 ;[P]

$SIMULATION (345890)

$TABLE TIME DV CP1 CP8 CPT_PL CPT_ADC EVID NOAPPEND
       ONEHEADER NOPRINT FILE=MODEL_PK_H1975.TAB
```

4. Code modèle PK/PD

```
$PROB RUN# EST_modfinal
$INPUT C ID TIME AMT DV MDV EVID WT
$DATA EST_PD.csv IGNORE=C
$SUBROUTINES ADVAN13 TRANS1 TOL=5
$MODEL
  COMP=(X1_ADC,DEFDOSE)
  COMP=(X2_ADC)
  COMP=(ADC_free)
COMP=(ADC_bnd)
  COMP=(PL_cell)
  COMP=(PL_tub)
  COMP=(PL_tum)
  COMP=(C1_PL)
  COMP=(C2_PL)
  COMP=(DAR)
  COMP=(V1)
  COMP=(V2)
COMP=(V3)
  COMP=(V4)

$PK
  A_0(10)=4
  A_0(11)=350

;systemic ADC
  CL_ADC=THETA(1)
  V1_ADC=THETA(2)
  CLD_ADC=THETA(3)
  V2_ADC=THETA(4)

;Passage into the tumor_ADC
FAC1=0.95       ;(2*Permeability(ADC)*Radius of tumor capillary)/(distance
                  btw 2 capillaries)²   in "1/day"
  EPS_ADC=0.24
  D_ADC=0.022

;in the tumor_ADC
  Kon_ADC=THETA(5)
  koff_ADC=THETA(6)
  Ag_total=104     ;in nM H1975 cell
  Kint_Ag=THETA(7)

;in the tumor cell_PL
  Kon_PL=THETA(8)
  Koff_PL=THETA(9)
  Tub_total=65     ;in nM

;in the tumor_PL
  Kint_PL=THETA(10)
  Kout_PL=THETA(11)
  Kdis=THETA(12)

;passage into the tumor_PL
  EPS_PL=0.44
  FAC3=59.73         ;(2*Permeability(PL)*Radius of tumor capillary)/(distance
                     btw 2 capillaries)²   in "1/day"
  D_PL=0.25

;systemic PL
  CL_PL=THETA(13)
  V1_PL=THETA(14)
  CLD_PL=THETA(15)
  V2_PL=THETA(16)

;PD model parameters
  KgExp=THETA(17)*EXP(ETA(1))
  KgLin=THETA(18)*EXP(ETA(2))
  Vmax=THETA(19)
  Psi=20
  Kkill=THETA(20)
  KC50=THETA(21)
  Tau=THETA(22)
```

```
$DES
TV= A(11)+A(12)+A(13)+A(14)
TVL=(A(11)+A(12)+A(13)+A(14))*0.000001

FAC2=(6*D_ADC)/(3*TV*0.001/(4*3.14))**(2/3)    ;6*Diffusion(ADC)/(Radius of the tumor)
FAC4=(6*D_PL)/(3*TV*0.001/(4*3.14))**(2/3)      ;6*Diffusion(PL)/(Radius of the tumor)

;PK
RAC1=((EPS_ADC*A(1)/V1_ADC)-A(3))
DADT(1)=-(CL_ADC/V1_ADC)*A(1)-(CLD_ADC/V1_ADC)*A(1)+(CLD_ADC/V2_ADC)*A(2)-
          FAC1*RAC1*TVL- FAC2*RAC1*TVL
DADT(2)=(CLD_ADC/V1_ADC)*A(1)-(CLD_ADC/V2_ADC)*A(2)
DADT(3)=FAC1*RAC1+FAC2*RAC1-Kon_ADC*A(3)*(Ag_total-A(4))+ Koff_ADC*A(4)
DADT(4)=Kon_ADC*A(3)*(Ag_total-A(4))-Koff_ADC*A(4)-Kint_Ag*A(4)
DADT(5)=Kint_Ag*A(4)*A(10)+Kint_PL*A(7)-Kout_PL*A(5)-Kon_PL*A(5)*(Tub_total-
          A(6))+Koff_PL*A(6)
DADT(6)=Kon_PL*A(5)*(Tub_total-A(6))-Koff_PL*A(6)
DADT(7)=FAC3*(EPS_PL*A(8)-A(7))+FAC4*(EPS_PL*A(8)-A(7))-Kint_PL*A(7) +Kout_PL*A(5)
          +A(10)*Kdis*(A(3)+A(4))
RAC6=(A(1)*A(10)*Kdis)/V1_PL+(CL_ADC*A(10)*(A(1)/V1_ADC))/V1_PL
DADT(8)=-(CL_PL/V1_PL)*A(8)-(CLD_PL/V1_PL)*A(8)+(CLD_PL/V2_PL)*A(9) -
          FAC3*(EPS_PL*A(8)-A(7))*TVL-FAC4*(EPS_PL*A(8)-A(7))*TVL+RAC6
DADT(9)=(CLD_PL/V1_PL)*A(8)-(CLD_PL/V2_PL)*A(9)
DADT(10)=-Kdis*A(10)

;PD
DADT(11)=(KgExp*(1-(TV/Vmax))*A(11)/((1+(KgExp/KgLin*TV)**Psi)**(1/Psi)))
          -(((Kkill*(A(5)+A(6)+A(7)))/(KC50+(A(5)+A(6)+A(7))))*A(11))
DADT(12)=(((Kkill*(A(5)+A(6)+A(7)))/(KC50+(A(5)+A(6)+A(7))))*A(11))-(A(12)/Tau)
DADT(13)=(A(12)-A(13))/Tau
DADT(14)=(A(13)-A(14))/Tau

$ERROR
DEL=0
 IF (F.LE.0.0001) DEL=1
 IPRE=A(11)+A(12)+A(13)+A(14)
 W= IPRE
 IRES= DV-IPRE
 IWRE=IRES/W
Y = IPRE + W*ERR(1)
```

```
$THETA
  0.0426 FIXED    ;[CL_ADC]    in L/day/kg
  0.0666 FIXED    ;[V1_ADC]    in L/kg
  0.0678 FIXED    ;[CLD_ADC]   in L/day/kg
  0.0918 FIXED    ;[V2_ADC]    in L/kg
  23.2 FIXED      ;[Kon_ADC]
  21.6 FIXED      ;[Koff_ADC]
4.2  FIXED        ;[Kint_Ag]
  0.73 FIXED      ;[Kon_PL]
  13.1 FIXED      ;[Koff_PL]
  9.66 FIXED      ;[Kint_PL]
  1.1 FIXED       ;[Kout_PL]   similar to MMAE
  0.29 FIXED      ;[Kdis]
  74.8 FIXED      ;[CL_PL]     in L/day/kg
  2.22 FIXED      ;[V1_PL]     in L/kg
  485 FIXED       ;[CLD_PL]    in L/day/kg
  63.83 FIXED     ;[V2_PL]     in L/kg
  (0, 0.186)      ;[KgExp]
  (0, 401)        ;[KgLin]
  5000 FIXED      ;[Vmax]
  (0, 0.456)      ;[Kkill]
(0, 90.4)         ;[KC50]
  (0, 2.44)       ;[Tau]

$OMEGA ; valeurs initiales des variances des VII
  0.5 ;[P]
  0.5 ;[P]

$SIGMA ; valeurs initiales des variances des VR
  0.1 ;[P]

$EST METHOD=1 INTERACTION MAXEVAL=9000 NOABORT PRINT=5
NSIG=3
$COV
$TABLE ID TIME IPRE IWRE EVID ONEHEADER NOPRINT
FILE=EST_modfinal.TAB
```

5. Code analyse de sensibilité : exemple pour la multiplication de Kdis par 2 pour la dose de 3mg/kg

```
$PROB RUN# SIMU_ID1_KDIS_d2_modfinal
$INPUT C TIME AMT DV CMT MDV EVID WT
$DATA AUC_A15_ID1.csv IGNORE=C
$SUBROUTINES ADVAN13 TRANS1 TOL=5
$MODEL
  COMP=(X1_ADC,DEFDOSE)
  COMP=(X2_ADC)
  COMP=(ADC_free)
COMP=(ADC_bnd)
  COMP=(PL_cell)
  COMP=(PL_tub)
  COMP=(PL_tum)
  COMP=(C1_PL)
  COMP=(C2_PL)
  COMP=(DAR)
  COMP=(V1)
  COMP=(V2)
  COMP=(V3)
  COMP=(V4)
  COMP=(AUC)

$PK
  A_0(10)=4
  A_0(11)=350

;systemic ADC
  CL_ADC=THETA(1)
  V1_ADC=THETA(2)
  CLD_ADC=THETA(3)
  V2_ADC=THETA(4)

;Passage into the tumor_ADC
FAC1=0.95       ;(2*Permeability(ADC)*Radius of tumor capillary)/(distance
                  btw 2 capillaries)²  in "1/day"
  EPS_ADC=0.24
  D_ADC=0.022

;in the tumor_ADC
  Kon_ADC=THETA(5)
  koff_ADC=THETA(6)
  Ag_total=104          ;in nM H1975 cell
  Kint_Ag=THETA(7)

;in the tumor cell_PL
  Kon_PL=THETA(8)
  Koff_PL=THETA(9)
  Tub_total=65          ;in nM

;in the tumor_PL
  Kint_PL=THETA(10)
  Kout_PL=THETA(11)
  Kdis=(THETA(12))*2

;passage into the tumor_PL
  EPS_PL=0.44
  FAC3=59.73            ;(2*Permeability(PL)*Radius of tumor capillary)/(distance
                          btw 2 capillaries)²  in "1/day"
  D_PL=0.25

;systemic PL
  CL_PL=THETA(13)
  V1_PL=THETA(14)
  CLD_PL=THETA(15)
  V2_PL=THETA(16)

;PD model parameters
  KgExp=THETA(17)
  KgLin=THETA(18)
  Vmax=THETA(19)
  Psi=20
  Kkill=THETA(20)
  KC50=THETA(21)
  Tau=THETA(22)
```

```
$DES
TV= A(11)+A(12)+A(13)+A(14)
TVL=(A(11)+A(12)+A(13)+A(14))*0.000001

FAC2=(6*D_ADC)/(3*TV*0.001/(4*3.14))**(2/3)    ;6*Diffusion(ADC)/(Radius of
the tumor)
FAC4=(6*D_PL)/(3*TV*0.001/(4*3.14))**(2/3)      ;6*Diffusion(PL)/(Radius of the
tumor)

;PK
RAC1=((EPS_ADC*A(1)/V1_ADC)-A(3))
DADT(1)=-(CL_ADC/V1_ADC)*A(1)-
            (CLD_ADC/V1_ADC)*A(1)+(CLD_ADC/V2_ADC)*A(2)-FAC1*RAC1*TVL-
            FAC2*RAC1*TVL
DADT(2)=(CLD_ADC/V1_ADC)*A(1)-(CLD_ADC/V2_ADC)*A(2)
DADT(3)=FAC1*RAC1+FAC2*RAC1-Kon_ADC*A(3)*(Ag_total-A(4))+
Koff_ADC*A(4)
DADT(4)=Kon_ADC*A(3)*(Ag_total-A(4))-Koff_ADC*A(4)-Kint_Ag*A(4)
DADT(5)=Kint_Ag*A(4)*A(10)+Kint_PL*A(7)-Kout_PL*A(5)-
            Kon_PL*A(5)*(Tub_total-A(6))+Koff_PL*A(6)
DADT(6)=Kon_PL*A(5)*(Tub_total-A(6))-Koff_PL*A(6)
DADT(7)=FAC3*(EPS_PL*A(8)-A(7))+FAC4*(EPS_PL*A(8)-A(7))-Kint_PL*A(7)
            +Kout_PL*A(5) +A(10)*Kdis*(A(3)+A(4))
RAC6=(A(1)*A(10)*Kdis)/V1_PL+(CL_ADC*A(10)*(A(1)/V1_ADC))/V1_PL
DADT(8)=-(CL_PL/V1_PL)*A(8)-(CLD_PL/V1_PL)*A(8)+(CLD_PL/V2_PL)*A(9) -
            FAC3*(EPS_PL*A(8)-A(7))*TVL-FAC4*(EPS_PL*A(8)-A(7))*TVL+RAC6
DADT(9)=(CLD_PL/V1_PL)*A(8)-(CLD_PL/V2_PL)*A(9)
DADT(10)=-Kdis*A(10)

;PD
DADT(11)=(KgExp*(1-(TV/Vmax))*A(11)/((1+(KgExp/KgLin*TV)**Psi)**(1/Psi)))
            -(((Kkill*(A(5)+A(6)+A(7)))/(KC50+(A(5)+A(6)+A(7))))*A(11))
DADT(12)=(((Kkill*(A(5)+A(6)+A(7)))/(KC50+(A(5)+A(6)+A(7))))*A(11))-(A(12)/Tau)
DADT(13)=(A(12)-A(13))/Tau
DADT(14)=(A(13)-A(14))/Tau

;AUC
CPT_PL=A(5)+A(6)+A(7)
   DADT(15)=CPT_PL
```

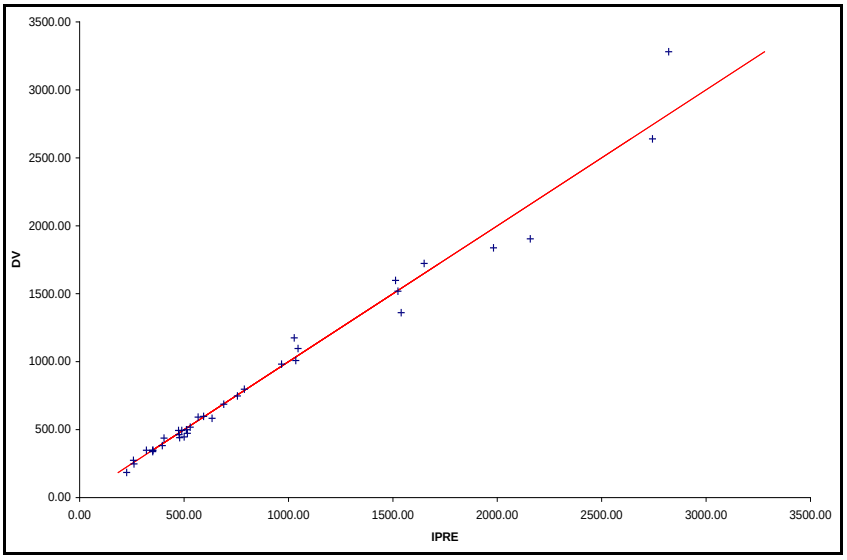
```
$ERROR
Y = F + ETA(1)

CP=A(5)+A(6)+A(7)
AUC=A(15)

$THETA
 0.0426          ;[CL_ADC]    in L/day/kg
 0.0666          ;[V1_ADC]    in L/kg
 0.0678          ;[CLD_ADC]   in L/day/kg
 0.0918          ;[V2_ADC]    in L/kg
 23.2            ;[Kon_ADC]
 21.6            ;[Koff_ADC]
 4.2             ;[Kint_Ag]
 0.73            ;[Kon_PL]
 13.1            ;[Koff_PL]
 9.66            ;[Kint_PL]
 1.1             ;[Kout_PL]   similar to MMAE
 0.29            ;[Kdis]
 74.8            ;[CL_PL]     in L/day/kg
 2.22            ;[V1_PL]     in L/kg
 485             ;[CLD_PL]    in L/day/kg
 63.83           ;[V2_PL]     in L/kg
 0.189           ;[KgExp]
 535             ;[KgLin]
 5000            ;[Vmax]
 0.448           ;[Kkill]
 84.2            ;[KC50]
 2.43            ;[Tau]

$OMEGA ;
0.0001   ;[P]

$SIMU (146594)

$TABLE TIME DV AUC CP EVID NOAPPEND ONEHEADER NOPRINT
FILE=1SIMU_ID1_KDIS_d2_modfinal.TAB
```

6. Evaluation statistique des modèles testés pour l'estimation des paramètres pharmacodynamiques

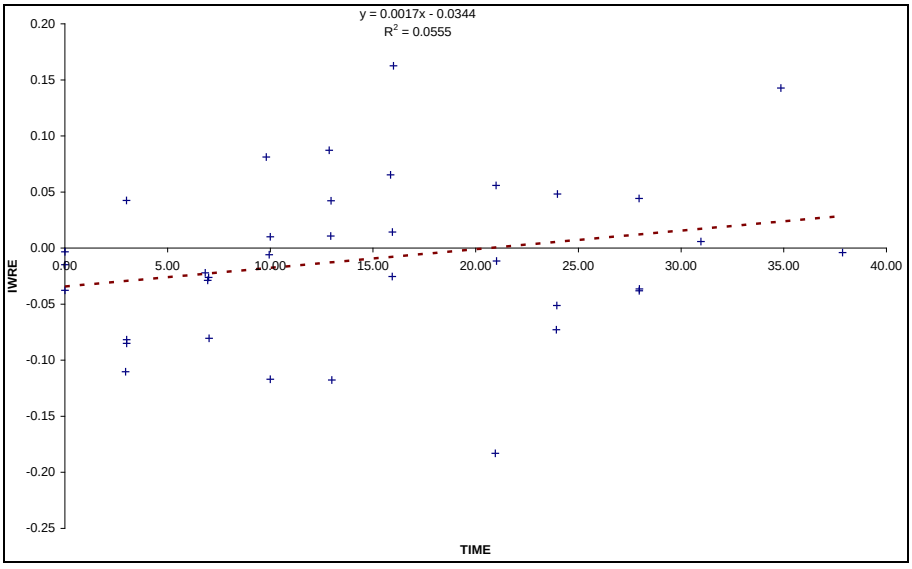
Hypothèses testées	Méthode	VR	VII	Nombre de paramètres à estimer	FO
EST_oKgExp_oKgLin_oKC50_oKkill_oTau	FOCEi	P	5	11	**NA**
EST_oKgExp_oKgLin_oKkill_oTau	FOCEi	P	4	10	**442.1**
EST_oKgExp_oKgLin_oTau	FOCEi	P	3	9	**391.4**
EST_oKgLin_oTau	FOCEi	P	2	8	**343.4**
EST_oKgExp_oKgLin	FOCEi	P	2	8	**351.7**
EST_oKgExp_oTau	FOCEi	P	2	8	**336.7**
EST_oTau	FOCEi	P	1	7	**338.4**
EST_oKgExp	FOCEi	P	1	7	**343.4**
EST_oKgLin	FOCEi	P	1	7	**343.7**
EST_oKgLin	FOCEi	P	1	7	**343.7**

7. Graphes diagnostiques de l'estimation du modèle pharmacodynamique

La représentation des données observées et prédites en fonction du temps (Figure 24), permet de valider l'analyse visuellement.

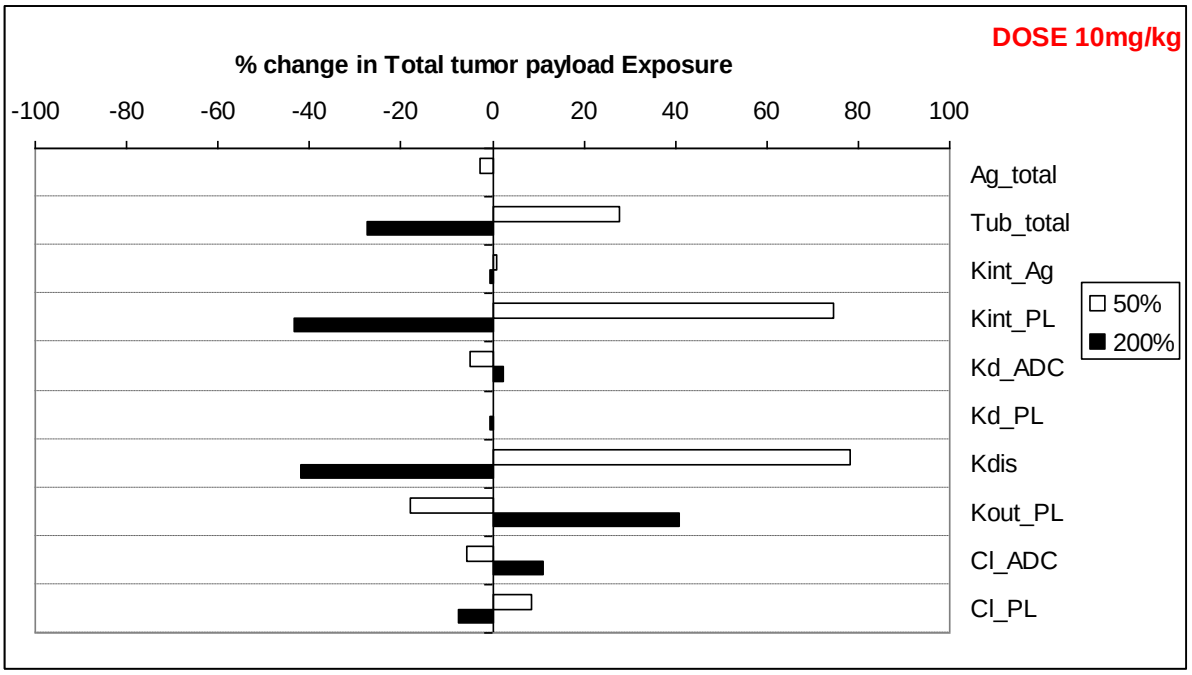


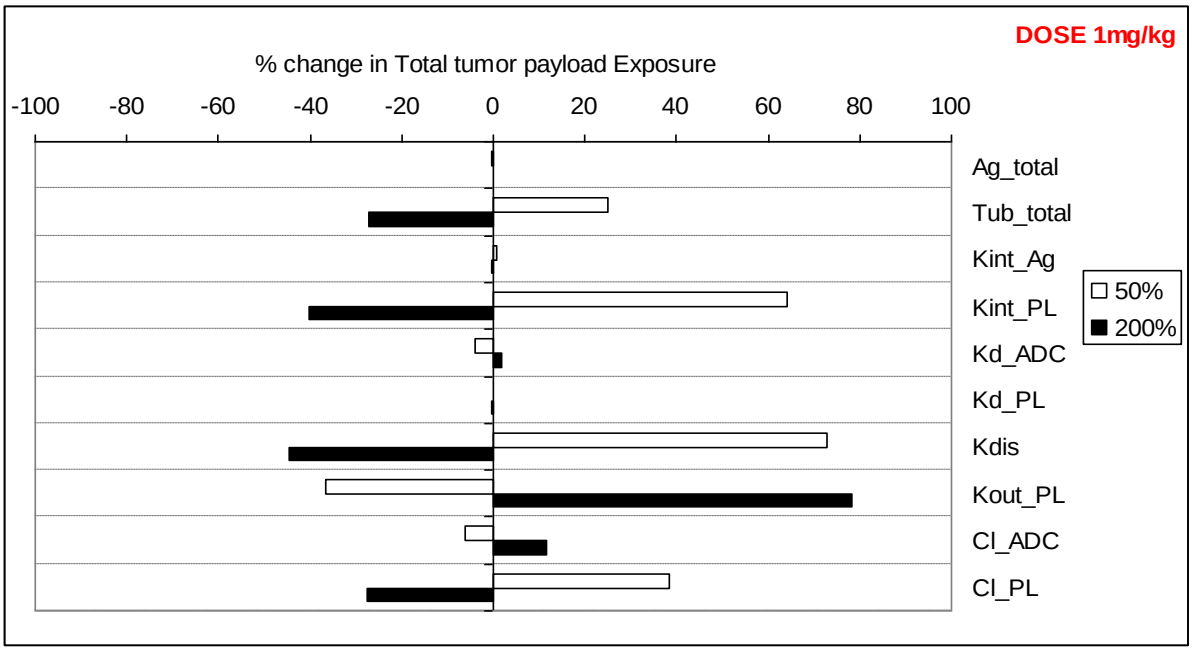
La représentation des données observées (DV) en fonction des données prédites individuelles (IPRED) permet d'évaluer le modèle de structure, choisi *a priori*. Les données prédites (bleues) se répartissent de part et d'autre de la droite identité (rouge), en s'y rapprochant au plus près.

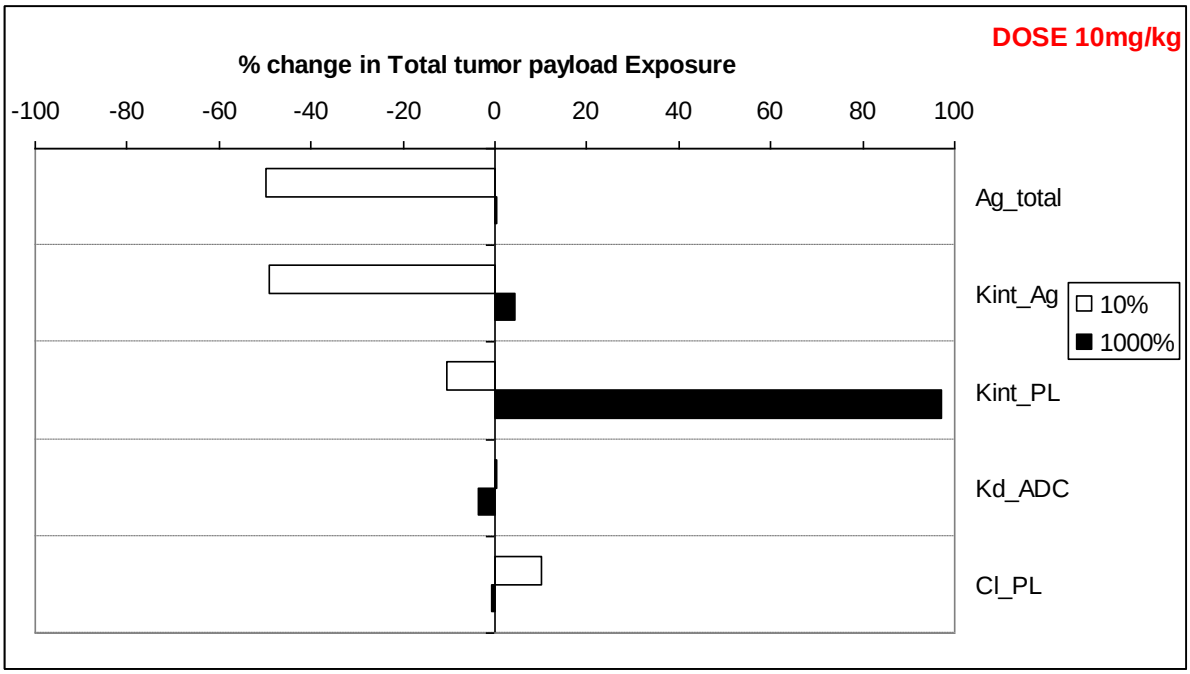


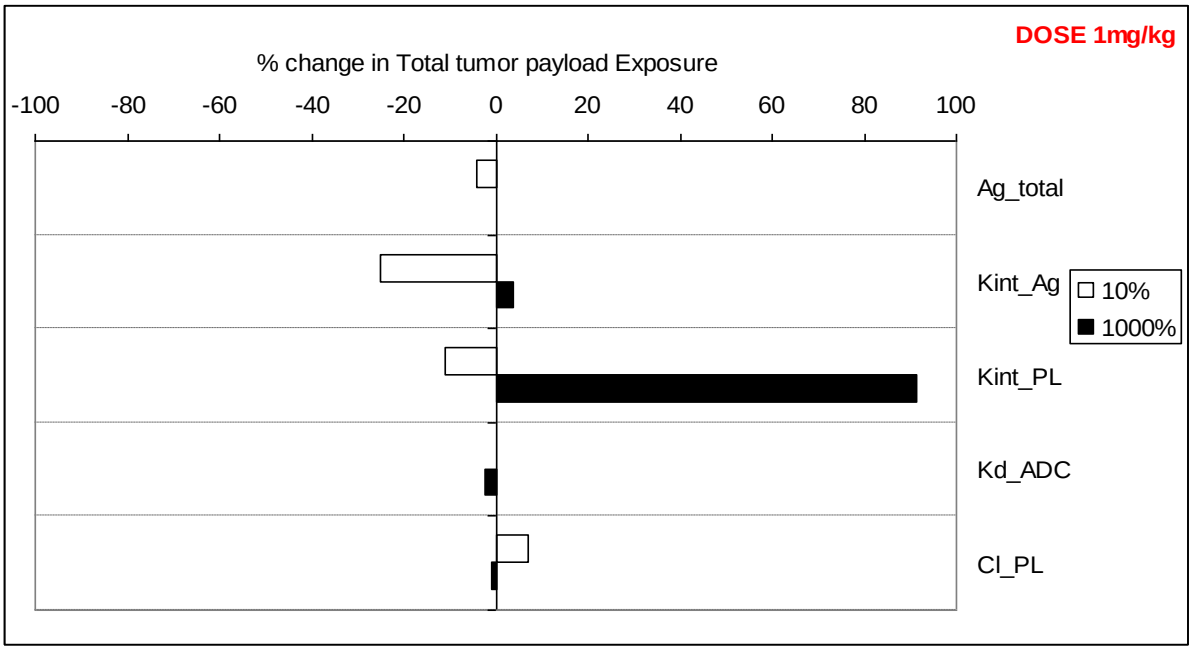
Sur ce graphe, les données prédites individuelles pondérées doivent se répartir de part et d'autre de l'axe des abscisses de manière uniforme. Dans notre cas, le modèle de structure est choisi *a priori*, donc il est normal que le graphe soit convenable, même si l'on observe un léger biais.

8. Graphes représentant l'analyse de sensibilité aux doses de 10mg/kg et 1mg/kg






DOSE 10mg/kg
% change in Total tumor payload Exposure
-100
-80
-60
-40
-20
0
20
40
60
80
100
Ag_total
Kint_Ag
Kint_PL
Kd_ADC
Cl_PL
10%
1000%


DOSE 1mg/kg
% change in Total tumor payload Exposure
-100
-80
-60
-40
-20
0
20
40
60
80
100
Ag_total
Kint_Ag
Kint_PL
Kd_ADC
Cl_PL
10%
1000%

UNIVERSITÉ DE NANTES **Année de la soutenance 2015**

Nom - Prénoms : TANNEAU Lénaïg

Titre de la thèse : Développement pharmacocinétique & pharmacodynamique des Antibody-drug conjugates
Revue de leurs propriétés & Approche en modélisation

Résumé de la thèse :

Les Antibody-drug conjugates ou ADCs sont en plein essor dans le domaine de la thérapie ciblée en oncologie. Un ADC est composé d'un anticorps sur lequel on attache des petites molécules cytotoxiques par le biais d'un linker.
L'élaboration d'un plan de développement pharmacocinétique permet de prévoir précocement les caractéristiques optimales que doit avoir un ADC pour optimiser les chances de succès.
Dans un premier temps, l'approche de knowledge management, a permis de mettre en exergue l'état de l'art de la littérature sur les ADCs en développement clinique aux Etats Unis. Cette étude révèle les profils des ADCs, ainsi que les designs des essais cliniques pour les premières doses chez l'Homme. L'analyse des arrêts en développement de certains ADCs a permis d'analyser les stratégies employées et d'apprendre sur la base des expériences accumulées au cours de leur développement clinique et préclinique.
Par la suite, afin de limiter les échecs et les coûts de développement, une approche de modélisation PKPD a été envisagée. Ainsi, un modèle décrit dans la littérature (Shah, 2012) a pu être reproduit. Il permet d'intégrer des données expérimentales in-vitro et in-vivo chez l'animal, tout en évaluant l'efficacité du produit c'est-à-dire la régression du volume tumoral puis d'envisager la translation chez l'Homme. L'utilisation du modèle a permis d'effectuer une analyse de sensibilité pour mettre en évidence les paramètres pharmacocinétiques pouvant avoir une influence sur l'exposition du médicament dans la tumeur.

MOTS CLÉS : ANTIBODY-DRUG CONJUGATES ; ADC ; IMMUNOCONJUGUES ; PHARMACOCINETIQUE ; PHARMACODYNAMIQUE ; MODELISATION

JURY

PRÉSIDENT : M Alain PINEAU,
PU-PH en Toxicologie
Faculté de Pharmacie de Nantes

ASSESSEURS : Mme Christine BOBIN-DUBIGEON,
Maître de Conférences en Pharmacologie
Faculté de Pharmacie de Nantes

M Eric DIDIER, Pharmacien,
Responsable pharmacocinétique en Biothérapies
Laboratoires Pierre Fabre

Mme Laurence DEL FRARI, Pharmacien,
Modélisateur en pharmacocinétique clinique
Laboratoires Pierre Fabre

Adresse de l'auteur : 57, rue chante cigale 33470 GUJAN-MESTRAS