

Université de Montréal

**Élaboration pharmacométrique d'une stratégie
d'échantillonnage limité dans l'évaluation de la
bioéquivalence du dabigatran**

par Cassandre Legault

Université de Montréal
Faculté de pharmacie

Mémoire présenté
en vue de l'obtention du grade de maîtrise
Sciences pharmaceutiques
Option Pharmacologie

Août, 2019

© Cassandre Legault, 2019

RÉSUMÉ

L'évaluation de la bioéquivalence (BE) de formulations génériques (Test) et de marques commerciales (Référence) du dabigatran représente un défi de taille pour les sociétés pharmaceutiques en raison de la grande variabilité intra-individuelle et de la puissante relation concentration-effet du médicament. Soutenu par l'approche de modélisation pharmacocinétique de population (pop-PK), ce projet examine le potentiel d'évaluer la BE, avec des résultats comparables au paradigme actuel de BE, en utilisant un nombre réduit d'échantillons requis.

Une étude de BE portant sur deux formulations de dabigatran (Test et Référence), comprenant 16 sujets et incluant 640 concentrations plasmatiques a été utilisée rétrospectivement pour l'analyse pop-PK. Un modèle pop-PK a été développé pour chaque formulation en suivant les techniques de modélisation standards. Des scénarios d'échantillonnage comportant un ensemble décroissant de prélèvements ont été sélectionnés selon une stratégie progressive et prudente basée sur les propriétés pharmacocinétiques (PK) connues du dabigatran ainsi que de connaissances cliniques acquises. Les modèles pop-PK Test et Référence ont été ajustés à chacun des scénarios d'échantillonnage réduits et leurs profils PK ont été simulés. Ensuite, des tests de BE ont été effectués pour identifier le scénario préservant les conclusions BE obtenues à partir du jeu de données d'origine tout en incluant le nombre minimal de prélèvements.

Un modèle à deux compartiments avec élimination de premier ordre et absorption retardée décrivait le mieux les données de concentration plasmatique du dabigatran. Le sexe a été identifié en tant que covariable significative pour la biodisponibilité. Pour les scénarios d'échantillonnage réduit, tous les profils de PK simulés étaient similaires et robustes en termes de valeurs de paramètres PK et de courbes de concentrations, à l'exception des valeurs de C_{max} . Les résultats ont également prouvé que le verdict de BE pouvait être maintenu jusqu'à un scénario d'échantillonnage réduit de cinq prélèvements en utilisant les normes et critères de BE réglementaires en vigueur.

L'approche de modélisation pop-PK pourrait réduire le nombre d'échantillons utilisés pour l'évaluation de la BE du dabigatran, diminuant donc les coûts des futurs essais de BE cliniques en plus de représenter un bénéfice pour les participants de l'étude.

Mots-clés: BE, dabigatran, modélisation pop-PK, stratégie d'échantillonnage limité.

ABSTRACT

The bioequivalence (BE) assessment of generic (Test) and brand name (Reference) formulations of dabigatran, a drug with a steep exposure-response relationship exhibiting very high pharmacokinetic (PK) variability, represents an expensive challenge for pharmaceutical companies. Supported by the modeling approach of population pharmacokinetics (pop-PK), the present study investigates the potential of assessing with results comparable to the current BE paradigm BE using a reduced required number of samples.

A BE study of two formulations of dabigatran (Test and Reference), comprising 16 subjects and including 640 plasma concentrations, was used retrospectively for the pop-PK analysis. Using standard modeling techniques, a pop-PK model was accordingly developed for each formulation. Sampling scenarios with reduced sampling time points were selected in a progressive and cautious strategy based on dabigatran's known PK properties and clinical knowledge. The developed pop-PK model of the Reference and Test formulations were refitted on each reduced sampling dataset. All these models were simulated to generate virtual PK profiles for BE purpose. Then, following the standard BE test procedure, the task concluded by identifying the scenario preserving BE conclusions obtained from the original dataset, while including the minimum number of samples.

A two-compartment model with first order elimination and a lagged absorption best described the plasma concentration data for dabigatran, and sex was identified as a significant covariate for bioavailability. For the reduced sampling scenarios, all simulated PK profiles were similar to the PK profile generated from the complete sampling in terms of PK parameters values and robustness, except for the C_{max} values. The results also proved that the BE verdict could be maintained with a reduced sampling scenario of only five blood samples using the current regulatory BE standards and criteria.

The pop-PK modeling approach can be an efficient tool that requires only a reduced number of samplings for the BE assessment of dabigatran, thus can potentially lower the costs in future BE trials and benefit the participants of the study.

Keywords: Bioequivalence, dabigatran, pop-PK modeling, limited sampling strategy.

TABLE DES MATIÈRES

RÉSUMÉ	I
ABSTRACT	II
TABLE DES MATIÈRES	III
LISTE DES TABLEAUX	VI
LISTE DES FIGURES	VII
LISTE DES ABRÉVIATIONS	VIII
REMERCIEMENTS	XI
CHAPITRE 1: INTRODUCTION	1
ANTICOAGULANTS ORAUX	1
<i>Indications thérapeutiques principales</i>	1
<i>Mécanisme d'action des anticoagulants</i>	2
<i>Développement pharmaceutique des anticoagulants</i>	3
<i>Nouvelle génération</i>	5
<i>Dabigatran</i>	7
<i>Défi pour l'industrie générique</i>	11
BIOÉQUIVALENCE.....	14
<i>Médicaments génériques</i>	14
<i>Principes</i>	14
<i>Statistique</i>	20
<i>Agences réglementaires</i>	22
<i>Problématique du dabigatran</i>	24
MODÉLISATION PHARMACOCINÉTIQUE DE POPULATION	25
<i>Le modèle</i>	25
<i>Modèle pharmacocinétique</i>	26
<i>Modèle pharmacocinétique de population</i>	29
<i>Structure du modèle non-linéaire à effets mixtes</i>	29
<i>Validation du modèle</i>	34
<i>Échantillonnage limité</i>	36
<i>Modélisation dans les études de bioéquivalence</i>	36
CHAPITRE 2 : VISION DU PROJET	38
HYPOTHÈSE DE RECHERCHE	38

OBJECTIF	38
<i>Jalons spécifiques</i>	38
CHAPITRE 3 : ÉTUDE RÉTROSPECTIVE UTILISÉE	39
DEVIS D'ÉTUDE	39
POPULATION.....	39
ÉTHIQUE	40
MANIPULATION DES ÉCHANTILLONS ET MÉTHODOLOGIE BIOANALYTIQUE	40
RÉSULTATS.....	41
CHAPITRE 4 : MODEL-BASED ELABORATION OF A LIMITED SAMPLING STRATEGY IN THE BIOEQUIVALENCE ASSESSMENT OF DABIGATRAN	42
INTRODUCTION	43
MATERIAL & METHODS	44
<i>Study design</i>	44
<i>Population</i>	44
<i>Dataset description</i>	45
<i>Population pharmacokinetic modeling</i>	45
<i>Bioequivalence Verdict</i>	47
<i>Limited Sampling Scenarios</i>	48
RESULTS	50
<i>Development of the population pharmacokinetic models</i>	50
<i>Validation of the Reference and Test population pharmacokinetic models</i>	51
<i>Elaboration of the limited sampling scenarios</i>	52
<i>Robustness comparison of the reduced sampling scenarios</i>	55
PROPOSITION FOR FUTURE BIOEQUIVALENCE STUDIES	56
DISCUSSION	58
REFERENCES.....	60
APPENDIX 1. THE REFERENCE POP-PK MODEL	62
APPENDIX 2. GOODNESS-OF-FIT PLOTS FOR THE FINAL POP-PK MODEL OF THE REFERENCE	63
APPENDIX 3. VPC OF THE REFERENCE FINAL MODEL EXCLUDING SEX EFFECT	64
APPENDIX 4. VPC OF THE REFERENCE FINAL MODEL INCLUDING SEX EFFECT	65
APPENDIX 5. COMPARISON OF BIOEQUIVALENCE RESULTS	66
APPENDIX 6. SIMULATED PK PROFILES OF THE REDUCED SAMPLING SUB-DATASETS	67
CHAPITRE 5 : DISCUSSION.....	68
RÉFLEXION SUR LES CONCLUSIONS DU PROJET	69
LIMITES ET AVANTAGES DE L'APPROCHE PROPOSÉE	73

CHAPITRE 6 : CONCLUSION	75
APPLICATIONS FUTURES	75
BIBLIOGRAPHIE	I

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Caractéristiques des NOACs versus la warfarine	6
Tableau 2. Comparaison entre le dabigatran, l'héparine et la warfarine	9
Tableau 3. Comparaison des critères de bioéquivalence pour les formulations immédiates à travers le monde.....	23
Tableau 4. Exemple de comparaison des résultats du bootstrap aux estimations finales des paramètres.....	34

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Cascade de coagulation sanguine	3
Figure 2. Mécanismes d'action des anticoagulants oraux	7
Figure 3. Formes inactive et active du dabigatran	8
Figure 4. Tendence des prescriptions de nouveaux anticoagulants oraux versus la warfarine au Canada.....	10
Figure 5. Évolution de la répartition des ordonnances d'anticoagulants oraux au Québec	10
Figure 6. Le marché des médicaments génériques au Canada.....	12
Figure 7. Profil pharmacocinétique d'un médicament oral	15
Figure 8. Profil pharmacocinétique d'une administration par voie intraveineuse versus orale	16
Figure 9. Paramètres pharmacocinétiques évalués lors d'une étude de bioéquivalence.....	17
Figure 10. Aire sous la courbe	18
Figure 11. Test d'hypothèses	20
Figure 12. Profil pharmacocinétique normal et semi-logarithmique d'un médicament oral....	27
Figure 13. Comparaison de l'élimination d'une molécule à administration intraveineuse à un compartiment versus deux compartiments.....	27
Figure 14. Comparaison de la structure du modèle selon la voie d'administration.....	28
Figure 15. Composantes du modèle non-linéaire à effets mixtes	30
Figure 16. Variabilité inter-individuelle	31
Figure 17. Variabilité résiduelle	31
Figure 18. Modèles d'erreur au niveau populationnel et individuel.....	32
Figure 19. Exemple de graphiques diagnostiques.....	33
Figure 20. Exemple d'une inspection visuelle prédictive.....	35
Figure 21. Profil concentration logarithmiques versus temps de la formulation référence du dabigatran.....	70
Figure 22. Profil de concentrations prédites par le modèle (ligne) versus les concentrations observées (points) pour chaque sujet	71

LISTE DES ABRÉVIATIONS

ACV :	Accident cérébral vasculaire
ADME :	Absorption, distribution, métabolisme et élimination
ANVISA :	Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria
aPTT :	Temps de thromboplastine partielle activée
AUC :	Aire sous la courbe/Area under the curve
BE :	Bioéquivalence/Bioequivalence
BMI :	Body mass index
CI :	Confidence interval
CL :	Clairance/Clearance
C _{max} :	Concentration maximale atteinte/Maximum reached concentration
C _{pt} :	Compartiment
CWRES :	Erreurs résiduelles conditionnelles pondérées
DV :	Concentrations observées
ECG :	Électrocardiogramme
EMA :	European Medicines Agency
EP :	Embolie pulmonaire
F :	Biodisponibilité/Bioavailability
FA :	Fibrillation auriculaire
FDA :	Food and Drug Administration
HCG :	Gonadotrophine chorionique humaine
IC :	Intervalle de confiance
ICF :	Formulaire de consentement éclairé
IMC :	Indice de masse corporelle
INR :	Ratio international normalisé/International normalized ratio
IPRED :	Concentrations individuelles prédites
IRB :	Comité d'examen institutionnel
k _a :	Constante d'absorption
k _{el} :	Constante d'élimination/Elimination constant
LSmeans :	Least-square means
MSE :	Erreur quadratique moyenne

NCA :	Analyse non-compartmentale/Non-compartmental analysis
NLME :	Non-linéaire à effets mixtes
NOAC :	Nouvel anticoagulant oral/New oral anticoagulant
OAC :	Anticoagulant oral
OFV :	Valeur de la fonction objective
<i>P-gp</i> :	Permeability glycoprotein
PK :	Pharmacocinétique/Pharmacokinetic
Pop-PK :	Pharmacocinétique de population/Population pharmacokinetic
PRED :	Concentrations populationnelles prédites
Q :	Clairance inter-compartmentale/Inter-compartmental clearance
$t_{1/2}$:	Temps de demi-vie
<i>RSE</i> :	Relative standard error
TAD :	Temps après la dose
TEV :	Thromboembolie veineuse
T_{lag} :	Retard d'absorption/Absorption delay
T_{last} :	Last observed quantifiable plasma concentration measured at the time T
T_{max} :	Temps correspondant à l'observation du C_{max}
<i>TPD</i> :	Therapeutic Products Directorate
TV :	Valeur typique
TVP :	Thrombose veineuse profonde
Vd :	Volume de distribution/Volume of distribution
VIH :	Virus de l'immunodéficience humaine
VPC :	Inspection visuelle prédictive/Visual predictive check

À Isabelle, Éric et Savannah,

Amour infini.

REMERCIEMENTS

Ce mémoire est le fruit de beaucoup de travail effectué au cours des deux dernières années, mais aussi de rencontres fortuites. J'ai découvert ma passion pour la pharmacométrie lors du baccalauréat en sciences biopharmaceutiques et de mon stage en industrie. Si ça n'avait été de Marc Lefebvre, qui m'a épaulé lors de mon parcours au sein de sa compagnie et lors de mon cheminement à la maîtrise, je n'aurais jamais rencontré Fahima Nekka. Grâce à Fahima, qui m'a admise dans son laboratoire prestigieux malgré la tardiveté de ma demande, j'ai entamé mes études aux cycles supérieurs sous la tutelle de Jun Li. Jun est pour moi un directeur de recherche dévoué, mais surtout un mentor patient et créatif, toujours disponible pour répondre à mes questions et contribuer à nos projets. Lors de mon arrivée au laboratoire, j'ai également eu la chance d'être accueillie par Sara. Sa présence bienveillante dans le laboratoire m'a appuyée dès le départ, et ne m'a jamais abandonnée en cours de route. J'ai de plus eu le bonheur de côtoyer Guillaume, qui m'a prêté main-forte à de nombreuses reprises lors de mon apprentissage de la modélisation. Mais surtout, j'ai été en mesure de partager tous ces moments avec Imad, mon partenaire de maîtrise qui a été d'un soutien moral sans failles.

Il va également de soi que sans le support apporté par ma famille, et tout particulièrement ma mère, rien de tout cela n'aurait été possible.

Merci à tous ceux qui ont guidé mon parcours jusqu'ici et qui éclaireront le chemin à venir.

CHAPITRE 1: INTRODUCTION

ANTICOAGULANTS ORAUX

INDICATIONS THÉRAPEUTIQUES PRINCIPALES

Depuis 2008, une hausse des prescriptions d'anticoagulants oraux (OAC) a été observée, tant au niveau des médecins de famille que des spécialistes [1]. En effet, le vieillissement de la population entraîne son lot de pathologies dont la prévalence augmente avec l'âge. Les OACs jouent un rôle primordial dans le traitement et la prévention de multiples affections cardiovasculaires tels l'accident cérébral vasculaire (ACV), l'embolie systémique et la thromboembolie veineuse (TEV) en agissant sur la cascade de coagulation sanguine.

Accident cérébral vasculaire

Près de 740 000 Canadiens vivent avec les répercussions d'un ACV [2]. L'ACV est une perte de fonction cérébrale soudaine due à un blocage par un caillot sanguin (aussi appelé thrombus) ou une rupture d'un vaisseau artériel. Dans cette situation, la zone du cerveau affectée se retrouve privée d'oxygène et par conséquent les cellules meurent [2, 3]. Plusieurs personnes sont susceptibles de vivre un ACV, soient les individus ayant une haute pression, les personnes âgées ou encore les personnes souffrant de fibrillation auriculaire.

Embolie systémique chez les patients atteints de fibrillation auriculaire

La fibrillation auriculaire (FA) est la forme d'arythmie la plus commune dans le domaine clinique [4]. D'ailleurs, cette pathologie définie par une irrégularité du rythme cardiaque affecte mondialement des millions d'individus, et ce nombre ne fait qu'augmenter avec le vieillissement de la population [4]. En réalité, l'âge et certains facteurs associés au vieillissement telles que la haute pression et la présence de comorbidités cardiaques sont tous des éléments qui élèvent le risque de développer une FA. Le danger de cette arythmie provient de son rythme cardiaque irrégulier qui conduit souvent à des ACVs, en favorisant la formation du thrombus artériel qui se retrouve logé dans une artère du cerveau [4, 5].

Thromboembolie veineuse

La TEV remporte la deuxième place parmi les affections cardiovasculaires les plus courantes au Canada, représentant près de 600 millions de dollars en coûts par année pour le pays [6]. D'autant plus que la TEV ne discrimine pas; les hommes et les femmes de tous âges et ethnicités sont à risques d'être affectés un jour par une thromboembolie veineuse [7, 8]. La moitié des cas de TEV ne sont pas causés par des facteurs de risque connus [6]. Les personnes les plus propices à contracter une TEV sont principalement les individus ayant subi une chirurgie, une fracture ou un traumatisme menant à une immobilisation ou encore une hospitalisation [8]. Il existe deux types de TEV; soit la thrombose veineuse profonde (TVP) et l'embolie pulmonaire (EP). Dans les deux cas, on observe la formation d'un thrombus, c'est-à-dire un caillot de sang coincé dans un vaisseau sanguin. Cependant, dans le cas d'une EP, le thrombus se détache de la veine pour se rendre aux poumons, où il bloque la circulation sanguine pulmonaire [9].

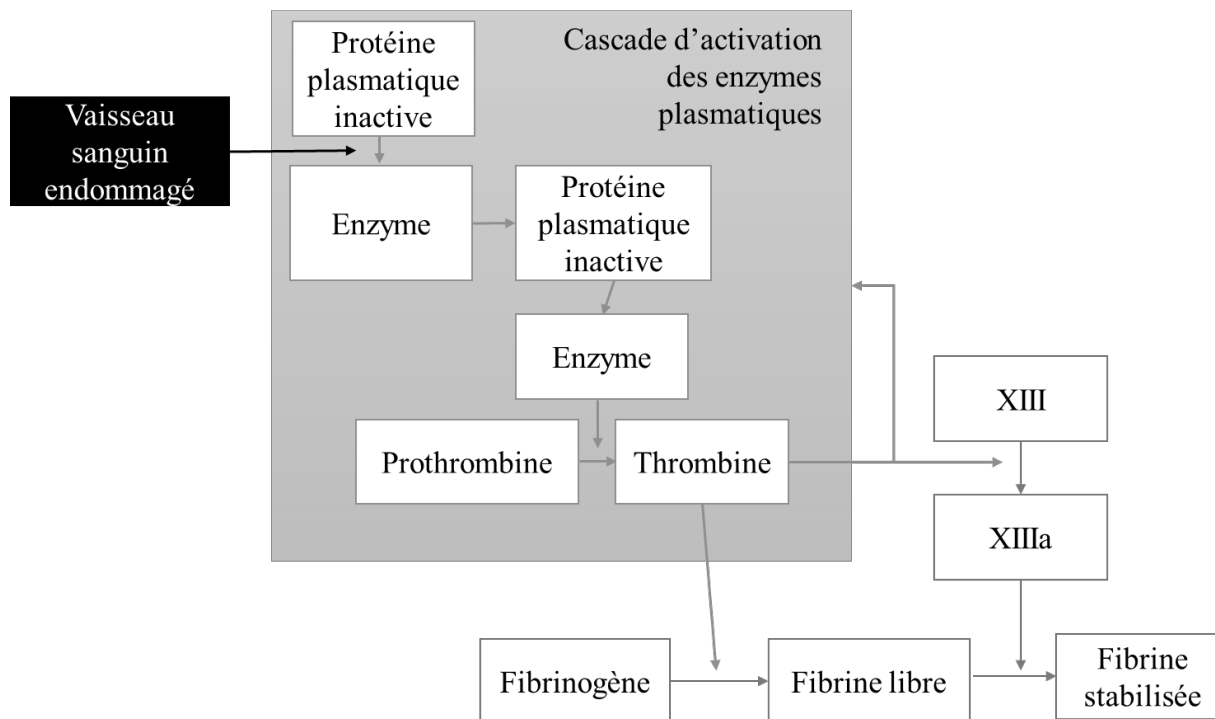
MÉCANISME D'ACTION DES ANTICOAGULANTS

Les anticoagulants sont administrés dans le but de traiter ces conditions pathologiques, mais surtout de prévenir les récurrences. En agissant sur la synthèse ou la fonction de certains facteurs de la cascade de coagulation sanguine, les anticoagulants empêchent la formation du thrombus qui est à l'origine des pathologies identifiées précédemment.

Un thrombus est normalement formé lors de l'hémostase. Ce processus physiologique ayant pour but d'endiguer le saignement comprend deux phénomènes interdépendants, soit la formation du clou plaquettaire et la coagulation du sang [9-11]. Lorsqu'un vaisseau sanguin est sectionné ou compromis de toutes autres manières, le clou plaquettaire est créé très rapidement grâce à l'agrégation plaquettaire, scellant les fissures dans les parois du vaisseau abîmé. Par la suite, la coagulation sanguine permet de supporter et renforcer le clou plaquettaire en solidifiant le sang dans le canal de la plaie pour former un thrombus [11]. Le thrombus est principalement composé de fibrine, un polymère protéique qui solidifie et maintient le clou plaquettaire pendant que le dommage au vaisseau sanguin est réparé. La formation du thrombus dépend de l'activation de multiples facteurs inactifs, phénomène communément appelé la cascade de coagulation (Figure 1) [11]. Le point clé de cette cascade est la conversion de la protéine

plasmatique prothrombine à l'enzyme thrombine. La thrombine mènera ensuite à la formation de fibrine stabilisée, nécessaire au maintien du caillot.

Figure 1. Cascade de coagulation sanguine



Adapté de Eric P. Widmaier, H.R., Kevin T. Strang, *Simplified diagram of the clotting pathway. Vander's Human Physiology: The Mechanisms Of Body Function, Thirteenth Edition.* 13 ed. 2014: McGraw-Hill. 806.

Le corps possède plusieurs mécanismes pour contrôler la formation du caillot lors d'une blessure et pour le dissoudre une fois sa mission accomplie. Toutefois, des thrombus peuvent survenir à l'intérieur des vaisseaux sanguins sans présence de dommages apparents ou encore ne pas se dissoudre correctement. Ce phénomène de coagulation anormal est à la base des pathologies telles que l'ACV, l'embolie et la TVP. En agissant sur les différents éléments de la cascade de coagulation, les anticoagulants représentent la thérapie de choix pour prévenir la formation de thrombus.

DÉVELOPPEMENT PHARMACEUTIQUE DES ANTICOAGULANTS

L'héparine fut le premier agent anticoagulant découvert et isolé à des fins thérapeutiques [12, 13]. Cette substance présente à la surface des tissus endothéliaux a été découverte au début du 20^{ème} siècle et introduite au marché pharmaceutique dans les années 1940 [14]. En se liant à

l'antithrombine III, l'héparine augmente significativement l'activité de celle-ci et entraîne donc une inactivation rapide de plusieurs facteurs de la cascade coagulation [11]. Pour superviser l'efficacité de l'héparine, les cliniciens doivent examiner le temps de thromboplastine partielle activée (aPTT). Toutefois, l'utilisation prolongée d'héparine est régulièrement associée à des risques élevés de développer une thrombopénie ou de l'ostéoporose [14]. Au début des années 1980, des dérivés de l'héparine sont apparus sur le marché. Ces molécules appelées héparines à faibles poids moléculaires sont plus efficaces, mais surtout plus sécuritaires que l'héparine non fractionnée [12, 14]. De plus, son administration demeure parentérale, limitant son application en tant que thérapie ambulatoire.

La warfarine a quant à elle été découverte en Amérique du Nord lors d'une épidémie d'hémorragie interne du bétail bovin dont la source était inconnue [12, 13]. Il s'avère que les animaux avaient été nourris de foin de mélèze moisi. Après plusieurs années de recherche à tenter de déterminer et isoler dans le sang non coagulé la molécule responsable de la maladie hémorragique, il a été découvert qu'une substance naturelle alors nommée coumarine s'oxyde en présence de foin moisi pour produire le dicoumarol, qui est à l'origine de l'hémorragie [12, 13]. Les propriétés anticoagulantes du dicoumarol ont ensuite conduit à sa commercialisation sous forme de raticide. Cependant, le déclenchement de l'effet hémorragique était trop lent. Différentes variations de coumarines ont donc été développées, jusqu'à la découverte de la warfarine, dont la puissance était nettement supérieure au dicoumarol.

Suite à son succès en tant que poison à rat, les applications thérapeutiques de la warfarine ont été explorées comme premier anticoagulant oral. Grâce à son déclenchement d'effet anticoagulant plus rapide que la coumarine, sa haute solubilité et sa biodisponibilité orale, la warfarine représentait la prochaine étape de l'évolution de la thérapie anticoagulante puisque l'héparine comprend seulement une administration parentérale [13]. De plus, ses effets hémorragiques peuvent être rapidement renversés par l'administration de vitamine K. Effectivement, il est maintenant connu que la warfarine agit en tant qu'antagoniste de la vitamine K; c'est-à-dire qu'elle interfère avec la modification post-traductionnelles de plusieurs facteurs de la cascade de coagulation (les facteurs II, VII, IX et X) ainsi que des protéines impliquées dans la régulation de la coagulation (les protéines C et S) [14]. Son effet pharmacologique doit d'ailleurs être supervisé étroitement par les cliniciens en utilisant le ratio international normalisé (INR) pour éviter les risques d'hémorragies.

Nonobstant les résultats cliniques concluants de ces deux thérapies anticoagulantes conventionnelles, chacune comporte plusieurs facteurs limitants. Notamment, l'utilisation d'héparine (non fractionnée et de faible poids moléculaire) est toujours associée au risque de développement de thrombopénie ou de l'ostéoporose. De plus, son administration parentérale restreint considérablement son utilisation à long terme par des patients ambulatoires. Quant à la warfarine, malgré sa forme orale, cette molécule possède à la fois une fenêtre thérapeutique étroite, un temps de coagulation lent, un besoin de surveillance constant dû aux effets secondaires dangereux ainsi qu'un potentiel d'interactions alimentaires et médicamenteuses élevé [12-14].

NOUVELLE GÉNÉRATION

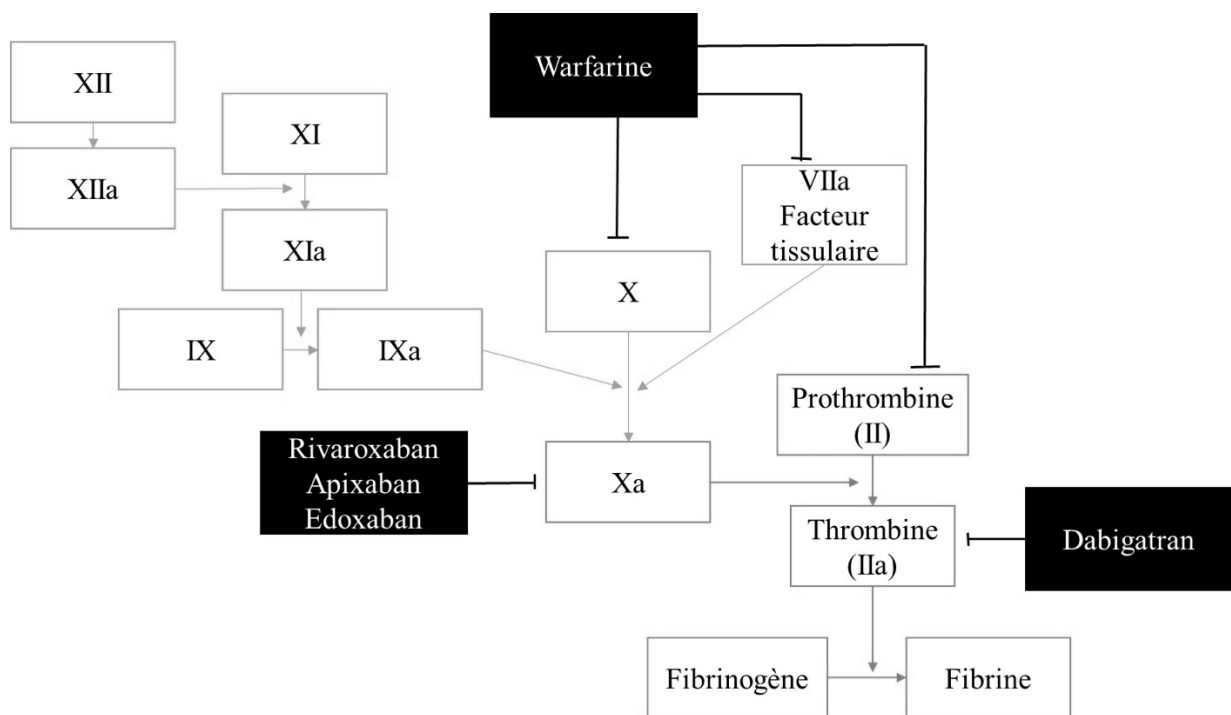
Pour répondre à ces besoins, une nouvelle classe d'anticoagulants oraux a fait son apparition; les nouveaux anticoagulants oraux (NOAC), dont fait partie le dabigatran. L'introduction des NOACs au cours des dernières années offre une option intéressante aux thérapies conventionnelles par leur mécanisme d'action spécifique et réversible. En visant sélectivement des cibles spécifiques de la cascade de coagulation, les NOACs présentent un meilleur profil d'efficacité et de toxicité versus l'héparine et la warfarine (Tableau 1) [14, 15]. Leurs propriétés permettent donc une administration orale ainsi qu'une thérapie à dose fixe avec un déclenchement rapide de l'effet pharmacologique. Cette particularité fait en sorte que cette classe thérapeutique nécessite moins de suivi en raison de son effet pharmacologique prévisible, ainsi que son potentiel d'effets secondaires toxiques et d'interactions moindres dû à leur mécanisme d'action ciblé.

Tableau 1. Caractéristiques des NOACs versus la warfarine

Molécule	Warfarine	Dabigatran	Rivaroxaban, Apixaban, Edoxaban
Mécanisme d'action	Inhibition indirecte de la cascade de coagulation par l'inhibition de l'époxyde réductase de la vitamine K	Inhibition directe de la thrombine (facteur IIa)	Inhibition directe du facteur Xa
Avantages	<ul style="list-style-type: none"> - Biodisponibilité élevée - Tests de coagulation disponible pour la surveillance thérapeutique - Antidote - Pour tous les groupes d'âge 	<ul style="list-style-type: none"> - Pharmacocinétique prévisible - Potentiel d'interactions médicamenteuses faible - Potentiel d'interactions alimentaires faible - Apparition et disparition rapide de l'effet pharmacologique - Courte demi-vie - Aucune surveillance thérapeutique régulière requise - Fenêtre thérapeutique large 	
Désavantages	<ul style="list-style-type: none"> - Pharmacocinétique imprévisible - Interactions médicamenteuses/ alimentaires - Surveillance régulière requise - Index thérapeutique étroit - Apparition et disparition lente de l'effet pharmacologique - Longue demi-vie 	<ul style="list-style-type: none"> - Test de surveillance thérapeutique inexistant - Antidote inexistante - Dispendieux 	

À l'heure actuelle, quatre médicaments font partie des NOACs : le rivaroxaban, l'apixaban, l'edoxaban ainsi que le dabigatran. Les trois premiers sont des inhibiteurs du facteur de coagulation Xa tandis que le dabigatran inhibe directement la thrombine (Figure 2) [15].

Figure 2. Mécanismes d'action des anticoagulants oraux

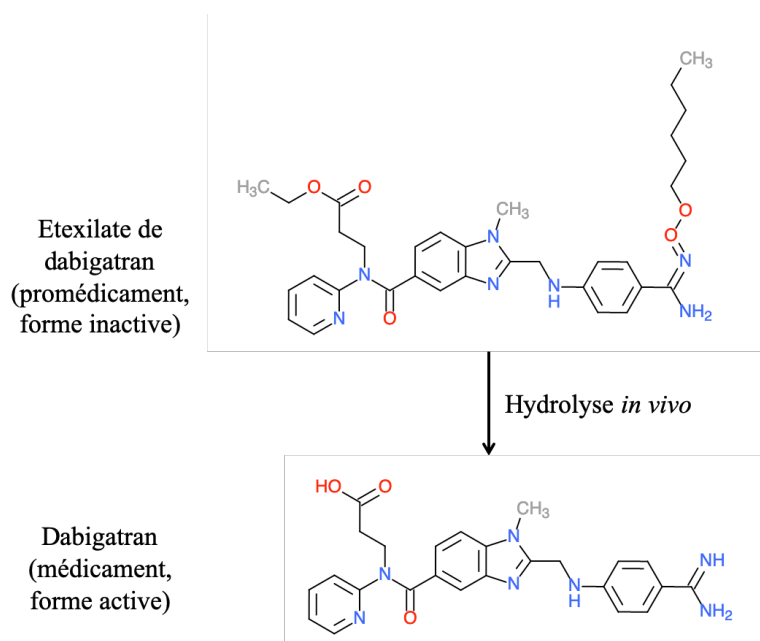


Adapté de Mekaj, Y.H., et al., *New oral anticoagulants: their advantages and disadvantages compared with vitamin K antagonists in the prevention and treatment of patients with thromboembolic events*. Therapeutics and clinical risk management, 2015. **11**: p. 967-977.

DABIGATRAN

L'étéxilate de dabigatran fut le premier NOAC approuvé sur le marché et constitue encore aujourd'hui le seul inhibiteur de thrombine parmi cette classe thérapeutique [14, 15]. Ce médicament est un promédicament, et son action pharmacologique sur la thrombine est enclenchée lorsque le médicament parent, soit l'étéxilate de dabigatran, est rapidement converti en dabigatran dans l'estomac, le foie et le plasma (Figure 3).

Figure 3. Formes inactive et active du dabigatran



Puisqu'il n'est pas métabolisé par le cytochrome P450 et ne l'inhibe pas, le dabigatran est moins susceptible aux interactions médicamenteuses que la warfarine [15, 16]. Sous sa forme active, le dabigatran atteint sa concentration maximale entre 2 et 3 heures après son administration, le distinguant nettement de la warfarine (Tableau 2). De plus, son profil dose-réponse est prévisible et conséquemment les tests de coagulation routiniers nécessaires lors de l'utilisation de warfarine ne sont pas requis pour le dabigatran [14-16]. Toutefois, contrairement à la warfarine, le dabigatran est éliminé principalement par les reins, rendant son utilisation chez les insuffisants rénaux contre-indiquée [16]. De plus, contrairement à la warfarine dont l'effet anticoagulant peut être renversé par l'administration de vitamine K, il n'y a pas encore d'antidote développée pour rapidement neutraliser l'action du dabigatran, limitant ainsi ses indications thérapeutiques.

Tableau 2. Comparaison entre le dabigatran, l'héparine et la warfarine

Caractéristiques	Dabigatran	Héparine	Warfarine
Route d'administration	Orale	Parentérale	Orale
Déclenchement de l'action pharmacologique (h)	0.5-2	1	36-72
Temps nécessaire pour atteindre la concentration maximale atteinte (h)	2	3-5	36-72
Temps de demi-vie (h)	12-14	4.5-7	20-60
Site principal d'élimination	Reins	Reins	Foie
Antidote	Aucune	Protamine sulfate	Vitamine K

Adapté de Mekaj, Y.H., et al., *New oral anticoagulants: their advantages and disadvantages compared with vitamin K antagonists in the prevention and treatment of patients with thromboembolic events*. Therapeutics and clinical risk management, 2015. **11**: p. 967-977.

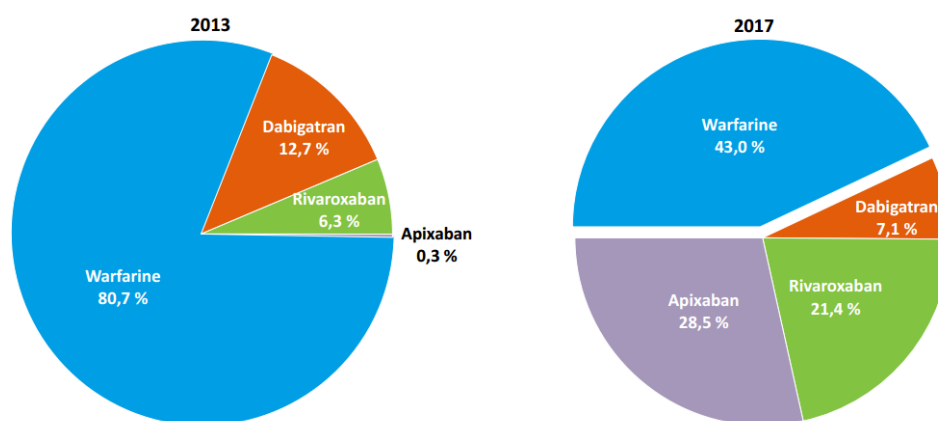
Par ailleurs, même si plusieurs études cliniques démontrant que le dabigatran pourrait remplacer la warfarine dans certaines indications [14, 15], celles-ci ont aussi identifié un risque accru d'infarctus du myocarde et de saignements gastro-intestinaux majeurs. En outre, malgré une tendance à la hausse des prescriptions de dabigatran depuis sa commercialisation (Figure 4), le rivaroxaban et l'apixaban ont réussi à monopoliser une plus grande part du marché des NOACs en raison de leur meilleur profil de toxicité (Figure 5) [1, 17].

Figure 4. Tendance des prescriptions de nouveaux anticoagulants oraux versus la warfarine au Canada



Weitz, J.I., et al., *Total annual prescription volumes of oral anticoagulant (OAC) agents. Trends in Prescribing Oral Anticoagulants in Canada, 2008-2014.* Clin Ther, 2015. 37(11): p. 2506-2514.e4.

Figure 5. Évolution de la répartition des ordonnances d'anticoagulants oraux au Québec



Mélanie Turgeon, J.-M.D., *Répartition du nombre d'ordonnances selon l'anticoagulant utilisé, en 2013 et en 2017.* Portrait de l'usage des anticoagulants oraux directs et de la warfarine chez les personnes de 18 ans et plus couvertes par le régime public d'assurance médicaments du Québec, in État des pratiques. 2019, (INESSS).

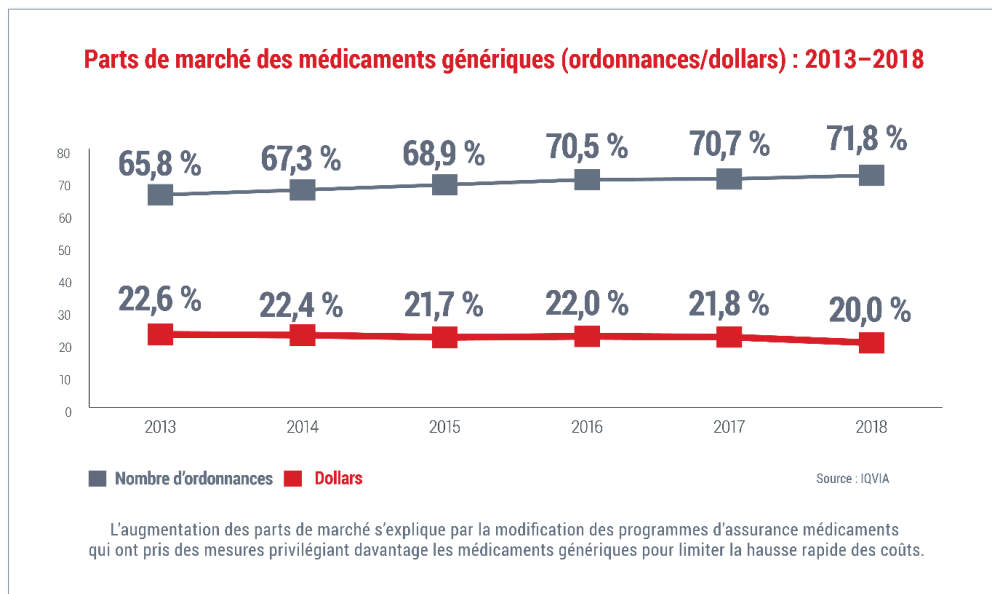
Toutefois, le dabigatran demeure indiqué pour les conditions suivantes [18]:

- Réduire le risque d'ACV et d'embolie systémique chez les patients atteints de FA,
- Traiter la TVP et de l'EP chez les patients traités par un anticoagulant par voie parentérale pendant 5 à 10 jours,
- Réduire le risque de récurrence de la TVP et de l'EP chez les patients qui ont déjà été traités,
- Prophylaxie de la TVP et de l'EP chez les patients ayant subi une arthroplastie de la hanche.

DÉFI POUR L'INDUSTRIE GÉNÉRIQUE

Évidemment, la mise en marché du dabigatran a également déclenché la course vers la conception de génériques de cette nouvelle molécule parmi les compagnies pharmaceutiques. Les médicaments génériques permettent aux patients l'accès à des thérapies de qualité à faibles coûts; en fait, les génériques représentent près de 72% des prescriptions au Canada (Figure 6), d'où l'urgence d'une entreprise d'être approuvée en premier par une autorité réglementaire et ainsi prendre possession du marché commercial [19]. En effet, la première compagnie générique réussissant à offrir son médicament sur le marché représentera la thérapie de choix des agences de remboursement, privées et gouvernementales, grâce au prix compétitif du produit. Il y a donc un incitatif financier majeur pour une entreprise générique à réussir ses études de bioéquivalence rapidement.

Figure 6. Le marché des médicaments génériques au Canada



Association canadienne du médicament générique (ACMG). *Part de marché des médicaments génériques (ordonnances/dollars) :2013-2018*. Tendances du marché. 2019; Available from: <https://generiquescanadiens.ca/perennite-du-reseau-de-la-sante/tendances-du-marche/>.

Cependant, cette quête vers l’approbation réglementaire se révèle particulièrement ardue dans le cas de dabigatran, à cause de sa variabilité intra-individuelle significative, mais surtout en raison de sa relation exposition-réponse (thérapeutique et toxique).

En effet, le dabigatran est principalement éliminé par voie rénale, et la disparité des taux de filtration glomérulaire chez les patients explique principalement sa source de variabilité intra-individuelle [16]. Une variabilité élevée requière un nombre colossal de sujets inclus à l’étude pour démontrer avec suffisamment de puissance une bioéquivalence avec le médicament innovateur. Pour pallier à ce problème, les agences réglementaires permettent aux compagnies pharmaceutiques d’utiliser des devis d’étude conçus pour prendre en compte cette variabilité dans l’évaluation de la bioéquivalence, en élargissant les limites standard préconisées.

Toutefois, en plus de cette variabilité observée, le profil exposition-réponse du dabigatran pose également problème lors d’évaluation de la bioéquivalence. Effectivement, un changement mineur des concentrations sanguines de ce médicament peut entraîner un effet pharmacologique majeur qui pourrait représenter un risque sévère pour les patients, considérant la nature thérapeutique anticoagulante de cette molécule [20].

Conséquemment, les agences réglementaires interdisent l'élargissement des limites de bioéquivalence pour les molécules comme le dabigatran, dans le but de limiter les cas de toxicité. Ces particularités rendent donc la tâche de démontrer une bioéquivalence entre le produit référence (dabigatran actuellement commercialisé) et la formulation test de dabigatran (le générique n'ayant pas encore été approuvé) particulièrement ardue et coûteuse, puisqu'un grand nombre de sujets est requis et les chances de succès sont réduites. Cette problématique illustre les limites des pratiques de bioéquivalence actuellement soutenues par les agences réglementaires.

BIOÉQUIVALENCE

MÉDICAMENTS GÉNÉRIQUES

Un médicament générique est en fait une imitation d'un médicament novateur déjà sur le marché. En ayant démontré qu'il était bioéquivalent au produit original, le médicament générique peut être vendu sur le marché à une fraction du prix du médicament original. En effet, le développement de ces formulations est exempté des tests précliniques et cliniques dispendieux, si elles respectent les conditions suivantes [21] :

- La formulation Test doit être conforme aux normes USP de chimie et fabrication, ainsi que les normes de bonnes pratiques de fabrication.
- La formulation Test et le médicament novateur doivent partager la même dose, route d'administration, principes actifs, puissance, péremption ainsi que le même profil pharmacocinétique.

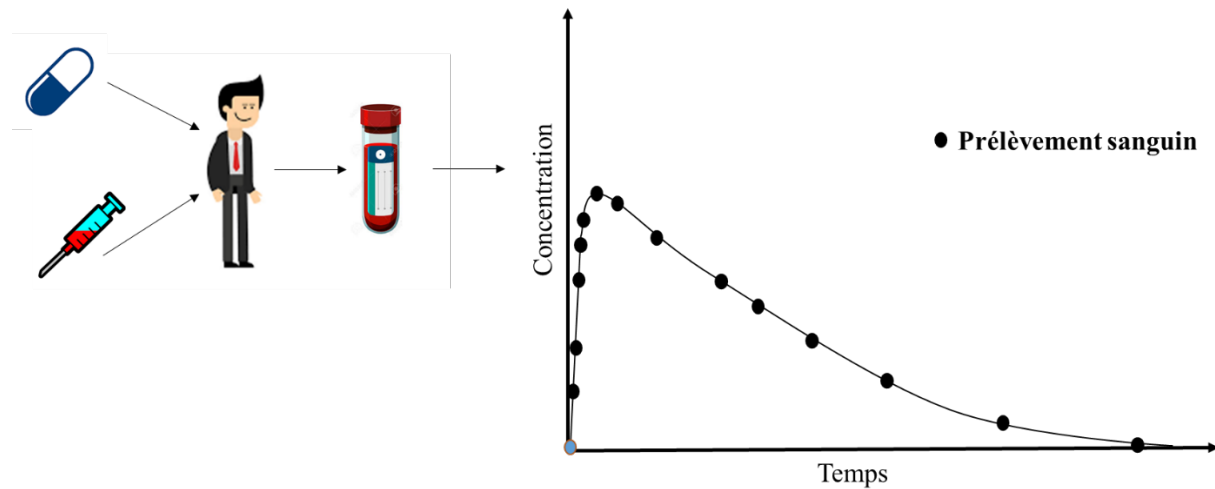
La comparaison des profils pharmacocinétiques du médicament générique versus ceux du novateur est faite par l'entremise d'une étude de bioéquivalence.

PRINCIPES

La bioéquivalence est définie comme étant «l'absence de différence significative dans le taux et l'étendue d'absorption du principe actif entre deux formulations pharmaceutiques équivalentes, c'est-à-dire administrées à la même dose et sous des conditions similaires » [22, 23].

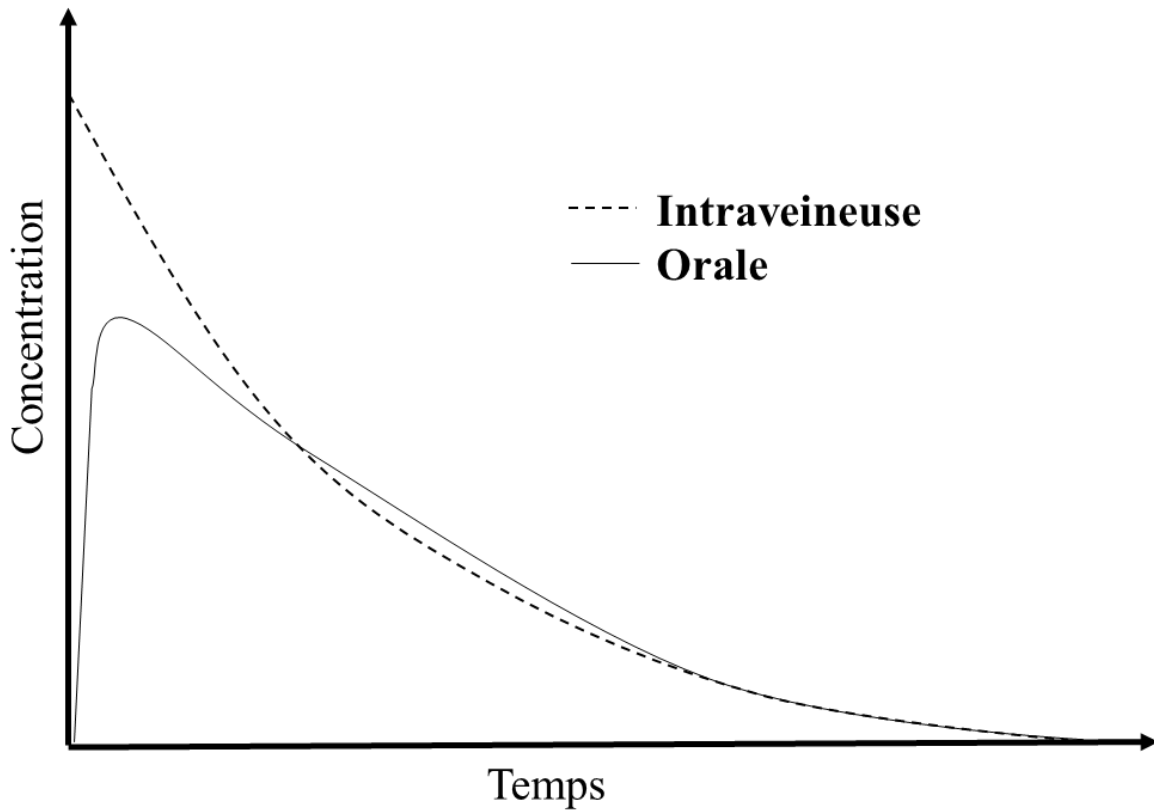
Une étude de bioéquivalence doit donc démontrer que le médicament générique (aussi appelé formulation Test) partage les mêmes caractéristiques pharmacocinétiques que le produit novateur (appelé produit Référence), et ainsi ses effets thérapeutiques et toxiques seront aussi semblables au novateur. Cette procédure emploie une approche statistique appliquée sur des données de concentration collectées pour chacun des produits comparés. Si l'étude est concluante, le médicament générique pourra être approuvé pour commercialisation sans avoir à passer la batterie d'études cliniques dispendieuses de Phase 2 et 3 du développement traditionnel d'un médicament. Le profil pharmacocinétique d'un médicament est déterminé en observant l'évolution des concentrations du principe actif dans le temps (Figure 7).

Figure 7. Profil pharmacocinétique d'un médicament oral



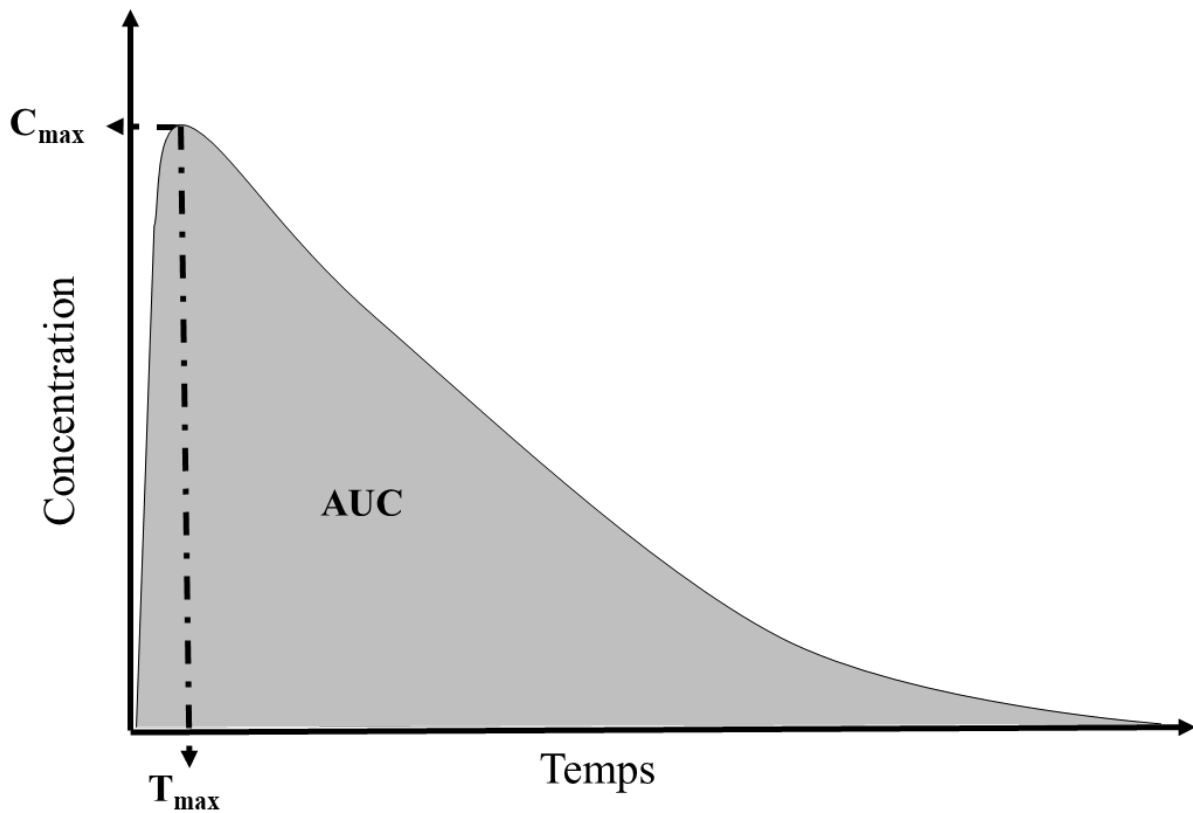
Cette courbe est propre à chaque formulation pour une molécule donnée, et elle dépend des vitesses relatives d'absorption et d'élimination du principe actif [21]. D'ailleurs, la forme du profil de concentration peut être très différente selon la voie d'administration (Figure 8). Les voies intraveineuse et parfois intramusculaire se soldent en un sommet de concentration précoce en raison d'une absorption quasiment instantanée, alors que l'administration extravasculaire telle que la voie orale, sous-cutanée, rectale et autres peut présenter des pics retardés en raison de taux d'absorption plus faibles [21].

Figure 8. Profil pharmacocinétique d'une administration par voie intraveineuse versus orale



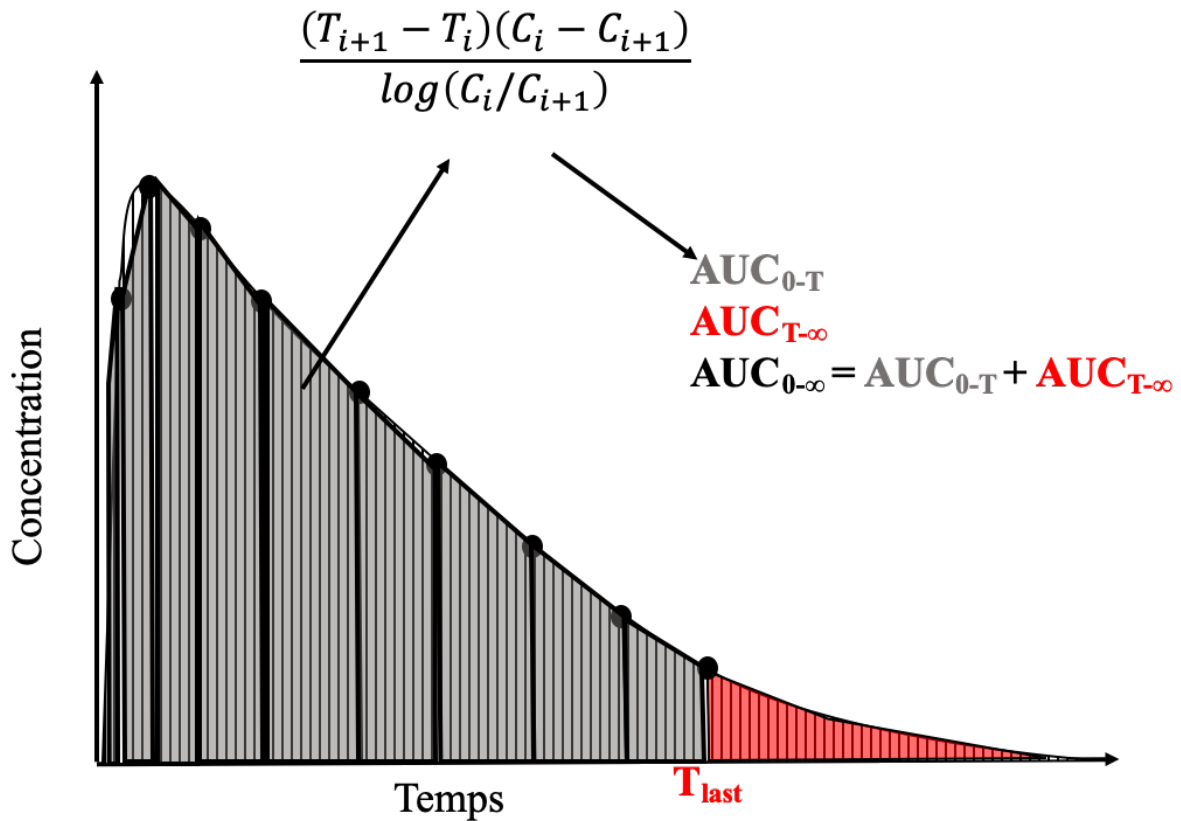
Puisqu'une étude de bioéquivalence cherche à comparer le taux et l'étendue d'absorption, la concentration maximale atteinte (C_{\max}) et l'aire sous la courbe (AUC) représentent les deux paramètres pharmacocinétiques primordiaux (Figure 9). En effet, C_{\max} est une mesure reflétant le taux d'absorption d'une molécule et, en pratique, il est déduit directement du profil pharmacocinétique, sans interpolation [23]. Il est donc essentiel de bien sélectionner les temps d'échantillonnage sanguins lors d'une étude de bioéquivalence, pour s'assurer de ne pas manquer le temps où C_{\max} sera observé (ce temps est nommé T_{\max}).

Figure 9. Paramètres pharmacocinétiques évalués lors d'une étude de bioéquivalence



Concernant l'AUC, elle reflète l'exposition corporelle du médicament et permet également de visualiser sa quantité et sa durée dans l'organisme. L'AUC est plutôt déduite à l'aide d'équations et se sépare en fait en deux paramètres distincts, soit l' AUC_{0-T} (en gris sur la Figure 10) et la $AUC_{0-\infty}$ (en noir sur la Figure 10).

Figure 10. Aire sous la courbe



L' AUC_{0-T} est définie comme étant l'aire sous la courbe à partir du temps zéro (avant l'administration du médicament) jusqu'au temps correspondant à la dernière concentration mesurée (défini comme étant le temps T_{last}). L' AUC_{0-T} correspond donc à l'exposition observée du médicament. En utilisant la méthode des trapèzes telle qu'illustré à la Figure 10, AUC_{0-T} est calculée en utilisant l'Équation 1 pour les concentrations consécutives croissantes ou égales et l'Équation 2 pour les concentrations consécutives décroissantes [24].

Équation 1

$$AUC_{0-T} = \sum_{i=1}^1 \frac{1}{2} (T_{i+1} - T_i) (C_{i+1} + C_i)$$

Équation 2

$$AUC_{0-T} = \sum_{i=1} \frac{(T_{i+1} - T_i) (C_i - C_{i+1})}{\log(C_i/C_{i+1})}$$

Plusieurs versions de la méthode des trapèzes existent [24]. Toutefois, celle décrite par la combinaison des équations 1 et 2, connue sous le nom de méthode linéaire ascendante log descendante (« lin-up log-down »), décrit à la fois la pente d'absorption (Équation 1) et d'élimination (Équation 2) d'une molécule. Ainsi, cette version hybride diminue nettement les potentiels de surestimation et de sous-estimation des concentrations.

L' $AUC_{0-\infty}$ représente quant à elle l'exposition totale du médicament, puisqu'elle prend en compte à la fois l'exposition partielle observée (AUC_{0-T}) ainsi que l'aire sous la courbe extrapolée jusqu'au temps infini à partir de la dernière concentration mesurée (C_{last}) et de la constante d'élimination (k_{el}) en utilisant l'Équation 3 [23, 24].

Équation 3

$$AUC_{0-\infty} = AUC_{0-T} + \frac{C_{last}}{k_{el}}$$

Ainsi, lors d'une étude de bioéquivalence, les médicaments Test et Référence sont administrés. Pour comparer les profils de concentrations du principe actif, les paramètres pharmacocinétiques C_{max} , AUC_{0-T} et $AUC_{0-\infty}$ de chaque sujet et pour chaque traitement (Test ou Référence) sont déterminés. Ce type d'analyse descriptive est appelé « analyse non-compartmentale » (NCA).

On remarque que les paramètres d'élimination tels que le temps de demi-vie ($t_{1/2}$) et la constante d'élimination (k_{el}) ne font pas partie des paramètres évalués lors d'une étude de bioéquivalence (bien que les valeurs observées soient toutefois rapportées dans le rapport d'étude). En effet, le profil d'élimination d'un médicament est considéré comme étant identique chez les formulations à l'essai, puisqu'il dépend principalement de la nature spécifique de l'ingrédient actif du traitement [21]. C'est pourquoi les études de bioéquivalence sont centrées spécifiquement sur

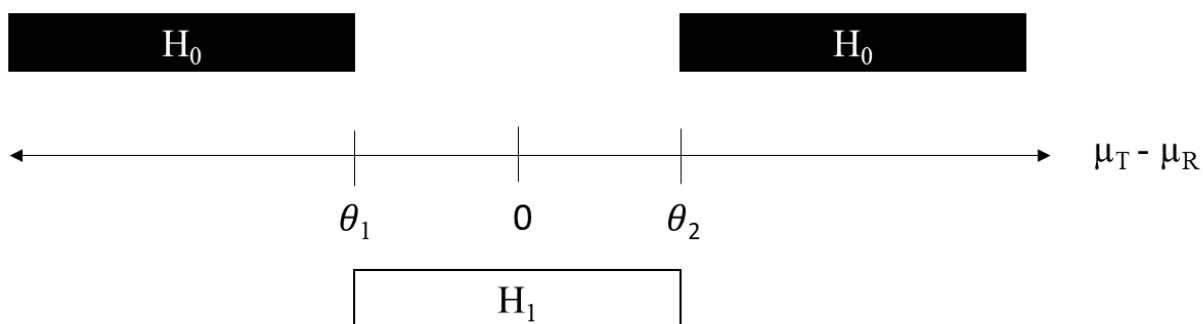
les paramètres pharmacocinétiques reflétant l'absorption, qui quant à elle peut être influencée par plusieurs facteurs tels la formulation, la dose et la voie d'administration.

STATISTIQUE

Les paramètres pharmacocinétiques C_{\max} et AUCs sont donc utilisés pour comparer la formulation Test à la formulation Référence. Pour ce faire, un test d'hypothèse est appliqué. Deux hypothèses complémentaires y sont définies: H_0 (l'hypothèse nulle) et H_1 (l'hypothèse alternative). Ce test statistique tente de déterminer la probabilité (p) que H_0 soit vraie et la probabilité ($1-p$) que H_1 soit vraie. Dans un contexte de bioéquivalence, H_0 réfère à la non-bioéquivalence tandis que H_1 correspond à la bioéquivalence entre les deux produits à l'étude [22]. Auparavant, ces hypothèses étaient inversées (H_0 : bioéquivalence; H_1 : non-bioéquivalence) [25]. Toutefois, cette méthode présentait plusieurs incohérences, notamment le fait que plus les données étaient variables, plus la probabilité de déclarer deux produits bioéquivalents était élevée. Ce problème représentait donc un risque considérable pour les consommateurs du médicament générique, puisque la probabilité que l'étude de bioéquivalence réussisse alors que les deux produits à l'essai ne sont pas bioéquivalents (l'erreur de Type II) était élevée. L'inversion des hypothèses constitue alors l'approche logique d'évaluation de la bioéquivalence, car la probabilité de déclarer deux produits bioéquivalents (rejeter H_0 : non-bioéquivalence) s'améliore à mesure que la puissance statistique augmente [25].

La compagnie pharmaceutique ayant développé le médicament générique cherche donc à pouvoir refuser H_0 (verdict de non-bioéquivalence) en démontrant que sa formulation Test ne diffère pas du produit novateur par une marge prédéterminée (Figure 11).

Figure 11. Test d'hypothèses



Plus spécifiquement (Équation 4), la moyenne géométrique du paramètre pharmacocinétique (par exemple le C_{\max}) chez les sujets ayant pris le Test (μ_T) versus la moyenne chez les sujets ayant reçu la Référence (μ_R) ne doit pas différer par plus que l'intervalle préétabli par les agences réglementaires (θ_1, θ_2) pour que H_0 soit rejetée et qu'ainsi les deux produits soient jugés bioéquivalents [22].

Équation 4

$$H_0: \mu_T - \mu_R \leq \theta_1 \text{ ou } \mu_R - \mu_T \geq \theta_2$$

$$H_1: \theta_1 \leq \mu_T - \mu_R \leq \theta_2$$

Cette comparaison statistique de la bioéquivalence repose donc sur 3 éléments [21, 26]:

1. Un critère ($\mu_T - \mu_R$)
2. Un intervalle de confiance pour ce critère
3. Une limite de bioéquivalence prédéterminée (θ_1, θ_2)

Le critère μ représente la moyenne géométrique des valeurs de paramètres pharmacocinétiques (C_{\max} et AUCs) sous sa forme logarithmique. Ainsi, μ_T correspond donc à la moyenne pour le Test et μ_R pour la Référence. Ces moyennes (μ) et limites (θ) sont présentées en logarithme parce que plusieurs caractéristiques liées aux concentrations (tels le C_{\max} et les AUCs) suivent une distribution log-normale [21, 22, 26]. En pratique, le terme $\mu_T - \mu_R$ de l'Équation 4 est plutôt utilisé sous forme de ratio (μ_T / μ_R) et de son intervalle de confiance à 90% (IC₉₀) correspondant [22].

Pour calculer l'intervalle de confiance du ratio, l'erreur quadratique moyenne (MSE) doit d'abord être déterminée à partir d'un modèle statistique linéaire, qui est utilisé pour expliquer la variabilité observée sur les paramètres pharmacocinétiques à l'étude (Équation 5). Ce modèle évalue donc l'effet du traitement (T_j), de la période ($P_{(j, k)}$), du sujet sur la séquence d'administration (S_{ik}) ainsi que la variabilité résiduelle inexpliquée (e_{ijk}) sur la réponse pharmacocinétique (Y_{ijk}) du sujet i dans la séquence k pour la formulation j .

Équation 5

$$Y_{ijk}: \mu + T_j + P_{(j,k)} + S_{ik} + e_{ijk}$$

L'IC₉₀ peut ensuite être déterminé pour le ratio μ_T/μ_R en utilisant la statistique du test de Student t et le nombre de sujets inclus N (Équation 6).

Équation 6

$$IC_{90}: \exp(\mu_T - \mu_R) \pm t_{0,05, N-2} \sqrt{MSE \frac{2}{N}}$$

Pour qu'un produit générique soit jugé bioéquivalent au produit novateur, l'IC₉₀ doit donc être contenu à l'intérieur de limites prédéfinies (θ). Cette marge est établie par les agences réglementaires, qui ont conclu qu'un produit générique ne devrait pas différer de plus de 20% du produit Référence ($\mu_T/\mu_R=80/100=80\%$ et $\mu_T/\mu_R=100/80=125\%$) [21, 22, 26]. Conséquemment, l'IC₉₀ doit être compris entre 80.00% et 125.00% pour réussir le test de bioéquivalence (Équation 7). Autrement dit, un produit est déterminé bioéquivalent lorsqu'il est démontré avec une probabilité supérieure à 90% que son ratio μ_T/μ_R est compris à l'intérieur de l'intervalle de 80.00% à 125.00%.

Équation 7

$$H_0: \mu_T - \mu_R \leq 80.00\% \text{ ou } \mu_R - \mu_T \geq 125.00\%$$

$$H_1: 80.00\% \leq \mu_T - \mu_R \leq 125.00\%$$

AGENCES RÉGLEMENTAIRES

Évidemment, chaque pays possède sa propre agence réglementaire avec sa réglementation distincte. Bien que la majorité des agences s'entendent sur les fondements de l'évaluation de la bioéquivalence, elles possèdent certaines particularités selon le profil de libération du principe actif (immédiate, modifiée, prolongée), sa variabilité et son index thérapeutique. Pour les molécules comme le dabigatran possédant un profil à libération immédiate, les conditions d'approbations sont plutôt similaires mondialement (Tableau 3).

Tableau 3. Comparaison des critères de bioéquivalence pour les formulations immédiates à travers le monde

Pays	Agence réglementaire	Critères de bioéquivalence	
		C_{max}	AUCs
Canada	Therapeutic Products Directorate (TPD)	Ratio entre 80.00-125.00%	IC ₉₀ entre 80.00-125.00%
États-Unis	Food and Drug Administration (FDA)	IC ₉₀ entre 80.00-125.00%	IC ₉₀ entre 80.00-125.00%
Europe	European Medicines Agency (EMA)	IC ₉₀ entre 80.00-125.00%	IC ₉₀ entre 80.00-125.00%
Brésil	Agencia Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA)	IC ₉₀ entre 80.00-125.00%	IC ₉₀ entre 80.00-125.00%

Lorsqu'une molécule est très variable (avec un coefficient de variation intra-sujet supérieur ou égal à 30%), les limites de bioéquivalence peuvent être élargies à l'extérieur des limites standards de 80.00-125.00% [21, 26-28]. Cette méthode permet de juger la bioéquivalence de ces produits de manière équitable, puisqu'un générique d'un médicament variable sera nécessairement variable lui-même. Encore une fois, les agences réglementaires ont chacune leur particularité envers cette approche, mais le principe fondamental utilisé repose sur la comparaison de la distribution Test/Référence à la distribution Référence/Référence [28]. Cette méthode est appelée « l'approche échelonnée par la Référence (Reference-Scaling) ».

Les agences réglementaires préconisent donc l'utilisation d'un devis d'étude clinique en répliqua (au moins deux périodes où la Référence est administrée), dans le but de calculer la variation spécifique du produit novateur (σ_{WR}^2) [26, 29]. Avec cette information supplémentaire, le critère de bioéquivalence peut maintenant prendre en compte la variabilité de la Référence (Équation 8) et ajuster ses limites (θ) de bioéquivalence (Équation 9) en conséquence.

Équation 8

$$\frac{(\mu_T - \mu_R)^2}{\sigma_{WR}^2} \leq \theta$$

Équation 9

$$\theta = \frac{\pm(\ln(1.25))^2}{\sigma_{W0}^2}$$

Une molécule hautement variable requiert un plus grand nombre de sujets pour prouver une bioéquivalence. Ainsi, ces études cliniques sont nettement plus dispendieuses, ainsi que plus risquées. En appliquant la méthode d'échelonnage par la Référence, et donc en utilisant le devis par répliqua pour obtenir la distribution Référence/Référence, il est possible de réduire significativement le nombre de sujets nécessaires pour réaliser l'étude de bioéquivalence. L'application de cette approche permet d'élargir les limites de bioéquivalences en démontrant que la molécule à l'étude est hautement variable.

PROBLÉMATIQUE DU DABIGATRAN

Le dabigatran est lui-même une molécule dont la variabilité intra-sujet pour les paramètres C_{\max} et AUCs est élevée, principalement à cause du taux de filtration glomérulaire variable [30]. Conséquemment, l'application de l'échelonnage par la Référence lors d'études de bioéquivalence de cette molécule serait primordiale pour une compagnie générique, dans l'optique d'augmenter ses probabilités de succès et de réduire ses dépenses. Cependant, les agences réglementaires interdisent l'utilisation de cette approche dans le cas du dabigatran en raison de son profil exposition-réponse observé. En effet, la réponse pharmacologique du dabigatran, tant thérapeutique que toxique, est grandement affectée par un changement mineur de ses concentrations plasmatiques. Ainsi, les autorités ne peuvent permettre d'élargir les limites de bioéquivalence, même si le dabigatran satisfait les critères de variabilité requis, puisque cela pourrait mener à une augmentation significative des cas de saignement hémorragique. Les médicaments génériques du dabigatran doivent donc passer par des études de bioéquivalence standards (sans pouvoir élargir les limites de 80.00%-125.00%), malgré sa variabilité élevée. Les compagnies génériques ainsi que les agences réglementaires demeurent à la recherche de nouvelles pistes de solutions pour répondre à ce problème.

MODÉLISATION PHARMACOCINÉTIQUE DE POPULATION

La modélisation pharmacocinétique de population offre l'occasion d'améliorer les approches courantes préconisées par les autorités réglementaires lors de l'évaluation de la bioéquivalence. Cette méthode est notamment reconnue pour sa capacité à identifier les devis d'étude clinique les plus efficaces pour un médicament. Elle fournit également de l'information supplémentaire pertinente sur la molécule à l'aide de covariables, permettant ainsi de mieux décrire son profil pharmacocinétique [31]. Mais surtout, la modélisation permettrait potentiellement de diminuer le nombre de prélèvements sanguins requis pour l'évaluation de la bioéquivalence entre deux formulations. Cette réduction serait un avantage, tant du point de vue éthique que financier. En effet, les sujets inclus dans l'étude seraient soumis à moins d'interventions cliniques et les échantillons retirés du calendrier d'échantillonnage n'auraient pas à être prélevés, préservés puis analysés, ce qui représenterait une économie de taille.

LE MODÈLE

Un modèle peut représenter un système physique (une maquette d'avion miniature) ou encore un concept plus abstrait (la distribution d'un médicament dans le sang). En pharmacométrie (la science de la pharmacologie clinique quantitative), le terme « modèle » est utilisé pour décrire une représentation mathématique d'un système pharmaceutique, où sont exposés la pharmacocinétique et/ou la pharmacodynamie d'un médicament ou encore un processus pathologique. Cette description simplifiée permet de mieux comprendre cet ensemble et d'en dériver de l'information pertinente [32]. Le profil pharmacologique d'un médicament est surtout illustré par des modèles conceptuels à l'aide d'équations mathématiques.

Le modèle peut également être descriptif ou prédictif [33]. Un modèle descriptif est utilisé pour bien caractériser des données existantes alors qu'un modèle prédictif peut prédire de nouvelles données, par interpolation ou extrapolation. Contrairement à l'analyse NCA qui rapporte directement le profil observé, la modélisation par équations différentielles est basée sur des suppositions faites sur la pharmacocinétique de la molécule. Conséquemment, pour une même molécule, plusieurs modèles différents peuvent exister sous des hypothèses distinctes. Pour choisir le modèle approprié, sa capacité à représenter fidèlement les données observées est un élément primordial évalué par des critères objectifs ayant obtenu le consensus de la communauté pharmacométrique.

MODÈLE PHARMACOCINÉTIQUE

La relation entre les concentrations sanguines d'un médicament et le temps écoulé suite à son administration permet de déduire plusieurs informations essentielles à son développement et son application clinique. Par exemple, la présence d'un retard de l'apparition de l'effet thérapeutique (T_{lag}) ou encore une élimination très rapide du principe actif sont des propriétés qui détermineront le mode d'administration du médicament. Ainsi, la visualisation et l'analyse de ce profil concentrations versus temps est essentiel lors du développement d'un médicament. De plus, ces courbes pharmacocinétiques sont comparées lors d'essais cliniques de bioéquivalence. De ce fait, la représentation de cette relation par un modèle, le modèle pharmacocinétique, fournit une méthode directe, en temps continu, pour analyser quantitativement l'absorption, la distribution, le métabolisme et l'élimination (ADME) du médicament.

En modélisation, la pharmacocinétique d'une molécule est habituellement décrite en termes de compartiments [25, 32]. L'approche compartimentale considère le corps comme étant composé d'un nombre de compartiments dits d'équilibre, chacun représentant des régions non spécifiques du corps où la distribution du composé est rapide et uniforme et le taux de disparition du principe actif est constant [25]. Ces compartiments sont des entités théoriques permettant de formuler des équations mathématiques représentant le comportement d'un produit chimique dans le temps en termes de mouvements, à l'intérieur et entre les compartiments. Un compartiment peut ainsi illustrer un espace physiologique réel, tel le sang, ou être totalement abstrait.

Le profil de concentrations logarithmiques versus temps est utilisé pour déduire la présence ou non de multiples compartiments. La présentation des concentrations sous forme logarithmique sert à visualiser l'élimination de la molécule en tant que droite (Figure 12). Lorsque plus d'une pente décroissante est observée (Figure 13), cela indique que le médicament ne se distribue pas de manière instantanée à travers tous les organes et tissus du corps. Dès lors, plus d'un compartiment sont nécessaire pour bien caractériser son profil pharmacocinétique.

Figure 12. Profil pharmacocinétique normal et semi-logarithmique d'un médicament oral

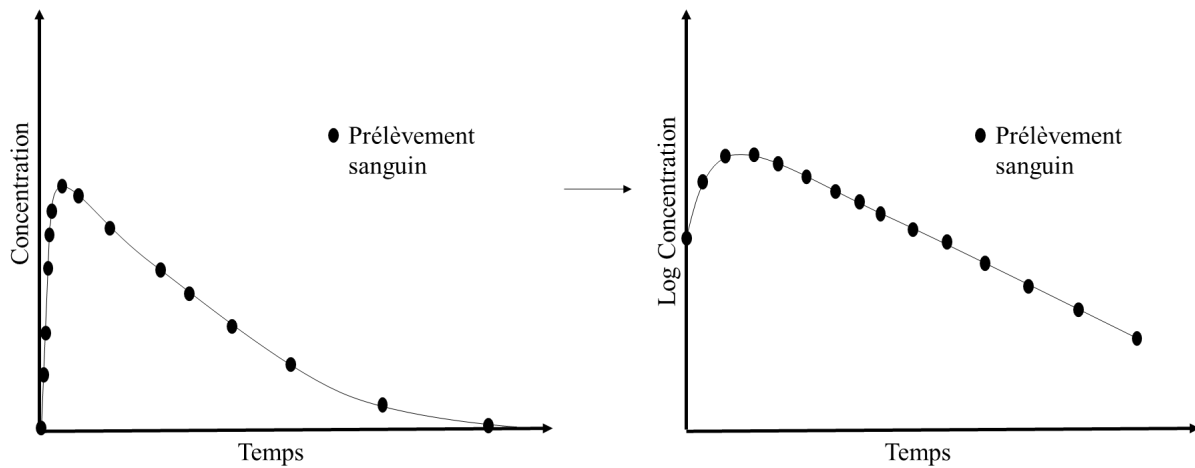
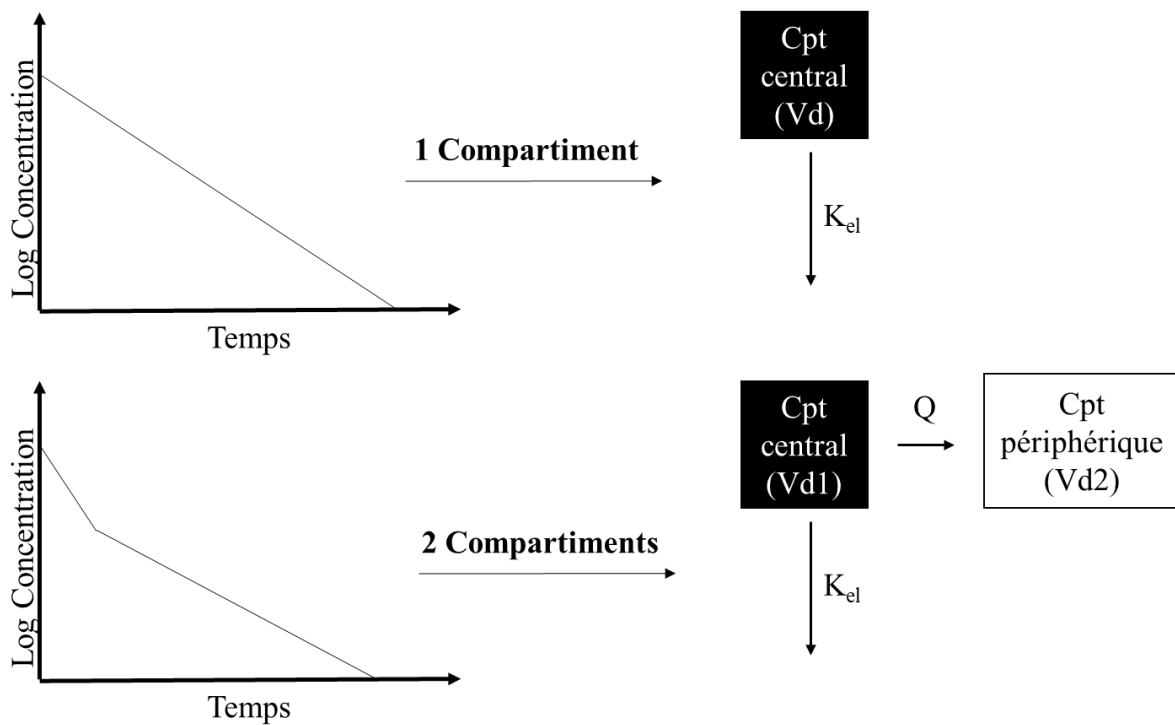


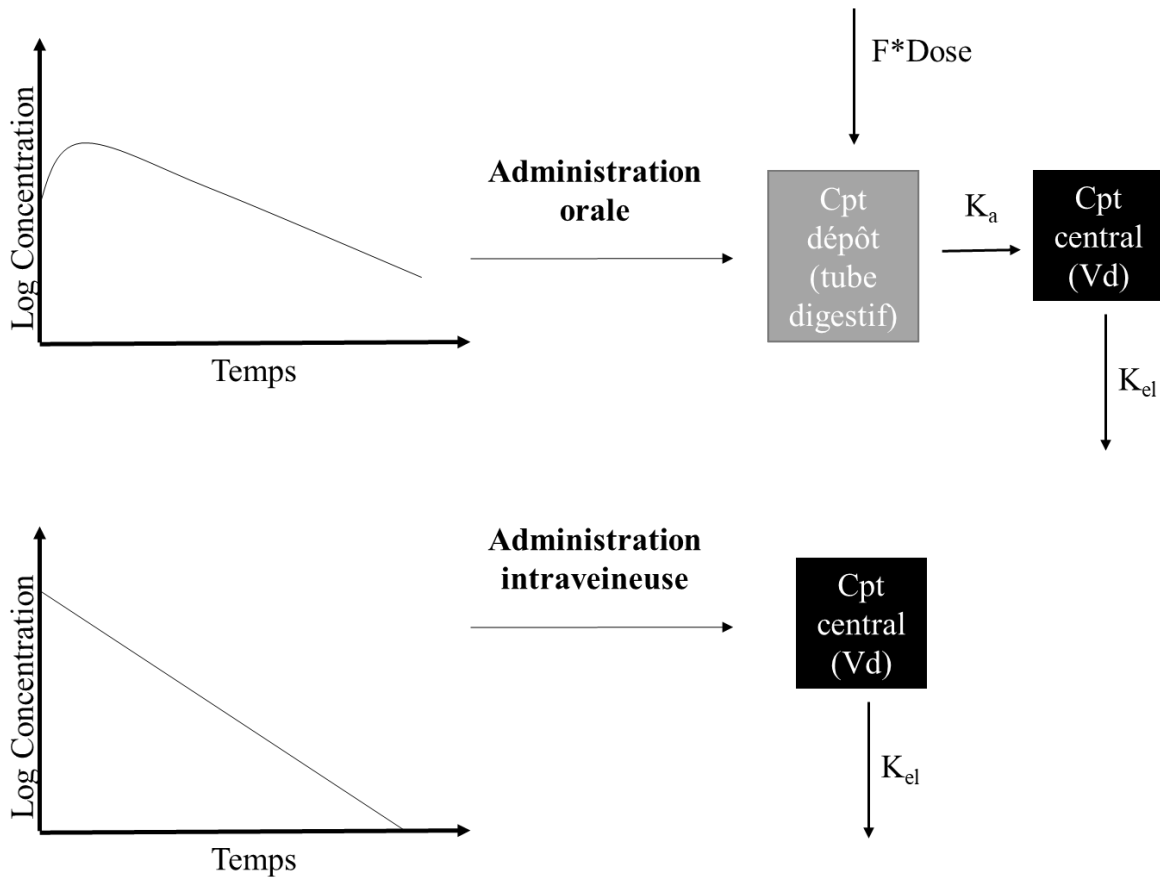
Figure 13. Comparaison de l'élimination d'une molécule à administration intraveineuse à un compartiment versus deux compartiments



Cpt : Compartiment; k_a : Constante d'absorption; k_{el} : Constante d'élimination; Q : Clairance inter-compartimentale; V_d : Volume de distribution, V_{d1} : Volume de distribution du compartiment central; V_{d2} : Volume de distribution du compartiment périphérique

D'autre part, le type d'administration du médicament doit être pris en compte en modélisation. Par exemple, le modèle d'un produit oral requière un compartiment supplémentaire au modèle pharmacocinétique d'un produit intraveineux, le compartiment de dépôt, pour considérer l'absorption du médicament dans le tube digestif avant d'atteindre la circulation systémique (Figure 14).

Figure 14. Comparaison de la structure du modèle selon la voie d'administration



Cpt : Compartiment; F : Biodisponibilité; k_a : Constante d'absorption; k_{el} : Constante d'élimination; Vd : Volume de distribution

En vérifiant le profil concentration versus temps du dabigatran, il sera possible d'identifier les possibilités structurales de son modèle pharmacocinétique. Puisque ce médicament est administré oralement, un compartiment dépôt est ainsi proposé dans le modèle.

MODÈLE PHARMACOCINÉTIQUE DE POPULATION

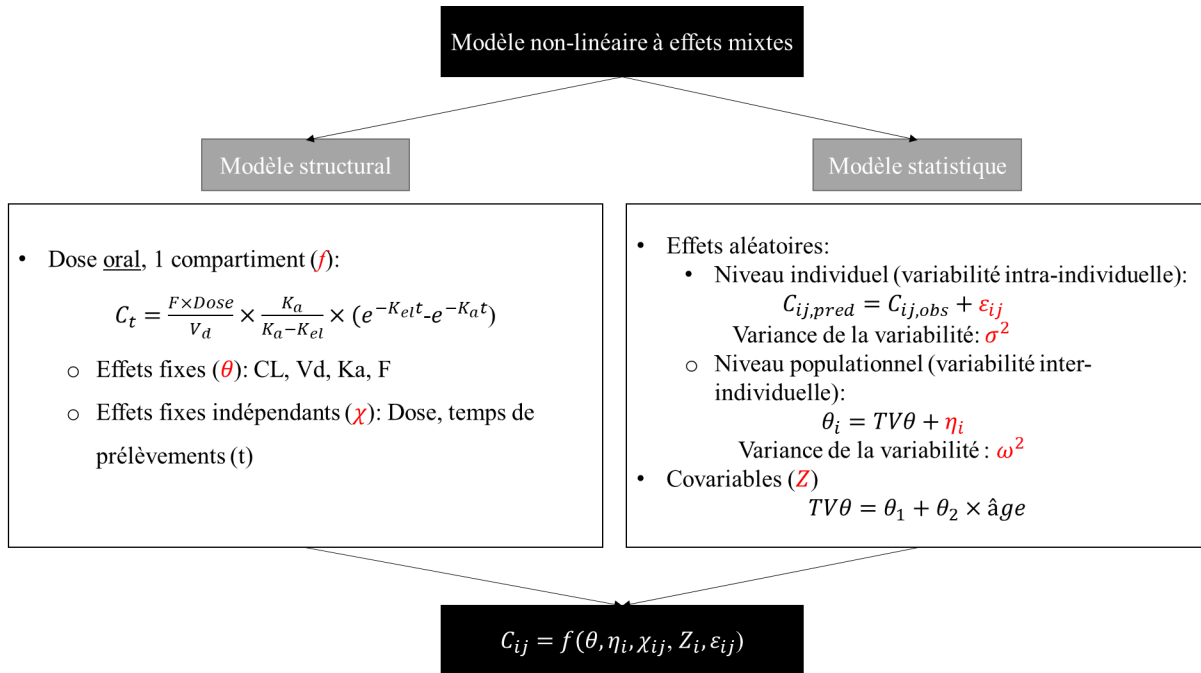
Un autre aspect particulièrement intéressant de la pharmacométrie et de l'utilisation de modèles est qu'ils permettent de comprendre et expliquer la variabilité associée au médicament. Toutes les formulations médicamenteuses présentent une variabilité en termes d'exposition et de réponse, tant entre les individus (variabilité inter-individuelle) que chez les individus eux-mêmes (variabilité intra-individuelle) [32]. Comme cette variabilité influence le profil pharmacocinétique du principe actif, et par association sa réponse thérapeutique, l'identification et la compréhension des différents facteurs pouvant l'expliquer sont primordiales lors du développement d'un médicament.

La modélisation pharmacocinétique de population peut servir à l'identification de ces facteurs. Au fil des années, différentes techniques de modélisation ont été développées, telles l'approche naïve groupée (« naive pooled approach ») et l'approche par deux étapes (« two-stage approach ») [32]. Cependant, la méthodologie couramment acceptée par les pharmacométriciens et soutenue par les agences réglementaires est le modèle non-linéaire à effets mixtes (NLME) [32, 33]. Cette approche ajoute une composante populationnelle au modèle pharmacocinétique traditionnel [33].

STRUCTURE DU MODÈLE NON-LINÉAIRE À EFFETS MIXTES

Le modèle NLME possède deux composantes : le modèle structural décrivant la courbe de réponse temporelle et le modèle statistique. Ce dernier décrit la variabilité expliquant la différence entre les données observées et cette courbe d'un individu typique. Le modèle statistique est également composé de deux niveaux, soit individuel et populationnel. L'influence des covariables sur le profil du médicament y est aussi évaluée [25, 32]. Le modèle NLME est donc un modèle pharmacocinétique compartimental (f), expliqué par des paramètres pharmacocinétiques (θ), de la variabilité inter- (η) et intra-individuelle (ε), des covariables significatives (Z) et des paramètres fixes indépendants tels la dose et les temps d'échantillonnage (X) (Figure 15) [25].

Figure 15. Composantes du modèle non-linéaire à effets mixtes



Ainsi, la première étape lors de la construction du modèle est de suggérer la cinétique du profil de concentration versus temps à décrire; il est habituellement représenté par un diagramme constitué de compartiments, caractérisés et liés entre eux par des variables ou paramètres pharmacocinétiques. Par exemple, un modèle d'un compartiment avec administration orale et absorption de premier ordre utilisera un paramètre (θ) pour la clairance (CL), le volume de distribution (Vd), la constante d'absorption (k_a) et la biodisponibilité (F). Ces paramètres pourront être estimés tant au niveau populationnel, alors appelés valeurs typiques ($TV\theta$), qu'au niveau individuel (θ_i).

Le modèle NLME décrit également la variabilité des paramètres pharmacocinétiques. Cette variabilité peut être inter-individuelle, intra-individuelle ou encore inexplicée. La variabilité inter-individuelle (Figure 16) représente la déviation du paramètre individuel (θ_i) du paramètre pharmacocinétique moyen (de la population [$TV\theta$]). De plus, cette divergence (η) peut être expliquée par certaines caractéristiques populationnelles appelées covariables (Z) tels l'âge, le sexe, le poids, l'ethnicité, la présence de maladies, et ainsi de suite [25, 33]. Quant à la variabilité résiduelle (ε), elle prend en compte la différence observée entre les données observées et celles prédites par le modèle structural (Figure 17).

Figure 16. Variabilité inter-individuelle

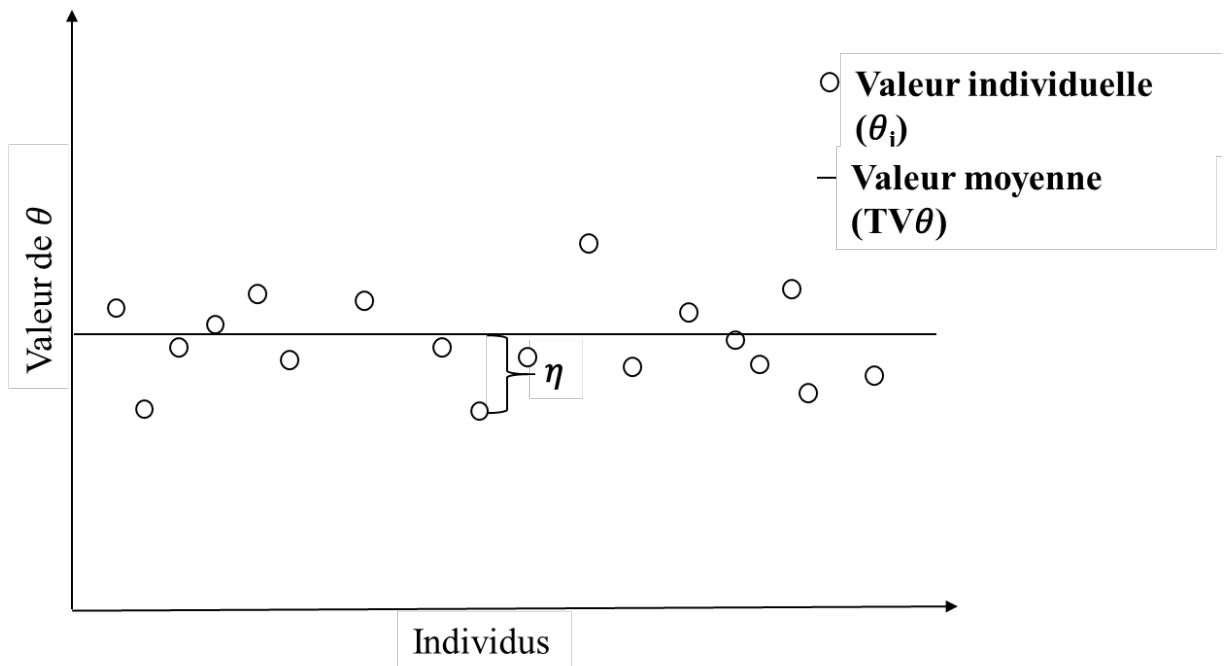
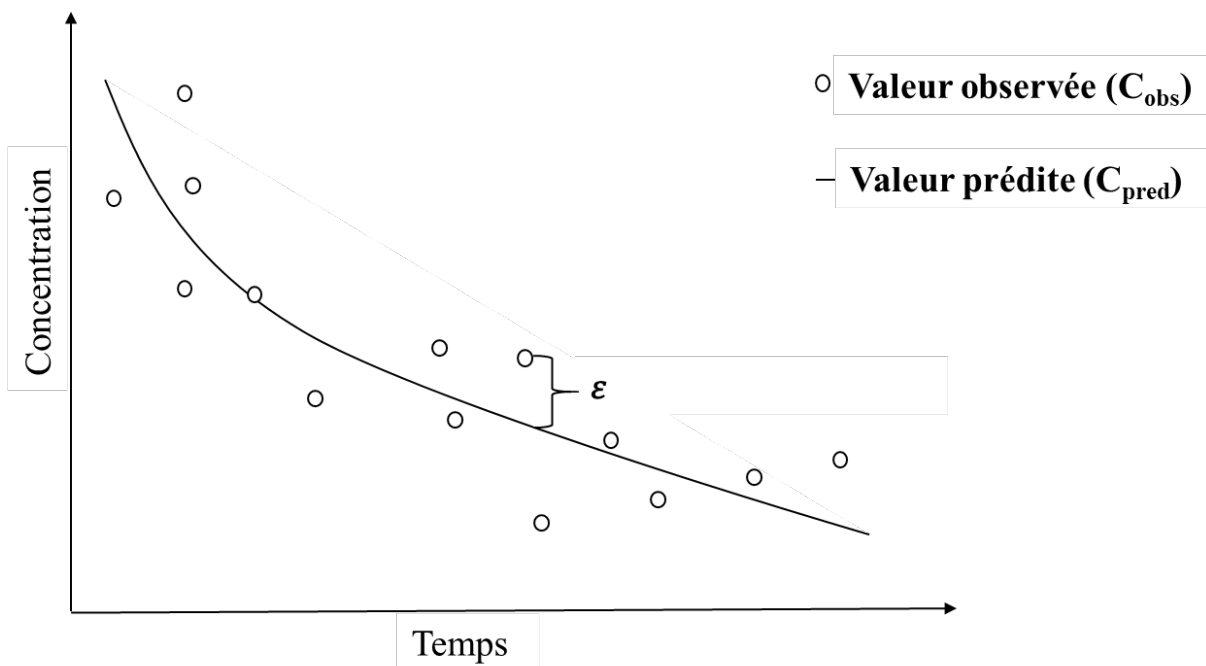


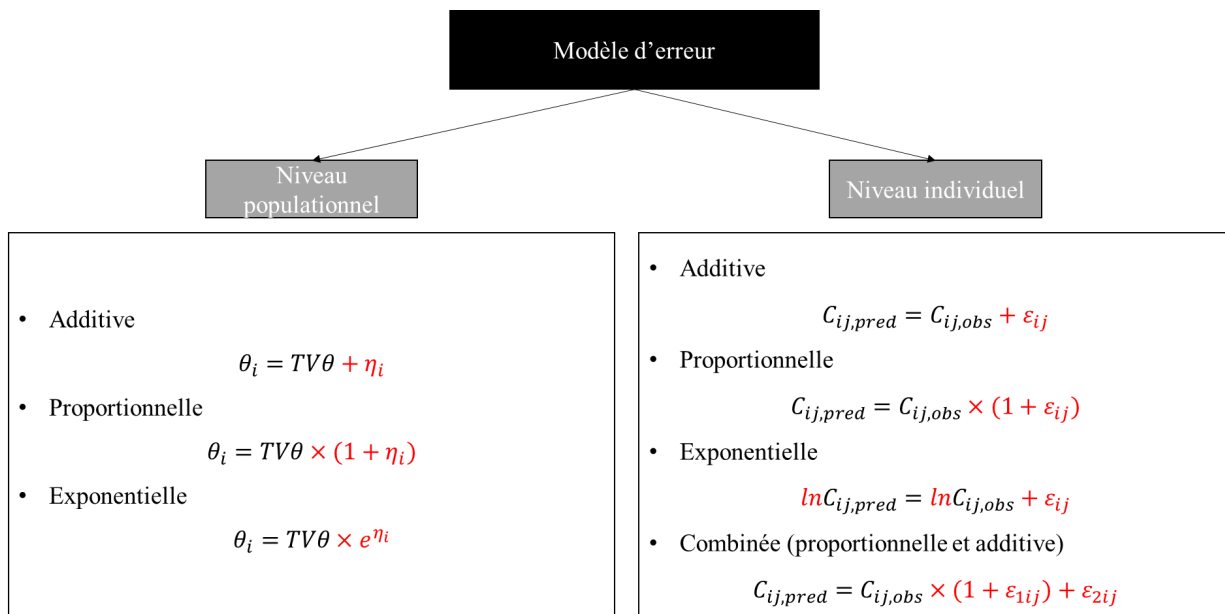
Figure 17. Variabilité résiduelle



Donc, une fois le modèle structural établi, la forme de ces variabilités, aussi appelée modèle d'erreur, doit être définie. En effet, il existe plusieurs façons de décrire ces modèles d'erreur

(Figure 18). Au niveau populationnel, les modèles additifs, par coefficients de variation constant (proportionnel) ou exponentiels sont employés [33]. Quant à ε , différents modèles sous forme additive, proportionnelle, exponentielle ou encore combinée sont utilisés.

Figure 18. Modèles d'erreur au niveau populationnel et individuel



Le choix du meilleur modèle d'erreur se fait en comparant différents graphiques diagnostiques, mais surtout en regardant la fonction objective. En effet, l'optimisation du modèle est principalement centrée sur le concept de minimisation de sa valeur de fonction objective (OFV). Celle-ci reflète à quel point les données prédites par le modèle NLME s'approchent de la réalité. Les OFVs obtenues avec chaque modèle testé sont donc comparées pour identifier les plus prometteurs [25, 32, 34].

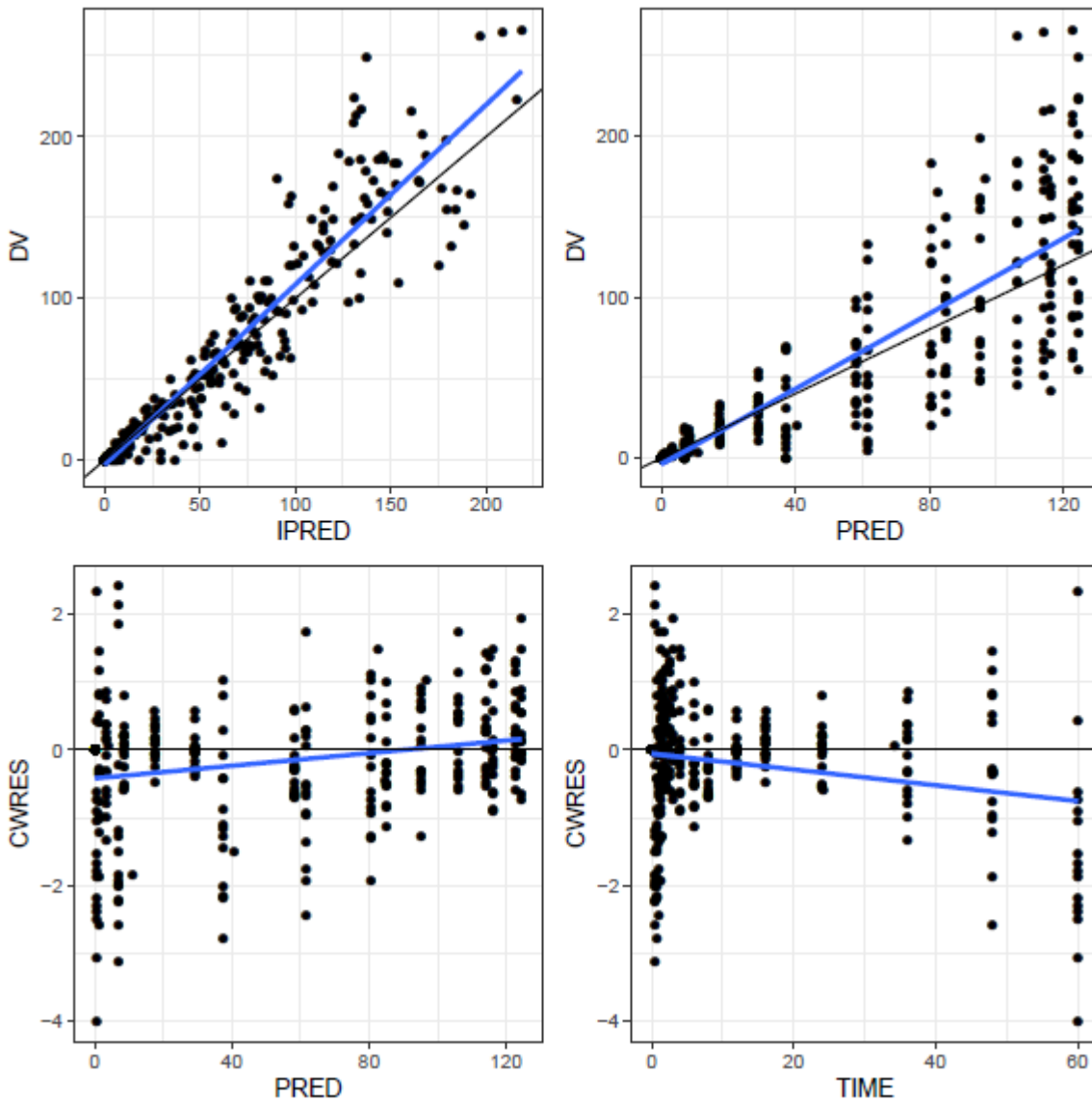
Un autre outil précieux lors de la sélection du meilleur modèle sont les graphiques diagnostiques. Ces graphiques, plutôt connus sous le nom de « goodness-of-fit plots », démontrent certaines lacunes du modèle actuel et permettent ainsi de corriger sa structure. Quatre graphiques sont couramment examinés (Figure 19):

- Concentrations populationnelles prédites (PRED) versus observées (DV)
- Concentrations individuelles prédites (IPRED) versus observées (DV)
- Erreurs résiduelles conditionnelles pondérées (CWRES) versus le temps après la dose (TIME)

d. Erreurs résiduelles conditionnelles pondérées (CWRES) versus les concentrations individuelles prédites (IPRED)

Chacun de ces graphiques évalue visuellement la capacité du modèle NLME à bien caractériser les données observées, en regardant la distribution des points versus la ligne d'identité [34].

Figure 19. Exemple de graphiques diagnostiques



DV : Concentrations populationnelles observées; CWRES : Erreurs résiduelles conditionnelles pondérées; IPRED : Concentrations individuelles prédites; PRED : Concentrations populationnelles prédites; TIME : Temps après la dose

VALIDATION DU MODÈLE

Une fois que les composantes structurales et statistiques du modèle NLME sont déterminées, celui-ci doit ensuite être validé. La validation, externe ou interne, détermine si le modèle arrive à représenter les données adéquatement. La validation externe utilise un ensemble de données séparées et distinctes dans lequel les prédictions du modèle sont comparées aux données observées afin d'évaluer sa performance [33]. En revanche, la validation interne utilise les données utilisées lors de la construction du modèle. Les deux techniques de validation interne fréquemment employées sont l'analyse bootstrap et l'inspection visuelle prédictive (VPC).

Le bootstrap consiste à ajuster le modèle à plusieurs jeux de données simulés [33, 34]. Ces jeux de données sont en fait formés de sujets ré-échantillonnés à partir de l'ensemble d'origine. Une fois le modèle ajusté à chaque ensemble simulé, les estimations des paramètres sont comptabilisées, puis comparées aux originales. Pour aider la comparaison, des intervalles de confiance en centiles sont construits. Pour que le modèle réussisse le test du bootstrap, cet intervalle doit comprendre la valeur originale de l'estimation de paramètre (Tableau 4).

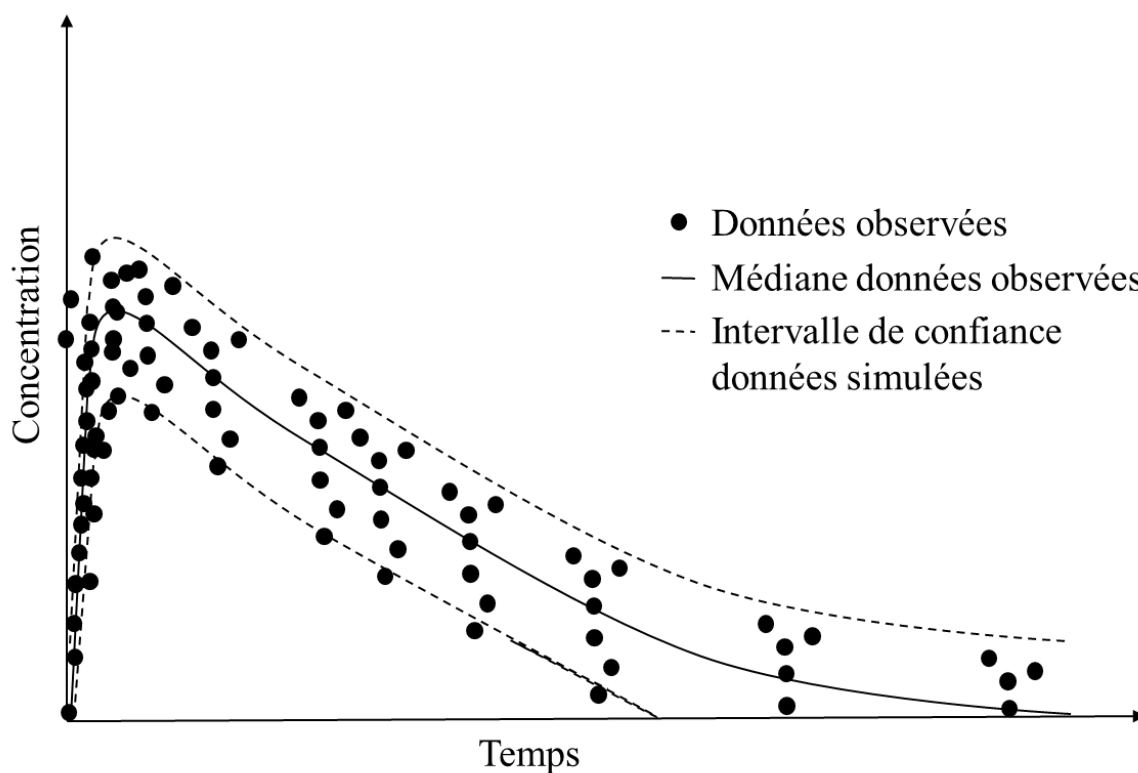
Tableau 4. Exemple de comparaison des résultats du bootstrap aux estimations finales des paramètres

Paramètre	Estimation du paramètre par le modèle final	Intervalle de confiance calculé à partir du bootstrap
CL	30.45	25.21-35.87
Vd	50.99	35.64-65.88
k_a	0.678	0.390-0.985
Variabilité inter- individuelle de la CL	0.166	0.00881-0.458
Variabilité résiduelle	0.0232	0.00964-0.0468

Le VPC emploie quant à lui une visualisation graphique des données pour valider le modèle. Son objectif est de démontrer que les données simulées par le modèle NLME final sont similaires, en termes de caractéristiques et de distribution, aux données observées [33]. Pour ce faire, le modèle final est utilisé pour simuler de nouveaux ensembles de données. Ensuite, des intervalles de prédiction sont construits à partir des profils temporels de concentration simulés, puis

comparés aux données observées. Le VPC permet donc d'observer visuellement que les données simulées sont cohérentes avec les données observées. Un autre avantage du VPC en tant que technique de validation est que les courbes concentrations versus temps (simulées et observées) peuvent être stratifiées par covariables pertinentes, doses administrées ou voies d'administration pour démontrer les performances du modèle dans ces sous-ensembles de populations [34]. Tout comme la validation par bootstrap, le modèle final présente un VPC réussi si les données observées sont contenues à l'intérieur des intervalles de prédiction (Figure 20).

Figure 20. Exemple d'une inspection visuelle prédictive



Les applications de modèles pharmacocinétiques de population sont multiples. Ils sont notamment appliqués à la conception de schémas posologiques initiaux pour de nouveaux patients individuels ou groupes de patients en fonction de leurs caractéristiques cliniques. Ils peuvent aussi servir à améliorer la précision des prédictions chez un patient dont le nombre d'échantillons de plasma pouvant être recueillis est limité [25]. En fait, ce type de modèle fut développé principalement pour répondre à cette problématique d'échantillonnage limité (« sparse sampling ») [33].

ÉCHANTILLONNAGE LIMITÉ

Les techniques de pharmacocinétique traditionnelles telles que la NCA, requièrent un scénario d'échantillonnage riche, c'est-à-dire avec plusieurs prélèvements sanguins, pour être en mesure de bien caractériser le profil concentrations versus temps d'un médicament. Cependant, il est impossible, et souvent non éthique, de prélever autant d'échantillons selon certaines circonstances. En effet, les populations gériatriques, néonatales, pédiatriques et sévèrement malades sont des exemples flagrants d'individus dont la collection de multiples échantillons sanguins est particulièrement ardue. Toutefois, ces populations requièrent également des ajustements posologiques majeurs, et donc elles peuvent particulièrement bénéficier de l'application de modèles pharmacocinétiques de population.

Le modèle NLME offre la possibilité de résoudre ce problème d'échantillonnage limité, grâce à sa capacité à combiner les profils individuels pour créer un modèle robuste [33]. Conséquemment, il ne nécessite pas de scénarios d'échantillonnage riche pour être en mesure de prédire les profils pharmacocinétiques. Cet avantage a par le fait même ouvert la voie à de nouvelles approches d'études cliniques, en utilisant le modèle pharmacocinétique de population pour diminuer le nombre d'échantillons requis à des fins pratiques et économiques.

MODÉLISATION DANS LES ÉTUDES DE BIOÉQUIVALENCE

Dans le cas du dabigatran, les études de bioéquivalence requièrent un scénario d'échantillonnage riche, puisque la méthode NCA est appliquée pour déterminer le profil pharmacocinétique individuel, tel que recommandé par les agences réglementaires. Toutefois, ces études cliniques demandent un grand nombre de sujets dans le cas du dabigatran, et par conséquent un nombre d'échantillons nettement élevé. L'application de la modélisation pharmacocinétique de population aiderait à diminuer ce nombre d'échantillons, et par le fait même sauverait des coûts et du temps aux compagnies pharmaceutiques génériques.

D'ailleurs, l'intégration de la modélisation pharmacocinétique de population en bioéquivalence suscite l'intérêt de multiples groupes de recherche. En effet, les compagnies pharmaceutiques, le milieu académique et les agences réglementaires sont tous conscients du potentiel énorme de cette approche pour l'industrie générique et travaillent activement vers sa mise en pratique. Notamment, de multiples efforts ont été faits dans le but de déterminer divers domaines où la

modélisation serait particulièrement utile, tel que les médicaments endogènes, les biosimilaires ou encore les populations dont le prélèvement d'échantillons est restreint [35].

CHAPITRE 2 : VISION DU PROJET

HYPOTHÈSE DE RECHERCHE

L'approche standard d'évaluation de la bioéquivalence préconisée par les agences réglementaires n'est pas adaptée à la problématique posée par le dabigatran. La variabilité intra-individuelle de cette molécule, ainsi que sa relation exposition-réponse abrupte observée, rendent ardue la tâche de démontrer une bioéquivalence entre deux formulations. Grâce à ses possibilités de simulation, la modélisation pharmacocinétique de population permettrait d'offrir aux compagnies génériques la possibilité d'épargner du temps et des coûts lors de ces études risquées, en identifiant tôt dans le développement les formulations de dabigatran prometteuses, tout en utilisant un nombre d'échantillons sanguins réduit lors des essais cliniques de bioéquivalence.

OBJECTIF

L'objectif de ce projet est donc d'évaluer l'utilisation de la modélisation pharmacocinétique de population dans un contexte de bioéquivalence. Plus spécifiquement, cette étude vise à déterminer si la modélisation est en mesure d'identifier les temps d'échantillonnages sanguins clés de la caractérisation du profil pharmacocinétique du dabigatran sans compromettre les conclusions de bioéquivalence. Ainsi, il serait possible de simuler différents scénarios d'échantillonnage, dans le but de réduire au maximum le nombre de prélèvements, tout en conservant les conclusions. Ces échantillons ciblés pourraient ainsi être suffisant pour prédire le profil pharmacocinétique de futures formulations.

JALONS SPÉCIFIQUES

1. Bâtir un modèle pharmacocinétique de population à partir de données cliniques sur le dabigatran.
2. Simuler les divers scénarios d'échantillonnage sanguins.
3. Comparer les résultats de bioéquivalence obtenus avec chaque scénario.

CHAPITRE 3 : ÉTUDE RÉTROSPECTIVE UTILISÉE

Pour construire le modèle pharmacocinétique de population du dabigatran et effectuer les tests statistiques de bioéquivalence, une étude réelle de bioéquivalence a été utilisée de façon rétrospective. Ces données confidentielles ont été fournies par Altasciences. Les détails de cette étude sont décrits ci-dessous.

DEVIS D'ÉTUDE

L'étude de bioéquivalence employée pour élaborer le modèle pharmacocinétique de population était une étude de biodisponibilité comparative à devis chassé-croisé, randomisée, double-insu, à centre unique, à dose unique et comprenant deux périodes et deux séquences. Au cours de chaque période d'étude, une dose unique de 150 mg de dabigatran a été administrée par voie orale avec environ 240 ml d'eau, le matin, après un jeûne de 10 heures. Les administrations de médicament ont été séparées d'au moins sept jours pour s'assurer qu'il n'y aurait pas d'effet de report (« carry over effect »).

Au cours de chaque période d'étude, 20 prises de sang ont été effectuées par ponction veineuse. Le premier prélèvement de sang a été effectué avant l'administration du médicament, et les autres ont ensuite été prélevés 0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.25, 1.5, 1.75, 2, 2.5, 3, 4, 6, 8, 12, 16, 24, 36, 48 et 60 heures après l'administration. Les sujets ont été confinés dans l'établissement clinique au moins 12 heures avant l'administration du médicament et jusqu'à 24 heures après l'administration. Les sujets sont retournés sur le site clinique pour les échantillons de sang à 36, 48 et 60 heures.

La sécurité des sujets a été évaluée par l'évaluation des événements indésirables et des tests de laboratoire. L'hématologie, la biochimie générale (y compris un test de grossesse qualitatif au sérum bêta-HCG chez les femmes) et les tests de coagulation ont été répétés après le prélèvement du dernier échantillon de sang de l'étude.

POPULATION

La population à l'étude était composée d'hommes et de femmes volontaires, fumeurs légers, non-fumeurs ou ex-fumeurs, âgés d'au moins 18 ans mais n'ayant pas plus de 55 ans et ayant un indice de masse corporelle (IMC) supérieur ou égal à 18.50 et inférieur à 30.00 kg/m².

Ils étaient en bonne santé selon les antécédents médicaux, un examen physique complet (y compris les signes vitaux) et des tests de laboratoire (biochimie générale, hématologie, coagulation, analyse d'urine), y compris des tests négatifs pour le virus de l'immunodéficience humaine (VIH), l'hépatite B et l'hépatite C, ainsi que des tests négatifs pour l'urine de dépistage d'alcool et de drogues d'abus. Un électrocardiogramme (ECG) a été réalisé et devait être sans anomalie cliniquement significative. Pour les femmes, un test qualitatif de grossesse sérique bêta de gonadotrophine chorionique humaine (HCG) devait être négatif.

ÉTHIQUE

Le protocole et le formulaire de consentement éclairé (ICF) ont été soumis à un comité d'examen institutionnel (IRB) avant le début de l'étude et l'étude n'a pas commencé avant l'approbation des documents par le comité. De plus, les directives établies par l'IRB ont été suivies en ce qui concerne le traitement des sujets humains dans l'étude. Ces directives répondaient aux exigences de la Déclaration d'Helsinki et elles répondent également aux exigences du code de réglementation fédéral américain (titre 21, partie 56), de la directive 2001/20 / CE (Europe) et de la déclaration de politique générale des trois Conseils (Canada).

MANIPULATION DES ÉCHANTILLONS ET MÉTHODOLOGIE

BIOANALYTIQUE

Les échantillons de sang ont été prélevés par ponction veineuse directe, puis conservés dans un bain d'eau glacée en attendant leur traitement. Tous les écarts de temps par rapport à la période d'échantillonnage planifiée de 2 minutes ou plus ont été signalés. Les échantillons de sang ont été centrifugés à 4 °C dès que possible après le prélèvement de sang. Le plasma obtenu a ensuite été transféré dans des tubes de culture en polypropylène. Tous les échantillons ont été congelés en position verticale et conservés à une température nominale de -80 °C jusqu'au moment du dosage. Les échantillons ont été envoyés sur de la neige carbonique jusqu'à l'analyse. Le temps écoulé entre le prélèvement de l'échantillon de sang et le stockage de la fraction aliquote plasmatique était à l'intérieur de 90 minutes.

Les concentrations plasmatiques de dabigatran non conjugué ont été mesurées selon des méthodes analytiques validées. L'intervalle analytique du dabigatran était d'environ 1 ng/mL à

300 ng/mL. Dans la mesure du possible, tous les échantillons de chaque sujet ont été analysés sur la même courbe standard. Les analystes n'ont pas eu accès au système de randomisation.

RÉSULTATS

Les résultats statistiques obtenus ont démontré que les coefficients de variation intra-sujet observés étaient de 35.0%, 30.5% et 30,6% pour le C_{\max} , l' AUC_{0-T} et l' $AUC_{0-\infty}$, respectivement. Le T_{\max} médian observé était de 2.5h (allant de 1.50h à 4.03h). De plus, les ratios géométriques moyens obtenus pour les valeurs C_{\max} , AUC_{0-T} et $AUC_{0-\infty}$ ainsi étaient respectivement de 84.36%, 87.47% et 87.83%. Les IC étaient de 68.25% à 104.28%, de 82.65% à 105.30% et de 82.36% à 106.60% pour le C_{\max} , l' AUC_{0-T} et l' $AUC_{0-\infty}$, respectivement.

CHAPITRE 4 : MODEL-BASED ELABORATION OF A LIMITED SAMPLING STRATEGY IN THE BIOEQUIVALENCE ASSESSMENT OF DABIGATRAN

L'article présenté est en préparation et n'a pas encore été soumis pour publication. Les tâches suivantes ont été effectuées par Cassandra Legault : rédaction de l'article, développement de la méthodologie et analyse des résultats, construction du modèle pharmacocinétique de population du dabigatran, simulation des multiples scénarios d'échantillonnages réduits, comparaison des résultats de bioéquivalence et rédaction de l'article dans son entièreté. L'article a été corrigé par Jun Li et Fahima Nekka.

Model-based Elaboration of a Limited Sampling Strategy in the Bioequivalence Assessment of Dabigatran

Cassandre Legault¹, Fahima Nekka^{1,2}, Jun Li^{1,2}

¹Faculté de Pharmacie, Université de Montréal, Montréal, Canada; ²Centre de Recherches Mathématiques, Université de Montréal, Montréal, Canada.

INTRODUCTION

Dabigatran is one of four drugs part of the new oral anticoagulant class (NOAC). This category of molecules represents an appealing alternative to warfarin by virtue of its specific and reversible mechanism of action. Moreover, their predictable pharmacological profile, as well as their minor food interactions and adverse events, lead to decreased therapeutic monitoring in contrast to warfarin¹.

The marketing of innovator NOACs undoubtedly put in motion the race between pharmaceutical companies to conceive generic formulations of this new class. Generic drugs' low costs allow patients a relatively easy access to innovative therapies, and represent close to 90% of current prescriptions in the United States and 70% in Canada². Hence, generics lighten patients' financial burden and thus increase their quality of life. For a pharmaceutical company, the interest in generic development lies within the monetary potential of being the first regulatory approved formulation to enter a highly competitive and lucrative market.

However, this endeavor is particularly arduous with NOACs, considering their high intra-individual variability as well as their steep exposure-response relationship¹. A high variability indicates that a large number of subjects will be required to conclude in favor of bioequivalence (BE) with a sufficient power, thus these studies are more expensive. Moreover, the abrupt exposition-response relationship prevents the use of widened BE limits suggested by regulatory agencies for highly variable drugs. As a result, the odds of failing the BE trial are increased for generics of dabigatran. These peculiarities render the task of demonstrating BE between the Test formulation (the generic not yet approved) and the Reference product (currently marketed drug) extremely difficult and overpriced for NOACs with the BE practices currently supported by regulatory agencies.

Population pharmacokinetic (pop-PK) modeling is a computational approach that can provide solutions to these concerns. Indeed, this is a quantitative approach known for its flexible requirement in plasma samples to characterize the variability in a drug's pharmacokinetic (PK) profile. Indeed, pop-PK does not present a strict requirement in terms of the number or timing of blood samples for each subject, in contrast to other approaches that usually need many observational concentrations data ("rich" sampling data) to characterize the PK of a molecule³. However, the same number and timing of samples must be employed for both formulations for clinical considerations. In order to preserve the integrity of the double-blind criterion expected in a BE trial, the subject administered with the Reference product must have the same sampling times as the Test formulation, otherwise it will be obvious which drug is given to a subject and thus create a bias. Moreover, a pop-PK model-based approach renders unnecessary the use of a replicate design, which are time-consuming and expensive in practice, to determine the inter-individual variability of the Reference formulation. Thus, applying a pop-PK model approach could be an efficient way to reduce significantly the costs of an NOAC BE trial.

In this study, we will investigate the potential of applying pop-PK modeling to improve the efficiency and cost in the BE evaluation of dabigatran. Based on the results, a model-based reduced sampling strategy will be proposed to assist in the BE assessment of this drug in future BE trials.

MATERIAL & METHODS

STUDY DESIGN

The retrospective data used to build the pop-PK model was from a single dose, 2-period, 2-sequence, crossover comparative bioavailability study. The aim of the trial was to determine the BE of a Test formulation to a Reference product of dabigatran. The study population was comprised of consenting healthy male and female volunteers.

POPULATION

In each study period, a single dose of dabigatran etexilate mesylate (150 mg, either Test or Reference) was orally administered to each subject under fasting conditions. Twenty blood draws were performed before drug administration (0 hour) and at 0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.25, 1.5, 1.75, 2, 2.5, 3, 4, 6, 8, 12, 16, 24, 36, 48 and 60 hours following administration.

DATASET DESCRIPTION

Sixteen subjects were included in the pop-PK dataset, corresponding to 640 plasma concentrations values. The characteristics of the study population are reported in Table 1.

Table 1: Summary of continuous demographic covariates

Continuous Variables				
Covariate	Mean	Standard Deviation	Median	Range
Age (years)	33.9	9.1	33.5	24-53
Weight (kg)	66.7	9.5	66.2	50.9-89.7
BMI (kg/m²)	24.1	2.5	24.1	19.3-27.8
Categorical Variables				
Covariate	N (%)			
Gender				
Male	8 (50)			
Female	8 (50)			
Race				
White	8 (50.0)			
Hispanic	5 (31.3)			
Black	1 (6.3)			
Asian	1 (6.3)			
Other	1 (6.3)			

POPULATION PHARMACOKINETIC MODELING

The pop-PK modeling was processed using the NONMEM software (NONMEM[®] 7.4, ICON Development Solutions). In the NONMEM dataset, only subjects who completed the study and had measurable concentrations of unconjugated (free) dabigatran were included. The items of the dataset consisted of patient ID, actual sampling times, concentrations, doses and potential influential demographic characteristics (age, sex, weight, race, etc.). Moreover, concentration values below the limit of quantification (BLQ) of 1.00 ng/mL were treated as zeros. Using the first-order conditional estimation method, a two-compartmental pop-PK model for oral free dabigatran intake was built following the standard model selection process. This selection was based on goodness-of-fit plots, precision of model parameter estimates, and the difference in the minimum values of the objective function as provided by NONMEM⁴.

Reference Base Model

To develop a generic formulation (Test), adequate PK information should be available on the already approved brand name product (Reference). This generally means a sufficient number of collected concentrations of active ingredient of the Reference product is accessible. Since rich information on PK is a prerequisite in routine BE trials, this requirement in the design of model-based BE assessment was kept. Under this assumption, the base of a pop-PK model was developed with the available rich data of the Reference product. As the second assumption, it is further assumed that this pop-PK base model was suitable for the Test formulations in terms of model structure such as the number of compartments, the mechanics of absorption and elimination processes. This inference is predicated on the fact that the Test formulations are of the same active ingredient as the Reference product, and are designed to be similar in terms of absorption and exposure to meet the requirements of BE assessment.

To build this base model for the Reference, a first-order rate of absorption was used to model the drug absorption since dabigatran was orally administered, and multiple compartment structures were tested. In its statistical part, the inter-individual variability (IIV) was modeled exponentially assuming a lognormal distribution, and a combined error model was used to account for the unexplained intra-individual and residual variability. Moreover, the presence of an absorption delay (T_{lag}) was evaluated.

Covariates

A visual analysis of potential covariates was performed. The selected covariates tested for significance were age, body mass index (BMI), sex and weight. The standard stepwise forward-inclusion and backward-exclusion were performed for the statistical significance of each covariate on the base model. Significant covariates were added to the pop-PK base model to form the final pop-PK model.

Validation

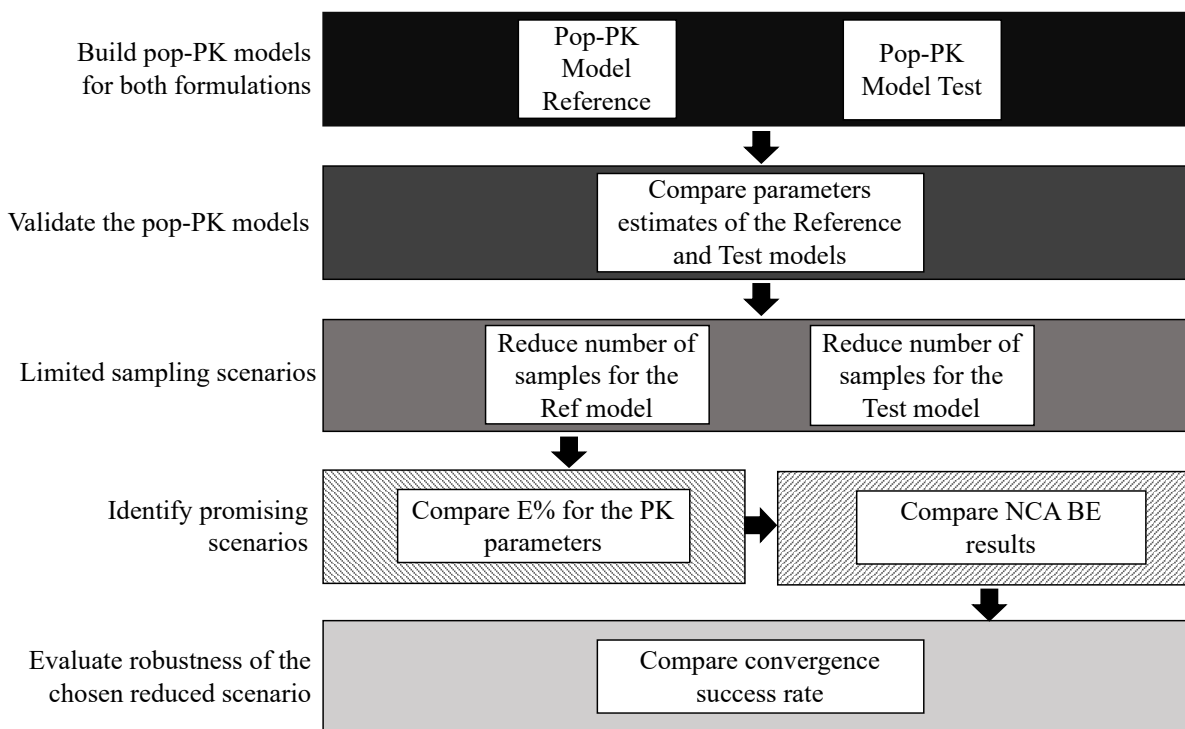
The final pop-PK model was validated through two internal methods. Firstly, a visual predictive check (VPC) was performed to compare the observed and simulated values equally with their summary statistics. Then, a bootstrap analysis was applied to verify the robustness of parameter estimations of the final model.

The validated final pop-PK model of the Reference product was used to fit the dataset of the Test formulation to obtain its own pop-PK model. As discussed above, there is less requirement for this dataset since the Reference and Test formulations should share the same pop-PK model structure, with limited differences in terms of their parameter estimates. By doing this, the cumbersome work in data collecting and model building procedure for the Reference product can be avoided such that a reduced sampling of blood concentration of the Test formulation could be possible.

BIOEQUIVALENCE VERDICT

The purpose of the current study was to investigate the potential of using a model-based approach to reduce the use of the number of blood samples of the Test and Reference formulations required in a standard BE trial (Figure 1).

Figure 1. Model-based limited sampling procedure to evaluate the BE of dabigatran applied in this project



To do so, various reduced sampling scenarios were chosen from the original sampling scheme. The corresponding pop-PK models for the Test formulation were obtained by refitting the final pop-PK model of the Reference product to these reduced datasets of Test formulation. The

simulated concentration data of scenario specific pop-PK models were tested using the standard BE testing procedure.

The determination of BE between a Test formulation and a Reference product is done through statistical tests, which compare their respective PK parameters of rate and extent of drug exposure such as C_{max} , AUC_{0-T} and $AUC_{0-\infty}$. These parameters are obtained by performing a non-compartmental analysis (NCA) on the drug concentration-time data of each subject. In this instance, the pop-PK models of the Reference and Test formulations were used to simulate PK profiles for sampling concentrations of multiple virtual subjects used in different sampling scenarios for the Test and Reference products.

The area under the curve was calculated using the trapezoidal rule. While AUC_{0-T} was directly estimated through the linear trapezoidal method, $AUC_{0-\infty}$ was calculated using the following formula: $AUC_{0-T} + \frac{T_{last}}{k_{el}}$, where T_{last} is the last observed quantifiable plasma concentration measured at the time T and k_{el} is the apparent elimination rate constant. In the latter case, k_{el} was estimated by maximizing the coefficient of determination of the log-linear regression model as a log-linear terminal phase was assumed.

For BE assessment, as recommended in the FDA Guidance on Statistical Approaches to Establishing Bioequivalence⁵, these estimated AUCs and C_{max} were first log-transformed, then their geometric least-squared means (LSmeans) were calculated. The 90% confidence interval (CI) for the exponential of the difference in LSmeans between the Test and Reference products (Test to Reference ratio of geometric LSmeans) were calculated for the log-transformed parameters of C_{max} , AUC_{0-T} and $AUC_{0-\infty}$, which were obtained from the NCA analysis.

BE was declared if all CIs of these ratios were within the standard BE range of 80.00% to 125.00%.

LIMITED SAMPLING SCENARIOS

The original sampling dataset available for the Test formulation included 20 sampling time points. From this sampling dataset, several sub-datasets with reduced sampling times were chosen to represent limited sampling scenarios. For all these sampling scenarios, several key time points were kept considering the importance of the expected C_{max} of dabigatran, its inter- and intra-subject variation around C_{max} and the elimination half-life. According to literature and

known data on the Reference formulation⁶, dabigatran is expected to attain C_{max} within 2 hours with close to 50% of variability, and eliminated with a half-life of 10 hours. Consequently, the time points at hours 1, 2, 3 and 8 were relevant to these properties and were kept in all chosen sampling scenarios to represent adequately the PK profile of dabigatran. Moreover, the predose time point (at 0 hour) was kept for clinical reason to reflect the actual BE testing environment. Thus, sub-datasets with 19, 15, 10, 8, 6, 5 and 4 of the original 20 samples were generated by removing time points from the full sampling dataset, while being mindful of the relevant timepoints mentioned above. In the evaluation plan, multiple combinations of different time points were considered.

For each of these sub-datasets, the fitting with the final pop-PK model for the Reference product was performed. The minimum number of samples required for an adequate modeling of the PK profile of Test dabigatran formulation was determined until the model could no longer converge (“minimization terminated” in NONMEM output). Using the pop-PK model obtained for each of these limited sampling scenarios, the PK profiles were simulated to produce a full synthetic sampling scenario for the Test formulation. Based upon these simulated data, C_{max} , AUC_{0-T} and $AUC_{0-\infty}$ parameters were derived using an NCA analysis. Then a standard BE test was subsequently performed between the Test and Reference formulations using these PK parameters. For each of these limited sampling scenarios, the BE results were thereafter compared to the BE conclusion obtained based on the original sampling datasets of the Test and Reference formulations. The scenario using the least number of samples while being able to maintain the BE conclusion was identified.

In fact, to investigate how close the reduced sampling scenario yielded NCA results to that obtained from the original sampling dataset, in terms of C_{max} , AUC_{0-T} and $AUC_{0-\infty}$ values, the absolute relative prediction error (E) as described below was used:

Equation 1

$$E\% = \left| \frac{P_{reduced\ sampling} - P_{full\ sampling}}{P_{complete\ sampling}} \right| \times 100$$

where P indicates the concerned NCA PK parameter.

Since the standard pop-PK modeling in NONMEM is based on algorithms of linear approximation, the convergence of a model for a given dataset is a crucial issue. This means,

given a dataset, there is no absolute guarantee from NONMEM that successful estimates of the parameters will be obtained. To measure the perspective of a successful modeling for a specific sampling scheme, its convergence success rate was also computed. Using the bootstrap tool provided by Pearl Speaks NONMEM (PsN)⁶, this success rate for a specific sampling scheme was estimated by fitting the reduced Reference model to multiple datasets, each consisting of subjects resampled from the original dataset, and then summarizing across the model fits. For each reduced scenario, 500 replicates were done, and the number of successful convergences was recorded. This metric was performed and compared across all the reduced sampling models.

Equation 2

$$\text{Convergence success rate}(\%) = \frac{\text{number of successful convergence runs}}{\text{total number of runs}} \times 100$$

RESULTS

DEVELOPMENT OF THE POPULATION PHARMACOKINETIC MODELS

Plasma concentrations for free dabigatran Reference data were best described by a two-compartment disposition model with first order absorption and a lag time. The base and final Reference model parameters estimates are shown in Appendix 1. The final parameters were estimated with good precision (relative standard error [RSE] $\leq 34.7\%$). The goodness of fit plots are presented in Appendix 2.

In the Reference final model, sex was the only covariate that influenced bioavailability (F) and explained part of its variability, albeit slightly. Consequently, validation was performed on both models including or excluding the effect of sex on F.

Using the bootstrap analysis, the Reference population parameters' estimates were within the obtained 95% CIs and close to the medians of the 500 bootstrap replicates, indicating unbiased and robust parameter estimates for both models (including and excluding the effect of sex on F). However, the VPC of the final Reference model excluding the sex effect showed that the simulated C_{\max} values did not sufficiently represent the observations (Appendix 3), while the model stratified by sex properly described the observed data (Appendix 4). Thus, the Reference chosen final model included the effect of sex on F.

VALIDATION OF THE REFERENCE AND TEST POPULATION
PHARMACOKINETIC MODELS

The validated final Reference model was used to fit the Test formulation data. The estimates of parameters were sensibly the same as shown in Table 2.

Table 2. Parameter estimates of the Reference and Test population pharmacokinetic models

Parameters	Description	Reference model (RSE)	Test model (RSE)
CL (L/h)	Clearance	183 (11.6%)	184 (14.9%)
V ₂ (L)	Volume of distribution, central compartment	677 (23.5%)	728 (37.5%)
K _a (h ⁻¹)	First-order absorption rate constant	0.445 (21.8%)	0.416 (24.8%)
V ₃ (L)	Volume of distribution, peripheral compartment	686 (16.2%)	751 (21%)
Q (L/h)	Inter-compartmental clearance	85.8 (14.5%)	91.8 (23.7%)
Tlag (h ⁻¹)	Absorption lag time	0.456 (1.6%)	0.455 (1.9%)
F	Relative bioavailability	1*	1*
SEX	Effect of sex on F	0.545 (34.7)	0.358 (56.4%)
IIV V ₂ (CV%)	IIV in the apparent volume of distribution of the central compartment	44.3 (7.5%)	54.0 (14.1%)
IIV F (CV%)	IIV in the relative bioavailability	30.6 (14.3%)	46.8 (20.7%)
PRV (%)	Proportional residual variability	0.444 (7.5%)	0.54 (14.1%)
ARV (%)	Additive residual variability	0.001*	0.001*

*Parameters fixed

CV: coefficient of variation; IIV: inter-individual variability

Using both the Test and Reference pop-PK models, NCA analyses were performed. Simulated ratio and corresponding 90% confidence intervals (CI) of PK parameters C_{max} , AUC_{0-T} and $AUC_{0-\infty}$ were obtained and compared to the standard NCA BE analysis originally performed.

Table 3. Comparison of Test/Reference bioequivalence ratios

BE Parameter	Standard NCA	Model Simulated
C_{max}	84.36	84.29
AUC_{0-T}	87.47	93.98
$AUC_{0-\infty}$	87.83	94.2

Table 4. Comparison of Test/Reference bioequivalence confidence intervals

BE Parameter	Standard NCA		Model Simulated	
90% CI Limit	<i>Lower</i>	<i>Upper</i>	<i>Lower</i>	<i>Upper</i>
C_{max}	68.25	104.28	72.23	98.36
AUC_{0-T}	82.65	105.30	82.92	106.51
$AUC_{0-\infty}$	82.36	106.60	83.11	106.78

The ratios of Test/Reference and their corresponding 90% CIs did not differ by more than 6.94%, as demonstrated in Table 3 and Table 4, and all BE conclusions were maintained (Appendix 5).

These results show that the Reference's pop-PK model was indeed suitable for the Test formulation in terms of model structure such as the number of compartments, the mechanics of absorption and elimination processes, as was assumed at the beginning of this endeavour.

ELABORATION OF THE LIMITED SAMPLING SCENARIOS

With this validated premise, reduced sampling scenarios chosen based on literature of dabigatran and clinical knowledge were investigated and are presented in Table 5.

Table 5. Limited sampling scenarios

Number of Samples	Time Points Preserved
20 (Original Sampling)	0, 0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.25, 1.5, 1.75, 2, 2.5, 3, 4, 6, 8, 12, 16, 24, 36, 48, 60
19	0, 0.5, 0.75, 1, 1.25, 1.5, 1.75, 2, 2.5, 3, 4, 6, 8, 12, 16, 24, 36, 48, 60
15	0, 0.5, 1, 1.25, 1.75, 2, 2.5, 3, 4, 8, 12, 16, 24, 36, 60
10	0, 1, 1.75, 2, 2.5, 3, 8, 16, 24, 36
8	0, 1, 1.75, 2, 3, 8, 16, 36
6	0, 1, 2, 3, 8, 36
5	0, 1, 2, 8, 36
4	0, 1, 3, 24

To evaluate the performance of each scenario, the NCA PK parameters used in BE assessments were calculated and compared to the original sampling using the absolute error (Equation 1).

The results show that although the prediction error of the C_{max} , AUC_{0-T} and $AUC_{0-\infty}$ values increased when the number of samples provided was decreased (Table 6), the BE conclusions were maintained across all parameters for every reduced sampling scenarios (Appendix 5).

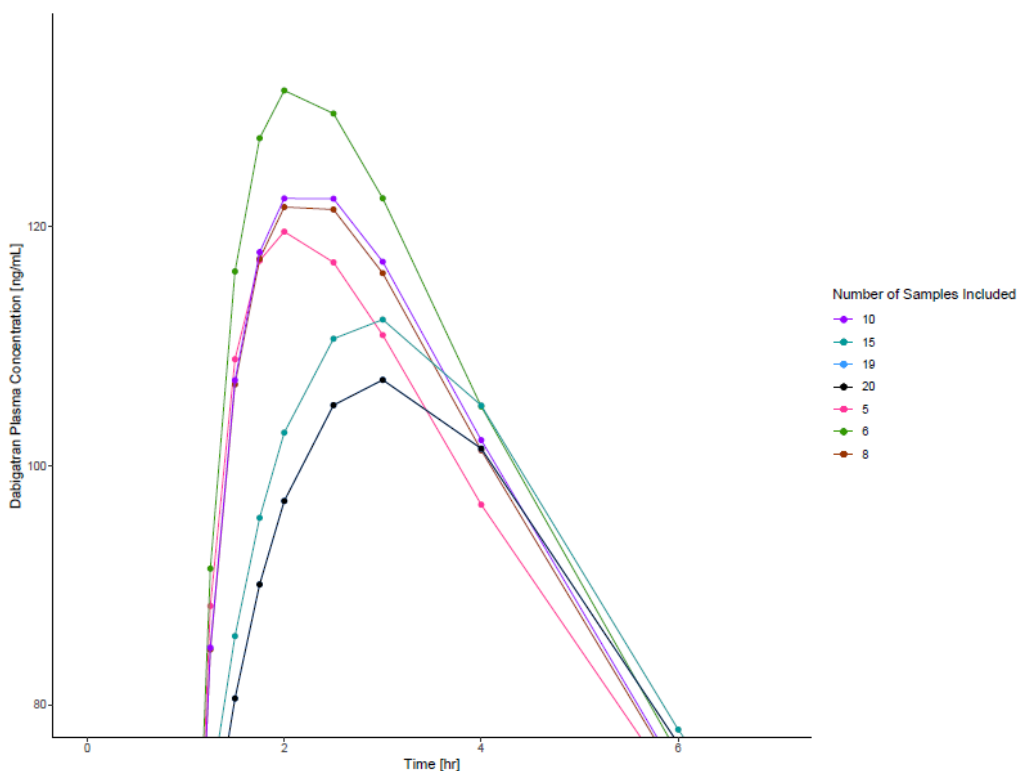
Table 6 : Comparison of bioequivalence results with complete sampling using the absolute relative prediction error

Number of Samples	PK Parameter	E Lower 90% CI Limit (%)	E Ratio Test/Reference (%)	E Upper 90% CI Limit (%)
19	C _{max}	0.03	0.02	0.02
	AUC _{0-T}	14.8	11.51	8.31
	AUC _{0-∞}	15.06	11.77	8.57
15	C _{max}	3.16	2.7	2.27
	AUC _{0-T}	17	13.83	10.77
	AUC _{0-∞}	17.57	14.4	11.34
10	C _{max}	13.29	6.3	1.26
	AUC _{0-T}	11.24	9.3	7.39
	AUC _{0-∞}	13.58	14.83	16.08
8	C _{max}	8.38	3.95	0.69
	AUC _{0-T}	11.92	10.07	8.25
	AUC _{0-∞}	13.07	12.84	12.61
6	C _{max}	5.37	4.54	3.73
	AUC _{0-T}	19.35	17.49	15.67
	AUC _{0-∞}	19.31	17.97	16.65
5	C _{max}	3.63	3.49	3.37
	AUC _{0-T}	19.48	16.88	14.35
	AUC _{0-∞}	19.63	17.7	15.8

The PK profiles of all scenarios were also simulated and compared to the profile of the original sampling dataset (20 samples) and they are presented in Appendix 6.

The highest variability between the complete sampling profile and the sparse sampling scenarios was situated around the C_{max} (Figure 2).

Figure 2. Pharmacokinetic profiles of the simulated sparse sampling scenarios (in colors) compared to the original sampling (in black), from time 0 to 6 hours



ROBUSTNESS COMPARISON OF THE REDUCED SAMPLING SCENARIOS

Both the Reference and Test final models were able to converge while reducing the number of samples provided, with the exception of the scenario with only four samples. This model displayed parameters estimates; however, the minimization was terminated (convergence rate of 0%, as displayed in Table 7). Thus, the sampling scenario with five samples was selected as a conservative approach.

Table 7. Sampling scenarios and their respective convergence success rates

Number of Samples	20 (Original Sampling)	19	15	10	8	6	5	4
Convergence Success Rate (%)	75	77	82	86	83	71	62	0

To identify the optimal combination of five samples, multiple scenarios were explored and compared with their absolute relative prediction errors, integrity of BE verdict and convergence success rates (Table 8).

Table 8. Comparison of five samples scenarios sub-datasets

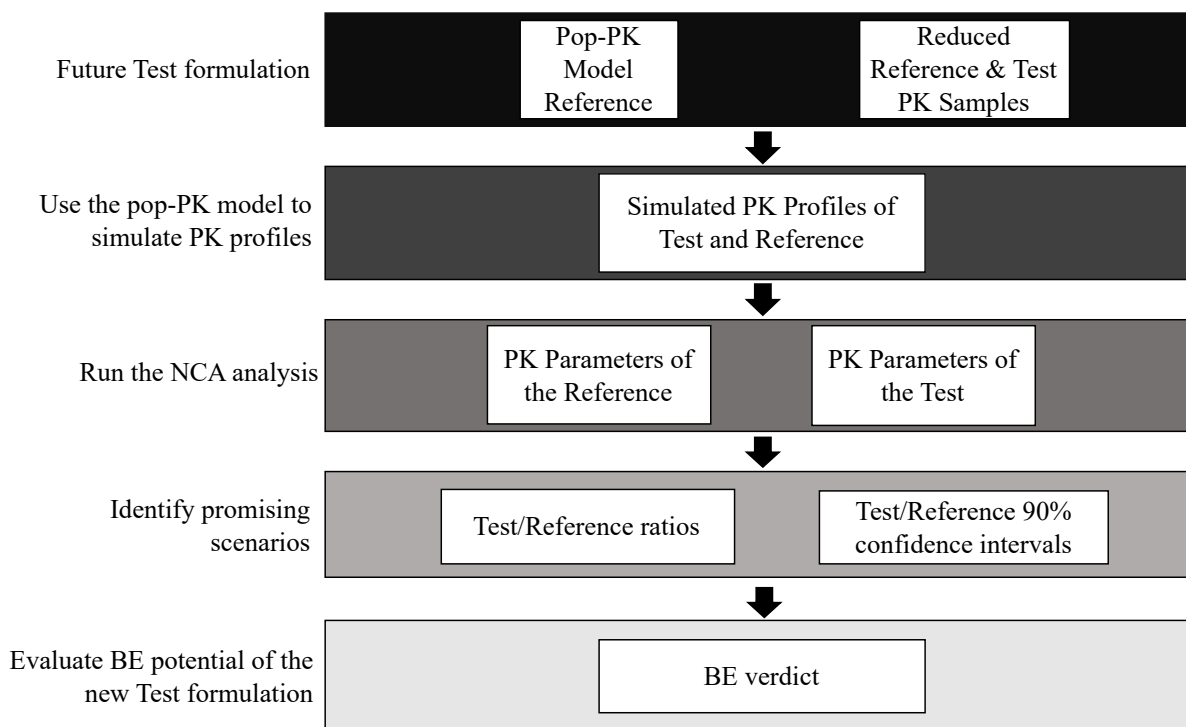
Time Points Preserved	C_{\max} ratio E (%)	AUC _{0-T} ratio E (%)	AUC _{0-∞} ratio E (%)	BE Verdict Preserved	Convergence Success Rate (%)
0, 0.5, 1, 3, 4	-	-	-	-	0
0, 0.5, 4, 6, 8	-	-	-	-	0
0, 1, 2, 12, 24	3.45	3.69	3.79	No	54
0, 1, 2, 3, 24	5.96	2.40	2.17	Yes	52
0, 1, 2, 3, 8	-	-	-	-	0
0, 1, 2, 8, 16	1.52	1.94	22.55	No	94
0, 1, 2, 8, 36	3.49	4.83	5.32	Yes	80
0, 1.5, 3, 12, 16	6.07	4.43	4.6	No	60
0, 2, 6, 10, 24	10.89	6.1	6.08	No	72
0, 2, 6, 8, 24	0.25	8.13	7.99	No	90

The scenarios without any time point within the elimination phase (after 20 hours) were not able to converge successfully or maintain the BE verdict. The sampling scenario with the highest convergence success rate still preserving the conclusions was the combination of the following time points: 0, 1, 2, 8, 36, which included two time points close to the expected C_{\max} (1 and 2 hours) as well as points in the first (8 hours) and the second elimination slope (36 hours).

PROPOSITION FOR FUTURE BIOEQUIVALENCE STUDIES

Based on the successful outcome of this project, a model-based approach to be applied by generic companies can be proposed for upcoming Test formulations of dabigatran. Following the procedure outlined in Figure 3, the BE potential of new Test formulations can be assessed with reduced costs and time.

Figure 3. Model-based limited sampling procedure to evaluate the BE of future Test formulation of dabigatran



As the results of this project identified the key sampling time points necessary to simulate dabigatran’s full profile adequately, a pharmaceutical company can explore multiple Test formulations simultaneously. A pilot BE study can be performed using the predetermined reduced sampling scenario strategy. The reduced sampling will drastically curtail the cost of the study by reducing the number of samples to be collected, stored and analysed. Furthermore, less samples implies a lower number of visits for the participant, thus further raising the benefits for both the subject and the generic industry.

Using the Reference pop-PK model, complete PK profiles can be simulated from the limited samples obtained with the pilot study. From these profiles, NCA analysis as well as BE testing can be performed for all Test formulations under study in order to pinpoint promising products early in the developmental stage of the generic. For instance, if all the above-mentioned metrics are inconclusive for a prospective Test product, it would indicate its formulation needs to be rethought, since its pharmacokinetic profile differs significantly from the Reference formulation.

Furthermore, this project demonstrated that the Reference data, and consequently its pop-PK model, could be suitable to be fitted to Test data accurately. Therefore, generic industries could replicate the methodology applied in this study to reduce the number of samples of other highly variable drugs, without having any prior Test formulation data.

DISCUSSION

As shown in the current study, the pop-PK modeling approach is a promising BE evaluation tool for developing new generic formulations of dabigatran whose BE clinical trials are often expensive and of low success rate in the pharmaceutical industry. By computationally choosing reduced sampling schemes that require the use of only a very small number of samples, a great advantage compared to standard evaluation method for BE trials, this approach consequently can help pinpoint promising Test formulations as early as possible in generic drug development.

In this study, our development of pop-PK models based on original blood sampling data of the Reference and Test drugs of a BE trial was successful. Sex was identified as a covariate having significant impact on the bioavailability (F) of dabigatran. Indeed, women achieved higher concentrations than men in this BE trial, which is consistent with other dabigatran studies⁷. Dabigatran is a substrate of the permeability glycoprotein (P-gp)⁷, an intestinal and hepatic efflux transporter known to reduce bioavailability. Multiple studies have investigated the gender differences in expression of this transporter, and women seem to have lower P-gp intestinal content⁹. The concentration disparity between genders could also be related to females' generally lower creatinine clearance¹⁰, since dabigatran is eliminated primarily through urine⁵. However, creatinine clearance is not customarily recorded for BE trials, unless the values are out of range, thus it could not be included and tested for significance in this project. To take advantage of the pop-PK approach, such pertinent measures should be suggested in the future studies.

The pop-PK models of this project developed from the original dataset were successfully refitted for all selected reduced sampling scenarios with at least 5 samples. The BE testing showed that BE conclusions could be maintained for all relevant PK parameters for these scenarios. As shown in Appendix 5, Appendix 6 and Figure 2, most of the variability was observed around C_{\max} values, which in turn influenced the area under the curve measures obtained from the NCA

analysis. Dabigatran is a highly variable drug, with reported intra-subject coefficient of variation above 50% for C_{max} ⁷. The model also reflected this variability, with relatively high residual errors observed for both volumes of distribution (both V_2 and V_3) and first-order absorption rate constant (k_a) values. Although the AUC values were undoubtedly affected by the variability of the C_{max} values, as shown in Table 6 by considerable relative errors observed, these deviations from the original values were not substantial in the overall characterization of the PK profile. As demonstrated in Appendix 5, the AUCs obtained from reduced sampling scenarios were predominantly similar to the original sampling. The only disparity was in the C_{max} region. Although the results were not influenced in our studies, further investigation of BE conditions on this parameter is needed for the modeling approach.

The results of this project demonstrated how the Reference data could be used to build the frame of the Test pop-PK model accurately. Indeed, the parameters estimates of both the Reference and the Test models were similar. Thus, the assumption that future BE testing can be accomplished through pop-PK modeling of Reference data is correct. Moreover, without compromising the results, this approach identifies key sampling time points for future BE trials, which therefore significantly reduces subsequent clinical costs. In the case of dabigatran, the preferred scenario predictably included sampling times corresponding to known critical PK elements, such as the C_{max} and elimination phase.

This study displayed that pop-PK modeling approach can significantly reduce the number of samples used for the BE assessment of dabigatran, and thus can potentially lower the costs of future BE trials. However, its standardisation in application needs to be developed. First, to perform an acceptable pop-PK model, the design of data collection is not the same as the data of standard BE trials that we used here. In pop-PK modeling, some specialized software packages are developed for this purpose. The acceptance of these modeling-oriented design of protocol is to be discussed for the BE community. Moreover, the successful model refitting for a reduced scenario is not a deterministic event, but a probability. This is an important feature for NONMEM modeling, since most of the general algorithms use the linear approximation approach, which does not guarantee a successful modeling convergence. Although a slight adjustment of dataset can result in a successful convergence, this part still needs to be standardized. Finally, specialized trained personnel possessing knowledge of modeling,

simulation techniques and its software is also a constraint to implant this approach in the generic industry.

Despite the challenges mentioned above, this work shows that the blood sampling burden in the process of the BE testing of highly variable drugs such as dabigatran could be reduced with the assistance of the pop-PK modeling approach. Implanting modeling and simulations in all branches of drug development, including generic testing, culminates in saved expenses and time for pharmaceutical companies, regardless of the expertise required to construct such models.

REFERENCES

1. Mekaj YH, M. A. (2015). New oral anticoagulants: their advantages and disadvantages compared with vitamin K antagonists in the prevention and treatment of patients with thromboembolic events. *Therapeutics and Clinical Risk Management*, 967–977.
2. (CGPA), C. G. (2019). Market Trends. Retrieved from Canadian Generic Pharmaceutical Association (CGPA): <http://canadiangenerics.ca/>.
3. Upton, D. M. (2013). Basic Concepts in Population Modeling, Simulation, and Model-Based Drug Development—Part 2: Introduction to Pharmacokinetic Modeling Methods. *CPT: Pharmacometrics & Systems Pharmacology*.
4. Center for Drug Evaluation and Research (CDER) (2019). Population Pharmacokinetics Guidance for Industry. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration.
5. Center for Drug Evaluation and Research (CDER) (2001). Statistical Approaches to Establishing Bioequivalence. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration.
6. Pearl Speaks NONMEM (PsN) (2018). Bootstrap user guide.
7. Pradaxa[®] [Label] (Revised: 2013/12). NDA 022512, Drugs@FDA, FDA Web site. <http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/drugsatfda>.
8. Reilly, Paul A., Thorsten Lehr, Sebastian Haertter, Stuart J. Connolly, Salim Yusuf, John W. Eikelboom, Michael D. Ezekowitz, Gerhard Nehmiz, Susan Wang, and Lars Wallentin. “The Effect of Dabigatran Plasma Concentrations and Patient Characteristics

on the Frequency of Ischemic Stroke and Major Bleeding in Atrial Fibrillation Patients: The RE-LY Trial (Randomized Evaluation of Long-Term Anticoagulation Therapy).” *Journal of the American College of Cardiology* 63, no. 4 (February 4, 2014): 321–28. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2013.07.104>.

9. Bebawy, M., and M. Chetty. “Gender Differences in P-Glycoprotein Expression and Function: Effects on Drug Disposition and Outcome.” *Current Drug Metabolism* 10, no. 4 (May 2009): 322–28.
10. Avgil Tsadok, Meytal, Cynthia A. Jackevicius, Elham Rahme, Karin H. Humphries, and Louise Pilote. “Sex Differences in Dabigatran Use, Safety, And Effectiveness In a Population-Based Cohort of Patients With Atrial Fibrillation.” *Circulation. Cardiovascular Quality and Outcomes* 8, no. 6 (November 2015): 593–99. <https://doi.org/10.1161/CIRCOUTCOMES.114.001398>.

APPENDIX 1. THE REFERENCE POP-PK MODEL

Parameters ¹	Description	Base model value (RSE)	Final model value (RSE)
CL (L/h)	Clearance	146 (10.30%)	183 (11.6%)
V ₂ (L)	Volume of distribution, central compartment	522 (34.30%)	677 (23.5%)
Ka (h ⁻¹)	First-order absorption rate constant	0.426 (30.30%)	0.445 (21.8%)
V ₃ (L)	Volume of distribution, peripheral compartment	525 (16.90%)	686 (16.2%)
Q (L/h)	Inter-compartmental clearance	61.2 (16.30%)	85.8 (14.5%)
Tlag (h ⁻¹)	Absorption lag time	0.455 (1.80%)	0.456 (1.6%)
F	Relative bioavailability	1*	1*
SEX	Effect of sex on F	-	0.545 (34.7)
IIV V ₂ (CV%)	IIV in the apparent volume of distribution of the central compartment	42.90 (26.90%)	44.3 (7.5%)
IIV F (CV%)	IIV in the relative bioavailability	31.10 (17%)	30.6 (14.3%)
PRV (%)	Proportional residual variability	0.458 (8.30%)	0.444 (7.5%)
ARV (%)	Additive residual variability	0.001*	0.001*

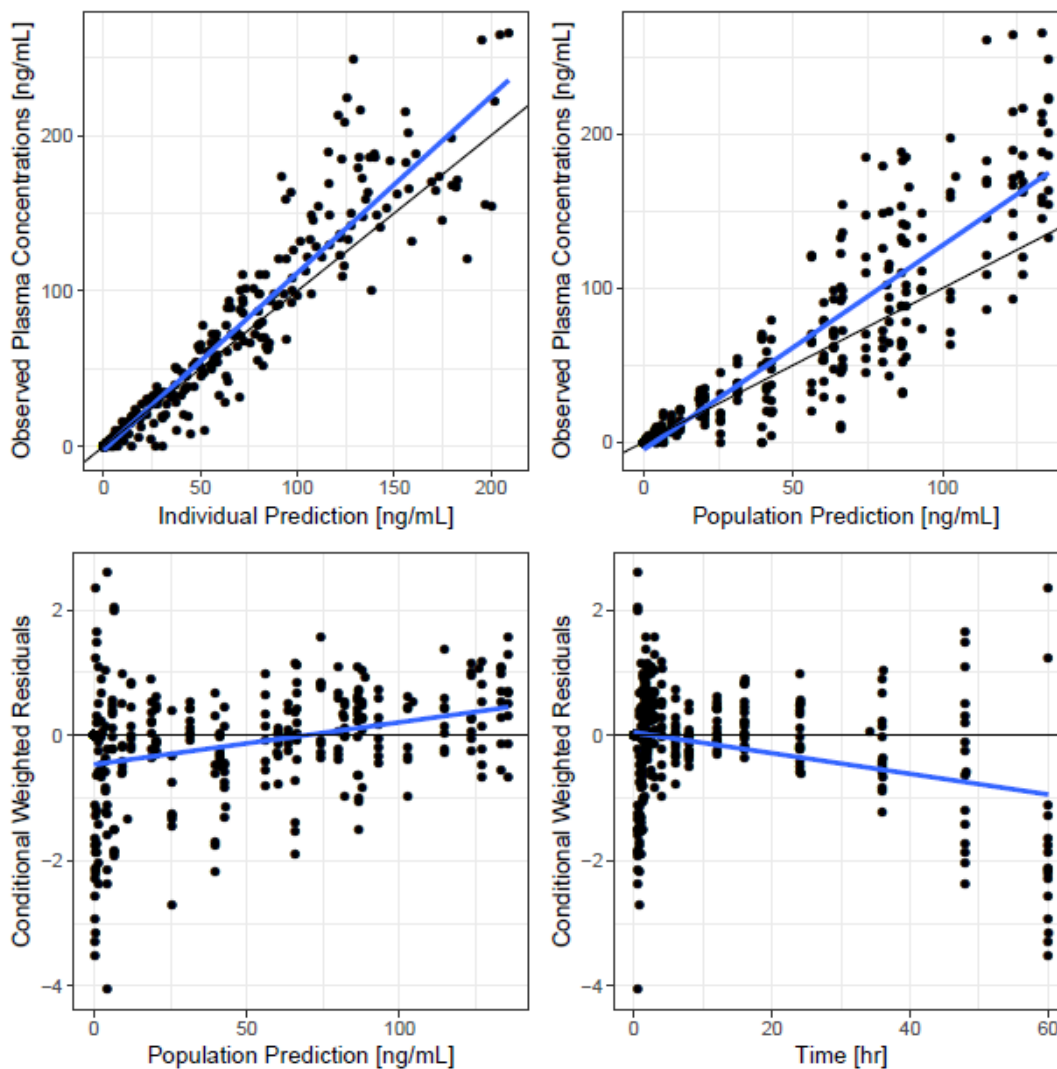
¹ Model parameters selected based on NONMEM's ADVAN4 TRANS4 routine

*Parameters fixed

CV: coefficient of variation; IIV: inter-individual variability; RSE: Residual standard error

APPENDIX 2. GOODNESS-OF-FIT PLOTS FOR THE FINAL POP-PK

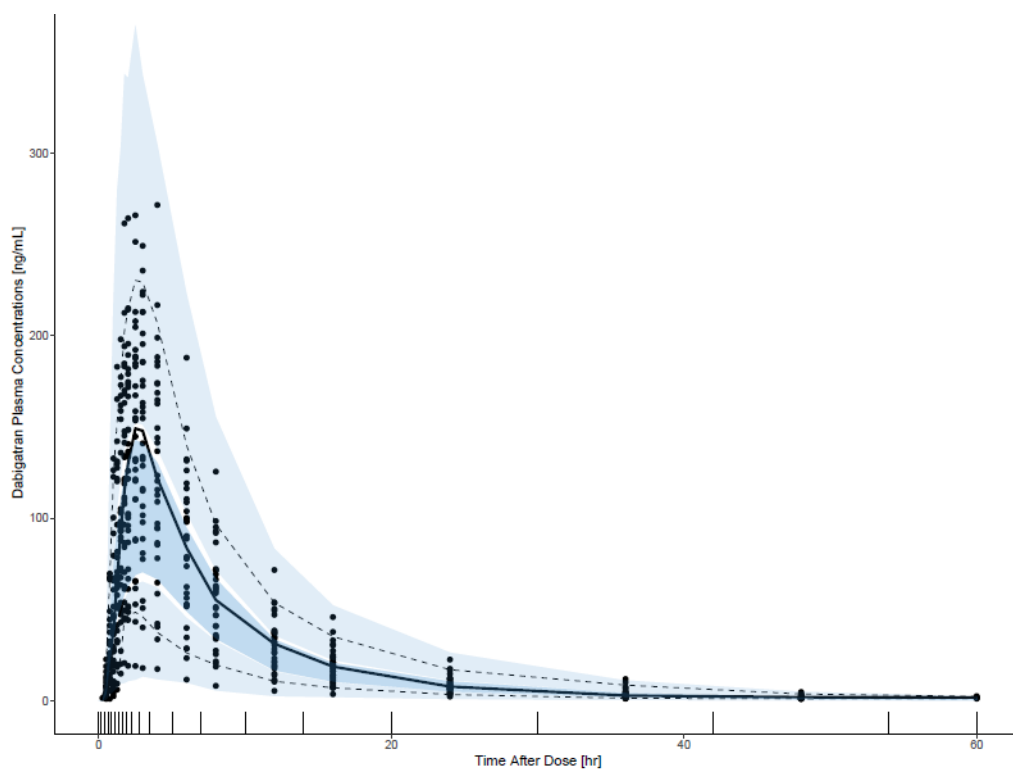
MODEL OF THE REFERENCE



Population prediction (upper right) and individual prediction (upper left) versus observed plasma concentrations. Solid black lines indicate lines of identity while solid blue lines indicate observations trend. Conditional weighted residuals vs versus population prediction (lower left) and time after dose (lower right).

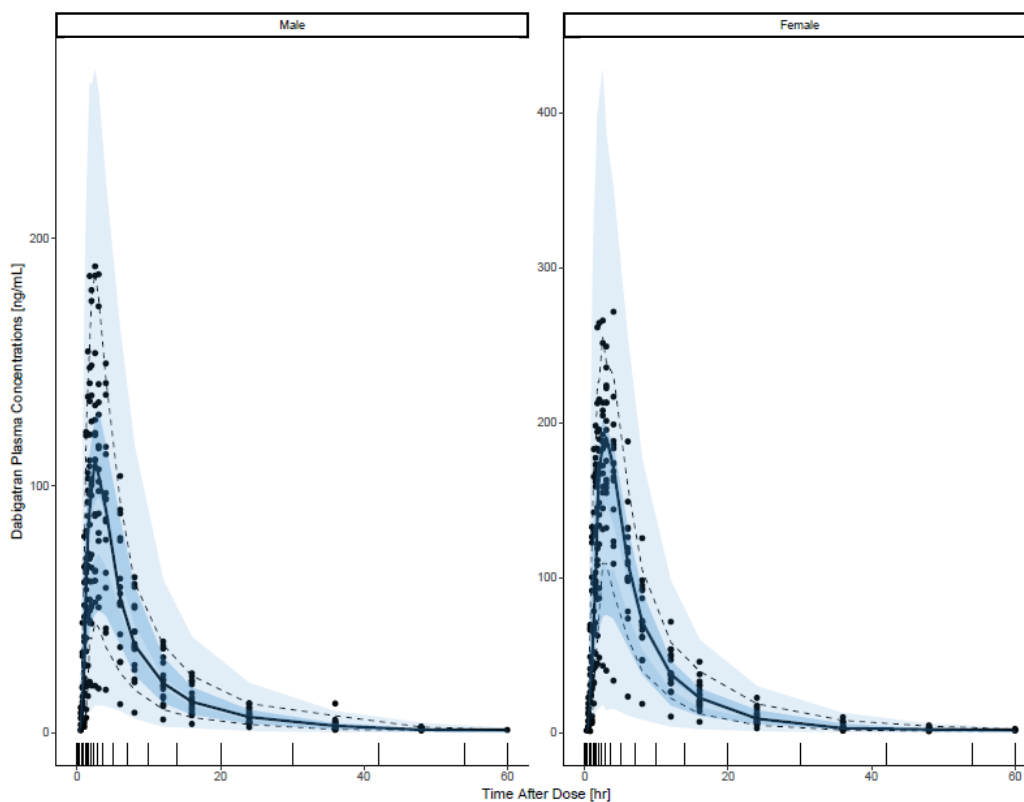
APPENDIX 3. VPC OF THE REFERENCE FINAL MODEL EXCLUDING SEX EFFECT

SEX EFFECT



The dotted points represent the observations, while the solid black line represents the median of the observations and the dotted black lines correspond to the 95% CI. The shaded blue areas define the 95% CIs of the simulated values.

APPENDIX 4. VPC OF THE REFERENCE FINAL MODEL INCLUDING SEX EFFECT

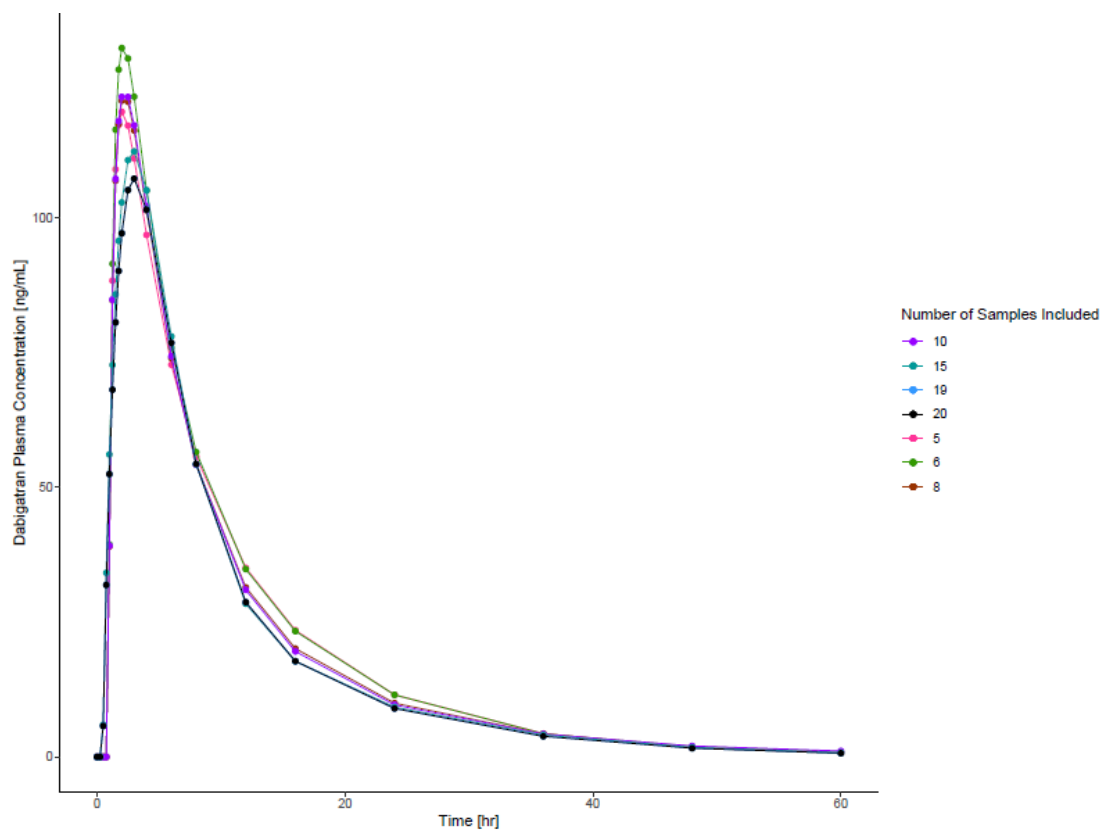


The plot on the left panel displays the results of the male population, whereas the female is represented on the right panel. The dotted points represent the observations, while the solid black line represents the median of the observations and the dotted black lines correspond to the 95% CI. The shaded blue areas define the 95% CIs of the simulated values.

APPENDIX 5. COMPARISON OF BIOEQUIVALENCE RESULTS

Number of Samples	Lower 90% CI Limit (%)	Ratio Test/Reference (%)	Upper 90% CI Limit (%)	Bioequivalence Conclusion
C_{max}				
20	72.23	84.29	98.36	-
19	72.25	84.31	98.38	Maintained
15	74.51	86.57	100.59	Maintained
10	62.63	78.98	99.6	Maintained
8	66.18	80.96	99.04	Maintained
6	76.11	88.12	102.03	Maintained
5	74.85	87.23	101.67	Maintained
AUC_{0-T}				
20	82.92	93.98	106.51	-
19	82.92	93.99	106.53	Maintained
15	84.51	95.95	108.95	Maintained
10	80.35	92.13	105.63	Maintained
8	80.84	92.78	106.47	Maintained
6	86.21	99.03	113.77	Maintained
5	86.3	98.52	112.47	Maintained
$AUC_{0-\infty}$				
20	83.11	94.2	106.78	-
19	83.11	94.21	106.79	Maintained
15	84.92	96.43	109.51	Maintained
10	82.04	96.79	114.18	Maintained
8	81.67	95.11	110.76	Maintained
6	86.18	99.44	114.74	Maintained
5	86.41	99.21	113.9	Maintained

APPENDIX 6. SIMULATED PK PROFILES OF THE REDUCED SAMPLING SUB-DATASETS



Mean pharmacokinetic profiles of the simulated reduced sampling scenarios (in colors) compared to the original complete sampling of 20 samples (in black).

CHAPITRE 5 : DISCUSSION

Le dabigatran représente un exemple concret de médicament pour lequel les pratiques actuelles d'évaluation de la bioéquivalence pourraient être améliorées. Sa grande variabilité intra-individuelle combinée à une relation concentration versus toxicité abrupte constituent un défi de taille pour les compagnies souhaitant développer un médicament générique du dabigatran et ainsi prendre possession du marché rapidement. En effet, les agences réglementaires ne peuvent permettre l'élargissement des limites conventionnelles (80.00% à 125.00%) d'évaluation de la bioéquivalence du dabigatran en fonction de la variabilité de la formulation Référence (méthode d'échelonnage par la Référence), puisqu'une variation mineure des concentrations de dabigatran entraîne des conséquences radicales de toxicité. Ainsi, l'intervalle de bioéquivalence traditionnel doit être maintenu lors des essais de bioéquivalence du dabigatran. Dès lors, l'approche de modélisation pharmacocinétique de population représente une nouvelle alternative intéressante pour les compagnies génériques, puisque la modélisation permet de cerner le profil pharmacocinétique de leur formulation Test versus la formulation novatrice, mais surtout de diminuer le nombre de prélèvements sanguins nécessaires pour caractériser avec fidélité ce profil.

Pour développer ce modèle pharmacocinétique de population, certains postulats étaient nécessaires; notamment que la compagnie générique ait accès à des données pharmacocinétiques sur la Référence, qui sont nécessaires à la construction du modèle de base, puisque ce médicament est déjà sur le marché. De plus, puisque la formulation Test est en fait une imitation du produit Référence, il était également logique de présumer que ces deux médicaments sont similaires en termes d'absorption et d'élimination, d'autant plus que le Test est conçu avec l'intention d'être bioéquivalent à la Référence pour être approuvé pour commercialisation. Conséquemment, il était rationnel d'assumer que la structure du modèle pharmacocinétique de population de base élaboré pour la Référence était convenable également pour le Test en termes de nombres de compartiments et mécanismes d'absorption et d'élimination.

Tel que présenté dans l'article, un modèle pharmacocinétique de population a été construit pour le dabigatran en utilisant les données cliniques d'une étude réelle de bioéquivalence. Une fois validé, le modèle a été utilisé avec succès pour simuler différents scénarios d'échantillonnage limités. Les résultats de bioéquivalence, ainsi que les valeurs de C_{max} et AUCs, de chacun de

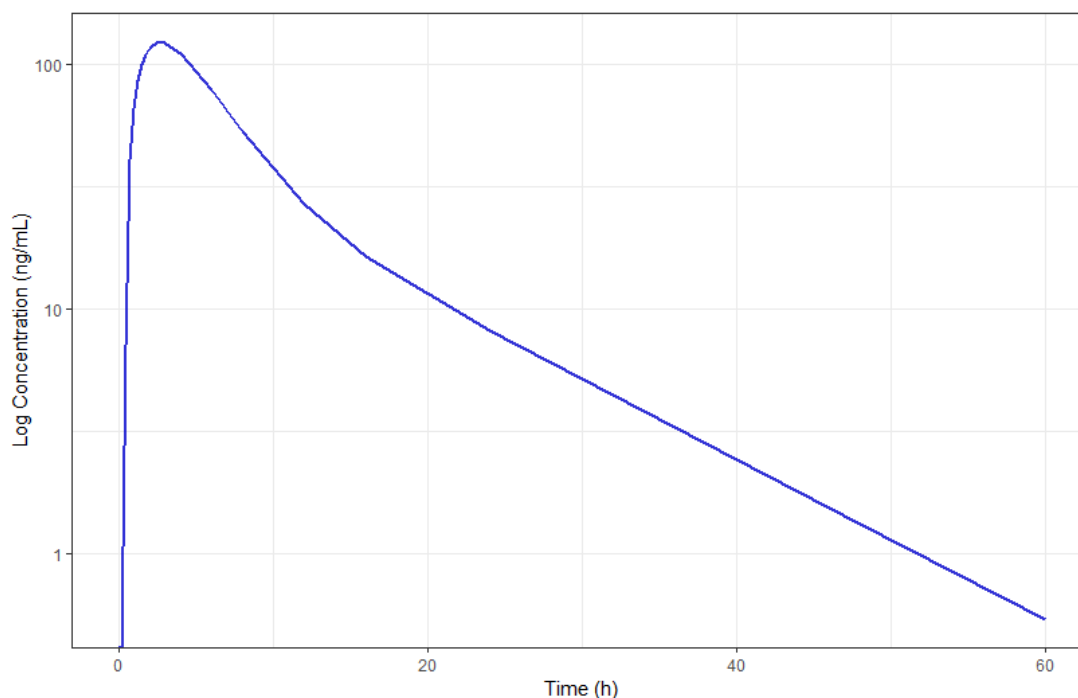
ces scénarios ont pu être comparés pour identifier le scénario prometteur pour de futurs essais cliniques de bioéquivalence, c'est-à-dire la combinaison d'échantillons permettant de réduire les coûts au maximum tout en préservant les conclusions de bioéquivalence originale. Dans le cas du dabigatran, le scénario optimal était celui comprenant les prélèvements à 0, 1, 2, 8 et 36 heures.

RÉFLEXION SUR LES CONCLUSIONS DU PROJET

Le modèle final conçu pour la Référence, et par conséquent celui élaboré pour le Test, était un modèle de disposition à deux compartiments, avec absorption du premier ordre et temps de latence. Les estimés des paramètres du modèle Référence étaient similaires aux estimés de modèle Test (Results), confirmant la supposition que la structure du modèle de la Référence pouvait être utilisée pour bâtir le modèle du Test.

Tel qu'illustré à la Figure 21, il est en effet possible de remarquer que le dabigatran semble posséder une phase de distribution et d'élimination distinctes, qui sont reflétées par la présence de deux compartiments dans le modèle. Comme le dabigatran possède une affinité tissulaire modérée [18], la distribution du médicament n'est pas instantanément homogène, puisque celui-ci doit également pénétrer les tissus.

Figure 21. Profil concentration logarithmiques versus temps de la formulation référence du dabigatran



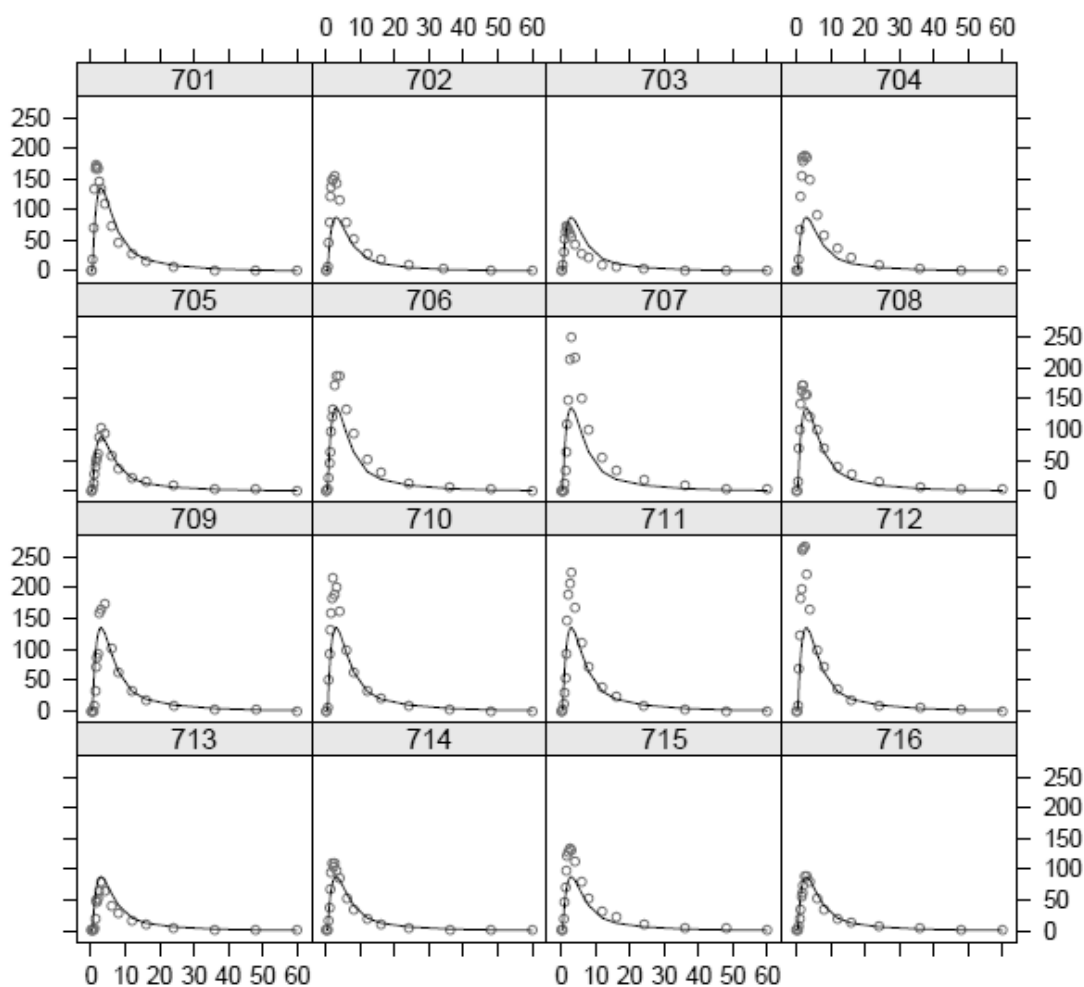
Le dabigatran est également un promédicament, c'est-à-dire un médicament dont l'action pharmacologique demeure inactive jusqu'à son métabolisme présystémique [36]. Il est donc courant d'observer un retard d'absorption (temps de latence) pour ces molécules et l'inclusion de ce paramètre dans le modèle pharmacocinétique de population est donc cohérente avec le profil de la molécule.

La seule covariable ayant eu un impact significatif sur la variabilité observée à travers les concentrations de dabigatran fut le sexe. L'inclusion de cette covariable a permis de réduire significativement la variabilité observée sur la biodisponibilité des formulations de dabigatran. Toutefois, comme c'est le cas avec la majorité des essais cliniques de bioéquivalence, la quantité de covariables disponibles est extrêmement limitée. En effet, les études de bioéquivalences sont performées chez des sujets sains, et donc plusieurs covariables intéressantes telles que les signes vitaux, ainsi que les analyses d'hématologie, de biochimie et de coagulation ne sont pas rapportées et demeurent indisponibles. Dans le cas du dabigatran, les valeurs de coagulation, comme l'INR ou l'aPTT, auraient été particulièrement intéressantes puisque le dabigatran est un anticoagulant. De plus, ce médicament est majoritairement éliminé par voie rénale [18]. Il

aurait donc été très pertinent d'évaluer l'effet de la clairance à la créatinine des sujets sur leur variabilité.

Cet accès restreint à des covariables de choix explique en partie la variabilité élevée inexpiquée par le modèle, et plus précisément pourquoi celui-ci n'arrive pas à prédire parfaitement les concentrations maximales de chaque sujet (Figure 22). Dans l'éventualité où la modélisation pourrait être reconnue comme méthode d'évaluation de la bioéquivalence pour le dabigatran par les agences réglementaires, la mesure de ces covariables lors de ces études ajouterait une valeur considérable tant à la performance du modèle pharmacocinétique de population qu'à la recherche et au développement de futures formulations du dabigatran.

Figure 22. Profil de concentrations prédites par le modèle (ligne) versus les concentrations observées (points) pour chaque sujet



Malgré la variation au niveau des valeurs prédites de C_{\max} , et dès lors des valeurs prédites d'AUCs, le modèle est tout de même en mesure de simuler sensiblement les mêmes valeurs de C_{\max} et d'AUCs, ainsi que de maintenir les conclusions de bioéquivalence originale.

D'ailleurs, ces résultats de bioéquivalence ont été préservés malgré le nombre de plus en plus réduit d'échantillons de sang utilisés pour réajuster le modèle. Il est notamment possible de remarquer que le taux de succès de la convergence des modèles était en fait plus élevé lorsqu'un nombre d'échantillons réduits était utilisé (taux de succès à 86% pour le scénario avec 10 échantillons versus 75% pour le scénario original incluant les 20 prélèvements). Ce résultat reflète une des limitations de l'algorithme de régression de NONMEM, qui éprouve de la difficulté à bien prédire les concentrations en présence de plusieurs prélèvements sanguins rapprochés. Alors qu'un jeu de données riches est un atout pour les analyses compartimentales, des temps d'échantillonnage rapprochés représentent plutôt une limitation pour le modèle non-linéaire à effets mixtes. En effet, une condition de base de l'analyse pharmacocinétique de population est que les erreurs résiduelles individuelles doivent être indépendantes. Lorsque les échantillons sont prélevés à des intervalles de temps très rapprochés (tel qu'une période de 15 minutes observée entre certains échantillons), cette condition est perdue puisque les erreurs résiduelles peuvent être influencées par les concentrations avoisinantes. Ainsi, une certaine réduction du nombre d'échantillons permet au modèle d'observer une diminution de la corrélation entre les échantillons, et conséquemment il représente plus aisément les données réelles.

Un autre élément ayant un impact évident sur la prédiction des paramètres pharmacocinétiques C_{\max} et AUCs ainsi que sur le taux de convergence du modèle est la sélection des échantillons conservés dans l'analyse. Le choix des prélèvements maintenus dans chaque scénario a une influence directe sur la capacité du modèle à converger, c'est-à-dire sa capacité à bien représenter les données observées, ainsi que sur son habileté à conserver les conclusions de bioéquivalences originales. En effet, parmi les différents scénarios limités à cinq prélèvements, certaines combinaisons mènent à un échec en matière de convergence et de préservation des verdicts, alors que d'autres réussissent les deux critères. Parmi les deux combinaisons ayant maintenu les résultats de bioéquivalence (0, 1, 2, 3, 24 et 0, 1, 2, 8, 36), chacune contient deux échantillons proches du C_{\max} ainsi qu'un échantillon vers la fin de la pente d'élimination du dabigatran. Le scénario ayant le meilleur taux de convergence (0, 1, 2, 8, 36) comprend quant à

lui deux échantillons dans la pente d'élimination. Ces résultats confirment que la sélection des échantillons à conserver pour l'évaluation de la bioéquivalence est essentielle, et elle est directement influencée par les propriétés pharmacocinétiques de la molécule.

Dans le cas de cette formulation de dabigatran, le C_{max} du médicament est attendu entre 0.5 et 2 heures après l'administration de la dose [18]. Puisque le C_{max} est un des paramètres à tester en bioéquivalence, les scénarios aptes à maintenir les conclusions de bioéquivalence contiennent tous des prélèvements proches de ces valeurs. Quant aux échantillons dans la pente d'élimination, le modèle n'arrive pas à converger si aucun prélèvement n'y est inclus. De plus, comme le dabigatran est le mieux représenté par un modèle à deux compartiments, il va de soi qu'un échantillon par phases de distribution et d'élimination observées produit le meilleur scénario.

LIMITES ET AVANTAGES DE L'APPROCHE PROPOSÉE

Comme discuté au Chapitre 3, la modélisation non-linéaire à effets mixtes a été développée en partie pour répondre au problème posé par les données de concentration limitées (« sparse sampling »). En effet, le modèle pharmacocinétique de population développé dans le cadre de ce projet est en mesure de prédire des profils de concentrations versus temps du dabigatran en utilisant seulement le quart des prélèvements sanguins originaux. Par conséquent, une compagnie générique voulant développer une nouvelle formulation Test de cette molécule n'aurait qu'à utiliser ces 5 échantillons sanguins pour déterminer si sa formulation est prometteuse ou non en utilisant le modèle développé. Pour un médicament aussi variable que le dabigatran, qui requiert un nombre de sujets important, cette réduction de 75% du nombre d'échantillons représente une diminution considérable des dépenses liées à l'essai clinique. En effet, chaque échantillon sanguin prélevé est associé à des coûts non négligeables liés à son prélèvement, son traitement de préservation, son entreposage ainsi que son analyse. Moins de prélèvements par individus constituent donc une économie de taille pour une compagnie pharmaceutique.

De plus, l'utilisation du modèle permet de réduire le nombre d'échantillons requis se situant dans la pente d'élimination du dabigatran. Par exemple, les échantillons sanguins étaient prélevés jusqu'à 60 heures après la dose dans l'étude clinique utilisée pour ce projet. Les sujets d'une étude sont habituellement logés à la clinique pour une période de 24 heures suivant

l'administration d'un médicament. Une période de prélèvement s'échelonnant sur une plus longue période indique que les sujets doivent revenir plus d'une fois à la clinique pour prélever les échantillons suivants. Ainsi, les participants de cette étude sont retournés à la clinique à trois occasions pour obtenir les prélèvements de 36, 48 et 60 heures post-dose. Ces visites après le logement à la clinique sont régulièrement problématiques à obtenir, puisque les sujets sont moins enclins à se déplacer à la clinique pour un seul prélèvement, malgré les compensations financières. En utilisant le modèle pharmacocinétique de population, il n'est pas nécessaire de prélever ces 3 échantillons tardifs. Les résultats du projet démontrent plutôt qu'un seul de ces points est nécessaire, et qu'en fait il est même possible de terminer l'étude plus rapidement en utilisant seulement le prélèvement de 36 heures. Cette approche permet donc d'épargner du temps aux compagnies génériques, ainsi qu'aux participants de l'étude de bioéquivalence.

Cependant, les entreprises désirant utiliser cette méthode devraient envisager de rapporter toutes les mesures de laboratoires individuelles observées, telles les valeurs de coagulation, plutôt que de citer seulement les mesures anormales. Ainsi, le modèle expliquerait une plus grande partie de la variabilité et donc prédirait des concentrations qui seraient plus fidèles à la réalité.

Les compagnies génériques doivent également être conscientes que cette approche ne peut s'appliquer qu'à des formulations de Test dabigatran similaires à la Référence. Dans le cas où le Test ne partagerait pas le même profil pharmacocinétique, par exemple une formulation à libération prolongée versus immédiate, le modèle pharmacocinétique de population de la Référence ne peut pas être utilisé pour bâtir le modèle du Test, puisqu'ils ne partageront pas les mêmes caractéristiques d'élimination ou d'absorption.

CHAPITRE 6 : CONCLUSION

Ainsi, ce projet a permis de démontrer que l'utilisation de la modélisation pharmacocinétique de population dans l'évaluation de la bioéquivalence est en effet une approche intéressante pour des molécules avec faibles chances de succès comme le dabigatran. L'application de la modélisation a permis de réduire le nombre de prélèvements nécessaires par individus, sans compromettre le verdict de bioéquivalence. Puisque les médicaments variables requièrent un nombre de sujets colossal pour démontrer avec suffisamment de puissance une bioéquivalence, la réduction significative du nombre d'échantillons collectés constitue une économie de taille pour les compagnies pharmaceutiques. Cette approche a également permis de réduire la durée potentielle des essais cliniques du dabigatran, en sélectionnant des temps de prélèvement clés à l'intérieur de 36 heures. Conséquemment, cette méthodologie constitue donc un atout certain pour les compagnies pharmaceutiques désirant développer de nouvelles formulations génériques du dabigatran plus rapidement et à moindre coûts.

APPLICATIONS FUTURES

Une première étape vers l'application de cette approche serait d'abord de la confirmer à l'aide d'une validation externe. En utilisant les données d'une autre étude de bioéquivalence portant sur la même formulation de Référence du dabigatran, la confiance envers les capacités de prédictions du modèle serait encore plus élevée. Une fois la validation externe complétée, cette stratégie de modélisation pourrait être partagée avec divers entreprises pharmaceutiques désirant développer de futures formulations de dabigatran. Ces compagnies pourraient ainsi appliquer la méthodologie développée, c'est-à-dire, utiliser seulement les temps d'échantillonnage identifiés lors de ce projet dans une étude clinique pilote, pour prédire le profil et le verdict de bioéquivalence de leurs propres formulations Test.

Pour la majorité des médicaments, la modélisation dans un contexte de bioéquivalence n'est pas nécessaire, puisque les standards actuels d'évaluation de la bioéquivalence fonctionnent parfaitement. Toutefois, les résultats positifs de ce projet ouvrent la voie vers l'application de cette approche pour d'autres molécules dont les réglementations de bioéquivalence laissent place à l'amélioration. Les médicaments avec un profil pharmacocinétique plus complexe, tels les produits dont l'élimination est non-linéaire (comme le fer qui peut saturer son système de transport) ou encore les produits endogènes (comme la levothyroxine qui présente une

concentration basale instable) sont des exemples flagrants de molécules dont la bioéquivalence est particulièrement ardue à démontrer en utilisant les méthodes actuelles.

BIBLIOGRAPHIE

1. Weitz, J.I., et al., *Trends in Prescribing Oral Anticoagulants in Canada, 2008-2014*. Clin Ther, 2015. **37**(11): p. 2506-2514.e4.
2. Gouvernement du Canada, *Stroke in Canada*. 2016.
3. American Stroke Association, *About stroke*. 2019.
4. Morillo, C.A., et al., *Atrial fibrillation: the current epidemic*. Journal of geriatric cardiology : JGC, 2017. **14**(3): p. 195-203.
5. American Heart Association. *What is atrial fibrillation (afib or af)?* 2019; Available from: <https://www.heart.org/en/health-topics/atrial-fibrillation/what-is-atrial-fibrillation-afib-or-af>.
6. Réseau canadien de recherche clinique sur la thromboembolie veineuse (CanVector). *La thromboembolie veineuse*. 2019; Available from: <https://www.canvector.ca/venous-thromboembolism-fr>.
7. Canadian Patient Safety Institute. *Thromboembolie veineuse (tev) : Introduction* 2016; Available from: <https://www.patientsafetyinstitute.ca/fr/toolsresources/Hospital-Harm-Measure/Improvement-Resources/VTEOverview/Pages/default.aspx>.
8. American Heart Association. *What is venous thromboembolism (vte)?* 2017; Available from: <https://www.heart.org/en/health-topics/venous-thromboembolism/what-is-venous-thromboembolism-vte>.
9. Centre Hospitalier Universitaire Sainte-Justine. *La thrombose et l'anticoagulation*. 2018; Available from: https://www.chusj.org/getmedia/a4e4f379-caa9-4250-b9ad-1c8227fca85c/depliant_F-2792_la-thrombose.pdf.aspx?ext=.pdf.
10. Palta, S., R. Saroa, and A. Palta, *Overview of the coagulation system*. Indian journal of anaesthesia, 2014. **58**(5): p. 515-523.
11. Eric P. Widmaier, H.R., Kevin T. Strang., *Vander's Human Physiology: The Mechanisms Of Body Function, Thirteenth Edition*. 13 ed. 2014: McGraw-Hill. 806.
12. Lim, G.B., *Anticoagulants*. Nature Reviews Cardiology, 2018.
13. Wardrop, D. and D. Keeling, *The story of the discovery of heparin and warfarin*. British Journal of Haematology, 2008. **141**(6): p. 757-763.
14. Franchini, M., et al., *The evolution of anticoagulant therapy*. Blood transfusion = Trasfusione del sangue, 2016. **14**(2): p. 175-184.
15. Mekaj, Y.H., et al., *New oral anticoagulants: their advantages and disadvantages compared with vitamin K antagonists in the prevention and treatment of patients with thromboembolic events*. Therapeutics and clinical risk management, 2015. **11**: p. 967-977.
16. Arsenault, K.A., et al., *Direct thrombin inhibitors in cardiovascular disease*. Nature Reviews Cardiology, 2012. **9**: p. 402.
17. Mélanie Turgeon, J.-M.D., *Portrait de l'usage des anticoagulants oraux directs et de la warfarine chez les personnes de 18 ans et plus couvertes par le régime public d'assurance médicaments du Québec*, in *État des pratiques*. 2019, Institut national d'excellence en santé et services sociaux (INESSS).
18. Boehringer Ingelheim Canada LTD. *Product Monograph, Pr PRADAXA®, Dabigatran Etxilate Capsules*. 2019 214068]; Available from: <https://www.boehringer-ingelheim.ca/sites/ca/files/documents/pradaxapmen.pdf>.

19. Association canadienne du médicament générique (ACMG). *Tendances du marché*. 2019; Available from: <https://generiquescanadiens.ca/perennite-du-reseau-de-la-sante/tendances-du-marche/>.
20. Center for Drug Evaluation and Research, *Summary Review of New Drug Application: Pradaxa (NDA 22-512)*. 2010.
21. Niazi, S., *Handbook of bioequivalence testing*. Second edition.. ed. 2015: Boca Raton : CRC Press.
22. Hauschke, D., *Bioequivalence studies in drug development : methods and applications*, ed. V. Steinijans and I. Pigeot. 2007, Chichester, England; Hoboken, NJ; Chichester, West Sussex, England: Chichester, England; Hoboken, NJ : Wiley.
23. FDA. *Bioequivalence Studies with Pharmacokinetic Endpoints for Drugs Submitted Under an ANDA* 2018; Available from: <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/bioequivalence-studies-pharmacokinetic-endpoints-drugs-submitted-under-abbreviated-new-drug>.
24. Purves, R.D., *Optimum numerical integration methods for estimation of area-under-the-curve (AUC) and area-under-the-moment-curve (AUMC)*. *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics*, 1992. **20**(3): p. 211-226.
25. Riviere, J.E., *Comparative pharmacokinetics*. 2nd Edition.. ed, ed. I. Wiley. 2011, Chichester, West Sussex: Chichester, West Sussex : Wiley-Blackwell.
26. FDA. *Statistical Approaches to Establishing Bioequivalence*. 2018; Available from: <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/statistical-approaches-establishing-bioequivalence>.
27. Haidar, S.H., et al., *Bioequivalence Approaches for Highly Variable Drugs and Drug Products*. *Pharmaceutical Research*, 2008. **25**(1): p. 237-241.
28. Kanfer, I. and L. Shargel, *Generic drug product development : international regulatory requirements for bioequivalence*. 2010, New York: New York : Informa Healthcare USA.
29. EMA. *Guideline On The Investigation Of Bioequivalence (CPMP/EWP/QWP/1401/98 REV. 1/ CORR **)*. 2010; Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-investigation-bioequivalence-rev1_en.pdf.
30. Posner, J., *Optimizing the dose of dabigatran etexilate*. *British journal of clinical pharmacology*, 2012. **74**(5): p. 741-743.
31. Fang, L., et al., *Model-Informed Drug Development and Review for Generic Products: Summary of FDA Public Workshop*. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 2018. **104**(1): p. 27-30.
32. Mould, D. and R. Upton, *Basic Concepts in Population Modeling, Simulation, and Model-Based Drug Development*. *CPT: Pharmacometrics & Systems Pharmacology*, 2012. **1**(9): p. 6.
33. Owen, J.S., *Introduction to population pharmacokinetic/pharmacodynamic analysis with nonlinear mixed effects models*, ed. J. Fiedler-Kelly. 2014: Hoboken, New Jersey : Wiley.
34. Mould, D.R. and R.N. Upton, *Basic concepts in population modeling, simulation, and model-based drug development-part 2: introduction to pharmacokinetic modeling methods*. *CPT: pharmacometrics & systems pharmacology*, 2013. **2**(4): p. e38-e38.

35. Seng Yue, C., et al., *Opportunities and Challenges Related to the Implementation of Model-Based Bioequivalence Criteria*. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 2019. **105**(2): p. 350-362.
36. Curry, S.H., *Drug disposition and pharmacokinetics : from principles to applications*, ed. I. Wiley and R. Whelpton. 2011, Chichester, West Sussex: Chichester, West Sussex : Wiley-Blackwell.