

Absorption, distribution, élimination et métabolisme d'un psychotrope : le fenpentadiol-14 C chez le rat et porc : calcul des paramètres pharmacocinétiques

Yves Dormard

▶ **To cite this version:**

Yves Dormard. Absorption, distribution, élimination et métabolisme d'un psychotrope : le fenpentadiol-14 C chez le rat et porc : calcul des paramètres pharmacocinétiques. Modélisation et simulation. Université Joseph-Fourier - Grenoble I, 1977. Français. NNT : . tel-00287647

HAL Id: tel-00287647

https://theses.hal.science/tel-00287647

Submitted on 12 Jun 2008

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THÈSE

présentée

A L'UNIVERSITÉ SCIENTIFIQUE ET MÉDICALE DE GRENOBLE

pour l'obtention du titre de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE GRENOBLE I
(Mention Sciences Naturelles)

PAR

Yves DORMARD

ABSORPTION, DISTRIBUTION, ÉLIMINATION ET MÉTABOLISME D'UN PSYCHOTROPE : LE FENPENTADIOL-^{14}C CHEZ LE RAT ET LE PORC

CALCUL DES PARAMÈTRES PHARMACOCINÉTIQUES

Soutenue le 25 novembre 1977
devant la commission d'Examen :

M.G. DESSAUX — *Président*

M.A. BOUCHERLE
M.G. CARRAZ
M.N. GASTINEL
M.B. GLASSON, Professeur à l'Université de Genève
M.J. WEPIERRE, Professeur à l'Université de Paris-Sud

Examinateurs

UNIVERSITE SCIENTIFIQUE
ET MEDICALE DE GRENOBLE

Monsieur Gabriel CAU : Président
Monsieur Pierre JULLIEN : Vice Président

MEMBRES DU CORPS ENSEIGNant : DE L'U.S.M.G.

PROFESSEURS TITULAIRES

MM	AMBLARD Pierre	Clinique de dermatologie
	ARNAUD Paul	Chimie
	ARVIEU Robert	I.S.N
	AUBERT Guy	Physique
	AYANT Yves	Physique approfondie
Mme	BARBIER Marie-Jeanne	Electrochimie
MM.	BARBIER Jean-Claude	Physique Expérimentale
	BARBIER Reynold	Géologie appliquée
	BARJON Robert	Physique nucléaire
	BARNOUD Fernand	Biosynthèse de la cellulose
	BARRA Jean-René	Statistiques
	BARRIE Joseph	Clinique chirurgicale
	BEAUDOING André	Clinique de Pédiatrie et Puériculture
	BELORIZKY Elie	Physique
	BERNARD Alain	Mathématiques Pures
Mme	BERTRANDIAS Françoise	Mathématiques Pures
MM.	BERTRANDIAS Jean-Paul	Mathématiques Pures
	BEZEZ Henri	Pathologie chirurgicale
	BLAMBERT Maurice	Mathématiques Pures
	BOLLIET Louis	Informatique (IUT B)
	BONNET Jean-Louis	Clinique ophtalmologique
	BONNET-EYMARD Joseph	Clinique gastro-entérologique
Mme	BONNIER Marie-Jeanne	Chimie générale
MM.	BOUCHERLE André	Chimie et toxicologie
	BOUCHEZ Robert	Physique nucléaire
	BOUSSARD Jean-Claude	Mathématiques appliquées
	BOUTET DE MONTVEL Louis	Mathématiques Pures
	BRAVARD Yves	Géographie
	CABANEL Guy	Clinique rhumatologique et hydrologique
	CALAS François	Anatomie
	CARLIER Georges	Biologie végétale
	CARRAZ Gilbert	Biologie animale et pharmacodynamie
	CAU Gabriel	Médecine légale et toxicologie
	CAUQUIS Georges	Chimie organique
	CHABAUTY Claude	Mathématiques Pures
	CHARACHON Robert	Clinique Oto-rhino-laryngologique
	CHATEAU Robert	Clinique de neurologie
	CHIBON Pierre	Biologie animale
	COEUR André	Pharmacie chimique et chimie analytique
	CONTAMIN Robert	Clinique gynécologique
	COUDERC Pierre	Anatomie pathologique
Mme	DEBELMAS Anne-Marie	Matière médicale
MM.	DEBELMAS Jacques	Géologie générale
	DEGRANGE Charles	Zoologie
	DELORMAS Pierre	Pneumophtisiologie

MM.	DEPORTES Charles	Chimie minérale
	DESRE Pierre	Métallurgie
	DESSAUX Georges	Physiologie animale
	DODU Jacques	Mécanique appliquée (IUT I)
	DOLIQUE Jean-Michel	Physique des plasmas
	DREYFUS Bernard	Thermodynamique
	DUCROS Pierre	Cristallographie
	GAGNAIRE Didier	Chimie Physique
	GALVANI Octave	Mathématiques Pures
	GASTINEL Noël	Analyse numérique
	GAVEND Michel	Pharmacologie
	GEINDRE Michel	Electroradiologie
	GERBER Robert	Mathématiques Pures
	GERMAIN Jean-Pierre	Mécanique
	GIRAUD Pierre	Géologie
	JANIN Bernard	Géographie
	KAHANE André	Physique générale
	KLEIN Joseph	Mathématiques Pures
	KOSZUL Jean-Louis	Mathématiques Pures
	KRAVTCHENKO Julien	Mécanique
	KUNTZMANN Jean	Mathématiques Appliquées
	LACAZE Albert	Thermodynamique
	LACHARME Jean	Biologie végétale
Mme	LAJZEROWICZ Janine	Physique
MM.	LAJZEROWICZ Joseph	Physique
	LATREILLE René	Chirurgie générale
	LATURAZE Jean	Biochimie Pharmaceutique
	LAURENT Pierre	Mathématiques Appliquées
	LEDRU Jean	Clinique médicale B
	LE ROY Philippe	Mécanique (IUT I)
	LLIBOUTRY Louis	Géophysique
	LOISEAUX Pierre	Sciences Nucléaires
	LONGEQUEUE Jean-Pierre	Physique Nucléaire
	LOUP Jean	Géographie
Melle	LUTZ Elisabeth	Mathématiques Pures
MM.	MALINAS Yves	Clinique Obstétricale
	MARTIN-NOEL Pierre	Clinique Cardiologique
	MAZARE Yves	Clinique Médicale A
	MICHEL Robert	Minéralogie et Pétrographie
	MICOUD Max	Clinique Maladies infectieuses
	MOURIQUAND Claude	Histologie
	MOUSSA André	Chimie Nucléaire
	NOZIERES Philippe	Spectrometrie Physique
	OZENDA Paul	Botanique
	PAYAN Jean-Jacques	Mathématiques Pures
	PEBAY-PEYROULA Jean-Claude	Physique
	PERRET Jean	Semeiologie Médicale (Neurologie)
	RASSAT André	Chimie systématique
	RENARD Michel	Thermodynamique
	REVOL Michel	Urologie
	RINALDI Renaud	Physique
	DE ROUGEMONT Jacques	Neuro-Chirurgie
	SEIGNEURIN Raymond	Microbiologie et Hygiène
	SENGEL Philippe	Zoologie
	SIBILLE Robert	Construction mécanique (IUT I)
	SOUTIF Michel	Physique générale
	TANCHE Maurice	Physiologie
	TRAYNARD Philippe	Chimie générale

MM.	VAILLANT François	Zoologie
	VALENTIN Jacques	Physique Nucléaire
	VAUQUOIS Bernard	Calcul électronique
Mme	VERAIN Alice	Pharmacie galénique
MM.	VERAIN André	Physique
	VEYRET Paul	Géographie
	VIGNAIS Pierre	Biochimie médicale

PROFESSEURS ASSOCIES

MM.	CRABBE Pierre	CERMO
	DEMBICKI Eugéniuz	Mécanique
	JOHNSON Thomas	Mathématiques appliquées
	PENNEY Thomas	Physique

PROFESSEURS SANS CHAIRE

Mle	AGNIUS-DELORD Claudine	Physique pharmaceutique
	ALARY Josette	Chimie analytique
MM.	AMBROISE-THOMAS Pierre	Parasitologie
	ARMAND Gilbert	Géographie
	BENZAKEN Claude	Mathématiques appliquées
	BIAREZ Jean-Pierre	Mécanique
	BILLET Jean	Géographie
	BOUCHET Yves	Anatomie
	BRUGEL Lucien	Energétique (IUT I)
	BUISSON René	Physique (IUT I)
	BUTEL Jean	Orthopédie
	COHEN ADDAD Pierre	Spectrométrie physique
	COLOMB Maurice	Biochimie
	CONTE René	Physique (IUT I)
	DELOBEL Claude	M.I.A.G.
	DEPASSEL Roger	Mécanique des fluides
	FONTAINE Jean-Marc	Mathématiques Pures
	GAUTRON René	Chimie
	GIDON Paul	Géologie et Minéralogie
	GLENAT René	Chimie organique
	GROULADE Joseph	Biochimie médicale
	HACQUES Gérard	Calcul numérique
	HOLLARD Daniel	Hématologie
	HUGONOT Robert	Hygiène et Médecine préventive
	IDELMAN Simon	Physiologie animale
	JOLY Jean-René	Mathématiques Pures
	JULLIEN Pierre	Mathématiques Appliquées
Mme	KAHANE Josette	Physique
MM.	KRAKOWIACK Sacha	Mathématiques Appliquées
	KUHN Gérard	Physique (IUT I)
	LUU DUC Cuong	Chimie organique
	MAYNARD Roger	Physique du solide
Mme	MINIER Colette	Physique (IUT I)
MM.	PELMONT Jean	Biochimie
	PERRIAUX Jean-Jacques	Géologie et Minéralogie
	PFISTER Jean-Claude	Physique du solide
Mle	PIERY Yvette	Physiologie animale

MM.	RAYNAUD Hervé	M.I.A.G.
	REBECQ Jacques	Biologie (CUS)
	REYMOND Jean-Charles	Chirurgie générale
	RICHARD Lucien	Biologie végétale
Mme	RINAUDO Marguerite	Chimie macromoléculaire
MM.	ROBERT André	Chimie papetière
	SARRAZIN Roger	Anatomie et chirurgie
	SARROT-REYNAULD Jean	Géologie
	SIROT Louis	Chirurgie générale
Mme	SOUTIF Jeanne	Physique générale
MM.	STIEGLITZ Paul	Anesthésiologie
	VIALON Pierre	Géologie
	VAN CUTSEM Bernard	Mathématiques Appliquées

MAITRES DE CONFERENCES ET MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

MM.	ARMAND Yves	Chimie (IUT I)
	BACHELOT Yvan	Endocrinologie
	BARGE Michel	Neuro chirurgie
	BEGUIN Claude	Chimie organique
Mme	BERIEL Hélène	Pharmacodynamie
MM.	BOST Michel	Pédiatrie
	BOUCHARLAT Jacques	Psychiatrie adultes
Mme	BOUCHE Liane	Mathématiques (CUS)
MM.	BRODEAU François	Mathématiques (IUT B) (Personne étrangère habilitée à être directeur de thèse)
	CHAMBAZ Edmond	Biochimie médicale
	CHAMPETIER Jean	Anatomie et organogénèse
	CHARDON Michel	Géographie
	CHERADAME Hervé	Chimie papetière
	CHIAVERINA Jean	Biologie appliquée (EFP)
	CONTAMIN Charles	Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire
	CORDONNIER Daniel	Néphrologie
	COULOMB Max	Radiologie
	CROUZET Guy	Radiologie
	CYROT Michel	Physique du solide
	DENIS Bernard	Cardiologie
	DOUCE Roland	Physiologie végétale
	DUSSAUD René	Mathématiques (CUS)
Mme	ETERRADOSSI Jacqueline	Physiologie
MM.	FAURE Jacques	Médecine légale
	FAURE Gilbert	Urologie
	GAUTIER Robert	Chirurgie générale
	GIDON Maurice	Géologie
	GROS Yves	Physique (IUT I)
	GUIGNIER Michel	Thérapeutique
	GUITTON Jacques	Chimie
	HICTER Pierre	Chimie
	JALBERT Pierre	Histologie
	JUNIEN-LAVILLAVROY Claude	C.R.L.
	KOLODIE Lucien	Hématologie
	LE NOC Pierre	Bactériologie-virologie
	MACHE Régis	Physiologie végétale
	MAGNIN Robert	Hygiène et médecine préventive
	MALLION Jean-Michel	Médecine du travail

MM.	MARECHAL Jean	Mécanique (IUT I)
	MARTIN-BOUYER Michel	Chimie (CUS)
	MICHOULIER Jean	Physique (IUT I)
	NEGRE Robert	Mécanique (IUT I)
	NEMOZ Alain	Thermodynamique
	NOUGARET Marcel	Automatique (IUT I)
	PARAMELLE Bernard	Pneumologie
	PECCOUD François	Analyse (IUT B) (Personnalité étrangère habilitée à être directeur de thèse)
	PEFFEN René	Métallurgie (IUT I)
	PERRIER Guy	Géophysique-Glaciologie
	PHELIP Xavier	Rhumatologie
	RACHAIL Michel	Médecine Interne
	RACINET Claude	Gynécologie et Obstétrique
	RAMBAUD André	Hygiène et Hydrologie (Pharmacie)
	RAMBAUD Pierre	Pédiatrie
	RAPHAEL Bernard	Stomatologie
Mme	RENAUDET JAcqueline	Bactériologie (Pharmacie)
MM	ROBERT Jean-Bernard	Chimie Physique
	ROMIER Guy	Mathématiques (IUT B) (Personnalité étrangère habilité à être directeur de thèse)
	SCHAERER René	Cancérologie
	SHOM Jean-Claude	Chimie Générale
	STOEBNER Pierre	Anatomie Pathologie
	VROUSOS Constantin	Radiologie

MAITRESDE CONFERENCESASSOCIES

MM.	DEVINE Roderick	Spectro Physique
	HODGES Christopher	Transition de Phases

Fait à SAINT MARTIN D'HERES, NOVEMBRE 1976

- A MA FEMME,

- A MES ENFANTS,

- A MES PARENTS,

En témoignage de ma profonde affection

- A MA FAMILLE,

- A MES AMIS.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR G. DESSAUX

Laboratcire de Physiologie Animale
de l'Université Scientifique et Médicale
de Grenoble.

qui a accepté avec tant de bienveillance d'assumer la direction de ce travail et a bien voulu nous faire l'honneur de présider notre Jury de thèse.

Nous lui exprimons notre respectueuse gratitude.

Pour avoir bien voulu accepter de juger ce travail, nous adressons tous nos remerciements pour leur bienveillante sollicitude.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR A. BOUCHERLE

Laboratoire de Chimie et Toxicologie
de l'Université Scientifique et Médicale
de Grenoble.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR G. CARRAZ

Laboratoire de Pharmacodynamie de
l'Université Scientifique et
Médicale de Grenoble.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR N. GASTINEL

Laboratoire de Mathématiques appliquées -
Informatique de l'Université Scientifique
et Médicale de Grenoble.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR B. GLASSON

Département de Pharmacologie de la
Faculté de Médecine de Genève.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR J. WEPIERRE

Laboratoire de Pharmacodynamie de
l'Université de Paris-Sud.

En témoignage de notre profonde reconnaissance

Nos remerciements et notre profonde gratitude vont également,

A MONSIEUR LE PROFESSEUR P.L. BIGET

Professeur de Chimie Biologique
Pharmaceutique à l'Université
de Rennes.

qui nous a toujours manifesté une extrême bienveillance et a bien voulu nous encourager et nous aider.

En témoignage de notre profonde gratitude.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR M. PLAT

Professeur de Pharmacie Chimique
à l'U.E.R des Sciences Pharmaceutiques
et Biologiques de Paris-Sud.

qui nous a fait bénéficier de ses précieux conseils dans le domaine de la spectrométrie de masse.

En témoignage de notre profonde reconnaissance.

A MONSIEUR LE DOCTEUR A. BENAKIS

Privat-docent de Pharmacologie
à l'Université de Genève.

pour l'accueil amical qu'il nous a toujours réservé au Laboratoire du Métabolisme des Médicaments.

En témoignage de notre vive reconnaissance et de notre profonde amitié.

A MONSIEUR D. ROLLAND

Docteur en Pharmacie

à qui nous devons la réalisation de ce travail.

En témoignage de notre sincère attachement et de notre gratitude.

A MONSIEUR J.C LEVY

Docteur en Pharmacie

qui nous a constamment encouragé tout au long de la réalisation de ce travail.

En témoignage de notre amicale reconnaissance.

Avant d'exposer le détail de nos travaux, il nous est agréable de remercier très particulièrement tous nos collaborateurs du Département de Métabolisme et de Pharmacocinétique (Service des Isotopes) du CREPHAR qui, avec tant de compétence, nous ont apporté leur aide précieuse dans la réalisation de cette étude.

Nous sommes heureux de pouvoir remercier également M. VAYSSIERE, assistant au Laboratoire de Chimie organique de l'U.E.R des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Paris-Sud, qui a réalisé la synthèse du métabolite que nous avons identifié.

Nous désirons assurer M.M. FEVRE et LEGLISE, attachés au Centre National de Recherches Zootechniques de Jouy-en-Josas (I.N.R.A), de notre vive reconnaissance pour nous avoir initié à l'utilisation du Porc en Pharmacocinétique.

Nous remercions vivement M. Max DEAT du Département d'Informatique du CEN-SACLAY (C.I.S.I) qui a réalisé un programme sur calculateur numérique afin de traiter nos données expérimentales.

Qu'il nous soit permis de remercier infiniment Mme Muriel BEILLARD qui, avec beaucoup de patience et de gentillesse, a bien voulu se charger de la mise en page de notre manuscrit et du tracé définitif de nos figures.

Nos remerciements iront enfin à tous ceux qui nous ont aidé et encouragé au cours de nos travaux.

SOMMAIRE

Pages

INTRODUCTION 1

I - MATERIEL ET METHODES 10

I .1 - PREPARATION ET CONTROLE DU FENPENTADIOL-^{14}C 10
I .1.1 - Synthèse du fenpentadiol-^{14}C 10
I .1.2 - Purification et pureté radiochimique 12
I .1.3 - Stockage et stabilité du produit 13

I .2 - SYNTHESE - PURIFICATION ET CONTROLE DU DERIVE 13

I .3 - PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES DU FENPENTADIOL 15
I .3.1 - Solubilité 15
I .3.2 - Point de fusion instantané 15
I .3.3 - Spectre U.V 15

I .4 - CONDITIONS D'ADMINISTRATION ET D'EXPERIMENTATION 16
I .4.1 - Espèces animales 16
I .4.2 - Conditions d'administration 16
a - Doses et quantités de radioactivité administrées 16
b - Nature de l'excipient 17
c - Conditions d'expérimentation 18

Pages

I .5 - PREPARATION DES ECHANTILLONS ET MESURES DE LA RADIOACTIVITE 19
I .5.1 - Préparation des échantillons 19
a - Echantillons sanguins 19
b - Echantillons tissulaires 21
c - Echantillons biologiques 22
I .5.2 - Mesure de la radioactivité par scintillation liquide 23

I .6 - ANALYSE CHROMATOGRAPHIQUE DES URINES, DE LA BILE ET DU SANG 25
I .6.1 - Techniques chromatographiques 25
a - Mode opératoire 25
b - Détermination des Rf 27
I .6.2 - Séparation du médicament inchangé et des métabolites - Identification des produits de biotransformation du fenpentadiol-^{14}C 27
a - Analyse chromatographique des urines et de la bile 28
b - Analyse chromatographique du sang 31

I .7 - EXPLOITATION MATHEMATIQUE DES RESULTATS - ANALYSE COMPARTIMENTALE 32
I .7.1 - Rappel théorique de l'analyse pharmacocinétique 32
I .7.2 - Méthodes de calcul 41
a - Méthode graphique 41
b - Méthode de calcul analogique 42
c - Méthode de calcul numérique 43

II - RESULTATS 44

II .1 - ABSORPTION ET DISTRIBUTION DU FENPENTADIOL-^{14}C 44
II .1.1 - Cinétique du taux sanguin et distribution quantitative chez le Rat après administration de 30 mg/kg de fenpentadiol-^{14}C par voie intraveineuse 44

Pages

II .1.2 - Absorption et distribution du fenpentadiol ^{14}C chez le Rat après administration par voie orale (30 et 100 mg/kg) 49

II .1.3 - Etude de la biodisponibilité du fenpentadiol-^{14}C chez le Rat 52

II .1.4 - Cinétique sanguine et biodisponibilité chez le Porc après administration de 5 mg/kg de fenpentadiol-^{14}C par voie intraveineuse et par voie orale 53

II .1.5 - Répartition de la radioactivité entre le plasma et les hématies - Rapport érythro-plasmatique 55

II .1.6 - Taux de liaison du fenpentadiol-^{14}C avec les protéines plasmatiques 56

a - Taux de liaison in vivo 56

b - Taux de liaison in vitro 58

II .1.7 - Doses multiples 60

a - Effet d'un prétraitement sur la distribution du fenpentadiol-^{14}C chez le Rat après administration par voie intraveineuse (30 mg/kg) 60

b - Effet d'un prétraitement sur la distribution du fenpentadiol-^{14}C chez le Rat après administration par voie orale (100 mg/kg).... 60

II .1.8 - Recherche d'une relation entre les concentrations tissulaires et la valeur de la dose chez le Rat 62

II .2 - ELIMINATION DU FENPENTADIOL-^{14}C CHEZ LE RAT ET LE PORC 64

II .2.1 - Elimination du ^{14}C dans l'air expiré chez le Rat 64

II .2.2 - Eliminations urinaire et fécale chez le Rat.. 65

a - Après adminsitration de fenpentadiol-^{14}C par voie intraveineuse (30 mg/kg) 65

b - Après administration de fenpentadiol-^{14}C par voie orale (100 mg/kg) 67

Pages

II .2.3 - Eliminations urinaire et fécale chez le Porc 69

II .2.4 - Elimination biliaire du fenpentadiol-^{14}C chez le Rat et le Porc 71

a - Chez le Rat 71

b - Chez le Porc 73

II .3 - BIOTRANSFORMATION DU FENPENTADIOL-^{14}C CHEZ LE RAT ET LE PORC 75

II .3.1 - Métabolisme urinaire 75

a - Séparation du médicament inchangé et des métabolites 75

b - Identification du métabolite 77

c - Vitesse de formation du métabolite hydroxylé chez le Rat 80

d - Métabolisme urinaire du fenpentadiol-^{14}C chez le Porc 81

II .3.2 - Métabolisme biliaire chez le Rat 82

II .3.3 - Métabolisme du fenpentadiol-^{14}C au niveau sanguin 85

a - Chez le Rat après administration par voie intraveineuse de fenpentadiol-^{14}C (30mg/kg). 85

b - Chez le Porc après administration par voie intraveineuse de fenpentadiol-^{14}C (5mg/kg).. 87

II .3.4 - Métabolisme du fenpentadiol-^{14}C au niveau du cerveau 92

II .4 - ANALYSE PHARMACOCINETIQUE DES COURBES DE TAUX SANGUINS DU FENPENTADIOL 92

II .4.1 - Analyse pharmacocinétique chez le Rat 94

II .4.2 - Analyse pharmacocinétique chez le Porc 99

III - DISCUSSION 103

CONCLUSION GENERALE 119

BIBLIOGRAPHIE 127

o o o o
o o
o

INTRODUCTION

Le fenpentadiol* est le 2-méthyl-4-p-chlorophényl-2,4-pentanediol. Il appartient à une série de β-diols bi-tertiaires dérivant du propane diol-1,3 et préparée par Valette et Coll (88) (89).

Ces auteurs, et notamment Rolland (77), ont recherché une corrélation entre la structure chimique et l'activité pharmacologique des différents dérivés obtenus par écartement des carbones hydroxylés et diverses substitutions sur la chaîne latérale, en prenant un α-diol biternaire : le phénaglycodol comme molécule de référence. Ayant observé que les dérivés du phényl-1 propane-diol-1,3 associent de façon intéressante des propriétés stimulantes et dépressives au niveau du système nerveux central et que ces propriétés paraissent liées à plusieurs points de structure - dont l'écartement des carbones hydroxyliques -, ces auteurs portèrent finalement leur choix sur l'un des dérivés : le fenpentadiol.

Par ailleurs, Kriegel et Coll (49) n'ont pas observé d'anomalie pondérale, hématologique ou anatomo-pathologique, au cours des études de toxicité chronique poursuivies pendant un an dans certains cas. Ainsi, les essais de toxicité aiguë ont démontré la faible toxicité du produit, la DL_{50} étant, par voie orale, de 950 mg/kg chez la Souris et 920 mg/kg chez le Rat. De même, la toxicité subaiguë a été recherchée chez le Rat, par l'administration quotidienne de fenpentadiol pendant 30 jours, par voie orale ; la DL_{50} déterminée après ce traitement répété et prolongé est de 625 mg/kg soit une dose représentant 25 fois la dose thérapeutique forte . Enfin, l'étude de toxicité chronique, réalisée chez le Rat

* Dénomination commune internationale recommandée (D.C.I)-(Laboratoire de l'Hépatrol).

que l'on a soumis au fenpentadiol pendant un an, par voie orale, à des doses de 50 à 200 mg/kg, c'est-à-dire 2 à 8 fois la dose thérapeutique forte, a montré que la mortalité était nulle. D'autre part, la recherche des effets tératogènes, chez trois espèces : souris, rat, lapin, s'est révélée totalement négative : Lechat (55), Kriegel (50).

Sur le plan pharmacologique, Ginet et Coll (35) (36) ont montré que le fenpentadiol possède les propriétés caractéristiques de la série chimique des diols : il est anticonvulsivant, relaxant médullaire, et potentialise l'effet hypnogène des barbituriques.

Ce produit présente par ailleurs des composantes stimulantes originales. On peut distinguer :

- une composante antidépressive mise en évidence expérimentalement par la potentialisation des effets de l'amphétamine chez le Rat, le fenpentadiol n'étant pas anti-réserpinique ni I M A O ;

- une composante anxiolytique sans effet sédatif, prouvée par l'augmentation de la réaction d'exploration et par le raccourcissement du temps de sortie dans l'épreuve de conditionnement au labyrinthe chez le Rat ;

- une composante psycho-analeptique démontrée par l'augmentation de la motilité, l'élévation du niveau de vigilance sur les tracés électro-corticographiques et l'amélioration des réflexes conditionnés.

Enfin, les résultats obtenus par les techniques biochimiques, cytochimiques, radiochimiques et enzymologiques permettent à L'Hermite et Coll (57) d'émettre l'hypothèse selon laquelle une administration de fenpentadiol, chez le Rat, aurait pour effet d'augmenter le taux des catécholamines au niveau des récepteurs dans les formations centrales étudiées (hypothalamus et noyau caudé).

Les propriétés thérapeutiques du fenpentadiol ont été mises en évidence par de très nombreuses expérimentations cliniques. On trouvera dans les publications de Volmat et Coll (90) (91), Postel et Coll (71), Cohadon et Coll (14), Sutter et Coll (84) et Felts (27) la bibliographie des principaux essais cliniques.

En règle générale, il ressort de ces travaux que le fenpentadiol se distingue des tranquillisants vrais (*a*-diols) par ses trois effets observés en clinique humaine :

- l'action antidépressive qui lève l'inhibition ;
- l'action psychostimulante ;
- l'action relaxante, sans action sédative ;

En définitive, le fenpentadiol est apparu à de nombreux auteurs, (Saillant-Klein et Coll (81), Mouren et Coll (65), Rosier (79) et Masquin et Coll (64)) comme un anxiolytique psychostimulant parfaitement maniable. En ce qui concerne son effet sur l'anxiété, les meilleurs résultats semblent avoir été obtenus dans les cas de névroses d'angoisse, de névroses obsessionnelles, d'états dépressifs, de dépressions névrotiques, de dépressions réactionnelles et des troubles de l'humeur.

Le fenpentadiol se présente donc comme un psychotrope antidépresseur et anxiolytique, doué d'une excellente tolérance et d'une toxicité faible , ce qui autorise sa prescription , sans aucun risque, sous sa principale forme pharmaceutique actuelle (comprimés sécables dosés à 250 mg de principe actif).

D'une manière générale, les malades reçoivent une dose quotidienne de 750 mg à 1 gramme, sous forme de 3 à 4 comprimés répartis sur l'ensemble de la journée, mais selon certains auteurs (Sutter et Coll (83), Parquet (69), Rosier (79)), on peut penser que des doses supérieures puissent être prescrites.

Enfin, il reste à noter qu'une forme injectable de fenpentadiol n'a pu, jusqu'à présent, être mise à la disposition de la thérapeutique. Après "solubilisation" du produit à l'aide d'un alcool cyclique, Broussolle (13) a pourtant démontré l'intérêt qu'aurait une

injection intraveineuse lente de fenpentadiol. Selon Rosier (78), le fenpentadiol administré par voie intraveineuse apparaît comme l'une des thérapeutiques les plus puissantes actuellement connues du raptus anxieux.

De plus, il n'est pas sans intérêt de rappeler que pour Rosier (78), le fenpentadiol a une latence d'action très brève (1 à 3 minutes) ; la durée de l'effet est relativement courte (35 à 40 minutes) et l'on observe ensuite un maintien du fond habituel d'anxiété du malade, sans reprise du raptus.

En fait, ces études, malgré leur intérêt, ne furent pas poursuivies car le fenpentadiol intraveineux ne pouvait prétendre être un anxiolytique parfaitement maniable.

Dans des conditions aussi voisines que possible de celles des essais cliniques, nous avons finalement vérifié si les propriétés pharmacologiques et thérapeutiques du fenpentadiol pouvaient être en rapport avec les caractéristiques pharmacocinétiques de la molécule. La présente étude est réalisée dans ce but, chez l'animal, à l'aide du fenpentadiol marqué au carbone 14.

Nous nous proposons donc d'étudier l'absorption, la distribution, l'élimination et le métabolisme du fenpentadiol-^{14}C chez le Rat et le Porc. En outre, nous indiquerons, dans un chapitre consacré à l'exploitation mathématique des résultats, les paramètres pharmacocinétiques obtenus après injection intraveineuse du produit marqué.

Dans un article récent, Boissier (10) rappelle qu'il n'est plus possible actuellement de concevoir et d'appliquer un nouveau médicament sans connaître son sort dans l'organisme, depuis la résorption jusqu'à l'élimination. Cet auteur souligne également que les recherches sur le métabolisme et la pharmacocinétique doivent être considérablement amplifiées pour le plus grand bien des malades. En réalité, les études métaboliques et pharmacocinétiques ont été considérées longtemps comme des recherches purement formelles ou simplement nécessaires, dans le cadre des "accords et licences" des laboratoires pharmaceutiques, pour le développement international des nouveaux médicaments.

Pourtant, et toujours selon Boissier (9), ces études conduisent à des conclusions si importantes qu'elles constituent à l'heure actuelle une des étapes fondamentales dans la connaissance de la pharmacologie d'un médicament nouveau. Boissier ajoute encore qu'il apparaîtra inconcevable, dans quelques années, d'administrer à l'Homme une substance dont on ne connaîtra pas - au moins dans ses grandes lignes - le sort dans l'organisme.

En France, la pharmacocinétique a été définie par un arrêté du 27 avril 1972 (J.O du 28 mai 1972). Le ministère de la Santé Publique et de la Sécurité Sociale entendait par pharmacocinétique: "le sort que le médicament subit dans l'organisme, et comprenant l'étude de l'absorption, de la répartition, de la biotransformation (ou métabolisme) et de l'élimination. L'étude de ces différentes phases peut être effectuée à l'aide de méthodes physiques, chimiques ou biologiques, ainsi que par l'observation de l'activité pharmacodynamique même du produit".

Cette recherche, chez l'animal, est relativement limitée puisqu'elle ne concerne que les produits chimiothérapeutiques (antibiotiques) et les médicaments dont l'usage repose sur des effets non pharmacodynamiques (moyens de diagnostic, etc), et dans tous les cas où les renseignements obtenus sont indispensables pour l'application chez l'Homme. Le ministère étend cette nécessité aux produits doués d'effets pharmacodynamiques, "l'examen pharmacocinétique est souhaitable et peut donner des informations importantes". Par contre, le ministère ajoute "Dans le cas d'associations nouvelles de médicaments déjà connus et étudiés d'après les présentes normes ou de médicaments qui n'ont pas été étudiés d'après les présentes normes mais qui sont connus et largement acceptés en thérapeutique humaine depuis au moins trois années, les recherches pharmacocinétiques ne seront pas exigées si les essais toxicologiques et l'expérimentation clinique ont suffisamment caractérisé les dites associations".

Ainsi, il ressort de ce protocole d'essai, chez l'animal, que les données pharmacocinétiques ne sont toujours pas strictement indispensables pour la constitution d'un dossier d'autorisation de mise sur le marché (A.M.M) d'un nouveau médicament.

Pourtant, un arrêté du 16 décembre 1975 (J.O du 11 janvier 1976) spécifie que des essais mettant en évidence la biotransformation (métabolisme) et les éléments pharmacocinétiques essentiels doivent être inclus dans les comptes rendus d'essais cliniques poursuivis dans le respect du protocole applicable à l'expertise clinique des médicaments.

Les techniques d'études ont tellement progressé qu'une telle exigence apparaît parfaitement légitime bien que l'utilisation des molécules marquées en pharmacologie clinique, ainsi que l'emploi de volontaires, puisse encore poser des problèmes d'ordre éthique. Quoiqu'il en soit, une recherche sur plusieurs espèces animales s'avère évidemment indispensable avant de passer aux études de pharmacologie clinique.

La pharmacocinétique, terme employé pour la première fois par Dost (23) en 1953, est la partie de la pharmacologie qui étudie les variations, en fonction du temps, de la concentration d'un médicament et/ou de ses métabolites à l'intérieur des différents milieux de l'organisme tels que le sang, l'urine et les organes ou tissus. Ces données expérimentales peuvent conduire à l'établissement de modèles dits "modèles pharmacocinétiques" capables d'être interprétés mathématiquement. La pharmacocinétique diffère donc de la pharmacodynamie puisque, contrairement à celle-ci, elle ne se préoccupe pas de la nature de l'activité des médicaments sur l'organisme, mais se propose d'expliciter les modalités de cette action. L'intensité de l'effet médicamenteux est évidemment liée à la quantité de substance qui parvient au contact du site récepteur et à la variation de cette quantité en fonction du temps.

Dans les lignes qui suivent, nous ne tenterons pas de faire une bibliographie exhaustive sur le sujet puisqu'on peut trouver, notamment dans l'ouvrage de Wagner (94) la totalité des travaux publiés jusqu'en 1970. Cependant, à l'instar de nombreux auteurs tels que Bieder et Gaillot (7) et Valette (87), nous citerons particulièrement les premiers travaux de Theorell (85), puis de Dost (23), Lapp (53) (54) et Krüeger-Thiemer (52) en Europe, et de Levy (60), Garrett (30), Riegelman (75), Gibaldi et Feldman (34) et Wagner (93) aux Etats-Unis. Par ailleurs, on trouvera le support mathématique

de l'analyse compartimentale dans les ouvrages de Atkins (2), Jacquez (46), Rescigno et Segre (73), Riggs (76), Sheppard (82), Theorell (86) et Wagner (95).

Quant à la disponibilité des médicaments (biodisponibilité), partie initiale de la pharmacocinétique, elle est caractérisée par la quantité de médicament qui atteint la circulation sanguine générale , ainsi que par la vitesse avec laquelle elle l'atteint. Cette définition est celle de l'O.M.S (Rapport technique n° 536, 1974). Les problèmes de biodisponibilité sont extrêmement importants puisqu'ils concernent avant tout l'efficacité thérapeutique des médicaments. Nous citerons notamment les revues de Hirtz (44), de Lesne (56), l'ouvrage de Wagner (94) ainsi que les "Proceedings of the Conference on Bioavailability of Drugs. Washington, 1971"(12).

Sur le plan de la pharmacologie, le raisonnement pharmacocinétique pourrait conduire, selon Bieder et Gaillot (8), à expliciter les relations existantes entre les données biochimiques dynamiques et la cinétique d'action pharmacologique vue notamment sous les angles de la durée et de l'intensité d'action. L'étude pharmacocinétique préalable peut seule assurer la mise en évidence du secteur privilégié responsable de l'activité, et dans ce sens elle constitue une étape décisive vers la pharmacologie moléculaire.

On trouvera dans le livre de Goodman et Gilman (41) ainsi que dans les travaux d'auteurs tels que Levy et Coll (59) (60) (61), Gibaldi et Coll (33) et Berkowitz (6) de nombreux exemples de corrélation entre la distribution du médicament dans l'organisme et l'effet pharmacologique qui en résulte.

Par ailleurs, O'Reilly (68) montre que les études pharmacocinétiques comparatives peuvent fournir au pharmacologue et au toxicologue des informations utiles, en extrapolant les effets pharmacologiques et toxicologiques des médicaments, des animaux à l'Homme.

La pharmacocinétique clinique est une discipline relativement récente et, depuis les premières recherches telles que celles de Garrett (28) (29), nous assistons à l'éclosion fulgurante d'une littérature consacrée à cette excroissance naturelle de la pharmacologie clinique. Nous citerons encore les revues générales récentes de :

Drayer (25) sur l'activité pharmacologique des métabolites actifs, Barza et Weinstein (3) sur les pénicillines, Hvidberg et Dam (45) sur les anticonvulsivants, Fabre et Balant (26) dans le cas de l'insuffisance rénale et de Rane (72) chez l'enfant.

Ces travaux montrent essentiellement l'intérêt de l'application des principes de la pharmacocinétique clinique dans l'ajustement de la posologie des médicaments. Ces principes permettent de déterminer la dose initiale, la dose de maintien et l'intervalle posologique de plusieurs médicaments dont le potentiel toxique est augmenté dans des situations cliniques particulières (insuffisance hépatique et rénale).

Ces recherches ont eu comme conséquence la réalisation d'un nombre important de concepts thérapeutiques. Elles ont établi en particulier que la relation entre la concentration plasmatique d'un médicament et l'intensité de son effet est nettement plus valable que la relation entre la dose exprimée en termes absolus et l'effet. A cet égard, on pourra consulter les "Proceedings" d'un symposium relativement récent de la British Pharmacological Society (17).

Le problème des intéractions médicamenteuses de type pharmacocinétique a été largement soulevé par des auteurs tels que Glasson (40), Heusghem et Lechat (43) et Kristensen (51). Ces intéractions médicamenteuses sont susceptibles de modifier un ou plusieurs paramètres reliés au début de l'action pharmacologique, à son intensité et à sa durée. Les intéractions pharmacocinétiques peuvent se produire au niveau de l'absorption gastro-intestinale, de l'élimination, de la répartition tissulaire et du siège d'action.

Les intéractions au niveau de l'élimination peuvent relever d'une modification du métabolisme par stimulation (induction enzymatique) ou par inhibition. Au niveau de la répartition tissulaire, on peut essentiellement souligner une modification indésirable de la fixation du médicament aux protéines plasmatiques, par déplacement compétitif. Ce genre d'intéraction est particulièrement fréquent avec les anticoagulants et les hypoglycémiants qui sont déplacés de leurs sites de fixation par la phénylbutazone. Notons également que la fraction du médicament liée aux

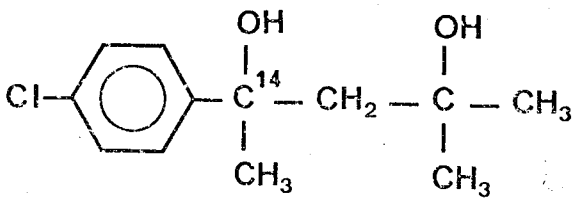
protéines diminue, à dose élevée, quand tous les sites de fixation sont saturés. La fraction du médicament diminue aussi dans les cas d'hypoprotéinémie comme l'hypoalbuminémie, et ceci peut entraîner des effets indésirables d'un médicament tel que la prednisone administrée aux doses thérapeutiques habituelles.

Dans le cadre de ce travail, nous ne pouvons pas insister sur ce problème dont les conséquences sont d'une extrême gravité en thérapeutique, mais l'on trouvera une documentation importante, notamment dans les revues générales de Glasson (37), Jusko et Gretch (47) et de Koch-Weser et Sellers (48).

I - MATERIEL ET METHODES

I .1 - PREPARATION ET CONTROLE DU FENPENTADIOL-^{14}C

En vue de son étude métabolique, la synthèse marquée* au carbone 14 du fenpentadiol a été réalisée en choisissant, comme position de marquage, le carbone 4 de la chaîne pentane diol de la molécule :



I .1.1 - Synthèse du fenpentadiol-^{14}C

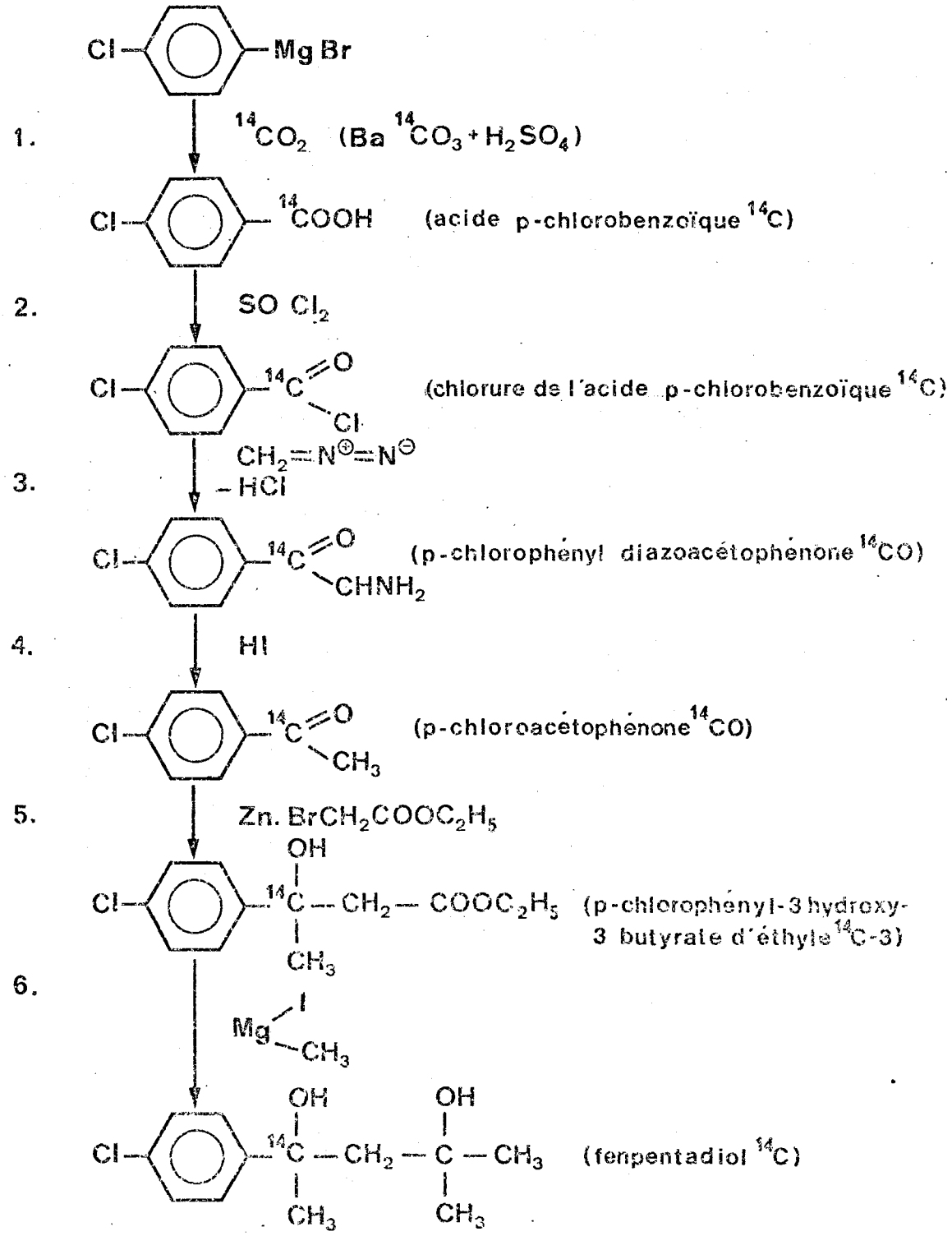
Noël et Coll (67) ont réalisé la synthèse du méthyl-2p-chlorophényl-4 pentane diol 2,4 ^{14}C-4 (fenpentadiol, DCI) par action de l'iodure de méthyle magnésium sur le p-chlorophényl-3 hydroxy-3 butyrate d'éthyle ^{14}C-3.

Le rendement des six étapes de synthèse est de 31,8 % sur la base du carbonate de baryum initialement mis en oeuvre.

L'activité spécifique a été déterminée en mesurant la radioactivité par scintillation liquide et la concentration par spectrométrie UV ; elle est de 25,3 mCi/mM. Cette activité spécifique s'est avérée largement suffisante pour la détermination du produit inchangé et des métabolites au niveau sanguin chez le Rat et le Porc.

*Synthèse réalisée par le Département des Molécules Marquées

Les six étapes sont les suivantes :



I .1.2 - Purification et pureté radiochimique

La purification du fenpentadiol-^{14}C a été réalisée par chromatographie sur colonne à gradient d'élution et par recristallisation dans l'hexane. Le contrôle de la pureté chimique et radiochimique de la molécule marquée est effectué ensuite par chromatographie en couche mince. La radioactivité est localisée par autoradiographie et par enregistrement à l'aide du compteur proportionnel Berthold (L.B.2721).

Les systèmes chromatographiques sont donnés dans le tableau 1.

- Tableau 1 - *Détermination du Rf du fenpentadiol-^{14}C selon les systèmes chromatographiques utilisés*

SYSTEME CHROMATOGRAPHIQUE *		Rf
benzène/acétate d'éthyle	90/10	0,13
benzène/acétate d'éthyle	80/20	0,37
benzène/acétate d'éthyle	60/40	0,64
benzène/acétone	90/10	0,36
benzène/acétone	80/20	0,73
cyclohexane/éthanol	80/20	0,67
cyclohexane/acétate d'éthyle	70/30	0,44

* Plaque schleicher et Schüll silicagel F, support plastique

Dans tous les systèmes utilisés, le fenpentadiol-^{14}C ne produit qu'une seule zone radioactive dont le Rf est identique à celui de l'échantillon témoin.

En outre, la comparaison des spectres UV et de masse du produit

de référence et du fenpentadiol-^{14}C indique une parfaite identité.

I .1.3 - Stockage et stabilité du produit

Le fenpentadiol-^{14}C, à l'état cristallisé, peut être conservé à -20°C pour éviter toute dégradation éventuelle. En fait, le contrôle de la stabilité du produit mis en solution dans un mélange éthanol-benzène et stocké à + 5°C, a montré qu'il n'y a pas de dégradation. Après une période de douze à quinze mois, le taux d'impuretés radioactives n'est que de 1 %. En définitive, la stabilité du fenpentadiol-^{14}C est particulièrement remarquable malgré une activité spécifique relativement élevée (25,3 mCi/mM).

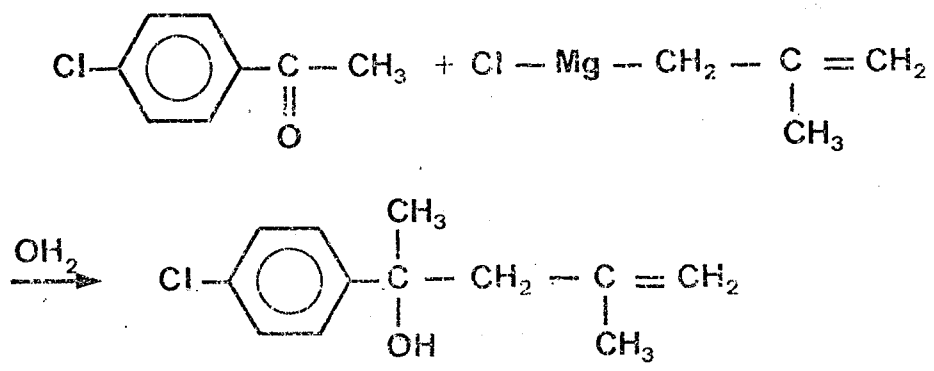
I .2 - SYNTHESE, PURIFICATION ET CONTROLE DU DERIVE

Comme nous le verrons dans un prochain chapitre, nous avons pu isoler et identifier un métabolite hydroxylé du fenpentadiol-^{14}C dans les urines du Rat.

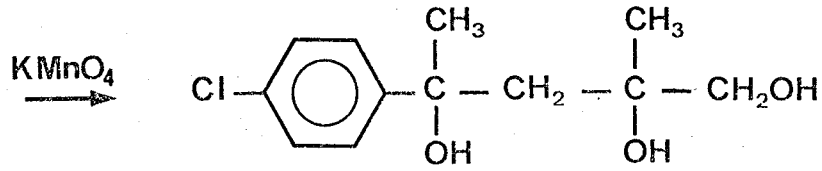
Dans ces conditions, il était intéressant de réaliser la synthèse de ce nouveau composé et de contrôler ensuite sa structure chimique après purification.

La synthèse du (chloro-4 phényl)-1 diméthyl 2,3 butane triol 1, 3, 4, s'effectue en deux étapes :

- par réaction de la p-chloroacétophénone sur le dérivé magnésien du chlorure de méthallyle.



- puis par hydratation du dérivé éthylénique par le permanganate de potassium.



Le produit visqueux récupéré est recristallisé dans un minimum d'eau et sa pureté chimique est déterminée par quatre passages successifs sur plaques préparatives de Silicagel (Merck F 254) dans le système chromatographique suivant : benzène/acétate d'éthyle : 30/70 (V/V).

La comparaison du spectre de masse du produit de synthèse avec celui obtenu pour le métabolite hydroxylé isolé dans l'urine permet de confirmer la structure chimique de ce dernier produit.

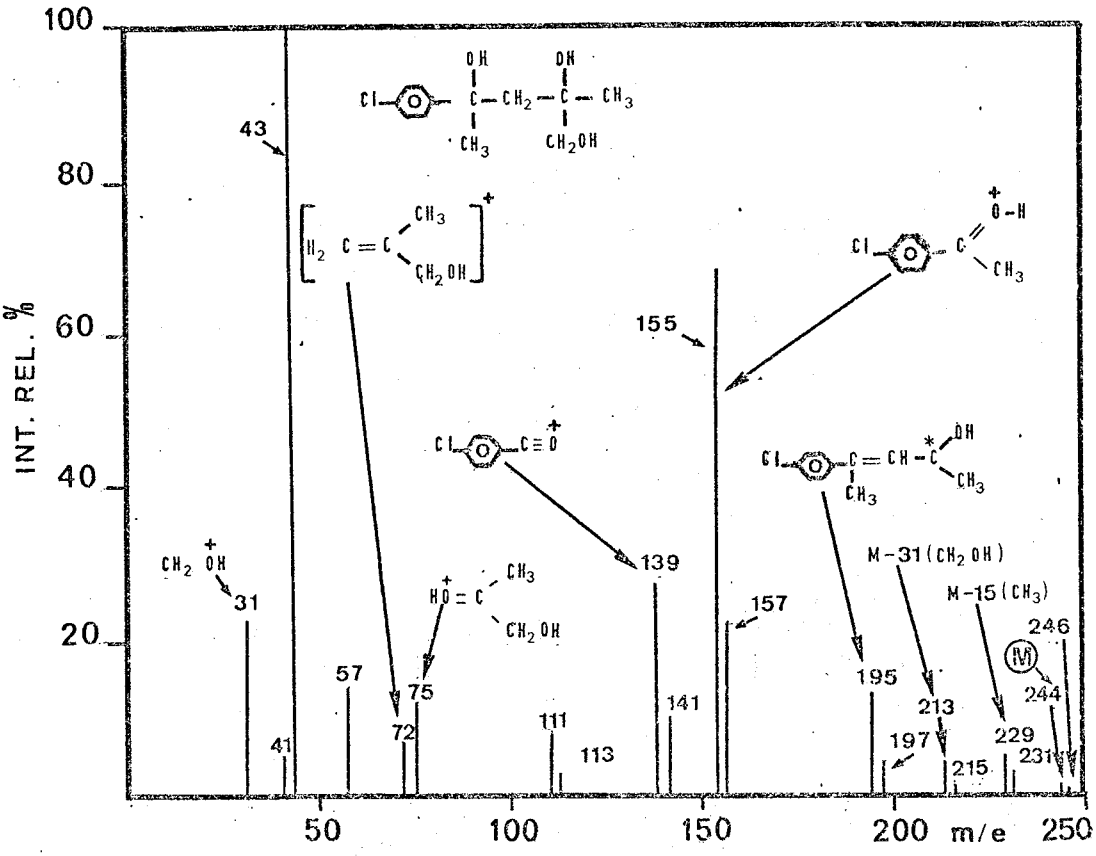


Figure 1 - Spectre de masse du métabolite de synthèse

La figure 1 schématise les principaux fragments obtenus et

indique le pic parent dont la masse correspond au poids moléculaire du métabolite : m/e 244.

I .3 - PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES DU FENPENTADIOL

I .3.1 - Solubilité

Les résultats sont donnés dans le tableau 2 :

- Tableau 2 - *Solubilité du fenpentadiol*

SOLVANTS	SOLUBILITE
Eau	insoluble à 20°C
Hexane	peu soluble
Ethanol	soluble
Ether	soluble
Chloroforme	soluble
Benzène	très soluble

Le fenpentadiol est une molécule particulièrement hydrophobe qui ne permet pas une détermination précise du coefficient de partage dans le mélange chloroforme/eau (rapport > à 1.000).

I .3.2 - Point de fusion instantané : 77°C.

I .3.3 - Spectre U.V

Dans l'hexane, à la concentration de 0,57 mg/ml, maximum, nous obtenons les valeurs présentes dans le tableau 3 .

- Tableau 3 - *Absorption dans l'U.V du fenpentadiol en solution dans l'hexane*

λ max	A	E_{max}
273	0,65	262
265	0,85	344
257	0,685	276

I .4 - CONDITIONS D'ADMINISTRATION ET D'EXPERIMENTATION

I .4.1 - Espèces animales

Nos expériences sont conduites sur deux espèces animales :

- rats Wistar* mâles, adultes, pesant 140 ± 10 g pour la plupart des expériences et 210 ± 10 g pour l'étude de l'élimination biliaire.

- porcs** "Large White" mâles et femelles d'un poids de 40 kg environ.

I .4.2 - Conditions d'administration

a) Doses et quantités de radioactivité administrées.

Le fenpentadiol-^{14}C est administré par voie intraveineuse soit chez le Rat à la dose de 30 mg/kg, soit chez le Porc à la dose de 5 mg/kg équivalente à la dose thérapeutique : 300 mg pour un homme de 60 kg.

* Elevage IFFA CREDO - Centre de Lyon - Les Oncins
** Elevage du CNRZ - La Minière 91

Par voie orale, la dose administrée est généralement de 100 mg /kg pour le Rat et de 5 mg/kg pour le Porc.

Chez le Rat, les quantités de radioactivité administrées sont de l'ordre de 130 µCi, à l'exception des animaux utilisés pour la mesure du $^{14}CO_2$ expiré : environ 25 µCi.

Pour le Porc, nous administrons le plus souvent des quantités de radioactivité de l'ordre de 300 µCi.

b) Nature de l'excipient

Le fenpentadiol étant insoluble dans l'eau, il est possible de remédier à cette difficulté en utilisant un surfactif (mouillant et émulsionnant) qui peut le "solubiliser" dans le sérum physiologique. Aussi, avons-nous choisi pour la plupart des expériences le Tween 80 dont l'emploi aux doses thérapeutiques n'offre aucun danger.

Le tableau 4 résume les conditions d'utilisation des excipients utilisés pour les administrations par voies intraveineuse et orale du fenpentadiol-^{14}C chez le Rat et le Porc.

- Tableau 4 - *Nature de l'excipient*

N° de l'excipient	COMPOSITION	Proportions V/V ou p/V	Observations
1	Tween 80 - Sérum physiologique	1 : 11	Voie iv
2	Tween 80 - Sérum physiologique	1 : 5	Voie orale (*à utiliser dans la journée*)
3	Propylène-glycol (PPG)-Sérum physiologique	9 : 1	Voie iv
4	Gomme arabique - eau	1 : 10	Voie orale

Chez le Porc, l'administration par voie orale du produit s'effectue par incorporation du fenpentadiol-^{14}C dans une petite quantité de nourriture ou par administration, à l'aide d'une sonde oesophagienne, du produit dissous dans le Tween 80. Le Rat reçoit également, à l'aide d'une aiguille boutonnée, le fenpentadiol-^{14}C dissous dans le Tween 80 ou en suspension dans de la gomme arabique à 10 % .

Quel que soit l'excipient utilisé, il nous paraît intéressant de noter que l'on retrouve toujours un important effet potentialisateur du fenpentadiol sur la durée du sommeil produit par le Nembutal, sans pour autant constater une différence significative entre les différents excipients soumis à l'essai. (62)

Notons, d'autre part, que le fenpentadiol-^{14}C est constamment dilué avec du produit "froid" pour atteindre la dose envisagée.

Enfin, les animaux sont toujours mis au jeûne la veille du jour où ils recevront le produit par voie orale.

c) Conditions d'expérimentation

Chez le Rat, les prélèvements sanguins sont effectués selon une technique de cathétérisme permanent de l'aorte qui consiste à implanter dans l'aorte thoracique un cathéter en polyéthylène introduit par la carotide gauche, et dont l'extrémité libre débouche à la base du cou : Waeldele et Stoclet (92).

Quant au Porc, nous prélevons le sang, sans difficulté, à l'aide d'un cathéter permanent au niveau des veines cave ou porte. D'autre part, le cathétérisme des voies biliaires permet de recueillir la bile sur le même sujet (58).

Pour les expériences comportant l'établissement de bilans ou, plus spécialement, pour l'étude des éliminations urinaire et fécale, l'animal est placé dans une cage métabolique dérivée de celle de Roth (80) et de dimensions adaptées à l'espèce étudiée ; cette cage permet de recueillir séparément les urines et les matières fécales.

Si la durée de l'expérience se prolonge, un dispositif en forme de tunnel autorise le Rat à s'alimenter normalement tout en lui évitant de souiller ses propres excréments par les débris alimentaires.

Dans le cas des expériences concernant la distribution du produit, le rat est sacrifié par ponction cardiaque sous légère anesthésie à l'éther. Dans tous les autres cas, en fin d'expérimentation, l'animal est sacrifié par narcose au chloroforme avant d'être éventuellement soumis à l'autopsie généralisée.

L'étude des cinétiques biliaires s'effectuant sur l'animal éveillé, le Rat est alors placé dans un appareil à contention dont les tiges de maintien, réglables à volonté, évitent une trop grande contrainte tout en laissant à l'animal la possibilité de boire et de se reposer facilement sur ses pattes. Cette technique, ainsi que la mise en place d'une fistule biliaire permanente cholédocienne, a été décrite précédemment (21).

I .5 - PREPARATION DES ECHANTILLONS ET MESURES DE LA RADIOACTIVITE

En ce qui concerne les techniques de la scintillation liquide appliquées à l'étude du métabolisme des médicaments, nous avons, le plus souvent, utilisé les méthodes préconisées par Glasson et Benakis (38) (39) (4).

I .5.1 - Préparation des échantillons

Les techniques de préparation des échantillons, élaborées préalablement à la mesure de la radioactivité en scintillation liquide, sont résumées dans le tableau 5 .

a) Echantillons sanguins

La mesure de la radioactivité du sang ou des hématies est faite sur une prise d'essai de 25 µl, solubilisée à l'aide d'un mélange (0,4 ml) de Soluène 100 (Packard) et d'Isopropanol (R.P)(1:1).

- Tableau 5 - *Résumé des conditions de préparation des échantillons pour la scintillation liquide*

ECHANTILLONS	PRISES	TECHNIQUES DE MESURE	SYSTEMES SCINTILLANTS
Plasma-urine	jusqu'à 1 ml	directe	10 ml.n°1
Bile	50-100 µl 5-10µl(cycle E.H)	directe	10 ml.n°1 +1ml OH_2 dist.
Liaions protéiniques (dialyse)	"aliquote" de 10 µl	directe	10 ml.n°1
Spot de silice (chromatoplaque)		extraction directe	10 ml.n°1
Solutions organiques (éther, alcool etc...)	10 - 50 µl	directe	10 ml.n°4
$^{14}CO_2$ expiré		directe	10 ml.n°5
Sang, Globules rouges	25 µl	Solubilisation dans 0,4 ml du mélange (SOLUENE 100 - Isopropanol 1/1)+0,1ml H_2O_2(110 Vol.)	19 ml.n°2
Organes et tissus frais	Organe entier à l'exception du foie (3x200 mg)	Solubilisation par le SOLUENE 100 (aliquote de 100mg)	10 ml.n°4
Poudre sèche (Selles-peau-"carcasse")	25 mg	suspension	10 ml.n°3 + 500mg de CAB.O.SIL.

La solution est ensuite décolorée par addition de 0,1 ml d'eau oxygénée, puis diluée dans 19 ml du système scintillant n°2.

La détermination du rapport érythro-plasmatique est effectuée en mesurant respectivement la radioactivité du plasma dans 10 ml d'Instagel (Packard) et celle des hématies comme il est indiqué pour le sang.

Ces dernières sont séparées par centrifugation du sang hépariné à 2.000 tours/minute pendant 15 minutes puis lavées à deux reprises à l'aide du sérum physiologique à 9 p.1000.

La mesure dans le plasma, des taux respectifs de fenpentadiol libre et de fenpentadiol lié aux protéines, est réalisée par la méthode de dialyse équilibrée selon les techniques de Plessas (70).

Il en est de même pour les techniques d'électrophorèse et d'immunoélectrophorèse qui sont utilisées pour séparer les fractions protéiniques qui ont éventuellement fixé le fenpentadiol.

b) Echantillons tissulaires

Pour l'étude de la distribution quantitative du fenpentadiol-^{14}C administré chez le Rat, nous mesurons, à des temps prédéterminés par les autoradiographies du Rat entier (20) et les cinétiques sanguines, la radioactivité au niveau des organes et tissus ainsi que la radioactivité éliminée par les voies urinaire et fécale.

L'animal est sacrifié par spoliation sanguine brutale et totale au niveau du coeur. Le volume de sang est mesuré et les organes sont prélevés par dissection, rincés au sérum physiologique, puis pesés à l'état frais.

Dans le cas des tissus, la prise d'essai concerne généralement l'organe entier, à l'exception du foie dont on prélève trois fractions aliquotes de 200 mg.

Les tissus sont ensuite solubilisés à 60°C, durant plusieurs heures en agitant de temps en temps, dans un volume de Soluène 100 (Packard) à raison de 1 ml pour 100 mg de tissu frais. Une partie aliquote de 100 mg est ensuite introduite dans une fiole de comptage contenant 10 ml du système scintillant n°4.

Tous les échantillons préparés sont conservés, à l'obscurité, à + 4°C.

Dans le cas des bilans obtenus après injection intraveineuse de fenpentadiol-^{14}C, la carcasse, c'est-à-dire le reste de l'animal comprenant le squelette, la masse musculaire, la peau et la queue, est congelée dans l'azote liquide.

Les opérations suivantes (broyage à froid et séchage sous vide, dégraissage à l'éther suivi d'un séchage sous vide, broyage à sec et tamisage) conduisent finalement à l'obtention d'une poudre très fine dont un échantillon (25 mg) est mis en suspension à l'aide d'un gel thixotropique : le Cab-O.Sil. (500 mg) avec 10 ml du système scintillant n°3.

Dans nos expériences, la peau (abdominale ou dorsale) est traitée séparément selon un mode opératoire identique.

Enfin, la radioactivité des fractions éthérées est mesurée dans 10 ml du système scintillant n°4, et les valeurs obtenues sont ajoutées à celles des poudres correspondantes.

c) Echantillons biologiques

- Urines : après mesure du volume urinaire, une prise d'essai variant entre 0,2 et 1 ml d'urine est mélangée à 10 ml du système scintillant n°1 (Instagel Packard).

- Matières fécales : les fèces, pesées à l'état frais, sont traitées dans les mêmes conditions que celles décrites pour la carcasse et la peau. La technique de mesure de la radioactivité est également identique.

- Bile : les prélèvements de bile varient le plus souvent entre 50 à 100 µl, mais les prises d'essai sont réduites à 5 ou 10 µl dans le cas du cycle entéro-hépatique. La bile est ensuite diluée dans 1 ml d'eau distillée préalablement à la mesure de la radioactivité dans 10 ml d'Instagel. (Packard).

- Air expiré : la mesure du $^{14}CO_2$ éliminé dans l'air expiré par le Rat est effectuée grâce à un dispositif désormais bien connu (4). Les animaux sont placés dans des cages à métabolisme dont l'atmosphère est régénérée par aspiration avec un débit* d'environ 350 à 400 c.c/min. Après séchage sur chlorure de calcium et saturation par le méthanol, le courant d'air passe dans des barboteurs contenant 10 ml du mélange absorbant : méthanol/éthanolamine (système scintillant n°5) réfrigéré par un bain de glace.

I .5.2 - Mesure de la radioactivité par scintillation liquide

Les comptages des échantillons s'effectuent en scintillation liquide.

- Spectromètre à scintillation liquide

Nous utilisons un spectromètre à scintillation liquide Packard, modèle Tri-Carb 3320, préalablement étalonné pour la mesure du carbone 14 (canal vert 50 - 1000, gain 7 p.100) et pour le contrôle de ces mesures par la méthode du standard externe (canal bleu 350 - ∞, gain 2 p.100).

- Systèmes scintillants

Pour nos systèmes scintillants, nous utilisons le PPO comme soluté primaire et le diméthyl-POPOP comme soluté secondaire .

- Pour les solutions aqueuses (plasma, urine, bile), nous utilisons le système scintillant n°1 qui est l'Instagel (Packard).

- Pour le sang complet et les hématies, et après préparation des échantillons, nous employons le système scintillant n° 2 qui se compose comme suit :

* Débitmètre - type rotamètre à bille de SHO RATE - BROOKS.

Instagel (Packard)	: 90 ml
HCl 0,5 N	: 10 ml

- Pour le comptage des poudres sèches maintenues en suspension par le Cab.O.Sil, nous utilisons le système scintillant n°3 :

* PPO	: 3 g
** diméthyl-POPOP	: 0,1 g
toluène	: Q.S.P 1 L

- Pour les solutions organiques et les tissus solubilisés, nous utilisons le système scintillant n°4 :

PPO	: 3 g
diméthyl-POPOP	: 0,1 g
naphtalène	: 100 g
dioxane	: 700 ml
toluène	: 300 ml

- Pour le comptage de l'éthanolamine-CO_2 ($^{14}CO_2$), nous utilisons le système scintillant n°5 :

PPO	: 5 g
diméthyl-POPOP	: 0,1 g
toluéne	: 330 ml
méthanol	: 400 ml
éthanolamine	: 270 ml

Au cours de ce travail, nous avons utilisé des flacons en verre au borosilicate dont le bruit de fond est très faible : environ 20 cpm.

*PPO : 2,5 diphényloxazole.
**diméthyl-POPOP : 1,4-bis-2(4-méthyl-5-phényloxazolyl)-benzène

- Efficacité de comptage - Correction du quenching.

En règle générale, nous corrigeons le quenching à l'aide de la méthode de l'étalon externe afin d'obtenir un rendement précis lors du comptage d'échantillons fortement colorés (foie, hématies, etc). Pour cela, nous établissons des courbes de correction pour chaque type d'échantillon. Dans les autres cas, nous utilisons la méthode de l'étalon interne (hexadecane-^{14}C comme référence) pour déterminer l'efficacité de comptage.

I .6 - ANALYSE CHROMATOGRAPHIQUE DES URINES, DE LA BILE ET DU SANG

I .6.1 - Techniques chromatographiques

La chromatographie sur couches minces (CCM) a permis de purifier le fenpentadiol-^{14}C, de séparer le médicament inchangé de ses métabolites au niveau des urines, de la bile et du sang et d'identifier le métabolite hydroxylé du fenpentadiol-^{14}C par comparaison avec le produit de référence.

a) Mode opératoire

Le support est un gel de silice de 0,25 mm d'épaisseur, sur plaque de verre. Il s'agit le plus souvent de plaques Silicagel F 254 (Merck) pour CCM.

Sur la même plaque sont déposés, d'une part, les préparations des échantillons biologiques, d'autre part, 20 à 50 µl d'une solution étalon de fenpentadiol-^{14}C (étalon externe).

Après séchage, les plaques sont soumises à une chromatographie ascendante dans une cuve à migration contenant le système chromatographique choisi.

Le tableau 6 indique la composition des six systèmes chromatographiques utilisés pour notre étude métabolique du fenpentadiol-^{14}C.

- Tableau 6 - *Composition des systèmes utilisés pour la chromatographie en couche mince*

N° du système	COMPOSITION	Proportions V/V	Durée à 24°C (h) pour les principaux systèmes utilisés
1	Benzène - acétate d'éthyle	70/30	~ 1,5
2	Ethanol - cyclohexane	20/80	1
3	Benzène - acétone	95/5	
4	n-Butanol - éthanol - eau	20/20/10	~ 10
5	n-Butanol - acide acétique - eau	50/25/25	~ 6
6	n-Butanol (saturé d'eau)		~ 7

Après migration, les plaques sont séchées puis mises en contact avec des films radiosensibles Eastman Kodak du type Kodirex (support bleu, émulsionné sur une face).

Les taux respectifs des différentes zones radioactives peuvent déjà être déterminés par enregistrement de la radioactivité des chromatoplaques à l'aide d'un compteur proportionnel, à circulation gazeuse, type Scanner II Berthold* L.B.2722 avec détecteur 2 Pi et enregistreur Autochrone x.y. Pour le ^{14}C, cet appareil permet d'obtenir, selon l'épaisseur de la couche, des rendements de 15 à 30 %, et sa sensibilité de détection, sur une zone radioactive, peut être de l'ordre de $10^{-3}\mu Ci$.

Cependant, dans la plupart des cas, la mesure de la radioactivité des différents spots est faite, après grattage, par mise en suspension de la silice dans un mélange de 10 ml d'Instagel et de 3 ml d'eau distillée, de manière à obtenir un gel stable pour maintenir dispersés les grains de silice.

* Berthold-France - 92 - La Garenne-Colombes

Un étalonnage préalable est fait à partir de dépôts sur plaque de quantités connues de ^{14}C afin de déterminer les facteurs de correction dus à l'auto-absorption du milieu.

b) Détermination des Rf

Le tableau 7 donne les Rf obtenus, en couche mince, dans les différents systèmes chromatographiques.

- Tableau 7 - *Rf des substances de référence dans les systèmes utilisés pour la chromatographie en couche mince*

PRODUITS \ SYSTEMES	1	2	3	4	5	6
Fenpentadiol-^{14}C	0,45	0,58	0,23	0,90	0,78	0,72
Fenpentadiol hydroxylé-^{14}C (métabolite-OH)	0,10	0,38	0,00	0,88	0,90	0,86

I .6.2 - Séparation du médicament inchangé et des métabolites Identification des produits de biotransformation du fenpentadiol-^{14}C.

La séparation du médicament inchangé et des produits de biotransformation du fenpentadiol-^{14}C s'effectue par chromatographie ascendante sur couches de silice (Silicagel F.254 Merck), pour tous les échantillons biologiques soumis à l'analyse : urine, bile, sang, plasma et hématies.

Le fenpentadiol-^{14}C inchangé et ses métabolites sont extraits du matériel biologique, à pH convenable, à l'aide de solvants classiques tels que l'éthanol et l'éther.

a) Analyse chromatographique des urines et de la bile

L'identification du fenpentadiol-^{14}C inchangé et de son métabolite radioactif est faite sur couches minces par comparaison de leurs Rf avec ceux des produits de référence dans divers systèmes chromatographiques (Tableaux 6 et 7).

Pour éviter une éventuelle déconjugaison des composés présents, les urines et la bile sont toujours conservées à -20°C. D'autre part, la radioactivité des prélèvements se situe entre 2 et 20.10^6 d.p.m.

Dans la plupart des cas, une fraction aliquote d'urine ou de bile est chromatographiée en couche mince préparative de Silicagel (Merck), dans le système n°1. Les zones radioactives sont localisées par autoradiographie, puis grattées et traitées plusieurs fois par un mélange eau-éthanol (50 : 50).

La récupération de la radioactivité initialement présente (dépôt) est de l'ordre de 95 %. L'identification dans l'urine ou la bile des métabolites du fenpentadiol-^{14}C susceptibles d'être éliminés, sous forme glucuro-ou-sulfo-conjuguée, nécessite une hydrolyse préalable du milieu. Cette hydrolyse doit être de préférence enzymatique en raison de la dégradation du fenpentadiol qui a été observée, à chaud, au cours de l'hydrolyse provoquée par l'HCl N (2 h à 50°C).

La phase hydroalcoolique est ensuite concentrée à l'évaporateur rotatif, sous vide, et l'hydrolyse enzymatique est réalisée sur l'extrait mis en solution dans 1 à 2 ml du tampon acétate (pH 5,4).

- acide acétique concentré : 0,16 ml
- acétate de sodium : 1,04 g
- eau distillée Q.S pour 100 ml de mélange

Nous utilisons comme enzymes :

- soit le suc d'Helix pomatia (Hélicase*) : 20.000 unités Fishman/ml de β-glucuronidase et 30.000 unités Roy/ml de sulfatase.

- soit la β-glucuronidase** qui titre 100 unités Fishman/mg.

- soit l'aryl sulfatase*** qui titre 1.000 unités sulfatase /0,118 g.

Les mélanges sont incubés durant 24 heures à 37°C. Pour contrôler le rendement de chaque hydrolyse, nous effectuons des essais à blanc (sans enzymes) de manière à obtenir le taux de l'hydrolyse réalisée par le tampon acétate (pH 5,4).

Après refroidissement de l'incubat, les composés radioactifs sont extraits, sous courant d'azote, par l'éther. Par rapport à la radioactivité initiale, le rendement est toujours de l'ordre de 95 %. L'extrait éthéré est ensuite chromatographié, en couche mince, dans les systèmes indiqués dans le tableau 6 , afin de comparer le ou les Rf obtenus avec ceux des produits de référence (tableau 7).

Nous pouvons ainsi déterminer le pourcentage de chaque produit déconjugué.

Les rendements d'hydrolyse sont les suivants :

- l'aryl sulfatase est pratiquement sans effet : le taux de déconjugaison n'est pas supérieur à celui qui a été observé au cours des essais à blanc (2 à 3 %).

Il est à noter qu'un second traitement n'améliore pas le rendement d'hydrolyse.

*"Hélicase"- Industrie Biologique Française, Gennevilliers,France
**β-glucuronidase Flüka, EUROBIO - PARIS
***aryl sulfatase Sigma, EUROBIO - PARIS

- la β-glucuronidase favorise l'hydrolyse, et l'on obtient après deux traitements successifs, des rendements d'hydrolyse de l'ordre de 70 %.

- le suc d'Helix pomatia permet une déconjugaison presque totale des extraits urinaires traités (> 95 %), et les Rf des composés retrouvés sont identiques à ceux que l'on a observé après hydrolyse par la β-glucuronidase.

Dans ces conditions, nous avons choisi le suc d'Helix pomatia pour assurer une déconjugaison quantitative de tous nos extraits, quelle qu'en soit l'origine : urine, bile ou sang.

Les hydrolyses enzymatiques des extraits urinaires permettent finalement de préciser la nature de la conjugaison. En outre, ces hydrolyses ont permis de déceler la présence d'un métabolite dont l'identité, déterminée par chromatographie, a pu être confirmée par synthèse du composé analogue.

Après séparation et purification de ce métabolite radioactif, la spectrométrie de masse a permis de contrôler son identité par comparaison avec le spectre de masse du produit de synthèse (figure 1).

Pour nos essais d'identification, nous utilisons un spectromètre de masse*, type VARIAN CH7 (système à impact d'électrons) dont les principales caractéristiques sont les suivantes :

- Source d'ions : énergie d'utilisation : 70eV, émission d'électrons : réglée à 100 µA, température variable de 120 jusqu'à 300°C, cathode en rhénium.

- Introduction directe : des échantillons (10 ng)entre 20 et 450°C (température utilisée : 80°C).

- Sensibilité relative : pour la détection de traces : 0,05 p.p.m.

* Appareil mis à notre disposition par le Département des Molécules marquées du CEN. SACLAY.

b) Analyse chromatographique du sang

Au niveau sanguin, le procédé d'extraction du fenpentadiol-^{14}C et de ses métabolites est identique à celui qui vient d'être décrit pour l'urine et la bile.

La figure 2 résume les conditions opératoires soit pour le sang, soit pour chacune des deux fractions sanguines : plasma et hématies.

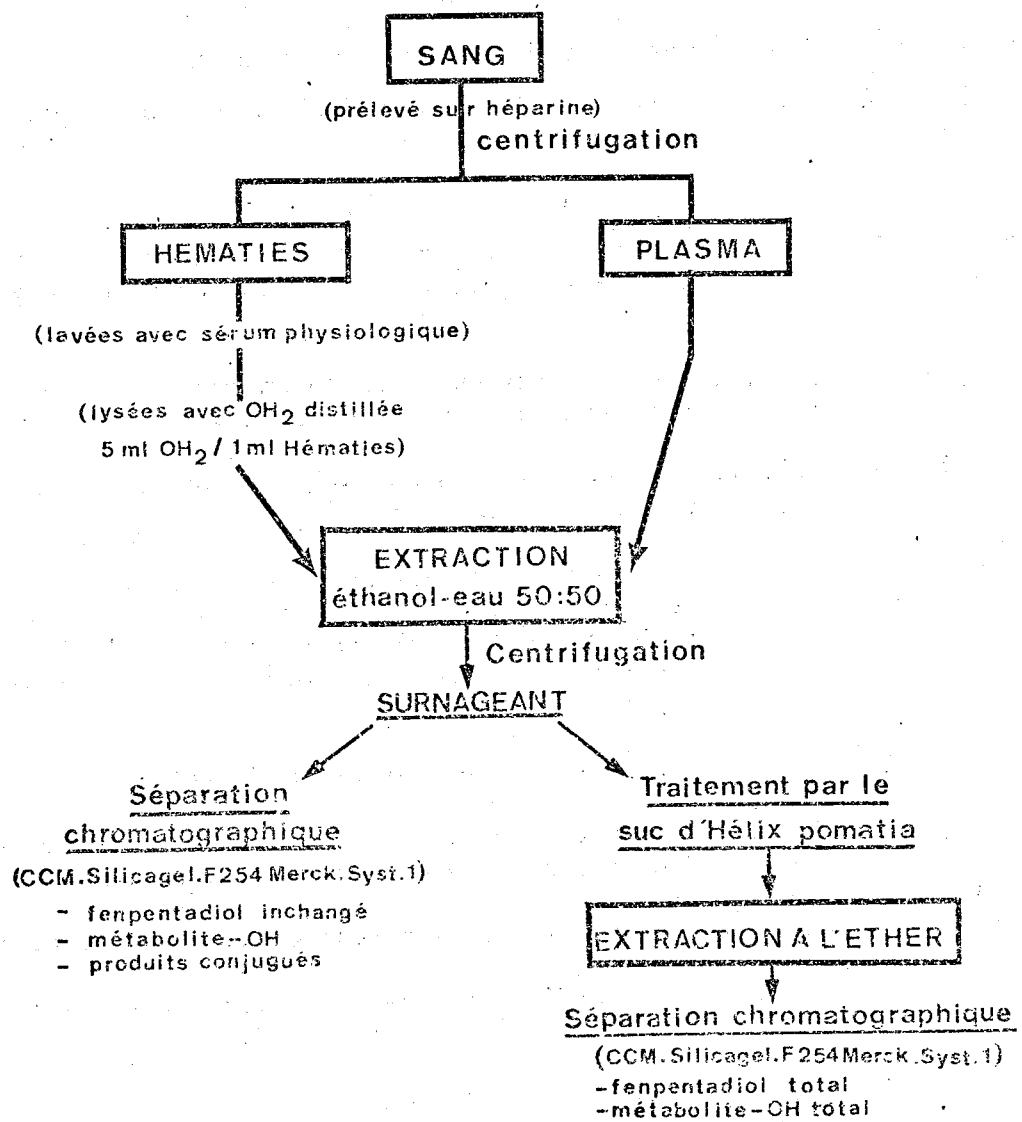


Figure 2 - Schéma du procédé d'extraction du fenpentadiol-^{14}C et des métabolites ^{14}C au niveau sanguin

Ce procédé d'extraction donne entière satisfaction puisque l'on retrouve, dans la phase terminale, plus de 95 % de la radioactivité totale mesurée préalablement sur une fraction aliquote de sang (Tableau 25).

I .7 - EXPLOITATION MATHEMATIQUE DES RESULTATS - ANALYSE COMPARTIMENTALE

I .7.1 - Rappel théorique de l'analyse pharmacocinétique

Pour un système ouvert à deux compartiments, la terminologie de l'analyse compartimentale est essentiellement la suivante :

Cp (µg/ml)..... - concentration en médicament dans l'organisme à chaque instant, t (concentration mesurée généralement dans le sang) ;

C°p (µg/ml)..... - concentration initiale en médicament obtenue graphiquement ou à l'aide du calculateur ;

A, B (µg/ml) ..... - valeurs de concentrations constantes pour chaque exponentielle ;

α, β (h^{-1})..... - constantes de vitesse correspondant aux différentes exponentielles, dites constantes de vitesse hybrides ("hybrid rate constants"). Le terme β désigne également la constante d'élimination apparente ;

k_{12}, k_{21} (h^{-1})..... - constantes de vitesse de distribution ;

k_{13} (h^{-1}) ..... - constante d'élimination (excrétion et métabolisme) encore appelée constante d'éliminuation vraie ;

X° (µg,mg ou mg/kg). - dose initiale administrée (voie intraveineuse) ;

X_B (µg ou mg)..... - quantité totale de médicament présente dans l'organisme à chaque instant, t ;

0,693/α (min.)..... - demi-vie correspondant à la phase rapide de la distribution ;

0,693/β (min.)..... - demi-vie correspondant à la phase lente de la distribution, ou période biologique du médicament ;

0,693/k_{13} (min.).... - demi-vie de l'élimination globale (excrétion et métabolisme) ;

Cltot.(ml/min. ou ml/kg/min.) ..... - clearance totale du médicament (excrétion et métabolisme) ;

Surf.(µg/ml.h) ..... - surface délimitée par la courbe de concentration sanguine entre t = o et t = ∞ ($\int_0^\infty$ Cpdt) ;

V_p (ml ou L/Kg) ..... - volume de distribution du médicament dans le compartiment central ;

$V_{T/p}$ (ml ou L/Kg)..... - volume de distribution du médicament dans le compartiment périphérique (tissulaire) ;

(Vd)ss (ml ou L/Kg)..... - volume de distribution du médicament à l'état d'équilibre stationnaire ("steady state condition") ;

(Vd)β (ml ou L/Kg) ..... - volume de distribution du médicament à l'état d'équilibre de pseudo-distribution.

(Vd)extrap.(ml ou L/Kg). - volume de distribution extrapolé à partir de la phase β ;

(Vd)surf.(ml ou L/Kg)... - volume de distribution calculé à partir de la surface délimitée par la courbe de concentration sanguine entre t = o et t = ∞.

Après injection intraveineuse d'un médicament, l'évolution des concentrations plasmatiques en fonction du temps est décrite le plus souvent par une équation biexponentielle de la forme :

$$Cp = A.e^{-\alpha t} + B.e^{-\beta t} \qquad \text{(Eq.1)}$$

L'équation 1 peut être interprétée selon la terminologie d'un modèle ouvert à deux compartiments représenté schématiquement par la figure 3.

Un tel modèle suppose :

1 - que l'organisme est constitué de deux compartiments (central et périphérique) de volumes respectifs (V_p et $V_{T/p}$), le compartiment central représentant généralement le sang total et les tissus fortement irrigués : foie, reins, coeur, cerveau..., et le compartiment périphérique regroupant les tissus et organes à échange lent, tels que le tissu adipeux, les téguments, les os ...;

2 - que la dose est administrée instantanément dans le compartiment 1, d'où elle s'échange ensuite de manière réversible entre 1 et 2, selon les constantes de vitesse k_{12} et k_{21} ;

3 - que l'élimination de la dose (excrétion et métabolisme) se fait à partir du compartiment 1 et est caractérisée par la constante k_{13} ;

4 - que les constantes de vitesse de distribution (k_{12} et k_{21}) et d'élimination (k_{13}) sont, en toute hypothèse, du premier ordre ;

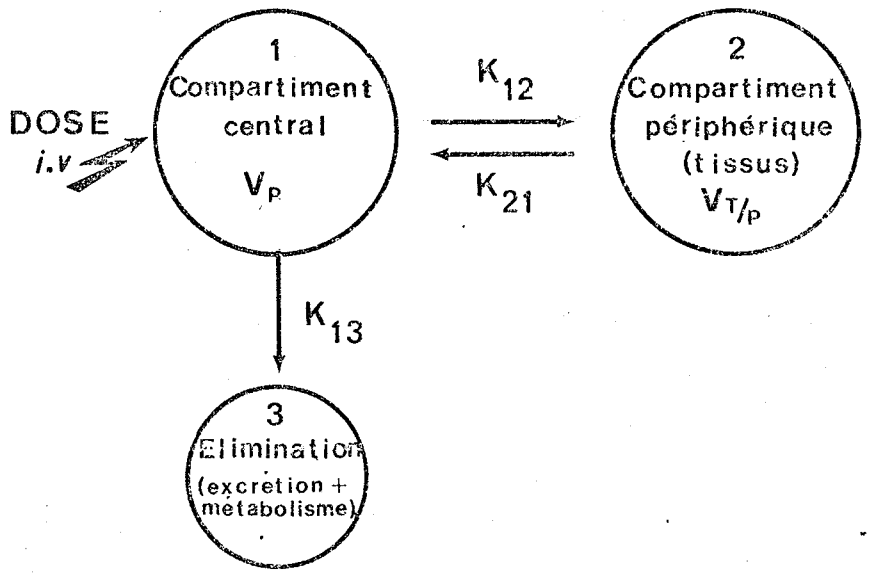


Figure 3 - Modèle ouvert à deux compartiments ; k_{12}, k_{21} et k_{13} sont les constantes de vitesse du premier ordre ; Vp et V_T/p sont les volumes apparents des deux compartiments.

Sur la base d'un système ouvert à deux compartiments, nous nous inspirerons tout particulièrement des conceptions de Riegelman et Coll (74) (75), de Gibaldi et Coll (31) et Gibaldi (32) pour présenter les grandes lignes de l'analyse pharmacocinétique.

Le compartiment central est le seul accessible pour les prélèvements, et l'analyse des échantillons sanguins donne finalement la concentration en médicament soit dans le sang, soit dans le plasma ou le sérum.

L'estimation des paramètres A, B, α, β est obtenue directement à partir de la courbe biexponentielle répondant à l'équation générale précédemment mentionnée (Eq.1).

D'après le modèle représenté par la figure 3 , les équations différentielles appropriées sont les suivantes :

$$dX_c/dt = - (k_{13} + k_{12})\, X_c + k_{21}\, X_T \qquad \text{(Eq.2)}$$

et $$dX_T/dt = k_{12}X_c - k_{21}X_T \qquad \text{(Eq.3)}$$

où X_c et X_T sont les quantités de médicament présentes respectivement dans les compartiments central et périphérique, après injection intraveineuse d'une dose X° dans le compartiment central, au temps $t = o$.

Les constantes k_{12}, k_{21} et k_{13} sont définies par les relations suivantes, découlant de l'intégration et du développement des équations 2 et 3 :

$$\alpha + \beta = k_{12} + k_{21} + k_{13} \qquad \text{(Eq.4)}$$

$$\alpha\, \beta = k_{21}\, k_{13} \qquad \text{(Eq.5)}$$

D'autre part, on peut observer que $C^\circ p = A + B$ à $t = o$

$$\text{ou } 1 = \frac{A}{C^\circ p} + \frac{B}{C^\circ p} = C_1 + C_2$$

et l'on peut également écrire :

$$\int_o^\infty Cpdt = \frac{A}{\alpha} + \frac{B}{\beta} = \frac{C^\circ p}{k_{13}} = \frac{\text{dose}}{Vp.k_{13}} \qquad \text{(Eq.6)}$$

dès lors $\left[k_{13}\right] = \dfrac{C°p}{\frac{A}{\alpha} + \frac{B}{\beta}} = 1/\ (C_1/\alpha + C_2/\beta)$ (Eq.7)

et $\left[k_{21}\right] = C_1\ \beta + C_2\ \alpha$ (Eq.8)

$\left[k_{12}\right] = C_1C_2\ (\beta-\alpha)^2\ /k_{21}$ (Eq.9)

Enfin, l'intégration et le développement des équations 2 et 3 donnent :

$X_c\ /\ X° = C_1.e^{-\alpha t} + C_2.e^{-\beta t}$ (Eq.10)

et $X_T\ /\ X° = C'_1.e^{-\alpha t} + C'_2.e^{-\beta t}$ (Eq.11)

où $X_c/X°$ et $X_T/X°$ sont les fractions de la dose initiale X° présentes respectivement dans les compartiments central et périphérique, au temps, t après l'injection intraveineuse du médicament.

Notons que l'on peut obtenir les valeurs de C'_1 et C'_2 par les équations suivantes :

$C'_1 = k_{12}\ /\ (\beta - \alpha)$ (Eq.12)

et $C'_2 = k_{12}\ /\ (\alpha - \beta)$ (Eq.13)

- <u>Définition de la clearance totale</u> (Cltot.)

Selon Bieder et Gaillot (7), en termes de pharmacocinétique la clearance serait plus significativement explicitée en remplaçant la notion de volume sanguin épuré par celle de la portion de volume de distribution exigée pour fournir la quantité de composé excrétée par unité de temps.

Dès lors, le calcul de la clearance totale découle de l'équation 6 :

$$\left[Cl\,tot\right] = \frac{dose}{\int_0^\infty Cpdt} = \frac{dose}{\frac{A}{\alpha} + \frac{B}{\beta}} = Vp.\ k_{13}$$

- Définition des volumes de distribution pour un modèle ouvert à deux compartiments

Dans un système ouvert à deux compartiments, il faut distinguer les volumes respectifs des compartiments central (Vp) et périphérique ($V_{T/p}$).

La forme d'expression la plus généralement utilisée détermine le volume de distribution (Vd)ss, au moment où les vitesses d'échange entre les deux compartiments sont identiques, ce qui revient à dire qu'à ce moment seul, le compartiment périphérique cède au compartiment central une quantité de médicament égale à celle qu'il reçoit de ce même compartiment central. Ce moment est défini comme un état d'équilibre stationnaire ("Stady state condition") par Riegelman et Coll (75) et comme état d'équilibre de distribution par Riggs (76).

A ce moment :

$$dX_T/dt = k_{12} X_c - k_{21} X_T = o \qquad \text{(Eq.14)}$$

$$\text{ou } k_{12} Vp\ Cp = k_{21} X_T \qquad \text{(Eq.15)}$$

$$\text{et } \left[V_{T/p}\right] = \frac{k_{12}}{k_{21}} . Vp = \frac{X_T}{Cp} \qquad \text{(Eq.16)}$$

et par définition, on peut écrire :

$$\text{Dose} = X^\circ = Vp.C^\circ p$$

$$\text{d'où } \left[Vp\right] = \frac{X^\circ}{C^\circ p} = \frac{X^\circ}{A + B} \qquad \text{(Eq.17)}$$

Le terme $V_{T/p}$ a été défini par Riggs (76) comme étant le volume de distribution du médicament dans le compartiment périphérique, en se référant aux données de concentrations sanguines expérimentales (Cp).

En conséquence, le volume total de distribution du médicament à l'état d'équilibre est :

$$\left[(Vd)\,ss\right] = Vp + V_{T/p} = \left(\frac{k_{21} + k_{12}}{k_{21}}\right) Vp \qquad \text{(Eq.18)}$$

Il est cependant nécessaire de noter que la valeur (Vd)ss possède un champ d'application assez limité ; en effet, si à partir de cette valeur et des concentrations sanguines Cp, on recherche la quantité totale de médicament, X_B, présente dans l'organisme à chaque instant, on constate que la relation :

$X_B = (Vd)ss.Cp$ n'est vérifiée qu'à l'instant où

$$\frac{dX_T}{dt} = o$$

c'est-à-dire à l'état d'équilibre stationnaire. Aux autres temps, X_B est soit surestimé (avant l'état d'équilibre), soit sousestimé (après cet état).

- Volume de distribution à l'état d'équilibre de pseudo-distribution $(Vd)_\beta$.

Nagashima et Coll (66) ont montré que l'état d'équilibre de pseudo-distribution est atteint, à un certain temps après l'administration du médicament, quand s'annule la première exponentielle, $A.e^{-\alpha t}$, de la courbe de concentrations sanguines (log Cp) en fonction du temps ; à cet instant, le segment terminal correspondant à la phase d'élimination (phase β) devient linéaire, et le rapport $\frac{X_T}{X_c}$ des fractions de la dose initiale réparties respectivement dans les deux compartiments, demeure constant :

$$\frac{X_T}{X_c} = \frac{f_T}{f_c}$$

où f_c et f_T sont les fractions de la quantité de médicament X_B (dans l'organisme) présentes respectivement dans les compartiments central et périphérique.

Dans la phase β les équations appropriées peuvent finalement s'écrire :

$$f_c = C_2 / (C_2 + C_2') \qquad \text{(Eq.19)}$$

$$\text{et } f_T = C_2' / (C_2 + C_2') \qquad \text{(Eq.20)}$$

A l'état d'équilibre de la pseudo-distribution, on a donc :

$$X_T / X_c = C_2' / C_2 \qquad \text{(Eq.21)}$$

$$\text{et } f_T / f_c = C_2' / C_2 \qquad \text{(Eq.22)}$$

Il peut aussi être démontré qu'à l'état d'équilibre de pseudo-distribution, la quantité totale de médicament présente dans l'organisme est donnée par l'équation suivante :

$$X_B = \frac{X_c}{f_c} = \frac{Vp.Cp}{f_c} \qquad \text{(Eq.23)}$$

$(Vd)_\beta$ est une constante de proportionnalité reliant les concentrations sanguines (Cp) à la quantité totale de médicament présente dans l'organisme (X_B) à un certain temps après atteinte de l'état d'équilibre de pseudo-distribution :

$$(Vd)_\beta \cdot Cp = X_B \qquad \text{(Eq.24)}$$

et par réarrangement des équations 23 et 24, on obtient :

$$\left[(Vd)_\beta\right] = \frac{Vp}{fc} \qquad \text{(Eq.25)}$$

Ainsi, $(Vd)_\beta$:

1 - exprime le volume total de distribution à partir du volume du compartiment central, Vp $\left(X^\circ/(A + B)\right)$

2 - permet de calculer les différentes valeurs de X_B à n'importe quel instant suivant l'établissement de l'équilibre de pseudo-distribution.

- Relation entre (Vd)surf et $(Vd)_\beta$

Riegelman et Coll (75) ont donné une méthode permettant de rechercher le volume de distribution, (Vd)surf, à partir de la surface délimitée par la courbe de concentration sanguine entre t = o et t = ∞.

Pendant la phase β, on peut écrire :

$$Cp = B.e^{-\beta t}$$

ou $\int_0^\infty Cpdt = \frac{B}{\beta} = \text{surface}$

et $$(Vd)surf = \frac{Dose}{B} = \frac{Dose}{\beta\ (surface)} \qquad (Eq.26)$$

Dans un système ouvert à deux compartiments, on obtient :

$$\left[(Vd)surf\right] = (Vd)ss + \left(\frac{k_{13} - \beta}{k_{21}}\right) Vp \qquad (Eq.27)$$

et d'autre part, comme : $(surface) = \frac{C°p}{k_{13}}$

on obtient la relation :

$$\left[(Vd)surf\right] = \frac{Dose.k_{13}}{\beta.C°p} = \frac{Vp.\ k_{13}}{\beta} \qquad (Eq.28)$$

et puisque Nagashima et Coll (66) ont montré que β est égal au produit de la constante d'élimination, k_{13} et de la fraction du médicament (f_c) présente dans le compartiment où l'élimination apparaît :

$$\beta = k_{13}.f_c \qquad (Eq.29)$$

dès lors : $$\left[(Vd)surf\right] = \frac{Vp}{f_c} \qquad (Eq.30)$$

On remarque que les valeurs $(Vd)_\beta$ et (Vd)surf sont identiques (voir équation 25).

- Méthode d'extrapolation

Riegelman et Coll (75) ont également défini le volume de distribution, (Vd)extrap. à partir de la phase β.

Comme à ce moment : $Cp = B.e^{-\beta t}$
l'extrapolation de cette dernière équation, au temps zéro, donne :

$$B = \frac{\text{Dose}}{(Vd)\text{extrap}} \quad \text{ou} \quad (Vd)\text{extrap.} = \frac{\text{Dose}}{B} \qquad \text{(Eq.31)}$$

Or dans un modèle ouvert à deux compartiments :

$$B = \frac{(k_{21} - \beta)}{(\alpha - \beta)} \cdot \quad C°p = \frac{(k_{21} - \beta)}{(\alpha - \beta)} \cdot \frac{\text{Dose}}{Vp} \qquad \text{(Eq.32)}$$

Dès lors : $\left[(Vd)\text{extrap.}\right] = \frac{(\alpha - \beta)Vp}{k_{21} - \beta}$ (Eq.33)

I .7.2 - Méthodes de calcul

L'analyse des équations biexponentielles peut se faire par trois méthodes :

a) Méthode graphique

La décomposition graphique de la courbe biexponentielle représentée par la figure 4 , en coordonnées semi-logarithmiques, peut se faire de la manière suivante :

- la pente, $\frac{-\beta}{2,303}$, de la partie linéaire terminale de la courbe est déterminée ;

- l'intersection de la droite ainsi obtenue, avec l'axe des ordonnées (t = o), donne la valeur de la constante B. Les points situés sur cette droite répondent à l'équation $B.e^{-\beta t}$;

- la différence entre les valeurs expérimentales (Cp) et les valeurs calculées ($B.e^{-\beta t}$), permet d'obtenir une droite de pente $\frac{-\alpha}{2,303}$;

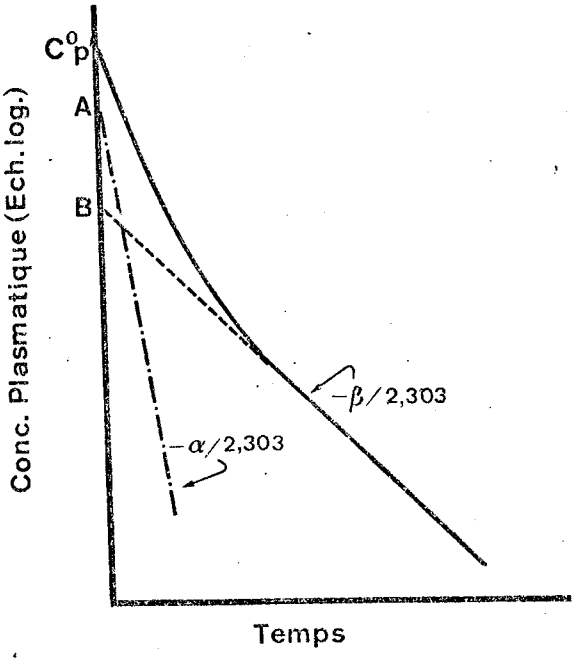


Figure 4 - Exemple de décomposition graphique d'une courbe de concentrations sanguines

- l'intersection de cette droite avec l'axe des ordonnées à t = o donne la valeur de la constante A.

L'équation générale de la courbe peut dès lors s'écrire :

$$Cp = A.e^{-\alpha t} + B.e^{-\beta t}$$

En outre, il est à remarquer que la décomposition graphique d'une courbe multiexponentielle du type :

$Cp = A.e^{-\alpha t} + B.e^{-\beta t} \ldots + N.e^{-nt}$ peut se faire de la même manière.

En pratique, cette méthode est peu satisfaisante car il est très difficile de déterminer avec précision les premiers points de la courbe des concentrations sanguines.

b) Méthode de calcul analogique

Le calculateur analogique permet de construire grâce à la variation d'un certain nombre de paramètres tels que voltage,

résistance, capacité, une courbe analogue simulant la courbe expérimentale.

L'emploi d'un tel appareil électronique nous a permis d'ajuster correctement une courbe triexponentielle afin de nous approcher au plus près de la courbe expérimentale : DORMARD et LEVRON (22).

c) Méthode de calcul numérique

Pour résoudre nos problèmes de lissage des courbes de concentrations sanguines et pour déterminer les paramètres pharmacocinétiques, nous avons, dans la plupart des cas, utilisé un calculateur programmable algébrique, type Hewlett-Packard 9820 A muni de son traceur analogique X-Y.

Le langage algébrique d'utilisation facile, de ce type de calculateur, nous a simplifié la programmation du calcul des coefficients d'une courbe biexponentielle.

Le principe même de cette programmation est basé sur l'application directe de la méthode graphique. Le programme peut également convenir à la résolution d'une courbe sanguine présentant l'allure d'une triexponentielle si le nombre de points expérimentaux est suffisant. En fait, le calculateur programmable nous a permis, par sa souplesse d'utilisation et l'autonomie qu'il accorde à l'expérimentateur, de résoudre la plupart de nos problèmes de pharmacocinétique.

Le calculateur programmable permet également de mesurer la surface sous la courbe des concentrations sanguines après administration par voies intraveineuse et orale du médicament. On peut ainsi déterminer la biodisponibilité relative du principe actif lui-même qui correspond selon Devissaguet et Coll (18) à la première phase, pharmacocinétique, d'une étude biogalénique d'un médicament.

Enfin Hirtz (44), passant récemment en revue les différentes méthodes mises en oeuvre pour la détermination de la disponibilité biologique d'un médicament, souligne l'intérêt évident du calculateur

II - RESULTATS

II.1 - ABSORPTION ET DISTRIBUTION DU FENPENTADIOL-^{14}C

II.1.1 - Cinétique du taux sanguin et distribution quantitative chez le Rat après administration de 30 mg/kg de fenpentadiol-^{14}C par voie intraveineuse

L'étude de la cinétique sanguine est réalisée sur une période de 12 heures en prélevant le sang dans l'aorte thoracique 3, 7, 15, 30 minutes, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 et 12 heures après l'injection intraveineuse du fenpentadiol-^{14}C (30 mg/kg) dissous dans le solvant 1. La figure 5 montre que le taux sanguin, exprimé en µg équivalent de fenpentadiol-^{14}C /ml de sang, décroît exponentiellement et passe d'une valeur initiale de 21,7 µg/ml à une valeur de 2,77 µg/ml, 12 heures après l'injection du produit.

La distribution quantitative du fenpentadiol-^{14}C est étudiée en sacrifiant les rats 5, 30 minutes, 3 et 12 heures après l'injection du produit. Pour chaque temps de sacrifice, les expériences ont été répétées au moins trois fois. Le sang est prélevé par ponction cardiaque et les valeurs sont exprimées en µg équivalent de fenpentadiol par ml. D'autre part, la carcasse, la peau et la queue sont traitées séparément afin d'obtenir une meilleure homogénéité des échantillons à compter.

Les résultats sont exprimés soit en pourcentage de la radioactivité retrouvée par rapport à la radioactivité injectée, soit en µg équivalent de fenpentadiol par g d'organe frais (tableaux 8 et 9).

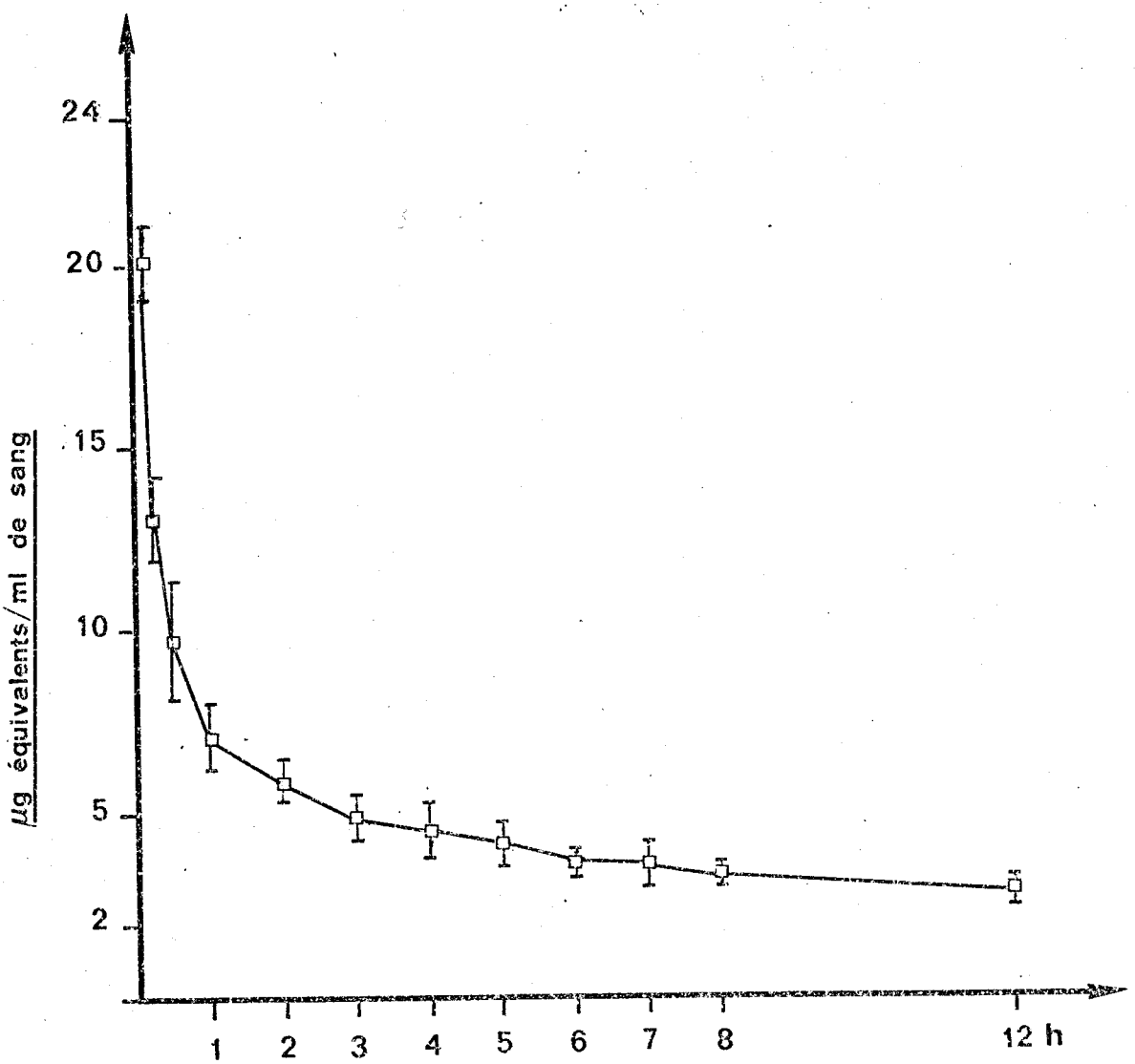


Figure 5 - Cinétique sanguine chez le Rat après administration de 30 mg/kg de fenpentadiol-^{14}C par voie intraveineuse - Moyenne sur 8 animaux (± σ).

L'étude de la distribution du fenpentadiol dans les organes montre, 5 minutes après l'injection intraveineuse du produit, que la plus forte proportion se situe dans le foie, la carcasse (y compris la queue), la peau et l'intestin grêle, ces quatre organes retenant au total plus de 80 % de la dose administrée. Les autres organes, tels le coeur, les poumons ou l'estomac, n'en contiennent qu'un taux inférieur à 1 %. Les reins et le cerveau retiennent respectivement en moyenne 1,8 et 1,1 % de la dose injectée.

- Tableau 8 - *Bilans 5 et 30 min. Distribution de la radioactivité et du fenpentadiol-^{14}C (µg équivalent) chez le Rat après injection intraveineuse (30 mg/kg).*

ANIMAUX SACRIFIES après →	5 min						30 min					
RAT n°	1		2		3		4		5		6	
ORGANES	% dose	µg/g	% dose	µg/g	% dose	µg/g	% dose	µg/g	% dose	µg/g	% dose	µg/g
FOIE	8,39	70,80	10,82	91,86	8,97	71,46	6,05	46,84	13,09	94,98	5,94	48,45
REINS	1,53	53,47	1,65	64,30	2,21	78,31	1,15	45,03	1,40	45,81	1,81	62,90
POUMONS	0,80	35,03	0,93	38,58	0,67	33,07	0,48	19,81	0,53	23,95	0,46	20,40
RATE	0,28	26,55	0,38	26,08	0,33	23,94	0,15	15,13	0,35	20,17	0,34	16,57
COEUR	0,45	30,61	0,52	37,84	0,43	29,65	0,26	20,89	0,30	23,53	0,27	22,32
CERVEAU	0,98	35,40	1,29	46,66	0,92	34,59	0,53	21,61	0,70	22,90	0,52	21,30
CERVELET	0,24	37,24	0,28	47,40	0,19	34,21	0,21	32,78	0,14	22,60	0,10	21,10
MOELLE EPINIERE	0,55	46,10	0,63	58,42	0,46	41,43	0,31	25,58	0,28	29,42	0,27	27,62
YEUX	0,05	9,22	0,07	12,86	0,08	13,68	< 0,01	1,80	0,04	7,98	0,03	6,80
ESTOMAC	0,83	35,77	0,66	29,02	0,82	33,83	0,35	17,29	0,57	21,01	0,82	33,58
INTESTIN GRELE	4,94	39,09	4,38	42,25	4,66	41,05	9,64	107,72	4,31	50,85	3,70	53,55
GROS INTESTIN	0,91	22,49	1,24	30,49	0,93	23,56	0,73	21,61	0,74	18,49	0,52	16,57
VESSIE	0,04	24,34	0,03	22,04	0,15	84,77	0,15	101,96	0,13	95,82	0,23	191,67
PEAU DORSALE	2,70	15,85	2,85	16,90	3,58	17,86	4,58	20,53	3,39	23,53	4,93	28,47
PEAU ABDOMINALE	1,04	10,69	1,68	18,74	2,27	24,32	3,28	40,35	3,53	39,90	3,19	34,00
CARCASSE +QUEUE	62,70	29,50	64,94	33,07	60,13	28,89	56,63	25,22	64,50	34,88	62,20	33,57
FECES	0,48	12,90	0,15	4,77	0,37	9,50	0,21	3,24	0,29	3,78	0,17	5,95
URINE	0,24	114,69	-	-	-	-	2,43	350,21	2,44	341,70	4,73	1005,12
SANG TOTAL	2,30	19,91	3,12	23,51	4,91	22,42	1,62	10,80	1,50	12,18	1,69	14,02
$^{14}CO_2$	< 0,01		< 0,01		< 0,01		< 0,01		< 0,01		< 0,01	
BILAN	89,46		95,63		92,09		88,78		98,24		91,93	

- Tableau 9 - *Bilans 3 et 12 h. Distribution de la radioactivité et du fenpentadiol-^{14}C (µg équivalent) chez le Rat après injection intraveineuse (30 mg/kg).*

ANIMAUX SACRIFIES après ⟶	3 h						12 h					
RAT n°	7		8		9		10		11		12	
ORGANES	% dose	µg/g	% dose	µg/g	% dose	µg/g	% dose	µg/g	% dose	µg/g	% dose	µg/g
FOIE	3,48	32,79	3,76	27,02	3,60	28,83	1,10	7,85	1,54	11,38	0,85	5,97
REINS	0,55	19,53	0,55	18,83	0,64	22,65	0,18	5,98	0,24	7,06	0,26	7,56
POUMONS	0,23	12,52	0,31	13,10	0,25	11,12	0,04	1,12	0,08	3,14	0,05	2,38
RATE	0,10	9,58	0,18	8,59	0,15	8,65	< 0,01	0,74	0,02	1,57	0,03	1,99
COEUR	0,16	11,79	0,17	12,28	0,16	11,94	< 0,02	1,12	0,04	2,74	0,03	1,99
CERVEAU	0,35	12,89	0,34	13,51	0,40	14,00	0,02	0,74	0,06	2,35	0,04	1,59
CERVELET	0,14	15,84	0,08	14,73	0,08	14,82	0,01	1,97	0,01	1,57	> 0,01	1,99
MOELLE EPINIERE	0,12	19,53	0,21	17,60	0,16	18,12	0,01	0,74	0,04	3,14	0,02	1,59
YEUX	0,03	5,52	0,04	8,18	0,03	5,35	-	-	-	-	-	-
ESTOMAC	0,37	20,26	0,30	13,10	0,40	15,65	0,23	6,73	0,17	7,46	0,17	7,96
INTESTIN GRELE	7,40	82,54	5,02	59,77	8,28	108,74	3,88	31,79	11,18	62,83	4,17	37,83
GROS INTESTIN	0,67	18,42	0,49	12,28	0,34	10,71	2,54	48,24	0,15	4,32	1,07	27,48
VESSIE	0,02	15,04	0,01	9,52	0,02	16,88	0,06	42,26	0,01	7,46	0,04	32,26
PEAU DORSALE	3,50	16,21	1,57	8,59	1,18	6,59	0,17	0,74	0,23	1,17	0,22	1,19
PEAU ABDOMINALE	1,43	26,16	1,40	14,33	1,45	14,00	0,09	1,12	0,11	1,57	0,17	1,59
CARCASSE + QUEUE	55,35	26,90	69,16	36,43	60,29	30,06	30,39	15,70	20,63	10,60	29,54	15,53
FECES	0,40	4,42	0,31	9,00	0,49	8,23	11,27	188,12	0,22	4,71	5,34	196,36
URINE	10,40	3832,0	8,95	3664,0	9,22	3798,0	40,63	723,31	62,34	1560,0	46,54	1090,0
SANG TOTAL	0,82	7,00	1,18	9,41	1,02	7,41	0,14	1,12	0,56	4,32	0,17	1,19
$^{14}CO_2$	< 0,01		< 0,01		< 0,01		< 0,01		< 0,01		< 0,01	
BILAN.....	85,53		94,04		88,17		90,79		97,64		88,73	

Cependant, en rapportant les valeurs obtenues au gramme de tissu frais, on constate que la concentration dans le cerveau ou le cervelet représente à peu près la moitié de celle du foie frais. D'autre part, le cerveau montrant une concentration radioactive correspondant à 38,9 µg/g de fenpentadiol-^{14}C, on doit conclure du fait que cette concentration est significativement supérieure à la concentration sanguine (21,9 µg/ml) qu'elle traduit la diffusion du fenpentadiol à travers la barrière hémo-méningée.

L'examen des autres résultats amène les commentaires suivants :

- 30 minutes après l'injection, nous observons toujours une très forte distribution de la radioactivité au niveau du foie, des reins, de la vessie, de l'intestin grêle et de l'ensemble : cerveau, cervelet, moelle épinière. Toutefois, les concentrations commencent à décroître, à l'exception des organes d'élimination, et de la peau qui capte à ce temps de sacrifice, le maximum de radioactivité soit environ 3,8 % de la dose injectée.

- 3 heures après l'injection, nous notons une décroissance de plus en plus accentuée de la concentration radioactive au niveau de tous les organes ou tissus examinés, mais nous trouvons toujours une accumulation de la radioactivité dans l'intestin grêle.

- 12 heures après l'injection, nous retrouvons encore une accumulation assez notable au niveau du foie (8,4 µg/g), de l'estomac (7,4 µg/g) et des organes d'élimination : reins, vessie et intestins.

II .1.2 - Absorption et distribution du fenpentadiol-^{14}C chez le Rat après administration par voie orale (30 et 100 mg/kg)

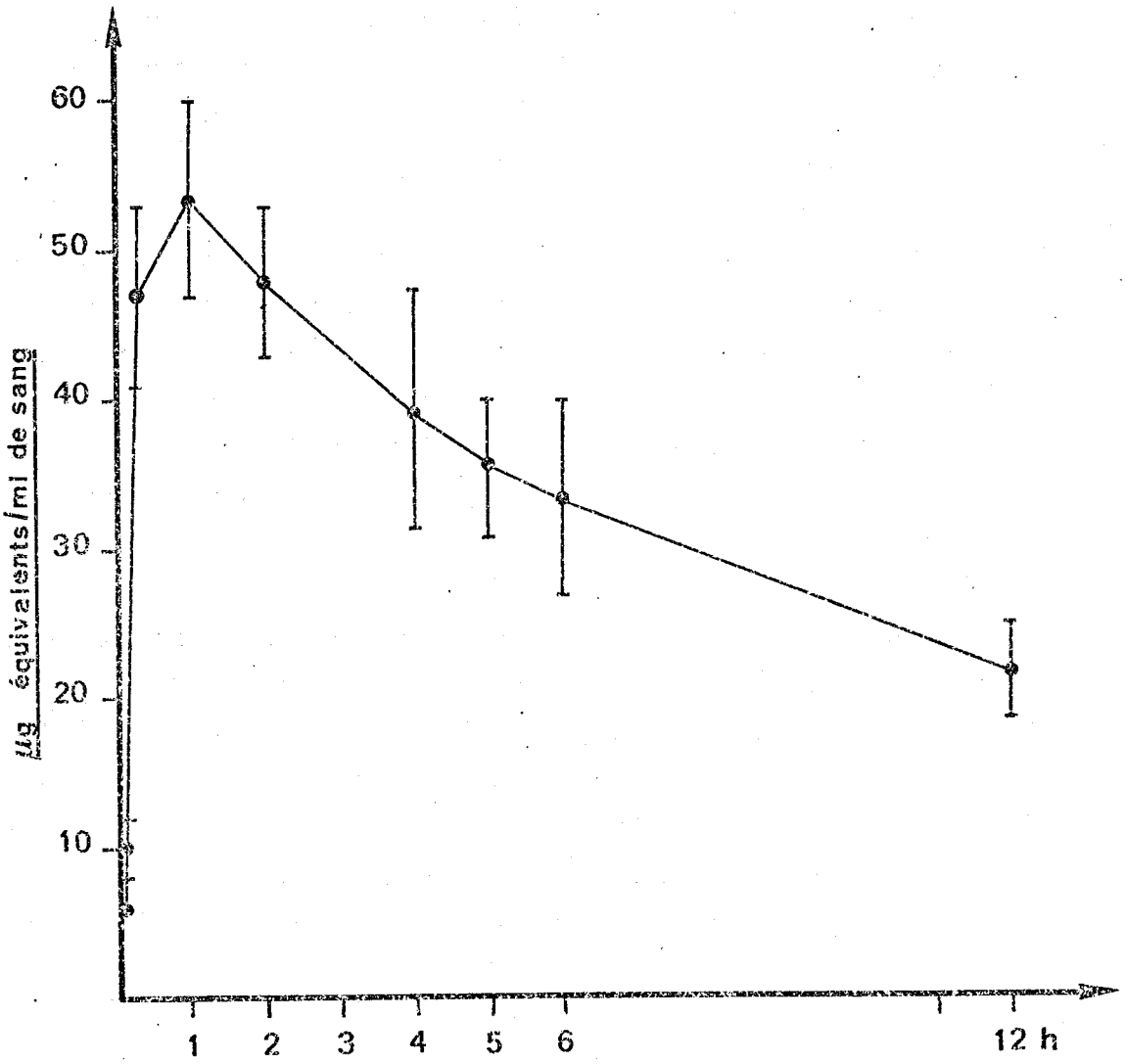


Figure 6 - Taux sanguin du fenpentadiol et de ses métabolites radioactifs chez le Rat après administration orale (dose : 100 mg/kg)
- Moyenne sur 4 Rats (± σ).

La figure 6 montre l'évolution en fonction du temps des taux sanguins chez le Rat (moyenne sur 4 animaux) après administration par voie orale d'une dose de 100 mg/kg de fenpentadiol-^{14}C.

Les prélèvements sanguins sont effectués dans l'aorte thoracique 3, 7, 15 minutes, 1, 2, 4, 5, 6 et 12 heures après l'administration du produit dissous dans le solvant 2.

La résorption du fenpentadiol-^{14}C par la muqueuse intestinale est rapide puisque le temps nécessaire pour atteindre le point maximum de la phase d'absorption (53,5 µg/ml) peut être estimé sur la courbe à environ 30 minutes. La concentration sanguine décroît ensuite exponentiellement jusqu'au dernier prélèvement soit 22 µg/ml, 12 heures après l'administration du fenpentadiol-^{14}C.

Une étude quantitative de la distribution a également été réalisée au niveau du foie, du cerveau, de l'estomac, des intestins (y compris les fèces) et du sang. Les rats reçoivent une dose de 100 mg/kg de fenpentadiol par voie orale ; ils sont sacrifiés 15, 60 minutes, 3 et 5 heures après l'administration du produit. Pour chaque temps de sacrifice, les expériences ont été répétées au moins tois fois.

Les tableaux 10 et 11 montrent les résultats exprimés en pourcentage de la dose administrée ou en µg/g d'organe frais, à l'exception du tractus gastro-intestinal et des fèces.

La radioactivité localisée au niveau du foie est plus importante et le taux maximum retrouvé 15 minutes après l'administration (environ 10 %) confirme la rapidité de la résorption intestinale du fenpentadiol.

Si l'on examine les résultats trouvés au niveau du cerveau, on constate que la concentration est assez importante puisqu'elle représente 34 % de la concentration hépatique 15 minutes après l'administration.

On peut également noter que les concentrations dans le cerveau sont toujours supérieures à celles trouvées dans le sang.

- Tableau 10 - *Distribution de la radioactivité et du fenpentadiol-^{14}C (µg équivalent) chez le Rat sacrifié 15 et 60 min. après administration orale (100mg/kg)*

ANIMAUX SACRIFIES après →	15min						60min					
RAT n°	13		14		15		16		17		18	
ORGANES	% dose	µg/g	% dose	µg/g	% dose	µg/g	% dose	µg/g	% dose	µg/g	% dose	µg/g
SANG TOTAL	0,25	36,27	0,19	26,67	0,23	32,42	0,20	29,05	0,24	33,63	0,21	29,51
FOIE	8,27	224,87	10,11	297,69	10,84	353,85	6,63	204,80	6,25	166,79	5,79	175,67
CERVEAU	1,26	104,45	1,01	91,27	1,17	105,73	1,05	98,77	0,93	84,09	0,98	87,13
ESTOMAC	4,23	668,81	3,46	605,21	3,09	534,31	1,88	257,09	1,91	298,54	0,88	129,30
TRACTUS GASTRO-INTESTINAL+FECES	30,71		28,82		31,05		33,61		31,23		31,94	

- Tableau 11 - *Distribution de la radioactivité et du fenpentadiol-^{14}C (µg équivalent) chez le Rat sacrifié 3 et 5 h après administration orale (100 mg/kg)*

ANIMAUX SACRIFIES après →	3 h						5 h					
RAT n°	19		20		21		22		23		24	
ORGANES	% dose	µg/g	% dose	µg/g	% dose	µg/g	% dose	µg/g	% dose	µg/g	% dose	µg/g
SANG TOTAL	0,16	24,12	0,18	24,57	0,19	26,61	0,18	26,15	0,16	22,87	0,14	19,96
FOIE	4,17	144,72	4,38	135,13	4,38	140,06	4,47	130,75	4,26	107,21	3,71	99,81
CERVEAU	0,82	73,86	0,81	66,88	0,88	77,03	0,82	68,28	0,58	57,18	0,47	44,20
ESTOMAC	0,72	125,12	0,61	96,91	0,64	110,64	0,42	65,37	0,23	41,45	0,33	58,46
TRACTUS GASTRO-INTESTINAL+FECES	31,84		35,97		30,25		32,18		39,07		42,71	

Enfin, la radioactivité retrouvée dans le tractus gastro-intestinal représente plus de 30 % de la dose administrée pour chaque temps de sacrifice étudié.

II .1.3 - Etude de la biodisponibilité du fenpentadiol-^{14}C chez le Rat

L'Etude de la biodisponibilité relative de la molécule marquée est réalisée sur deux lots de 3 rats qui reçoivent une dose de 30 mg/kg de fenpentadiol-^{14}C soit par voie intraveineuse (solvant 1), soit par voie orale (solvant 2).

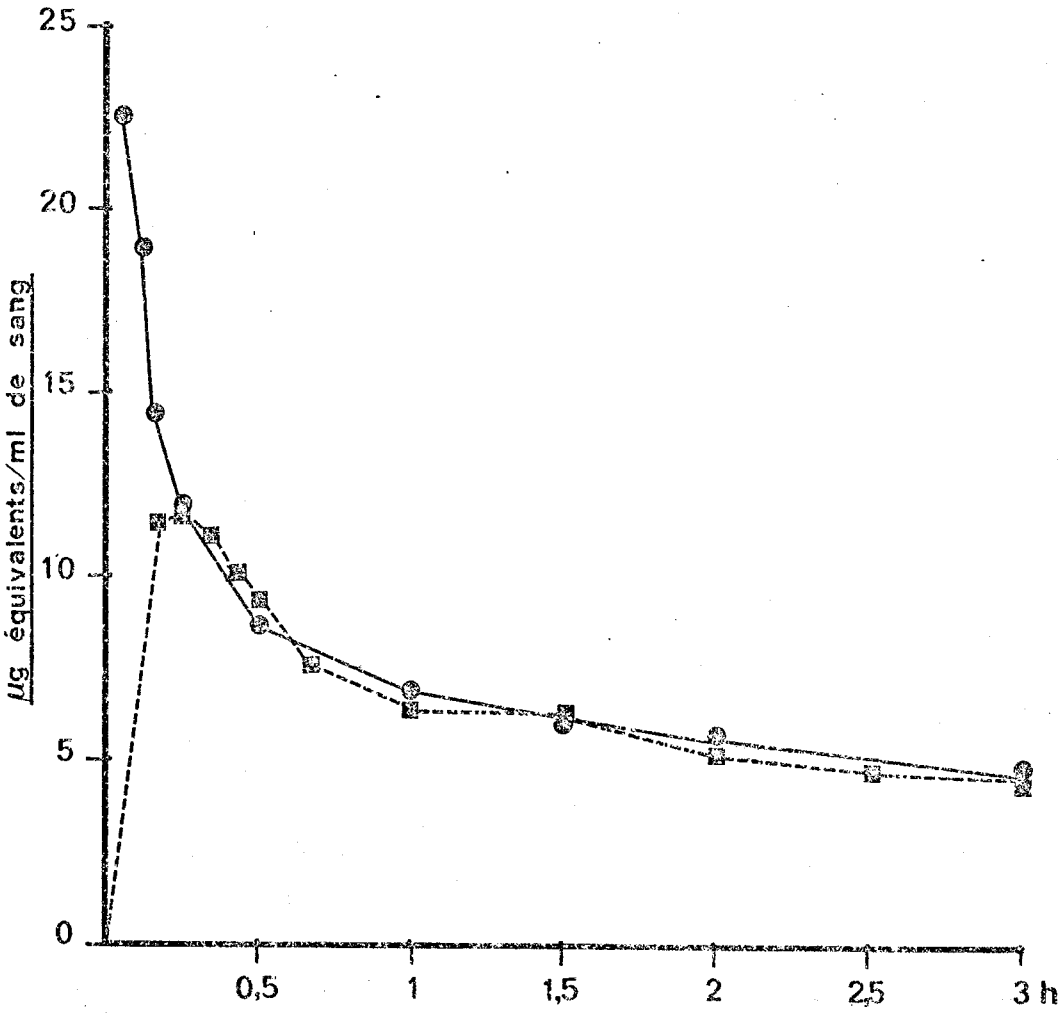


Figure 7 - Evolution comparée du taux de radioactivité sanguine entre la voie intraveineuse et la voie orale (courbe en pointillés) après administration de fenpentadiol ^{14}C chez le Rat (30 mg/kg).
- Moyenne sur 3 animaux pour chaque expérience.

Les courbes de concentration sanguine du fenpentadiol-^{14}C (figure 7) sont établies sur une période de 3 heures en prélevant le sang dans l'aorte thoracique, 3, 7, 10, 15, 30 minutes, 1, 2, et 3 heures après l'injection intraveineuse et 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50 minutes, 1, 1,5, 2, 2,5 et 3 heures après l'administration par voie orale.

Après l'injection du produit, la courbe de la figure 7 montre que le taux sanguin décroît exponentiellement d'une valeur initiale de 22,5 µg/ml (3 minutes après l'injection) à une valeur finale de 4,7 µg/ml (3 heures après l'injection).

L'absorption du fenpentadiol par la muqueuse intestinale est rapide puisque le taux sanguin maximum est atteint en moins de 15 minutes après l'administration par voie orale du produit. La figure 7 montre également que la courbe "*iv*" coupe la courbe "*orale*" au voisinage de son taux maximum et les deux courbes sont ensuite identiques jusqu'au dernier temps de l'étude. Ces observations indiquent déjà que la biodisponibilité du fenpentadiol est pratiquement totale chez le Rat. En fait, si l'on calcule les surfaces ($\int_0^{3h}$) sous chaque courbe des taux sanguins, on obtient les valeurs de 1248 et 1157 (calcul point par point à l'aide du calculateur type : Helwett-Packard) respectivement pour les voies intraveineuse et orale. Finalement, le rapport de ces surfaces indique pour le fenpentadiol un taux de biodisponibilité voisin de 93 % de la dose administrée.

II .1.4 - Cinétique sanguine et biodisponibilité chez le Porc après administration de 5 mg/kg de fenpentadiol-^{14}C par voie intraveineuse et par voie orale

Cette étude est réalisée sur un jeune porc mâle de 45 kg qui reçoit, à dix jours d'intervalle, deux administrations successives de fenpentadiol-^{14}C, soit pour chacune 300 µCi correspondant à la dose équivalente thérapeutique de 5 mg/kg. La première de ces administrations est effectuée par voie intraveineuse (solvant 2) et la seconde, par voie orale en incorporant le produit dans une petite quantité de nourriture.

L'évolution du taux sanguin est suivie durant huit heures au niveau de la veine porte dans le cas de l'administration orale et de la veine cave après l'injection intraveineuse du produit.

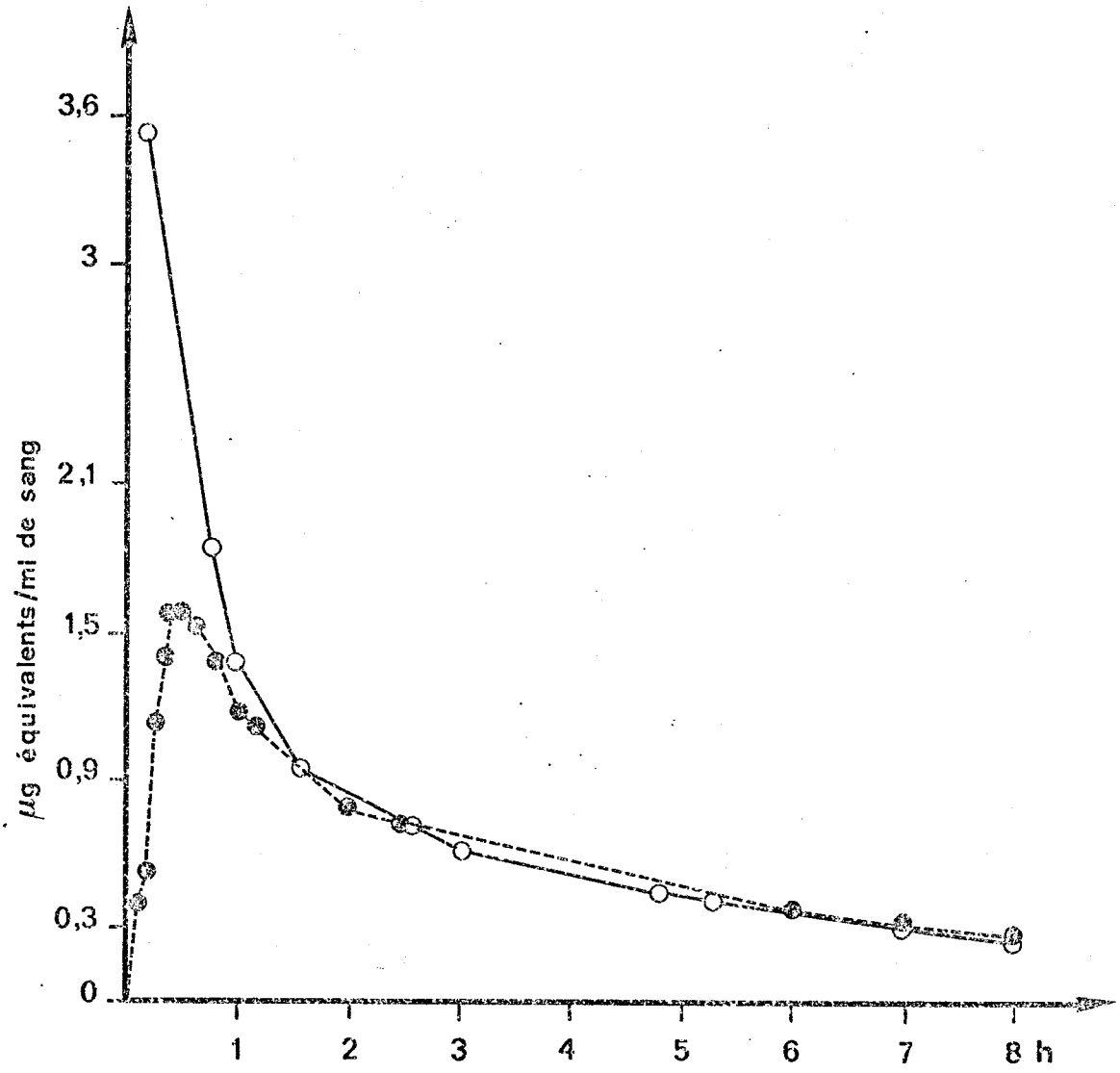


Figure 8 - Evolution comparée du taux de radioactivité sanguine du fenpentadiol-^{14}C (5mg/kg) entre la veine porte (courbe en pointillés) (administration orale) et la veine cave (injection *iv*) chez le Porc n°6.

La figure 8 montre les cinétiques sanguines du fenpentadiol qui correspondent, l'une et l'autre, à une somme d'exponentielles.

Nous pouvons ainsi observer que le taux sanguin décroît rapidement d'une valeur initiale de 3,54 µg/ml (10 minutes après l'injection) à une valeur de 0,25 µg/ml 8 heures après l'injection intraveineuse. Par voie orale, la valeur du taux sanguin maximum est de 1,57 µg/ml et la valeur finale est du même ordre que celle observée après injection intraveineuse, soit 0,28 µg/ml.

L'étude de l'évolution simultanée des taux sanguins en fonction de la voie d'administration permet d'évaluer la biodisponibilité relative du fenpentadiol chez le Porc.

La phase d'absorption présente un maximum d'intensité qui est atteint en 30 minutes et les deux cinétiques sanguines sont ensuite identiques.

On peut observer également que le point d'intersection entre la courbe "*iv*" et la courbe "*orale*" est voisin du taux sanguin maximum de cette dernière et les surfaces délimitées par les deux courbes sont peu différentes. L'intégration, réalisée point par point à l'aide du calculateur, donne pour les voies intraveineuse et orale respectivement $\int_0^8 = 6,65$ et $\int_0^8 = 5,46$, soit un taux de biodisponibilité équivalent à 82 % de la dose administrée.

II .1.5 - Répartition de la radioactivité entre le plasma et les hématies - Rapport érythro-plasmatique

Cette étude a été réalisée "in vitro" sur du sang de rat et de porc avec des concentrations variables en fenpentadiol-^{14}C.

La mesure de la radioactivité du culot globulaire séparé par centrifugation du sang et lavé à plusieurs reprises avec du sérum physiologique, ainsi que du plasma, donne le rapport érythro-plasmatique.

Le tableau 12 montre que le rapport érythro-plasmatique est de l'ordre de 0,23 indiquant qu'une partie assez notable du fenpentadiol circulant est localisée dans les hématies.

Ce rapport reste constant quelles que soient l'espèce animale et les concentrations utilisées.

- Tableau 12 - *Rapport érythro-plasmatique du fenpentadiol-^{14}C*

ESPECE	µg incubés par ml de sang	% de Radioactivité		Rapport érythro-plasmatique
		Hématies	Plasma	
RAT	9,62	19,5	80,5	0,24
	35,40	21,5	78,5	0,27
PORC	9,0	18,8	81,2	0,23
	90,0	17,0	83,0	0,20

II .1.6 - Taux de liaison du fenpentadiol-^{14}C avec les protéines plasmatiques

Le degré de liaison du fenpentadiol avec les protéines plasmatiques est déterminé in vitro sur du sérum humain, de rat et de porc et in vivo chez le Rat et le Porc.

Dans ce dernier cas, les animaux reçoivent 5 mg/kg de fenpentadiol-^{14}C par voie intraveineuse, à l'exception du rat qui reçoit la dose habituelle de 30 mg/kg du produit dissous dans le solvant 1.

La technique utilisée est la dialyse en équilibre.

a) Taux de liaison in vivo

Le tableau 13 donne les résultats obtenus chez le Rat (moyenne sur 3 animaux) 30 minutes et 1 heure après injection du

produit (30 mg/kg) et chez le Porc (moyenne sur 5 animaux) 15, 30 minutes, 1, 3, et 6 heures après l'injection intraveineuse (5 mg/kg).

- Tableau 13 - *Evolution en fonction du temps du taux de liaison protéinique*

Temps de prélèvement	TAUX DE LIAISON IN VIVO (%)	
	Rat (n=3)	Porc Large-White mâle (n=5)
15 min.		10,8
30 min.	30,9	12,2
1 h	28,8	16,2
3 h		17,1
6 h		20,4

Ces expériences montrent que le fenpentadiol est peu lié aux protéines plasmatiques. En effet, les taux de liaison sont de l'ordre de 30 % pour le Rat et de 15 % pour le Porc. Cependant, si l'on examine les résultats trouvés chez le Porc, on constate que le taux de liaison a tendance à s'élever lentement en fonction du temps.

La recherche du degré de liaison du fenpentadiol avec les protéines plasmatiques a également été effectuée sur deux porcs après administration orale du produit (5 mg/kg). Dans ce cas, 15 minutes et 6 heures après l'administration orale du produit, les taux de liaison sont respectivement de 9 et 15 % et sont par conséquent du même ordre que ceux observés après injection intraveineuse du fenpentadiol-^{14}C.

b) Taux de liaison in vitro

Le pourcentage de fenpentadiol lié aux protéines plasmatiques est déterminé in vitro sur du sérum de rat et de porc ainsi que sur du sérum humain, de l'albumine humaine et des α, β, γ, globulines humaines*.

La technique employée est également la dialyse en équilibre et la concentration en fenpentadiol-^{14}C varie entre les limites des taux plasmatiques mesurés in vivo.

Les résultats de ces essais sont donnés dans le tableau 14

- Tableau 14 - *Influence de la concentration sur le taux de liaison du fenpentadiol-^{14}C*

μg incubés	TAUX DE LIAISON PROTEINIQUE IN VITRO (%)	
	Plasma de Rat (1 ml)	Plasma de Porc (1 ml)
0,4	58,4	37,4
0,5	-	33,5
1,5	-	38,2
3,7	56,9	-
3,9	-	37,7
5,0	-	33,3
11,0	56,6	-

* albumin human, fraction V 94 % Pentex HMO 262.

* α globulin human, fraction IV 95 % Pentex HM 4062.

* β globulin human, fraction II 95 % Pentex HM 7062.

* γ globulin human, fraction II 95 % Pentex HM 9722.

On peut ainsi constater que les taux de liaison trouvés pour le rat et le porc, sont plus importants que ceux mesurés in vivo. D'autre part, on peut noter que l'influence de la concentration sur le degré de liaison du fenpentadiol est pratiquement nulle dans l'intervalle des taux plasmatiques observés.

Le tableau 15 donne la répartition du taux de liaison mesuré sur différentes fractions protéiniques humaines.

- Tableau 15 - *Taux de liaison protéinique in vitro*

FRACTION SANGUINE	TAUX DE LIAISON (%)
Sérum de Rat	56,6
Sérum de Porc	33,3
Sérum humain	34,0
Albumine humaine	8,4
α-globuline humaine	9,2
β-globuline humaine	0,05
γ-globuline humaine	0,6

Les taux de liaison sont les suivants : 8,4 et 9,2 % du produit se lie respectivement avec la sérum albumine et les α-globulines. Les taux de liaison sont très faibles avec les β-globulines (0,05 %) et les γ-globulines (0,6 %).

II .1.7 - Doses multiples

Les résultats qui précédent ont mis en évidence des fixations tissulaires diverses et non limitées aux seuls organes de stockage ou d'élimination. En conséquence, il nous est apparu nécessaire de mesurer les concentrations obtenues après administration de doses multiples de fenpentadiol-^{14}C par voies intraveineuse et orale.

A cet effet, nous avons utilisé des rats ayant reçu, durant 15 jours consécutifs et par voie orale, une dose quotidienne de 100 mg/kg de fenpentadiol non marqué en suspension dans la gomme arabique.

a) Effet d'un prétraitement sur la distribution du fenpentadiol-^{14}C chez le Rat après administration par voie intraveineuse (30 mg/kg)

Le jour de l'expérience, les animaux reçoivent par voie intraveineuse une dose de 30 mg/kg de fenpentadiol-^{14}C (6 mCi/mM) et sont sacrifiés (3 par temps) 5, 30 minutes et 3 heures après l'administration du produit. Les résultats exprimés en % de dose administrée/g de tissu frais sont comparés avec ceux obtenus, dans des conditions tout à fait comparables, sur des rats n'ayant pas subi le prétraitement préalable (figure 9).

Quel que soit le tissu examiné, la mesure des concentrations tissulaires révèle une très nette diminution des valeurs observées chez les animaux prétraités. Ainsi, les concentrations hépatique et cérébrale, 3 heures après l'injection du produit marqué, sont respectivement de 0,75 et 0,37 % pour les rats témoins et de 0,18 et 0,03 % pour les rat prétraités.

b) Effet d'un prétraitement sur la distribution du fenpentadiol-^{14}C chez le Rat après administration par voie orale (100 mg/kg)

Un deuxième groupe d'animaux prétraités reçoit une dose de

de 100 mg/kg de fenpentadiol-^{14}C (2,15 mCi/mM) par voie orale et sont sacrifiés (3 par temps) 1, 3 et 5 heures après l'administration du produit.

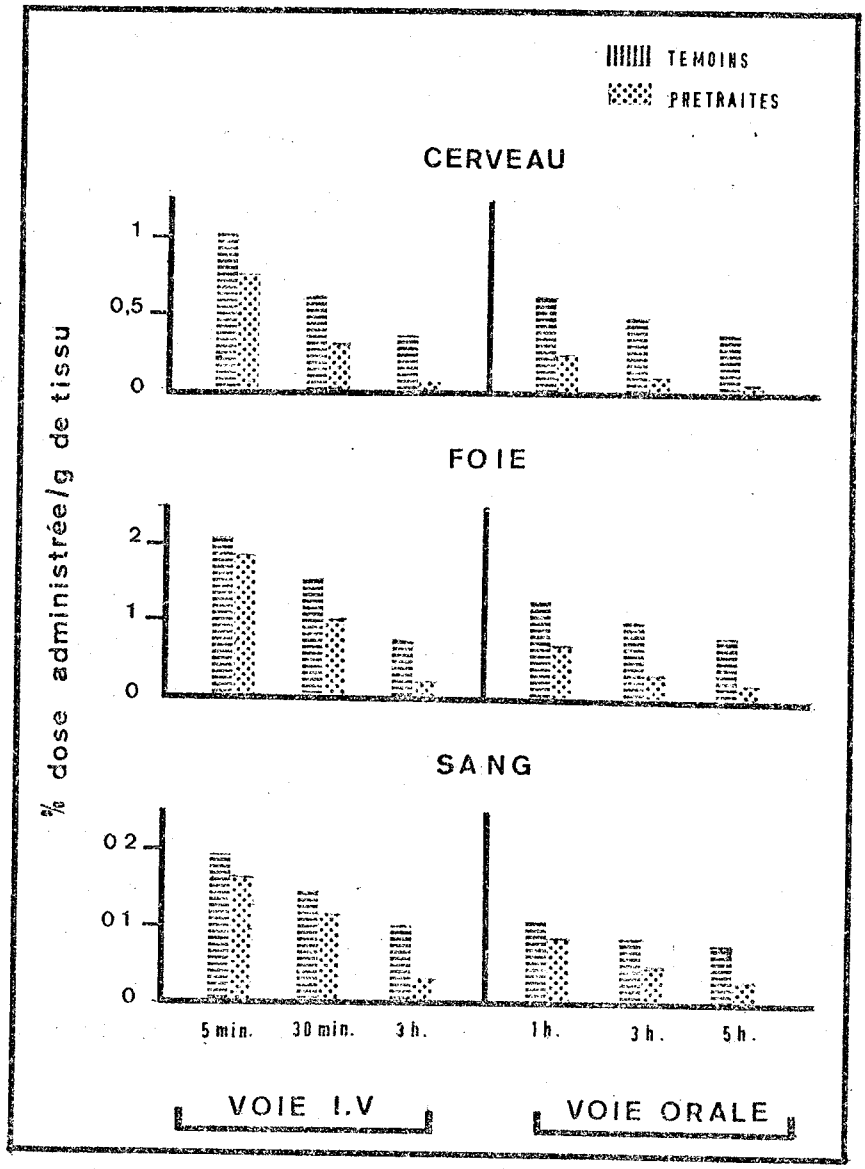


Figure 9 - Distribution de la radioactivité chez le Rat témoin (dose unique) et prétraité après administration par voie iv(30mg/kg) ou orale (100mg/kg) de fenpentadiol-^{14}C. Résultats exprimés en % de dose/par g de tissu frais - Moyennes sur 3 rats.

Comme le montre la figure 9 , les taux tissulaires sont assez voisins de ceux trouvés précédemment et l'on constate également que les concentrations mesurées dans les tissus des rats prétraités sont significativement plus faibles que celles observées après administration d'une dose unique du produit.

Dans ce cas, les concentrations hépatique et cérébrale, 3 heures après l'administration orale du fenpentadiol-^{14}C, sont respectivement de 0,99 et 0,50 % pour les rats témoins et de 0,30 et 0,09 % pour les rats prétraités. Nous avons pu également mesurer l'importance de la radioactivité résiduelle dans le tractus gastro-intestinal (y compris les fèces). Nous trouvons, notamment 3 heures après l'administration du produit, 67,3 et 32,7 % de la dose administrée respectivement pour les animaux prétraités et les animaux n'ayant reçu qu'une dose unique de fenpentadiol-^{14}C. Cette différence assez notable peut sans doute s'expliquer par une augmentation de l'élimination biliaire du produit et/ou de ses métabolites.

II .1.8 - Recherche d'une relation entre les concentrations tissulaires et la valeur de la dose chez le Rat

Le but de ces expériences est d'établir une relation entre les concentrations tissulaires et la valeur de la dose administrée. A cette fin, les animaux (2 rats par dose) reçoivent quatre doses différentes de fenpentadiol-^{14}C soit par voie orale : 50, 100, 150 et 200 mg/kg du produit en suspension dans la gomme arabique, soit par voie intraveineuse : 30, 40, 50 et 60 mg/kg de produit dissous dans le solvant 2.

Dans l'un et l'autre cas, les animaux sont sacrifiés 30 minutes après l'administration de fenpentadiol-^{14}C. Les concentrations, exprimées en µg équivalent par g de tissu frais, sont déterminées au niveau du sang, du cerveau et du foie.

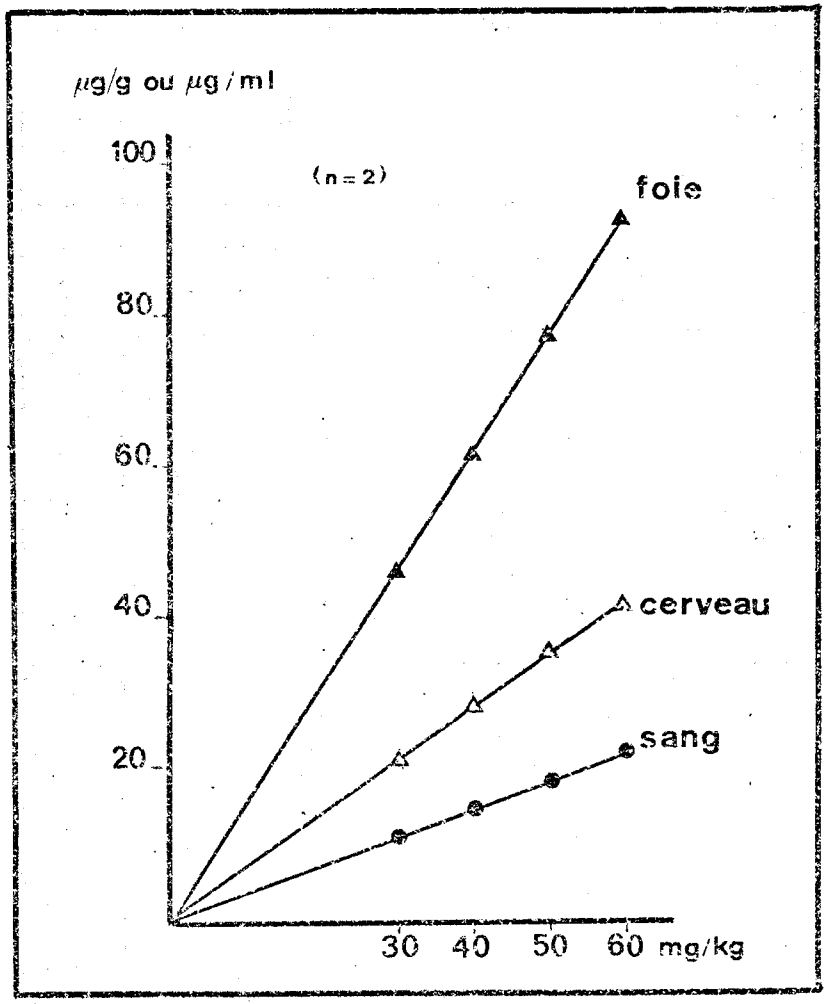


Figure 10 - Taux de radioactivité, en fonction de la dose administrée, dans divers organes du Rat 30 minutes après l'injection intraveineuse de quatre doses différentes (30,40, 50 et 60 mg/kg de Fenpentadiol ^{14}C.

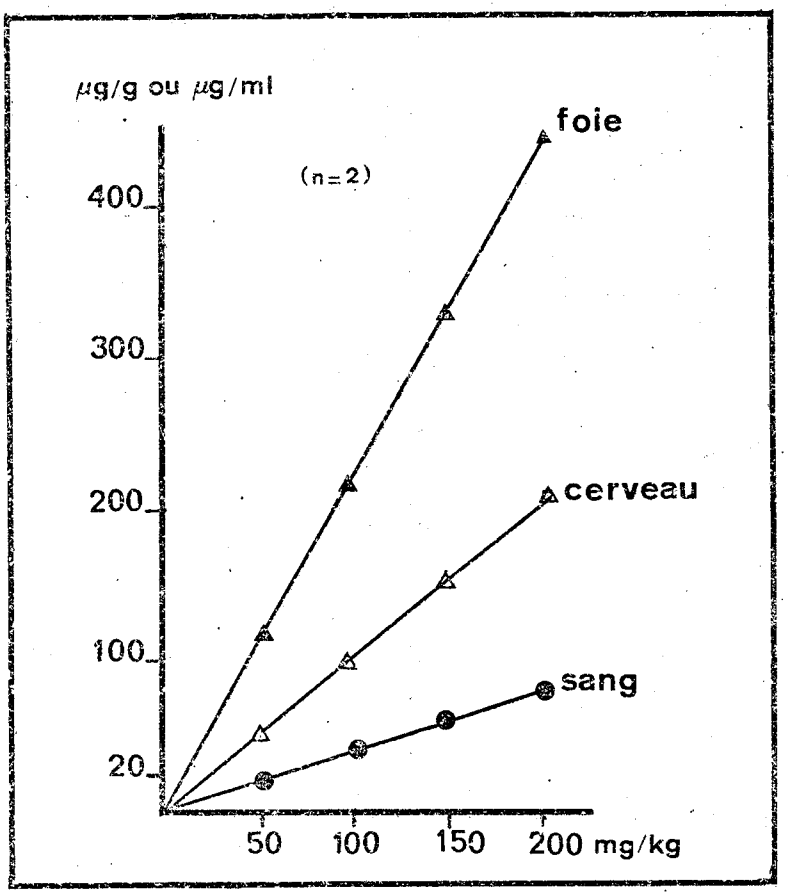


Figure 11 - Taux de radioactivité, en fonction de la dose administrée, dans divers organes du Rat 30minutes après l'administration orale de quatre doses différentes (50,100,150 et 200 mg/kg) de Fenpentadiol ^{14}C.

Sur les graphiques des figures 10 et 11, on a reporté en abscisses les doses administrées et en ordonnées les concentrations mesurées. Le fait que l'on obtienne une droite pour chaque tissu prouve que les concentrations au niveau du sang, du foie et du cerveau sont directement proportionnelles à la dose administrée quelle que soit la voie choisie, ce qui montre, en outre, qu'aucun de ces tissus n'est saturé dans l'intervalle posologique étudié.

II.2 - ELIMINATION DU FENPENTADIOL-^{14}C CHEZ LE RAT ET LE PORC

II.2.1 - Elimination du ^{14}C dans l'air expiré par le Rat

- Tableau 16 - *$^{14}CO_2$ expiré chez le Rat après administration de fenpentadiol-^{14}C par voie intraveineuse (30 mg/kg) ou par voie orale (100 mg/kg)*

TEMPS	% dose administrée x 10^{-3}			
	Voie Intraveineuse		Voie Orale	
	Rat n°25	Rat n°26	Rat n°27	Rat n°28
0 - 15 min	0,12	0,09	0,65	0,71
15 - 30 min	0,52	0,39	1,14	0,55
0,5 - 1 h	0,87	0,86	2,62	1,74
1 - 2 h	1,46	1,92	5,71	4,33
2 - 3 h	1,03	1,29	4,08	2,92
3 - 4 h	0,84	1,18	3,38	3,30
4 - 5 h	0,96	1,19	2,44	2,79
5 - 6 h	1,07	1,20	2,71	2,60
6 - 7 h	0,79	0,84	2,91	1,96
7 - 8 h	-	-	2,27	4,26
TOTAL	7,66	8,96	27,91	25,16

La radioactivité des solutions d'éthanolamine dans lesquelles est recueilli l'air expiré démontre la présence de $^{14}CO_2$. Les cinétiques sont données dans le tableau 16 .

Après injection intraveineuse (30 mg/kg), on retrouve environ 0,008 % de la dose injectée pour une observation de 8 heures.

Lorsque le fenpentadiol-^{14}C est administré par voie orale (100 mg/kg), l'élimination pulmonaire du $^{14}CO_2$ est, durant les huit heures de l'expérience, de l'ordre de 0,03 % de la dose administrée.

On peut ainsi noter que, dans l'ensemble, la proportion de $^{14}CO_2$ éliminée après administration orale ou intraveineuse ne représente au total qu'une très faible partie du fenpentadiol-^{14}C administré.

II .2.2 - Eliminations urinaire et fécale chez le Rat

a) Après administration de fenpentadiol-^{14}C par voie intraveineuse (30 mg/kg)

Pour la mesure de la radioactivité éliminée par l'urine, les périodes de recueil sont de 0 à 3 h, de 3 à 12 h, de 12 à 24 h, de 24 à 32 h et de 32 à 48 h.

La figure 12 montre la cinétique de l'élimination urinaire du fenpentadiol-^{14}C, pour quatre expériences différentes, après injection intraveineuse du produit dissous dans le solvant 1 (30 mg/kg).

Nous retrouvons environ 72 % de la radioactivité injectée dans l'urine des 48 heures.

Cette élimination est précoce puisque les premières urines émises trois heures après l'injection intraveineuse du

produit contiennent déjà le 1/5 de la quantité éliminée durant la la journée, soit pour les urines recueillies en 3 et en 24 heures, respectivement 10,7 et 55,8 % en moyenne de la dose administrée.

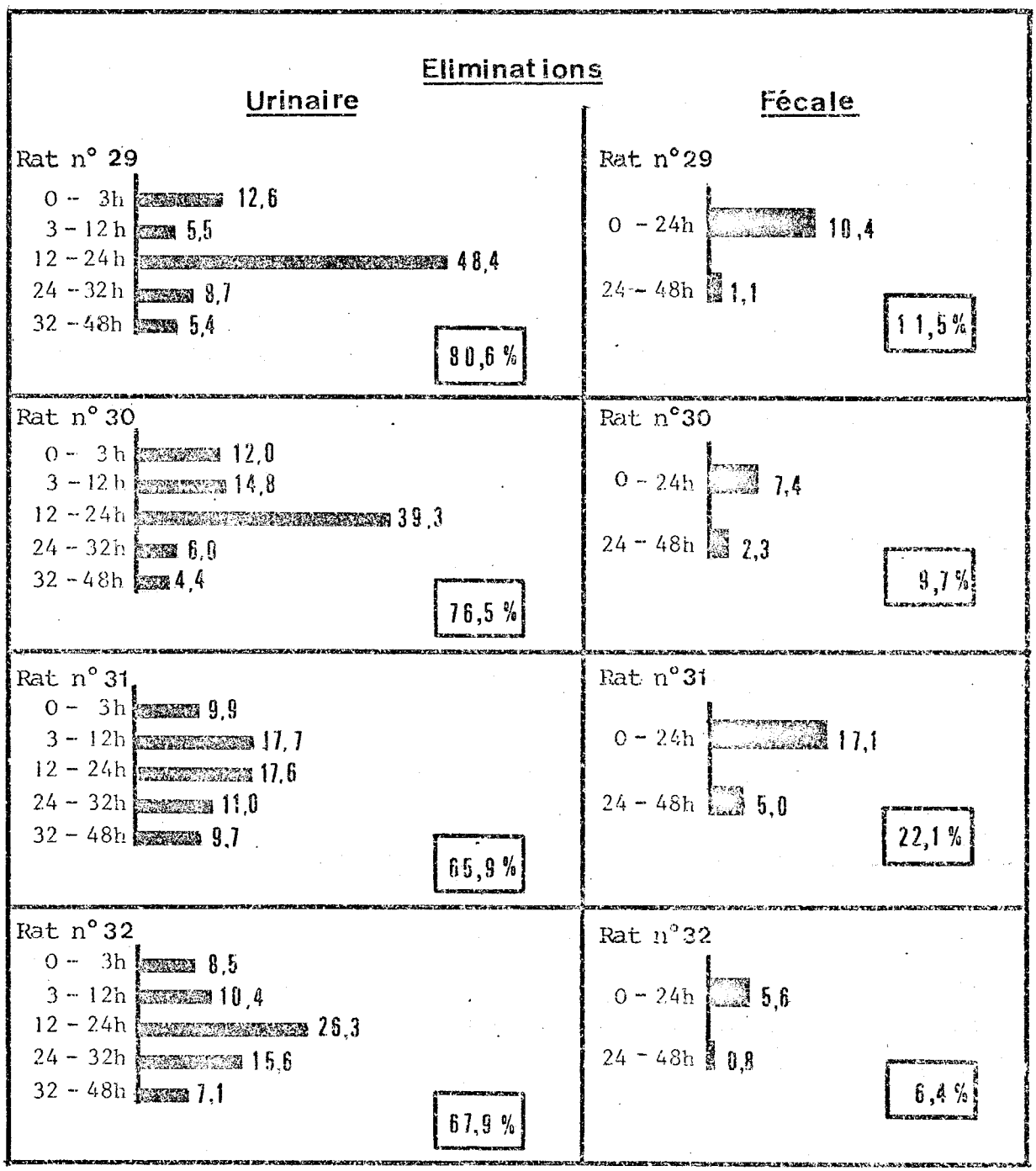


Figure 12 - Eliminations urinaire et fécale de la radioactivité chez le Rat après injection intraveineuse de fenpentadiol-^{14}C(30mg/kg)

L'élimination urinaire décroît notablement entre le premier et le second jour (figure 12).

Nous pouvons également constater que la vitesse d'excrétion fécale est encore plus rapide puisque la quantité éliminée dans les fèces recueillies durant 24 heures est déjà de l'ordre de 10 % de la dose injectée alors que la quantité excrétée en 48 heures ne représente que 12 % en moyenne de cette dose.

Enfin, l'examen des valeurs obtenues au cours de la dernière période de recueil montre clairement que les éliminations urinaire et fécale se poursuivent encore au bout de 48 heures.

b) Après administration de fenpentadiol-^{14}C par voie orale (100 mg/kg)

Dans ce type d'expérience réalisée sur 4 animaux également, l'urine est recueillie de 0 à 8 h, de 8 à 24 h, de 24 à 32 h et de 32 à 48 h. La figure 13 montre que l'élimination urinaire de la radioactivité est de l'ordre de 67 % de la dose administrée au bout de 48 heures.

Cependant, on peut observer que la radioactivité éliminée dans les huit heures qui suivent l'administration est déjà de l'ordre de 13 % et, durant les 24 premières heures, représente dès lors près de 53 % de la radioactivité administrée.

L'excrétion fécale décroît considérablement entre le premier et le second jour puisque les quantités présentes dans les matières fécales au bout de 24 et 48 heures, correspondent respectivement en moyenne à 13 et 16 % de la dose administrée.

Enfin, on peut remarquer - comme dans le cas de l'administration par voie intraveineuse - que les éliminations urinaire et fécale se poursuivent au delà de 48 heures avant d'être complètes.

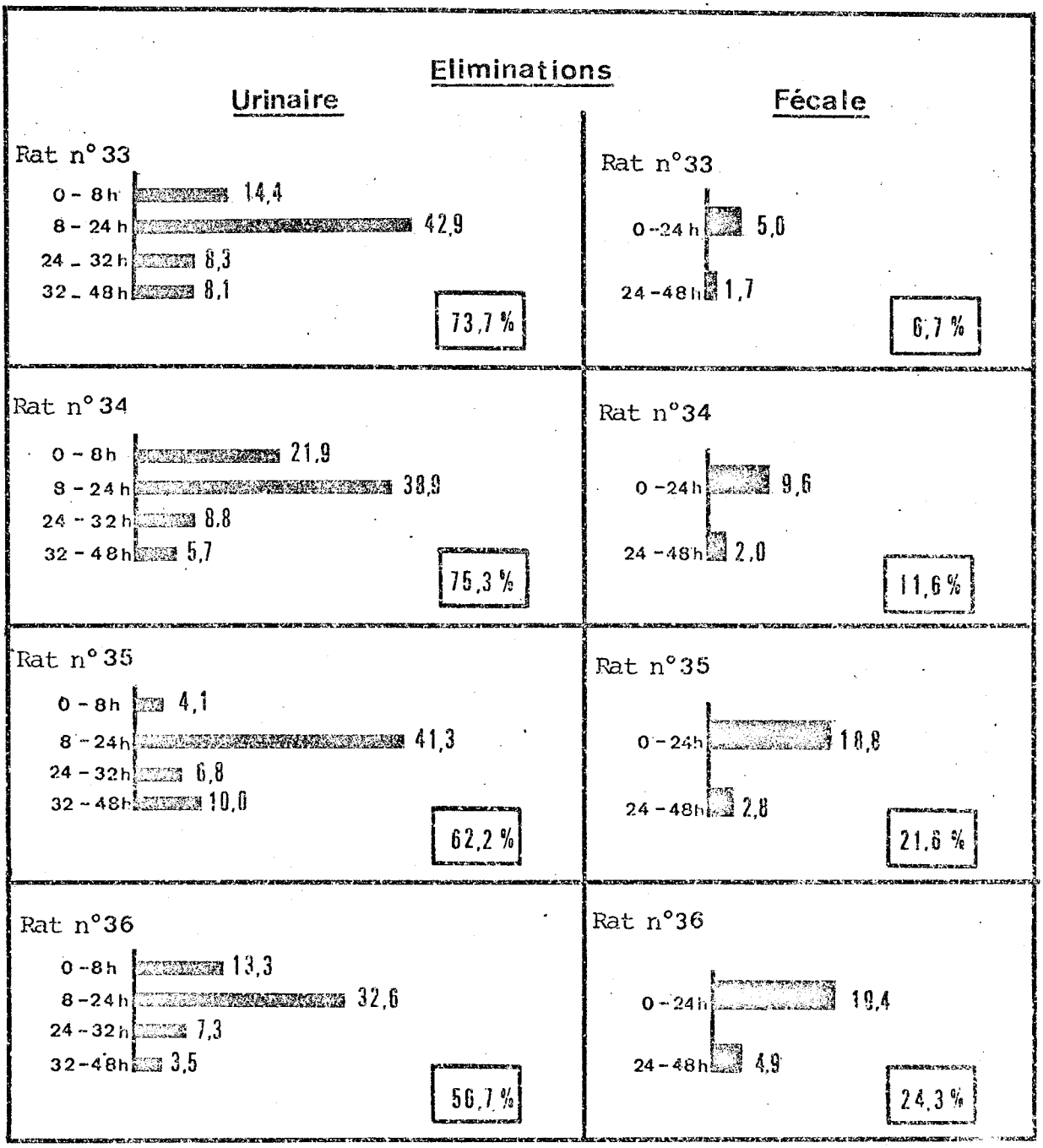


Figure 13 - Eliminations urinaire et fécale de la radioactivité chez le Rat après administration orale de fenpentadiol-^{14}C(100mg/kg)

II .2.3 - Eliminations urinaire et fécale chez le Porc

L'étude de l'élimination urinaire et fécale du fenpentadiol-^{14}C a été réalisée sur cinq porcs (3 mâles et 2 femelles) après administration par voie intraveineuse (5 mg/kg) du produit dissous dans le solvant 1 et sur deux autres porcs mâles après administration par voie orale (5 mg/kg) du produit incorporé dans une petite quantité de nourriture.

Les résultats exprimés en pourcentage de la dose administrée sont établis sur une période de 24 heures (Tableau 17).

- Tableau 17 - *Eliminations urinaire et fécale du fenpentadiol-^{14}C chez le Porc*

N° Porc	Sexe	Poids corporel (kg)	Voies Adm.	Dose mg/kg	Eliminations (% de dose en 24 h)	
					Urinaire	Fécale
1	mâle	45	*i.v*	5	78,4	< 1
2	"	35	"	5	83,4	< 0,5
3	femelle	41	"	5	70,4	< 0,5
4	"	32	"	5	76,3	< 0,1
5	mâle	41	"	5	78,0	< 1
6	"	40	*orale*	5	75,2	< 0,3
7	"	55	"	5	60,5	< 0,1

Quels que soient le sexe de l'animal et la voie d'administration, on peut remarquer que l'élimination du fenpentadiol chez cette espèce s'effectue essentiellement par la voie urinaire.

L'élimination de la radioactivité est rapide puisque 60 à 84 % de la dose administrée sont déjà éliminés en 24 heures.

L'excrétion fécale est insignifiante et représente, pour une observation de 24 heures, moins de 1 % de la dose administrée.

La figure 14 montre la cinétique de l'élimination urinaire de la radioactivité pour deux porcs ayant reçu une dose de 5 mg/kg de fenpentadiol-^{14}C, par voie intraveineuse. L'examen des deux courbes met particulièrement en évidence la rapidité des processus d'excrétion par la voie urinaire puisque la quantité de fenpentadiol-^{14}C éliminée dans les urines du porc n°4 représente déjà plus de 60 % de la dose injectée, 6 heures après l'administration du produit. Enfin, on peut observer que l'élimination de la radioactivité se poursuit encore, mais très lentement, au delà de 48 heures.

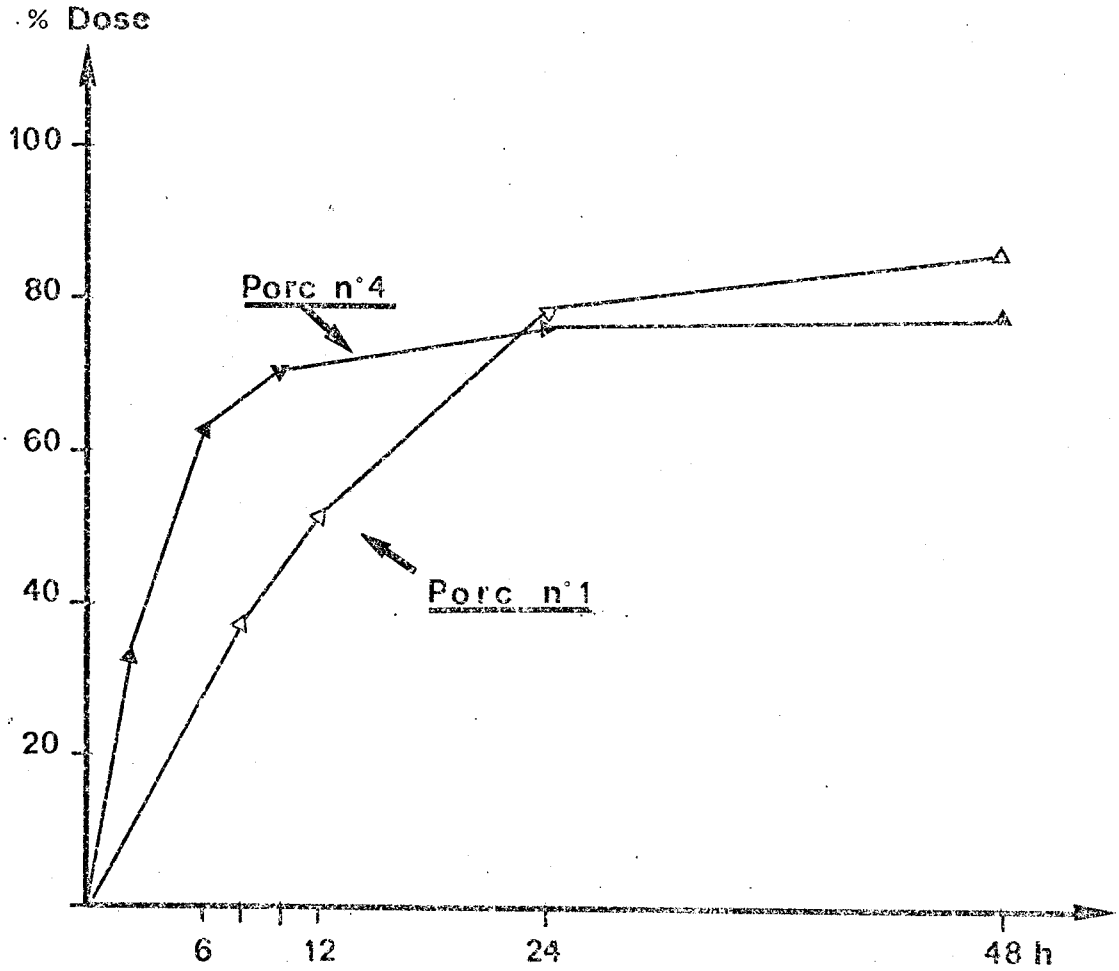


Figure 14 - Elimination urinaire chez le Porc mâle(n°1) et femelle(n°4) après administration de fenpentadiol-^{14}C par voie int

II .2.4 - Elimination biliaire du fenpentadiol-^{14}C chez le Rat et le Porc

a) Chez le Rat

L'élimination biliaire de la radioactivité est mesurée chez le Rat porteur d'une fistule cholédocienne permanente (21) après administration de fenpentadiol-^{14}C par voie intraveineuse (30 mg/kg) ou par voie orale (100 mg/kg).

Pour chaque voie d'administration, nous avons utilisé deux animaux et les résultats sont exprimés en pourcentage de la dose administrée, soit par intervalle de temps, soit en % cumulé.

Les résultats de ces expériences sont donnés dans les tableaux 18 et 19.

- Tableau 18 - *Elimination biliaire de la radioactivité chez le Rat après injection IV (30 mg/kg) de fenpentadiol-^{14}C*

Intervalle de temps (min.)	% dose injectée par intervalle de temps		% cumulé	
	Rat n°37	Rat n°38	Rat n°37	Rat n°38
0 - 24	16,26	15,95	16,26	15,95
24 - 48	12,05	12,80	28,31	28,75
48 - 72	7,04	7,30	35,35	36,05
72 - 96	4,34	4,77	39,69	40,82
96 - 120	3,22	3,39	42,91	44,21
120 - 144	2,48	2,65	45,39	46,86

- Tableau 19 - *Elimination biliaire de la radioactivité chez le Rat après administration orale (100 mg/kg) de fenpentadiol-^{14}C*

Intervalle de temps (min.)	% dose administrée par intervalle de temps		% cumulé	
	Rat n° 39	Rat n° 40*	Rat n°39	Rat n°40*
0 - 10	0,26	0,83	0,26	0,83
10 - 30	2,71		2,97	
30 - 60	5,40	15,85	8,37	16,68
60 - 120	10,72	12,43	19,09	29,11
120 - 180	9,97	-	29,06	-

* Pour le Rat n°40 , la bile a été collectée entre 10 et 60 minutes.

Dès les premières minutes qui suivent l'injection intraveineuse de fenpentadiol-^{14}C, la bile présente la plus forte concentration radioactive qui, exprimée en % de dose, correspond à environ 16 % pour les 24 premières minutes. L'élimination de la radioactivité par la bile décroît ensuite en fonction du temps pour atteindre environ 2,6 % de la dose injectée entre 120 et 144 minutes.

Lorsque le fenpentadiol est administré par la voie orale, l'élimination biliaire est moins précoce puisque le maximum (10,7 %) n'est atteint qu'entre 60 et 120 minutes pour le rat n° 39. Si l'on exprime les résultats en % cumulé, on constate qu'en 2 heures, l'élimination est d'environ 44 % de la dose administrée pour la voie intraveineuse et de 24 % environ pour la voie orale.

Enfin, d'autres résultats rapportés antérieurement (21) ont montré l'existence d'un cycle entéro-hépatique assez notable pour le fenpentadiol administré par voie intraveineuse chez le Rat.

b) Chez le Porc

L'élimination biliaire de la radioactivité est mesurée chez un Porc après administration par voie intraveineuse de 5 mg/kg de fenpentadiol-^{14}C.

Une intervention chirurgicale est pratiquée au préalable afin de permettre l'introduction d'un drain de Kehr dont une branche remonte dans le canal hépatique et l'autre descend dans le cholédoque (58).

La première injection de fenpentadiol-^{14}C s'effectue dans la veine cave et, huit jours après, l'animal reçoit une dose identique de produit dans la veine porte. Ce mode opératoire permet ainsi au même individu d'être son propre témoin.

La figure 15 montre les deux cinétiques de l'élimination biliaire de la radioactivité, les résultats étant exprimés en pourcentage de la dose administrée par ml de bile.

Chez ce Porc qui a conservé son cycle entéro-hépatique, la mesure de la radioactivité de la bile montre que l'excrétion biliaire est rapide et notable.

Si l'on examine les deux courbes de la figure 15 , on constate que l'élimination biliaire est très précoce, soit pour les injections "cave" et "porte", respectivement 5 et 10 minutes après l'administration du produit. Dans le cas de la veine cave, le taux biliaire passe par un maximum (15 minutes) correspondant à 0,068 % de la dose par ml de bile. L'élimination de la radioactivité par la bile décroît ensuite en fonction du temps selon une courbe d'allure exponentielle.

Lorsque le fenpentadiol-^{14}C est injecté dans la veine porte,

on observe un retard dans l'apparition du taux biliaire maximum (30 minutes) et la valeur de ce taux n'est que de 0,028 % de la dose par ml de bile. L'élimination biliaire décroît ensuite rapidement en fonction du temps et la courbe se confond pratiquement avec la précédente (veine cave).

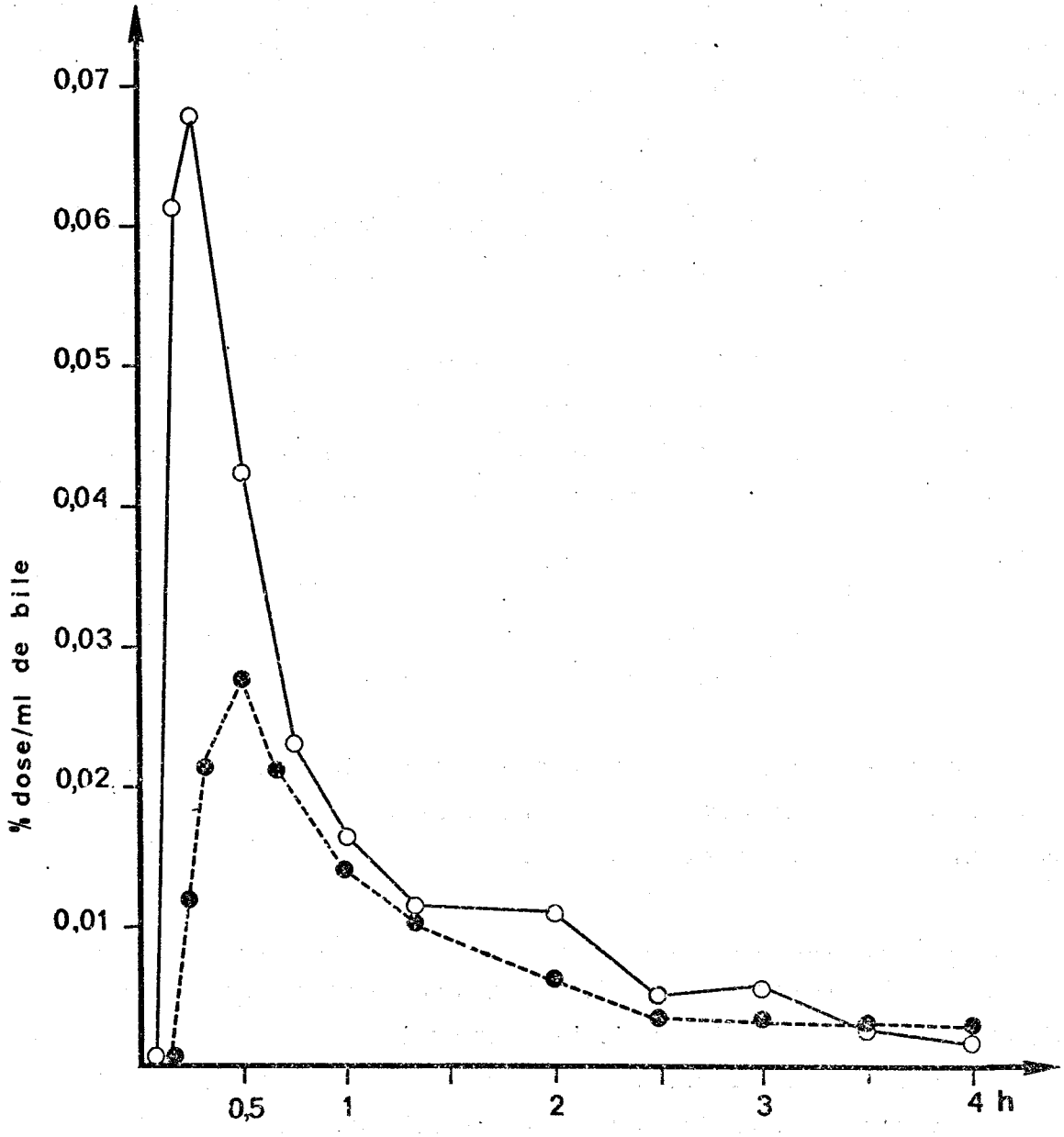


Figure 15 - Elimination biliaire de la radioactivité chez le Porc n°3 après injection *iv* (5 mg/kg) de fenpentadiol-^{14}C soit dans la veine cave (○-○), soit dans la veine porte (●-●).

II .3. - BIOTRANSFORMATION DU FENPENTADIOL-^{14}C CHEZ LE RAT ET LE PORC

II .3.1 - Métabolisme urinaire

a) Séparation du produit inchangé et des métabolites

Le fenpentadiol est extractible par l'éther après avoir amené l'urine à un pH acide voisin de 1 par addition de HCl N. L'extrait éthéré est ensuite concentré jusqu'à 1 ou 2 ml sous courant d'azote.

Ce procédé permet de récupérer 90 à 100 % de la radioactivité initiale.

L'extrait est soumis à une hydrolyse enzymatique par le suc d'Helix pomatia et la radioactivité est, à nouveau, extraite à l'éther jusqu'à obtention de 90 à 95 % de la radioactivité présente dans l'urine.

- Tableau 20 - *Rf des substances retrouvées dans l'urine par chromatographie sur plaque (Silicagel F 254 Merck)*

Systèmes Chromatographiques	Rf du Fenpentadiol ^{14}C témoin	Rf avant hydrolyse enzymatique	Rf après hydrolyse enzymatique	
			Zone 1	Zone 2
1	0,45	0,00	0,10	0,45
2	0,58	0,02	0,38	0,58
3	0,23	0,01	0,00	0,23
4	0,90	0,70	0,88	0,90
5	0,78	0,25	0,90	0,78
6	0,72	0,25	0,86	0,72

La chromatographie en couche mince des urines soumises à l'hydrolyse enzymatique permet, à l'aide de plusieurs systèmes chromatographiques, de séparer deux zones radioactives distinctes dont l'une (zone 2) correspond au fenpentadiol-^{14}C témoin et la seconde, à un métabolite radioactif (zone 1).

Le tableau 20 donne les Rf des deux produits séparés par cette méthode.

On peut immédiatement noter qu'il existe un composé conjugué correspondant à chacun des deux produits.

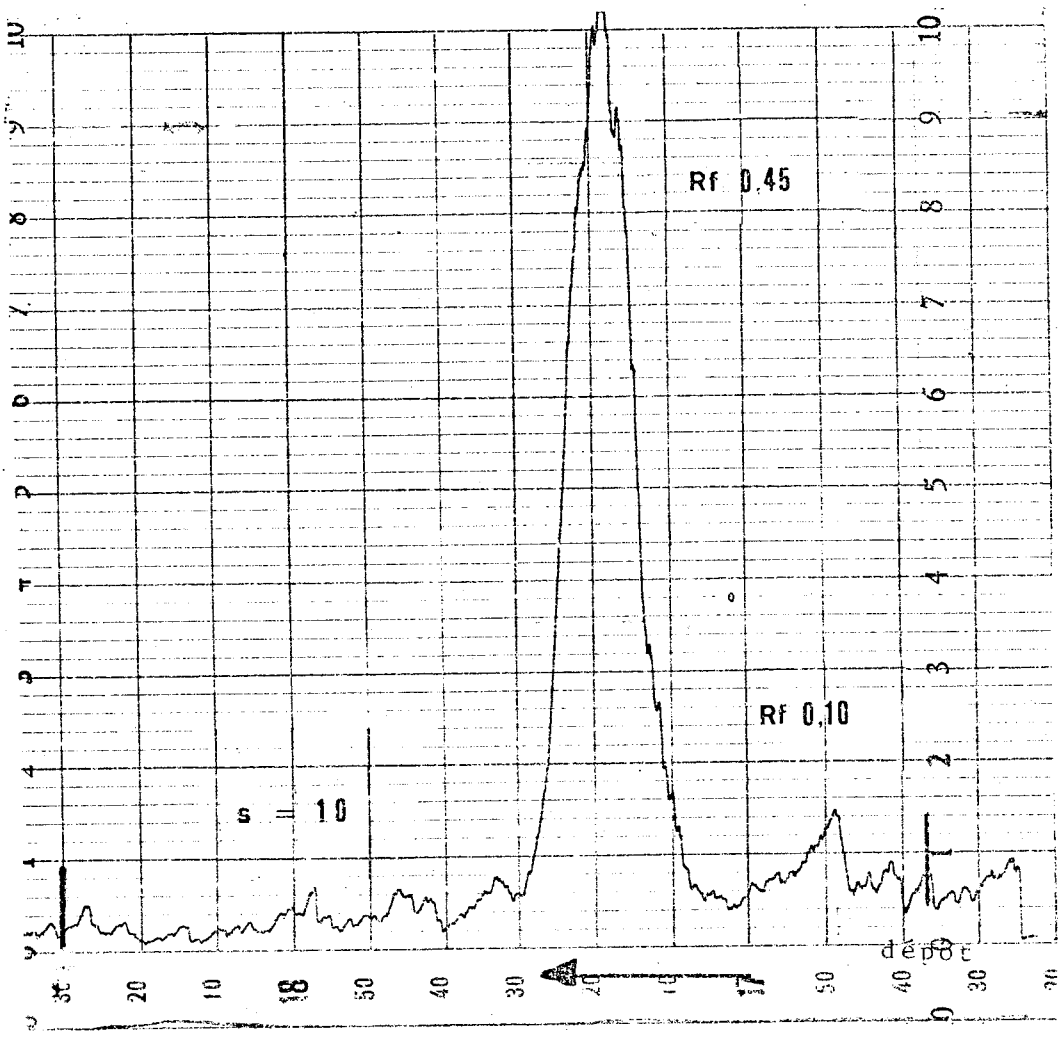


Figure 16 - Enregistrement de la radioactivité après chromatographie sur plaque (Silicagel F 254 Merck) d'urine traitée par le suc d'Helix pomatia (Système n°1 - Urine de la 6 ème heure d'un rat ayant reçu, par voie iv, une dose de 30 mg/kg de fenpentadiol-^{14}C.

Il s'agirait de glucuronides hydrolysables par action de la β-glucuronidase ou de la sulfatase du suc d'Helix pomatia. Cette forme de conjugaison peut impliquer la présence d'un ou plusieurs radicaux-OH, ce qui est précisément le cas du fenpentadiol. D'autre part, nous avons pu observer que le traitement par l'aryl-sulfatase est pratiquement sans effet sur la libération du fenpentadiol alors que la β-glucuronidase en libère environ 70 % et le suc d'Helix pomatia, plus de 90 %.

La figure 16 est un enregistrement caractéristique au compteur proportionnel, type Berthold, des deux substances radioactives isolées après chromatographie en couche mince d'une urine traitée par le suc d'Helix pomatia.

b) Identification du métabolite

1 - Isolement

Au cours de nos travaux sur l'interaction éventuelle des barbituriques sur le métabolisme du fenpentadiol-^{14}C (20), nous avions remarqué que le phénobarbital stimule le métabolisme de ce produit chez le Rat.

En effet, un prétraitement au phénobarbital durant 3 jours, par voie intrapéritonéale (80 mg/kg/jour), accroît considérablement les quantités de métabolite retrouvées dans les urines du Rat après injection intraveineuse de fenpentadiol-^{14}C (30 mg/kg).

Le tableau 21 donne les résultats obtenus en fonction du temps sur une moyenne de 6 animaux après l'hydrolyse enzymatique par le suc d'Helix pomatia.

Dans ces conditions, nous avons isolé le métabolite dans les urines du Rat prétraité au phénobarbital durant 3 jours (80 mg/kg / jour) par voie intrapéritonéale et reçevant le fenpentadiol-^{14}C par voie intraveineuse (30 mg/kg), 24 heures après la dernière injection de phénobarbital.

Tableau 21 - *Influence d'un prétraitement au phénobarbital sur les proportions respectives de fenpentadiol-^{14}C et de son métabolite OH^{14}C retrouvées dans les urines du Rat*

%de radioactivité déposée sur la plaque de Silicagel (Système chromatographique n° 1)			
Temps de Prélèvement (heures)	0 - 3	3 - 6	6 - 8
FENPENTADIOL	42	48	49
METABOLITE - OH	58	52	51

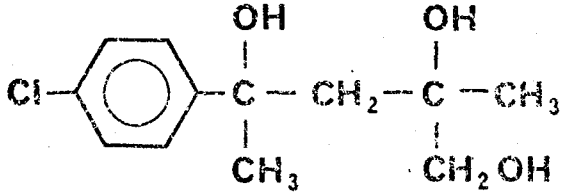
Les urines sont amenées à pH 5,4 par addition de tampon acétate/acide acétique pour être ensuite traitées pendant 48 heures à 37°C par le suc d'Helix pomatia.

Après extraction à l'éther du milieu d'hydrolyse, le composé est séparé du fenpentadiol et des impuretés par quatre passages successifs sur plaque préparative de Silicagel (Merck F 254) dans le système chromatographique n°1.

2 - Identification

La structure du métabolite ainsi isolé en quantité minime est alors résolue par spectrométrie de masse.

La comparaison de son spectre de masse avec celui du produit de référence permet de proposer la structure suivante :



Cette molécule possède une masse de 244 et serait le résultat de l'hydroxylation de l'un des groupes méthyles portés par le carbone 3.

Le métabolite du fenpentadiol est donc le (chloro-4 phényl)-2 hydroxyméthylène-4 pentane diol 2,4.

La figure 17 schématise les principaux fragments obtenus à l'aide d'un appareil type Varian (introduction directe à 80°C - ionisation.E.V 70 eV - Source 100 µA).

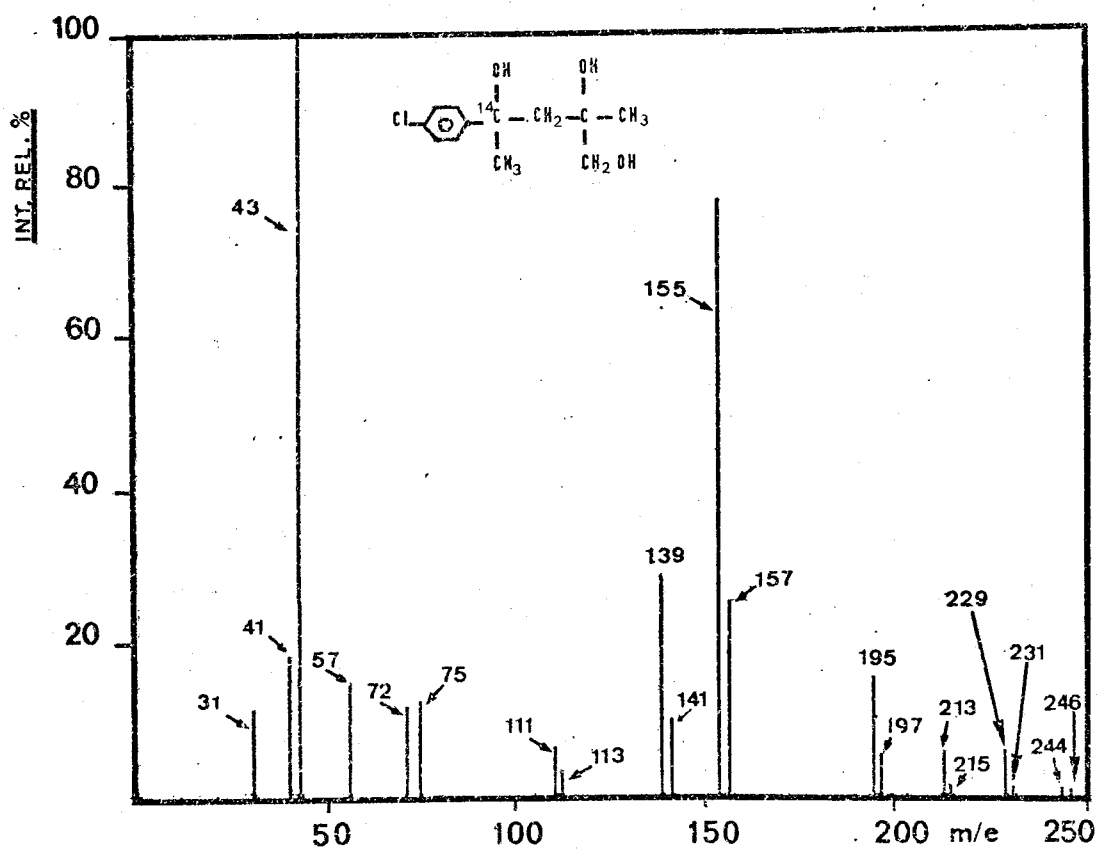


Figure 17 - Spectre de masse du métabolite extrait des urines de Rat.

La corrélation avec le spectre de masse du produit de référence s'avère excellente.

Cependant, il est à remarquer que si les doublets m/e - m/e + 2 existent bien dans le rapport correct du ^{35}Cl / ^{37}Cl (75,5/24,5), notamment pour les fragments m/e 139-41, 155-57, 195-97, 213-15, 229-31, la présence de triplets m/e - m/e + 2 - m/e + 4 dûs au ^{14}C,

n'a pu être mise en évidence, lors de l'analyse du métabolite isolé in vivo, en raison de sa trop faible radioactivité spécifique (370 µCi/mM). Enfin, le pic "parent" dont la masse correspond au poids moléculaire du composé existe à l'état de doublet : m/e 244-246, mais son importance relative est très faible.

c) Vitesse de formation du métabolite hydroxylé chez le Rat

L'évolution en fonction du temps des proportions respectives de fenpentadiol-^{14}C et de son métabolite hydroxylé ^{14}C retrouvées dans l'urine est étudiée chez le Rat après administration de fenpentadiol-^{14}C par voie intraveineuse (30 mg/kg) ou par voie orale (100 mg/kg).

La figure 18 montre les proportions calculées après hydrolyse de l'urine par le suc d'Helix pomatia ; elles sont établies d'après une moyenne sur 5 rats pour la voie intraveineuse et sur 2 rats, pour la voie orale.

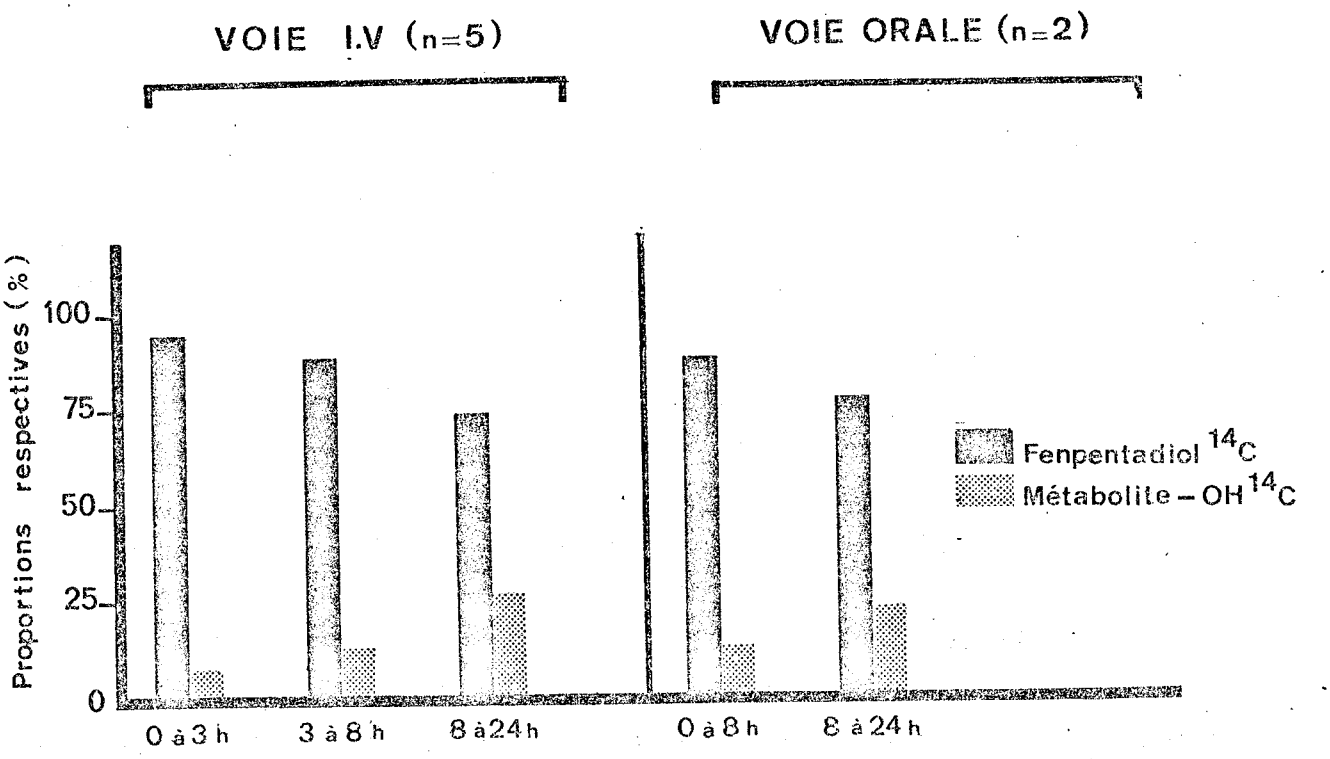


Figure 18 - Evolution en fonction du temps des proportions respectives de fenpentadiol-^{14}C et de son métabolite hydroxylé ^{14}C dans l'urine excrétée par le Rat.

Quelle que soit la voie d'administration, nous constatons que l'excrétion du fenpentadiol est toujours très prépondérante. Cependant, on peut observer que l'excrétion urinaire du métabolite hydroxylé s'accroît progressivement en fonction du temps et représente dans les urines de 8 à 24 heures, une proportion assez importante de la radioactivité retrouvée.

d) Métabolisme urinaire du fenpentadiol-^{14}C chez le Porc

L'étude de l'élimination urinaire du fenpentadiol inchangé et de son métabolite hydroxylé est réalisée chez le Porc après administration de fenpentadiol-^{14}C (5 mg/kg) par voie intraveineuse ou orale.

Le tableau 22 donne, après hydrolyse par le suc d'Helix pomatia, les valeurs exprimées en pourcentage de la dose administrée pour les urines de deux porcs collectées durant 24 heures (voie intraveineuse) et 12 heures (voie orale).

- Tableau 22 - *Elimination urinaire du fenpentadiol-^{14}C et de son métabolite hydroxylé*

	VOIE I.V		VOIE ORALE	
PORC N°	2	3	6	7
Durée de l'expérience (heures)	0 à 24	0 à 24	0 à 12	0 à 12
FENPENTADIOL	73,6	66,4	59,3	47,7
METABOLITE - OH	9,7	4	0	5,3
Total	83,3	70,4	59,3	53,0

Comme chez le Rat, il ressort de cette expérience que le principal produit éliminé dans les urines du Porc, après déconjugaison,

est le fenpentadiol inchangé, quelle que soit la voie d'administration, intraveineuse ou orale.

II .3.2 - Métabolisme biliaire chez le Rat

Lorsqu'on procède à une extraction à l'éther de la bile, dans les mêmes conditions que celles décrites pour l'urine, on constate après chromatographie en couche mince dans le système n°1, que la majeure partie du fenpentadiol-^{14}C se trouve sous une forme conjuguée dès les premières minutes qui suivent l'injection par voie intraveineuse du produit (30 mg/kg).

- Tableau 23 - *Evolution en fonction du temps des proportions respectives des produits radioactifs retrouvés au niveau biliaire chez le Rat après injection iv de fenpentadiol-^{14}C (30 mg/kg)*

Temps du Cycle entéro-hépatique (min)*	Avant hydrolyse enzymatique		Après hydrolyse enzymatique	
	Fenpentadiol inchangé	Produits conjugués	Fenpentadiol inchangé	Métabolite-OH
1	81,0	19,0	100	-
3	7,5	92,5	100	-
7	0,5	99,5	100	-
15	traces	100	100	traces
30 - 120	"	100	100	"

*Moyenne sur 2 animaux

Comme le montre le tableau 23 , on retrouve déjà 100 % de produits conjugués entre les temps : 7 et 15 minutes du cycle entérohépatique du fenpentadiol-^{14}C.

En revanche, si la bile a subi une hydrolyse enzymatique préalable à l'aide du suc d'Helix pomatia, on retrouve la totalité du fenpentadiol inchangé, quel que soit le temps de prélèvement de la bile. Cependant, des traces de métabolite hydroxylé

commencent à apparaître dès la quinzième minute du cycle.

Le métabolite biliaire principal du fenpentadiol serait donc le produit glucuroconjugué. Au contraire, si le Rat subit un prétraitement préalable au phénobarbital, dans les mêmes conditions que celles décrites précédemment (voir II.3.1 - b)1) on peut également observer une élévation très importante du taux de métabolite hydroxylé de Rf (0,10) en fonction du temps.

Le tableau 24 donne les résultats exprimés en pourcentage du dépôt sur la plaque ou de la dose injectée pour un rat prétraité au phénobarbital et recevant par voie intraveineuse une dose de 30 mg/kg de fenpentadiol-^{14}C (soit 83 µCi), 24 heures après la dernière injection intrapéritonéale du barbiturique.

La bile est recueillie par fistule biliaire permanente entre 0 et 2 h, 2 et 6 h et 6 et 10 h 30.

Elle est soumise à une hydrolyse enzymatique préalable par le suc d'Helix pomatia et l'extrait éthéré est ensuite chromatographié dans le système n°1.

- Tableau 24 - *Métabolisme biliaire chez le Rat prétraité au phénobarbital*

TEMPS D'ELIMINATION	fenpentadiol-^{14}C Rf (0,45)		métabolite hydroxylé-^{14}C Rf (0,10)	
	% du dépôt	% dose injectée	% du dépôt	% dose injectée
0 à 2 h	89	6,60	11	0,81
2 à 6 h	76	2,73	24	0,86
6 à 10 h30	63	3,70	37	2,17

La figure 19 présente l'autoradiographie d'une chromatoplaque de bile dans le système n°1, après hydrolyse enzymatique (Rat prétraité au phénobarbital).

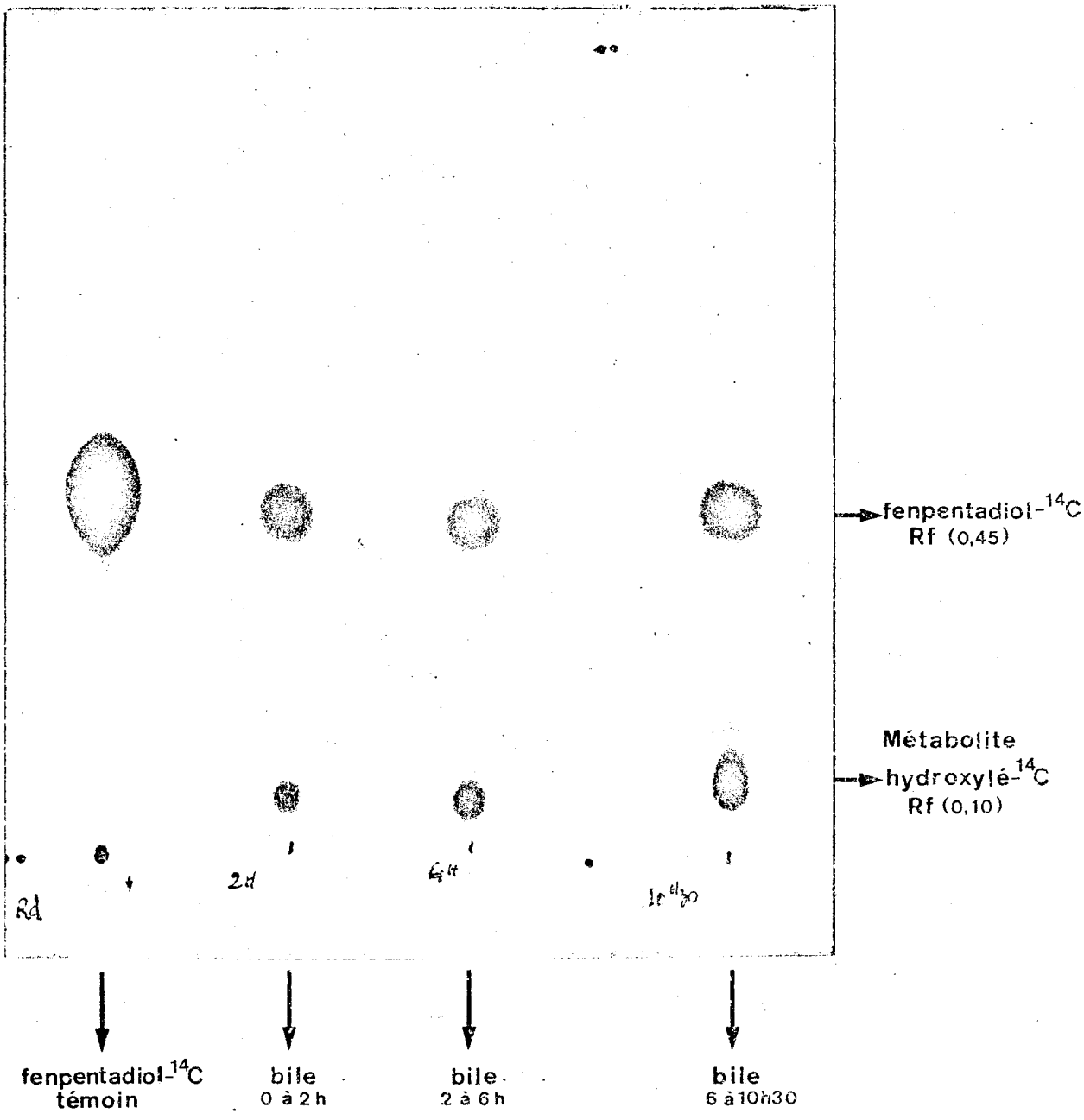


Figure 19 - Radiochromatogramme de bile d'un rat prétraité au phénobarbital, après hydrolyse enzymatique (Système n°1 - plaque de Silicagel Merck F 254)

II .3.3 - Métabolisme du fenpentadiol-^{14}C au niveau sanguin

La radioactivité est extraite quantitativement, à l'éthanol, du plasma et des hématies ayant subi une lyse préalable dans l'eau distillée.

La chromatographie en couche mince des extraits alcooliques (système n°1) permet de séparer facilement les formes inchangée et conjuguée du fenpentadiol et de son métabolite hydroxylé.

a) Chez le Rat après administration par voie intraveineuse de fenpentadiol-^{14}C (30 mg/kg)

Des rats mâles pesant environ 130 g sont sacrifiés, par groupe de deux, 10, 20, 30 minutes, 1, 3 et 6 heures après l'administration par voie intraveineuse de fenpentadiol-^{14}C dissous dans le solvant 1 (30 mg/kg) et dont l'activité spécifique est de 5,53 mCi/mM.

- Tableau 25 - *Evolution, en fonction du temps, du taux sanguin du produit inchangé et des métabolites après administration par voie intraveineuse de fenpentadiol-^{14}C chez le Rat*

TAUX SANGUINS DU FENPENTADIOL ET DE SES METABOLITES*
(en % de la radioactivité totale par ml de sang)

TEMPS →	10 min.	20 min.	30 min.	1 h	3 h	6 h
Fenpentadiol total	96,51	94,85	93,60	91,38	85,94	75,92
" inchangé	79,93	75,30	77,38	75,88	69,64	54,42
" conjugué	16,58	19,55	16,22	15,50	16,30	21,50
Métabolite-OH total	2,02	3,23	4,24	5,59	8,99	15,64
" inchangé	2,02	3,23	3,78	4,00	5,78	6,24
" conjugué	0	0	0,46	1,59	3,21	9,40
% retrouvé →	98,53	98,08	97,84	96,97	94,93	91,56

* Moyenne sur 2 animaux pour chaque temps

Le tableau 25 donne les taux sanguins des formes inchangée et conjuguée du fenpentadiol-^{14}C et de son métabolite hydroxylé ; ils sont exprimés en pourcentage de la radioactivité totale par ml de sang et en fonction du temps.

L'examen de ce tableau amène les commentaires suivants :

- l'extraction alcoolique est satisfaisante puisque le pourcentage retrouvé est toujours très supérieur à 90 % de la radioactivité totale par ml de sang.

- le fenpentadiol est présent sous ses deux formes, à chaque temps de sacrifice.

- le taux de fenpentadiol inchangé décroît en fonction du temps au profit du taux de sa forme conjuguée. Cependant, la proportion du médicament inchangé reste prépondérante pendant toute la durée de l'expérience.

- le taux de métabolite hydroxylé, déjà notable dès la dixième minute, s'accroît progressivement en fonction du temps et la forme conjuguée de ce métabolite n'apparaît seulement que 30 minutes après l'injection intraveineuse du produit.

En outre, d'après la figure 20 qui représente la cinétique sanguine de la radioactivité totale, du produit inchangé et du glucuronide, on peut remarquer que les taux de fenpentadiol inchangé restent toujours très importants jusqu'à la sixième heure.

Enfin, on peut observer que les courbes représentatives des cinétiques de la radioactivité totale et du fenpentadiol-^{14}C inchangé, sont presque confondues.

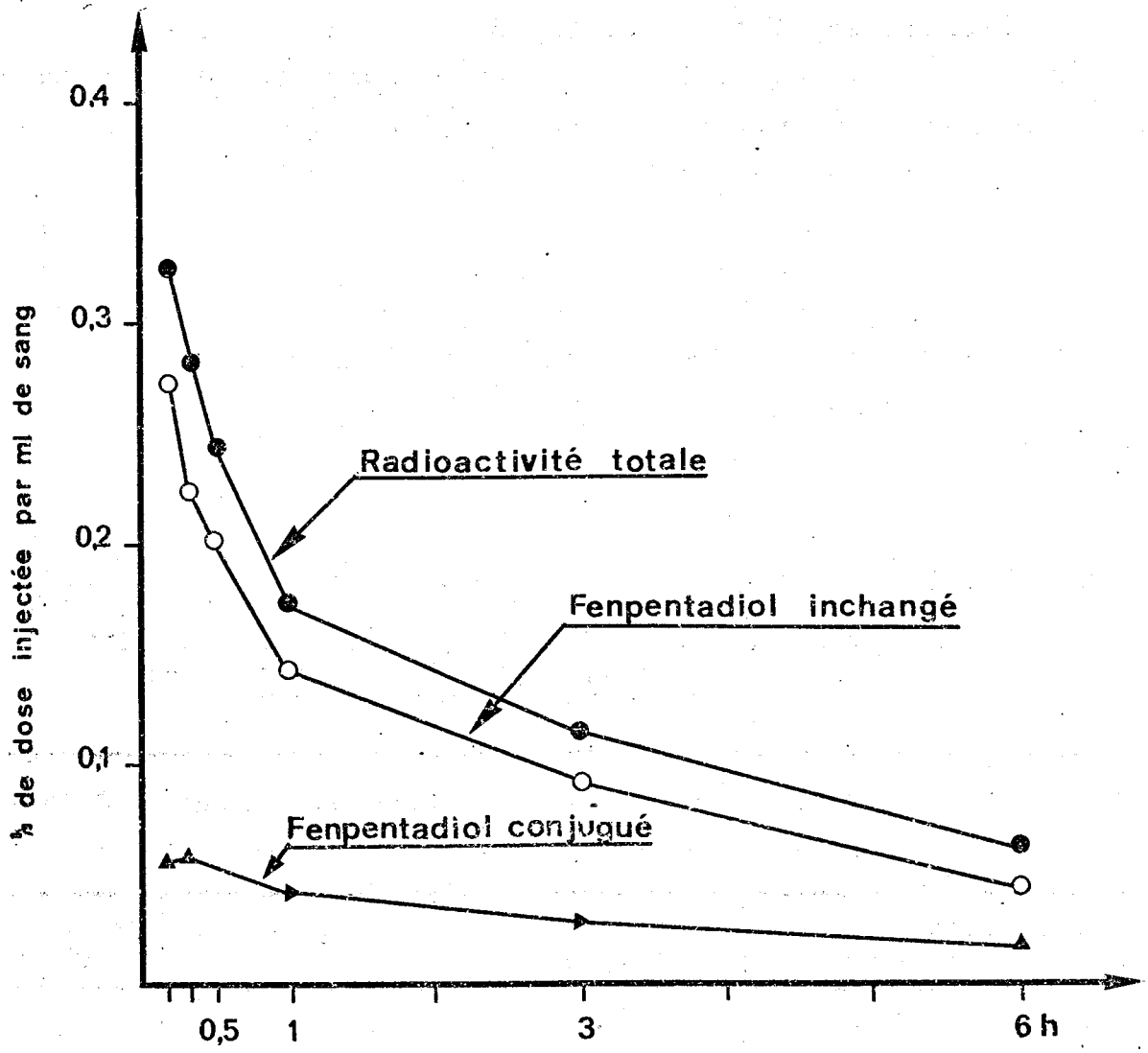


Figure 20 - Cinétique sanguine du fenpentadiol-^{14}C inchangé et de son glucuronide après administration par voie *iv* chez le Rat (30 mg/kg). Moyenne sur 2 animaux pour chaque temps.

b) Chez le Porc après administration par voie intraveineuse de fenpentadiol-^{14}C (5 mg/kg)

Après injection intraveineuse de fenpentadiol-^{14}C (environ 400 µCi) dans la carotide du porc n°4, le sang est recueilli sur héparine après prélèvement dans la veine jugulaire, soit 12 prises de sang de 4 à 120 minutes après l'administration du produit.

Les hématies sont séparées du plasma par centrifugation et

et les extraits alcooliques de chacune des deux fractions sanguines sont chromatographiés sur plaque de Silicagel (F 254 Merck) dans le système n°1. Enfin, les taux des produits radioactifs retrouvés, au niveau du plasma et des hématies, sont exprimés en pourcentage de la radioactivité totale par ml de sang.

Au niveau plasmatique, le tableau 26 montre que le taux de fenpentadiol inchangé décroît en fonction du temps au profit de sa forme glucuroconjuguée qui s'accroît progressivement jusqu'à la fin de l'expérience (59,8 % à 120 min.)

- Tableau 26 - *Evolution en fonction du temps du taux du produit inchangé (et des métabolites) au niveau du plasma après injection iv (5 mg/kg) de fenpentadiol-^{14}C chez le Porc n°4*

TAUX DE FENPENTADIOL ET DES METABOLITES AU NIVEAU PLASMATIQUE (en % de la radioactivité totale par ml de sang)				
Temps (min.)	Fenpentadiol inchangé	Fenpentadiol conjugué	Métabolite - OH	Métabolite - OH conjugué
4	94,4	3,9	-	-
6	86,6	11,5	-	-
10	69,7	28,3	2,0	-
15	59,6	35,7	2,8	1,9
20	47,2	47,1	2,6	3,1
30	48,4	46,1	3,3	2,2
40	39,3	51,3	1,0	8,3
50	36,8	56,3	1,6	5,2
60	36,8	54,4	0,9	7,7
80	40,8	51,2	1,3	6,6
100	37,3	54,4	1,2	7,1
120	34,7	59,8	1,3	4,3

Le métabolite hydroxylé apparaît dès la dixième minute suivant l'injection mais son taux reste toujours très faible.

La forme conjuguée du métabolite apparaît dès la quinzième minute dans des proportions un peu plus importantes. Cependant, on peut observer que le taux maximum du métabolite, inchangé ou conjugué, n'excède pas 7 à 8 % de la radioactivité totale.

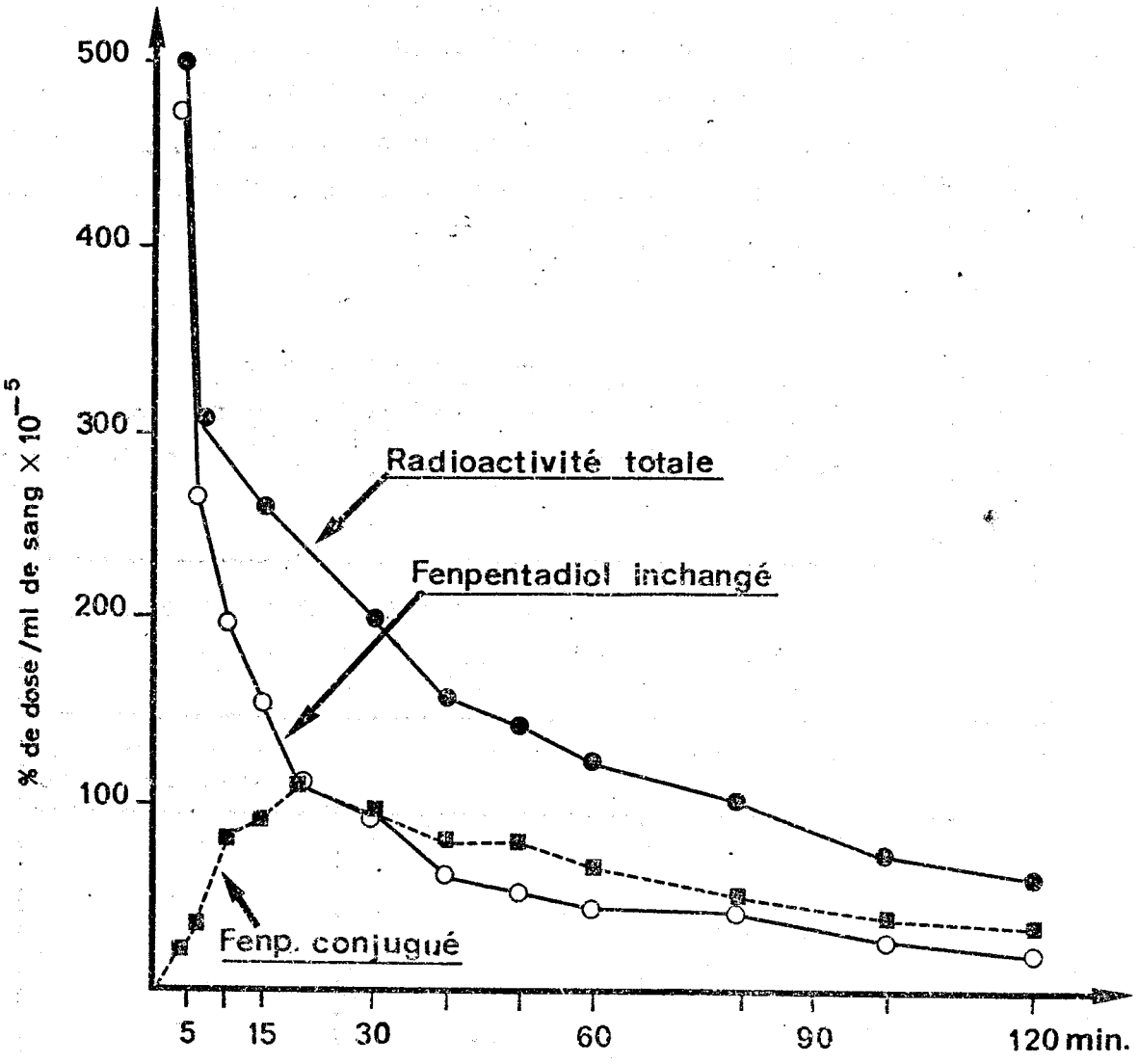


Figure 21 - Cinétique sanguine du fenpentadiol-^{14}C inchangé et de son glucuronide (courbe en pointillés) après injection *iv* (5 mg/kg) chez le Porc n°4.

La figure 21 représente la cinétique du taux sanguin de fenpentadiol et de sa forme conjuguée chez le Porc n°4.

On peut ainsi remarquer que la vitesse de glucuroconjugaison du produit est très rapide puisque le taux sanguin maximum du fenpentadiol-^{14}C glucuroconjugué est atteint 20 minutes après l'injection intraveineuse du produit. Nous observons ensuite une décroissance analogue du taux circulant des deux formes du fenpentadiol.

Au niveau des hématies, nous avons suivi l'évolution, en fonction du temps, du fenpentadiol-^{14}C, du métabolite hydroxylé ^{14}C et du total des composés conjugués jusqu'à la trentième minute suivant l'injection intraveineuse du produit. Les résultats sont également exprimés en pourcentage de la radioactivité totale par ml de sang (tableau 27).

- Tableau 27 - *Evolution en fonction du temps du taux du produit inchangé (et des métabolites) au niveau des hématies après injection iv (5 mg/kg) de fenpentadiol-^{14}C chez le Porc n°4*

TAUX DE FENPENTADIOL ET DES METABOLITES AU NIVEAU DES HEMATIES (en % de la radioactivité totale par ml de sang)			
Temps (min.)	Fenpentadiol	Métabolite - OH	Total des composés conjugués
4	97,3	-	2,7*
6	96,4	-	3,6*
10	90,7	3,8	5,5
15	80,5	9,0	10,5
20	77,2	8,2	14,6
30	70,0	8,0	22,0

* fenpentadiol glucuroconjugué uniquement

Comme précédemment, le taux des deux composés conjugués s'accroît en fonction du temps, mais il est intéressant de noter que le taux de fenpentadiol inchangé reste toujours très prépondérant dans les hématies jusqu'à la fin de l'expérience.

La figure 22 illustre cette dernière observation puisque la cinétique du taux de fenpentadiol inchangé correspond pratiquement à celle observée pour la radioactivité totale.

Enfin, comme nous l'avons déjà vu, il est important de souligner que les quantités de fenpentadiol localisées dans les hématies sont notablement plus petites que celles retrouvées dans le plasma à chaque temps de l'expérience.

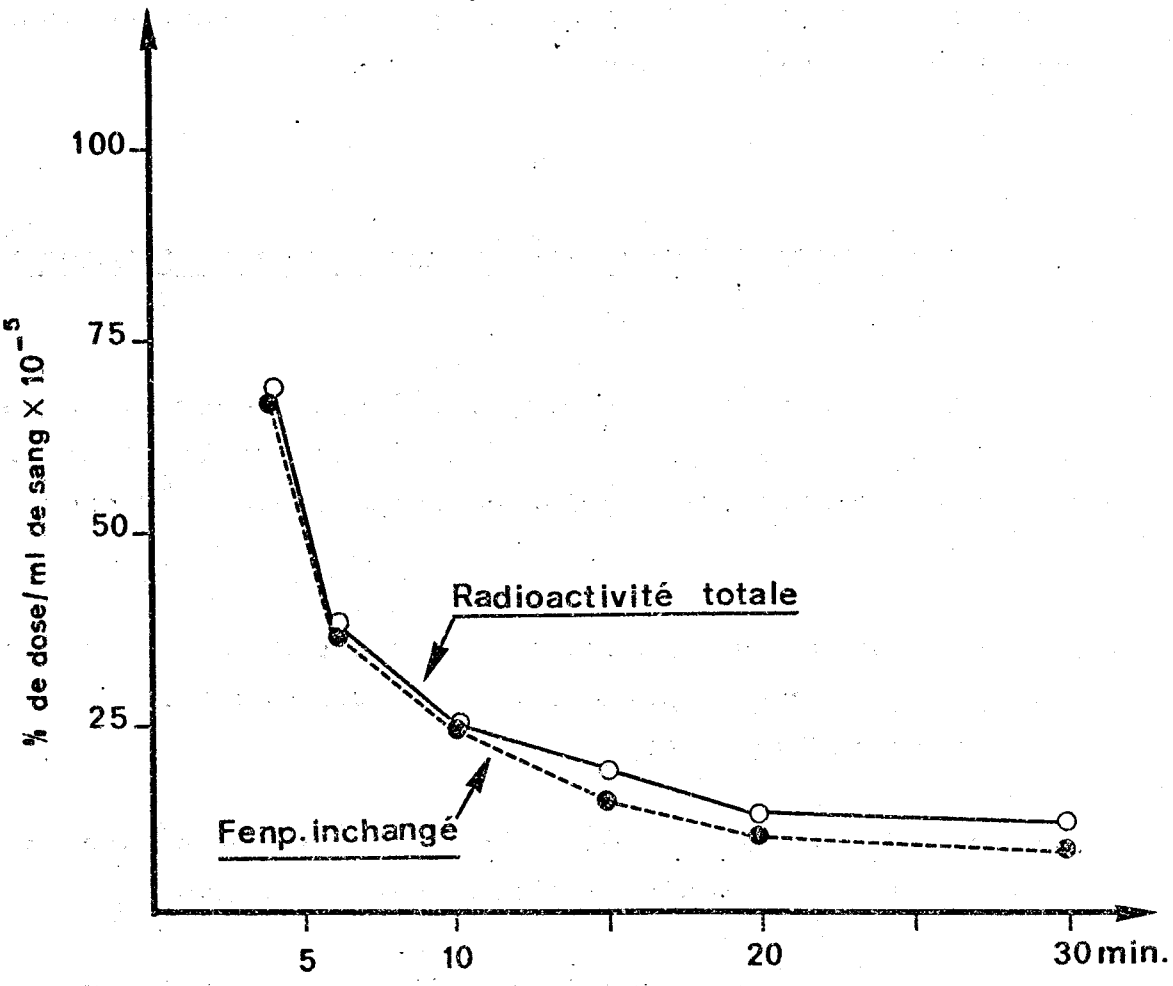


Figure 22 - Evolution en fonction du temps du taux du médicament inchangé au niveau des hématies après injection *iv* (5 mg/kg) de fenpentadiol-^{14}C chez le Porc n°4.

II.3.4 - Métabolisme du fenpentadiol-^{14}C au niveau du cerveau

Les cerveaux de 3 rats, sacrifiés 1 heure après administration par voie intraveineuse de fenpentadiol-^{14}C (30 mg/kg), sont prélevés et congelés immédiatement dans l'azote liquide. Après broyage, la poudre est reprise par $HClO_4$ M, puis centrifugée à plusieurs reprises. Le surnageant obtenu, après addition de KOH 5N et centrifugation, constitue la fraction acido-soluble. Après centrifugation, le culot traité par l'alcool, puis par un mélange alcool/éther à l'ébullition, donne un surnageant qui constitue la fraction lipidique.

Dans ces conditions, la chromatographie en couche mince (système n°1) des deux extraits, a permis d'évaluer des quantités approximativement égales de fenpentadiol-^{14}C dans les fractions acido-soluble et lipidique du cerveau.

II.4 - ANALYSE PHARMACOCINETIQUE DES COURBES DE TAUX SANGUINS DU FENPENTADIOL

L'étude de l'évolution chronologique des concentrations sanguines permet une analyse pharmacocinétique des résultats obtenus après injection intraveineuse rapide de fenpentadiol-^{14}C chez le Rat et le Porc.

Les conditions d'expérimentation, chez ces deux espèces, ont déjà été rapportées dans un paragraphe précédent consacré au métabolisme sanguin du fenpentadiol-^{14}C.

Le tableau **28** donne les valeurs des concentrations sanguines exprimées en µg de fenpentadiol inchangé par ml de sang.

On peut ainsi remarquer que la corrélation entre les valeurs trouvées par dosage et les valeurs calculées (H.P 9820 A) est satisfaisante, à l'exception des premiers taux sanguins chez le Porc (4 et 6 min. après l'injection).

L'analyse des courbes permet d'élaborer un modèle ouvert à deux compartiments descriptif du devenir in vivo du fenpentadiol après son injection intraveineuse .

- Tableau 28 - *Concentrations sanguines (µg/ml) après administration par voie intraveineuse de fenpentadiol-^{14}C chez le Rat et le Porc*

Temps après injection *i.v* (min.)	RAT [a] (30 mg/kg)		PORC n°3 [b] (5 mg/kg)		PORC N°4 [c] (5 mg/kg)	
	Observées	Calculées	Observées	Calculées	Observées	Calculées
4	-	-	17,20	10,98	7,57	5,88
6	-	-	5,50	7,36	4,26	4,67
10	10,64	11,20	4,00	4,00	3,17	3,17
15	-	-	2,90	2,65	2,48	2,23
20	8,76	8,76	2,40	2,22	1,77	1,77
30	7,88	7,43	1,90	1,90	1,55	1,35
40	-	-	1,60	1,69	0,99	1,13
50	-	-	-	-	0,84	0,97
60	5,60	5,80	1,10	1,36	0,72	0,83
80	-	-	0,90	1,09	0,67	0,62
100	-	-	-	-	0,43	0,46
120	-	-	0,70	0,70	0,34	0,34
150	-	-	0,70	0,50	-	-
180	3,61	3,54	0,23	0,36	-	-
360	1,75	1,75	-	-	-	-

a Moyenne sur 2 rats mâles (130 g ± 5 g) sacrifiés à chaque temps considéré. - b Porc femelle pesant 41 kg. - c Porc femelle pesant 32 kg.

Les concentrations sanguines sont déterminées à des temps suffisamment rapprochés de l'injection pour s'inscrire suivant une courbe biexponentielle répondant à l'équation générale :

$$Cp = A.e^{-\alpha t} + B.e^{-\beta t}$$

L'existence de deux exponentielles dans une telle équation permet déjà de supposer que l'évolution des concentrations sanguines est régie par plusieurs phénomènes successifs :

1. distribution du fenpentadiol entre les différents tissus

2. élimination du fenpentadiol par biotransformation et excrétion.

L'analyse mathématique de la courbe biexponentielle qui procure les éléments essentiels : A, B, α, β ainsi que le calcul des paramètres du modèle ont été faits sur calculatrice programmable H.P 9820 A, selon les méthodes de calcul décrites précédemment (chapitre I). Toutefois, il peut être intéressant de rappeler le modèle proposé :

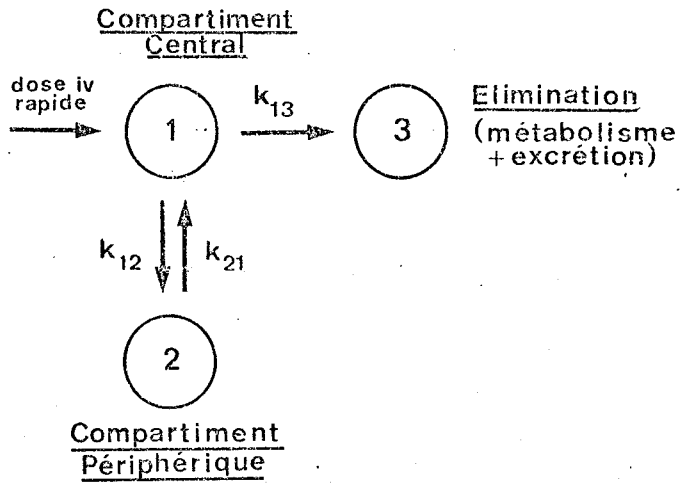


Figure 23 - Modèle ouvert à deux compartiments

II .4.1 - Analyse pharmacocinétique chez le Rat

L'examen de la figure 24 représentant la courbe des concentrations sanguines du fenpentadiol-^{14}C après injection intraveineuse chez le Rat, montre qu'il s'agit d'une courbe biexponentielle dont l'équation est donnée dans le tableau 29.

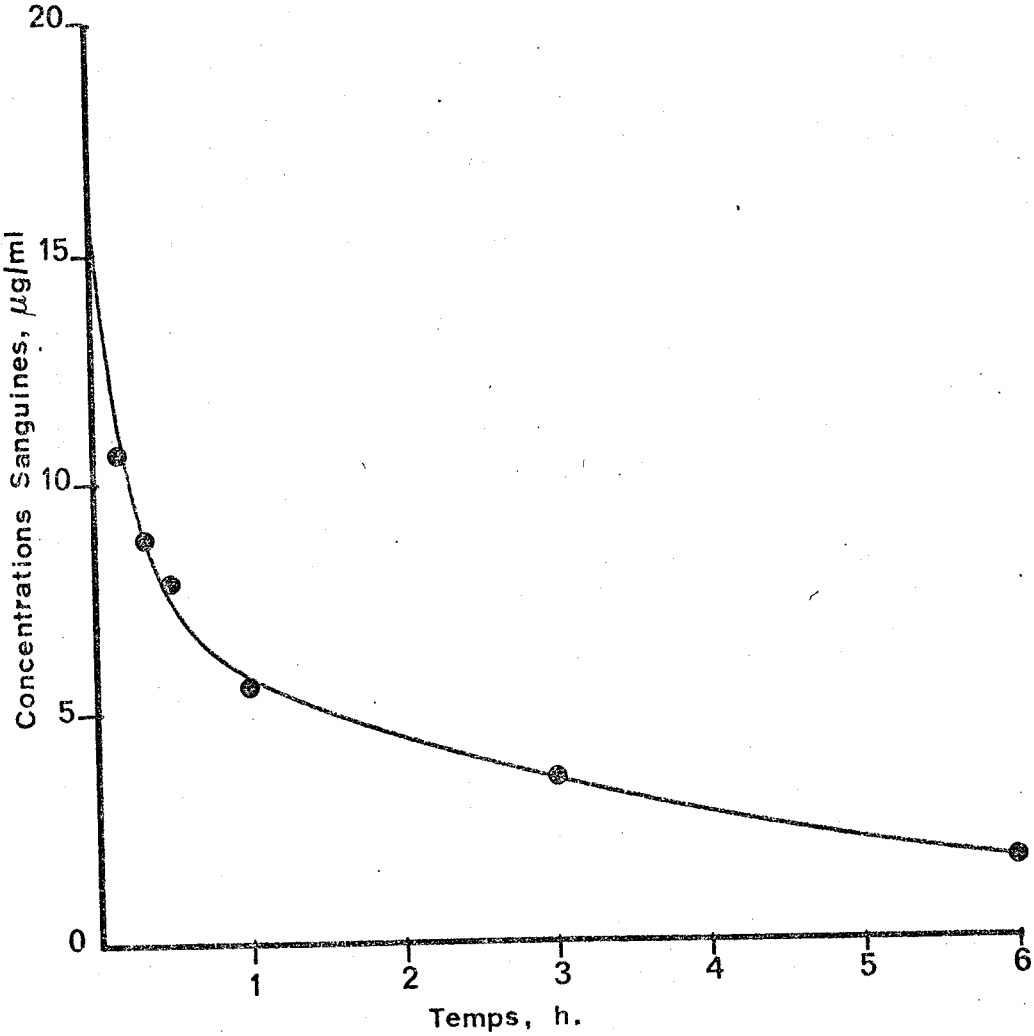


Figure 24 - Cinétique sanguine après injection iv de 30 mg/kg de fenpentadiol-^{14}C chez le Rat. Moyenne sur 2 animaux par temps (●, points expérimentaux ; —— courbe "lissée" à l'aide du calculateur H.P 9820A)

L'équation : $Cp = 8,7.e^{-4,231t} + 7,18.e^{-0,235t}$ permet de calculer les différents paramètres pharmacocinétiques (k_{12}, k_{21}, k_{13}) et les demi-vies du fenpentadiol (tableau 30).

Pour une dose de 30 mg/kg, la valeur moyenne de Cp° est de 15,88 µg/ml et la surface totale sous la courbe des concentrations sanguines (32,609 $\mu g.h.ml^{-1}$) permet de calculer la clearance totale du fenpentadiol (excrétion + métabolisme) qui est de 2 ml.min, soit 15,4 ml.kg.min pour le Rat.

- Tableau 29 - *Données obtenues chez le Rat et le Porc après une simple injection intraveineuse de fenpentadiol-^{14}C*

Espèce Animale	Dose (mg)	Equations des courbes sanguines $Cp = A.e^{-\alpha t} + B.e^{-\beta t}$ (t en h.)	Surface ($\mu g.h.ml.^{-1}$) $\int_0^\infty Cpdt$	Dose/Surface (clearance totale)	
				ml.min	ml.Kg.min
Rat*	3,9	$8,7.e^{-4,231t} + 7,18.e^{-0,235t}$	32,609	2,0	15,4
Porc n°3	205	$25,27.e^{-15,415t} + 2,64.e^{-0,663t}$	5,521	618,8	15,1
Porc n°4	160	$7,875.e^{-10,357t} + 2,055.e^{-0,899t}$	3,046	875,4	27,3

*Moyenne sur 2 rats sacrifiés à chaque temps

Les résultats consignés dans le tableau 30 indiquent que les constantes de vitesses de distribution (k_{12} et k_{21}) sont plus grandes que la constante globale d'élimination (k_{13}) et que le rapport k_{12} / k_{21} est très voisin de 1.

- Tableau 30 - *Estimation des constantes de vitesse et des demi-vies pour le fenpentadiol**

Espèce Animale	CONSTANTES DE VITESSE (h^{-1})			DEMI-VIES (min.)		
	k_{12}	k_{21}	k_{13}	$\frac{0,693}{\alpha}$	$\frac{0,693}{\beta}$	$\frac{0,693}{k_{13}}$
Rat**	1,9373	2,0418	0,4869	10	176	85
Porc n°3	9,8702	2,1529	5,0549	2,5	62,7	8
Porc n°4	5,1399	2,8562	3,2599	4,0	46,2	13

*Calculs basés sur un système ouvert à 2 compartiments
**Moyenne sur 2 rats sacrifiés à chaque temps.

Il apparaît également sur ce tableau que la constante d'élimination vraie (k_{13}) est plus élevée que la constante d'élimination apparente (β); cette différence explique ainsi l'existence d'une distribution tissulaire importante qui se superpose à l'élimination.

La période biologique du fenpentadiol ($0,693/\beta$) est de 176 minutes et la demi-vie de l'élimination ($0,693/k_{13}$) est deux fois plus courte (85 min.).

Ce phénomène peut s'expliquer par le fait que l'importante distribution du fenpentadiol dans le compartiment périphérique rend ce produit provisoirement indisponible pour l'élimination qui s'effectue, selon la théorie, à partir du compartiment central.

En accord avec le modèle, le fenpentadiol semble se distribuer rapidement dans le compartiment périphérique après une première dilution dans le compartiment central.

Le tableau 31 donne les valeurs des différents volumes de distribution qui sont exprimés en litre par kg de poids corporel.

- Tableau 31 - *Valeurs* de* V_p, $V_{T/p}$, $(Vd)_{ss}$, $(Vd)_{ext}$, $(Vd)_\beta$ *et* $(Vd)_{surf.}$ *pour le fenpentadiol.*

Espèce animale	V_p (L/Kg)	$V_{T/p}$ (L/Kg)	$(Vd)_{ss}$ (L/Kg)	$(Vd)_{ext.}$ (L/Kg)	$(Vd)_\beta$ (L/Kg)	$(Vd)_{surf.}$ (L/Kg)
Rat**	1,89	1,79	3,68	4,18	3,91	3,91
Porc n°3	0,18	0,82	1,00	1,89	1,36	1,36
Porc n°4	0,50	0,91	1,41	2,43	1,82	1,82

* Valeurs basées sur un système ouvert à 2 compartiments.
** Moyenne sur 2 rats sacrifiés à chaque temps.

Le volume apparent du compartiment central (Vp= 1,89 L/kg) représente pratiquement la moitié du volume de distribution à l'état d'équilibre ($(Vd)_{ss}$) = 3,68 L/kg). Ces résultats indiquent que le fenpentadiol se dilue initialement dans le liquide extracellulaire du compartiment central, incluant le sang, pour se distribuer ensuite rapidement dans l'espace extracellulaire des tissus (compartiment périphérique).

Dans ce modèle, nous devons rappeler que les tissus hautement perfusés, tels que le foie et les reins, sont inclus dans le compartiment central.

Enfin, le tableau 31 permet de constater que le volume de distribution $(Vd)_{\beta}$ mesuré à l'état d'équilibre de pseudo-distribution, est, conformément à la théorie, identique à $Vd_{surf.}$ qui est calculé à partir de la surface délimitée par la courbe de concentration sanguine entre t = o et t = ∞ .

La figure 25 représente les fractions de la dose initiale de fenpentadiol, présentes à chaque instant (t) soit dans le compartiment central, soit dans le compartiment périphérique . Elle permet également de suivre l'élimination globale du produit en fonction du temps. Les courbes sont tracées à l'aide de la table traçante x - y de la calculatrice programmable H.P 9820 A. Ainsi, on peut observer que le compartiment central ne prédomine pas sur le compartiment périphérique. L'importance de ce dernier prouve que la distribution tissulaire du fenpentadiol est importante et rapide.

D'autre part, il faut noter que l'élimination globale du fenpentadiol (excrétion + métabolisme) atteint, en 6 heures, près de 80 % de la dose injectée.

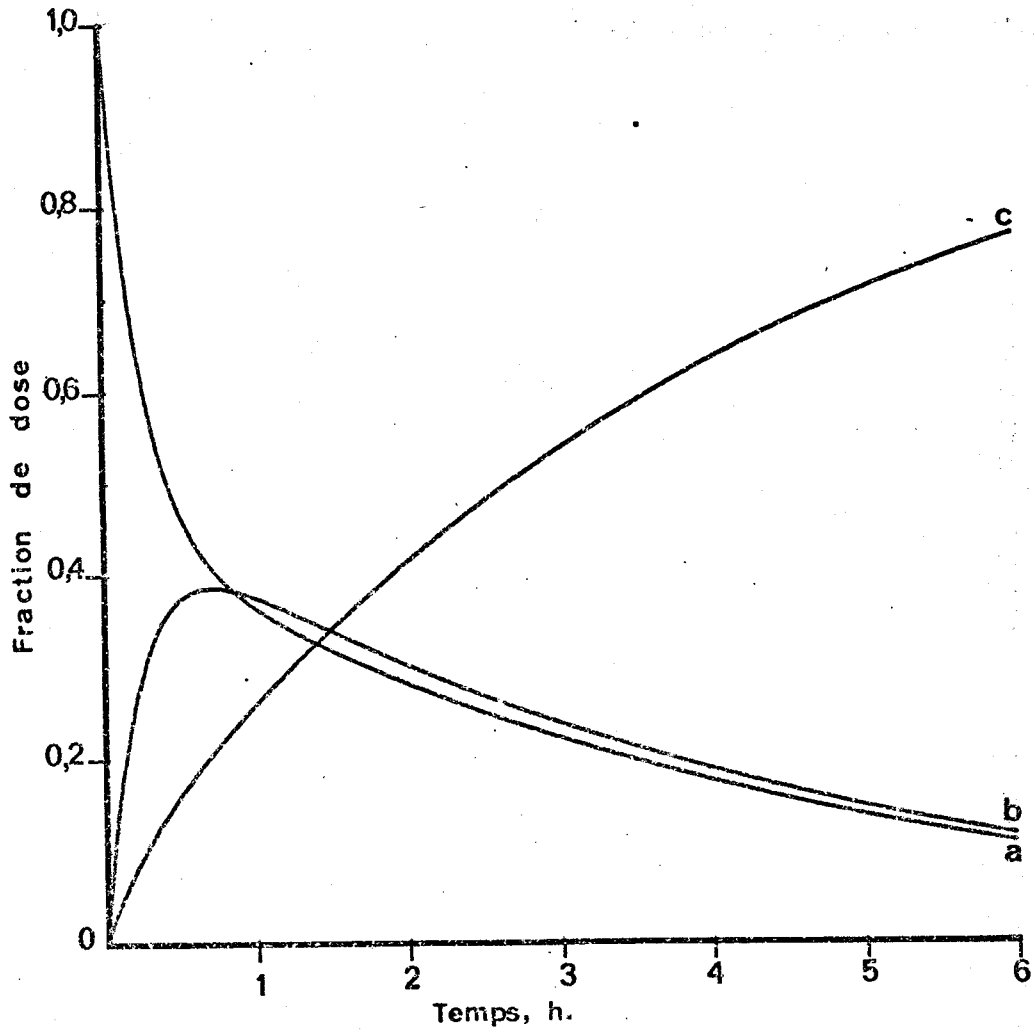


Figure 25 - Injection $i.v$ de 30 mg/kg de fenpentadiol-^{14}C chez le Rat : fraction de la dose initiale présente dans le compartiment central (a), dans le compartiment périphérique (b) et éliminée (c).

II .4.2 - Analyse pharmacocinétique chez le Porc

La figure 26 montre la cinétique sanguine du fenpentadiol-^{14}C (injection intraveineuse de 5 mg/kg) chez le Porc n°3.

On peut ainsi noter que la corrélation, entre les points expérimentaux et les points calculés à l'aide du calculateur, est très bonne. Le taux sanguin décroît rapidement, en fonction du temps, selon une courbe d'allure biexponentielle.

La durée totale de l'expérience est de trois heures et l'équation de la courbe, ainsi que celle se rapportant au porc n° 4, est donnée dans le tableau 29.

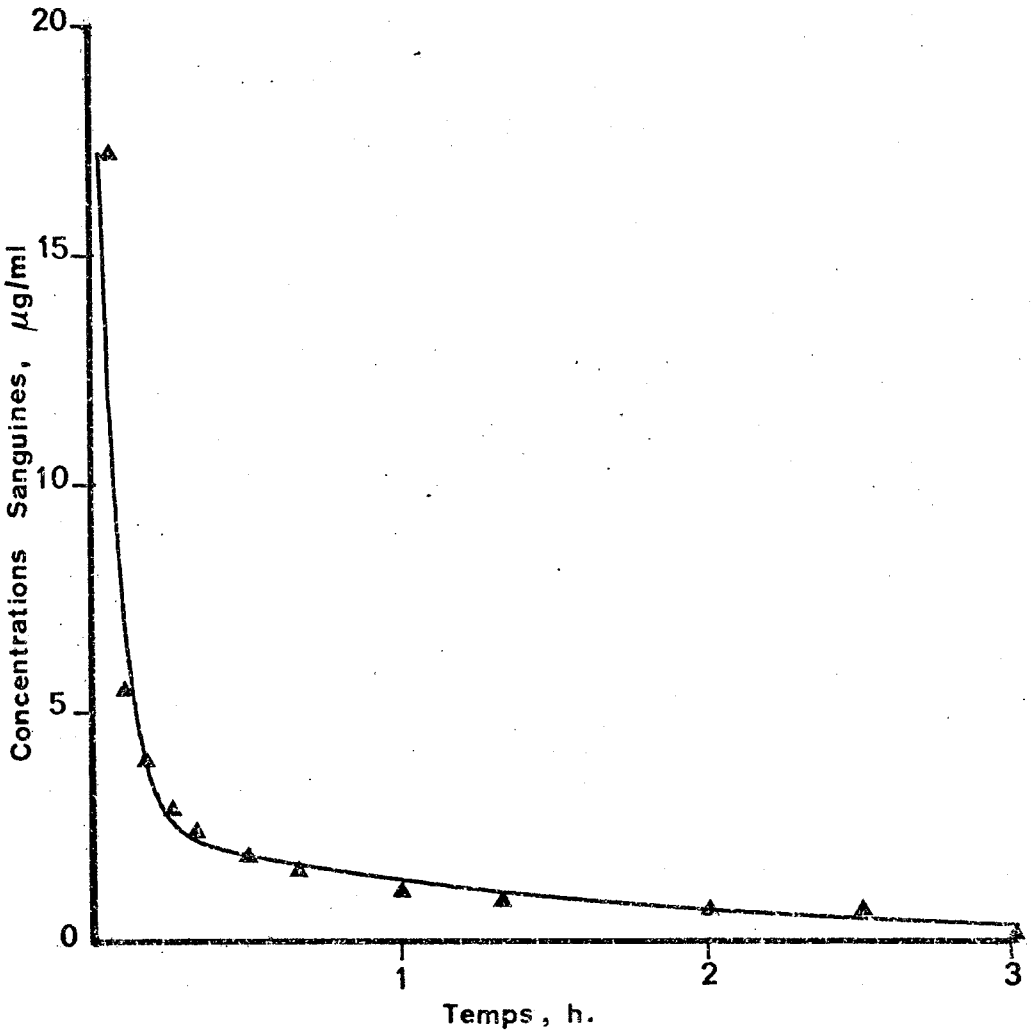


Figure 26 - Cinétique sanguine après injection iv de 5 mg/kg de fenpentadiol-^{14}C chez le Porc n°3. (▲,valeurs expérimentales ; ___,courbe "lissée" à l'aide du calculateur H.P 9820A)

Après injection intraveineuse d'une dose de 30 mg/kg de fenpentadiol-^{14}C, les valeurs individuelles de Cp° pour les porcs n° 3 et 4 sont respectivement de 27,91 et de 9,93 µg/ml de sang et leurs clearances totales (excrétion + métabolisme) sont respectivement de 15,1 et de 27,3 ml.kg.min.

Le tableau 30 donne les valeurs des constantes de distribution (k_{12} et k_{21}) ainsi que les valeurs de la constante globale d'élimination (k_{13}). On peut ainsi remarquer que k_{13} est très supérieur à k_{21} mais la constante de vitesse de distribution vers le compartiment périphérique (k_{12}) prédomine largement les deux autres.

Les rapports k_{12} / k_{21} sont très supérieurs à 1, ils sont respectivement égaux à environ 4,5 et 1,8 pour les porcs n° 3 et 4.

De ces constatations, on peut déduire que la distribution tissulaire se poursuit, dans la masse musculaire et adipeuse de l'animal, pendant toute la durée de cette expérience (3 h).

Cependant, il est à noter que l'élimination globale du fenpentadiol (excrétion + métabolisme) s'effectue très rapidement à partir du compartiment central.

D'autre part, on peut également remarquer que la constante d'élimination vraie (k_{13}) est considérablement plus élevée que la constante d'élimination apparente (β).

Ces derniers résultats prouvent qu'il y a toujours compétition entre les processus régissant la distribution et l'élimination globale du fenpentadiol durant les trois heures qui suivent l'injection intraveineuse du produit.

Enfin, nous pouvons encore constater que les demi-vies de l'élimination ($0,693/k_{13}$) sont notablement plus courtes que les périodes biologiques ($0,693/\beta$) ; dès lors, cette différence montre qu'une fraction non négligeable du produit retenu par les tissus n'est pas, au moins dans l'immédiat, susceptible d'être éliminée globalement.

Les valeurs des différents volumes de distribution sont consignées dans le tableau 31 .

Ces derniers paramètres pharmacocinétiques montrent également l'importance de la distribution du fenpentadiol dans l'espace

extracellulaire des tissus puisque les volumes de distribution (Vp) sont environ trois à cinq fois plus petits que les volumes de distribution à l'état d'équilibre (Vd)ss.

La figure 27 traduit les résultats qui viennent d'être commentés et montre que le compartiment périphérique prédomine toujours considérablement sur le compartiment central.

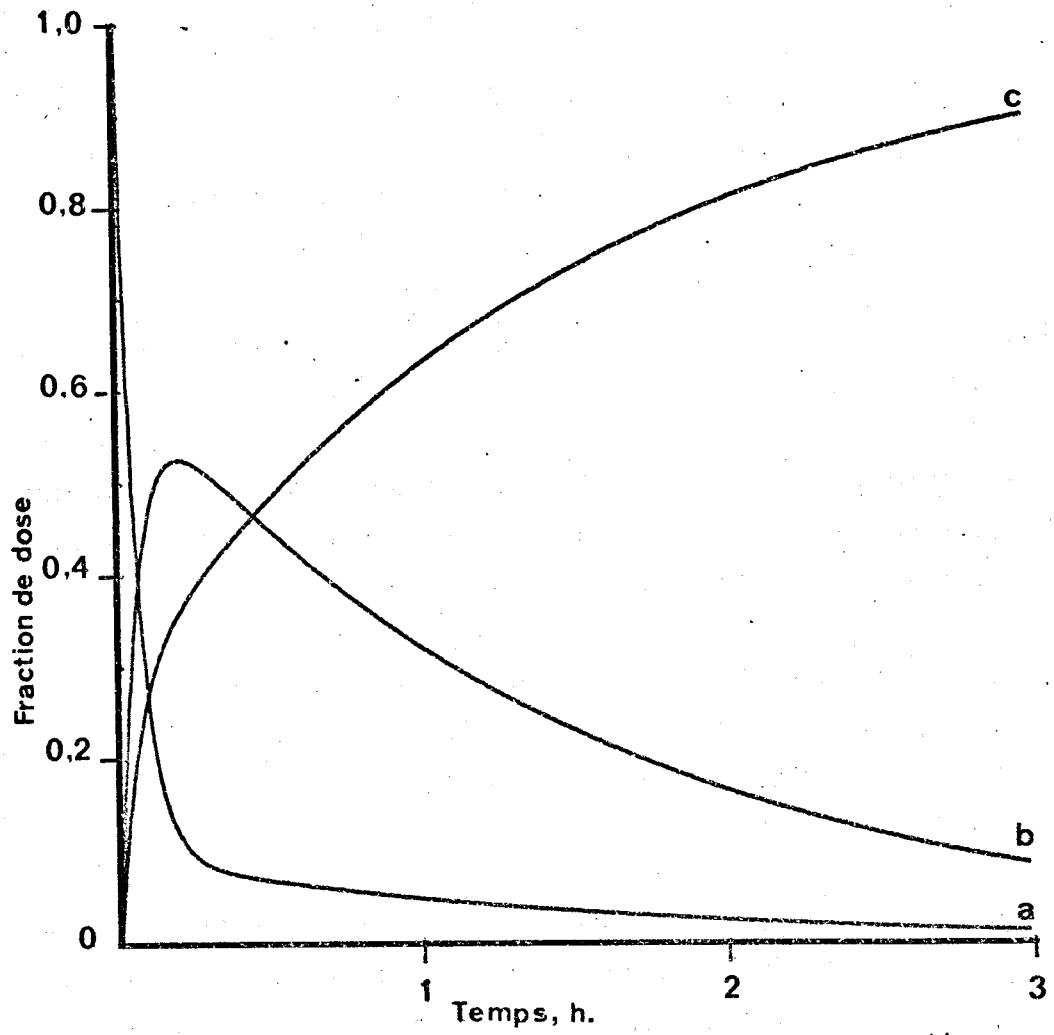


Figure 27 - Injection *iv* de 5 mg/kg de fenpentadiol-^{14}C chez le Porc n°3 : fraction de la dose initiale présente dans le compartiment central (a) dans le compartiment périphérique (b) et éliminée (c).

En outre, nous pouvons observer que l'élimination globale du fenpentadiol (excrétion + métabolisme) est déjà de l'ordre de 90 % de la dose injectée, 3 heures après l'administration du produit.

III - DISCUSSION

L'étude pharmacocinétique et métabolique du fenpentadiol-^{14}C a été réalisée chez le Rat et le Porc, après administration par voies intraveineuse et orale de la molécule marquée au carbone 14, en position 4 de la chaîne pentane diol (activité spécifique : 25,3 mCi/mM).

Bien que la pharmacocinétique soit l'étude de l'absorption, de la distribution, de l'élimination et du métabolisme (biotransformation) du médicament (A.D.M.E), nous distinguerons ici : la pharmacocinétique qui est l'étude en fonction du temps des différents mouvements des médicaments et, éventuellement, mais pas obligatoirement, de ses métabolites à travers l'organisme, et le métabolisme du médicament qui est l'étude des transformations chimiques qu'il subit à l'intérieur de l'organisme. Il est d'ailleurs nécessaire de noter que l'essentiel du métabolisme est d'identifier et, éventuellement ensuite, de doser les métabolites.

Le fenpentadiol est une molécule très liposoluble malgré la présence de deux fonctions "alcool". Il résulte de ces dernières caractéristiques physico-chimiques que le coefficient de partage de la molécule reste indéterminé. Après dissolution du produit dans le sérum physiologique, à l'aide d'un mouillant et émulsionnant tel que le Tween 80, la liposolubilité du fenpentadiol va lui permettre de diffuser rapidement dans tout l'organisme. Les résultats de la distribution quantitative du fenpentadiol-^{14}C, au niveau des tissus ou organes, sont ainsi en accord avec ceux obtenus précédemment par autoradiographie du Rat entier (20). Ils traduisent notamment le passage très rapide de la molécule à travers la "barrière hémo-méningée" puisque, dès les cinq premières minutes qui suivent l'injection intraveineuse, nous trouvons, au niveau du cerveau, une concentration plus élevée que la concentration sanguine correspondante. Par ailleurs, nous avons pu constater que les concentrations tissulaires sont, la plupart du temps, plus élevées que les concentrations sanguines, ce qui montre que la rapide décroissance des taux sanguins

n'est pas attribuable à la seule élimination du produit, mais aussi à sa captation par les organes. Parmi ceux-ci, le foie retient naturellement la plus forte proportion de fenpentadiol, mais il n'est pas sans intérêt de rappeler que la peau retient, en particulier à la trentième minute suivant l'injection intraveineuse, une fraction assez notable de cette molécule liposoluble. Toujours chez le Rat, et après administration par voie orale, le produit, déjà résorbé partiellement au niveau de l'estomac (20), est rapidement absorbé à travers la muqueuse intestinale puisque le taux sanguin maximum de la phase d'absorption est atteint en 30 minutes.

Dans les tissus, la distribution du fenpentadiol est sensiblement du même type que celle trouvée précédemment après injection intraveineuse, mais les concentrations sont plus élevées, la dose administrée étant alors plus forte.

Comme précédemment, il est intéressant de noter que les concentrations tissulaires de produits radioactifs, observées au niveau du foie et du cerveau, sont toujours plus grandes que les concentrations sanguines correspondantes. Ainsi, à la quinzième minute, les rapports tissu/sang (µg équiv./g de tissu ou de sang) pour le foie et le cerveau sont respectivemnt de l'ordre de 9 et de 3.

Aux doses utilisées et quelle que soit la voie d'administration (intraveineuse ou orale) on a donc une concentration du fenpentadiol plus élevée dans les tissus que dans le sang, ce qui implique que cette substance possède une forte affinité pour les tissus.

Enfin, on peut observer que dans chacun des tissus examinés, la radioactivité, mesurée en fonction du temps, passe par un maximum, puis décroît. Ceci prouve que la liaison tissulaire n'est pas irréversible. Il n'y a donc pas, dans les tissus étudiés de risque d'accumulation ou de rétention, soit du fenpentadiol, soit d'un de ses métabolites radioactifs, si une posologie rationnelle est respectée

Nous avons également étudié la biodisponibilité relative du fenpentadiol au cours de la première phase, pharmacocinétique, consacrée au principe actif lui-même, afin de rendre compte des relations entre le sujet récepteur et la molécule chimique.

A cette fin, en prenant comme référence la voie intraveineuse qui, par définition, assure une biodisponibilité totale et instantanée, nous avons pu exprimer la quantité résorbée de fenpentadiol après son administration par voie orale. La biodisponibilité relative du produit s'avère pratiquement quantitative pour le Rat et le Porc, soit respectivement 93 et 82 % de la dose administrée.

Ainsi, la résorption de cette molécule très liposoluble est presque en accord avec les principes de Dost (24) malgré la présence de plusieurs facteurs pouvant limiter la précision des résultats obtenus, savoir :

- la mesure de la radioactivité totale exclue totalement le concept de biodisponibilité du médicament inchangé ;

- l'utilisation inévitable des moyennes chez le Rat ;

- l'étude de la biodisponibilité du produit sur un seul porc. Toutefois, le même animal étant utilisé au cours des différentes phases, les variations intra-individuelles sont réduites ou éliminées ;

- le choix de l'excipient pour solubiliser le fenpentadiol : le Tween 80 risque en effet de perturber les processus d'absorption et de distribution du produit ainsi que sa diffusion après l'injection intraveineuse ;

Enfin, et pour clore cette brève incursion dans le domaine de la biodisponibilité de cette molécule, il est important de souligner que la vitesse de résorption du produit est rapide, puisque le taux sanguin maximum est atteint en 30 minutes après son administration, par voie orale, chez le Porc.

Le fenpentadiol circulant est inégalement réparti entre les hématies et le plasma et le rapport des fractions plasmatique et globulaire reste constant (0,23) quelles que soient l'espèce animale et les concentrations utilisées dans les essais in vitro.

Toujours au niveau sanguin, le fenpentadiol se trouve, en partie, sous forme liée aux protéines plasmatiques. La proportion de fenpentadiol plasmatique lié est de 30 % pour le Rat, alors qu'elle ne représente que 15 % environ chez le Porc. Cependant, en ce qui concerne cette dernière espèce, il convient de remarquer que le degré de liaison a tendance à s'élever lentement en fonction du temps.

D'autre part, des essais réalisés in vitro, sur du plasma de Rat ou de Porc, indiquent un accroissement très notable, dans les deux cas, du taux de liaison du fenpentadiol aux protéines plasmatiques, mais l'influence de la concentration sur le degré de liaison demeure pratiquement nulle. Ces derniers résultats montrent que la seule détermination in vitro du taux de liaison protéinique d'un médicament risque de conduire à des interprétations erronées des résultats lors d'une exploitation mathématique des données pharmacocinétiques. En fait, il est essentiel de s'assurer que la quantité de médicament qui reste libre représente, in vivo, une fraction constante de la totalité du médicament présent dans le sang dans tout l'intervalle des concentrations étudiées.

Parmi les fractions sanguines qui fixent, in vitro, le fenpentadiol, il est intéressant de noter que le taux de liaison déterminé sur du sérum humain (34 %) est du même ordre que celui observé pour du sérum de Porc (33,3 %). D'autre part, on peut remarquer que le fenpentadiol se fixe préférentiellement au niveau de la sérum albumine et des α-globulines humaines, soit respectivement 8,4 et 9,2 % de produit lié.

De cette étude de la liaison du fenpentadiol aux protéines plasmatiques, il ressort que la forme libre, toujours fortement prépondérante chez le Rat et surtout chez le Porc, permet au produit de diffuser rapidement dans les tissus et d'exercer ses effets pharmacologiques au niveau du ou des récepteurs spécifiques. La forme liée, représentant une fraction non négligeable chez le Rat, est stockée provisoirement au niveau du plasma. Toutefois, la liaison étant réversible, cette fraction sera progressivement libérée pour prolonger, dans une certaine mesure, l'effet pharmacologique.

Après administration de doses multiples de fenpentadiol par voie orale et quelle que soit ensuite la voie d'administration choisie (intraveineuse ou orale) pour mesurer les taux tissulaires de fenpentadiol-^{14}C, nous avons constaté une diminution très notable de ces concentrations chez les rats prétraités comparativement aux rats témoins. En fait, tout se passe comme si le fenpentadiol agissait comme un inducteur enzymatique au niveau des microsomes hépatiques. Et ainsi, en renouvelant l'administration du produit, on ne peut qu'accélérer son propre métabolisme. Les effets pharmacologiques seront alors progressivement modifiés par inactivation médicamenteuse (phénomène de tolérance). Il ressort de cette observation que la dose thérapeutique doit, en conséquence, être adaptée pour obtenir une intensité constante des effets observés.

Enfin, la recherche d'une relation entre les concentrations tissulaires et la valeur de la dose chez le Rat, permet de démontrer la linéarité de la relation dose/concentration et de poser comme hypothèse que les processus de distribution et d'élimination obéissent à des cinétiques d'ordre premier apparent (évolution exponentielle). Ces derniers résultats sont intéressants dans la mesure où ils permettront d'avancer que le modèle établi n'est pas dépendant de la dose administrée puisque les processus saturables sont inexistants dans l'intervalle posologique étudié.

Quelle que soit la voie d'administration utilisée chez le Rat (intraveineuse ou orale), la très faible quantité de $^{14}CO_2$ obtenu, par la voie pulmonaire, indique que la position de marquage choisie n'est pas atteinte par le processus métabolique.

Toujours indépendamment de la voie d'administration, le fenpentadiol est éliminé, chez le Rat, par les trois voies d'excrétion : urinaire, biliaire et fécale. Durant les premières 48 heures, les excrétions urinaire et fécale représentent au total 84 % environ de la dose administrée. L'excrétion urinaire est nettement plus importante que l'excrétion fécale. En effet, durant les premières 24 heures, elle correspond à 54 % environ de la dose administrée alors que l'excrétion fécale ne représente que 12 % environ.

Par contre, l'élimination du fenpentadiol s'effectue, chez le Porc, presque totalement par la voie urinaire, quels que soient le sexe de l'animal et la voie d'administration utilisée. Cette élimination est importante et rapide puisqu'elle peut atteindre 80 % environ de la dose administrée au cours des premières 24 heures.

Enfin, et pour les deux espèces animales choisies, il est à remarquer que l'élimination de la radioactivité se poursuit encore, bien au-delà de 48 heures.

Chez le Rat, il apparaît qu'une importante partie de la radioactivité excrétée dans les fèces provient de la bile. En effet, cette dernière contient, dès les deux premières heures qui suivent l'administration du produit, 44 et 24 % environ de la dose, respectivement pour les voies intraveineuse et orale.

Quoiqu'il en soit, il existe, chez le Rat, un cycle entéro-hépatique qui porte sur une fraction importante de la dose éliminée dans la bile (21).

L'importance de la voie biliaire est également constatée chez un porc dont la bile présente une concentration radioactive maximum dès la quinzième minute suivant l'injection intraveineuse du produit. D'autre part, chez ce Porc, la bile n'étant pas déviée hors de son cycle normal, il apparaît que la quasi-totalité de la dose éliminée dans la bile est réabsorbée puisque l'excrétion fécale est pratiquement inexistante chez cette espèce animale.

En ce qui concerne l'élimination du produit, il apparaît ainsi une différence assez notable entre les espèces choisies. Enfin, l'importance du cycle entéro-hépatique du fenpentadiol, observée dans les deux cas, peut contribuer à la prolongation de la durée de l'activité du produit si, toutefois, les composés réabsorbés sont encore actifs.

Les voies proposées pour le métabolisme du fenpentadiol sont relativement simples. Il s'agit exclusivement de processus de glucuroconjugaison et d'hydroxylation (figure 28).

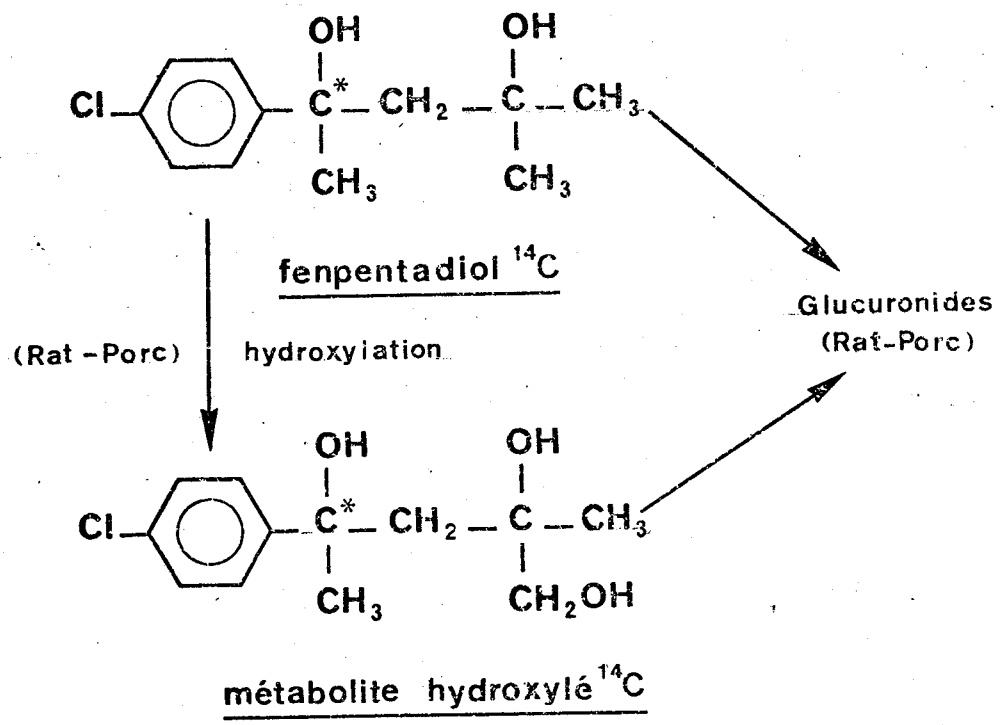


Figure 28 - Schéma métabolique du fenpentadiol-^{14}C
(* position du ^{14}C).

La spectrométrie de masse a permis d'identifier le métabolite hydroxylé du fenpentadiol après extraction de ce composé des urines de rats traités préalablement au phénobarbital. Nous avons ainsi utilisé le principe de l'induction enzymatique afin d'obtenir une quantité assez appréciable du métabolite par stimulation de la biotransformation du fenpentadiol.

Ce mécanisme est probablement caractérisé par un accroissement de la synthèse d'enzymes du réticulum endoplasmique (au niveau des

hépatocytes) qui président à l'inactivation de nombreux médicaments.

L'oxydation de la chaîne latérale d'un noyau aromatique conduit toujours à des molécules plus polaires que la molécule initiale. Elles diffusent moins dans les tissus, ne sont pratiquement pas fixées par les protéines plasmatiques et sont, ainsi, rapidement éliminées par les reins.

D'après Williams (96), les voies possibles de la biotransformation des alcools tertiaires sont la glucuroconjugaison des groupements hydroxyles et l'oxydation de l'un ou plusieurs des substituants alkyls. Cependant, si Williams mentionne de nombreux exemples de glucuroconjugaison, il ne cite pas de travaux mettant en évidence une oxydation d'un substituant alkyl d'un alcool tertiaire. A notre connaissance, ce type de métabolisme n'est pas encore mentionné dans la littérature. Néanmoins, l'oxydation biologique d'une chaîne aliphatique est décrite pour un grand nombre de composés tels que le pentobarbital (11) (16) et le probénécide (42).

Pour conclure sur ce métabolite, il est intéressant de noter que sa structure chimique, presque analogue à celle du fenpentadiol, lui confère des activités pharmacologiques identiques, mais il s'est montré moins toxique et un peu moins actif dans la plupart des épreuves effectuées chez la Souris (63).

Dans les urines du Rat et du Porc, nous avons pu extraire deux substances très polaires sensibles à l'action de la β-glucuronidase du suc d'Helix Pomatia, sans, pour autant, observer une différence qualitative ou quantitative entre ces deux espèces. Après déconjugaison, il y a toujours une prédominance du fenpentadiol inchangé, mais la vitesse de formation du métabolite hydroxylé s'accroît notablement en fonction du temps. Ces derniers résultats sont intéressants dans la mesure où l'on considère que l'hydroxylation et la conjugaison sont des processus métaboliques représentant des mécanismes de détoxication très importants.

En outre, il ressort de cette étude que les produits conjugués représentent la totalité des métabolites urinaires du fenpentadiol-^{14}C, quelle que soit la voie d'administration, intraveineuse ou orale.

Le processus de glucuroconjugaison peut expliquer l'importante élimination biliaire du fenpentadiol chez le Rat et le Porc. En effet, la radioactivité éliminée au niveau biliaire, représente essentiellement le produit glucuroconjugué (99 %), 7 minutes après injection intraveineuse de fenpentadiol-^{14}C chez le Rat. Selon Williams (97) la formation préalable des conjugués est nécessaire à leur excrétion intensive dans la bile et l'importance de la conjugaison tient à ce qu'elle accroît le poids moléculaire et donne une polarité à la molécule.

Ces dernières remarques s'appliquent au fenpentadiol car son glucuronide polaire, de poids moléculaire supérieur à 300, est extensivement excrété dans la bile.

Quand le Rat est traité préalablement au phénobarbital, on peut également observer que la quantité du métabolite hydroxylé s'accroît, en fonction du temps, au cours de l'élimination biliaire de la radioactivité. Dans ces conditions, le fenpentadiol et son métabolite se retrouvent, sous une forme glucuroconjuguée, dans la bile, dès les premières minutes qui suivent l'injection intraveineuse du fenpentadiol-^{14}C.

Chez le Porc, le composé glucuroconjugué du fenpentadiol représente également la presque totalité de la radioactivité éliminée dans la bile au cours du cycle entéro-hépatique.

D'autre part, il est intéressant de noter que l'analyse des prélèvements sanguins effectués au niveau de la veine porte du porc a permis de mesurer des quantités importantes de glucuronide. Cependant, ces derniers résultats ne peuvent démontrer, avec certitude, que le composé conjugué est réabsorbé, sans déconjugaison préalable, à partir de l'intestin. On sait, en réalité, que la source de β-glucuronidase se trouve dans le milieu bactérien intestinal et que généralement, le glucuronide est, en majeure partie, scindé, ce qui favorise la réabsorption du produit libre au cours de la circulation entéro-hépatique du médicament (97).

Au niveau sanguin, si l'on compare, chez le Rat et le Porc, les cinétiques du fenpentadiol-^{14}C inchangé ou conjugué, on observe essentiellement des variations dans l'intensité des processus de glucuroconjugaison. C'est ainsi que l'on retrouve, 60 minutes après l'injection intraveineuse du produit, 3,5 fois plus de fenpentadiol conjugué chez le Porc. Par contre, on peut constater que les vitesses de formation du métabolite hydroxylé sont pratiquement identiques pour les deux espèces. Dans les deux cas, le métabolite est déjà décelé dès les premières dix minutes qui suivent l'injection intraveineuse du fenpentadiol-^{14}C, et son taux s'accroît progressivement en fonction du temps ainsi que celui du composé conjugué correspondant.

Il semble donc, qu'en ce qui concerne les taux sanguins, les variations sont relativement faibles tant pour les cinétiques elles-mêmes que pour les biotransformations observées. Toutefois, il est nécessaire de tenir compte de l'espèce qui sert à l'expérience puisque le processus de glucuroconjugaison a tendance à se développer plus rapidement chez le Porc.

En ce qui concerne le métabolisme du fenpentadiol-^{14}C au niveau des hématies du Porc, on retrouve encore, après 10 minutes, plus de 90 % du produit inchangé et le total des composés conjugués et du métabolite hydroxylé ne représente que 30 % de la radioactité totale, 30 minutes après l'injection intraveineuse du fenpentadiol-^{14}C. En fait, la fixation du produit sur les hématies est très faible, et l'on peut également observer que le taux de fenpentadiol inchangé décroît rapidement jusqu'à la fin de l'expérience (30 minutes).

Enfin, des essais de localisation dans le cerveau ont permis d'évaluer approximativement des quantités égales de fenpentadiol-^{14}C dans les fractions acido-soluble et lipidique de cet organe. Ainsi, l'activité pharmacologique du fenpentadiol, sur le système nerveux central, ne peut être attribuée, du moins pour la fraction libre, qu'au médicament inchangé ayant diffusé dans le tissu cérébral.

L'étude des processus d'absorption, de distribution, de métabolisme et d'élimination (A.D.M.E) du fenpentadiol-^{14}C ne serait pas complète sans la détermination des principaux paramètres pharmacocinétiques et l'élaboration d'un modèle descriptif du cheminement de ce médicament dans l'organisme. En fait, une molécule très liposoluble comme le fenpentadiol, dont l'excrétion est intimement liée à la vitesse de métabolisme individuel, est l'une des plus aptes à bénéficier d'un traitement pharmacocinétique.

Cependant, une précision expérimentale insuffisante rend souvent caduque l'interprétation mathématique. Si, par exemple, une méthode analytique n'a pas un degré de spécificité suffisant pour discriminer la substance-mère de ses métabolites, les résultats seront invariablement inutilisables. Les problèmes analytiques se compliquent du fait de la qualité du milieu : milieu biologique d'une extrême complexité.

Parmi les méthodes les plus actuelles, nous avons choisi la molécule marquée pour doser le fenpentadiol-^{14}C dans le sang de l'animal. En effet, la molécule marquée est un remarquable instrument de mesure quantitative d'une étonnante sensibilité. La nanomole est très facilement accessible pour peu de l'activité spécifique soit moyennement élevée. Elle a, en plus, l'avantage de pouvoir contrôler facilement l'extraction quantitative du produit et/ou de ses métabolites dans les différents milieux biologiques. Par contre, la molécule marquée utilisée conjointement avec la chromatographie en couche mince n'évite pas certains stades analytiques qui sont toujours longs et relativement laborieux à mettre en oeuvre : extraction, autoradiographie, "grattage" des chromatoplaques, etc ... De plus, il faut souligner que la technique radioactive est actuellement inutilisable en pharmacocinétique clinique.

Chez le Rat et le Porc, l'exploitation mathématique des résultats de notre étude pharmacocinétique s'est avérée plus difficile que celle réalisée précédemment chez la Brebis où nous avions obtenu une courbe sanguine triexponentielle (19) (22), permettant d'exploiter, à l'aide d'un calculateur analogique, le modèle ouvert à trois compartiments proposé par Nagashima, Levy et O'Reilly pour la bishydroxycoumarine (66).

En fait, vu les écarts expérimentaux inhérents à tout essai biologique, il est souvent illusoire d'analyser une courbe comportant plus de deux exponentielles. Dans le cas du Rat, il faut ajouter que des impératifs, d'ordre technique, n'ont pas permis de déterminer les concentrations sanguines du fenpentadiol-^{14}C inchangé à des temps suffisamment rapprochés de l'injection. Dans ces conditions, nous n'avons pas obtenu la première exponentielle, de pente très importante, correspondant à la diffusion rapide du produit dans le compartiment sanguin. Quant au Porc, la distribution massive et rapide de cette molécule lipophile dans le compartiment tissulaire peut sans doute être à l'origine de l'imprécision des premières mesures sanguines.

Cependant, il est très probable que l'excipient utilisé (Tween 80) soit le principal responsable des perturbations observées dès les premiers instants qui suivent l'injection intraveineuse du fenpentadiol-^{14}C.

Dès lors, nous avons élaboré un modèle ouvert à deux compartiments susceptible de se rapprocher au maximum des données biologiques. Les deux compartiments sont différenciés par leur taux d'irrigation (74) et leur cinétique d'échange :

- le premier, dit "compartiment central" englobant le sang et les tissus fortement irrigués : foie, reins, cerveau, poumons, etc ;

- le second, dit "compartiment périphérique ou tissulaire" groupant les tissus moins irrigués : muscle, peau, os, tissus adipeux, etc...

La figure 29 représente les mouvements internes du fenpentadiol-^{14}C dans l'organisme du Rat à la trentième minute suivant l'injection intraveineuse du produit (30 mg/kg).

Ce système, très proche des modèles théoriques de Cohen (15) et de O'Reilly (68), a le mérite, par sa complexité, de souligner une des principales limites de la pharmacocinétique.

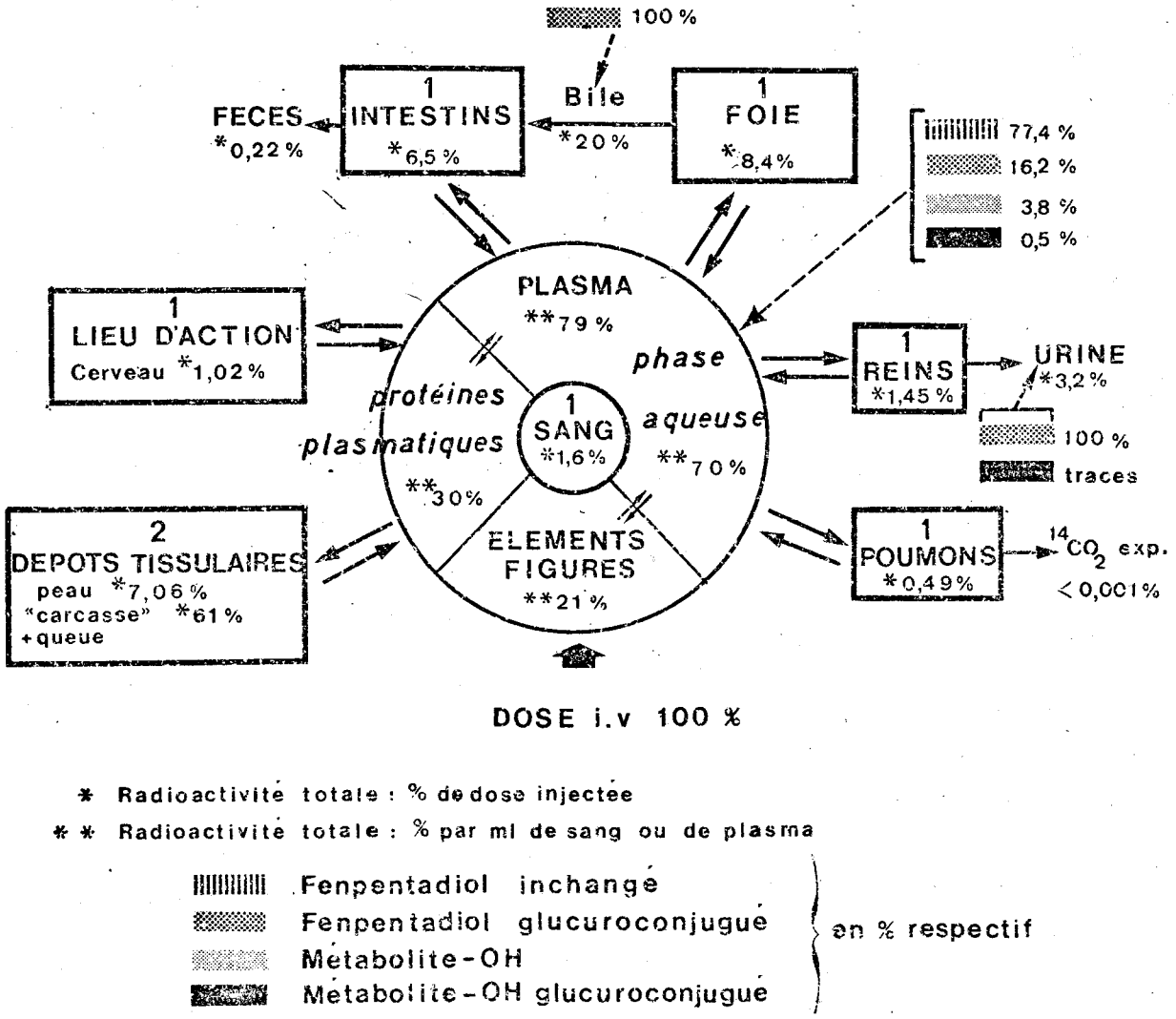


Figure 29 - Exemple d'un modèle multi-compartimental pour le fenpentadiol, 30 min. après injection i.v (30 mg/kg) chez le Rat. (1 : organes inclus dans le compt.central, 2 : organes inclus dans le compt. périphérique). Le compt.sanguin comprend également le liquide extracellulaire et le système lymphatique.

En effet, le système présenté est en réalité bien plus complexe ; de plus, les données introduites sont de toute évidence incomplètes et nécéssitent par surcroît le sacrifice de l'animal.

En définitive, l'avantage de la représentation en modèle du sort pharmacocinétique d'un médicament réside dans une synthèse succincte, mais suggestive, d'un processus complexe. Une telle figure est plus lisible qu'une série de tableaux de chiffres, mais il n'apporte pas plus, puisqu'il est élaboré à partir de ces chiffres.

Si l'on compare les différents paramètres pharmacocinétiques déterminés chez le Rat et le Porc, on peut observer des variations importantes selon l'espèce étudiée. La clearance totale du fenpentadiol (excrétion et métabolisme) est de l'ordre de 15 ml.kg.min. pour le Rat. Elle est du même ordre pour l'un des porcs, mais s'élève à 27,3 ml.kg.min. pour le second animal. Ces dernières valeurs étant, dans les deux cas, très supérieures aux taux de filtration glomérulaire (!), il apparaît donc que l'estimation de la clearance totale est en accord avec l'importance et la rapidité des processus de glucuroconjugaison du fenpentadiol chez ces deux espèces animales.

Chez le Rat, les constantes de vitesse de distribution sont très supérieures à la constante globale d'élimination, et le rapport k_{12}/k_{21}, très voisin de l'unité, indique que le médicament se distribue d'une manière identique dans les deux compartiments.

Par contre, il apparaît que la distribution se poursuit dans la masse musculaire et adipeuse des deux porcs, durant les trois heures qui suivent l'injection intraveineuse du fenpentadiol ($k_{12}/k_{21} > 1$).

Dans les deux cas, on peut cependant observer que la constante d'élimination vraie (k_{13}) est toujours plus élevée que la constante d'élimination apparente (β), ce qui montre que les processus de distribution tissulaire et d'élimination restent en compétition pendant toute la durée des expériences.

Chez le Rat, la période biologique (0,693/β) et la demi-vie de l'élimination globale (0,693/k_{13}) sont respectivement trois et huit fois environ plus élevées que chez le Porc. Toutefois, et pour les deux espèces, il est intéressant de remarquer que les demi-vies de l'élimination sont toujours plus courtes que les périodes biologiques, indiquant ainsi qu'une fraction notable du produit, retenu dans le compartiment périphérique, n'est pas immédiatement susceptible d'être éliminée à partir du compartiment central.

Toujours chez le Rat, on peut encore noter que le volume de distribution (Vd_β) est au moins deux fois plus important que celui qui est déterminé chez le Porc.

Cette dernière observation est intéressante dans la mesure où le volume de distribution est en rapport avec la quantité efficace de médicament nécessaire pour obtenir une action pharmacologique d'intensité voulue.

Dans un modèle ouvert à deux compartiments, le médicament administré (voie intraveineuse) se distribue rapidement dans le compartiment central, d'où il se répartit à une vitesse variable (k_{12}) en direction du compartiment périphérique. Cette vitesse est fonction de différents facteurs tels que les volumes de distribution du produit, le coefficient de partage du médicament entre les deux compartiments et la vitesse de circulation du sang dans les tissus. Dès lors, la répartition, dans les deux compartiments, de la dose initiale administrée ainsi que l'élimination globale du fenpentadiol dépendront essentiellement du choix de l'espèce animale. Ainsi, si les courbes de répartition du fenpentadiol permettent de constater, en accord avec la liposolubilité du produit, que la distribution tissulaire est importante et rapide pour les deux espèces, elles montrent également que le compartiment périphérique prédomine plus considérablement sur le compartiment central, dans le cas du Porc. Par ailleurs, il est important de rappeler que le taux des liaisons protéiniques est deux fois plus élevé chez le Rat, et cette différence peut sans doute expliquer, du moins en partie, l'importance du compartiment central chez cette dernière espèce. Il convient de noter enfin que le rôle présumé joué par le compartiment périphérique, en tant que "réservoir" à médicament, ne

semble pas s'appliquer au Porc puisque, trois heures après l'administration du fenpentadiol-^{14}C, l'élimination globale du produit est déjà de l'ordre de 90 % de la dose injectée. Par contre, l'élimination globale du produit ne représente, chez le Rat, que 55 % environ de la dose injectée pour un temps d'observation identique (3 heures).

De cette analyse mathématique des données pharmacocinétiques, il ressort que le modèle choisi est en accord avec les principaux résultats de métabolisme et de l'élimination du fenpentadiol-^{14}C. Enfin, nous voudrions encore ajouter que le Porc ne constitue pas un modèle animal privilégié pour l'étude pharmacocinétique de cette molécule très liposoluble. Au contraire, il apparaît que l'effet médicamenteux observé chez le Rat, vu notamment sous les angles de la durée et de l'intensité d'action, est en conformité avec les principales caractéristiques pharmacocinétiques du fenpentadiol.

CONCLUSION GENERALE

Dans la première partie de ce travail, nous avons étudié l'absorption, la distribution, l'élimination et le métabolisme du fenpentadiol-^{14}C chez le Rat et le Porc.

Dans une seconde étape, après injection intraveineuse du produit, nous avons effectué une analyse mathématique des résultats, afin d'élaborer un modèle ouvert à deux compartiments descriptif du cheminement de ce psychotrope dans l'organisme, et d'établir les paramètres pharmacocinétiques caractéristiques du fenpentadiol.

Les résultats obtenus montrent, d'abord, que le médicament est bien absorbé lorsqu'il est administré par voie orale. En effet, l'absorption du produit est très rapide, comme en témoignent les taux sanguins et tissulaires mesurés dans l'heure qui suit l'ingestion du fenpentadiol-^{14}C. Après administration orale d'une dose unique, l'absorption est presque totale puisque la biodisponibilité relative du fenpentadiol correspond, pour le Rat, à plus de 90 % de la dose administrée. Chez le Porc, il semble que la biodisponibilité correspond à un taux d'absorption légèrement inférieur.

Chez le Rat, et quelle que soit la voie d'administration, nous constatons que les concentrations tissulaires du fenpentadiol sont toujours plus élevées que les concentrations sanguines correspondantes.

Lorsque la dose est administrée par voie orale, la distribution du fenpentadiol est comparable à celle trouvée après injection intraveineuse. En ce qui concerne la répartition de la radioactivité, nous observons que le foie retient la plus forte concentration de fenpentadiol, mais des concentrations très importantes sont retrouvées notamment au niveau des reins et du cerveau.

L'étude de la distribution montre donc un passage important et très rapide du produit à travers la barrière hémo-méningée, même lorsqu'il s'agit de l'administration par voie orale.

Néanmoins, nous constatons qu'en aucun cas la liaison tissulaire n'est irréversible : il n'y a donc pas de risque d'accumulation ou de rétention du produit et/ou de ses métabolites radioactifs.

De même qu'il se fixe partiellement sur les hématies selon un rapport érythro-plasmatique qui reste constant quelle que soit l'espèce, le fenpentadiol se trouve, en partie, lié aux protéines plasmatiques, les taux de liaison étant de l'ordre de 30 et 15 % respectivement pour le Rat et le Porc. Ainsi, la forme libre du produit est très prépondérante, ce qui assure une diffusion rapide du fenpentadiol vers les tissus et ses récepteurs spécifiques. De cette étude des liaisons protéiniques, il ressort également que la distribution du fenpentadiol dans l'organisme, et en particulier son transfert à travers la barrière hémo-méningée, ne dépend pas seulement du caractère lipophile de la molécule, mais aussi de l'importance de la fraction libre circulante. C'est ainsi que l'on trouve, cinq minutes après injection intraveineuse de fenpentadiol-^{14}C chez le Rat, une concentration radioactive environ deux fois plus élevée dans le cerveau que dans le sang.

Lors de l'administration de doses multiples de fenpentadiol par voie orale, nous n'avons pas décelé le moindre signe d'accumulation. Tout au contraire, les concentrations tissulaires sont toujours moins élevées chez les rats prétraités que chez ceux qui ne reçoivent qu'une dose unique de fenpentadiol-^{14}C. Ceci peut signifier que le fenpentadiol agit comme un inducteur enzymatique au niveau des microsomes hépatiques, et l'administration répétée du produit ne fait alors qu'accélérer son propre métabolisme.

Par ailleurs, nous constatons une linéarité parfaite dans les relations dose/concentration tissulaire. Ceci permet d'avancer l'hypothèse selon laquelle il n'y a pas de phénomène de saturation dans l'intervalle posologique étudié.

En ce qui concerne l'élimination, elle s'effectue chez le Rat, par voie urinaire, biliaire et fécale, l'élimination pulmonaire, sous forme de $^{14}CO_2$, étant pratiquement nulle, quel que soit le mode d'administration.

Au total, l'élimination de la radioactivité représente 84 % environ de la dose administrée durant les premières 48 heures. L'excrétion urinaire est très prépondérante puisqu'elle correspond, en 24 heures, à 54 % de la dose administrée.

Chez le Porc, l'élimination du fenpentadiol s'effectue presque exclusivement par voie urinaire et biliaire. L'exrétion urinaire est importante et rapide puisqu'elle atteint 80 % de la dose administrée durant les premières 24 heures. De plus, il apparaît que la presque totalité de la dose éliminée dans la bile est réabsorbée puisque l'excrétion fécale est insignifiante. Ainsi, ces résultats confirment que la biodisponibilité du fenpentadiol est totale chez cette espèce.

Nos observations peuvent signifier que l'importance du cycle entéro-hépatique, serait susceptible, chez ces deux espèces, de prolonger la durée d'action du produit sous réserve que les composés réabsorbés soient encore pharmacologiquement actifs.

Les processus de glucuroconjugaison et d'hydroxylation participent activement à la biotransformation du fenpentadiol. Ceci semble confirmer que ces processus conduisent à une étape indispensable et importante qui doit précéder l'élimination du produit. Effectivement, les formes glucuroconjuguées du fenpentadiol et de son métabolite hydroxylé représentent la totalité des produits de biotransformation retrouvés dans les urines des deux espèces soumises à notre étude.

Nous remarquons également que la biotransformation du fenpentadiol, en son analogue hydroxylé, est accélérée par un traitement préalable au phénobarbital, inducteur enzymatique de référence.

L'intensité des processus de glucuroconjugaison explique l'importance de l'élimination biliaire du fenpentadiol chez ces deux espèces. En outre, le traitement préalable au phénobarbital accroît également, chez le Rat, la proportion du métabolite glucuroconjugué présent dans la bile, dès les premiers temps qui suivent l'injection intraveineuse de fenpentadiol-^{14}C.

Au niveau sanguin, si l'on compare les cinétiques de biotransformation des deux espèces, on constate essentiellement des variations dans l'intensité des processus de glucuroconjugaison, ces derniers ayant tendance à s'accélérer chez le Porc. Ceci semble en accord avec la rapidité de l'excrétion urinaire des formes conjuguées du fenpentadiol et de son métabolite que l'on a observée chez cette espèce.

Par contre, nous remarquons que les vitesses de formation du métabolite hydroxylé sont pratiquement identiques pour le Rat et le Porc.

L'étude de la distribution du fenpentadiol-^{14}C, permet également une comparaison d'ordre pharmacocinétique. En effet, après injection intraveineuse du produit, si l'on compare les résultats obtenus à partir de l'exploitation mathématique des courbes sanguines, nous constatons des différences importantes, entre le Rat et le Porc, en ce qui concerne les paramètres pharmacocinétiques.

Pour mieux traduire ce fait, nous avons admis que l'organisme de chacune des deux espèces se comporte comme un modèle ouvert à deux compartiments, après injection intraveineuse du produit.

Chez le Rat, les valeurs de la période biologique ($0,693/\beta$) et de la demi-vie de l'élimination globale ($0,693/K_{13}$) sont, par exemple, respectivement trois et huit fois plus élevées que chez le Porc.

Dans le cas de la clearance totale du fenpentadiol, la différence semble être moins significative. Pour ces deux espèces, il apparaît néanmoins que l'estimation de la clearance totale est également en accord avec l'importance et la rapidité des processus de glucuroconjugaison du fenpentadiol.

En outre, nous remarquons que la distribution du produit est fonction de l'espèce étudiée. Effectivement nous avons constaté que, chez le Rat, la distribution du fenpentadiol s'effectue, entre les deux compartiments du modèle, selon des fractions de dose égales, alors que la distribution se poursuit encore dans la masse musculaire ou adipeuse des deux porcs, durant les trois heures qui

L'analyse pharmacocinétique montre aussi que le fenpentadiol se répartit mieux dans l'organisme du Rat. C'est ainsi que le volume de distribution (Vd_β) est, chez cette espèce, environ deux fois plus important que chez le Porc.

Enfin, si l'on établit une comparaison entre les cinétiques de l'élimination globale du produit (excrétion plus métabolisme), nous pouvons remarquer que la différence est, de nouveau, en accord avec les résultats de notre étude pharmacocinétique. En effet, nous constatons que l'élimination globale du fenpentadiol atteint, chez le Porc, environ 90 % de la dose injectée alors qu'elle n'en représente que 55 % chez le Rat, trois heures après l'injection intraveineuse du produit.

Dans le cas du fenpentadiol, les principales variations observées, entre le Rat et le Porc, se situent notamment au niveau :

- des éliminations
- du cycle entéro-hépatique
- de l'intensité du processus de glucuroconjugaison
- des paramètres pharmacocinétiques tels que le volume de distribution et la période biologique.

En définitive, nous disposerons désormais d'arguments expérimentaux qui confirment l'intérêt des études métaboliques et pharmacocinétiques dans une recherche pharmacologique sur un psychotrope tel que le fenpentadiol.

Ces recherches sur l'animal ont permis notamment :

1 - de mesurer la biodisponibilité relative du produit ;
2 - de vérifier le passage intensif du médicament à travers la barrière hémo-méningée ;
3 - de suivre spécialement la cinétique du psychotrope au niveau du cerveau ;
4 - de contrôler l'absence d'un risque d'accumulation tissulaire du produit et/ou de ses métabolites, aux doses pharmacologiques utilisées ;

5 - d'établir qu'il existe une relation dose/concentration linéaire dans l'intervalle posologique choisi ;
6 - de montrer que le traitement chronique a pour conséquence d'accroître le métabolisme du fenpentadiol, ce dernier agissant probablement comme un inducteur enzymatique ;
7 - de déterminer les voies de l'élimination qui sont, chez le Porc en particulier, essentiellement urinaire et biliaire avec recyclage entéro-hépatique ;
8 - de contrôler le degré et la vitesse de l'élimination qui est pratiquement complète en 48 heures ;
9 - d'élucider la nature des deux voies de biotransformation du fenpentadiol ;
10 - d'élaborer un modèle descriptif du cheminement du produit dans l'organisme afin d'établir les paramètres pharmacocinétiques qui lui sont propres ;
11 - de montrer que l'on peut estimer l'intensité et la durée d'action d'un médicament.

Sur le plan thérapeutique, nos recherches définissent la nature d'une interaction éventuelle avec certains barbituriques comme le phénobarbital. Elles établissent également que le fenpentadiol est faiblement fixé aux protéines plasmatiques.

Toutes les observations rapportées ci-dessus font ainsi apparaître qu'une posologie plus forte pouvait être prescrite afin d'obtenir le maximum d'effet thérapeutique tout en se préservant du moindre risque. A cet égard, il convient de rappeler que certains cliniciens avaient déjà suggéré une augmentation sensible de la dose journalière. Cependant, l'hypothèse d'un schéma posologique conduisant à une meilleure efficacité du psychotrope nécessiterait, avant d'être retenue, une confirmation expérimentale qui ne peut être obtenue que dans le cadre d'une recherche de pharmacocinétique clinique. De ce fait, une étude de ce type pourrait prédire, quitte à augmenter considérablement le dosage du comprimé, la valeur de la dose initiale, la dose de maintien et l'intervalle posologique afin d'atteindre une concentration encore plus efficace du psychotrope au niveau du ou des récepteurs spécifiques.

Et ainsi, sachant que l'administration répétée de fenpentadiol semble accélérer son propre métabolisme, un ajustement du schéma posologique pourrait sans doute éviter les conséquences de ce phénomène d'induction. Ce dernier peut, somme toute, disparaître si les différentes administrations sont suffisamment espacées afin que l'activation enzymatique induite par une dose ait cessé quand survient l'administration de la dose suivante.

Enfin, il est à rappeler qu'une corrélation assez satisfaisante semble exister entre notre analyse pharmacocinétique et la durée de l'effet thérapeutique observé lorsqu'on administre, par voie intraveineuse, une dose de fenpentadiol à des sujets humains.

Dans le cas du raptus anxieux, on observe, effectivement, que la durée d'action du psychotrope est relativement brève soit, tout au plus, une durée de 60 minutes. Ce temps de réponse thérapeutique correspond finalement, dans une certaine mesure, à la période biologique qui a été calculée après injection intraveineuse de fenpentadiol-^{14}C chez le Porc.

En conclusion, il est clair que l'appréciation de la valeur thérapeutique réelle d'un médicament est généralement délicate. Après les essais expérimentaux chez l'animal, le passage à l'homme s'est longtemps fait de façon empirique. Ainsi donc, le développement des études pharmacocinétiques permet assurément de mieux définir les posologies en fonction de la concentration sanguine, chez le sujet sain et au cours d'états pathologiques divers.

Les faits que nous venons d'exposer montrent, de toute évidence, l'importance de l'étude pharmacocinétique d'un médicament tel le fenpentadiol, dans la recherche pharmaceutique actuelle. Tout d'abord, en matière de création d'un nouveau médicament, s'il est évident qu'un screening" pharmacocinétique ne peut être le seul élément dont il faut tenir compte, il est possible toutefois en modulant la pharmacocinétique d'un médicament, par modification de la structure, d'optimiser favorablement l'action thérapeutique d'une nouvelle molécule. D'autre part, et à l'instar des nombreux auteurs cités en référence, nous pensons également que le raisonnement pharmacocinétique peut amener le pharmacologue à une meilleur compréhension de l'action pharmacologique des médicaments.

La place de la pharmacocinétique animale, dans une recherche pharmaceutique moderne, devrait donc se situer, en toute logique, au niveau de la première phase d'une recherche pharmacologique, avant d'entreprendre les études de biopharmacie et finalement de pharmacocinétique clinique.

o o o
o

BIBLIOGRAPHIE

1 - ALTMAN P.L., DITTMER D.S. (Editors). - "Metabolism". Federation of American Societies for Experimental Biology, Washington. D.C, p 570-571, (1968).

2 - ATKINS G.L. (B. Maurau trad.). - Modèles à compartiments multiples pour les systèmes biologiques. Gauthier - Villars, Paris, (1973).

3 - BARZA M., WEINSTEIN L. - Pharmacokinetics of the Penicillins in Man. Clinical Pharmacokinetics, 1 (4), 297-308, (1976).

4 - BENAKIS A. - Techniques de la scintillation liquide appliquées à l'étude du métabolisme des médicaments. Symposium sur les progrès des techniques nucléaires en pharmacodynamie, Saclay, 11-13 mars 1970, G. Valette et Y. Cohen (Editeurs) - Masson, Paris, 133-142, (1971).

5 - BENOWITZ N.L., MEISTER W. - Pharmacokinetics in Patients with Cardiac failure. Clinical Pharmacokinetics, 1 (6), 389-405, (1976).

6 - BERKOWITZ B.A. - The Relationship of Pharmacokinetics to Pharmacological Activity : Morphine, Methadone and Naloxone. Clinical Pharmacokinetics, 1 (3), 219-230, (1976).

7 - BIEDER A., GAILLOT J. - La pharmacocinétique et ses développements pratiques dans les études biopharmaceutiques (1ère Partie). Ann. Pharm. Fr, 29 (11), 553-568, (1971).

8 - BIEDER A., GAILLOT J. - La Pharmacocinétique peut-elle aider la recherche pharmacologique ? Labo-Pharma. Problèmes et techniques, n° 216, 37-45, (1972).

9 - BOISSIER J.R. - Importance pratique du métabolisme des médicaments.
Immex, I, 645-648, (1971).

10 - BOISSIER J.R. - Les recherches sur le métabolisme et la pharmacocinétique doivent être considérablement amplifiées...
Europ. J. Drug. Metabol. Pharmacokinet, n°1, 6, (1976).

11 - BRODIE B.B., BURNS J.J., MARK L.C., LIEF P.A., BERNSTEIN E., PAPPER E.M. - The fate of pentobarbital in man and dog and a method for its estimation in biological material.
J. Pharmacol. Exp. Ther. 109, 26-34, (1953).

12 - BRODIE B.B., HELLER W.M. (Editors). - Bioavailability of Drugs. (Reprint from "Pharmacology". 8 (1-3), (1972)). S. Karger, Basel, (1972).

13 - BROUSSOLLE P. - Expertise clinique du Trédum injectable.
Non publié, (1971).

14 - COHADON F., RICAUD J., RICHER E., HUBERT L.M. - Valeur du Fenpentadiol dans les suites proches des traumatismes craniens.
Bordeaux Médical, n° 20, 3273-3281, (1973).

15 - COHEN Y. - Application des modèles à l'étude de mécanismes pharmacodynamiques.
In "International Conference on Radioactive Isotopes in Pharmacology, Genève 20-23 septembre 1967" (Waser P.G and Glasson B. editors). Wiley-Interscience, London, 391-409, (1969).

16 - COOPER J.R., BRODIE B.B. - Enzymatic oxidation of pentobarbital and thiopental.
J. Pharmacol. Exp. Ther, 120, 75-83, (1955).

17 - DAVIES D.S., PRICHARD B.N.C. (Editors). - Biological effects of drugs in relation to their plasma concentrations.
Proceedings of a symposium held by the British Pharmacological Society, London on january 4, 1972. The Macmillan Press ed, London, (1973).

18 - DEVISSAGUET J.Ph., SADO P.A., LE VERGE R. - Biogalénique : un exemple d'application des méthodes pharmacocinétiques à la mise au point d'une forme médicamenteuse.
Journée d'information sur la pharmacocinétique et la biopharmacie, Chatenay-Malabry le 3 juin 1975. Labo-Pharma.
Problèmes et techniques, n° 249, 1146-1154, (1975).

19 - DORMARD Y. - Pharmacokinetic study of ^{14}C-fenpentadiol in animals.
Fifth International Congress of Pharmacology, San Francisco, July 23-28, (1972).

20 - DORMARD Y. - Rapports techniques du CREPHAR, octobre (1972) et juillet (1973).

21 - DORMARD Y., LEVRON J.C. - Cycle entéro-hépatique du fenpentadiol chez le Rat : calcul des paramètres pharmacocinétiques.
J. Eur. Toxicol, 1, 43-48, (1972).

22 - DORMARD Y., LEVRON J.C. - Quelques exemples d'applications du calculateur analogique en pharmacocinétique.
Journée de l'Afcet "La simulation en pharmacocinétique et le traitement du signal en pharmacodynamie" - Faculté de Pharmacie - Chatenay-Malabry, 15 novembre 1973.
Thérapie, 30, 21-32, (1975).

23 - DOST F.H. - Der Blutspiegel, Konzentrationsabläufe in der Kreislaufflüssigkeit.
Thieme Verlag, Leipzig, (1953).

24 - DOST F.H. - "Grundlagen der Pharmakokinetik".
Georg Thieme Verlag, Stuttgart, (1968).

25 - DRAYER D.E. - Pharmacologically Active Drug Metabolites : Therapeutic and Toxic Activities, Plasma and Urine Data in Man, Accumulation in Renal Failure.
Clinical Pharmacokinetics, 1 (6), 426-443, (1976).

26 - FABRE J., BALANT L. - Renal failure, Drug Pharmacokinetics and Drug action.
Clinical Pharmacokinetics, 1 (2), 99-120, (1976).

27 - FELTS R. - Aspects de l'utilisation du fenpentadiol 250 mg en milieu institutionnel.
La Vie Médicale, 3, 1933-1939, (1974).

28 - GARRETT E.R. - Pharmacokinetics and Their Clinical Significance.
Intern. J. Clin. Pharmacol, 2, 193-196, (1969).

29 - GARRETT E.R. - The Significance of Properly Designed Pre-Clinical Studies in the Clinical Evaluation of New Drugs.
Int. J. Clin. Pharmacol. 4 (1), 6-20, (1970).

30 - GARRETT E.R. - Theoretical Pharmacokinetics.
In : Clinical pharmacology, Kuemmerle H.P, Spitzy K.H and Garrett E.R (editors). Urban und Schwarzenberg, Munich, (1971).

31 - GIBALDI M., NAGASHIMA R., LEVY G. - Relationship Between Drug Concentration in Plasma or Serum and Amount of Drug in the Body.
J. Pharm. Sci, 58 (2), 193-197, (1969).

32 - GIBALDI M. - Effect of Mode of Administration on Drug Distribution in a Two-Compartment Open System.
J. Pharm. Sci, 58 (3), 327-331, (1969).

33 - GIBALDI M., LEVY G., WEINTRAUB H. - Drug distribution and pharmacologic effects.
Clin. Pharmacol. Therap, 12, 734-742, (1971).

34 - GIBALDI M., FELDMAN S. - Route of administration and drug metabolism.
European J. Pharmacol, 19, 323-329, (1972).

35 - GINET J., LEVY J.C., ROLLAND D. - Psychotrope Aktivität unter dem Einfluss von Fenpentadiol.
Arzn. Forsch, 21, 1-8, (1971a).

36 - GINET J., LEVY J.C., ROLLAND D., LIGOT J., GARDAHAUT M.F. - Propriétés pharmacologiques et neurophysiologiques d'un nouveau psychotrope : le Fenpentadiol.
L'Ouest Médical, 24, 245-248, (1971b).

37 - GLASSON B. - Influence de la liaison protéinique des médicaments sur leur métabolisme.
Actual. Pharmacol (Paris, 23è série, 109-133, (1970).

38 - GLASSON B., BENAKIS A. - The use of radioisotopes in drug metabolism.
In "Intern.Encycl. of Pharmacol and Therapeutics - Radionuclides in Pharmacology (section editor : Y. Cohen). Pergamon. Press, chapter 17, Vol.2, 655-692, (1971).

39 - GLASSON B. - Plan expérimental du métabolisme des médicaments et ses points d'impact.
In "Symposium sur les progrès des techniques nucléaires en pharmacodynamie, Saclay, 11-13 mars 1970 (G. Valette et Y. Cohen : éditeurs)". Masson, Paris, 125-132, (1971).

40 - GLASSON B. - Les cinétiques des interactions médicamenteuses.
In : XI Congreso Internacional de Terapeutica, Barcelona, 1971 (Valdecasas F.G/Laporte J. : éditors). Salvat Editores, SA, Barcelona, 17-27, (1973).

41 - GOODMAN L.S., GILMAN A. (editors). "The Pharmacological Basis of Therapeutics".
Macmillan, New York, N.Y, (1965).

42 - GUARINO A.M., CONWAY W.D., FALES H.M. - Mass spectral identification of probenecid metabolites in rat bile.
Eur. J. Pharmacol, 8, 244-252, (1969).

43 - HEUSGHEM C., LECHAT P. - Les effets indésirables des médicaments.
Masson et Cie, Paris, (1973).

44 - HIRTZ J. - La disponibilité biologique des médicaments.
Actual.Pharmacol (France), 28è série, 77-106, (1976).

45 - HVIDBERG E.F., DAM M. - Clinical Pharmacokinetics of Anticonvulsants.
Clinical Pharmacokinetics, 1 (3), 161-188, (1976).

46 - JACQUEZ J.A. - Compartmental analysis in Biology and Medecine.
Elsevier, Amsterdam, (1972).

47 - JUSKO W.J., GRETCH M. - Plasma and Tissue Protein Binding of Drugs in Pharmacokinetics.
Drug Metab.Revs, 5 (1), 43-140, (1976).

48 - KOCH-WESER J., SELLERS E.M. - Binding on Drugs to Serum Albumin (Second on two Parts).
N.Engl.J.Med. (Medical Intelligence), 294 (10),526-531, (1976).

49 - KRIEGEL H., LEVY J.C., MARTIN D., ROLLAND D. - "Toxikologische Untersuchungen mit Fenpentadiol, einer neven psychotropen Substanz".
Arzn.Forsch. (Drug Res.), 21, 9-13, (1971).

50 - KRIEGEL H. - "Untersuchungen zur Frage einer teratogenen Wirkung von Fenpentadiol bei Maus und Ratte".
Arzn.Forsch. (Drug Res.), 21, 13-15, (1971).

51 - KRISTENSEN M.B. - Drug Interactions and Clinical Pharmacokinetics.
Clinical Pharmacokinetics, 1 (5), 351-372, (1976).

52 - KRUEGER-THIEMER E. - Dosage schedule and Pharmacokinetics in Chemotherapy.
J.Am.Pharm.Assoc.Sci.Ed, 49, 311-313, (1960).

53 - LAPP C. - La cinétique de l'élimination des médicaments. Etude générale et applications médicales.
Prod.Probl.Pharm. (France), 9, (9), 493-501,(10),566-575,(1954).

54 - LAPP C. - La cinétique des éliminations - Technique de calcul de l'hémikrèse et de la protorrhée.
Prod.Probl.Pharm.(France), 11 (2), 87-94, (3), 162-170, (1956).

55 - LECHAT P. - Recherche d'une action tératogène du Trédum.
Non publié, (1963).

56 - LESNE M. - Approche méthodologique de la mesure de la biodisponibilité des médicaments chez l'Homme.
J.Pharm.Belg, 31 (1), 5-24, (1976).

57 - L'HERMITE P., LEVY J.C., MARTIN D. - Etude des effets du fenpentadiol sur le métabolisme des amines biogènes.
J.Pharmacol. (Paris), 3 (4), 459-475, (1972).

58 - LEVRON J.C., LEGLISE P.C., DORMARD Y. - Exemples d'utilisation du Porc Large White en Pharmacocinétique.
J.Pharmacol.Clin, 1 (3), 182-190, (1974).

59 - LEVY G., NELSON E. - Theoretical relationship between dose, elimination rate, and duration of pharmacologic effect of drugs.
J.Pharm. Sci, 54, 812, (1965).

60 - LEVY G. - Kinetics of pharmacologic effects.
Clin.Pharmacol.Ther, 7, 362-372, (1966).

61 - LEVY G., GIBALDI M., JUSKO W.J. - Multicompartment pharmacokinetic models and pharmacologic effects.
J.Pharm.Sci, 58, 422-424, (1969).

62 - LEVY J.C. - Rapport technique du CREPHAR, (1970).

63 - LEVY J.C. - Rapport technique du CREPHAR, (1974).

64 - MASQUIN A., MASQUIN M.O., SAINT-PIERRE G., VERCHERY M. - Action du fenpentadiol 250 mg sur l'anxiété névrotique en milieu institutionnel.
Cahiers Médicaux Lyonnais, 49 (27), 2761-2763, (1973).

65 - MOUREN P., GIUDICELLI S., PERAGUT J.C., GITENET P., PELISSIER J.F. - Nouvelle approche de l'anxiété et des syndromes névrotiques. Essai clinique d'un psychotrope "le Fenpentadiol" (à propos de 50 observations). Marseille Médical, 106è année, n°6, 1-3, (1969).

66 - NAGASHIMA R., LEVY G., O'REILLY R.A. - Comparative pharmacokinetics of coumarin anticoagulants. IV. Application of a three-compartmental model to the analysis of the dose. Dependent kinetics of bishydroxycoumarin elimination. J. Pharm. Sci, 57, 1888-1895, (1968).

67 - NOËL J.P., BENAKIS A., VALETTE R., HERBERT M., PICHAT L. - Synthèse du méthyl-2-p-chlorophényl-4 pentane diol-2,4 (fenpentadiol) marqué au ^{14}C. J. Lab. Comp, 8 (2), 157-174, (1972).

68 - O'REILLY W.J. - Pharmacokinetics in drug metabolism and toxicology. Cand. J. Pharm. Sci, 7 (3), 66-77, (1972).

69 - PARQUET Ph.J. - Essais cliniques du Fenpentadiol à doses élevées. Lille Médical, 3è série, tome XVIII, Suppt, 836-841, (1973).

70 - PLESSAS C. - L'étude de la liaison des médicaments avec les protéines plasmatiques à l'aide de traceurs radioactifs. Thèse de doctorat es Sciences, Genève, (1969).

71 - POSTEL M., BUREAU D., MERCIER M., POSTEL J. - Possibilités du Fenpentadiol à doses fortes dans le traitement des manifestations dépressives. Gaz. Méd. (France), 80 (18), 3109-3115, (1973).

72 - RANE A., WILSON J.T. - Clinical Pharmacokinetics in infants and children. Clinical Pharmacokinetics, 1 (1), 2-24, (1976).

73 - RESCIGNO A., SEGRE G. - Drug and Tracer Kinetics.
Ginn Blaisdell, Waltham, Massachusetts, (1966).

74 - RIEGELMAN S., LOO J.C.K., ROWLAND M. - Shortcomings in Pharmacokinetic Analysis by Conceiving the Body to Exhibit Properties of a single compartment.
J. Pharm. Sci, 57 (1), 117-123, (1968).

75 - RIEGELMAN S., LOO J.C.K., ROWLAND M. - Concept of a volume of Distribution and Possible Errors in Evaluation of This Parameter.
J. Pharm. Sci, 57 (1), 128-133, (1968).

76 - RIGGS D.S. - In "The Mathematical Approach to Physiological Problems".
Williams and Wilkins, Baltimore, Md, 193-217, (1963).

77 - ROLLAND D. - Etude pharmacodynamique d'une série de β-diols bi-tertiaires - Essai de corrélation entre structure et activité.
Thèse Doct. Univ. Pharm. Paris, (1970).

78 - ROSIER Y. - Traitement par le Fenpentadiol injectable de l'anxiété aiguë dans ses divers contextes cliniques.
Non publié, (1971).

79 - ROSIER Y. - A propos du Fenpentadiol à 250 mg. Extension du champ d'indication d'un anxiolytique.
Information Psychiatrique, 49 (7), 697-701, (1973).

80 - ROTH L.J., LEIFER E., HOGNESS J.R., LANGHAM W.H. - Studies on the metabolism of radioactive nicotinic acid and nicotinamid in mice.
J. Biol. Chem, 176, 249-257, (1948).

81 - SAILLANT-KLEIN H., SAILLANT Cl., MASANES P. - A propos de 43 cas traités par le "Rd 292", nouvel antidépresseur psycho-stimulant et anxiolytique.
Gaz. Méd. (France), n°16, 1-3, (1969).

82 - SHEPPARD C.W. - Basic principles of the Tracer Method. John Wiley & Sons, Inc, N.Y, (1962).

83 - SUTTER J., SCOTTO J.C., DUFOUR H., GUASTALLA G.C. - Peut-on éliminer les effets indésirables dans la Thérapeutique régulatrice et stimulante de l'Activité ? Volume Thérapeutique des Entretiens de Bichat 1972, L'expansion éditeur, 273-274, (1972).

84 - SUTTER J., SCOTTO J.C., DUFOUR H., GUASTALLA G. - Le Fenpentadiol, Thérapeutique régulatrice et stimulante de l'activité. Psychologie Médicale, 5 (8), 1425-1438, (1973).

85 - THEORELL T. - Kinetics of distribution of substances administered to the body. I. The Extravascular Modes of Administration. Arch. Int. Pharmacodyn. Ther, 57, 205-240, (1937).

86 - THEORELL T., DEDRICK R.L., CONDLIFFE P.G. - "Pharmacology and Pharmacokinetics". Plenum Press. N.Y, (1974).

87 - VALETTE G. - L'importance des données de la pharmacocinétique en thérapeutique. Actual. Chim. Ther. (France), 2è série, 49-57, (1974).

88 - VALETTE R. - Brevet français n° 1248-420 - B.S.M. n° 1984 et brevets étrangers.

89 - VALETTE R., CALLEJA I., ROLLAND D., LEVY J.C., MARTIN D., APFFEL D., PLAT M. - Etude chimique et pharmacodynamique d'une série de β-diols bi-tertiaires. Chim. Ther, 4, 296-304, (1968).

90 - VOLMAT R., BEAUDOIN J.L., ALLERS G., VITTOURIS N. - Un psychotrope à effet thymo-analeptique : le Rd 292. Essais cliniques sur un groupe d'états dépressifs anxieux. In : LXIVè Congrès de Psychiatrie et de Neurologie de Langue Française, Grenoble, 1966 - Masson, 1142-1150, (1967).

91 - VOLMAT R., ALLERS G., VITTOURIS N., BIZOUARD P. - Une nouvelle présentation du fenpentadiol : le Trédum 250.
In : 69è Congrès de Psychiatrie et de Neurologie de Langue Française, Caen, 1971 - Masson, 1316-1325, (1972).

92 - WAELDELE G., STOCLET J.C. - Cathétérisme permanent de l'aorte thoracique. Mesure directe de la pression artérielle, injection de substances et prélèvements de sang chez le Rat vigile.
J. Physiol. Paris, 66, 357-366, (1973).

93 - WAGNER J.G., NELSON E. - Percent Absorbed Time Plots Derived from Blood Level and/or Urinary Excretion Data.
J. Pharm. Sci, 52, 610-611, (1963).

94 - WAGNER J.G. - "Biopharmaceutics and Relevant Pharmacokinetics" Drug Intelligence Publications, Halmiton, Illinois, (1971).

95 - WAGNER J.G. - "Fundamentals of Clinical Pharmacokinetics" Drug Intelligence Publications, Halmiton, Illinois, (1975).

96 - WILLIAMS R.T. - Detoxication Mechanisms. The Metabolism of Drugs, Toxic Substances and Other Organic Compounds.
Chapman and Hall,L.t.d.London, (1959).

97 - WILLIAMS R.T. - Rôle du système biliaire et des bactéries intestinales dans le métabolisme des médicaments.
In "le métabolisme des médicaments, XXè Journées Pharmaceutiques Françaises, Paris 1970". Expansion Scientifique Française, Paris, 99-108, (1971).

Dernière page d'une thèse

VU

Grenoble, le

Le Président de la thèse

Vu, et permis d'imprimer,

Grenoble, le

Le Président de l'Université
Scientifique et Médicale