

SOMMAIRE

INTRODUCTION..... 1

I - ETUDE DE LA CINETIQUE DE SELS DE NOPOXAMINE CHEZ LE LAPIN ET DE LA BIODISPONIBILITE ABSOLUE ET RELATIVE..... 2

I - 1. METHODOLOGIE..... 2

I - 1.1. Produits utilisés..... 2

I - 1.1.1. Produits radioactifs..... 2

I - 1.1.2. Produits non radioactifs..... 3

I - 1.1.3. Formes galéniques..... 3

I - 1.2. Protocole opératoire..... 3

I - 1.2.1. Mise en oeuvre de la méthode..... 4

I - 1.2.1.1. Administration..... 5

I - 1.2.1.2. Prélèvements..... 5

I - 1.3. Traitement des échantillons biologiques..... 7

I - 1.3.1. Etude de la pharmacocinétique en radioactivité totale..... 7

I - 1.3.2. Etude de la teneur en produit inchangé..... 7

I - 1.4. Expression des mesures de la radioactivité..... 8

I - 2. RESULTATS..... 10

I - 2.1. Analyse de la radioactivité totale..... 10

I - 2.1.1. Citrate de Nopoxamine par voie intraveineuse... 10

I - 2.1.2. Laurylsulfate de Nopoxamine par voie intra-veineuse..... 14

I - 2.1.3. Laurylsulfate de Nopoxamine p01 04..... 17

I - 2.2. Analyse de la cinétique de la Nopoxamine base... 20

I - 2.2.1. Citrate de Nopoxamine par voie intraveineuse... 20

I - 2.2.2. Laurylsulfate de Nopoxamine par voie intra-veineuse..... 25

I - 2.2.3. Laurylsulfate de Nopoxamine p02 04..... 25

I - 2.3. Etude de la résorption..... 29

- PHARMACOCINETIQUE ET BIODISPONIBILITE DE DEUX SELS DE MYRTECAINE <sup>14</sup>C CHEZ LE LAPIN

- PHARMACOCINETIQUE PERCUTANEE DE LA MYRTECAINE <sup>14</sup>C

IN VIVO IN VITRO CHEZ LE RAT

II - ABSORPTION PERCUTANEE DE LA NOPOXAMINE CONTENUE DANS LA CREME ET LE LAIT ALGESAL - ETUDE IN VITRO..... 29

II - 1. PRODUITS UTILISES..... 29

II - 1.1. Crème ALGESAL..... 29

II - 1.2. Lait ALGESAL..... 30

II - 2. PROTOCOLE OPERATOIRE..... 31

II - 2.1. Etude de l'absorption percutanée *in vitro*..... 31

II - 2.1.1. Principe de la méthode..... 31

II - 2.1.2. Description et utilisation de la cellule..... 31

II - 2.1.3. Préparation de biopsies cutanées..... 33

II - 2.1.4. Mise en oeuvre de la méthode..... 33

II - 2.1.5. Expression des résultats..... 34

II - 3. RESULTATS..... 35

II - 3.1. Absorption à travers la peau de rat pour la crème ALGESAL..... 35

II - 3.2. Absorption à travers la peau de rat pour le lait ALGESAL..... 37

III - ETUDE DE LA BIODISPONIBILITE PERCUTANEE CHEZ LE RAT DU CHLORHYDRATE DE NOPOXAMINE CONTENUE DANS LA CREME ALGESAL, ET DU LAURYSULFATE DE NOPOXAMINE CONTENUE DANS LE LAIT ALGESAL..... 40

III - 1. PRODUITS UTILISES..... 40

III - 2. PRINCIPE DE LA METHODE..... 40

III - 2.1. Mise en oeuvre de la méthode..... 41

III - 2.2. Traitement des animaux..... 41

III - 2.3. Expression des résultats..... 42

III - 3. RESULTATS..... 43

III - 3.1. Elimination urinaire et fécale de la Nopoxamine après administration intraveineuse..... 43

III - 3.2. Elimination urinaire et fécale de la Nopoxamine après administration par voie orale..... 49

III - 3.3. Elimination urinaire et fécale de la Nopoxamine après administration percutanée..... 52

III - 3.4. Evaluation de la biodisponibilité de la Nopoxamine administrée par voie percutanée..... 57

III - 3.5. Evaluation de la biodisponibilité de la Nopoxamine administrée par voie digestive..... 57

IV - DISCUSSION - CONCLUSION..... 59

## INTRODUCTION

La MYRTÉCAINE (ou Nopoxamine), anesthésique de surface et de conduction est utilisée depuis longtemps comme principe actif de préparations topiques à usage analgésique et anti-inflammatoire.

La molécule présente une fonction azote tertiaire.



Elle est incorporée à ces préparations sous forme salifiée.

L'objectif du travail effectué est de déterminer l'influence de l'anion

Laurylsulfate :

- d'une part sur les cinétiques intraveineuse et orale, le citrate de Nopoxamine servant de référence,

- d'autre part, sur l'importance du passage transcutané *in vivo* et *in vivo*, le chlorhydrate de Nopoxamine étant le produit de référence.

119

## I - ETUDE DE LA CINÉTIQUE DE SELS DE NOPOXAMINE CHEZ LE LAPIN, ET DE LA BIODISPONIBILITÉ ASSOLUE ET RELATIVE

### I - 1. MÉTHODOLOGIE

#### I - 1.1. Produits utilisés

##### I - 1.1.1. Produits radioactifs

La molécule de Myrtécaïne marquée au carbone 14 a été synthétisée chez Amersham par réaction de 2 diéthylamine ( $U-^{14}C$ ) éthyl chlorure avec de l'homomyrténol en présence d'une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium. Le produit est purifié par HPLC sur colonne de silice.

L'activité spécifique est de 30 mCi/mM. Le poids moléculaire à cette activité s'élève à 266,5 g.

La pureté radiochimique a été contrôlée par chromatographie couche mince, sur plaque de silice Whatman K6F, avec deux systèmes solvants butanol, eau, acide acétique (120, 50, 30) et chloroforme, acétone diéthylamine (65, 35, 1,5).

La révélation est faite par passage au scanner bidimensionnel (Packard 7230). Dans les deux cas, la pureté radiochimique est de 98 % (Annexe).

La Myrtécaïne est utilisée sous forme de sel de citrate et de sel de Laurylsulfate, après dilution isotopique avec de la Myrtécaïne inactive pour respecter le protocole d'étude.

120



Les activités spécifiques du produit administré sont comprises entre 1,52 et 2,49 mCi/mM.

I - 1.1.2. Produits non radioactifs

- Nopoxamine base Myrtécaïne - lot n° 22442 - conforme aux normes analytiques fournies par les Laboratoires de Thérapeutique Moderne.

- Laurylsulfate de Sodium (Carlo Erba) - lot n° AG 11 31 25.

I - 1.1.3. Formes galéniques

Le citrate de Nopoxamine est administré en solution aqueuse de pH 5,3 à une concentration en base de 15 mg/ml pour une activité volumique de 100 UCi/ml.

Le Laurylsulfate de Nopoxamine est administré en i.v. et p.o., en solution dans un mélange propanediol, soluté isotonique de NaCl (80/20), à une concentration en base et à une activité volémiques identiques à celle de la solution précédente.

I - 1.2. ~~Protocole opératoire~~

Les études ont été menées chez des lapins mâles "New Zealand" (CHARLES RIVER FRANCE) répartis en deux lots :

- quatre animaux, d'un poids moyen de 2,8 kg, utilisés pour suivre la cinétique i.v. du citrate de Nopoxamine

121

- six animaux, d'un poids moyen de 2,3 kg, utilisés pour suivre les cinétiques p.o. et i.v. du Laurylsulfate de Nopoxamine, en utilisant la technique du cross-over, chaque animal servant pour les deux voies d'administration, avec respect d'une période de wash-out de 9 jours entre les deux expérimentations.

I - 1.2.1. Mise en oeuvre de la méthode

La veille de l'administration, les animaux sont placés en cages individuelles, et mis à la diète hydrique. Après tirage au sort, ils sont pesés numérotés et mis en place dans des boîtes à contention. une demi-heure avant le début de l'étude.

Les animaux utilisés pour la cinétique du citrate de Nopoxamine sont sacrifiés à la fin de l'expérimentation.

Pour la cinétique du Laurylsulfate de Nopoxamine, les animaux reçoivent d'abord l'administration p.o. A la fin de l'expérience (24 heures après l'administration), ils sont placés dans des cages à métabolisme individuelles, à fond grillagé empêchant la coprophagie, pour une période de wash-out de 8 jours pendant lesquels aucune restriction n'est faite sur l'apport en eau et nourriture (nourriture pour lapins UAR n° 11.

Les animaux sont alors réutilisés pour sous forme de granulés). L'administration par voie intraveineuse, puis sacrifiés après le dernier prélèvement.

122

I - 1.2.1.1. Administration

- Voie intraveineuse : 1 ml de la solution aqueuse de citrate de Nopoxamine ou de la solution de Laurylsulfate de Nopoxamine est exactement injecté dans la veine marginale de l'oreille gauche, en i.v. lente, d'une durée allant de 1 minute 10 à 1 minute 30 secondes. Le chronomètre est déclenché au temps moyen de l'injection.

- Voie orale : 1 ml de la solution de Laurylsulfate de Nopoxamine est exactement administré par tubage à l'aide d'une sonde oesophagienne de Faucher n° 0 (longueur 20cm). Cette dernière est ensuite rincée pour tenir compte de son volume mort, par 1,5 ml du mélange propanediol soluté isotonique en NaCl (80/20). Le chronomètre est déclenché à mi-temps de l'administration.

I - 1.2.1.2. Prélèvements

Les prélèvements sont effectués à l'aide d'un cathéter préalablement hépariné monté sur aiguille pour microperfusion (micro-flex à double ailette 246.05 VYGON), installé à demeure dans l'artère centrale de l'oreille droite avant administration.

Lors du prélèvement, après avoir purgé le cathéter de son volume mort, 2,5 ml de sang sont aspirés avec une seringue en verre héparinée, puis recueillis sur tube de verre hépariné : héparine sodique Roche à 5000 U.I./ml dans la proportion de 20 µl pour 2,5 ml de sang.

123



Un volume de 2,5 ml de Plasmion hépariné (30 v/1 v) est injecté pour maintenir une volémie constante malgré le nombre élevé de prélèvements.

Après essais préliminaires ont été retenus les temps de prélèvements suivants :

Voie intraveineuse :

5' - 15' - 30' - 1 h = 2 h - 4 h - 8 h -  
12 h - 16 h - 20 h - 24 h.

Voie orale :

15' - 30' - 45' - 1 h - 1 h 30 - 2 h - 4 h -  
8 h - 12 h - 16 h - 20 h - 24 h

Les temps de prélèvements sont mesurés à la seconde durant la première heure, puis à la minute pour les autres temps. La durée du prélèvement est exactement mesurée (environ 1 minute) et le temps retenu celui à mi-prélèvement.

Le plasma est séparé par centrifugation (3000 t/min, 10 min). Une partie aliquote est prélevée pour en déterminer la radioactivité totale, le reste est immédiatement congelé (-20° C).



124



I - 1.3. TRAITEMENT DES ÉCHANTILLONS BIOLOGIQUES

I - 1.3.1. Etude de la pharmacocinétique en radioactivité totale

Les parties aliquotes recueillies d'un volume de 100 à 200 microlitres exactement mesurés, sont comptés directement par scintillation liquide (Packard Tricarb 3330) après dilution dans du Picofluor 30 (Packard) solution scintillante pouvant incorporer directement jusqu'à 30 % de phase aqueuse.

I - 1.3.2. Etude de la teneur en produit inchangé

Les plasmas recueillis sont soumis à une extraction par

solvant :

- à un volume de 0,8 ml de plasma sont additionnés 4 ml d'une solution aqueuse de soude 0,1 N, puis 12 ml de dichlorométhane, exactement mesurés.

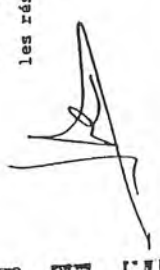
L'extraction est réalisée par agitation transversale pendant 5 minutes.

Les phases aqueuse et organique sont séparées par centrifugation.

Après prélèvement d'une partie aliquote de la phase aqueuse pour déterminer le rendement d'extraction, le reste de cette phase est éliminé par pipetage. Une partie aliquote de la phase organique est aussi prélevée pour une deuxième mesure du rendement d'extraction et pour vérifier la concordance des résultats.

Après surcharge de plasmas témoins, des essais de rendement d'extraction conduisent à des valeurs de recouvrement de  $99 \pm 2$  %, aussi bien pour le Laurilsulfate de Nopoxamine, que pour le citrate de Nopoxamine. De ce fait les résultats ne sont pas corrigés du rendement.

125



La radioactivité de la phase organique est soumise à une chromatographie sur plaque de silice WHATMAN K 6 F avec le solvant de migration utilisé précédemment.

Les chromatogrammes sont mis en contact (14 jours) avec une plaque photographique KODAK NS 2 T. La tache correspondant à la Nopoxamine inchangée est repérée par comparaison avec une solution étalon. Pour chaque échantillon déposé, le chromatogramme est divisé en plusieurs fractions correspondant aux différents aires repérées. La totalité de la radioactivité déposée est récupérée par grattage de la silice de son support sur toute la hauteur de migration, chaque fraction étant recueillie séparément.

La radioactivité des différentes fractions de silice est éluee par agitation pendant 15 minutes, avec la solution scintillante (PICOFUOR 30). Le rendement d'extraction de la radioactivité absorbée sur silice est total. La mesure de la radioactivité est effectuée par comptage direct de la solution scintillante.

I - 1.4. EXPRESSION DES RESULTATS

Le taux de comptage de chaque échantillon, corrigé de l'auto-extinction par la méthode de l'étalon externe, est exprimé en désintégrations par minute (dpm).

Le comptage d'une solution étalon convenablement diluée permet d'établir la correspondance dpm-concentration.

126



06

Les résultats sont exprimés en concentration équivalente de Nopoxamine dans le cas de la radioactivité totale. La Nopoxamine déterminée après chromatographie est exprimée en pourcentage de la radioactivité déposée par l'extrait organique. Comme est connu le rendement d'extraction par le dichlorométhane de la Nopoxamine, il est possible de revenir à partir de la radioactivité totale, à une concentration de Nopoxamine inchangée dans l'échantillon analysé. La Nopoxamine sera exprimée en mcg/g de plasma. Les résultats, moyenne de 4 à 6 expériences, sont affectés de l'écart-type. Pour comparer les résultats indépendamment du poids de l'animal (2 à 3 kg), les valeurs ont été ramenées arbitrairement à un animal de 3 kg, car il a été toujours administré, indépendamment du poids, une dose identique de Nopoxamine.



## I - 2. RESULTS

### I - 2.1. Analyse de la radioactivité totale

Les valeurs moyennes sont regroupées dans le tableau I. Les valeurs individuelles sont rapportées en annexes. Les figures 2 et 3 correspondent à l'évolution moyenne des concentrations plasmatiques au cours du temps.

#### I - 2.1.1. Citrate de Nopoxamine par voie intraveineuse

L'évolution de la radioactivité totale observée sur 4 animaux, nous a conduit à retenir un modèle bicompartimental ouvert (figure 1).

La phase de distribution présente une pente  $\alpha$  de  $0,25 \text{ h}^{-1}$ , soit une demi-vie de distribution de 2,71 h. La demi-vie de la phase d'élimination est de 9,70 heures, ce qui correspond pour cette phase à une pente  $\beta$  de  $0,072 \text{ h}^{-1}$ . De plus, on observe pendant les 90 premières minutes, une élévation paradoxale de la radioactivité totale plasmatique. La concentration maximale s'élève à  $1,30 \text{ mcg Eg/ml}$ . La demi-vie moyenne de ce phénomène est de 23 minutes, ce qui se traduit par une pente ( $k_a$ ) de  $1,78 \text{ h}^{-1}$ .

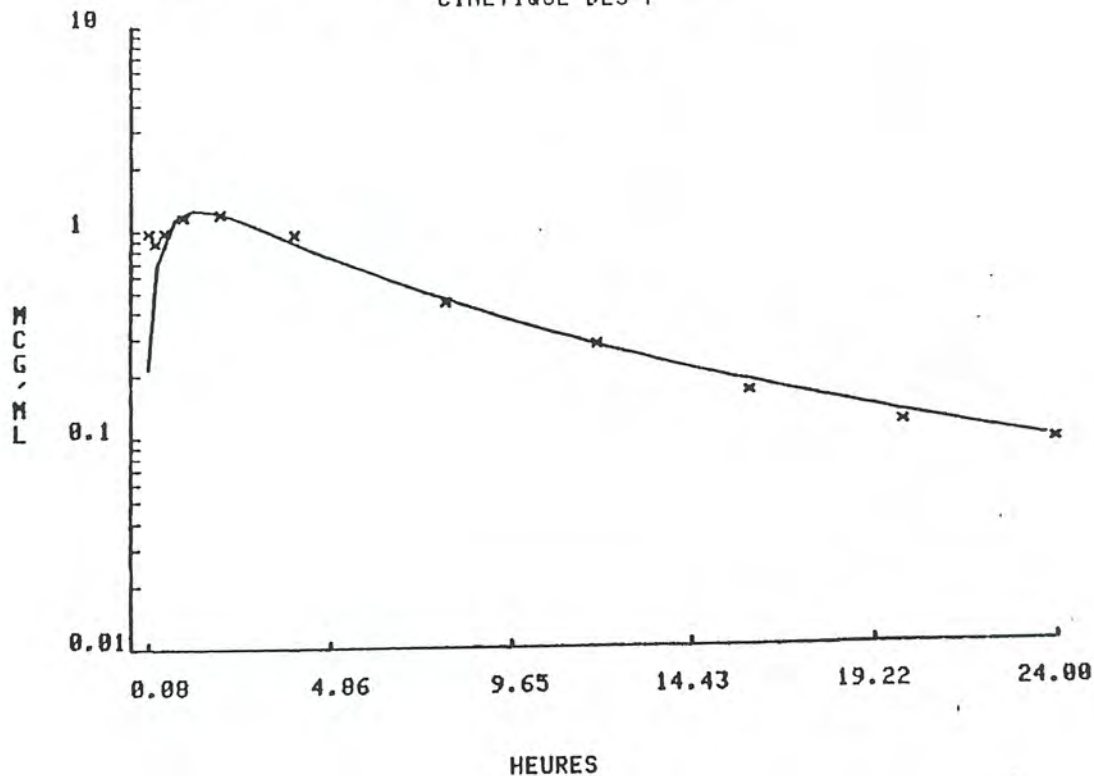
L'application du modèle permet d'obtenir les autres paramètres pharmacocinétiques intéressants :

- volume de distribution : 18,03 litres (6,01 l/kg)
- aire sous la courbe observée : 10,31 mcg Eg/ml x h
- aire sous la courbe à l'infini : 11,64 mcg Eg/ml x h.





FIGURE 1 : NOPOXAMINE CITRATE I.V. R.T.  
CINETIQUE DES P



130

TABEAU I : CINETIQUE PLASMATIQUE DE LA RADIOACTIVITE TOTALE CHEZ LE LAPIN,

APRES ADMINISTRATION I.V. OU ORALE D'UNE DOSE DE 5 mg/kg (NOPOXAMINE BASE)

LES RESULTATS (mcg Eq/ml) REPRESENTENT LA MOYENNE ± SD DES DIFFERENTS

ANIMAUX (n = 4 A 6).

TEMPS	CITRATE DE NOPOXAMINE I.V.	LAURISULFATE DE NOPOXAMINE I.V.	LAURISULFATE DE NOPOXAMINE P.O.
Minutes			
5	0,976 ± 0,273	0,715 ± 0,443	-
15	0,872 ± 0,222	0,945 ± 0,475	0,185 ± 0,239
30	0,977 ± 0,228	1,040 ± 0,509	0,861 ± 0,311
45	-	-	1,492 ± 0,538
Heures			
1	1,148 ± 0,217	1,077 ± 0,440	1,675 ± 0,598
1 1/2	-	-	1,624 ± 0,459
2	1,188 ± 0,284	1,271 ± 0,504	1,304 ± 0,422
4	0,943 ± 0,211	0,980 ± 0,295	0,713 ± 0,268
8	0,445 ± 0,140	0,489 ± 0,175	0,245 ± 0,030
12	0,279 ± 0,152	0,338 ± 0,155	0,106 ± 0,045
16	0,164 ± 0,069	0,220 ± 0,078	0,080 ± 0,046
20	0,116 ± 0,051	0,164 ± 0,080	12 <sup>h</sup> 0,057 ± 0,029
24	0,093 ± 0,054	0,119 ± 0,052	0,038 ± 0,019



Ainsi, 90 % du phénomène cinétique ont été expérimentalement observés.

I - 2.1.2. Laurylsulfate de Nopoxamine par voie intraveineuse

La décroissance de la radioactivité totale plasmatique moyenne peut être analysée par un modèle bicompartimental ouvert. On notera que deux animaux sur les six utilisés présentent une décroissance de la radioactivité totale plasmatique qui répond à un modèle monocompartimental.

Chez tous les animaux, on observe une phase de croissance de la radioactivité totale, que l'on retrouve sur la cinétique moyenne. Elle présente une demi-vie de 25 minutes, soit une pente  $K_a$  de  $1,60 \text{ h}^{-1}$ .

La phase de distribution est caractérisée par une demi-vie de 2,31 heures ce qui correspond à une pente ( $\alpha$ ) de  $0,30 \text{ h}^{-1}$ .

La pente de la phase d'élimination est de  $0,077 \text{ h}^{-1}$ , et se traduit par une demi-vie d'élimination de 8,99 heures (figure 2).

Jacquot, C. 1982

Les paramètres pharmacocinétiques complémentaires calculés sont :

- volume de distribution : 14,98 litres (5 l/kg)
- aire sous la courbe observée : 11,42 mcg Eg/ml.h
- aire sous la courbe à l'infini: 12,99 mcg Eg/ml.h.

De même, dans le cas présent, 90 % du phénomène sont analysés expérimentalement. Les paramètres du modèle ne diffèrent pas nettement lorsque l'on administre le citrate ou le Laurylsulfate de Nopoxamine.

FIGURE 1

NOPOXAMINE CITRATE I.V. R.T.  
Summary of Results: CINETIQUE DES P

The data are fitted by the sum of 3 exponentials

	Terminal Phase	Second Phase	First Phase
Y=	$0.50 \exp(-0.0715X) +$	$1.35 \exp(-0.2552X) -$	$1.86 \exp(-1.7778X)$
Half-life[HEURE]:	9.70	2.71	0.39

Dose [MCG] : 15000

AUC (observed) [MCG/N\*HEURE] : 10.307  
AUC ( total ) [MCG/N\*HEURE] : 11.643

Total clearance/F [\*\*] : 1280.355  
Initial dilution volume/F [\*\*] : 9128.811  
Volume of distribution/F [\*\*] : 18027.873

Compartmental model  
Rate constants [1/HEURE]:  $K_a = 1.778$        $Ke1 = 0.123$   
    $K12 = 0.055$        $K21 = 0.149$   
Volume of distribution in steady state/F [\*\*] : 12520.862

[\*] The units are: unit of dose/unit of AUC  
[\*\*] The units are: unit of dose/unit of concentration

FIGURE 2

NOPOXAMINE L.S. IV RT  
Summary of Results: POINTS MOYENS

The data are fitted by the sum of 3 exponentials

	Terminal Phase	Second Phase	First Phase
Y=	$0.76\exp(-0.0771X)+$	$1.16\exp(-0.2994X)-$	$1.92\exp(-1.6034X)$
Half-life[HEURE]:	8.99	2.31	0.43

Dose [MCG] : 15000

AUC (observed) [MCG/M\*HEURE] : 11.387  
 AUC ( total ) [MCG/M\*HEURE] : 12.957

Total clearance/F [\*] : 1157.647  
 Initial dilution volume/F [\*\*] : 8984.230  
 Volume of distribution/F [\*\*] : 15018.759

Compartmental model  
 Rate constants [1/HEURE]:  $K_a = 1.603$        $K_{e1} = 0.112$   
     $K_{12} = 0.058$        $K_{21} = 0.207$   
 Volume of distribution in steady state/F [\*\*] : 11517.134

[\*] The units are: unit of dose/unit of AUC  
 [\*\*] The units are: unit of dose/unit of concentration

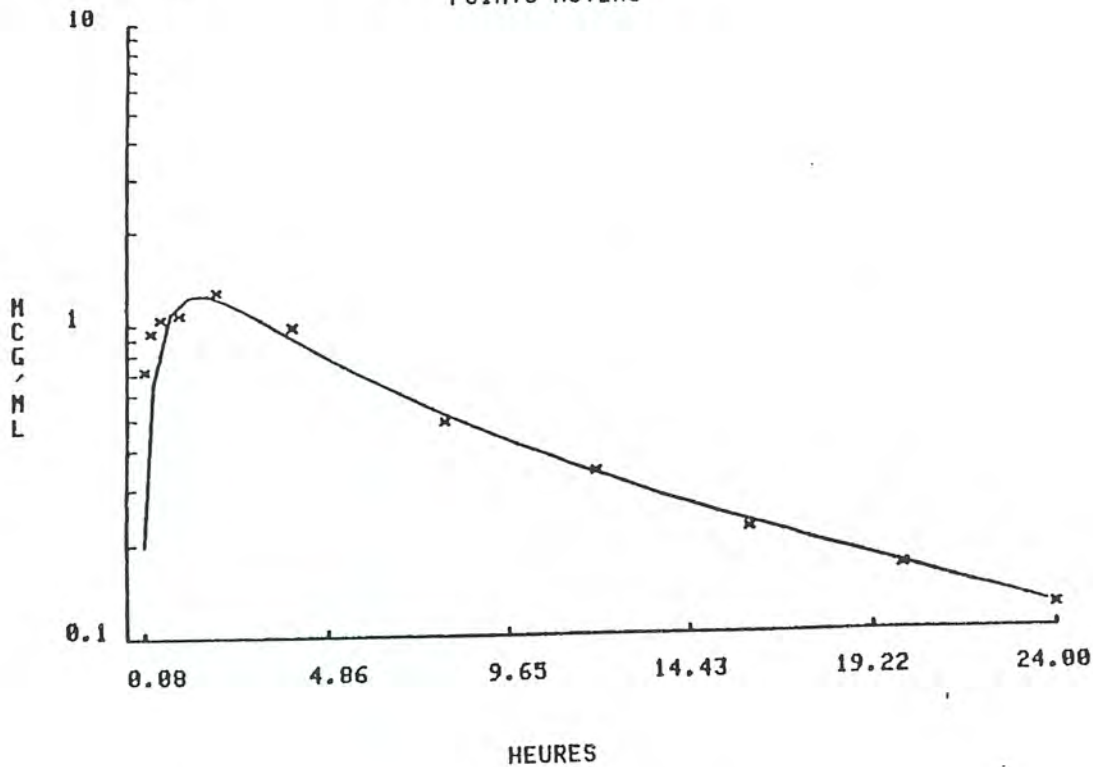
Another Case ?

134



FIGURE 2

NOPOXAMINE L.S. IV RT  
 POINTS MOYENS



133





I - 2.1.1.3. Laurylsulfate de Nopoxamine pour Os

Pour cette voie d'administration, un modèle bicompartmental ouvert avec une phase d'absorption a été choisi pour la grande majorité des lapins (n = 5). Pour un animal le Laurylsulfate de Nopoxamine s'élimine selon un modèle monocompartmental ouvert.

La cinétique des valeurs moyennes (figure 3) répond à un modèle bicompartmental ouvert avec phase d'absorption.

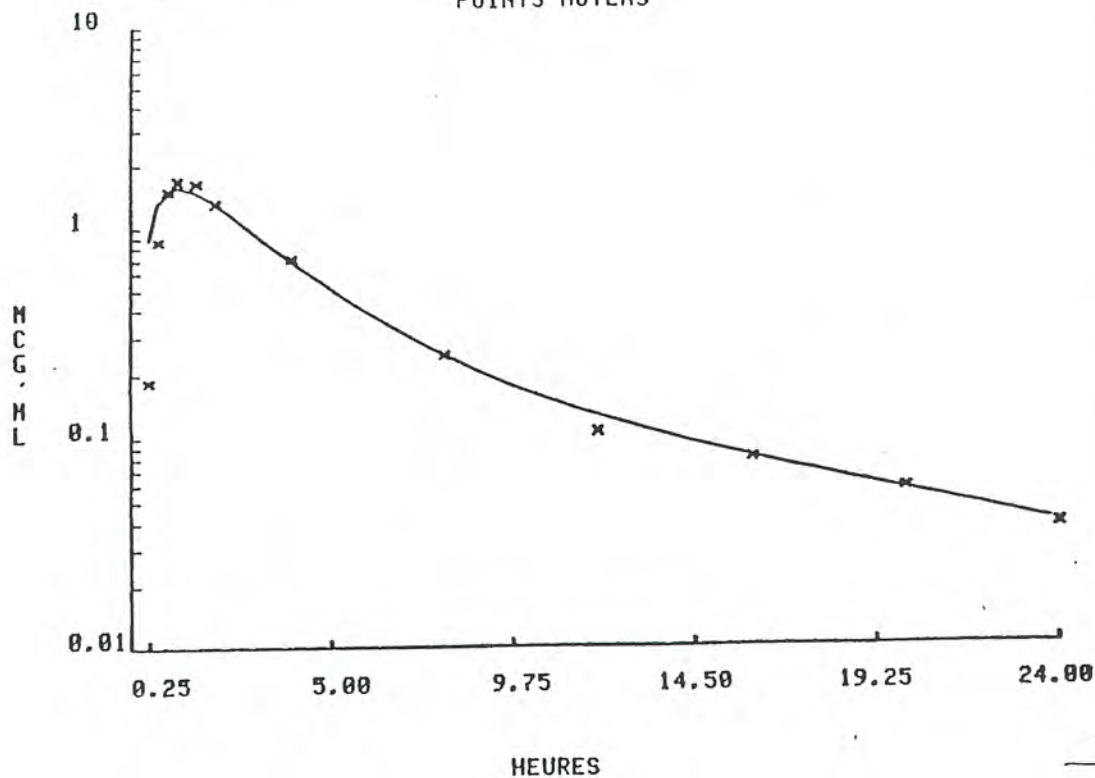
Cette première phase d'absorption est rapide, elle est caractérisée par une demi-vie de 0,30 heure (19 minutes), soit une pente ( $K_a$ ) de  $2,09 \text{ h}^{-1}$ . La concentration maximale radioactive est atteinte au temps 1 heure.

Ensuite, la radioactivité totale décroît selon un processus présentant une demi-vie de 1,69 heure, soit une pente ( $\alpha$ ) de  $0,41 \text{ h}^{-1}$ . La phase d'élimination est plus lente, la demi-vie est de 8,18 heures, ce qui correspond à une pente  $\beta$  d'élimination de  $0,085 \text{ h}^{-1}$ .

L'aire sous la courbe observée est de  $7,86 \text{ mcg Eg/ml.h}$  et l'aire sous la courbe à l'infini s'élève à  $8,33 \text{ mcg Eg/ml.h}$ . La comparaison des aires de la radioactivité totale, après prise I.V. et orale indique une résorption de  $\frac{8,33}{12,99} = 0,64$ . Si l'on considère une biodisponibilité de la radioactivité totale de 1, le volume de distribution était de 21,25 litres (7,08 litres), corrigé de  $F = 0,64$ , il est de 33,20 litres ( $11,07 \text{ l/kg}$ ).

FIGURE 3

NOPOXAMINE L.S. PO RT  
POINTS MOYENS



I - 2.2. Analyse de la cinétique de la NOPOXAMINE base

L'évolution des rendements d'extraction est rapportée dans le tableau II, la Nopoxamine inchangée moyenne dans le tableau III et les valeurs individuelles en annexes.

Après administration orale de la Nopoxamine, il n'a pas été possible de la retrouver dans les échantillons plasmatiques dès le premier temps de mesure (0,25 heure).

I - 2.2.1. Citrate de Nopoxamine : voie intraveineuse

La figure 4 correspond à l'évolution des cinétiques plasmatiques en produit inchangé. La décroissance plasmatique de la Nopoxamine peut être représentée par un système bicompartimental ouvert.

La première phase de distribution, présente une demi-vie de 5 minutes, soit une pente  $\alpha$  de  $0,88 \text{ h}^{-1}$ . La pente  $\beta$  de la phase d'élimination est de  $0,33 \text{ h}^{-1}$ , ce qui correspond pour ce phénomène à une demi-vie moyenne de 2,11 heures.

Le volume de distribution de la Nopoxamine est très important ; il s'élève à 59,60 litres, soit  $19,9 \text{ l/kg}$ .

L'aire sous la courbe observée est de  $0,68 \text{ mcg/ml} \times \text{h}$ . Calculée à l'infini, l'aire sous la courbe passe à  $0,77 \text{ mcg/ml} \times \text{h}$ , soit une étude expérimentale de 90 % en moyenne la clairance totale est de  $20,60 \text{ l/h}$ , soit  $343,4 \text{ ml/min}$ .

FIGURE 3

NOPOXAMINE L.S. PO RT  
Summary of Results: POINTS MOYENS

The data are fitted by the sum of 3 exponentials

Terminal Phase	Second Phase	First Phase
$Y = 0.30 \exp(-0.0847X) +$	$2.48 \exp(-0.4107X) -$	$2.78 \exp(-2.0905X)$
Half-life[HEURE]: 8.18	1.69	0.33

Dose [MCG] : 15000

AUC (observed) [MCG/M\*HEURE] : 7.855  
AUC ( total ) [MCG/M\*HEURE] : 8.332

Total clearance/F [†] : 1800.338  
Initial dilution volume/F [††] : 6570.224  
Volume of distribution/F [††] : 21248.554

Compartmental model  
Rate constants [1/HEURE]:  $K_a = 2.091$   $K_{e1} = 0.209$   
 $K_{12} = 0.120$   $K_{21} = 0.167$   
Volume of distribution in steady state/F [††] : 11298.112

[†] The units are: unit of dose/unit of AUC  
[††] The units are: unit of dose/unit of concentration



TABLEAU III : CINETIQUE DES Taux DE NOPOXAMINE INCHANGEES (mcg/g DE PLASMA)  
APRES EXTRACTION ET COMPTAGE DES CHROMATOGRAMMES (n = 4 A 6 -  
VALEURS MOYENNES  $\pm$  S.D.)

TEMPS	CITRATE DE NOPOXAMINE I.V.	LAURYSULFATE DE NOPOXAMINE I.V.
Minutes 5	0,473 $\pm$ 0,273	0,464 $\pm$ 0,224
15	0,255 $\pm$ 0,090	0,275 $\pm$ 0,131
30	0,163 $\pm$ 0,041	0,257 $\pm$ 0,133
Heures 1	0,134 $\pm$ 0,035	0,195 $\pm$ 0,061
2	0,141 $\pm$ 0,007	0,145 $\pm$ 0,059
4	0,0608 $\pm$ 0,023	0,049 $\pm$ 0,020
8	-	0,022 $\pm$ 0,010

148

TABLEAU II : EVOLUTION DU POURCENTAGE D'EXTRACTION AU COURS DU TEMPS.  
( $\bar{x}$   $\pm$  S.D.)

T	Citrates		Laurylsulfate	
	I.V.	P.O.	I.V.	P.O.
5 min	74,5	-	68,6	-
15 min	55,3	-	56,0	22,4
30 min	40,4	-	40,9	24,5
45 min	-	-	-	19,8
60 min	29,5	-	31,3	19,4
90 min	-	-	-	15,0
2 heures	25,5	-	28,5	16,8
4 heures	18,6	-	23,9	15,9
8 heures	15,8	-	22,9	14,4
12 heures	19,9	-	20,4	13,2
16 heures	12,5	-	22,9	11,4
20 heures	11,5	-	16,8	7,6
24 heures	-	-	20,8	6,7

139

FIGURE 4

CITRATE IV PRODUIT INCHANGE  
 Summary of Results: POINTS MOYENS

The data are fitted by the sum of 2 exponentials

	Terminal Phase	First Phase
Y=	$0.21\exp(-0.3290X) +$	$0.54\exp(-8.8797X)$
Half-life[HEURE]:	2.11	0.08

Dose [MCG] : 15000

AUC (observed) [MCG/M\*HEURE] : 0.677  
 AUC ( total ) [MCG/M\*HEURE] : 0.765

Total clearance [L] : 19605.084  
 initial dilution volume [\*\*] : 19916.202  
 Volume of distribution [\*\*] : 59595.550

Compartmental model

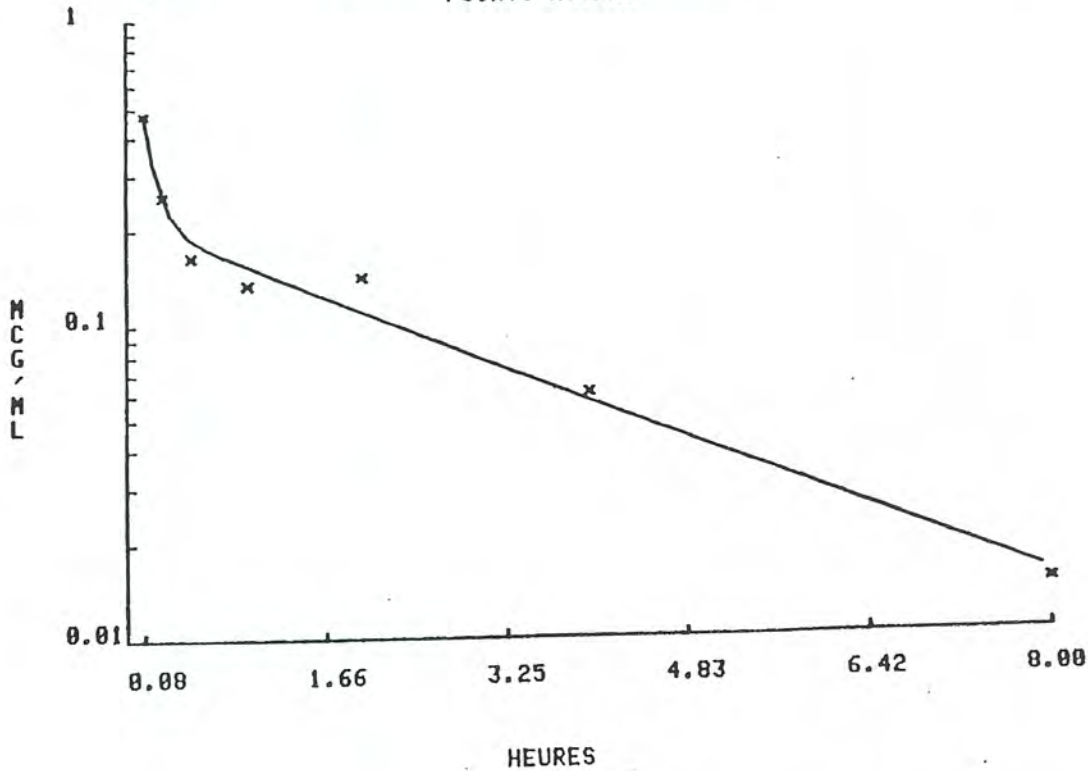
Rate constants [1/HEURE]: K12 = 5.399      K21 = 2.746      Kel = 1.864  
 Volume of distribution in steady state [\*\*] = 59864.773

[\*] The units are: unit of dose/unit of AUC  
 [\*\*] The units are: unit of dose/unit of concentration

142

FIGURE 4

CITRATE IV PRODUIT INCHANGE  
 POINTS MOYENS

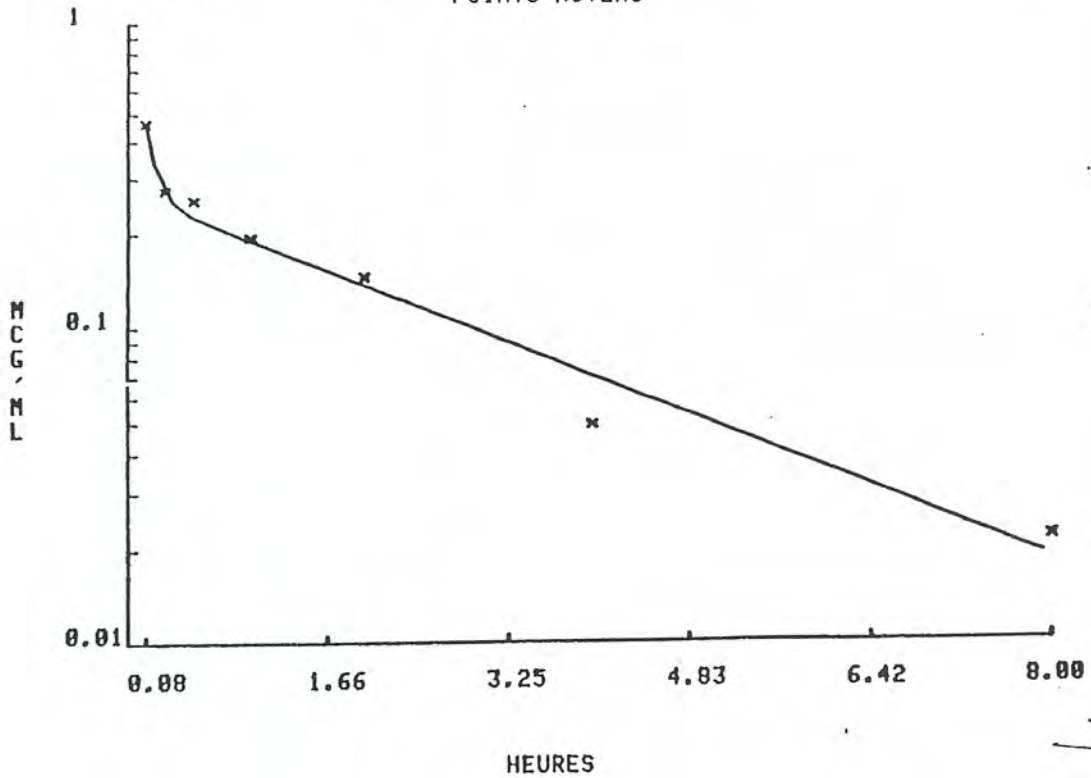


141



L.S. IV PRODUIT INCHANGE  
POINTS MOYENS

FIGURE 5



144

I - 2.2.2. Laurylsulfate de Nopoxamine intraveineuse

Dans les mêmes conditions, l'élimination de la Nopoxamine inchangée après administration I.V. est analysée au moyen d'un modèle bicompartmental (figure 5).

La pente ( $\alpha$ ) calculée est très grande, 11,38 heures, soit une demi-vie de 3 minutes en moyenne. L'élimination, que représente la seconde phase, est caractérisée par une demi-vie de 2,08 heures, soit une pente ( $\beta$ ) de  $0,33 \text{ h}^{-1}$ .

Après administration du Laurylsulfate de Nopoxamine, le volume de distribution est de 52,65 litres ( $17,55 \text{ l/kg}$ ). L'aire sous la courbe observée est de  $0,75 \text{ mcg/ml} \times \text{h}$ , et l'aire sous la courbe extrapolée à l'infini de  $0,86 \text{ mcg/ml} \times \text{h}$ . La clairance totale est très importante  $17,55 \text{ l.h}^{-1}$ , soit  $292,5 \text{ ml/min}$ . Cette valeur reflète une élimination rénale associée à une importante clairance métabolique.

I - 2.2.3. Laurylsulfate de Nopoxamine orale

Il n'a pas été détecté, dans nos conditions expérimentales, de Nopoxamine inchangée dans le plasma après prise orale du Laurylsulfate de Nopoxamine ( $5 \text{ mg/kg}$ ).

143

I - 2.3. Etude de la résorption

L'évaluation de la résorption de la Nopoxamine en fonction de la voie et de la forme chimique a été réalisée à partir des concentrations plasmatiques exprimées en radioactivité totale (somme du produit inchangé et des métabolites).

La résorption est évaluée à partir des rapports des aires moyennes sous courbes, calculées pour  $0 \rightarrow \infty$ . L'analyse statistique des mesures de résorption a été effectuée à l'aide d'un test de t.

Les valeurs moyennes des surfaces sous la courbe, observées dans le cas de la radioactivité plasmatique, sont les suivantes :

- Citrate de Nopoxamine i.v. 11,64 mcg Eq/ml.h (1)
- Laurylsulfate de Nopoxamine i.v. 12,99 mcg Eq/ml.h (2)
- Laurylsulfate de Nopoxamine p.o. 8,35 mcg Eq/ml.h (3).

Le rapport 3/2 permet de déterminer la résorption absolue moyenne du Laurylsulfate de Nopoxamine en radioactivité totale :  $F = 0,64$ .

Le rapport 2/1 permet de noter une aire sous courbe moyenne pour le Laurylsulfate i.v. 1,12 fois plus grande que celle obtenue avec le citrate de Nopoxamine. Cette faible différence par rapport à l'unité indique une identité de comportement de la Nopoxamine, quel que soit le sel utilisé.

146



FIGURE 5

L.S. IV PRODUIT INCHANGE  
Summary of Results: POINTS MOYENS

The data are fitted by the sum of 2 exponentials

	Terminal Phase	First Phase
Y=	$0.27 \exp(-0.3332X) +$	$0.51 \exp(-11.3776X)$

Half-life[HEURE]:	2.08	0.06
-------------------	------	------

Dose [MCG] : 15000

AUC (observed) [MCG/M\*HEURE] : 0.748  
AUC ( total ) [MCG/M\*HEURE] : 0.855

Total clearance [L] : 17546.049  
initial dilution volume [L] : 19392.388  
Volume of distribution [L] : 52651.848

Compartmental model

Rate constants [1/HEURE]:  $K_{12} = 6.655$        $K_{21} = 4.140$   
Volume of distribution in steady state [L] = 50562.283

$K_{el} = 0.916$

[L] The units are: unit of dose/unit of AUC  
[L] The units are: unit of dose/unit of concentration

145





II - ABSORPTION PERCUTANÉE DE LA NOPOXAMINE CONTENUE DANS LA CRÈME ET LE LAIT  
"ALGESAL",  
ETUDE IN VITRO.

II - 1. PRODUITS UTILISÉS

II - 1.1. Crème ALGESAL

La formule centésimale de la spécialité est la suivante :

- Nopoxamine base.....	1 g
- Excipients	
. Acide salicylique.....	6,54 g
. Diéthylamine.....	3,46 g
. Alcool cétylique.....	7,50 g
. Stéarate de polyoxyéthylène glycol 300.....	3,70 g
. Stéarate d'éthylène glycol.....	10 g
. Stéarate de glycérol.....	2 g
. Huile de vaseline fluide.....	9,30 g
. Glycérides polyoxyéthylénés glycolysés.....	3,20 g
. Condensat d'huile de ricin et d'oxyde d'éthylène	4,30 g
. Essence de lavandin.....	0,50 g
. Acide chlorhydrique concentré.....	0,37 g
. Eau Q.S.P.....	100 g



La crème ALGESAL radioactive a été préparée selon la formule centésimale précédemment détaillée, la Nopoxamine <sup>14</sup>C est incorporée sous forme de chlorhydrate, dans la crème préparée industriellement.

La concentration finale est de 10 mg/g en Nopoxamine base, pour une activité de 71,5 µCi/g.

II - 1.2. Lait ALGESAL

La formule centésimale de la spécialité est la suivante :

- Nopoxamine Laurylsulfate.....	0,917 g
- Excipients	
. Acide salicylique.....	6,54 g
. Diéthylamine.....	3,46 g
. Huile de vaseline fluide.....	14,00 g
. Arlacel 60.....	2,00 g
. Tween 60.....	6,50 g
. Labrafac WL 1349.....	3,50 g
. E D T A.....	0,01 g
. Essence de lavandin.....	0,20 g
. Eau Q.S.P.....	94,00 g

Le lait ALGESAL est préparé selon le protocole industriel. L'ajout de la Nopoxamine <sup>14</sup>C (à dose traceur) est effectué extemporanément.



L'incorporation se fait en deux temps, réalisation d'un citrate de Nopoxamine <sup>14</sup>C, qui est émulsionné dans le lait, et ajout d'une solution de Laurylsulfate de Na, en quantité stoechiométrique pour former un détergent le Laurylsulfate de Nopoxamine <sup>14</sup>C.

La dilution isotopique ainsi obtenue, conduit à une activité de 102 µCi/mg de lait, pour une concentration de 5,15 mg/ml exprimés en Nopoxamine base (soit 10,3 mg/ml exprimés en Laurylsulfate de Nopoxamine).

II - 2. PROTOCOLE OPERATOIRE

II - 2.1. Etude de l'absorption percutanée in vitro

II - 2.1.1. Principe de la méthode

L'absorption percutanée *in vitro* des substances chimiques est étudiée quantitativement sur des biopsies de peau placées dans une cellule de diffusion qui permet de mettre, au contact du derme, un liquide de survie dans lequel sera dosée la substance absorbée à travers la peau.

II - 2.1.2. Description et utilisation de la cellule

La face épidermique d'une biopsie de peau est fixée à l'aide d'une colle acrylique sur un cylindre de verre, de surface interne égale à 2,27 cm<sup>2</sup>. Deux compartiments sont délimités de part et d'autre de cette biopsie (figure 7) ; l'un épidermique, est constitué par le cylindre de verre placé sur la face supérieure de la peau, l'autre, dermique, comprend un réservoir de 8 cm<sup>3</sup> à orifice cylindrique et à ajutage latéral disposé sur la face intérieure du tégment.

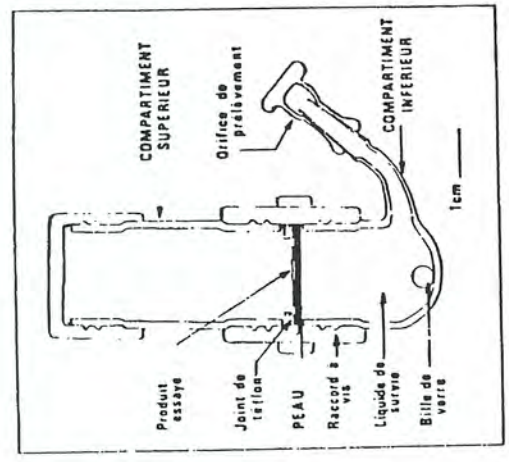


FIGURE 7 : CELLULE DE DIFFUSION SANS RENOUVELLEMENT DU COMPARTIMENT DERMIQUE.



Les deux éléments sont assemblés à l'aide d'une bague de serrage à double pas de vis ; l'étanchéité est assurée par un joint de téflon. Le compartiment inférieur, contenant des billes de verre pour l'agitation est rempli d'un liquide de survie (chlorure de sodium à 9 ‰ dans l'eau distillée, contenant de la pénicilline G 200 U/ml, et de la streptomycine 0,2 mg/ml, pour éviter toute fermentation durant l'essai.

La substance est déposée sur la face supérieure de la peau.

L'appareil est posé sur un agitateur transversal ; des prélèvements sont effectués par l'ajutage latéral au cours de l'expérience, pour une mesure de la radioactivité.

#### II - 2.1.3. Préparation des biopsies cutanées

La peau animale mise en oeuvre au cours de cette étude, a été prélevée chez des rats mâles, sans poils (souche Atrichis) au niveau abdominal. Les prélèvements sont débarassés des graisses sous cutanées, à l'aide d'un scalpel. Les biopsies ainsi obtenues sont utilisées en l'état.

#### II - 2.1.4. Mise en oeuvre de la méthode

La préparation étudiée est appliquée à l'aide d'une spatule en verre, à raison d'environ 100 mg/2,27 cm<sup>2</sup>, exactement pesés, sur toute la surface de l'épiderme circonscrite par le cylindre ; la partie supérieure de ce dernier est alors recouverte par un bouchon (conditions occlusives). La cellule est maintenue dans une enceinte thermostatée à 25 ± 2° C, sur l'agitateur.

Après deux heures de contact, le liquide de survie est prélevé et remplacé par du liquide neuf.

L'essai est poursuivi de manière identique aux temps 4, 6, 8, 10 et 24 heures.

Les quantités de Nopoxamine présentes dans le liquide survie, sont mesurées pour chaque temps de contact.

Remarque : Pour chaque série de manipulations, un contrôle d'homogénéité du marquage de la crème et du lait a été effectué.

Une quantité exactement pesée de crème prélevée au hasard, est mise en solution dans de l'éthanol (10 ml). Une partie aliquote de cette solution éthanolique est comptée par scintillation liquide. De même, une quantité exactement pesée de lait est diluée dans de l'eau (20 ml), et une partie aliquote de cette dilution est comptée par scintillation liquide.

#### II - 2.1.5. Expression des résultats

La radioactivité contenue dans les prélèvements est mesurée à l'aide d'un compteur  $\beta$  à scintillateur liquide (PACKARD TRICARB 3375). Le mouvement propre du compteur est déduit des taux de comptage des échantillons en coups par minute (cpm).

Les résultats sont exprimés en poids de substance (Nopoxamine base) retrouvée dans les échantillons, à partir du taux de comptage d'un étalon dilué convenablement.

TABEAU V :

ABSORPTION PERCUTANEE IN VITRO (PEAU DE RAT) DE LA NPOXAMINE BASE INCORPOREE

DANS :

- LE LAIT ALGESAL A 0,5 %
- LA CREME ALGESAL A 1 %
- QUANTITES ABSORBEES CUMULEES EN  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$
- POURCENTAGE D'ABSORPTION
- CONSTANTE DE PERMEABILITE  $K_p$   $\text{cm} \cdot \text{h}^{-1}$

RESULTATS MOYENS DE L'EXPERIMENTATION ( $\bar{m} \pm S_D$ ).

		Temps en heures					
		2 h	4 h	6 h	8 h	10 h	24 h
CREME n = 18	Quantités absorbées cumulées $\mu\text{g}/\text{cm}^2$	0,0119	0,1287	0,3875	0,8683	1,4436	7,3819
	% absorpt. cumulée	+ 0,0119	+ 0,0119	+ 0,2497	+ 0,4861	+ 0,681	+ 2,348
	$K_p$ $10^{-6} \text{cm} \cdot \text{h}^{-1}$	0,0023	0,0253	0,0761	0,1712	0,285	1,473
LAIT n = 17	Quantités absorbées cumulées $\mu\text{g}/\text{cm}^2$	0,0026	0,0275	0,0911	0,1904	0,396	1,982
	% absorpt. cumulée	+ 0,0016	+ 0,0147	+ 0,0389	+ 0,0632	+ 0,1083	+ 0,291
	$K_p$ $10^{-6} \text{cm} \cdot \text{h}^{-1}$	0,0008	0,0084	0,0277	0,0581	0,1209	0,6073
		+ 0,0005	+ 0,0044	+ 0,0115	+ 0,0184	+ 0,031	+ 0,088
	$K_p$ $10^{-6} \text{cm} \cdot \text{h}^{-1}$	0,2495	1,3335	2,9449	4,6206	7,687	16,0165
		+ 0,1604	+ 0,7132	+ 1,2585	+ 1,5325	+ 2,103	+ 2,363



Les résultats moyens donnés, correspondent à au moins 17 déterminations expérimentales et sont associés à l'écart à la moyenne. Les comparaisons entre les diverses moyennes sont effectuées par le test t de Student (SCHWARTZ, 1969).

Les constantes de perméabilité de la Nopoxamine, durant la période où le flux est constant, sont calculées à partir de l'expression :

$$\frac{dQ}{dt} = K_p \cdot S \cdot \Delta C \quad K_p (\text{cm} \cdot \text{h}^{-1}) = \frac{\text{flux } (\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{h})}{\text{concent. } (\mu\text{g}/\text{cm}^3)}$$

II - 3. RESULTATS

II - 3.1. Absorption à travers la peau de rat pour la crème ALGESAL

Les résultats moyens sont rassemblés dans le tableau V et les valeurs individuelles des 18 cellules sont regroupées en annexe.

L'absorption percutanée de la Nopoxamine chlorhydrate contenue dans la crème ALGESAL est faible. Deux heures après application, 0,012 % de la quantité appliquée sont détectés dans le liquide du compartiment dermique. Après 24 heures de contact, la quantité totale retrouvée dans le liquide de survie atteint 1,5 % de la quantité déposée.

L'absorption du chlorhydrate de Nopoxamine, lorsque la peau est normale, est lente et présente un temps de latence d'environ 6 heures 30 (figure 8).

La constante de perméabilité  $K_p$  s'équilibre pour une valeur moyenne de  $30,3 \cdot 10^{-5} \text{cm} \cdot \text{h}^{-1}$ .



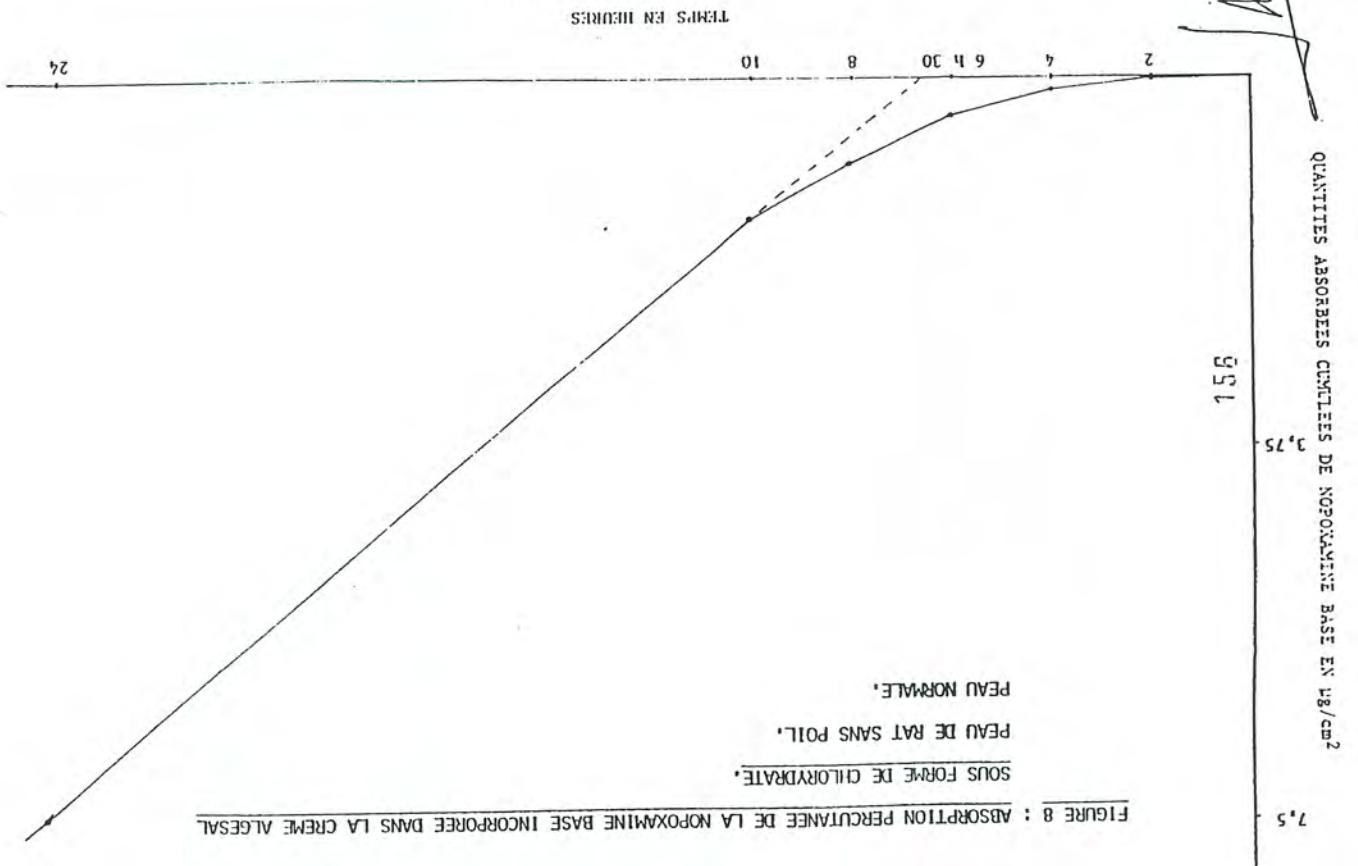


### II - 3.2. Absorption à travers la peau de Rat pour le lait ALGESAL

Les résultats moyens sont rassemblés dans le tableau et les valeurs individuelles des 17 cellules sont regroupées en annexe.

L'absorption percutanée du Laurylsulfate de Nopoxamine contenu dans le lait ALGESAL est très faible, et en particulier plus faible que celle observée précédemment pour le chlorhydrate de Nopoxamine. Deux heures après l'application, la quantité absorbée est cinq fois inférieure à celle obtenue avec le chlorhydrate. Après 4 heures, l'intensité de pénétration reste peu importante et représente 0,0084 % de la quantité déposée sur la peau. Au temps 24 heures, le passage transcutané cumulé est en moyenne égal à  $1,98 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  exprimés en base, soit 0,6 % de la quantité déposée.

Comparée au passage transcutané du chlorhydrate de Nopoxamine, l'absorption du Laurylsulfate de Nopoxamine est environ 2,5 fois plus faible. La vitesse d'absorption du Laurylsulfate de Nopoxamine devient constante après un temps de latence d'environ 6 heures 30 (figure 9). Sa constante de perméabilité  $K_p$  s'établit autour de  $16 \cdot 10^{-6} \text{ cm} \cdot \text{h}^{-1}$ .



156

0,75

7,5

QUANTITES ABSORBÉES CUMULÉES DE NOPOXAMINE BASE EN µg/cm²

TEMPS EN HEURES

24

III - ETUDE DE LA BIODISPONIBILITE PERCUTANEE CHEZ LE RAT DU CHLORHYDRATE DE NOPOXAMINE CONTENU DANS LA CREME ALGESAL, ET DU LAURYSULFATE DE NOPOXAMINE CONTENU DANS LE LAIT ALGESAL.

III - 1. PRODUITS UTILISES

Les solutions de citrate de Nopoxamine et de Laurylsulfate de Nopoxamine utilisees pour l'administration intraveineuse sont identiques a celles utilisees pour la pharmacocinétique chez le lapin (voir chapitre

La creme ALGESAL utilisee dans cette etude, pour les voies orales et percutanees, est identique a la preparation precedemment decrite dans l'etude *in vivo* (voir chapitre II).

Le lait ALGESAL utilise pour les deux voies a ete prepare pour etre administre a la dose de 5 mg/kg en Nopoxamine base. Ce titre est atteint par simple ajout de deux parties de lait ALGESAL prepare industriellement a une partie de lait ALGESAL decrit au chapitre II.

III - 2. PRINCIPE DE LA METHODE

Cette methode compare l'intensite de l'elimination urinaire et fecale de la radioactivite, en fonction du temps, apres administration intraveineuse, orale ou percutanee de la Nopoxamine <sup>14</sup>C, selon le protocole decrit par FELDMAN et MAISACH (1967).

*[Handwritten signature]*

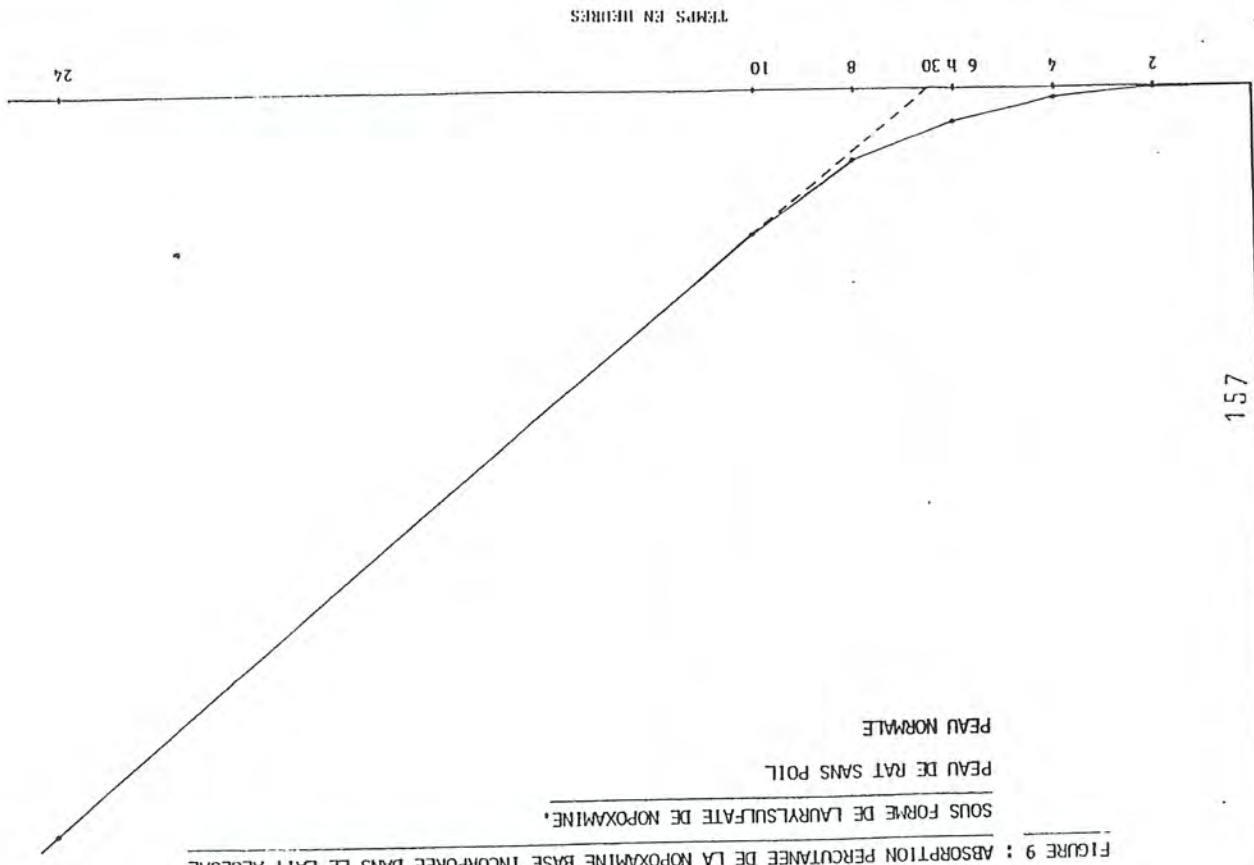


FIGURE 9 : ABSORPTION PERCUTANEE DE LA NOPOXAMINE BASE INCORPOREE DANS LE LAIT ALGESAL

QUANTITES ABSORBEES CUMULEES DE NOPOXAMINE BASE EN UG/cm²



- Voie orale : les animaux reçoivent par tubage gastrique environ 200 mg (exactement mesurés) de crème ALGESAL ou environ 300 mg (exactement mesurés) de lait ALGESAL.

- Voie percutanée : sur la face dorsale du rat HAIRLESS (zone inter-scapulaire) 100 mg de crème ou de lait ALGESAL sont appliqués sur une surface délimitée de 3 cm<sup>2</sup>. La zone d'application est recouverte par un pansement semi-occlusif pour la crème ALGESAL (feuille d'aluminium perforée, maintenue par un film adhésif micropore 3 M), par un pansement occlusif pour le lait ALGESAL (feuille d'aluminium maintenue par du film adhésif micropore 3 M). Afin que l'animal ne puisse ni se lécher ni arracher le pansement, un dispositif de protection est fixé sur son dos.

### III.2.3. Expression des résultats

La radioactivité contenue dans les urines et les fécès recueillies, est mesurée soit directement pour les urines, soit après digestion par le solvène (PACKARD) pour les fécès, à l'aide d'un compteur B à scintillateur liquide.

Le mouvement propre de l'appareil est déduit des taux de comptage des échantillons en coup par minute (cpm).

Les résultats sont exprimés en désintégration par minute, après correction de l'auto-extinction par la méthode de l'étalon externe. Ces résultats qui rendent compte de l'activité réelle de chaque échantillon sont ensuite exprimés en % de la dose de radioactivité administrée.

159

### III - 2.1. Mise en oeuvre de la méthode

L'étude a été réalisée chez le rat HAIRLESS (souche Atrichis), d'un poids moyen de 250 g.

Les animaux sont placés en cage à métabolisme individuelle (CFA-CFMO), les urines et les fécès sont collectées au cours du temps, selon les séquences suivantes :

- urines : 6, 12, 24, 48, 72 et 96 heures pour les voies i.v. et orales.

Pour la voie percutanée le premier recueil est effectué à 24 heures.

- fécès : 24, 48, 72 et 96 heures pour l'administration i.v., orale ou percutanée.

### III - 2.2. Traitement des animaux

La veille de l'administration, les animaux sont mis à la diète hydrique.

- Voie intraveineuse : une solution aqueuse isotonique de citrate de Nopoxamine <sup>14</sup>C (15 mg.ml<sup>-1</sup> exprimé en base) pour une activité de 92,3 µCi est administrée à la dose de 0,3 ml/kg par voie intraveineuse dans la veine du pénis après anesthésie légère à l'éther.

De même, une solution propanediol, eau (80/20) de Laurylsulfate de Nopoxamine <sup>14</sup>C (15 mg.ml<sup>-1</sup> exprimé en base) pour une activité de 87,8 µCi.ml<sup>-1</sup> est administrée par voie intraveineuse, à la dose de 0,3 ml/kg.

159

Les résultats moyens donnés, correspondent à au moins 5 déterminations expérimentales et sont associés à l'écart type (SD).

La biodisponibilité de la voie percutanée par rapport à la voie de référence (intraveineuse) est calculée à l'aide de la formule suivante :

$$F = \frac{\% \text{ cumulé excrété de } t = 0 \text{ à } t^{\infty}, \text{ voie percutanée}}{\% \text{ cumulé excrété de } t = 0 \text{ à } t^{\infty}, \text{ voie i.v.}}$$

Pour la voie orale, seule une estimation de la biodisponibilité peut être obtenue en observant l'élimination urinaire de  $t = 0$  à  $t^{\infty}$  :

$$F = \frac{\% \text{ cumulé excrété dans les urines, voie orale}}{\% \text{ cumulé excrété dans les urines, voie i.v.}}$$

### III - 3. RESULTATS

Les résultats moyens sont regroupés dans les tableaux : VI, VII, VIII, IX et X, et les figures 10, 11, 12, 13 et 14.

#### III - 3.1. Elimination urinaire et fécale de la Nopoxamine après administration intraveineuse

Les valeurs de l'élimination urinaire de la radioactivité totale en fonction du temps sont regroupées dans le tableau VI et la figure 10 pour le citrate de Nopoxamine, et dans le tableau VII et la figure 11 pour le Laurylsulfate de Nopoxamine.



La radioactivité est rapidement retrouvée dans les urines. En effet, en 12 heures, on retrouve 67 % de la radioactivité pour une administration de citrate et 55 % pour une administration de Laurylsulfate.

Entre 12 h et 24 h, l'élimination urinaire devient plus faible ; elle représente 6 % pour le citrate et le Laurylsulfate.

L'élimination décroît après 24 h et reste à 1 % d'excrétion par 24 h. Après 72 h, le bilan urinaire est de 74,3 % pour le citrate et de 62 % pour le Laurylsulfate.

L'élimination par voie fécale est faible ; elle représente 3 % pour le citrate et 6 % pour le Laurylsulfate après 24 h et sur 72 h, le bilan d'excrétion fécale est de 12,5 % pour le citrate et 13,5 % pour le Laurylsulfate.

Les comparaisons des résultats citrate-Laurylsulfate ne sont significativement pas différentes, au risque 5 %.

Le bilan d'excrétion urinaire et fécale après 72 h permet de retrouver 86,8 % de la radioactivité administrée pour le citrate, et 75,5 % pour le Laurylsulfate administré.



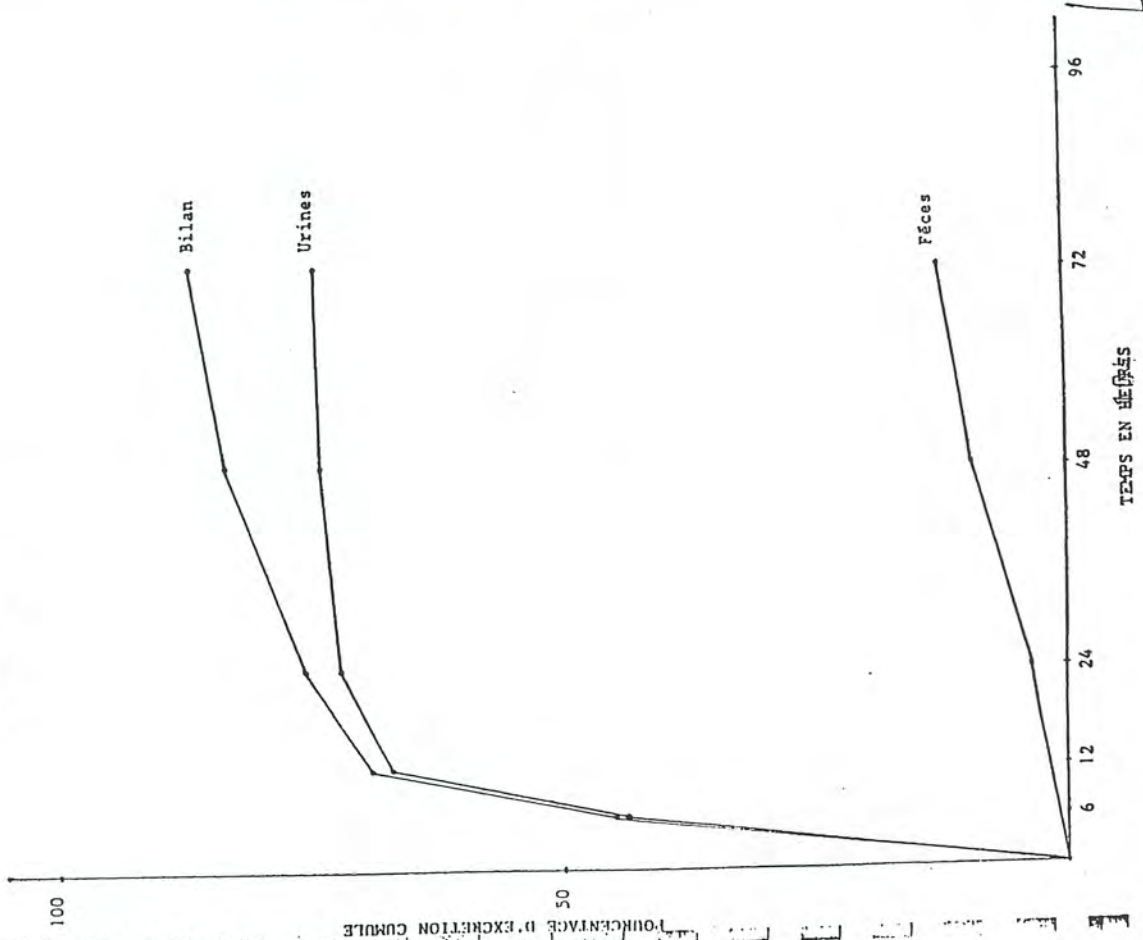


**FIGURE 10 : EXCRETION URINAIRE, FECALE ET BILAN D'EXCRETION CHEZ LE RAT,**  
**APRES ADMINISTRATION INTRAVEINEUSE DE CITRATE DE NOPOXAMINE.**

(5 mg/kg + 100  $\mu$ Ci/kg)

RESULTATS EXPRIMES EN % DE LA DOSE ADMINISTREE

( $\bar{x} \pm SD - n = 6$ )



**TABEAU VI : EXCRETION URINAIRE, FECALE ET BILAN D'EXCRETION CHEZ LE RAT,**

**APRES ADMINISTRATION INTRAVEINEUSE DE CITRATE DE NOPOXAMINE**

(5 mg/kg + 100  $\mu$ Ci/kg)

RESULTATS EXPRIMES EN % DE LA DOSE ADMINISTREE

( $\bar{x} \pm SD - n = 6$ )

bilan urinaire

Heures	0 - 6h	6 - 12	12 - 24	24 - 48	48 - 72	0 - 72
% dose administ.	43,86 $\pm 18,80$	23,09 $\pm 17,56$	4,96 $\pm 1,53$	1,78 $\pm 0,53$	0,65 $\pm 0,22$	74,34 $\pm 6,20$

bilan fécal

Heures	0 - 24	24 - 48	48 - 72	0 - 72
% dose administ.	3,54 $\pm 3,98$	5,97 $\pm 4,62$	3,03 $\pm 1,65$	12,54 $\pm 6,14$

bilan d'excrétion

Heures	0 - 24	24 - 48	48 - 72	0 - 72
% dose administ.	75,45 $\pm 7,67$	7,76 $\pm 4,78$	3,68 $\pm 1,76$	86,88 $\pm 12,56$

**TASLEAU VII : EXCRETION URINAIRE, FECALE ET BILAN D'EXCRETION CHEZ LE RAT,**  
 APRES ADMINISTRATION INTRAVEINEUSE DE LAURYSULFATE DE NOPOXAMINE.

(5 mg/kg + 100  $\mu$ Ci/kg)

RESULTATS EXPRIMES EN % DE LA DOSE ADMINISTREE.

( $\bar{X} \pm SD$  - n = 5)

bilan urinaire

Heures	0 - 6	6 - 12	12 - 24	24 - 48	48 - 72	72 - 96	0 - 96
% dose administ.	32,88 $\pm 11,26$	21,33 $\pm 9,47$	5,85 $\pm 3,07$	1,47 $\pm 0,23$	0,55 $\pm 0,07$	0,31 $\pm 0,08$	61,99 $\pm 14,69$
							62,30 $\pm 14,66$

bilan fécal

Heures	-	0 - 24	24 - 48	48 - 72	72 - 96	0 - 72	72 - 96
% dose administ.	-	6,17 $\pm 1,98$	6,07 $\pm 1,71$	1,23 $\pm 0,62$	0,51 $\pm 0,08$	13,47 $\pm 1,86$	13,98 $\pm 1,80$

bilan d'excrétion

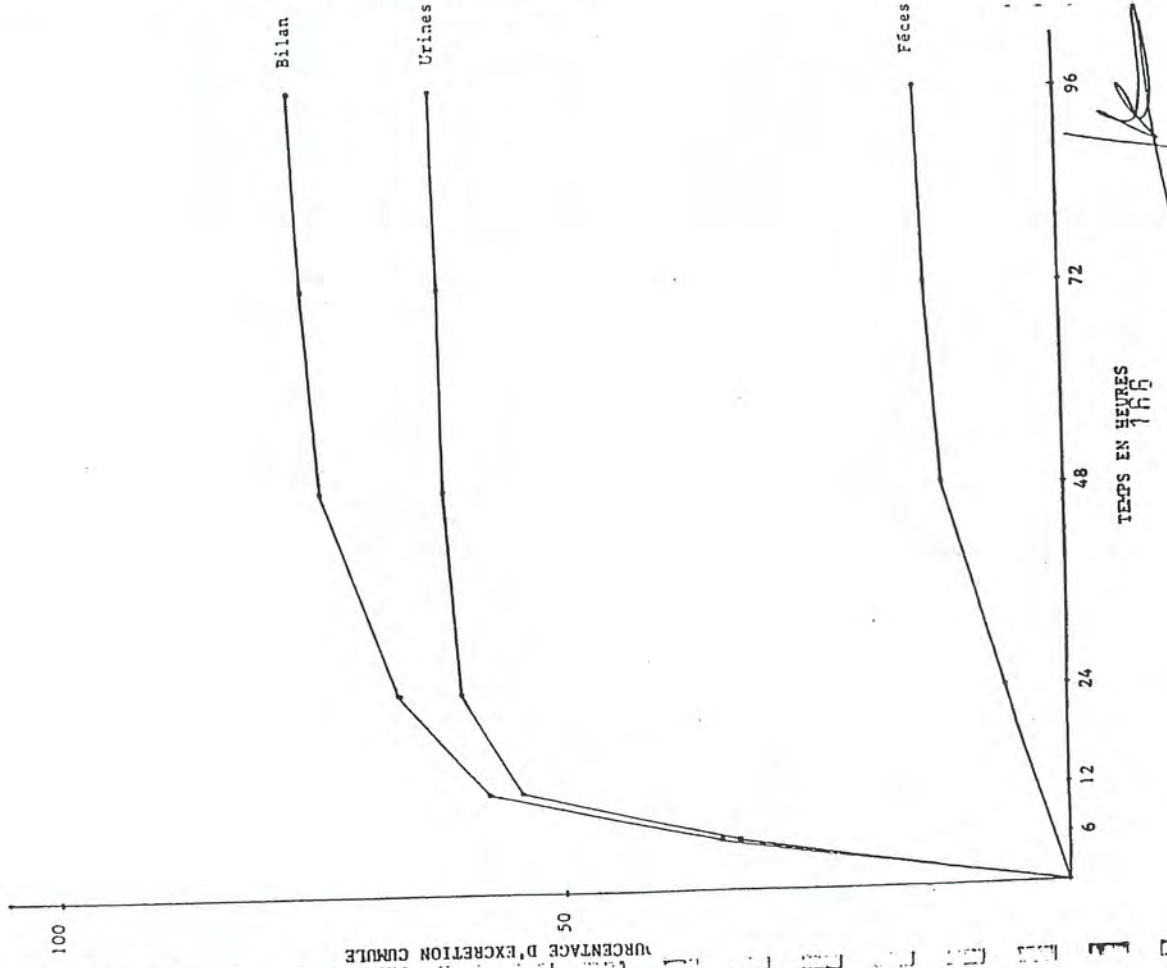
Heures	-	0 - 24	24 - 48	48 - 72	72 - 96	0 - 72	72 - 96
% dose administ.	-	12,02 $\pm 2,89$	7,54 $\pm 1,15$	1,78 $\pm 0,45$	0,82 $\pm 0,08$	75,46 $\pm 11,50$	76,28 $\pm 13,93$

**FIGURE 11 : EXCRETION URINAIRE, FECALE ET BILAN D'EXCRETION CHEZ LE RAT,**  
 APRES ADMINISTRATION INTRAVEINEUSE DE LAURYSULFATE DE NOPOXAMINE.

(5 mg/kg + 100  $\mu$ Ci/kg)

RESULTATS EXPRIMES EN % DE LA DOSE ADMINISTREE.

( $\bar{X} \pm SD$  - n = 5)





III - 3.2. Élimination urinaire et fécale de la Nopoxamine après administration par voie orale

Les résultats moyens sont regroupés dans le tableau VIII et la figure 11.

Comme pour la voie intraveineuse, l'élimination urinaire de la radio-activité est rapide, avec toutefois une moindre intensité : 56 % de la radioactivité administrée sont retrouvés dans les urines après 12 heures (au lieu de 70 % pour la voie i.v.).

Entre 12 et 24 h, l'élimination décroît très rapidement : 4 % de la dose sont éliminés. L'élimination urinaire décroît encore et reste de l'ordre de 1 % par période de 24 h jusqu'à 72 h. Entre 72 et 96 heures, l'élimination n'est que de 0,5 %. L'élimination urinaire en 96 heures représente 60,6 % de la radioactivité administrée.

L'élimination par voie fécale est faible pendant les 24 premières heures : 1,16 % de la quantité administrée. Elle augmente au cours du temps et atteint 11 % pour la période 24 - 48 heures, puis se ralentit à un rythme d'élimination de 1 % par 24 heures. L'élimination fécale globale sur 96 heures représente 13,5 % de la radioactivité administrée.

Le bilan global, urinaire et fécal, de l'élimination s'élève à 74 % ± 5,5 % de la quantité administrée entre 0 et 96 heures.

167

TABLEAU VIII : EXCRETION URINAIRE, FÉCALE ET BILAN D'EXCRETION CHEZ LE RAT, APRES ADMINISTRATION PER OS D'ALGESAL CREME A 1 %  
DOSE MOYENNE 200 mg PAR RAT + TRACEUR <sup>14</sup>C

RESULTATS EXPRIMES EN % DE LA DOSE ADMINISTREE.  
( $\bar{X} \pm SD$  - n = 5)

bilan urinaire

Heures	0 - 6	6 - 12	12 - 24	24 - 48	48 - 72	72 - 96	0 - 72	0 - 96
% dose administ.	47,96 ± 7,09	7,97 ± 4,43	2,92 ± 0,38	1,09 ± 0,52	0,39 ± 0,06	0,21 ± 0,05	60,33 ± 6,52	60,54 ± 6,50

bilan fécal

Heures	0 - 24	24 - 48	48 - 72	72 - 96	0 - 72	0 - 96
% dose administ.	5,01 ± 2,28	6,87 ± 2,99	1,15 ± 0,42	0,43 ± 0,28	13,03 ± 1,53	13,46 ± 1,62

bilan d'excrétion

Heures	0 - 24	24 - 48	48 - 72	72 - 96	0 - 72	0 - 96
% dose administ.	63,86 ± 7,79	7,96 ± 3,40	1,54 ± 0,72	0,64 ± 0,12	73,36 ± 4,52	74,00 ± 5,42

168

III - 3.3. Elimination urinaire et fécale de la Nopoxamine après administration percutanée

Les valeurs moyennes sont regroupées dans les tableaux IX et X et dans les figures 13 et 14.

Après dépôt de la crème ou du lait, l'élimination de la radioactivité dans les urines est plus faible que pour la voie orale. En 24 heures, l'élimination urinaire moyenne est de 6,3 % de la radioactivité déposée pour la crème et atteint 13,5 % pour le lait. Puis pour le temps 24 h - 48 h de contact, l'élimination atteint 6 % pour les deux formulations galéniques et reste à 1 % d'élimination par période de 24 heures.

Le bilan d'élimination urinaire sur 96 h est de 19 % pour la crème et de 23,5 % pour le lait.

L'élimination par voie fécale est faible et ne dépasse pas 1 % par période de 24 h.

Le bilan d'élimination fécale sur 96 h est de 5 % en moyenne pour la crème et pour le lait.

L'ensemble de ces résultats conduit à un bilan global d'élimination urinaire et fécale de 23,5 % en 96 h pour la crème et de 28,5 % pour le lait. Ces moyennes ne diffèrent pas significativement au risque 5 %.

*[Signature]*  
170

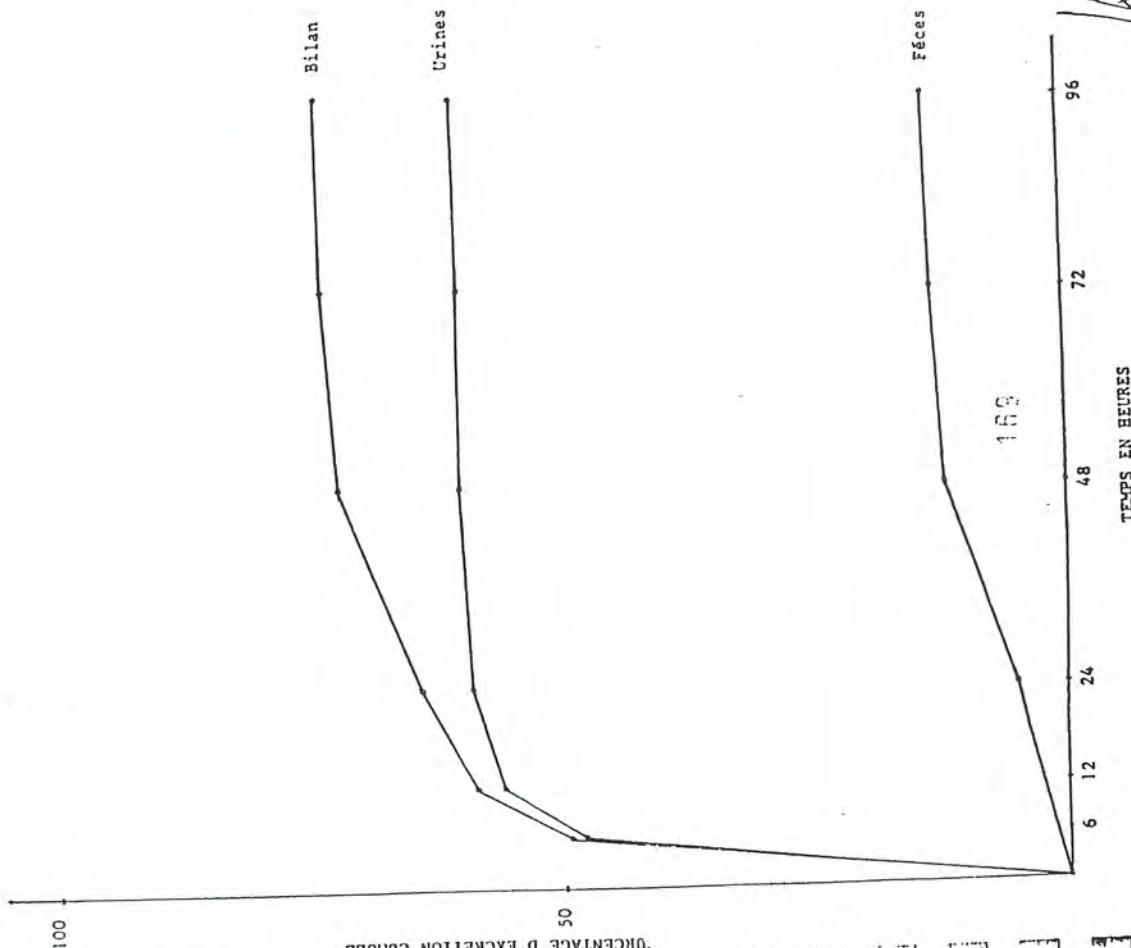
FIGURE 12 : EXCRETION URINAIRE, FECALE ET BILAN D'EXCRETION CHEZ LE RAT,

APRES ADMINISTRATION PER OS D'ALGESAL CREME A 1 %.

DOSE MOYENNE 200 mg PAR RAT + TRACEUR <sup>14</sup>C

RESULTATS EXPRIMES EN % DE LA DOSE ADMINISTREE.

( $\bar{X} \pm SD$  - n = 5).

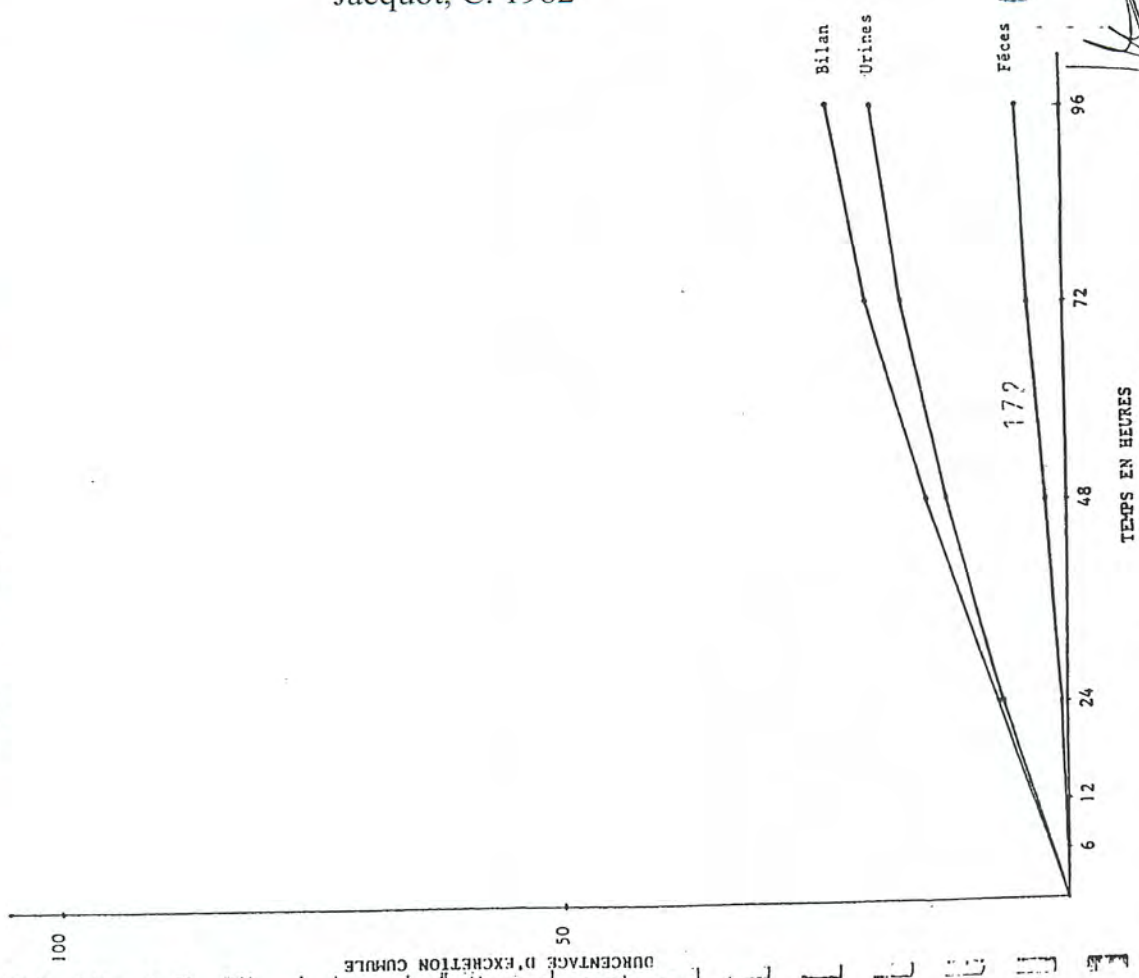


*[Signature]*



**FIGURE 13 : EXCRETION URINAIRE, FECALE ET BILAN D'EXCRETION CHEZ LE RAT**  
 APRES ADMINISTRATION PERCUTANEE D'ALGESAL CREVE A 1 %.

DOSE MOYENNE 100 mg PAR RAT,  
 RESULTATS EXPRIMES EN % DE LA DOSE ADMINISTREE,  
 ( $\bar{X} \pm SD$  - n = 6).



**TABEAU IX : EXCRETION URINAIRE, FECALE ET BILAN D'EXCRETION CHEZ LE RAT**  
 APRES ADMINISTRATION PERCUTANEE D'ALGESAL CREVE A 1 %.

DOSE MOYENNE 100 mg PAR RAT,  
 RESULTATS EN % DE LA DOSE ADMINISTREE,  
 ( $\bar{X} \pm SD$  - n = 6).

bilan urinaire

Heures	0 - 24	24 - 48	48 - 72	72 - 96	0 - 72	0 - 96
% dose administ.	6,34 ± 1,45	5,72 ± 1,5	4,13 ± 2,09	2,76 ± 1,38	16,19 ± 2,31	18,95 ± 2,64

bilan fécal

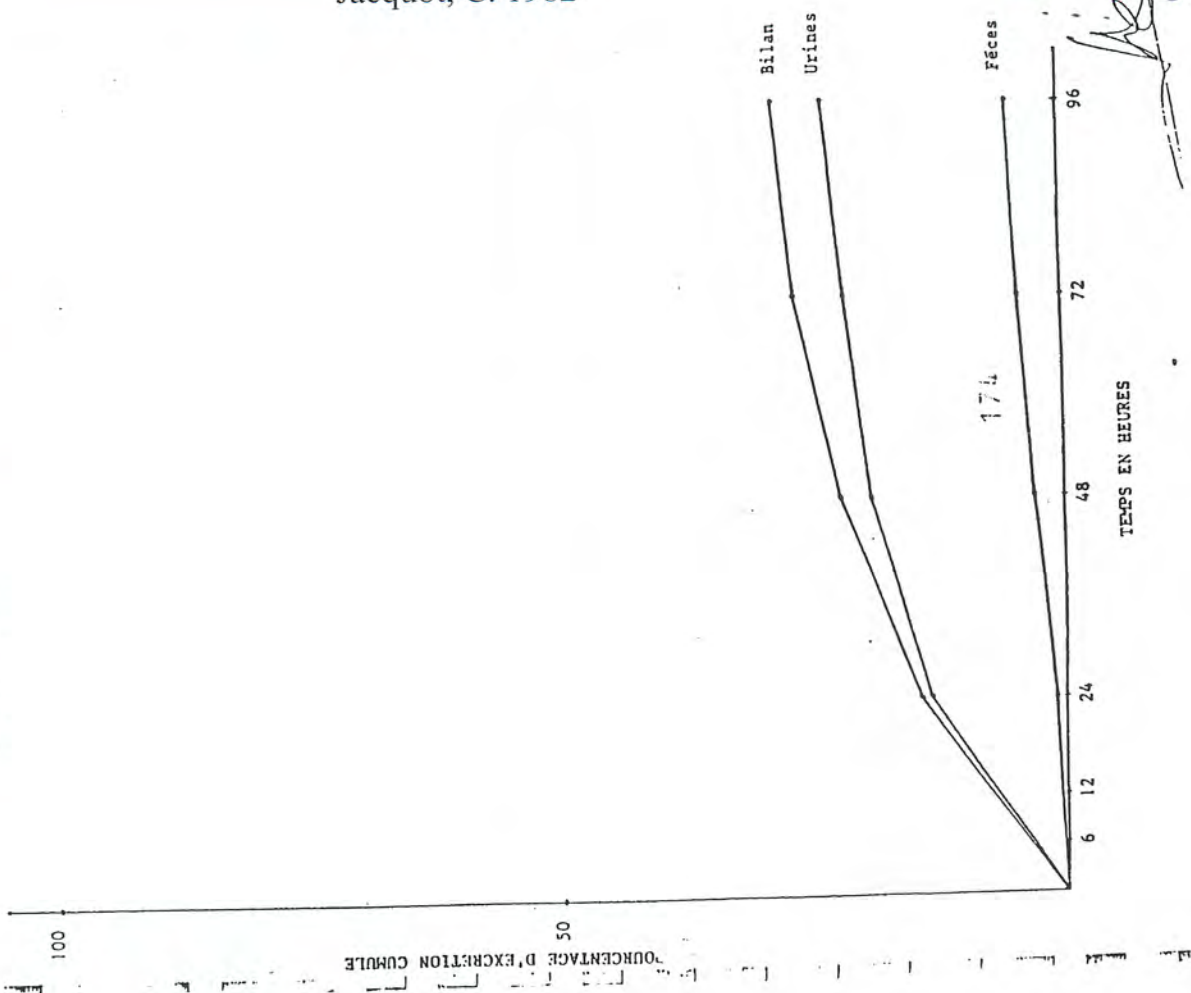
Heures	0 - 24	24 - 48	48 - 72	72 - 96	0 - 72	0 - 96
% dose administ.	0,51 ± 0,17	1,58 ± 0,57	1,39 ± 0,13	0,98 ± 0,25	3,48 ± 0,65	4,46 ± 0,53

bilan d'excrétion

Heures	0 - 24	24 - 48	48 - 72	72 - 96	0 - 72	0 - 96
% dose administ.	6,85 ± 1,35	7,30 ± 1,2	5,52 ± 2,1	2,74 ± 1,15	19,67 ± 1,75	23,41 ± 2,41

FIGURE 14 : EXCRETION URINAIRE, FECALE ET BILAN D'EXCRETION CHEZ LE RAT,  
APRES ADMINISTRATION PERCUTANEE DE LAIT ALGESAL A 1 %.

DOSE MOYENNE 100 mg PAR RAT.  
RESULTATS EXPRIMES EN % DE LA DOSE ADMINISTREE.  
( $\bar{X} \pm SD - n = 6$ )



TABLÉAU X : EXCRETION URINAIRE, FECALE ET BILAN D'EXCRETION CHEZ LE RAT,  
APRES ADMINISTRATION PERCUTANEE DE LAIT ALGESAL A 1 %

DOSE MOYENNE 100 mg PAR RAT.  
RESULTATS EXPRIMES EN % DE LA DOSE ADMINISTREE.  
( $\bar{X} \pm SD - n = 6$ )

**bilan urinaire**

Heures	0 - 24	24 - 48	48 - 72	72 - 96	0 - 72	0 - 96
% dose administ.	13,43 ± 2,21	5,86 ± 1,48	2,47 ± 0,88	1,79 ± 0,77	21,75 ± 4,19	23,53 ± 4,37

**bilan fécal**

Heures	0 - 24	24 - 48	48 - 72	72 - 96	0 - 72	0 - 96
% dose administ.	1,07 ± 1,37	1,89 ± 0,82	1,44 ± 0,22	0,74 ± 0,21	4,4 ± 1,9	5,14 ± 2,06

**bilan d'excrétion**

Heures	0 - 24	24 - 48	48 - 72	72 - 96	0 - 72	0 - 96
% dose administ.	14,50 ± 2,19	7,75 ± 1,12	3,92 ± 0,75	2,53 ± 0,85	26,15 ± 3,82	28,67 ± 5,41



III - 3.4. Evaluation de la biodisponibilité de la Nopoxamine administrée par voie percutanée

Les valeurs de l'élimination urinaire et fécale de la Nopoxamine après administration intraveineuse et percutanée permettent de calculer selon le protocole de FELLMANN et MARBACH, les biodisponibilités pour les deux formes galéniques testées.

La biodisponibilité pour la crème calculée sur 72 h est de 22,6 % (calculée sur le citrate i.v.) ; pour le lait, la biodisponibilité calculée sur 96 h, par rapport au L.S. par voie intraveineuse est de 37,6 %.

III - 3.5. Evaluation de la biodisponibilité de la Nopoxamine administrée par voie digestive.

On peut évaluer la biodisponibilité de la Nopoxamine incorporée dans la crème sous forme chlorhydrate et administrée par voie orale à partir des valeurs de l'élimination urinaire entre 0 et 72 h.

Le calcul conduit à une valeur approximative de 81 %.

En utilisant le bilan d'excrétion urinaire et fécale, on observe qu'à 72 h, seuls 62 % de la radioactivité sont éliminés, contre 86,8 % pour la voie i.v.

IV - DISCUSSION - CONCLUSION

La discussion des résultats comprendra deux parties distinctes : d'une part les travaux réalisés sur le lapin avec la Nopoxamine, d'autre part, les travaux de biodisponibilité chez le rat avec l'acétate de deux préparations topiques contenant la Nopoxamine.

La pharmacocinétique plasmatique de la Nopoxamine ne diffère pas nettement selon l'anion qui salifie l'anesthésique local. On peut noter dans le cas de la radioactivité totale, une augmentation paradoxale des concentrations plasmatiques après administration intraveineuse et cela pendant 90 minutes. En revanche, ce phénomène n'apparaît pas avec le produit libre. Ces résultats peuvent s'expliquer par la faible solubilisation des sels de Nopoxamine à pH 7,40, et par l'administration dans un petit vaisseau de l'animal (veine marginale - l'oreille). En revanche, la fraction solubilisée du produit administré est très rapidement métabolisée, à une vitesse supérieure à la vitesse de redissolution du produit total administré. Après prise orale, la résorption de la radioactivité totale est des deux tiers ; mais la biodisponibilité du produit libre n'est pas mesurable, étant donné la métabolisation intense de la Nopoxamine. Ce résultat peut être vérifié par les taux différents de métabolites dans chaque cas. On doit penser raisonnablement à l'existence d'un effet de premier passage d'origine hépatique et/ou digestif.

L'étude de l'absorption percutanée *in vivo* de la Nopoxamine contenue dans la crème ou le lait ALGESAL a permis de classer la Nopoxamine parmi les substances à faible coefficient de diffusion. On observe aussi que le pourcentage de passage transcutané, *in vivo*, est plus important pour la crème que pour le lait. Ceci peut s'expliquer par la solubilité relative dans le liquide de survie du chlorhydrate de Nopoxamine contenu dans la crème, tandis que le Laurylsulfate de Nopoxamine est pratiquement insoluble.

*In vivo*, selon le protocole de FELDMAN et MARBACH, on peut observer que le pourcentage d'absorption de la Nopoxamine est relativement important. Ce résultat, en contradiction avec les résultats obtenus *in vitro*, peut s'expliquer par l'existence du flux sanguin au niveau du derme, qui *in vivo*, assure un renouvellement permanent, alors qu'*in vitro* le compartiment dermique est renouvelé seulement toutes les 2 heures. On observe également *in vivo*, une résorption percutanée légèrement supérieure lorsque la Nopoxamine est appliquée sous forme de lait. Ce résultat peut s'expliquer par le caractère plus liposoluble du Laurylsulfate de Nopoxamine comparé au chlorhydrate de Nopoxamine.

le 15 Decembre 1982  
  
 C. JACQUOT.