

La biodisponibilité et son évaluation

P. L. TOUTAIN & A. BOUSQUET-MELOU

Définition de la biodisponibilité

Selon l'European Medicines Evaluation Agency (EMA, Human guideline 2001) la biodisponibilité (bioavailability en anglais) se définit comme étant la vitesse et l'étendue avec lesquelles la substance active ou sa fraction active est absorbée à partir de sa formulation pharmaceutique et devient disponible au site d'action. Étant donné que le site d'action n'est généralement pas identifié, la biodisponibilité est redéfinie comme étant la vitesse et l'étendue avec lesquelles la substance ou sa fraction active gagne la circulation générale c'est-à-dire parvient jusqu'à la circulation artérielle (aorte).

Le sang aortique n'étant pas facilement prélevable, la biodisponibilité est généralement mesurée à partir des concentrations plasmatiques obtenues avec du sang veineux prélevé à partir d'une veine facilement accessible ce qui peut biaiser l'estimation de la quantité de la substance qui parvient réellement dans la circulation artérielle si l'effet de premier passage pulmonaire est important.

La biodisponibilité est dénotée par la lettre F ; elle s'exprime par un pourcentage ($F\%$).

L'objectif de ce cours est de présenter les différentes approches utilisées pour mesurer la biodisponibilité d'un médicament ; la revue de (Cutler 1981) reste un article de référence pour ce sujet. Plus récemment, l'article de (Toutain and Bousquet-Melou 2004) reprend l'essentiel des informations présentées ici.

Absorption vs. Biodisponibilité

Dans un contexte physiologique les termes d'absorption et de biodisponibilité sont souvent confondus. En fait ils ne sont ni synonymes ni interchangeables. L'absorption est seulement l'une des étapes qui sépare l'administration du médicament de son arrivée à son site d'action (nommé biophase). Sur un plan mécanistique, il importe de bien reconnaître ces deux concepts pour expliquer l'origine d'une faible biodisponibilité ; c'est ainsi qu'une substance peut être absorbée à 100% et n'avoir qu'une faible biodisponibilité ce qui ne laisse aucune place pour

une amélioration de la biodisponibilité via une approche galénique ; c'est le cas des prostaglandines (comme la PgF2alpha), qui subissent un effet de premier passage pulmonaire de 90% ; il en est de même pour des substances administrées par voie orale et pour lesquelles la faible biodisponibilité systémique s'explique par un effet de premier passage hépatique et non par un déficit d'absorption. Le propranolol chez le chien en est un exemple.

Dans un contexte réglementaire où aucune interprétation de la biodisponibilité n'est réalisée, les termes de biodisponibilité et d'absorption sont souvent confondus (Gibaldi and Perrier 1982; Rowland and Tozer 1995).

Biodisponibilité absolue et biodisponibilité relative

La biodisponibilité absolue est le pourcentage de la dose administrée (de 0 à 100%), qui atteint la circulation générale. Son estimation implique la comparaison de l'exposition après une administration extravasculaire (EV) avec celle qui est obtenue avec une voie intraveineuse (IV) qui sert de référence (car présumée être de 100% ce qui est généralement le cas).

La biodisponibilité relative implique la comparaison de 2 formulations (ou de 2 voies d'administration pour la même formulation) sans faire référence à la voie IV. Le but d'une biodisponibilité relative est de comparer, relativement, 2 biodisponibilités en vue par exemple, de choisir la meilleure modalité d'administration (à jeun ou dans la nourriture par exemple). On doit garder à l'esprit que l'interprétation d'une biodisponibilité relative peut être sujette à caution si on ignore l'ordre de grandeur de la biodisponibilité absolue; c'est ainsi que de doubler une biodisponibilité grâce à un nouvel excipient n'a pas le même sens si on passe de 3 à 6% ou de 45 à 90%. Dans le premier cas, les 2 biodisponibilités sont faibles et insatisfaisantes alors que dans le second cas, le galéniste a réellement optimisé la formulation.

Biodisponibilité et bioéquivalence.

Bien que la biodisponibilité soit utilisée comme un critère de jugement pour démontrer la bioéquivalence de deux formulations (ou de deux voies d'administration), les deux concepts sont différents et ne doivent pas être confondus. Un essai de bioéquivalence a pour objectif d'établir une équivalence thérapeutique entre deux formulations mises à la disposition des prescripteurs en démontrant

(statistiquement) que les expositions obtenues avec ces deux formulations sont relativement proches ; le but ultime est de permettre des substitutions entre ces deux formulations comme la substitution d'un médicament princeps par son générique. L'essai de bioéquivalence n'est pas conçu pour documenter les facteurs physiologiques qui sont à l'origine de variation dans la biodisponibilité. Dans un essai de bioéquivalence les sujets doivent être considérés comme des révélateurs biologiques de différences entre les deux formulations. En revanche, dans les essais de biodisponibilité, l'objectif est de documenter les facteurs physiologiques capables de la modifier (âge, genre, prise de nourriture maladie etc.) ou des facteurs pharmaceutiques (excipients, sels, esters etc.) qui sont l'objet de l'investigation.

Pourquoi connaître la biodisponibilité ?

La dose administrée (dose externe) n'est pas forcément égale à la dose qui va réellement agir encore appelée dose interne. Le thérapeute veut connaître l'exposition réelle de son patient qui est liée à la dose interne; la relation entre la dose administrée et la dose interne est donnée par le facteur de biodisponibilité. La mesure de la biodisponibilité est également informative pour les médicaments administrés localement afin d'anticiper la présence ou non d'effet systémiques ou de résidus de médicament pour la médecine vétérinaire.

La biodisponibilité n'est pas un paramètre pharmacocinétique mais une variable

La biodisponibilité est une propriété fondamentale d'une formulation pharmaceutique qui va dépendre de facteurs propres à la substance pour une voie d'administration donnée (et donc non modifiables) et de facteurs pharmaceutiques sous contrôle des galénistes. La biodisponibilité n'est pas un paramètre pharmacocinétique *sensu stricto* mais une variable car elle ne dépend pas que de facteurs biologiques. Elle est la seule variable pharmacocinétique que l'on puisse modifier et tenter d'améliorer.

Pourquoi recherche-t-on des biodisponibilités élevées ?

On recherche des biodisponibilités élevées (proche de 100%) pour quatre raisons majeures : ne pas “gaspiller” de la substance active c'est-à-dire en recherchant la sélectivité de la cinétique du médicament pour sa biophase, pour garantir une exposition systémique inter-sujet reproductible, pour ne pas avoir à augmenter inutilement les doses pour exposer correctement les sujets ayant les biodisponibilités les plus faibles et enfin pour ne pas offrir des opportunités d'interactions conduisant à des effets secondaires par des augmentations inattendues de la biodisponibilité.

Une biodisponibilité élevée pour une meilleure sélectivité des effets du médicament.

Le non gaspillage de la substance active peut être un enjeu d'écotoxicologie (ne pas contaminer l'environnement) ou encore un enjeu de santé publique comme pour un antibiotique administré par voie orale qui ne doit pas perturber les flores digestives commensales ; les tétracyclines offrent un exemple de ces deux enjeux ; leur biodisponibilité par voie orale chez le porc est faible (environ 10-15%). C'est ainsi que la majeure partie d'une dose d'oxytétracycline administrée par voie orale transite en quelques heures vers le secteur caeco-colique où elle exerce sa pression de sélection c'est-à-dire qu'elle favorise la sélection des bactéries résistantes. De plus, étant stable, elle sera rejetée dans l'environnement où elle va continuer d'agir pendant plusieurs semaines sur les bactéries de l'environnement.

Une biodisponibilité élevée pour avoir des expositions systémiques reproductibles entre les sujets.

Le second enjeu d'une biodisponibilité élevée est d'avoir des expositions systémiques reproductibles entre les sujets (ou plus exactement de ne pas introduire un facteur supplémentaire de variabilité entre les sujets). On doit réaliser qu'une faible biodisponibilité (par exemple de 10%) ne peut pas être compensée en multipliant simplement la dose par 10 lorsque l'objectif est d'atteindre une exposition correspondant à une biodisponibilité de 100% ! En effet il a été montré que plus la biodisponibilité était faible, plus la variabilité inter-sujet était importante (Figure.1).

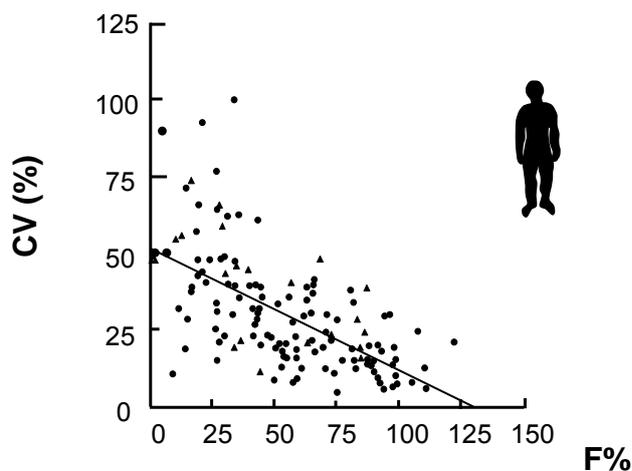


Fig. 1. Relation entre la biodisponibilité moyenne (F%) et la variabilité intersujet de l'exposition indiquée par le coefficient de variation (CV%); données obtenues chez l'homme pour plus de 100 substances ; d'après (Hellriegel *et al.* 1996).

Une biodisponibilité élevée pour ne pas à avoir à augmenter inutilement la dose pour tous les sujets afin d'exposer correctement les sujets ayant les biodisponibilités les plus faibles.

Prenons l'exemple d'une substance hypothétique ayant une biodisponibilité moyenne de 10%. Cette moyenne correspond à des sujets ayant des biodisponibilités individuelles allant de 5% à 20%. Si on décidait de multiplier la biodisponibilité moyenne par 10, on obtiendrait bien une biodisponibilité moyenne de 100% (l'objectif à atteindre) mais les sujets ayant une biodisponibilité initiale de 20% se retrouveront exposés avec des doses internes correspondant à 200% de l'objectif à atteindre (une surexposition d'un facteur 2) alors que les sujets qui avaient les plus faibles biodisponibilités ne seront exposés qu'à 50% de l'objectif thérapeutique (sous-exposition). Si ce médicament a une marge thérapeutique étroite, il est possible qu'aucune dose unique ne permette d'exposer de façon appropriée tous les sujets d'une population c'est-à-dire de n'avoir, ni une sous-exposition génératrice de rupture thérapeutique, ni une surexposition génératrice d'effets secondaires (Figure.2).

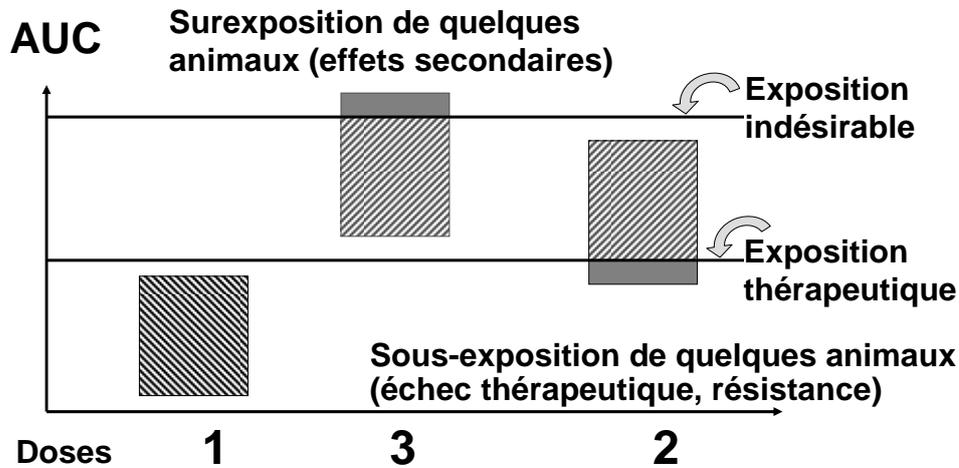


Fig. 2. Faible biodisponibilité et impossibilité de sélectionner une dose adéquate pour tous les sujets.

La figure 2 illustre une situation pour laquelle un médicament ayant une marge thérapeutique étroite (on veut une exposition qui soit située entre les deux lignes horizontales) et une faible biodisponibilité, ne peut pas être administré avec une posologie unique qui garantisse à la fois une efficacité et une absence d'effet secondaire pour tous les sujets. Pour la dose de 1, tous les sujets sont sous-exposés ; si on veut que tous les sujets soient exposés à des concentrations efficaces, il faut multiplier la dose par 3 mais ce faisant, les sujets qui avaient la meilleure biodisponibilité se trouvent surexposés. Si on se contente de multiplier la dose par 2, les sujets ayant la plus faible biodisponibilité seront encore sous-exposés.

Une biodisponibilité élevée pour ne pas avoir des interactions conduisant à des surexpositions inattendues.

La quatrième raison pour vouloir des biodisponibilités élevées est de prévenir des interactions (médicamenteuses ou des interactions d'une autre origine) qui pourraient augmenter de façon non anticipée la biodisponibilité ; il est évident que si la biodisponibilité est totale (100%), elle ne pourra pas augmenter sous l'action d'un facteur inattendu ; en revanche une biodisponibilité de 10% peut être théoriquement multipliée par 10 et partant, conduire à une surexposition si la dose a été déterminée

pour une biodisponibilité moyenne de 10% ; ce cas de figure est à anticiper quand les faibles biodisponibilités sont dues à des effets de premier passage.

La fêlodipine, un anti-arythmique, offre un exemple de cette possibilité. Chez l'homme la fêlodipine a une faible biodisponibilité par voie orale (15%) car elle subit un effet de premier passage intestinal, la fêlodipine étant métabolisée par les CYP3A4 de la paroi intestinale. L'ingestion de pamplemousse suffit à inhiber de façon aiguë ces cytochromes de la paroi intestinale et partant à supprimer l'effet de premier passage ; il en résulte une augmentation de la biodisponibilité qui peut être multipliée jusqu'à 10-12 fois (Bailey *et al.* 2000) avec à la clé une surexposition qui a été historiquement mortelle pour plusieurs patients. Cela explique la nécessité de connaître la biodisponibilité absolue pour tout nouveau médicament administré par voie extravasculaire (et surtout par voie orale) et partant la nécessité de documenter la cinétique IV de toute nouvelle substance.

Vitesse de la mise à la disposition

Il convient de connaître non seulement l'étendue de la biodisponibilité (extent) mais aussi sa rapidité (rate) car si l'étendue contrôle l'aire sous la courbe des concentrations plasmatiques, la vitesse de la mise à la disposition contrôle la forme de la courbe des concentrations plasmatiques ce qui peut avoir une grande influence sur les effets thérapeutiques (par exemple pour un antibiotique temps dépendant) et les effets toxiques (pic des concentrations plasmatiques trop élevé)(Fig. 3). Il est aussi essentiel de connaître la vitesse de la mise à disposition de la substance pour les formulations qui ont été conçues précisément pour la contrôler (formulation à libération contrôlée).

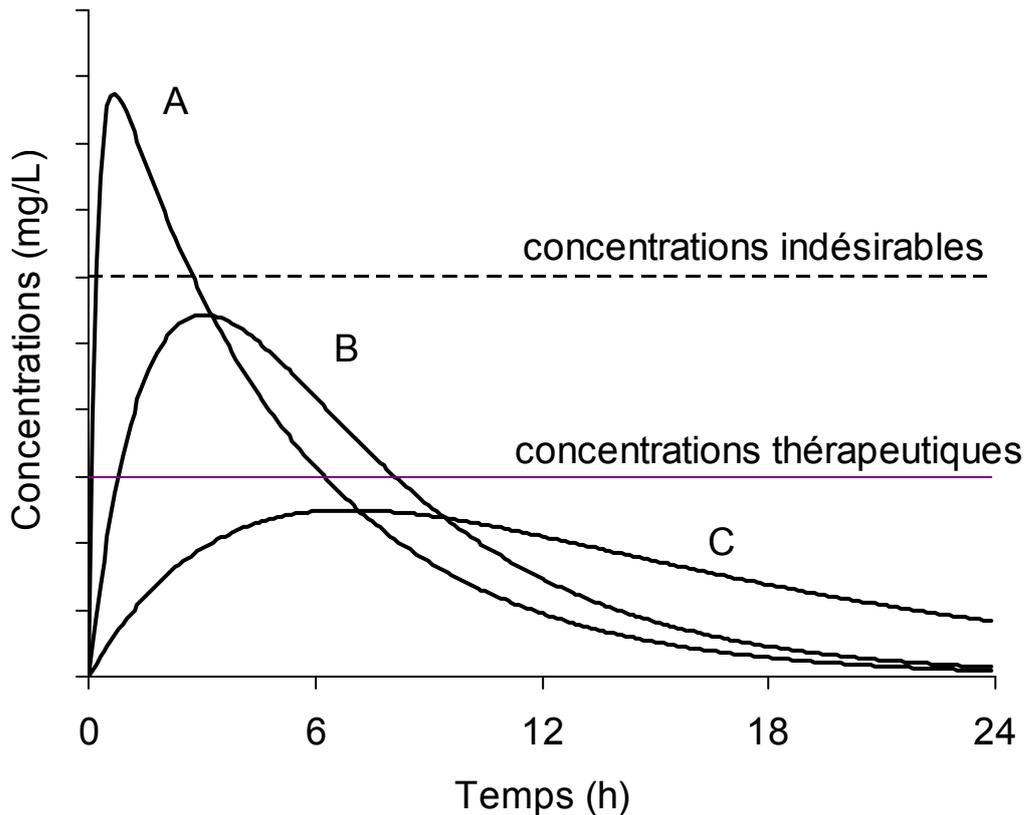


Figure 3: Effet et taux d'absorption du médicament. Pour trois formulations (A, B et C) ayant la même biodisponibilité, l'effet est différent selon le taux d'absorption. Pour la formulation A, la constante d'absorption est élevée et le pic de concentration plasmatique dépasse les concentrations indésirables. En revanche, pour la formulation C, le taux d'absorption est trop bas pour permettre aux concentrations plasmatiques d'atteindre un niveau d'efficacité suffisant (par exemple un antibiotique temps-dépendent). Seul le profil des concentrations plasmatiques de la formulation B se situe dans la fenêtre thérapeutique.

La biodisponibilité absolue par voie IV peut être différente de 100%.

Par définition, la biodisponibilité d'une substance administrée par voie IV est de 100% c'est-à-dire que l'on postule que la dose administrée par voie IV atteindra effectivement la circulation générale. Cela est uniquement vrai si la substance atteint intégralement la circulation artérielle sans perte. Les médicaments sont généralement administrés par voie IV et ils ont d'abord à passer par les poumons avant d'atteindre la circulation générale. Les poumons peuvent être un site actif de

métabolisation notamment pour les prostaglandines et les amines biogènes (il s'agit d'un mécanisme protecteur de la circulation pulmonaire pour éviter une vasoconstriction). De même, après l'administration IV d'une prodrogue, la biodisponibilité peut-être <100%. Par exemple, la biodisponibilité de la méthyprednisolone à partir de la méthyprednisolone sodium succinate (un ester hydrosoluble et administrable par voie IV) est de l'ordre de 40 % chez le chien car une partie de la prodrogue est éliminée avant même que d'avoir restitué par hydrolyse sa fraction active (c'est-à-dire la méthyprednisolone) (figure 4)

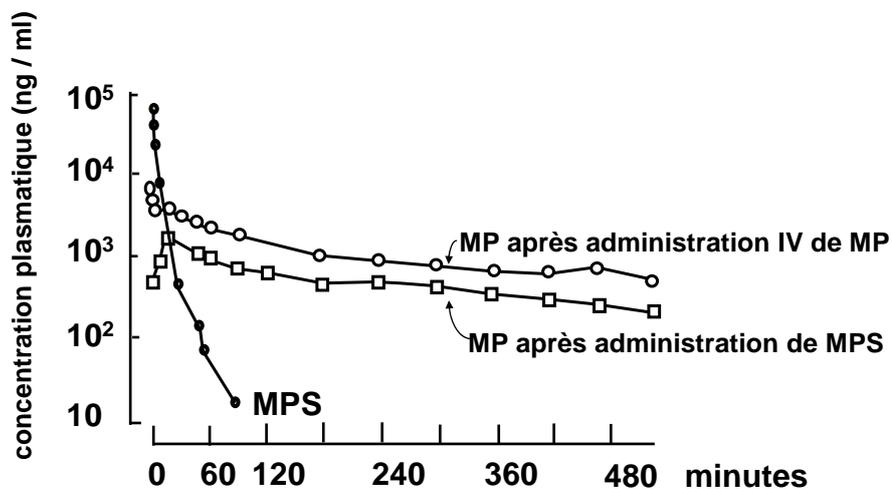


Figure 4: Biodisponibilité absolue de la méthyprednisolone chez le chien. La Méthyprednisolone (MP) est un stéroïde non-hydrosoluble qui peut être administré par voie IV grâce à un sel d'ester de succinate hydrosoluble (méthyprednisolone sodium succinate, MPS). Après une administration IV de MPS, les concentrations de MPS diminuent rapidement produisant la forme active : la MP. Si on prenait le profil des concentrations plasmatiques de la MP pour estimer la biodisponibilité de la MP d'une autre formulation cela donnerait une surestimation globale de la véritable biodisponibilité de la MP, parce que 44% de la MPS est transformée en MP. La véritable biodisponibilité d'une formulation de MP sera obtenue en administrant la MP elle-même par voie IV (Toutain *et al.* 1986).

La mesure de la biodisponibilité absolue.

Il y a de nombreuses approches pour évaluer une biodisponibilité absolue. La plus classique consiste à comparer les aires sous la courbes des concentrations plasmatiques (AUC) obtenues après une administration par voie IV (100%) et l'AUC correspondant à la voie extravasculaire étudiée avec (équation 1) :

$$F\% = \frac{AUC_{ev}}{AUC_{iv}} \times \frac{Dose_{iv}}{Dose_{ev}} \times 100$$

Equation 1

Dans l'équation 1, les AUC sont les AUC des concentrations libres ou totales de la substance et les doses sont les doses réellement administrées par voie IV et extravasculaire (EV). En général, les doses administrées par les voies IV et EV sont identiques.

L'application de l'équation 1 implique deux conditions (i) la linéarité des mécanismes de clairance et (ii) que les clairances de la substance administrée par voie IV et EV soient identiques. En effet, l'équation 1 est la forme réduite de l'équation implicitement utilisée soit équation 2 :

$$F\% = \frac{AUC_{ev}}{AUC_{iv}} \times \frac{Clairance_{ev}}{Clairance_{iv}} \times \frac{Dose_{iv}}{Dose_{ev}} \times 100$$

Equation 2

En effet, ce sont des doses que l'on veut comparer et non des expositions qui ici ne servent que de critère d'évaluation.

L'équation 2 se réduit à l'équation 1 si la clairance IV est égale à la clairance EV.

Il y a deux types de variabilité de la clairance qu'il convient d'identifier au cours d'un essai de biodisponibilité : une variabilité limitée, aléatoire nommée variabilité « **interoccasion** » et une variabilité due à une **non stationnarité des clairances** au cours du temps et qui par exemple, peuvent résulter d'inhibition ou d'induction enzymatiques, la première administration de la substance à la première période pouvant influencer la clairance observée au cours de la seconde période. Ce second type de variabilité doit être prévenu par la mise en place d'un protocole expérimental approprié c'est à dire par un dessin expérimental dit en crossover.

Dans un plan en crossover, il y a 2 périodes d'étude séparées par une période dite de rinçage (washout en anglais) ; les sujets sont répartis de façon aléatoire en 2 groupes équilibrés. Au cours de la première période le premier groupe recevra la substance par voie IV et l'autre groupe des sujets recevra le médicament par voie EV ; après le washout, les traitements sont croisés. Dans un plan en crossover, il y a donc 2 séquences possibles d'administration de la substance c'est-à-dire IV puis EV ou EV puis IV. Il convient de s'assurer que ce plan ne génère pas un effet dit de pollution (effet de carryover en anglais) de la première période sur la seconde comme par exemple celui qui serait dû à une inhibition ou au contraire, une induction enzymatique. La période de rinçage entre les 2 administrations doit être suffisamment longue pour garantir, non seulement qu'il ne restera pas des concentrations résiduelles de la substance lors de la seconde administration, mais aussi l'absence d'un effet de pollution. On recommande des durées de washout d'au moins 10 fois le temps de demi-vie. Un moyen statistique de vérifier la présence ou non d'un effet de pollution est de tester la présence d'un éventuel effet séquence statistiquement significatif (pour mettre en évidence un éventuel effet de carryover dit différentiel c'est-à-dire un effet de la première période sur la seconde pour seulement l'une de 2 administrations) ; un exemple de carryover différentiel serait celui d'une formulation orale administrée en première période si elle contient un excipient inhibiteur enzymatique comme le piperonyl butoxide alors que la formulation IV n'en contient pas. L'analyse statistique peut mettre en évidence un effet période (qui est un effet de carryover similaire (equal carryover en anglais) pour les 2 modalités d'administration - voir le cours sur la bioéquivalence pour l'analyse statistique d'un plan en crossover).

On comprend qu'un plan expérimental consistant à tester sur la première période tous les sujets par la même voie d'administration et à tester la seconde voie d'administration lors de la seconde période peut conduire à des biais majeurs de surestimation ou de sous-estimation de la biodisponibilité. C'est ainsi que l'on pourrait être amené à calculer des biodisponibilités supérieures à 100% si tous les sujets recevaient la substance par voie IV alors que la première administration par voie EV est à l'origine d'un phénomène d'induction enzymatique !

Pour prendre en compte des variations aléatoires de la clairance d'une période à l'autre, il a été suggéré de corriger la biodisponibilité calculée avec l'équation 1 par les temps de demi-vie respectifs des voies IV et EV avec l'équation 3 :

$$F\% = \frac{AUC_{ev}}{AUC_{iv}} \times \frac{Dose_{iv}}{Dose_{ev}} \times \frac{T_{1/2,iv}}{T_{1/2,ev}} 100$$

Equation 3

La logique pour procéder à cette correction est de se rappeler que le temps de demi-vie est un paramètre hybride uniquement contrôlé par la clairance et le volume de distribution avec (équation 4) :

$$T_{1/2} = \frac{0.693 \times Vd}{Clairance}$$

Equation 4

En postulant que dans un essai de biodisponibilité, le volume de distribution n'a guère de raison de varier, on imputera toute modification du temps de demi-vie à celle de la clairance plasmatique.

Cette correction doit être utilisée avec prudence et uniquement si cela permet de réduire la variabilité des résultats ou encore d'éviter d'avoir des biodisponibilités supérieures à 100%. Il va de soit que si le temps de demi-vie ne représente pas une phase d'élimination mais une phase d'absorption (en cas de flip-flop), cette correction devient totalement illicite et peut conduire à des biais majeurs dans l'estimation de F% (sous-estimation). Une autre idée est de faire une correction par la clairance urinaire qui peut aisément être mesurée au cours d'un essai de biodisponibilité.

La meilleure option pour tenir compte d'une variabilité interoccasion est d'analyser les données avec une approche populationnelle (modèle non-linéaire à effet mixte).

Mesure de la biodisponibilité quand les concentrations plasmatiques de la substance ne sont pas directement mesurables

Pour certaines substances, la transformation en un métabolite actif est très rapide (comme pour la dipyrone qui est transformée en 4-méthylaminoantipyrine) ; dans ce cas de figure on peut évaluer la biodisponibilité avec l'équation 5 :

$$F\% = \frac{AUC_{ev,parent_drug}^{metabolite}}{AUC_{iv,parent_drug}^{metabolite}} \times \frac{Dose_{iv}}{Dose_{ev}} \times 100$$

Equation 5

L'utilisation de l'équation 5 exige que le métabolite ne soit pas formé par un effet de premier passage (par exemple par le foie pour une voie orale) ou au site d'administration.

A partir du moment où l'on peut mesurer la biodisponibilité avec un métabolite, on peut également le faire avec un mélange de métabolites sous réserve de la linéarité des différentes voies de métabolisation. C'est le cas lorsque les concentrations plasmatiques sont mesurées avec une technique analytique non spécifique comme une mesure de radioactivité après l'administration d'une substance radiomarquée.

Dans le cas de la voie orale, si la substance est métabolisée par le foie (avec un effet de premier passage), la biodisponibilité ne peut être mesurée qu'avec l'équation 1. En revanche, l'équation 5 peut être utilisée pour évaluer la quantité absorbée (ce qui est différent de la quantité biodisponible). L'utilisation conjointe des équations 1 (le principe actif) et l'équation 5 (un métabolite) peut permettre de comprendre l'origine d'une faible biodisponibilité par voie orale (défaut d'absorption ou effet de premier passage) (voir l'article de (Weiss 1990)).

Mesure de la biodisponibilité avec les données urinaires

La biodisponibilité peut être mesurée avec les données urinaires ou avec tout autre liquides biologique (lait, salive, etc.).

$$F\% = \frac{X_{urine-ev}^{\infty}}{X_{urine-iv}^{\infty}} \times 100$$

Equation 6

Avec X_u à l'infini, la quantité totale de médicament récupérée dans les urines après des administrations de la même dose par voie IV et EV. L'utilisation de l'équation 6 implique que le rapport des clairances rénales et totales soit le même pour les deux voies d'administration. La difficulté de cette approche est de collecter les urines

jusqu'à ce que toute la substance soit éliminée ; le recours à des collections partielles peut également s'envisager mais avec des conditions d'application parfois difficiles à vérifier.

L'équation 6 peut être modifiée en utilisant la quantification d'un métabolite sous réserve qu'il ne soit pas formé par un effet de premier passage (équation 7) :

$$F\% = \frac{X_{urine-ev-parent-drug}^{\infty-metabolite}}{X_{urine-iv-parent-drug}^{\infty-metabolite}} \times 100$$

Équation 7

L'équation 7 peut s'utiliser pour évaluer la biodisponibilité relative de deux formulations administrées par la même voie (et la même dose) y compris en cas d'effet de premier passage (qui affectera de façon similaire les deux formulations).

Évaluation de la biodisponibilité lorsque le temps de demi-vie est trop long pour permettre la mise en œuvre d'un plan en crossover (approche dite d'administrations semi-simultanées).

Lorsque le temps de demi-vie de la phase terminale est très long (15 jours ou plus), il peut devenir difficile de mettre en œuvre un plan expérimental en crossover car la période de washout devrait atteindre une durée de plusieurs mois (10 fois le temps de demi-vie) ce qui ne pourrait plus être compatible avec l'hypothèse d'invariance de la clairance (surtout pour des animaux en croissance). L'alternative au plan en crossover est d'administrer le médicament successivement par les 2 voies d'administration étudiées sans observer de washout, par exemple commencer par l'EV puis après un délai de quelques jours, administrer le produit par voie IV (ou l'inverse). On parle d'administration semi-simultanée et cette approche a été décrite par (Karlsson and Bredberg 1990). Les résultats obtenus sont modélisés avec un modèle compartimental prenant explicitement en compte la biodisponibilité qui se trouve évaluée avec les autres paramètres du modèle. Le plan expérimental à suivre peut être compliqué à établir (notamment l'ordre idéal d'administration et le délai optimal devant séparer les 2 administrations) et les promoteurs de cette approche suggèrent de l'explorer par des simulations de Monte Carlo. La figure 5 montre un exemple de cette approche pour la moxidectine chez le chien.

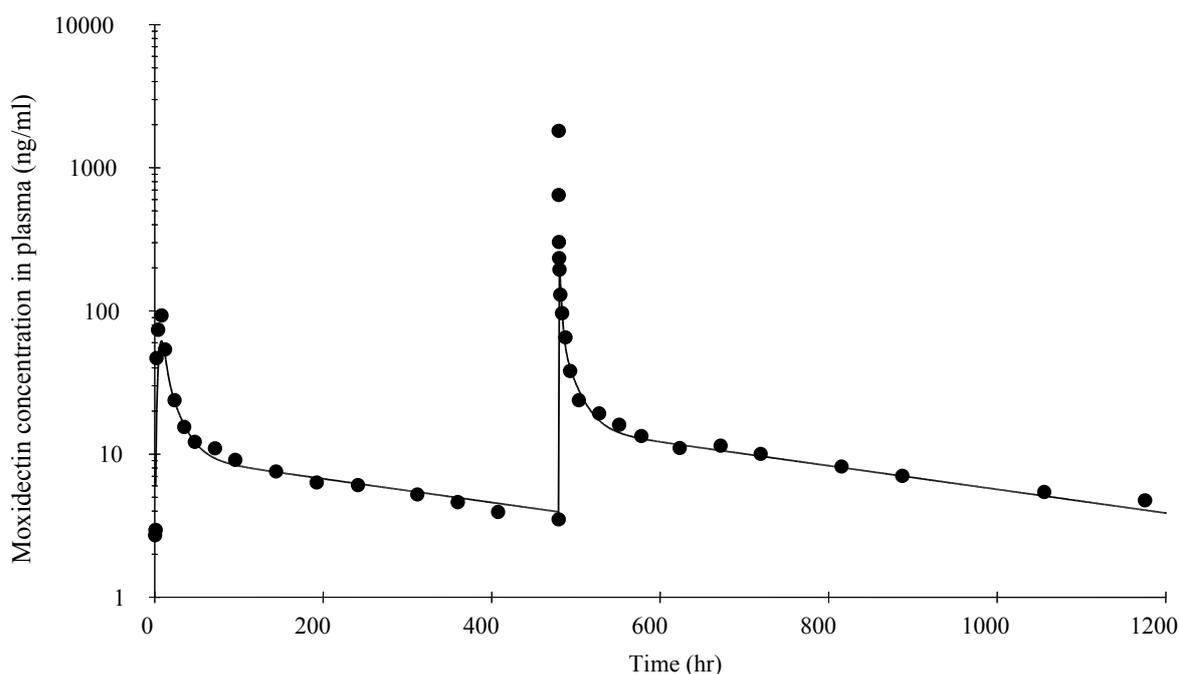


Figure 5 : concentrations plasmatiques observées (●) et prédites (□) de moxidectine après une administration orale puis une administration IV chez un chien représentatif (Lallemand *et al.* 2007).

Évaluation de la biodisponibilité absolue lorsqu'il est impossible d'administrer la substance par voie IV.

En certaines circonstances, il est impossible d'administrer la substance par voie IV ; c'est le cas des études de cinétiques qui portent sur des substances non médicamenteuses (polluant de l'environnement comme le Bisphenol A) ou même lors du développement d'un nouveau médicament lorsque la substance n'existe pas sous une formulation injectable par voie IV (par exemple pour un produit peu soluble). Pour ce type de situation, il existe une alternative qui peut se révéler utile même si les résultats obtenus doivent être considérés avec prudence. Cette alternative repose sur la possibilité de pouvoir toujours mesurer facilement une clairance urinaire (ou fécale) absolue sans à avoir à administrer la substance par voie IV.

L'équation suivante rappelle que la clairance totale (plasmatique) est la somme de la clairance rénale et de la clairance non rénale (généralement la clairance hépatique) avec l'équation 8 pour la voie IV :

$$Clairance_{totale} = \frac{Dose}{AUC_{iv}} = Clairance_{renale} + Clairance_{non-renale} \quad \text{Équation 8}$$

Par voie la voie EV la clairance apparente est donnée par l'équation 9 :

$$Clairance_{totale} / F = \frac{Dose}{AUC_{ev}} = \frac{1}{F} \times Clairance_{renale} + \frac{1}{F} \times Clairance_{non-renale} \quad \text{Equation 9}$$

Avec F la biodisponibilité à évaluer. Si on postule que la clairance non rénale est constante et que la seule source de variabilité entre les sujets est la clairance rénale, alors l'équation 9 est de la forme (équation 10) :

$$Y = a \times X + b \quad \text{Équation 10}$$

Avec Y le rapport $Dose/AUC$ pour la voie EV, a, la pente d'une droite qui est égale à $1/F$ et b, une ordonnée à l'origine qui est la clairance non rénale sur F. Le principe de la méthode consiste à estimer par régression linéaire $1/F$ avec la clairance rénale comme variable indépendante et $Dose/AUC$ comme variable dépendante (voir la figure 6).

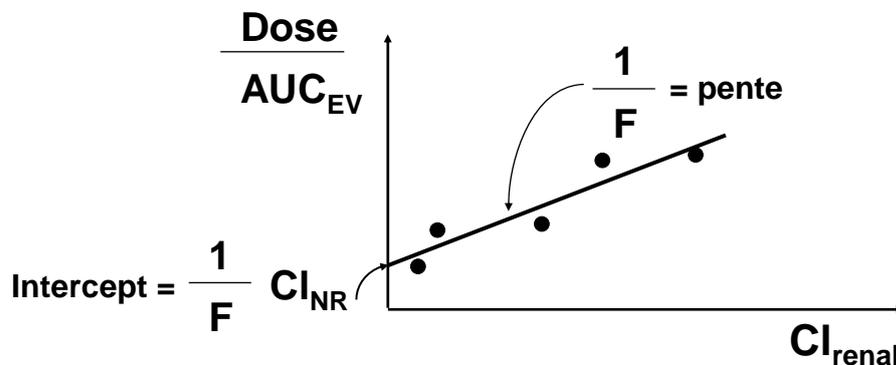


Figure 6 : Evaluation de la biodisponibilité absolue lorsqu'une administration IV est impossible. Quand une administration IV n'est pas réalisable mais que l'on peut collecter les urines (ou tout autre matière (fèces), ...), alors la biodisponibilité absolue peut être mesurée.

La clairance rénale doit être évaluée et la variabilité inter-individuelle de cette clairance doit être suffisamment importante pour utiliser une régression pour le calcul de la biodisponibilité. Une biodisponibilité est estimée par la pente de la droite entre la clairance absolue mesurée (rénale) et la clairance extravasculaire observée (Dose/AUC).

Pour être appliquée cette méthode doit postuler que l'essentiel de la clairance est d'origine rénale et que la variabilité de la clairance rénale dans la population sera suffisamment large pour permettre un calcul régression (Hinderling 2003; Hinderling and Shi 1995).

Si on sait que la totalité de la substance est éliminée par les urines ou les fèces, on peut alors estimer la clairance totale par la clairance urinaire ou fécale ; et en multipliant cette clairance par l'AUC observée par voie EV, on obtient la dose interne (équation 11)

$$Clairance_{urinaire} = Clairance_{totale} = \frac{Quantité_éliminée_sur_l'intervalle_de_temps}{AUC_de_l'intervalle_de_temps}$$

Equation 11

Avec *Quantité_éliminée*, la quantité de substance récoltée à partir des urines (ou de tout autre matrice biologique) entre un temps T et un temps T1 et l'AUC plasmatique correspondante entre T et T1. Le sujet ainsi calibré peut se voir administrer la formulation dont on souhaite connaître la biodisponibilité absolue ; il suffira alors d'évaluer l'AUC correspondante à cette formulation et la biodisponibilité sera donnée par (équation 12) :

$$F\% = \frac{AUC_{0-\infty} \times Clairance_{totale}}{Dose\ administrée}$$

Equation 12

Biodisponibilité des substances ayant une cinétique non linéaire.

L'utilisation de l'équation 1 implique la linéarité des processus d'élimination (de la clairance), mais n'implique pas une linéarité de l'absorption ni celle des processus de distribution ; si la clairance est non linéaire, on pourra toujours mesurer une biodisponibilité par une approche de type bilan massique c'est-à-dire en mesurant directement des quantités éliminées et non pas des concentrations. Un cas difficile est celui des substances ayant une fixation non linéaire aux protéines plasmatiques comme pour les inhibiteurs de l'enzyme de conversion ; pour ce cas de figure la biodisponibilité ne peut pas être mesurée à partir des concentrations plasmatiques totales mais peut l'être à partir des concentrations plasmatiques libres (dont la cinétique est linéaire).

Pourquoi une biodisponibilité absolue peut-elle être évaluée à plus de 100%

Le tableau 1 donne les principales causes qui peuvent conduire à estimer une biodisponibilité à plus de 100% ce qui est conceptuellement impossible.

Table 1: Selected factors leading to a bioavailability higher than 100%

1) *Experimental errors during the in-life phase of the experiment*

- Dose administered by the extra-vascular route is too high (gross error, different salts or esters without correction for the molecular weight, inappropriate scoring of tablets...)
- Dose administered by IV route is too low or not available (gross error, physical interaction with the injecting material (*e.g.* lidocaine), drug is not stable in solution (*e.g.* peptide during infusion). *In vivo* precipitation of an extemporaneous solution, a different salt or ester without correction for the molecular weight, incomplete transformation of an ester pro-drug to its active moiety (see fig.4)).
- Exchange of drug between animals raised in groups (licking in cattle, coprophagy in dogs...)

2) *Experimental errors during sampling, preparation and conservation of samples*

- Sampling in the jugular vein homolateral to an ear-implant in cattle
- Contamination of the extra-vascular samples when working with a pour-on formulation
- Non-stability of the drug in the IV samples: photodegradation (carprofen), delay to centrifugation and freezing for longer period compared to EV samples
- Insufficient samples during the initial phase after the IV bolus administration or the upswing of the curve after an IV infusion (see fig. 7).

3) *Analytical technique*

- For safety reasons, the administered dose using IV route is lower than for extra-vascular route, and the LOQ of the analytical phase is too high and fails to detect a part of the IV AUC.
- Non-enantioselective analytical technique for a racemate having an enantioselective disposition (*e.g.*: possible pre-systemic chiral inversion in the digestive tract favouring the enantiomer having the lowest clearance).
- Enantioselective analytical technique for a racemate having an enantioselective disposition (*e.g.*: pre-systemic chiral inversion of ibuprofen in the digestive tract of rabbit increases the S(+) from the R(-) ibuprofen ((Doki *et al.* 2003)).
- Bacteriological analytical technique for antibiotics overestimates bioavailability when a fraction of the drug is metabolized into a more potent metabolite during the absorption process (*e.g.*: enrofloxacin transformed into ciprofloxacin).

4) *Computation method for AUC*

- Sparse sampling for the extravascular (EV) route and the arithmetic trapezoidal rule which overestimates the AUC for concave curves.
- For the EV curve, overestimation of the extrapolated part of the AUC, either because the last sample concentration is overestimated or because the slope of the terminal curve is underestimated. Inverse situation for the IV curve.
- Modelling approach with some misfits with parameter estimation.

5) ***Assumption to compute bioavailability not fulfilled or not checkable:***

- Non-linearity of clearance
- lower clearance for EV route due to an enzyme inhibition, and higher clearance for IV administration due to an enzyme induction when the experimental design is unbalanced (*e.g.* all EV route administration during the 2nd period of a crossover leading to a period-effect)
- different groups of animals for IV and EV route of administration
- Inter-occasion variability for clearance with a true bioavailability close to or equal to 100%
- Inter-occasion variability of clearance in growing animals when there is a long washout period.

Calcul de la biodisponibilité relative.

Les équations proposées pour mesurer la biodisponibilité absolue peuvent être utilisées pour mesurer une biodisponibilité relative, avec l'équation 13 :

$$F\% = \frac{AUC_{test}}{AUC_{ref}} \times \frac{Dose_{ref}}{Dose_{test}} \times 100$$

Equation 13

La biodisponibilité relative peut également s'évaluer à l'équilibre (figure 7) ; on sait qu'à l'équilibre, l'AUC de 0 à Tau (Tau étant l'intervalle d'administration) est égale à l'AUC de 0 à l'infini pour une dose unique ; On va donc administrer la première formulation jusqu'à atteindre l'état d'équilibre, mesurer l'AUC de la première formulation à l'équilibre, et immédiatement après, on commence à administrer la seconde formulation jusqu'à l'obtention du nouvel état d'équilibre (ce qui doit être rapide si les temps de demi-vie sont similaires) et on va comparer l'AUC de 0 à Tau pour cette seconde formulation avec celle obtenue avec la première formulation. On peut opérer selon le même protocole avec les quantités éliminées par les urines (principe actif, métabolite) et avec les mêmes hypothèses d'application que pour les administrations simples.

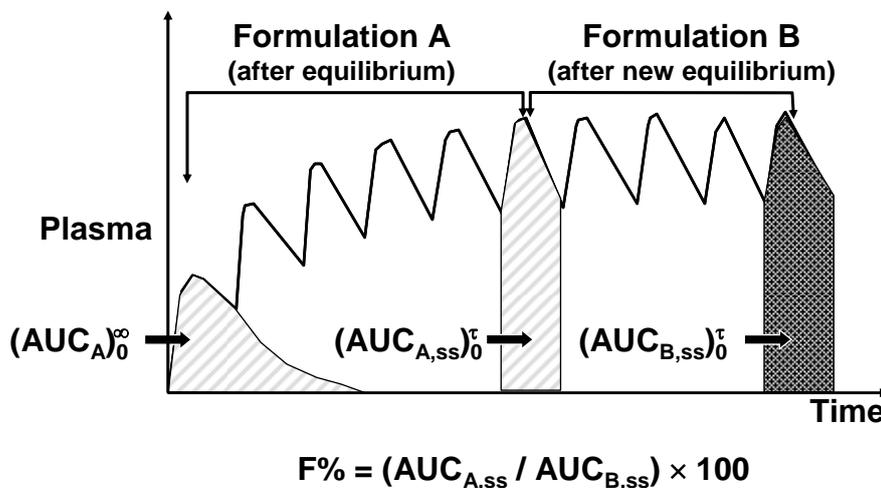


Figure 7 : Calcul de la biodisponibilité à l'état d'équilibre. La biodisponibilité relative peut être mesurée à l'état d'équilibre et sans période de rinçage entre deux administrations (comme dans un crossover). Dans ce type d'essai, la formulation A est administrée jusqu'à l'obtention d'un état d'équilibre. Dans ces conditions $(AUC_{A,ss})_0^f$ est égal à $(AUC_A)_0^\infty$ après l'administration d'une dose unique. La seconde formulation est administrée immédiatement après jusqu'à l'obtention d'un nouvel état d'équilibre, et $(AUC_{B,ss})_0^f$ qui est égal à $(AUC_B)_0^\infty$ est mesuré. Le ratio AUC_A/AUC_B à l'état d'équilibre donne la biodisponibilité relative. Pour cette approche, il est nécessaire que tout le médicament utilisé soit absorbé dans l'intervalle de dosage τ .

Aspects pratiques pour bien évaluer une biodisponibilité

La mesure correcte de la biodisponibilité exige que les AUC soient mesurées correctement (figure 8) ; de même la partie de l'AUC qui est estimée par extrapolation au-delà de la dernière concentration observée ne doit pas dépasser 20% de l'AUC totale pour éviter des erreurs liées à l'estimation de la pente de la phase terminale ; cela exige d'avoir des techniques analytiques performantes pour mesurer toutes les concentrations ayant une signification thérapeutique ce qui permet d'utiliser des AUC non extrapolées à l'infini.

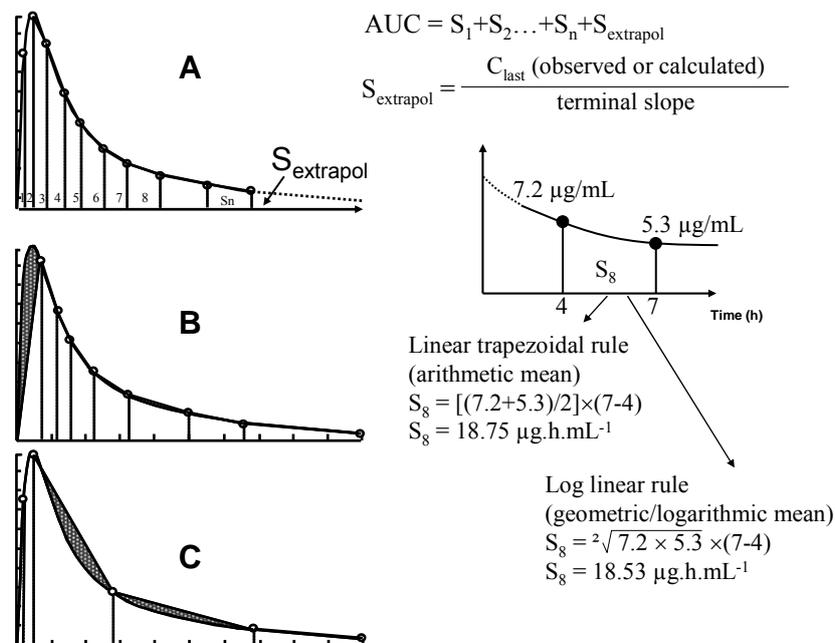


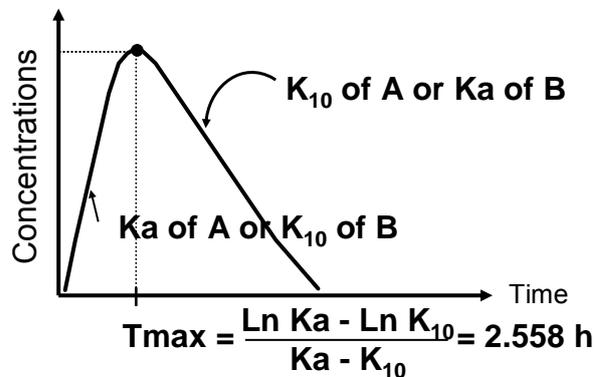
Figure 8 : Evaluation de l'aire sous la courbe (AUC) par la règle des trapèzes. La règle arithmétique des trapèzes consiste à évaluer l'AUC de toute la courbe en calculant la somme des trapèzes individuels (S1, S2...), avec la moyenne arithmétique des concentrations plasmatiques pour évaluer les trapèzes. Si les échantillons ne sont pas assez nombreux (courbe C), la règle arithmétique des trapèzes va surestimer la véritable aire (ombre grisée de la courbe). Dans ces conditions, il est préférable d'utiliser la règle des trapèzes log-linéaire. A l'inverse, si les échantillons obtenus pendant la phase initiale ne sont pas assez nombreux, (courbe B), l'AUC peut être sous-estimée (zone ombrée de la courbe).

Évaluation de la vitesse d'absorption

L'évaluation de la vitesse d'absorption peut se faire selon différentes approches plus ou moins correctes et/ou précises. En clinique on apprécie souvent de façon indirecte la vitesse d'absorption en prenant en compte la plus ou moins grande précocité d'apparition du temps d'occurrence des concentrations plasmatiques maximales (Tmax). Cette approche peut être incorrecte dans la mesure où Tmax est un paramètre hybride, tout autant dépendant de la constante d'absorption (que l'on cherche à estimer) que la constante d'élimination ; pour un modèle monocompartimental, Tmax est donné par l'équation 14 :

$$T_{\max} = \frac{\ln K_a - \ln K_{10}}{K_a - K_{10}} \quad \text{Équation 14}$$

L'inspection de l'équation 14 montre que K_a et K_{10} jouent un rôle symétrique ; et le même Tmax peut être obtenu avec des K_a et K_{10} très différents ; la figure 9 donne un exemple de ce cas de figure.



Drug A : $K_a = 1.0$ $K_{10} = 0.1$ $t_{1/2 \text{ abs}} = 0.693 \text{ h}$

Drug B : $K_a = 0.1$ $K_{10} = 1.0$ $t_{1/2 \text{ abs}} = 6.93 \text{ h}$

Figure 9: T_{max} et présence d'un flip-flop pour une substance obéissant à un modèle mono-compartmental. Cette figure montre qu'exactement le même T_{max} peut être obtenu avec 2 substances différentes (A et B) ayant des constantes d'absorption très différentes (K_a). Cela est dû au fait que T_{max} est un paramètre hybride reflétant tout autant la constante d'absorption que la constante d'élimination (K_{10}).

Un autre point qu'il convient de remarquer est que le T_{max} peut être influencé par la biodisponibilité ; Il convient tout d'abord de rappeler que le K_a qui est évalué lors de la modélisation compartimentale est une constante qui reflète la disparition globale de la substance à partir de son site d'administration et non la constante de transfert entre le compartiment d'administration et le compartiment central (figure 10) ;

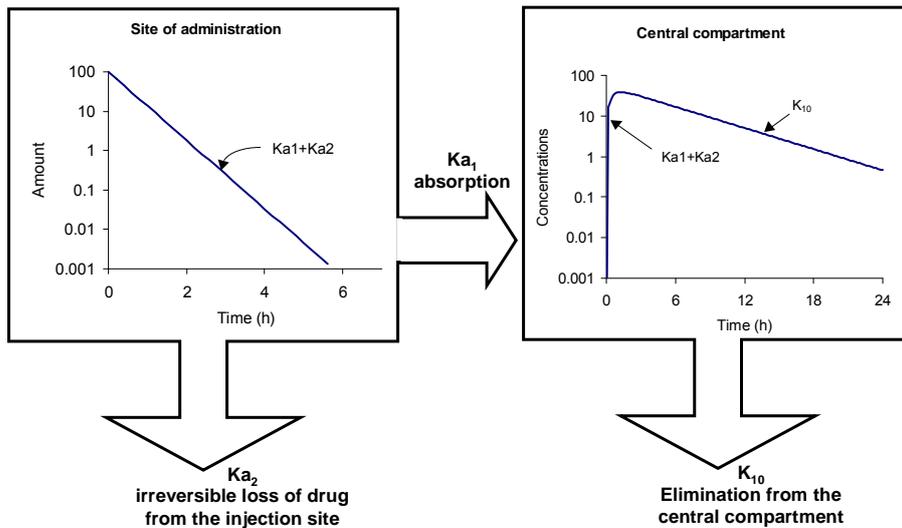


Figure 10: temps de demi-absorption vs. processus d'absorption. Cette figure montre le cas d'une substance obéissant à un modèle mono-compartmental avec une phase d'absorption. Le temps de demi-absorption ($t_{1/2\text{ Ka}}$) qui est rapporté ne reflète pas de façon univoque le processus d'absorption de la substance (ici représentée par Ka_1 , qui est la constante de temps de premier ordre traduisant le transfert de la substance d'un site d'administration au compartiment central) mais la somme de Ka_1 et Ka_2 , Ka_2 étant la constante de temps reflétant l'élimination irréversible de la substance à partir du site d'administration. $T_{1/2\text{ Ka}}$ reflète de façon univoque le processus d'absorption seulement si $Ka_2=0$ c'est-à-dire si la biodisponibilité est totale. Ici $Ka_1+Ka_2 \gg K_{10}$.

En fait Ka est la somme de 2 constantes : Ka_1 qui est la constante traduisant le processus d'absorption lui-même et Ka_2 qui traduit la fraction de substance qui quitte le compartiment d'administration mais sans pour autant gagner le compartiment central. Dans ces conditions la biodisponibilité est donnée par (équation 15) :

$$F\% = \frac{Ka_1}{Ka_1 + Ka_2}$$

Equation 15

L'inspection de l'équation 15 explique pourquoi une réduction de la biodisponibilité (c'est-à-dire une augmentation de Ka_2) conduit à un T_{max} plus précoce dans la mesure où T_{max} est influencé par la somme de Ka_1 et Ka_2 et non par le seul Ka_1 . La figure 11 illustre cette situation.

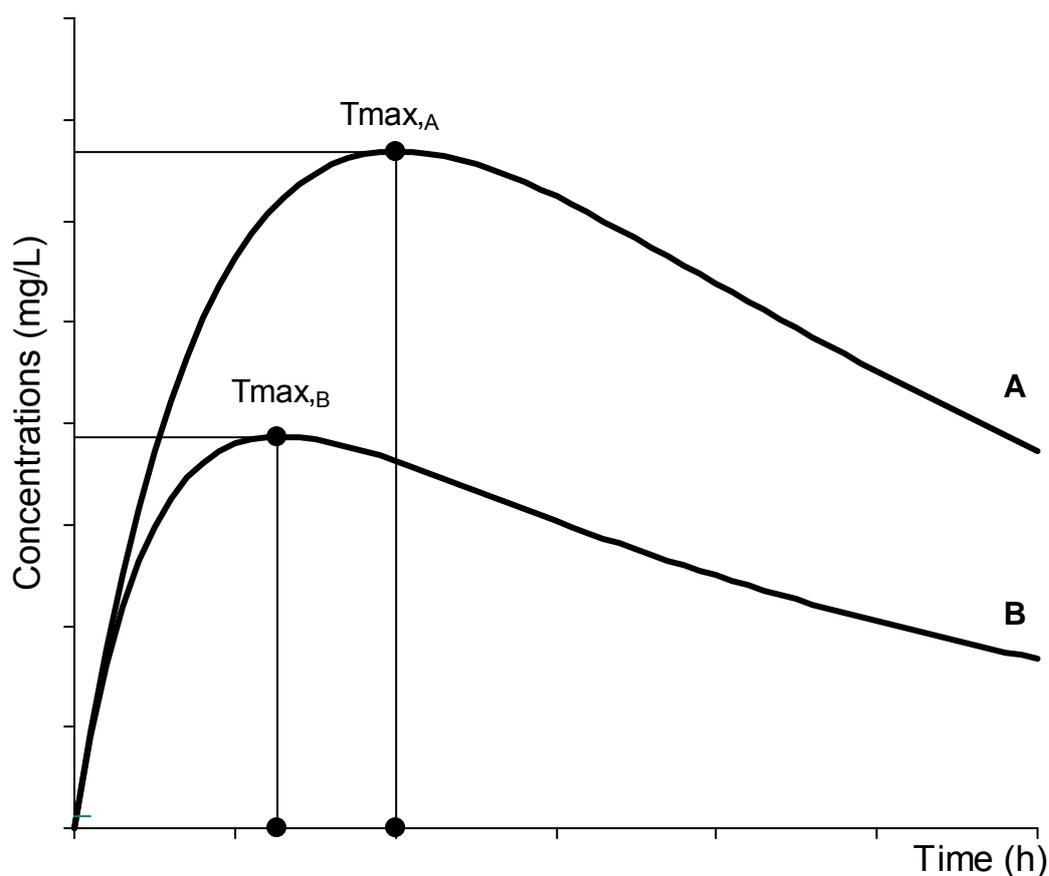


Figure 11: T_{max} et biodisponibilité absolue. Les cinétiques de 2 formulations d'un médicament donné ayant une constante d'élimination (K_{10}) de 0.2 h^{-1} et la même constante d'absorption ($Ka_1 = 1 \text{ h}^{-1}$) mais une biodisponibilité différente ($Ka_2 = 0$ pour la formulation A ou $Ka_2 = 1 \text{ h}^{-1}$ pour la formulation B, soit une biodisponibilité de 100% pour la formulation A et 50% pour la formulation B) ont été simulées. On peut voir que la formulation B atteint le T_{max} plus tôt (1.27h) que la formulation A (2.01h). Cela n'est pas dû à une absorption plus rapide mais à une plus faible biodisponibilité.

Le fait que T_{max} soit un mauvais critère pour évaluer la vitesse d'absorption ne retire rien aux mérites de T_{max} pour indiquer au clinicien le temps auquel les

concentrations plasmatiques vont passer à leur maximum et donc lui permettre d'anticiper le temps auquel les effets risquent d'être à leur maximum si les effets sont directement liés aux concentrations plasmatiques ou au maximum de l'action de la substance si elle agit par un mécanisme indirect d'effet. C'est la raison pour laquelle T_{max} a été retenu historiquement comme un critère de bioéquivalence (ce critère est actuellement non retenu).

L'évaluation directe de K_a

La vitesse de mise à disposition de la substance fera appel à une estimation directe de K_a ou des K_a si il y a plusieurs processus d'absorption. Elle peut se faire selon plusieurs approches dont (i) l'ajustement direct des courbes de concentrations plasmatiques ; (ii) par le calcul des moments statistiques c'est-à-dire avec le concept de temps moyen de résidence et (iii) par les méthodes de déconvolution.

L'évaluation directe de K_a par ajustement des données avec des équations polyexponentielles correspondant à des modèles compartimentaux.

La plupart du temps, le temps de demi-absorption (c'est-à-dire $0.693/K_a$) est rapporté dans la littérature comme valeur pour traduire la vitesse d'absorption de la substance. En fait cette estimation de K_a est souvent problématique pour des raisons d'**estimabilité**. On doit réaliser que la phase d'absorption n'est généralement caractérisée que par quelques points en début de cinétique et que l'estimabilité de K_a par la méthode des résiduelles ou même par régression non-linéaire n'est guère robuste. De façon plus gênante, K_a devient difficilement **identifiable** (ce qui n'est pas synonyme d'estimable) dans un modèle bicompartimental si K_a n'est pas très supérieur à la constante décrivant la phase de distribution suivant le phénomène d'absorption c'est-à-dire supérieur à la constante alpha qui traduit la pente de la phase de distribution. On entend par supérieur une valeur de K_a au moins 5 fois supérieure à celle de la constante de distribution (noté alpha) ce qui compte tenu de la relative grande vitesse des phénomènes de distribution (alpha relativement élevé) ne permet pas d'estimer K_a facilement car le laps de temps pour le faire est très

court. Lorsque la valeur de K_a se rapproche de celle d' α , K_a devient difficilement identifiable (c'est-à-dire estimé à une valeur unique) et dans bien des cas, un modèle bicompartimental après une administration par voie IV devient monocompartimental par une voie extravasculaire car K_a ne peut plus être isolé de α ; Une solution à cette difficulté consiste à ajuster simultanément les données IV et EV.

Une difficulté supplémentaire surgit lorsque l'on ne dispose pas de la voie IV pour donner une interprétation univoque aux différentes phases observées après une cinétique extravasculaire ; c'est ainsi que la même courbe des concentrations plasmatiques peut correspondre à des modèles très différents et non **distinguable**s à partir de la seule voie EV. Ici encore c'est la voie IV qui va permettre de dire si la première phase qui est observée doit bien être considérée comme traduisant le processus d'absorption (figure 12) ; c'est également la voie IV qui permet de reconnaître la présence ou non de 2 phases d'absorption. Pour toutes ces raisons (estimabilité, identifiabilité, distinguabilité), l'ajustement des données à des équations polyexponentielles n'est guère une approche attractive pour qualifier correctement un processus d'absorption.

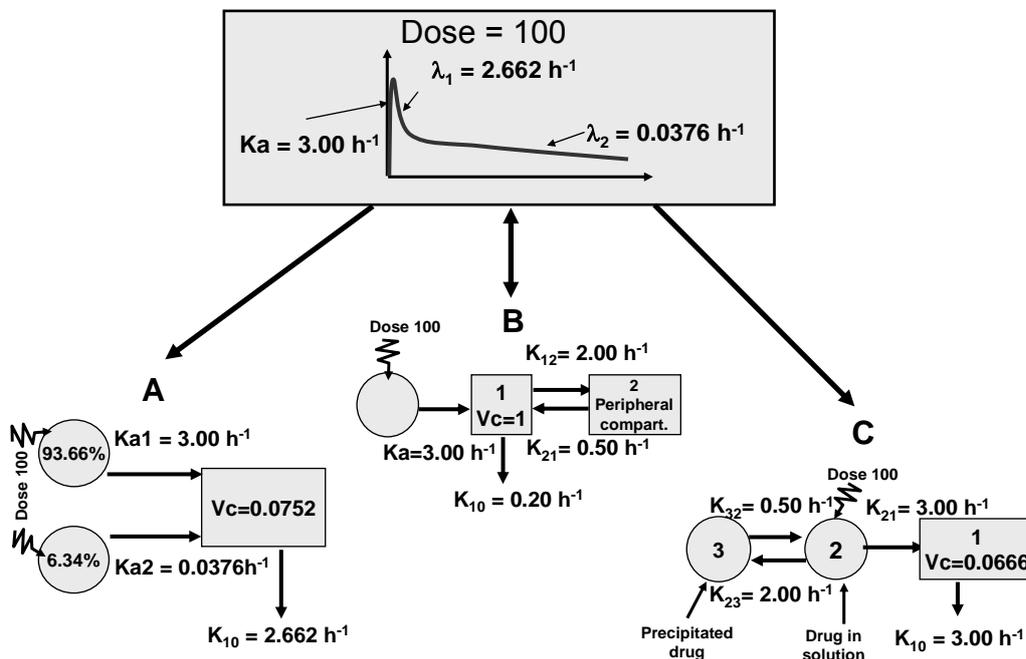


Figure 12 : curve fitting and evaluation of the rate constants of absorption. *Top*: a curve displaying the classical three phases (ascending, rapidly and slowly decreasing) can be fitted with a given set of parameters but actually corresponds to different other models (*bottom*), giving exactly the same quality of fitting but different sets of

parameters, and showing that the three models are indistinguishable but identifiable. **A:** model with 2 parallel rate constants of absorption (K_{a1} , K_{a2}). 6.34% of the dose being absorbed with $K_{a2}=0.0376 \text{ h}^{-1}$ and 93.66% of the dose with $K_{a1}= 3.00\text{h}^{-1}$. Other combinations of these parameters exist for this model. **B:** classical bi-compartmental model with a single rate constant of absorption ($K_a= 3.00 \text{ h}^{-1}$). **C:** mono-compartmental model with a volume of 0.0666 where the administered dose precipitates locally to the site of administration ($K_{23} = 2.00 \text{ h}^{-1}$) and is progressively released ($K_{32}= 0.5 \text{ h}^{-1}$) to gain access to the central compartment with $K_{21}= 3.00 \text{ h}^{-1}$. Then the drug is eliminated with $K_{10} = 3.00 \text{ h}^{-1}$.

It should be noted that clearance is the same for the three models (0.2 L/kg/h).

L'évaluation indirecte de K_a par l'approche des moments statistiques.

Après une administration par voie IV, on peut estimer simplement le temps moyen de résidence (noté MRT ou Mean Residence Time) de la substance dans l'organisme. Le MRT est le temps moyen qu'une molécule de la substance passe dans l'organisme. Le MRT correspond à la vision stochastique des modèles compartimentaux (et non déterministe comme nous l'avons envisagé jusqu'à présent) et il peut être calculé simplement par une méthode de trapèze. Après une administration par voie EV d'une solution de la substance, le MRT qui sera calculé sera plus long que par la voie IV car il s'ajoute au MRT dans le compartiment central le temps moyen d'absorption noté MAT (c'est-à-dire Mean absorption Time). Le MRT après une administration par voie EV de la substance en solution est donc égal à (équation 16) :

$$MRT_{oral} = MRT_{iv} + MAT \quad \text{Equation 16}$$

On peut donc estimer le MAT par la différence des MRT mesurés par voie IV et EV c'est-à-dire (équation 17) :

$$MAT = MRT_{oral} - MRT_{iv} \quad \text{Equation 17}$$

Le MAT est égal à l'inverse de Ka (c'est-à-dire $MAT=1/k_a$). Ici également, l'interprétation physiologique du MAT doit prendre en compte qu'il ne s'agit pas du temps moyen nécessaire pour traverser une barrière (intestinale...), mais du temps moyen pour disparaître du site d'administration (muscle, ...) ou d'absorption. Tout comme Ka, le MAT est influencé par la biodisponibilité. On retrouve également des difficultés d'estimabilité lorsque le MAT est très court avec la possibilité d'estimer des MAT négatifs ! Le MAT ne peut être estimé qu'avec les données IV ce qui offre l'avantage sur un Ka estimé par un simple ajustement de courbe de ne pas être ambigu dans son interprétation lorsqu'il y a un flip-flop ; dans ce cas de figure le MAT sera plus long que le MRT_{iv} .

Le concept de MRT peut être étendu pour explorer, étape par étape, le processus de mise à la disposition de la substance à l'organisme ; c'est ainsi que le temps moyen de dissolution ou le temps moyen de libération d'une formulation à libération contrôlée peut facilement être exploré en prenant avantage du caractère additif des MRT ; c'est ainsi que pour un comprimé, on peut vouloir estimer le temps moyen de dissolution (MDT ou Mean Dissolution Time) *in vivo* pour le comparer à la valeur obtenue *in vitro*. En effet (équation 18)

$$MRT_{oral-comprimé} = MRT_{iv} + MAT + MDT \quad \text{Equation 18}$$

Si on réalise un essai à 3 périodes pour estimer respectivement le MRT_{iv} (après une administration IV de la substance), le MAT (après une administration orale d'une solution de la substance) et le MRT par voie EV après l'administration du comprimé en question, on pourra estimer le MDT avec (équation 19) :

$$MDT = MRT_{oral-comprimé} - (MAT + MRT_{iv}) \quad \text{Equation 19}$$

Ce type d'approche donne des résultats pertinents lorsque le MDT est le facteur limitant (le plus lent) de la cinétique.

La limite de cette approche est l'estimation des moments statistiques qui font intervenir des termes où le temps est élevé au carré.

Evaluation de la vitesse du processus d'absorption par les méthodes de déconvolution.

Les méthodes de déconvolution ont pour objectif de décrire le processus d'entrée du médicament dans l'organisme (l'input function) et son intégrale (qui donne la biodisponibilité). L'idée générale est la suivante : ce que nous observons dans le plasma c'est-à-dire le profil des concentrations plasmatiques résulte de 3 types de processus : des processus d'absorption, de distribution et d'élimination. Chacun de ces processus peut être décrit par des fonctions mathématiques plus ou moins compliquées (généralement des sommes d'exponentielles) dont la convolution se traduit par le signal (les concentrations plasmatiques) qui est observé. Pour bien décrire le processus d'absorption (qui n'est pas inéluctablement un processus monoexponentiel c'est-à-dire un unique processus d'ordre 1), il faut s'affranchir de ce qui est dû aux 2 autres processus (distribution et élimination) et on y parviendra en déconvolant la courbe des concentrations plasmatiques. Pour cela, il faut d'abord identifier le modèle de disposition (distribution et élimination) grâce à une administration IV, ce qui correspond à un signal d'entrée parfaitement identifié (un pulse). Ensuite on pourra remonter au signal d'entrée en décrivant un débit massique instantané c'est-à-dire en reconstruisant une courbe donnant en temps réel la quantité de substance qui entre dans le compartiment central en fonction du temps (input rate function). Ce type de déconvolution numérique (encore appelé filtrage dans d'autres domaines d'application que la pharmacocinétique) exige le recours à des logiciels spécialisés. Nous allons présenter ici une méthode simple de déconvolution appelée la méthode de Wagner-Nelson qui permet d'identifier des signaux d'entrée et qui ne se limite pas à un simple processus de premier ordre comme c'est le cas lorsque l'on ajuste la courbe des concentrations plasmatiques avec un modèle compartimental classique. Cette méthode s'applique typiquement lorsque le modèle de disposition de la substance est un modèle monocompartimental linéaire.

Considérons un modèle monocompartimental décrit par la figure 13. Appelons X_{ab} la quantité de substance qui est déjà absorbée ; cette quantité est celle qui se trouve encore dans le compartiment central (noté X) plus celle qui est déjà éliminée (notée X_e) (équation 20).

$$X_{ab} = X + X_e \quad \text{Equation 20}$$

Nous allons nous intéresser à la variation de X_{ab} avec :

$$\frac{dX_{ab}}{dt} = \frac{dX}{dt} + \frac{dX_e}{dt} \quad \text{Equation 21}$$

Or :

$$\frac{dX_e}{dt} = K_{10} \times X \quad \text{Equation 22}$$

D'où :

$$\frac{dX_{ab}}{dt} = \frac{dX}{dt} + K_{10} \times X \quad \text{Equation 23}$$

Posons $X = V_c \times C$ d'où ::

$$\frac{dX_{ab}}{dt} = V_c \frac{dC}{dt} + K_{10} \times V_c \times C \quad \text{Equation 24}$$

Intégrons l'équation 21 entrez 0 et T

$$(X_{ab})_0^T = \int_0^T V_c \frac{dC}{dt} dt + \int_0^T K_{10} \times V_c \times C dt \quad \text{Equation 25}$$

En sortant les constantes du signe intégral :

$$(X_{ab})_0^T = V_c \int_0^T dC + K_{10} \times V_c \int_0^T C dt \quad \text{Equation 26}$$

Et finalement :

$$(X_{ab})_0^T = V_c \times C_T + K_{10} \times V_c \times (AUC)_0^T \quad \text{Equation 27}$$

Donc la fraction déjà absorbée (FA) est :

$$\frac{(Xab)_T}{(Xab)_\infty} = \frac{Vc \times C_T + K_{10} \times Vc \times (AUC)_0^T}{K_{10} \times Vc \times (AUC)_0^\infty}$$

Equation 28

Et après simplification

$$\frac{(Xab)_T}{(Xab)_\infty} = \frac{C_T + K_{10} \times (AUC)_0^T}{K_{10} \times (AUC)_0^\infty}$$

Equation 29

Et la fraction qui reste à absorber (FRA) :

$$FRA = 1 - \frac{(Xab)_T}{(Xab)_\infty}$$

Equation 30

Ce rapport est facile à calculer pas à pas puisqu'il suffit de connaître C_T et les AUC cumulées à un temps donné

Nous avons ainsi construit l'évolution temporelle de la FRA, ce qui correspond au signal d'entrée de la molécule dans le système. Il est à noter que ce processus a été décrit sans faire d'hypothèse *a priori* sur la forme du signal d'entrée (seules les concentrations observées et les AUC sont utilisées).

Si l'on fait maintenant l'hypothèse que le processus d'entrée est décrit par une constante de vitesse d'absorption d'ordre 1 (K_a), alors la fraction qui reste à absorber peut également s'exprimer par un rapport faisant intervenir K_a avec (équation 31) :

$$FRA = \frac{Dose \times \text{Exp}(-K_a \times t)}{Dose}$$

Equation 31

Et

$$FRA = \text{Exp}(-K_a \times t)$$

Equation 32

Et finalement :

$$FRA = 1 - \frac{(Xab)_T}{(Xab)_\infty} = \text{Exp}(-Ka \times t)$$

Equation 33

En prenant le Ln de part et d'autre :

$$\text{Ln}\left[1 - \frac{(Xab)_T}{(Xab)_\infty}\right] = -Ka \times t$$

Equation 34

Donc si on représente en fonction du temps t le terme de gauche de l'équation 33, on obtient une droite de pente Ka.

En conclusion, la forme du signal d'entrée (FRA au cours du temps) permet d'identifier un processus d'ordre 1 et d'estimer la valeur de la constante de vitesse d'absorption.

Une forme différente du signal d'entrée permettrait d'identifier des processus plus complexes : plusieurs constantes d'ordre 1, d'ordre zéro etc.

L'exemple suivant va illustrer la méthode de Wagner-Nelson.

Soit un médicament obéissant à un modèle monocompartimental avec un K_{10} estimé à 0.086h^{-1} . K_{10} a été évalué sur les dernières données des concentrations plasmatiques qui sont données dans le tableau 2.

Tableau 2 : concentrations plasmatiques mesurées à différents temps après l'administration par voie EV

Temps (h)	Concentrations plasmatiques
0	0
1	1.88
2	3.05
3	3.74
5	4.21
7	4.08
9	3.70
12	3.02
18	1.66
24	1.12
36	0.40
48	0.14
60	0.05
72	0.02

Le tableau 3 donne tous les calculs intermédiaires réalisés par une feuille Excel

Tableau 3 : calculs intermédiaires pour estimer la Fraction qui reste à absorber (FRA%)

Temps (h)	Concentration (µg/mL)	AUC partielles	$\int_0^T Cdt$	$K_{10} \times \int_0^T Cdt$	$C_T + K_{10} \times \int_0^T Cdt$	FA $\frac{(Xa)_T}{(Xa)_\infty}$	FRA% $100 \times (1 - \frac{(Xa)_T}{(Xa)_\infty})$
0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	100.00
1.00	1.88	0.94	0.94	0.08	1.96	0.29	70.55
2.00	3.05	2.47	3.41	0.29	3.34	0.50	49.80
3.00	3.74	3.40	6.80	0.58	4.32	0.65	35.06
5.00	4.21	7.95	14.75	1.27	5.48	0.82	17.73
7.00	4.08	8.29	23.04	1.98	6.06	0.91	8.98
9.00	3.70	7.78	30.82	2.65	6.35	0.95	4.64
12.00	3.02	10.08	40.90	3.52	6.54	0.98	1.83
18.00	1.66	14.04	54.94	4.72	6.38	0.96	4.12
24.00	1.12	8.34	63.28	5.44	6.56	0.99	1.46
36.00	0.40	9.12	72.40	6.23	6.63	1.00	0.49
48.00	0.14	3.24	75.64	6.51	6.65	1.00	0.21
60.00	0.05	1.14	76.78	6.60	6.65	1.00	0.09
72.00	0.02	0.42	77.20	6.64	6.66	1.00	0.00
infini	0.00	0.23	77.43	6.66	6.66		

FA : fraction déjà absorbée (de 0 à 1) ; FRA% : fraction restant à absorber (de 0 à 100%)

En représentant graphiquement sur une échelle semi-logarithmique les fractions qui restent à absorber (FRA%) en fonction du temps (t) on obtient une droite ayant une pente de $0.347h^{-1}$. Il est à noter que le K_a estimé par un ajustement direct des données est très similaire ($K_a=0.341h^{-1}$)

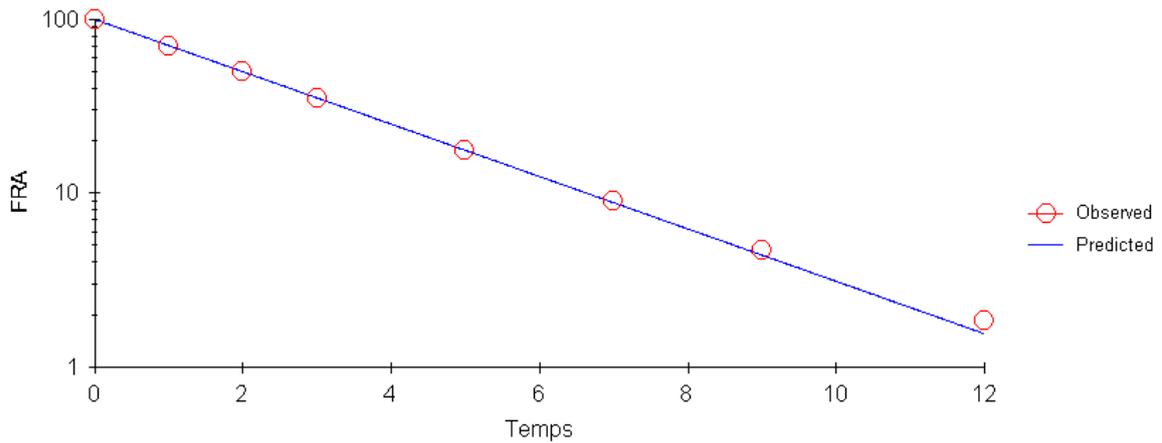


Figure 13 Fraction restant à absorber vs. Temps (h); la pente est égale à $K_a=0.347h^{-1}$

Dans cet exemple on a identifié une seule pente mais avec ce type d'analyse, on peut retrouver plusieurs pentes correspondant à différents processus d'absorption ou encore identifier un processus d'ordre zéro etc.

Conclusion

L'estimation d'une biodisponibilité est généralement considérée comme étant simple ; en fait il existe de multiples approches pour déterminer la biodisponibilité et il convient de garder en mémoire leurs conditions d'application

Références

- Bailey, D.G., Dresser, G.K., Kreeft, J.H., Munoz, C., Freeman, D.J. and Bend, J.R. (2000) Grapefruit-felodipine interaction: effect of unprocessed fruit and probable active ingredients. *Clin Pharmacol Ther* **68**, 468-477.
- Cutler, D. (1981) Assessment of rate and extent of drug absorption. *Pharmacol Ther* **14**, 123-160.

- Doki, K., Hayakawa, T., Lin, W., Yanaguimoto, H., Ding, G. and Inotsume, N. (2003) Effects of absorption rate on the pre-systemic chiral inversion of ibuprofen in rabbits. *J Pharm Pharmacol* **55**, 1091-1097.
- Gibaldi, M. and Perrier, D. (1982) *Pharmacokinetics*, 2nd edn., Marcel Dekker, New York.
- Hellriegel, E.T., Bjornsson, T.D. and Hauck, W.W. (1996) Interpatient variability in bioavailability is related to the extent of absorption: implications for bioavailability and bioequivalence studies. *Clin Pharmacol Ther* **60**, 601-607.
- Hinderling, P.H. (2003) Evaluation of a novel method to estimate absolute bioavailability of drugs from oral data. *Biopharm Drug Dispos* **24**, 1-16.
- Hinderling, P.H. and Shi, J. (1995) Absolute bioavailability estimated from oral data. *J Pharm Sci* **84**, 385-386.
- Karlsson, M.O. and Bredberg, U. (1990) Bioavailability estimation by semisimultaneous drug administration: a Monte Carlo simulation study. *J Pharmacokinet Biopharm* **18**, 103-120.
- Lallemand, E., Lespine, A., Alvinerie, M., Bousquet-Melou, A. and Toutain, P.L. (2007) Estimation of absolute oral bioavailability of moxidectin in dogs using a semi-simultaneous method: influence of lipid co-administration. *J Vet Pharmacol Ther* **30**, 375-380.
- Rowland, M. and Tozer, T.N. (1995) *Clinical pharmacokinetics. Concepts and applications*, 3rd edn., Williams and Wilkins, London.
- Toutain, P.L. and Bousquet-Melou, A. (2004) Bioavailability and its assessment. *J Vet Pharmacol Ther* **27**, 455-466.
- Toutain, P.L., Koritz, G.D., Fayolle, P.M. and Alvinerie, M. (1986) Pharmacokinetics of methylprednisolone, methylprednisolone sodium succinate, and methylprednisolone acetate in dogs. *J Pharm Sci* **75**, 251-255.
- Weiss, M. (1990) Use of metabolite AUC data in bioavailability studies to discriminate between absorption and first-pass extraction. *Clin Pharmacokinet* **18**, 419-422.