



Mise au point d'un dispositif d'étude biopharmaceutique des médicaments

Damien Salmon^{1,2}, Elhadji Diouf¹, Mamadou-Lamine Tall¹, Christine Pivot¹, Fabrice Pirot^{1,2}

¹ Unité de Préparation et Contrôle des Médicaments, Service Pharmaceutique, Groupement Hospitalier Édouard Herriot, Hospices Civils de Lyon

² EA 4169, Aspects fondamentaux, cliniques et thérapeutiques de la fonction barrière épithéliale, Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lyon, Université Claude Bernard Lyon 1

Introduction

L'étude *in vitro* de la perméabilité des épithélia (i.e., pénétration tissulaire et perméation vers le compartiment systémique) présents au site d'administration est une étape importante dans la mise au point d'un médicament. En effet, la caractérisation biopharmaceutique du principe actif permet d'assurer la sécurité d'usage du produit et de prévoir son efficacité. Des cellules de diffusion statiques verticales en verre (e.g., cellule de Franz, figure 1) sont classiquement utilisées dans ce type d'étude, néanmoins, elles présentent plusieurs inconvénients, parmi lesquels (i) leur coût relativement élevé, (ii) leur fragilité, (iii) la difficulté d'automatiser leur utilisation et (iv) notamment l'absence de données cinétiques de pénétration.

Dans ce travail, nous proposons une cellule de diffusion innovante en polypropylène (VidroPharma, figure 2) dédiée à l'étude cinétique (i) de la perméation et (ii) de la pénétration épithéliale dans le cadre du développement de médicaments.

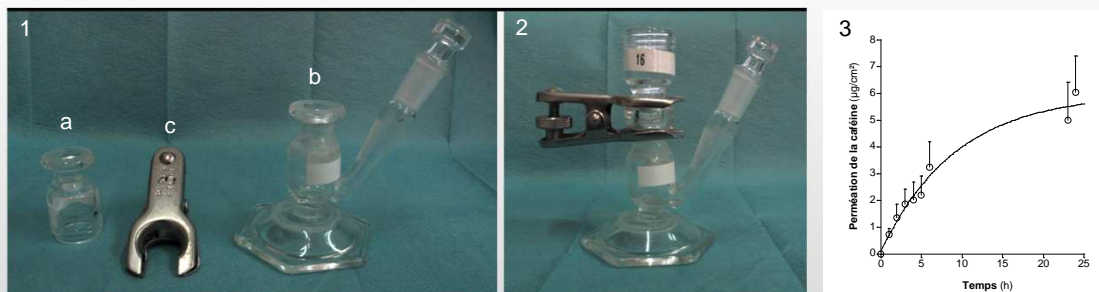


Figure 1: Cellule de diffusion statique verticale dite « de Franz » (1) montée et (2) démontée, composée (a) d'un compartiment donneur, (b) d'un compartiment récepteur et (c) d'un moyen de solidarisation et (3) courbe de perméation obtenue sur cellule de Franz, montrant l'apparition de la caféine dans la solution réceptrice au cours du temps. Chaque point est une moyenne \pm écart-type de 4 déterminations expérimentales.

Matériel & Méthode

Une étude de perméabilité comparative de la caféine à travers des explant de peau porcine a été menée (i) sur VitroPharma et (ii) sur cellule de Franz utilisée comme dispositif de référence. Le compartiment donneur contenait une dose finie (i.e., cellule de Franz : $7,28 \pm 0,33$ mg; caféine: 467 ± 21 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$; VitroPharma: $7,55 \pm 1,24$ mg; caféine: 532 ± 87 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$) de formulation commerciale de caféine (Percutaféine® 5%). Le compartiment récepteur contenait une solution saline physiologique (i.e., NaCl 0.9%) additionné d'un colorant hydrophile (Bleu patenté V, 0.0001%) permettant d'évaluer son évaporation au cours de l'essai grâce à une mesure spectrophotométrique de l'absorbance (640 nm) de la solution. L'analyse du contenu en caféine (i) de la solution réceptrice a été réalisée par chromatographie liquide haute performance (CLHP) à différents intervalles de temps (i.e., 1h, 2h, 3h, 4h, 5h, 6h, 23h, et 24h). Parallèlement, l'analyse du contenu en caféine des explants de peau porcine, classiquement réalisé au dernier temps expérimental (i.e., 24h) sur cellule de Franz, a pu être réalisée à chaque temps expérimental sur VitroPharma du fait du mode opératoire de cette nouvelle cellule de diffusion (Figure 2). Un modèle mathématique de perméation ajusté sur les données expérimentales a été utilisé pour obtenir les caractéristiques biopharmaceutiques de la caféine sur chacune des cellules.

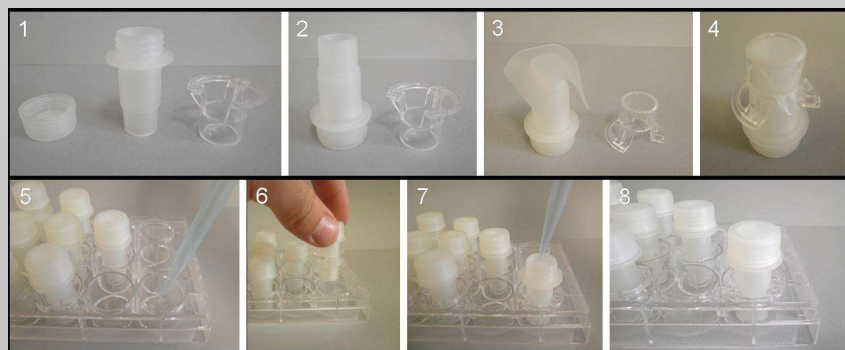
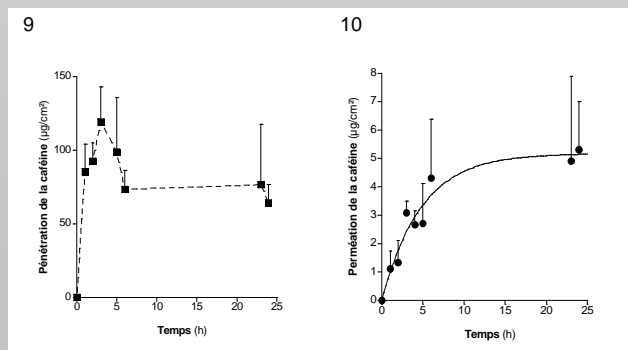


Figure 2: Protocole d'utilisation photographique de la cellule de diffusion VitroPharma montrant (1-2) le compartiment donneur et l'anneau de solidarisation désassemblés, (3) le positionnement de l'échantillon de tissu étudié (ici une membrane de silicone), (4) l'assemblage facilité du tissu sur le compartiment donneur, (5) le remplissage du compartiment récepteur, (6) le positionnement du compartiment donneur (7) le dépôt de la formulation donneuse, (8) l'aspect du dispositif en cours d'essai et courbes de pénétration (9) et de perméation (10) de la caféine au cours du temps obtenues grâce au dispositif VitroPharma. Chaque point est une moyenne \pm écart-type de 4 déterminations expérimentales.



Résultats & Discussion

Les caractéristiques biopharmaceutiques de la caféine obtenues sur chaque type de cellule étaient comparables (Tableau 1), validant la cellule de diffusion VitroPharma en accord avec les recommandations de l'OECD. La cellule de diffusion VitroPharma répond à divers problématiques fréquemment rencontrées avec les cellules de Franz, notamment (i) la formation de bulles sous la surface de perméation, (ii) l'hydratation excessive de l'épithélium au cours de l'essai, (iii) la manipulation fastidieuse et (iv) le coût élevé des cellules de Franz. De plus, l'utilisation d'une plaque multi-puits aux dimensions parfaitement normées comme support des compartiments récepteurs du dispositif VitroPharma ainsi que la possibilité de produire en série par plasturgie l'ensemble des pièces du dispositif permettent d'envisager (i) une automatisation aisée du protocole expérimental, ainsi que (ii) une utilisation en usage unique du dispositif réduisant les problématiques d'usure, de contamination et de nettoyage rencontrées avec les cellules de Franz. En pharmacie à usage intérieure, l'obtention facilitée de données de pénétration tissulaire *in vitro* au cours du temps avec VitroPharma permet notamment de sécuriser l'usage des médicaments expérimentaux tout en apportant une meilleure compréhension de leurs propriétés en amont des essais cliniques.

Conclusion

L'utilisation de VitroPharma afin de caractériser l'absorption des médicaments permet d'améliorer la qualité, et la sécurité des produits tout en réduisant les coûts de développement.

Contact : damien.salmon01@chu-lyon.fr

Références

- Dispositif d'étude de la perméabilité de membranes biologiques, artificielles ou synthétiques. D. Salmon, F. Pirot, L. Rodriguez, K. Padois, C. Moch, F. Falson, C. Pivot. N° demande 1159096 (10 octobre 2011), PCT/FR2012/052149 (25 septembre 2012).
- New easy handling and sampling device for bioavailability screening of topical formulations. D. Salmon, E. Gilbert, B.Gioia, M. Haftek, C. Pivot, B.Verrier, F. Pirot. *Eur J Dermatol*, corrected proofs

	$10^2 \cdot KL$ (cm)	$10^5 \cdot D/L^2$ (s ⁻¹)	$10^7 \cdot Kp$ (cm.s ⁻¹)	Q_{max} ($\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$)	AUC ($\mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{cm}^{-2}$)
Cellule de Franz	2.24 ± 0.89	2.80 ± 0.97	6.26 ± 0.32	6.04 ± 2.70	85.01 ± 44.44
VidroPharma	2.00 ± 0.46^{NS}	2.87 ± 0.97^{NS}	5.74 ± 0.62^{NS}	5.32 ± 3.34^{NS}	96.17 ± 41.62^{NS}

NS: Pas de différence significative comparé à la cellule de Franz (test non-paramétrique de Wilcoxon-Mann-Whitney pour données non-appariées).

Tableau 1: Caractéristiques biopharmaceutiques (K : coefficient de partage, D : coefficient de diffusion, Kp : Coefficient de perméabilité, Q_{max} : dose absorbée et AUC: aire sous la courbe) de la caféine par voie topique (peau porcine) obtenues (i) sur cellule de Franz utilisée comme dispositif de référence et (ii) sur VitroPharma.