

INTRODUCTION

L'épilepsie est une des maladies neurologiques chroniques les plus fréquentes à travers le monde. L'épilepsie constitue un problème de santé publique dans les pays en voie de développement où sa prévalence est 5 à 10 fois plus élevée que dans les pays développés (39). Au Sénégal, le taux moyen est estimé à 8,3 pour 1000 (6).

Le traitement médical de l'épilepsie au Sénégal est restreint aux quatre antiépileptiques dits classiques (phénobarbital, phénytoïne, carbamazépine, acide valproïque) alors qu'actuellement beaucoup de nouveaux produits sont mis sur le marché.

La persistance des crises chez certains patients malgré un traitement bien conduit, pose un problème aux praticiens.

La réalisation d'un dosage plasmatique des médicaments antiépileptiques est nécessaire dans les circonstances suivantes : (76)

- la recherche d'une mauvaise observance, en cas d'inefficacité primaire ou secondaire du traitement, un dosage plasmatique est indispensable afin de savoir si le médicament est réellement pris ;
- en cas d'effets secondaires dose-dépendants réels ou suspectés afin de documenter un surdosage éventuel ;
- lorsque les médicaments utilisés ont une cinétique complexe ;
- dans les insuffisances rénales ou hépatiques, qui peuvent retentir sur le métabolisme des médicaments antiépileptiques ;
- lors des polythérapies comportant des inducteurs ou des inhibiteurs enzymatiques, la répétition des dosages peut se concevoir, afin de maîtriser les interactions médicamenteuses.

Des dosages sur les préparations pharmaceutiques sont aussi réalisés dans le cadre du contrôle de qualité des médicaments antiépileptiques.

Dans ce travail, nous nous sommes proposés de rappeler dans une première partie : la pharmacologie et les effets indésirables des médicaments antiépileptiques. La seconde partie est consacrée à l'étude des méthodes analytiques de dosage des antiépileptiques dans les liquides biologiques et dans les préparations pharmaceutiques.

PREMIERE PARTIE

GENERALITES SUR LES ANTIEPILEPTIQUES

I. - EPILEPSIES

I.1 - DEFINITION

L'épilepsie se définit comme une affection neurologique chronique caractérisée par la répétition, chez un même sujet, de crises épileptiques spontanées.

Les crises d'épilepsie sont des manifestations cliniques paroxystiques motrices, sensitives, sensorielles ou psychiques, accompagnées ou non d'une perte de connaissance, liées à une décharge anormale, excessive et hypersynchrone d'une population plus ou moins étendue de neurones du cortex cérébral.

Une crise épileptique unique ou la répétition dans le cadre d'une affection cérébrale aiguë, de crises épileptiques, ne constituent donc pas une maladie épileptique. Il s'agit simplement de crises « accidentelles », accompagnant un dysfonctionnement transitoire et réversible du système nerveux central.

L'épilepsie peut être idiopathique, cryptogénique ou symptomatique.

I.2. - CLASSIFICATION INTERNATIONALE DES CRISES EPILEPTIQUES (14)

Tableau I : Classification internationale du type des crises (14)**CRISES PARTIELLES****A. *Crises partielles simples***

1. Avec symptômes moteurs ;
2. Avec symptômes sensitifs ou hallucinations sensorielles ;
3. Avec signes ou symptômes végétatifs.

B. *Crises partielles complexes (avec altération de la conscience)*

1. Début partiel simple suivi par une altération de la conscience
2. Début par une altération de la conscience.

C. *Crises partielles secondairement généralisées*

1. Début partiel simple évoluant vers une généralisation secondaire
2. Début partiel complexe évoluant vers une généralisation secondaire
3. Début partiel simple évoluant vers une crise partielle complexe puis généralisation secondaire.

CRISES GENERALISEES**A. *Absences***

1. Absences typiques
2. Absences atypiques

B. *Crises myocloniques***C. *Crises cloniques*****D. *Crises toniques*****E. *Crises tonicocloniques*****F. *Crises atoniques*****CRISES INCLASSABLES**

II - LES ANTIEPILEPTIQUES

II.1. - HISTORIQUE

L'histoire du traitement médicamenteux systématique de l'épilepsie remonte à 1857, date à laquelle Sir CHARLES LOCOCK signala une réduction du nombre des crises chez les épileptiques recevant du bromure de potassium, substance utilisée jusque-là en raison son effet sédatif (32).

En 1912, on utilisa pour la première fois le phénobarbital dans l'épilepsie et dans les 25 années qui suivirent, 35 analogues du phénobarbital furent étudiés comme anticonvulsivants (62).

En 1938, débute la thérapeutique « rationnelle » de l'épilepsie avec MERRIT et PUTNAM qui mirent au point une méthode pratique pour juger de la valeur des médicaments antiépileptiques potentiels par leur capacité d'empêcher la survenue, chez le rat, de crises épileptiques provoquées par le passage d'un courant électrique. Ils isolèrent ainsi la phénytoïne. C'est à partir de cette recherche que naquit l'intérêt de développer des relations étroites entre l'industrie pharmaceutique et les médecins (83).

Néanmoins, peu de produits furent développés ultérieurement : primidone (1954), ethosuximide (1960), carbamazépine introduit par BLOM (1960), valproate de sodium découvert dans le laboratoire de pharmacodynamie de la Faculté de pharmacie de Grenoble par le professeur CARRAZ en 1967 (84).

Entre 1967 et 1990, à l'exception du progabide (1985), médicament ayant donné beaucoup d'espoirs, car étant actif dans certaines épilepsies partielles pharmacoresistantes, aucune nouvelle molécule ne fut commercialisée. D'ailleurs le progabide fut supprimé de la pharmacopée en 1998 en raison de ses indications de plus en plus rares, relatives en grande partie à ses effets secondaires hépatiques nombreux et nécessitant une pharmacovigilance trop contraignante (84).

Après cette période creuse, les années quatre vingt dix virent apparaître un nombre important de nouveaux médicaments antiépileptiques : vigabatrin (1990), felbamate (1995), gabapentine (1996), lamotrigine (1996), tiagabine (1997), topiramate (1998) (62).

II.2. - CLASSIFICATION, PRESENTATION ET STRUCTURES CHIMIQUES DES ANTIEPILEPTIQUES

II.2.1. - Classification des antiépileptiques (76)

II.2.1.1. - Antiépileptiques classiques ou majeurs

- Phénobarbital
- Phénytoïne
- Carbamazépine
- Valproate

II.2.1.2. - Nouvelles molécules antiépileptiques

- Vigabatrin
- Felbamate
- Gabapentine
- Lamotrigine
- Tiagabine
- Topiramate

II.2.1.3. - Antiépileptiques d'appoint

- Benzodiazépines
 - *Diazépam
 - *Nitrazépam
 - *Clonazepam
 - *Clobazam
- Ethosuximide
- Primidone.

II.2.2. - Présentation des antiépileptiques (76) (tableau II)

Tableau II : Présentation des médicaments antiépileptiques (76)

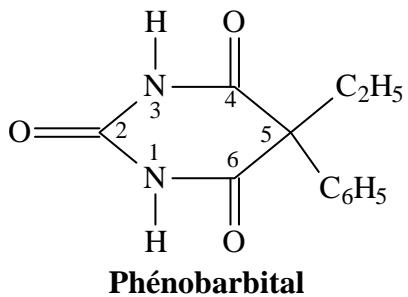
DCI	Nom commercial	Forme galénique	Dosage unitaire
Phénobarbital	Alepsal®	Comprimés	15, 50, 100, 150 mg
	Aparoxal®	Suppositoires	15, 50, 100 mg
	Gardénal®	Comprimés	100 mg
Phénytoïne	Comprimés	10, 50, 100 mg	
	Ampoules injectables	40, 200 mg	
	Solution buvable	1 mg/goutte	
Primidone	Di-hydan®	Comprimés	100 mg
	Dilantin®	Ampoules injectables	250 mg
Ethosuximide	Mysoline®	Comprimés	250 mg
Carbamazépine	Zarontin®	Capsules	250 mg
	Tégrétol®	Sirop	250 mg/mesure
	Tégrétol LP® (1990)	Comprimés	200 mg
Valproate	Solution buvable	100 mg/5 ml	
	Sirop	200 mg, 400 mg	
	Comprimés gastrorésistants	200, 500 mg	
	Comprimés à effet prolongé	500 mg	
	Solution buvable	200 mg/ml	
	Comprimés entériques	200, 500 mg/ml	
	Ampoules injectables*	400 mg	
Vigabatrin	Sabrin®	Comprimés	500 mg
Felbamate**	Poudre à dissoudre	500 mg	
	Taloxa®	Comprimés	400, 600 mg
Gabapentine	Solution buvable	600 mg/5 ml	
	Neurontin®	Comprimés	100, 300, 400 mg
Lamotrigine	Lamictal®	Comprimés dispersibles	5, 25, 100 mg
Tiagabine	Comprimés***	25, 50 mg	
	Gabitril®	Comprimés	5, 10, 15 mg
Topiramate	Epitomax®	Comprimés	50, 100, 200 mg
Diazépam	Ampoules injectables	10 mg	
	Valium®	2, 5, 10 mg	
	Solution buvable	10 mg/30 gouttes	
	Sirop	2 mg/5ml	
Nitrazépam	Mogadan®	Comprimés	5 mg
Clonazépam	Comprimés	2 mg	
	Ampoules injectables	1 mg	
	Solution buvable	1 mg/10 gouttes	
Clobazam	Urbanyl®	Gélules	5 mg
		Comprimés	10, 20 mg

* : lorsqu'une prise n'est pas possible.

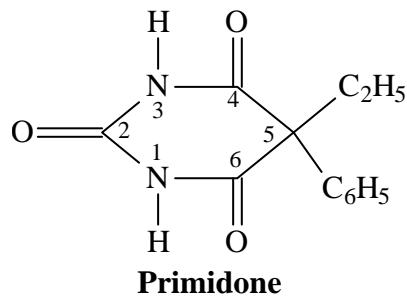
** : prescription soumise à des conditions particulières. *** : instauration du traitement.

II.2.3. - Structures chimiques des antiépileptiques (32) (tableau III)

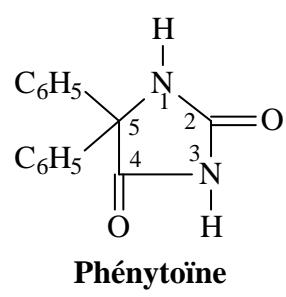
Tableau III : Structures chimiques des antiépileptiques



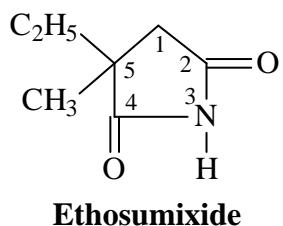
Phénobarbital



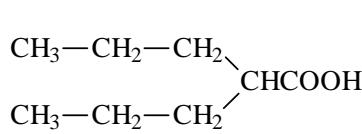
Primidone



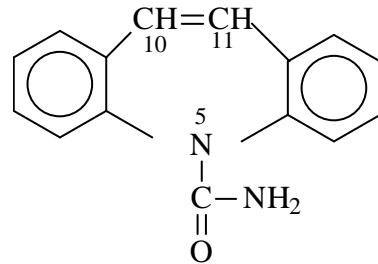
Phénytoïne



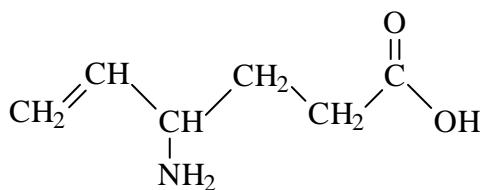
Ethosumixide



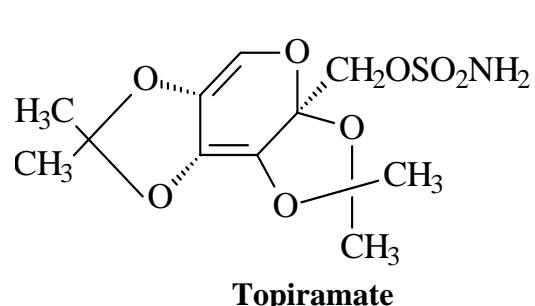
Acide valproïque



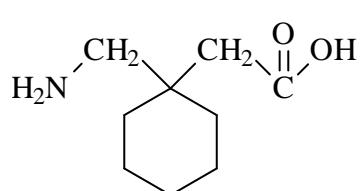
Carbamazépine



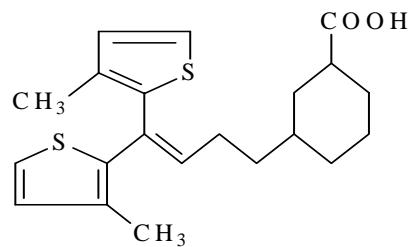
Vigabatrin



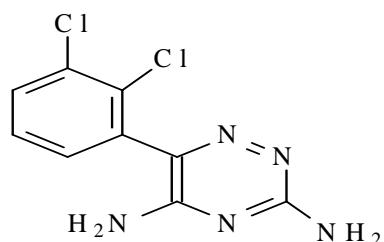
Topiramate



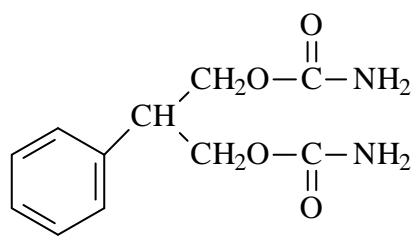
Gabapentine



Tiagabine



Lamotrigine



Felbamate

On a pu identifier certaines caractéristiques structurelles communes aux médicaments antiépileptiques.

La plupart des molécules ont deux régions hydrophobes dont l'orientation et la distance sont identiques.

Les barbituriques (phénobarbital), les hydantoines (phénytoïne), les succinimides (éthosuximide) possèdent en commun une structure hétérocyclique comparable.

Les diverses substitutions étant responsables des profils pharmacologiques spécifiques.

Cependant la carbamazépine, le valproate et les benzodiazépines diffèrent structurellement des précédents.

La présence d'un groupement phényle en position 5 dans la structure des barbituriques permet d'obtenir le meilleur effet anticonvulsivant avec un effet hypnotique relativement limité.

Les deux groupes phényle liés au carbone en position 5 dans la structure de la phénytoïne sont nécessaires pour l'effet anticonvulsivant.

En raison de son groupe alkyle, l'éthosuximide est particulièrement efficace dans les crises convulsives généralisées.

La carbamazépine et les benzodiazépines présentent une certaine ressemblance stérique avec la phénytoïne.

Le gabapentine et le vigabatrin sont des analogues du GABA.

Le topiramate est un antiépileptique de structure originale dérivée du D-énantiomère du fructose (**68**).

La lamotrigine est un composé phenyltriazinique appartenant au groupe des triazines (**69**).

La tiagabine est un dérivé de l'acide nipécodique.

Le felbamate est un dérivé dicarbamate structurellement analogue au méprobamate.

II.3. - PHARMACOLOGIE DES ANTIEPILEPTIQUES

II.3.1. - Principaux modes d'action (8, 72) (figure 1)

Les mécanismes d'action des médicaments antiépileptiques (MAE) sont probablement nombreux. Cependant les MAE actuels se comportent comme des anticonvulsivants en limitant la genèse ou la propagation d'une crise.

Nous ne disposons pas de produit antiépileptique au sens propre qui pourrait limiter les processus physiopathologiques neuronaux responsables de la récurrence des crises et de la constitution d'un « foyer épileptique ». Les modes d'action des MAE actuels peuvent être regroupés en quatre catégories définies selon les hypothèses moléculaires et cellulaires de l'épilepsie (55) :

- anomalies de la membrane neuronale, et principalement les canaux ioniques (sodium et calcium) ;
- déficiences des mécanismes inhibiteurs et en particulier de l'acide gamma-aminobutyrique ou GABA ;
- excès d'excitabilité impliquant les acides aminés excitateurs ;
- troubles des mécanismes modulateurs des neurotransmetteurs inhibiteurs et excitateurs.

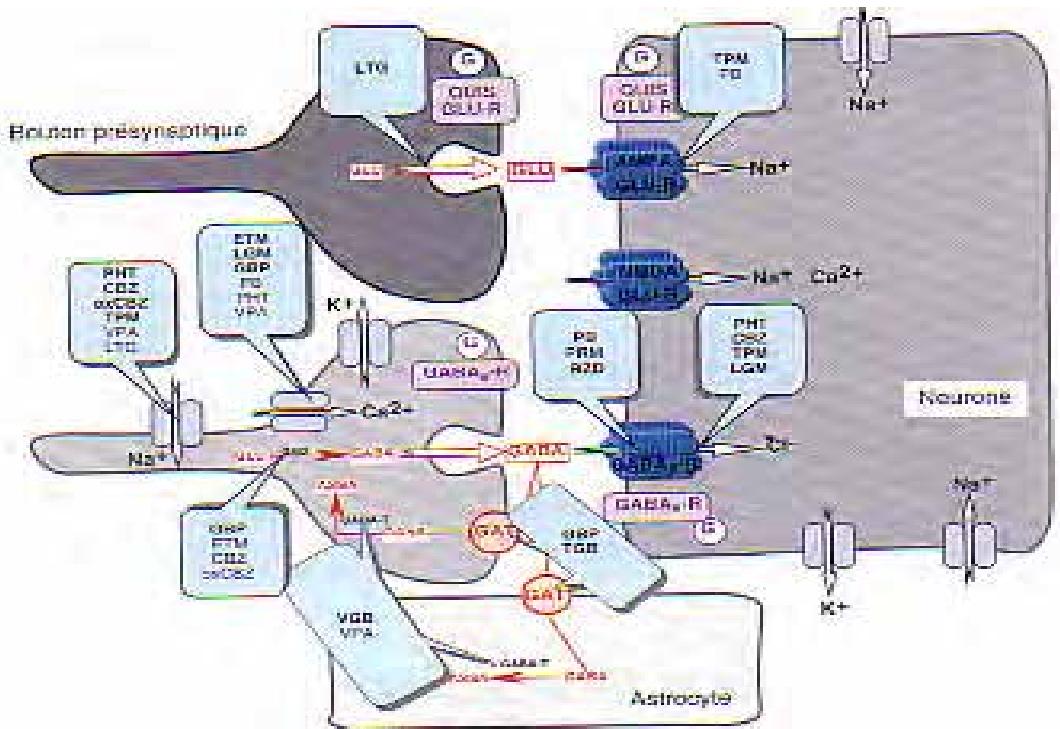


Figure 1 : Voies métaboliques de la neurotransmission excitatrice (synapse glutamatergique du haut en gris foncé) et inhibitrice (synapse GABAergique du bas en gris clair) impliquée dans l'épileptogénèse (77)

Le point d'impact réel ou présumé des principales molécules antiépileptiques est indiqué au niveau des différentes voies métaboliques.

1. Neuromédiateurs et enzymes : ASSA : Acide succinyl semialdéhyde ;
G : protéine G annexée aux récepteurs métabotropiques ;
GABA : Acide gamma aminobutyrique ; GABA-T : GABA transaminase ;
GAD : glutamate décarboxylase, Glu : Glutamate.
2. Récepteurs GABA A-R : récepteur-canal GABA-A ;
GABA B-R : récepteur métabotropique GABA-B,
NMDA GLU-R : récepteur glutamate-NMDA ;
AMPA GLU-R : récepteur glutamate AMPA ;
QUIS GLU-R : récepteur métabotropique du glutamate.
3. Molécules antiépileptiques : BZD : benzodiazépines,
CBZ : carbamazépine ; ETH : éthosuximide ; GPB : Gabapentine,
LGM : losigamone, LTG : lamotrigine ; oxCBZ : oxcarbamazépine ; PRM : primidone,
TGB : tiagabine ; TPM : topiramate ; VGB : vigabatrin ; VPA : valproate.

II.3.1.1. - Modulation des canaux ioniques

II.3.1.1.1. - Action sur les canaux sodiques

Tous les MAE modifient les propriétés membranaires des neurones et des axones, néanmoins cet effet pour être significatif sur le plan clinique nécessite d'être obtenu à des concentrations usuelles (54).

L'hyperexcitabilité de la membrane neuronale se caractérise par des décharges paroxystiques répétitives.

Les MAE agissant sur les canaux sodiques diminuent l'excitabilité en réduisant les courants sodiques entrants impliqués dans la genèse des potentiels d'action (55). Ce blocage des canaux est voltage dépendant. La phénytoïne, la carbamazépine, la lamotrigine, l'oxcarbazépine et le topiramate bloquent les canaux sodiques. Il est probable que le valproate médicament au très large spectre interagisse également sur les canaux sodiques. Le phénobarbital, la primidone et les benzodiazépines ont également une action sur les canaux sodiques, mais à une concentration supérieure à celle utilisée en clinique, suggérant un autre mode d'action principal (54).

II.3.1.1.2. - Action sur les canaux calciques

Plusieurs types de canaux calciques aux propriétés différentes ont été mis en évidence (canaux de type L, N ou T).

La phénytoïne, les barbituriques et les benzodiazépines réduisent l'entrée de calcium dans les terminaisons synaptiques et bloquent la libération présynaptique de neurotransmetteurs à fortes concentrations (54).

L'éthosuximide, à des concentrations sanguines usuelles chez l'homme, bloque sélectivement les canaux calciques voltage-dépendants de type T, dont la densité est élevée au niveau des neurones thalamiques.

II.3.1.2. - Augmentation de la neurotransmission GABAergique (12, 19)

La neurotransmission GABAergique est médiée par l'acide gamma aminobutyrique (GABA), neurotransmetteur inhibiteur essentiel du système nerveux central. Il a des propriétés inhibitrices par hyperpolarisation de la membrane secondaire à une entrée massive d'ions chlorures.

Le GABA se fixe sur deux types de récepteurs :

■ **les récepteurs au GABA type A** : ce sont des récepteurs ionotropes contenant un canal perméable aux ions chlorures et font partie intégrante de la molécule.

Ils sont impliqués dans les mécanismes de base de l'épilepsie et constituent des cibles importantes de plusieurs antiépileptiques.

La fixation du GABA sur son site augmente la perméabilité aux ions chlorures ce qui stabilise le potentiel de repos et explique son effet inhibiteur.

Le GABA agit au niveau postsynaptique sur un récepteur spécifique. Ce récepteur au GABA, de type A, est couplé à différents sites modulateurs et en particulier à un site récepteur aux benzodiazépines et à un site récepteur aux barbituriques et est centré par un canal chlore. Les benzodiazépines, contrairement aux barbituriques, augmentent la fixation du GABA sur son récepteur et l'ouverture du canal chlore. Le GABA est dégradé au niveau présynaptique par une enzyme de dégradation, la GABA-transaminase. Cette enzyme peut être inhibée de façon irréversible et spécifique entraînant alors une augmentation de la concentration de GABA.

■ **les récepteurs au GABA type B** : ils appartiennent à la famille des récepteurs métabotropes au glutamate couplé par une protéine G. Ils induisent une réponse inhibitrice lente postsynaptique en augmentant la conductance des canaux potassiques.

Les benzodiazépines, le phénobarbital et le topiramate augmentent l'action de l'acide gamma aminobutyrique par action agoniste sur le récepteur ionophore-chlore (68).

Le vigabatrin inhibe spécifiquement et de manière irréversible la GABA-transaminase (enzyme responsable de la voie majeure de la dégradation du GABA cérébral) augmentant ainsi la concentration de GABA intrasynaptique (30). L'effet du vigabatrin dure aussi longtemps que la GABA-transaminase n'a pas été resynthétisée.

La tiagabine augmente également la concentration intrasynaptique de GABA en inhibant sa recapture. Elle agit au niveau de la protéine, à haute affinité et dépendant du sodium, transporteuse du GABA sur les cellules gliales vers les neurones (29).

A côté de ces produits dont le mode d'action est spécifique, on peut noter l'action probable du valproate sur le système GABAergique, puisqu'il augmenterait la synthèse de GABA (74).

II.3.1.3. - Diminution de la neurotransmission médiée par les acides aminés excitateurs (AAE) (4)

Les AAE, tels que le glutamate et l'aspartate, sont les neurotransmetteurs excitateurs majeurs du système nerveux central. Le glutamate peut se fixer sur divers types de récepteurs canaux dont les principaux sont les récepteurs à l'acide alpha-amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazole propionate (AMPA), au N-méthyl-D-aspartate (NMDA) et au kaïnate. L'activation du récepteur AMPA induit une entrée de sodium dans la cellule alors que celle du récepteur NMDA induit une entrée de calcium dans la cellule.

A côté de leur action directe sur le complexe récepteur benzodiazépine-GABA, A, les barbituriques pourraient antagoniser les réponses au kaïnate et au quisqualate (45).

La lamotrigine inhibe la libération d'acides amines excitateurs (glutamate).

Le felbamate bloque le site récepteur allostérique à la glycine du récepteur NMDA (83).

Le topiramate antagonise l'activité excitatrice du glutamate sur les récepteurs kaïnate/AMPA (84).

Le mode d'action de la gabapentine reste encore à élucider mais pourrait s'exercer par une inhibition indirecte des courants sodiques, mais aussi par une augmentation du GABA dans certaines régions cérébrales.

II.3.2. - Pharmacocinétique des antiépileptiques (tableau IV) (77)

La pharmacocinétique étudie quantitativement les trois processus fondamentaux, simultanés et intriqués, qui interviennent dès qu'une molécule médicamenteuse est introduite dans l'organisme : absorption (ou résorption), distribution, élimination par métabolisme et excrétion (10).

Il y'a des paramètres à prendre en considération (76) :

- la biodisponibilité, quantité de principe actif atteignant la circulation générale, est fonction de la vitesse et de la quantité de l'absorption digestive ;

- le temps maximal (Tmax) mesure le temps nécessaire pour atteindre la concentration maximale ;

- le pourcentage de liaison aux protéines détermine les rapports de la fraction libre, seule biologiquement active, et de la fraction liée ; plus la liaison protéique est faible, plus la distribution de la molécule dans l'organisme est importante ;

- le temps de demi-vie correspond au temps nécessaire pour que l'organisme élimine la moitié de la quantité de médicament initialement introduite : il influence le nombre de prises journalières du médicament, ainsi que le délai d'équilibre qui est compris entre quatre et sept demi-vies.

Le profit pharmacocinétique idéal d'un antiépileptique comporte (8) :

- une absorption rapide et totale après une prise orale, non influencée par les repas ;

- une relation linéaire entre dose et concentration plasmatique ;

- une faible liaison avec les protéines ;

- une élimination essentiellement rénale ;
- l'absence de métabolites actifs ;
- une absence de pouvoir inducteur hépatique ;
- et une demi-vie longue de 24 à 30 heures permettant une seule prise par 24 heures.

II.3.2.1. - Les antiépileptiques majeurs ou classiques (2, 56, 62)

Les antiépileptiques majeurs présentent des caractéristiques pharmacocinétiques éloignées de celles d'un antiépileptique idéal. Les aléas cinétiques des antiépileptiques majeurs sont les suivants : (2)

- cinétique non linéaire (phénytoïne) ;
- forte liaison protéique ;
- autoinduction de leur propre métabolisme hépatique (carbamazépine) ;
- présence de métabolites actifs ;
- interactions pharmacocinétiques nombreuses ;
- cinétique variable selon l'âge (enfant, sujet âgé).

II.3.2.1.1. - Phénobarbital (35)

Le phénobarbital a une excellente résorption per os, mais lente car le pic plasmatique survient entre 4 et 18 heures après administration orale.

La fixation sur les protéines plasmatiques est modérée (45-60%). La fraction libre reste constante dans la gamme des concentrations thérapeutiques.

La diffusion du phénobarbital dans l'organisme est bonne. Les concentrations cérébrales sont proches des concentrations plasmatiques. Dans le liquide céphalorachidien (LCR), on retrouve 50% des concentrations plasmatiques totales (pourcentage proche de la fraction libre). La diffusion salivaire est moindre (environ 30% des concentrations plasmatiques). Enfin, le phénobarbital passe à travers la barrière foetoplacentaire et dans le lait maternel.

Le volume de distribution est respectivement 0.58 ± 0.1 l/kg et 0.97 ± 0.15 l/kg chez l'adulte et le nouveau-né.

Le phénobarbital est essentiellement métabolisé (65% de la dose) par le foie, sous forme de para-hydroxyphénobarbital inactif. Une fraction importante de ce métabolite est ensuite glucuro ou sulfoconjuguée, puis excrétée dans les urines. 30% de la dose sont excrétés inchangés dans les urines et l'intensité de ce processus dépend du pH urinaire.

II.3.2.1.2. - Phénytoïne (35)

La résorption de phénytoïne dépend beaucoup de la formulation galénique de la préparation. La taille des particules et les additifs pharmaceutiques modifient à la fois la vitesse et l'importance de la résorption. La biodisponibilité de la phénytoïne est proche de 90% mais dépendante de la dose. Le pic plasmatique survient généralement 4 à 8 heures après une administration orale.

La phénytoïne est essentiellement fixée sur l'albumine plasmatique, donnant lieu à une fixation sérique importante, voisine de 90%. La fraction libre reste constante dans la gamme des concentrations thérapeutiques.

La diffusion cérébrale est rapide. La diffusion dans la LCR est limitée à la seule forme libre, puisque les concentrations retrouvées sont équivalentes à celles des concentrations libres plasmatiques. La phénytoïne passe à travers la barrière foetoplacentaire et dans le lait maternel. Le volume apparent de distribution est de 0.6 - 0.7 l/kg.

95% de la dose sont métabolisés par le foie, selon un processus saturable en un dérivé « époxyde » qui est à son tour transformé en métabolites hydroxylés, puis glucuroconjugués. Les métabolites sont inactifs.

L'ensemble des métabolites formés sont éliminés par voie rénale. 60 à 90% de la dose per os sont retrouvés dans les urines, sous forme de 5-(para-hydroxyphénol)-5-phényl hydantoïne (p-HPPH) seul ou conjugué à l'acide glucuronique. Seulement 1 à 5% de la dose sont éliminés inchangés dans les urines.

II.3.2.1.3. - Carbamazépine (35)

L'absorption de la carbamazépine est généralement lente et peu régulière en raison de la très faible solubilité en milieu aqueux. Le pic plasmatique survient en général 4 à 8 heures après l'administration per os.

La fixation sur les protéines plasmatiques est importante (80%). La liaison s'effectue principalement sur l'albumine et à un degré moindre sur l'alpha1 glycoprotéine acide. La fraction libre reste constante dans la gamme des concentrations thérapeutiques.

La carbamazépine diffuse rapidement et de façon homogène dans l'organisme, en particulier dans le LCR (17 à 30 % des concentrations plasmatiques), le tissu amniotique, le lait maternel et la salive qui est un bon reflet de la concentration libre plasmatique.

Le volume apparent de distribution varie de 0.8 à 1.8 l/kg.

La distribution du métabolite principal de la carbamazépine, le carbamazépine 10-11 époxyde a également été étudié, car ce métabolite est actif. Sa fixation sur les protéines plasmatiques est moindre que celle de la carbamazépine, la fraction libre étant double, soit 50%. Les concentrations dans le LCR sont 50% de celles des concentrations plasmatiques, en accord avec les données de la fraction libre plasmatique diffusible.

La carbamazépine est très largement métabolisé par le foie. Son métabolisme est soumis à une très grande variabilité. Les principales voies métaboliques sont les suivantes :

- époxydation (40%) due aux mono-oxygénases hépatiques, donnant le carbamazépine 10-11 époxyde actif qui est ensuite hydrolysé ;
- hydroxylation du noyau aromatique (25%) ;
- glucuroconjugaison directe (15%).

Le métabolisme de la carbamazépine possède la caractéristique de s'autoinduire. Cette auto-induction se manifeste dès les premiers jours de traitement, puis se stabilise en 20 à 30 jours.

72% de la dose apparaissent dans les urines, essentiellement sous forme d'une trentaine de métabolites, la carbamazépine inchangée étant négligeable (1%).

II.3.2.1.4. - Valproate (35)

La biodisponibilité absolue du valproate est excellente, proche de 100%. Le pic sérique est de temps et d'importance variables suivant la présentation pharmaceutique.

La fixation protéique plasmatique est importante (90%). L'acide valproïque est lié à l'albumine sur deux sites de fixation avec une forte affinité. Ces caractéristiques de fixation expliquent que la fraction libre plasmatique varie de 8 à 20% dans la gamme des concentrations thérapeutiques qui peuvent saturer l'albumine.

L'acide valproïque pénètre rapidement dans le tissu cérébral, diffuse dans le LCR et le lait maternel et passe très bien la barrière foetoplacentaire en quantité importante.

Le volume apparent de distribution varie de 0.15 à 0.36 l/kg.

L'acide valproïque est essentiellement métabolisé par le foie. Les trois principales voies métaboliques sont la décarboxylation, la conjugaison et l'oxydation. Il semble que les métabolites 3-OH, 4-OH et 3 OXO de l'acide valproïque soient actifs mais moins puissants que la molécule mère.

5 à 20% de la dose sont éliminés par le rein sous forme inchangée. La majorité des métabolites sont également éliminés par cette voie.

II.3.2.2. - Les nouvelles molécules antiépileptiques (60, 64, 71)

Les caractéristiques pharmacocinétiques des nouveaux antiépileptiques sont proches de celles d'un antiépileptique idéal.

II.3.2.2.1. - Absorption

Tous les nouveaux antiépileptiques sont bien absorbés, leur forte lipophilicité favorisant la pénétration dans le SNC. Seule l'absorption de la gabapentine dépend de la saturation d'un transporteur.

II.3.2.2.2. - Distribution

A l'exception de la tiagabine (liaison protéique à 95%), tous les nouveaux produits sont peu liés aux protéines plasmatiques et ainsi n'exposent pas au risque d'interaction (notamment avec les AINS et les anticoagulants oraux).

Tous les nouveaux antiépileptiques se distribuent au niveau de l'eau corporelle totale.

Le vigabatrin passe médiocrement la barrière hémocérébrale normale.

Le topiramate se concentre dans les érythrocytes.

II.3.2.2.3. - Métabolisme et élimination

La gabapentine et le vigabatrin ne sont pas du tout métabolisés au niveau hépatique. Ces deux produits sont excrétés inchangés dans les urines.

Le felbamate subit une biotransformation hépatique inductible limitée (environ 15%). Outre le felbamate inchangé, les métabolites suivants ont pu être identifiés dans les urines : le para hydroxy felbamate, le 2-hydroxy felbamate, des dérivés monocarbamates du felbamate et des métabolites polaires du felbamate (notamment des dérivés conjugués).

La lamotrigine est principalement métabolisée dans le foie par glucuronidation par la UDP glucuronyltransferase en 2-N-glycuronide (44), métabolite quantitativement le plus important (76%), trois autres métabolites ont été identifiés : un métabolite conjugué sur l'atome d'azote en position 5 (4 à 8%), un métabolite N-2 méthyle (moins de 1%) et enfin un métabolite N-2 oxyde trouvé à l'état de trace (80). Ces métabolites sont conjugués et éliminés dans les urines.

La tiagabine est métabolisée dans le foie par le système CYP 3 A. On retrouve dans les urines moins de 1% de la dose sous forme de tiagabine inchangée et 14% de la dose sous forme de deux isomères 5-oxo-thiolènes (49). Le reste est retrouvé dans les fécés sous forme de métabolites. Aucun métabolite actif n'a été identifié.

Le topiramate n'est que faiblement métabolisé et environ 70% de la dose se retrouve inchangée dans les urines. Le métabolisme du topiramate est accéléré par les inducteurs enzymatiques (48).

En ce qui concerne la demi-vie d'élimination, de grandes différences sont à noter d'un produit à un autre et surtout des modifications apparaissent lors des associations thérapeutiques (voir interactions). La gabapentine et la tiagabine impliquent de fréquentes administrations quotidiennes ; l'activité du vigabatrin dépend de la vitesse de renouvellement de la GABA-transaminase (44).

II.3.2.3. - Les antiépileptiques d'appoint (35)

II.3.2.3.1. - Benzodiazépines

a) Diazépam

La biodisponibilité varie entre 75 et 100% et le pic plasmatique survient entre 0.5 et 2 heures après l'administration orale.

La fixation aux protéines plasmatiques est élevée (95%). Le diazépam se distribue rapidement dans le SNC. Le volume apparent de distribution varie entre 1 et 2 l/kg.

Le diazépam est principalement métabolisé par le foie (98%). Les trois principales voies métaboliques sont l'hydroxylation, la glucuroconjugaaison et la N-désméthylation qui donne naissance au N-désméthyldiazepam actif.

2% de diazépam inchangé et plus de 80% des métabolites sont excrétés dans les urines.

b) Clonazépam

La biodisponibilité est de 90% et le pic plasmatique survient 1 à 4 heures après l'administration orale.

La fixation aux protéines plasmatiques est élevée (85%). Le volume apparent de distribution varie de 1.5 à 4.8 l/kg. Le clonazépam se distribue dans le SNC.

Le clonazépam est métabolisé à 99% par le foie. Ces métabolites inactifs sont essentiellement éliminés dans les urines.

c) Clobapam

La biodisponibilité est de 90% et le pic plasmatique survient entre 1 et 4 heures après l'administration orale.

Le clobazam se lie à 90% aux protéines plasmatiques.

Le clobazam passe la barrière hémato-encéphalique ainsi que dans le placenta et le lait maternel.

Le volume de distribution varie de 0.9 à 1.4 l/kg.

Le clobazam est essentiellement métabolisé par le foie. Le métabolite principal du clobazam est le désméthyl-clobazam dont la demi-vie est plus longue que celle de la molécule mère (environ 50 heures). Après hydroxylation du clobazam ou du désméthyl-clobazam, l'inactivation se fait par glucuroconjugaaison, aboutissant à des substances hydrosolubles éliminées dans les urines. Un pourcentage négligeable de clobazam est retrouvé dans les urines.

II.3.2.3.2. - Primidone

La biodisponibilité de la primidone est bonne (100%). Le pic plasmatique survient entre 6 et 8 heures après administration orale.

La fixation aux protéines plasmatiques est faible (0-20%). Le volume apparent de distribution varie entre 0.6 et 1 l/kg.

La primidone est entièrement métabolisée dans le foie, essentiellement sous forme de phényl éthyl malonamide (PEMA) et dans une moindre mesure en phénobarbital ; tous deux sont pharmacologiquement actifs.

Le rein élimine environ 10% d'une dose de primidone sous forme inchangée.

II.3.2.3.3. - Ethosuximide

L'absorption est complète et rapide. Le pic plasmatique survient 3 à 7 heures après administration orale.

L'éthosuximide est peu lié aux protéines plasmatiques. Il diffuse dans le LCR où sa concentration à l'état d'équilibre est voisine de celle dans le plasma.

L'éthosuximide est en grande partie métabolisé essentiellement par hydroxylation. Ses métabolites sont ensuite conjugués et excrétés inchangés dans les urines.

II.4. - INTERACTIONS MEDICAMENTEUSES DES ANTIEPILETIQUES

(23, 64, 77)

Conséquences inévitables des polythérapies, les interactions mutuelles des différents antiépileptiques, qu'elles soient pharmacodynamiques ou pharmacocinétiques, sont très nombreuses et en règle générale négatives. Ces interactions, plus marquées avec les antiépileptiques classiques qu'avec les nouvelles molécules, n'affectent cependant qu'inconstamment les effets thérapeutiques et/ou la fréquence des effets indésirables.

II.4.1. - Interactions pharmacodynamiques

Elles sont mal connues chez l'homme (interactions au niveau des récepteurs ; potentialisation d'effet par action sur des cibles différentes...).

Le tableau ci-après résume quelques exemples d'interactions pharmacodynamiques entre anticonvulsivants de première génération (2).

Association médicamenteuse	Effet anticonvulsivant	Neurotoxicité
PHT+PB	A	A-
PHT+CBZ	A	A
CBZ+PB	A	A
VPA+ESM	A	A-
VPA+PB	A	A
VPA+CBZ	A	A-
VPA+PHT	A++	A
VPA+PB	A++	A-

CBZ : Carbamazépine ; ESM : Ethosuximide ; PB : Phénobarbital ;

PHT : Phénytoïne ; PRM : Primidone

A : Effet additif ; A++ : Forte potentialisation ; A- : Très discrète potentialisation

Exemples d'interactions pharmacodynamiques entre antiépileptiques majeurs et nouvelles molécules (8) :

- l'association felbamate et carbamazépine ou valproate renforce l'action antiépileptique ;
- on évoque également une synergie pharmacodynamique pour expliquer l'efficacité de l'association lamotrigine et valproate dans certaines cas d'absences ;

- certaines de ces associations peuvent être à l'origine d'effets secondaires : l'association lamotrigine et carbamazépine peut entraîner l'apparition de diplopie ou sensations vertigineuses sans modification des taux sanguins de lamotrigine, de carbamazépine ni de son métabolite époxy ; ces manifestations disparaissent si l'on diminue légèrement l'un des deux produits.

II.4.2. - Interactions pharmacocinétiques (40, 53, 77)

Schématiquement, aux effets inducteurs enzymatiques du phénobarbital, de la phénytoïne, de la primidone et de la carbamazépine s'opposent les effets inhibiteurs enzymatiques du valproate et du felbamate.

■ *Phénobarbital et phénytoïne*

- Effet inducteur enzymatique prononcé, cliniquement significatif, avec accélération du métabolisme des médicaments coprescrits et baisse de leurs taux plasmatiques, en particulier :

- autres antiépileptiques (carbamazépine, valproate, lamotrigine, tiagabine, topiramate, oxcarbazépine) ;
- anticoagulants oraux, antibiotiques, cimétidine, théophylline et dérivés ;
- diurétiques, antihypertenseurs, antiarythmiques ;
- contraceptifs oraux.

■ *Carbamazépine*

- Effet inducteur enzymatique cliniquement significatif, avec accélération du métabolisme des médicaments coprescrits et baisse de leurs taux plasmatiques, en particulier :

- autres antiépileptiques (valproate, lamotrigine, felbamate, tiagabine, topiramate) ;

- contraceptifs oraux.
- Auto-induction de son métabolisme, avec taux plasmatiques élevés en début de traitement puis baisse des taux sanguins après 2 à 4 semaines d'utilisation. Il y'a une nécessite fréquente d'augmenter la posologie à ce moment.
- Risque d'élévation des taux sanguins et d'intoxication lors de l'administration conjointe de :
 - valproate (augmentation du métabolite époxy carbamazépine) ;
 - antibiotiques de la famille des macrolides (troléandomycine, érythromycine, josamycine, roxithromycine) ;
 - inhibiteurs calciques : vérapamil, dialtiazem ;
 - autres médicaments : nicotinamide, isoniazide, propoxyphène, danazol.

■ *Valproate*

- Inhibiteur enzymatique, élève les taux sanguins des antiépileptiques associés : felbamate, lamotrigine, phénytoïne (fraction libre), carbamazépine (métabolite époxy), phénobarbital.
- Risque d'élévation des taux sanguins lors de l'administration conjointe de salicylates et de phénylbutazone.

■ *Primidone* : interactions comparables à celle du phénobarbital.

■ *Ethosuximide* : interactions minimes, sans traduction clinique.

■ *Benzodiazépines* : interactions minimes, sans traduction clinique.

■ *Vigabatrin* : diminution possible des taux plasmatiques de phénytoïne.

- *Felbamate* : inhibiteur enzymatique, élève les taux sanguins de phénytoïne, carbamazépine, (métabolite époxy), valproate.

■ *Gabapentine* : absence d'interaction.

■ *Lamotrigine*

- Augmentation possible du métabolite époxy de la carbamazépine.
- Le valproate inhibe fortement le métabolisme de la lamotrigine, imposant une diminution de moitié des doses totales journalières.
- Les antiépileptiques inducteurs enzymatiques accélèrent le métabolisme de la lamotrigine, imposant une augmentation des doses totales journalières.
- *Tiagabine* : interactions minimes, sans traduction clinique.
- *Topiramate* : augmentation possible des taux plasmatiques de phénytoïne.

II.5. – EFFETS INDESIRABLES DES ANTIEPILEPTIQUES (42, 76)

La toxicité des médicaments antiépileptiques est mal documentée, en particulier pour les nouveaux produits. Les présentations cliniques et électrophysiologiques des intoxications aiguës aux nouveaux médicaments antiépileptiques sont encore peu nombreuses (57).

Dans ce chapitre, nous nous limitons aux effets indésirables des médicaments antiépileptiques.

Les principaux effets indésirables des médicaments antiépileptiques sont présentés dans le **tableau V (75, 76)**.

Les effets indésirables sont variables et dépendent soit de la dose (surdosage aigu ou chronique), soit d'un effet toxique propre à la médication, soit d'une idiosyncrasie (27).

Les effets indésirables idiosyncrasiques, dose-indépendants, imprévisibles, aigus, peuvent mettre en jeu le pronostic vital et nécessitent l'arrêt du traitement (11). Ils sont dominés, pour les antiépileptiques classiques (phénytoïne, carbamazépine, phénobarbital) et pour la lamotrigine (surtout en coprescription trop rapide avec le valproate), par des syndromes d'hypersensibilité avec éruption cutanée, fièvre, arthralgies, polyadénopathie pouvant évoluer, en l'absence d'arrêt du médicament, vers une épidermolyse avec

défaillance hépatorénale ou vers un syndrome cutanéomuqueux gravissime (syndrome de Stevens-Johnson, syndrome de Lyell).

Les autres effets indésirables idiosyncrasiques graves comportent des hépatites immunoallergiques (felbamate, phénytoïne, carbamazépine et exceptionnellement valproate) et des aplasies médullaires irréversibles (felbamate, exceptionnellement carbamazépine). Des psychoses aiguës réversibles sont décrites avec le vigabatrin chez les sujets prédisposés. Les pancréatites au valproate sont très rares, de même que les thrombopénies qui sont habituellement asymptomatiques.

Les effets indésirables non idiosyncrasiques, dose- et temps-dépendants, peuvent être d'expression précoce ou, au contraire, survenir tardivement et de façon insidieuse. Pour les molécules les plus anciennes (phénobarbital, phénytoïne, primidone, benzodiazépines), les effets délétères sur les fonctions cognitives et les capacités d'apprentissages sont les plus fréquents. Un syndrome comportant obtusion intellectuelle et perturbations du caractère, résultant d'une association de troubles de la vigilance, d'une diminution des capacités d'attention et de concentration avec lenteur des performances psychomotrices, était souvent dans le passé la rançon des polythérapies lourdes comportant en particulier des doses excessives de phénobarbital (78).

Parmi les autres effets indésirables dose-dépendants, citons également les effets cérébellovestibulaires liés à un surdosage en phénytoïne ou à une association posologique trop rapide en carbamazépine, les effets orexigènes du valproate et du vigabatrin, les effets anorexigènes du felbamate et du topiramate, les effets cosmétologiques disgracieux lors des traitements prolongés par phénytoïne et par phénobarbital, les effets rhumatologiques tardifs du phénobarbital.

II.6. - INDICATIONS DES ANTIEPILEPTIQUES

II.6.1. - Les antiépileptiques majeurs (77)

II.6.1.1. - *Phénobarbital*

Il est actif dans toutes les formes d'épilepsie à l'exception des absences typiques (52). Il semble particulièrement efficace dans les crises convulsives généralisées d'emblée ou secondairement.

Malgré ces qualités, dans les pays industrialisés, le phénobarbital ne devrait plus être prescrit en monothérapie de première intention dans le traitement des épilepsies, en raison de la fréquence de ses effets secondaires.

II.6.1.2. - *Phénytoïne*

La phénytoïne possède un large spectre d'activité antiépileptique, s'étendant des crises partielles aux crises secondairement généralisées (52). Elle est inefficace dans les absences typiques qu'elle semble même pouvoir aggraver. En raison de ses effets sédatifs peu marqués, la phénytoïne en préparation injectable (Dilantin[®]) est un médicament de choix dans le traitement des états de mal épileptiques.

Malgré son efficacité, l'utilisation en première intention de la phénytoïne dans le traitement au long cours des épilepsies n'est pas conseillée.

II.6.1.3. - *Carbamazépine*

La carbamazépine possède un large spectre d'activité antiépileptique, s'étendant des crises partielles aux crises secondairement généralisées (52). C'est un médicament de choix dans le traitement des épilepsies partielles, en raison de son efficacité, de sa bonne tolérance clinique et de l'absence de perturbation des fonctions cognitives lors des traitements au long cours. Elle est désormais déconseillée dans les épilepsies généralisées idiopathiques, car elle peut aggraver les absences typiques et les myoclonies.

II.6.1.4. - Valproate (77)

Le valproate est un antiépileptique à très large spectre, actif sur tous les types de crises. Son efficacité est remarquable dans les épilepsies généralisées idiopathiques qui constituent son indication privilégiée. Son efficacité dans les épilepsies partielles est démontrée. Elle est probablement comparable à celle des produits de référence dans ce domaine (phénytoïne, carbamazépine).

II.6.2. - Les nouvelles molécules antiépileptiques (77)

Leurs indications reconnues sont représentées par les épilepsies mal contrôlées par les molécules antiépileptiques classiques.

Les nouveaux médicaments antiépileptiques sont tous actifs et sur les crises partielles et sur celles secondairement généralisées.

II.6.2.1. - Vigabatrin

Le vigabatrin est indiqué en thérapeutique additive dans les épilepsies partielles de l'adulte. Une indication privilégiée est représentée dans le traitement des spasmes du syndrome de West, où le vigabatrin peut être prescrit en monothérapie de première intention. Le vigabatrin est contre-indiqué dans les épilepsies idiopathiques comportant des absences typiques et des myoclonies, qu'il semble pouvoir aggraver.

II.6.2.2. - Felbamate (72)

Le felbamate est efficace pour le traitement des crises partielles, avec ou sans généralisation secondaire, résistantes au traitement habituel et du syndrome de Lennox-Gastaut (26, 67). L'indication légale du felbamate est limitée aux patients présentant un syndrome de Lennox-Gastaut réfractaire chez l'adulte et chez l'enfant de plus de 4 ans.

II.6.2.3. - Gabapentine (77)

La gabapentine est indiquée en monothérapie de première intention ou en thérapeutique additive dans les épilepsies partielles de l'adulte. La gabapentine n'est pas indiquée dans les épilepsies généralisées idiopathiques, car elle semble pouvoir aggraver les absences.

II.6.2.4. - Lamotrigine

La lamotrigine semble avoir un spectre d'utilisation assez large et être active, chez l'adulte comme chez l'enfant, dans le traitement des épilepsies tant généralisées, idiopathiques ou symptomatiques que partielles, simples ou complexes (27).

La lamotrigine est indiquée dans les épilepsies généralisées ou partielles réfractaires, chez l'adulte et chez l'enfant de plus de 12 ans, en complément d'un autre antiépileptique ou en monothérapie après échec d'un traitement antérieur. Chez l'enfant de moins de 12 ans, elle peut être prescrite en association dans les formes sévères d'épilepsie généralisée (77).

II.6.2.5. - Tiagabine (70)

La tiagabine est indiquée dans le traitement des épilepsies partielles avec ou sans crises secondairement généralisées en addition (« add-on ») autres traitements antiépileptiques lorsque ceux-ci sont insuffisamment efficaces. Le produit est à réservé aux sujets âgés de plus de 12 ans.

II.6.2.6. - Topiramate (68)

Le topiramate s'est révélé constamment efficace en thérapeutique additive dans l'épilepsie partielle réfractaire avec ou sans généralisation secondaire.

Le topiramate s'est aussi montré un traitement d'appoint efficace chez l'enfant, dans le syndrome Lennox-Gastaut ou dans les épilepsies généralisées d'emblée tonico-cloniques chez l'enfant et chez l'adulte.

II.6.3. - Les antiépileptiques d'appoint

II.6.3.1. - Benzodiazépines (77)

Leur emploi reste limité dans le traitement chronique des épilepsies.

Le diazépam et le clonazépam sont utilisés par voie intraveineuse dans le traitement d'urgence des crises sérielles ou des états de mal. Le diazépam par voie rectale est utile dans la prévention et le traitement des convulsions fébriles prolongées.

Le clobazam et le nitrazépam sont utilisés per os en traitement d'adjvant de certaines épilepsies rebelles ou dans d'autres indications : traitement intermittent de certaines épilepsies à recrudescence cataméniale, traitement de certaines épilepsies morpheiques.

II.6.3.2. - Primidone (77)

Ses indications sont celles du phénobarbital, à l'exclusion de l'état de mal épileptique.

II.6.3.3. - Ethosumixide (77)

L'éthosumixide est spécifiquement actif contre les absences typiques. Il peut être utile dans le traitement des absences atypiques et des myoclonies.

DEUXIEME PARTIE

METHODES ANALYTIQUES DE DOSAGE DES MEDICAMENTS ANTIEPILEPTIQUES

I - DOSAGE DES ANTIEPILEPTIQUES DANS LES LIQUIDES BIOLOGIQUES

Les méthodes chromatographiques et électrophorétiques sont les techniques analytiques les plus utilisées pour le dosage des antiépileptiques dans les liquides biologiques.

Elles sont appliquées surtout pour le suivi thérapeutique, parfois pour les études pharmacocinétiques des médicaments.

I.1.- CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE HAUTE PERFORMANCE (CLHP)

Elle correspond à une évolution de la chromatographie préparative sur colonne dont les performances, en termes de sélectivité et de résolution, se sont trouvées grandement améliorées par la miniaturisation et l'utilisation de phases stationnaires très élaborées.

I.1.1. - CLHP avec un détecteur spectrophotométrique

I.1.1.1. -Détermination simultanée de la phénytoïne, de la carbamazépine et du 10-11 époxy-carbamazépine dans le plasma (5)

a) Principe

Le principe repose sur la détermination simultanée de la phénytoïne, de la carbamazépine et du 10-11 époxy-carbamazépine dans le plasma humain par chromatographie liquide haute performance. Le dihydro 10-11 carbamazépine est utilisé comme étalon interne. Les protéines plasmatiques sont précipitées par l'acetonitrile.

La séparation est réalisée dans une colonne analytique Sphérisorb ODS2 avec une phase mobile constituée de mélange d'acetonitrile, de méthanol et de tampon phosphate (18 :18 :70). La détection est faite dans l'UV à 210 nm.

b) Résultats

Les courbes de calibration sont linéaires dans la gamme de concentrations de 0,050 à 25 µg/ml.

La limite minimale de quantification est de 0,050 µg/ml.

La limite maximale est de 25 µg/ml.

Les rendements d'extraction pour les médicaments et l'étalon interne dans le plasma humain sont supérieurs à 79%.

Il n'y a pas d'interférence des autres médicaments lors du dosage.

I.1.1.2.- Détermination simultanée de quatre antiépileptiques dans le sérum (51)

a) Principe

Une méthode de chromatographie liquide haute performance a été développée pour la détermination simultanée de l'oxcarbazépine, du 10 hydroxy carbamazépine, de l'époxy carbamazépine, de la carbamazépine, du phénobarbital et de la phénytoïne dans le sérum.

Après précipitation des protéines par l'acétonitrile, le surnageant est analysé dans une colonne C₁₈ ultrabiosep à phase inverse (150 x 4,6mm ; 5µm). La phase mobile est un mélange d'acétate de sodium (7 mM, pH : 5,4) et d'acétonitrile (68 : 32, v/v). Les médicaments antiépileptiques et l'oxazépam (étalon interne) sont détectés par absorbance dans l'UV à 240 nm.

b) Résultats

La linéarité est établie pour toute la gamme de concentrations pour chaque composé.

Les limites de quantification de l'oxcarbazépine, du 10-hydroxy carbamazépine, de l'époxy-carbamazépine, de la carbamazépine, du phénobarbital et de la phénytoïne sont respectivement 0,58 ; 3,5 ; 2,35 ; 0,66 ; 1,02 et 3,13 µg/ml.

Les rendements absolus de l'oxcarbazépine, du 10 hydroxy-carbamazépine, de l'époxy-carbamazépine, de la carbamazépine, du phénobarbital et de la phénytoïne sont respectivement 105,15 ; 84,76 ; 94,45 ; 96,52 ; 98,62 et 95,08 %.

La méthode interfère avec quelques psychotropes notamment la toloxatone et les benzodiazépines.

I.1.1.3. - Détermination plasmatique de cinq antiépileptiques (phénytoïne, phénobarbital, carbamazépine, éthosuximide et acide valproïque) (66)

a) Principe

Il s'agit d'une séparation de l'acide valproïque des autres antiépileptiques et d'un dosage d'une part de l'acide valproïque et d'autre part de la phénytoïne, du phénobarbital, de la carbamazépine et de l'éthosuximide simultanément par chromatographie liquide haute performance en phase inverse ; le ou les médicaments ainsi que l'étalon interne sont extraits par un solvant organique (acétonitrile) qui précipite les protéines plasmatiques, ensuite une partie aliquote du surnageant est injectée ; seul l'acide valproïque et son étalon interne nécessite une estérification (acétylation) avant l'injection.

Pour le dosage simultané de la phénytoïne, du phénobarbital, de la carbamazépine et de l'éthosuximide, l'étalon interne utilisé est l'héxobarbital ; la longueur d'onde de détection est de 195 nm et la phase mobile est un mélange d'acétonitrile et de tampon phosphate.

Pour le dosage de l'acide valproïque, l'étalon interne utilisé est l'acide nonanoïque ; la longueur d'onde de détection est de 254 nm et la phase mobile est un mélange d'acétonitrile et de phosphate monopotassique.

Les colonnes sont toutes de type C₁₈ (15 cm x 4 mm ; 5μ).

b) Résultats

La limite de linéarité est dans tous les cas très supérieure à la concentration la plus élevée de la marge thérapeutique. Les limites de détection de l'éthosuximide et de l'acide valproïque sont de $28\mu\text{mol/l}$. Celles des autres médicaments sont de $5\ \mu\text{mol/l}$.

Les rendements d'extraction sont compris entre 93 et 104 %.

I.1.1.4. - Détermination simultanée de l'éthosuximide, de la primidone, du phénobarbital, de la phénytoïne et de la carbamazépine dans le sérum (43)

a) Principe

Le principe consiste en la détermination simultanée de cinq antiépileptiques (éthosuximide, primidone, phénobarbital, phénytoïne et carbamazépine) dans le sérum humain par chromatographie liquide rapide par usage d'une colonne à phase inverse (5 ou 3μ) et d'une microcuvette à flux continu équipée d'un détecteur UV.

Les médicaments antiépileptiques sont extraits du sérum contenant du cyclopal comme étalon interne par élution avec du méthanol. Un aliquote de l'éluat est appliquée dans la colonne analytique et élue avec une phase mobile d'acétonitrile, de méthanol et de tampon phosphate (13,5/5/51,5). La détection est à 210 ou 195 nm.

b) Résultats

La sensibilité de la méthode pour tous les médicaments est moins de $1\ \text{mg/l}$.

Le taux de recouvrement des médicaments additionnés dans le sérum varie de 92 à 109% pour des concentrations atteignant $200\ \text{mg/l}$.

I.1.1.5. - Dosage simultané du phénobarbital et de l'acide valproïque dans le plasma (25)

a) Principe

Il s'agit d'une méthode de dosage simultané du phénobarbital et de l'acide valproïque dans le sang additionné d'étalon interne (barbital). Après extraction par l'éther éthylique, ces substances sont dosées par chromatographie liquide haute performance. La séparation s'effectue sur une colonne μ Bondapack C₁₈ (30 cm x 4 mm). La détection met en œuvre un procédé colorimétrique fondé sur la variation de la coloration d'une solution de pourpre de bromocrésol. La lecture est effectuée à 425 nm.

b) Résultats

La linéarité est bonne pour des valeurs de phénobarbital allant de 0 à 344,8 $\mu\text{mol/l}$ et de 0 à 833,3 $\mu\text{mol/l}$ pour l'acide valproïque.

La limite de détection est $1,7 \cdot 10^{-3}$ μmol pour le phénobarbital et $1,4 \cdot 10^{-3}$ μmol pour l'acide valproïque dans un volume injecté de 10 μl .

Ceci correspond à des concentrations minimales détectables de 13,8 $\mu\text{mol/l}$ pour le phénobarbital et de 11,1 $\mu\text{mol/l}$ pour l'acide valproïque.

Les rendements d'extraction sont de $95,9 \pm 9,4\%$ pour le phénobarbital et de $95,7 \pm 9,1\%$ pour l'acide valproïque.

On ne note pas d'interférences des médicaments extractibles en milieu acide étudiés avec le phénobarbital et l'acide valproïque.

I.1.1.6. - Détermination simultanée de l'éthosuximide, de la primidone, du phénobarbital, de la phénytoïne et de la carbamazépine dans le sérum (16)

a) Principe

Les auteurs décrivent une méthode de dosage des médicaments antiépileptiques par chromatographie liquide haute performance. Cette méthode permet de séparer et

quantifier simultanément ces médicaments (éthosuximide, primidone, phénobarbital, phénytoïne, carbamazépine) en un temps d'analyse relativement court grâce à l'emploi du système à compression radiale de la colonne.

Le sérum acidifié est extrait par l'acétate d'éthyle. L'étalon interne est le 5-(p-méthylphénol)-5 phénylhydantoïne. Après évaporation, le résidu est repris par la phase mobile. Les différents médicaments sont élués sur une colonne Rad-Pak C₁₈ (10μ) avec une phase mobile constituée d'un mélange de méthanol et d'eau. La détection est faite dans l'UV à 200 nm.

b) Résultats

Les droites d'étalonnage, établies à partir des différentes concentrations en médicaments, montrent une bonne linéarité aussi bien au niveau subthérapeutique, thérapeutique que toxique.

La sensibilité de la méthode est de 0,2 à 0,5 μg/ml. Les rendements varient de 75 à 100%.

I.1.1.7. - Détermination simultanée de la carbamazépine, du phénobarbital et de la phénytoïne dans le sérum (21).

a) Principe

Il s'agit d'une détermination simultanée des trois antiépileptiques par chromatographie liquide haute performance micellaire avec injection directe de l'échantillon de sérum, sans prétraitement, dans un hybride micellaire de phases mobiles (mélange de sulfate dodécyl de sodium et de butanol).

La colonne analytique conventionnelle (250 x 4mm) est greffée de gel de silice à phase inverse (5 μm). La détection est faite dans l'UV à 220nm.

b) Résultats

Les limites de détection de la carbamazépine, du phénobarbital et de la phénytoïne sont respectivement 10,50 et 10 µg/l.

Les rendements d'extraction des médicaments sont satisfaisants avec une moyenne de 99%.

1.1.1.8. - Détermination du felbamate dans le plasma (34)

a) Principe

Il s'agit d'une détermination du felbamate dans le plasma additionné de la primidone comme étalon interne. Après extraction liquide-liquide par le dichlorométhane, la séparation est réalisée par chromatographie liquide haute performance à phase inverse à l'aide d'une colonne Hypersil ODS (5µ ; 150 x 4,6mm) et d'une phase mobile constituée d'un mélange de tampon phosphate (pH = 6,5 ; 0,015 M) et d'acétonitrile (79 : 21 v/v). La quantification est réalisée par mesure de l'absorbance UV à la longueur d'onde de 210 nm.

b) Résultats

La limite minimale de quantification est 0,100 µg/ml en utilisant 200 µl de plasma.

Le rendement analytique absolu moyen du felbamate est 75,2% (n = 28). Le rendement analytique de la primidone (étalon interne) est 74,7% (n = 10).

La sélectivité de la méthode envers plusieurs autres antiépileptiques a été démontrée.

1.1.1.9. - Détermination de la lamotrigine dans le plasma (1)

a) Principe

Le principe repose sur la détermination de la lamotrigine dans le plasma additionné d'étalon interne (BW 725 C). Après extraction liquide-liquide en milieu alcalin par l'acétate d'éthyle, la séparation est réalisée par chromatographie liquide haute

performance avec une colonne analytique C₁₈ (5µm ; 150 x 4,6mm). La phase mobile est constituée d'une solution d'orthophosphate dihydrogène de potassium, de méthanol et de triéthylamine (560 : 435 : 0,1 v/v/v).

La détection est faite dans l'UV à 306 nm.

b) Résultats

La méthode est linéaire dans une gamme de concentrations de 0,78 à 46,95 µmol/l.

Les limites de détection et de quantification sont respectivement 0,19 et 0,58 µmol/l.

Le rendement moyen de la lamotrigine est 86,14%.

Les antiépileptiques testés (phénobarbital, carbamazépine, 10-11-époxy carbamazépine, phénytoïne, primidone) n'interfèrent pas dans le dosage.

I.1.1.10. - Analyse de la lamotrigine dans le sérum (37)

a) Principe

Il s'agit de la détermination de la lamotrigine dans le sérum par une nouvelle méthode de chromatographie liquide haute performance. La méthode ne comprend pas une procédure d'extraction de la lamotrigine dans le sérum. L'échantillon de sérum, avec l'étalon interne (BW 725 C), est directement injecté dans la colonne à surface interne et à phase inverse (25 cm x 4.6 mm). La phase mobile est constituée de phosphate de potassium bibasique et d'acétonitrile (82 :18). La détection se fait dans l'UV à 330 nm.

b) Résultats

La courbe de calibration est linéaire dans la gamme de concentrations de 0,1 à 20 mg/l.

La limite minimale de détection est 0,05 mg/l.

Aucune interférence des autres antiépileptiques, des benzodiazépines et des antidépresseurs tricycliques n'est observée avec cette méthode.

I.1.1.11. - Détermination de l'éthosuximide dans le plasma (37)

a) Principe

Le principe consiste en la détermination de l'éthosuximide dans le plasma par chromatographie liquide haute performance après réaction de dérivatisation. L'éthosuximide surchargé dans le plasma est extrait avec du toluène et est dérivé avec un réactif dérivant chimiquement amovible, 2-(2-naphtoxy) éthyl 2-[1-(4- benzyl) pipérazyl] éthane sulfonate, dans un système homogène utilisant l'oxyde de magnésium comme catalyseur de base. Le dérivé résultant est séparé dans une colonne analytique avec 1,2% d'isopropanol dans n- hexane comme phase mobile et en utilisant la coumarine comme étalon interne. L'éluat de la colonne est contrôlé à la longueur d'onde de 225 nm.

b) Résultats

La gamme de concentrations linéaire pour la détermination de l'éthosuximide surchargé dans le plasma est de 30 à 700 nmol/l.

La limite de détection est aux environs de 9 pmol pour 10µl de volume injecté.

Le rendement d'extraction trouvé est supérieur à 94%.

L'interférence des autres anticonvulsivants (acide valproïque, carbamazépine, primidone) surchargés dans le plasma n'est pas démontrée, donc la méthode proposée est sélective.

I.1.1.12. - Détermination du clobazam dans le plasma (7)

a) Principe

Il repose sur l'analyse du clobazam dans le plasma surchargé de méthoxycarbamazépine (étalon interne) par chromatographie liquide haute performance. Après extraction par le mélange dichloroéthane-alcool isopropyl (97,5 : 2,5 ; v/v), la séparation est réalisée dans une colonne analytique ultrasphère octyl (4,6 x 250 mm ;

5µm) avec une phase mobile constituée de tampon acétate, d'acétonitrile et de triéthylamine (70 : 30 : 0,01 ; v/v). Le détecteur UV est sélectionné à 235 mm.

b) Résultats

La courbe de calibration est linéaire jusqu'à une concentration de 500ng/ml de clobazam. La limite de sensibilité est 6ng/ml.

Les rendements d'extraction pour le clobazam et pour l'étalon interne sont respectivement $75,0 \pm 2,1\%$ et $74,3 \pm 1,8\%$.

L'analyse des extraits de plasma contenant de la carbamazépine, de l'éthosuximide, du phénobarbital, de la phénytoïne, de la primidone, de la lamotrigine et du vigabatrin ne démontre pas d'interférence significative.

I.1.2. - CLHP avec un détecteur fluorimétrique

I.1.2.1.- Détermination simultanée de la gabapentine et du vigabatrin dans le sérum et dans l'urine (81)

a) Principe

Le principe repose sur la réaction entre la fonction amine primaire de la gabapentine et du vigabatrin et le réactif O-phthaldialdéhyde aboutissant à la formation d'une substance fluorescente.

L'étalon interne utilisé est le gamma phényl GABA. La séparation est réalisée par chromatographie liquide haute performance avec une colonne Superspher 60 à phase inverse (125 x 3 mm ; 5 µm) et une phase mobile (acétonitrile dans KH_2PO_4). Les effluents de la colonne sont détectés à la longueur d'onde d'excitation de 230 nm et à la longueur d'onde d'émission de 455 nm.

b) Résultats

La méthode est linéaire jusqu'à 500 µmol/l pour la gabapentine et jusqu'à 1300µmol/l pour le vigabatrin.

La limite minimale de détection est de $0,5\mu\text{mol/l}$ pour les deux médicaments.

Le rendement d'extraction est de 100% pour les deux médicaments.

Aucun autre produit n'interfère dans le dosage.

I.1.2.2. - Détermination simultanée du vigabatrin et de la gabapentine dans le plasma (47)

a) Principe

Le principe consiste en la détermination simultanée du vigabatrin et de la gabapentine dans le plasma par chromatographie liquide haute performance isocratique. La méthode met en œuvre une dérivatisation du groupement amine primaire du vigabatrin et de la gabapentine avec du chlorure de dansyl suivie d'une séparation isocratique (colonne : μ Bondapack C18, $10\mu\text{m}$, $300 \times 3,9$ mm ; phase mobile : 50 mmol/l de NaH_2PO_4 dans 40% d'acétonitrile) et d'une détection fluorimétrique (les longueurs d'onde d'excitation et d'émission sont respectivement 318 et 510 nm) du produit fluorescent qui est stable en moins de 7 jours. L'acide ϵ -amino-n-caproïque est utilisé comme étalon interne.

b) Résultats

La limite minimale de détection est $0,3\mu\text{g/ml}$.

Le rendement d'extraction pour le vigabatrin est 98% et celui pour la gabapentine est 92%.

L'étude des autres antiépileptiques surchargés dans le plasma montre que ces composés n'interfèrent pas dans la détermination du vigabatrin et de la gabapentine.

I.1.2.3. - Détermination du vigabatrin dans le plasma et dans l'urine (64)

a) Principe

Une méthode de chromatographie liquide haute performance a été développée pour le dosage du vigabatrin dans le plasma humain et l'urine. Le dosage met en œuvre une dérivatisation avec le 4-chloro-7 nitrobenzofurazane, une extraction en phase solide par le méthanol dans une colonne de silice C₁₈ (5 µm, 250 mm x 4,6 mm) avec une phase mobile constituée d'acide phosphorique et d'acétonitrile (60 : 40, V/V) et une chromatographie à phase inverse isocratique avec détection fluorescente (les longueurs d'onde d'excitation et d'émission sont respectivement 460 et 520 nm). L'aspartam est utilisé comme étalon interne.

b) Résultats

Le dosage est linéaire dans la gamme de concentrations de 0,2 à 20 µg/ml pour le plasma et de 1 à 15 µg/ml pour l'urine.

La limite minimale de détection est 0,1 µg/ml.

La limite minimale de quantification est 0,2 µg/ml.

Les rendements d'extraction pour le dosage du vigabatrin varient entre 70,83 et 88,27 % dans le plasma et entre 86,00 et 91,40 % dans l'urine.

La méthode est sélective car le chromatogramme du plasma blanc ne montre pas de pics interférant ayant le même temps de rétention que les dérivés du vigabatrin ou de l'étalon interne.

I.1.2.4. - Détermination de la gabapentine dans le plasma (28)

a) Principe

Le principe repose sur la détermination de la gabapentine dans le plasma surchargé d'acide 1-(aminométhyl) cycloheptane acétique (étalon interne) par chromatographie liquide haute performance. Après extraction en phase solide par le méthanol, la

gabapentine subit une dérivatisation avec l’O-phthaldéhyde et donne un dérivé fluorescent. Ce dernier est détecté aux longueurs d’onde d’excitation et d’émission respectives de 350 et 450 mm. La colonne analytique est de type C₁₈ remplie d’octyl de silice avec une phase mobile constituée de méthanol, d’acétonitrile, d’eau, d’acide perchlorique et de solution d’hydroxyde de tetraméthylammonium.

b) Résultats

La limite minimale de quantification qui est de 0,3 mg/l est très en dessous de la zone thérapeutique (2 – 20 mg/l).

Les rendements d’extraction pour la gabapentine et pour l’étalon interne varient entre 90 et 98%.

Le contrôle de qualité des sérum contenant une multitude de produits ne montre pas de pics interférant lors de l’analyse.

I.1.3. - CLHP avec un détecteur électrochimique

I.1.3.1. - Détermination de la concentration de la tiagabine dans le plasma (66)

a) Principe

Il s’agit de la détermination de la concentration de la tiagabine dans le plasma humain par une procédure de chromatographie liquide haute performance utilisant une détection électrochimique. L’isolement de la tiagabine et de l’étalon interne (anologue monométhyl de la tiagabine) est réalisé par extraction en phase solide dans une colonne C₈. La séparation est exécutée dans une colonne analytique C₁₈ avec une phase mobile contenant du sulfonate octane de sodium. L’effluent de la colonne est contrôlé avec un détecteur avec un détecteur coulométrique électrochimique.

b) Résultats

Les courbes d'étalonnage sont linéaires dans une gamme de concentrations de 0 à 500 ng/ml.

Les limites de détection et de quantification sont respectivement 2 et 8 ng/ml.

Le rendement d'extraction est supérieur à 95%.

I.1.4. - CLHP avec un détecteur à spectromètre de masse

I.1.4.1. - Analyse du topiramate et de ses métabolites dans le plasma et dans l'urine (9)

a) Principe

Une méthode de couplage chromatographie liquide - spectrométrie de masse (CL - SM) a été développée et validée pour la quantification du topiramate et de ses métabolites (10-hydroxytopiramate, 9-hydroxytopiramate et 4,5-O-désiso-propylidène) dans le plasma et dans l'urine.

Après extraction par le diéthyléther, la séparation est réalisée dans une colonne analytique C₁₈ à phase inverse (3,5 µm ; 2,1 x 100 mm) avec une phase mobile constituée d'acétate d'ammonium et de méthanol. Le d-12 topiramate est utilisé comme étalon interne. Les ions de masse 317, 373, 373, 369 et 357 sont respectivement isolés et fragmentés pour l'identification du 4,5-O-désisopropylidene, du 10-hydroxy topiramate, du 9-hydroxy topiramate, du d-12 topiramate et du topiramate.

b) Résultats

Les courbes de calibration sont linéaires dans une gamme de concentrations de topiramate et de ses métabolites de 0,625 à 40 µg/ml

La limite minimale de quantification est 0,625 µg/ml.

Aucune interférence significative n'est observée avec les anticonvulsivants généralement co-administrés.

I.1.4.2. - Détermination du topiramate dans le plasma (15)

a) Principe

Il consiste en la détermination du topiramate dans le plasma par chromatographie liquide haute performance couplée à une spectrométrie de masse à pulvérisateur d'ions. Après déprotéinisation de l'échantillon par de l'acétonitrile, l'analyse par chromatographie liquide est réalisée dans une colonne à phase inverse C₁₈ (125x 4 mm, 5µm) utilisant le mélange acétonitrile-tampon d'acétate d'ammonium comme phase mobile. Le détecteur est un spectromètre de masse quadripôle couplé à une source de pulvérisateur d'ions et opérant en mode de sélection de l'ion positif. L'ammonium donneur du cation du topiramate (357 m/z) est détecté à 356,9 – 357,6 m/z par balayage de 0,1 unité de masse atomique (uma).

b) Résultats

Les courbes de calibration pour le topiramate sont linéaires dans une gamme de concentrations de 1 à 20 µg/ml.

La limite minimale de quantification est 0,25 µg/ml.

Le rendement absolu varie entre 92 et 95%.

Aucun pic n'est détecté lors de l'analyse des échantillons de plasma contenant des médicaments fréquemment coprescrits avec le topiramate donc la méthode est sélective.

Si on compare les différentes techniques de dosage des médicaments antiépileptiques, on peut constater que les méthodes utilisant un détecteur électrochimique ont des limites de détection plus faibles de l'ordre de ng/ml. Ce qui permet l'analyse des composés à l'état de trace.

Les méthodes avec un détecteur spectrophotométrique ont des limites de détection meilleures que celles utilisant un détecteur fluorimétrique ou un spectromètre de masse. Ces deux derniers détectent des quantités de composés sensiblement égales.

I.2. - CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE (CPG)

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est une méthode de séparation sur colonne de substances volatiles (ou rendues volatiles) véhiculées par un gaz inerte appelé gaz vecteur.

I.2.1. - CPG avec un détecteur à ionisation de flamme

I.2.1.1- Détermination de la concentration de felbamate dans le sérum (61)

a) Principe

Il repose sur la quantification du felbamate dans le sérum surchargé d'étalon interne (2-méthyl-2 phényl-1,3-propanediol dicarbamate) par chromatographie en phase gazeuse isothermique. Après extraction du sérum alcalinisé par le chlorure de méthylène, la séparation est réalisée par chromatographie en phase gazeuse équipée d'une colonne (0,25 µ ; 30 m x 0,25 mm).

b) Résultats

La méthode est linéaire jusqu'à 250 mg/l.

La concentration minimale détectable est 2 mg/l.

Aucune interférence significative n'est trouvée avec les médicaments surchargés dans le plasma lors du test de spécificité.

I.2.1.2. - Dosage simultané de la phénytoïne et du phénobarbital dans le plasma (46)

a) Principe

Il s'agit du dosage de la phénytoïne et du phénobarbital dans le plasma par chromatographie en phase gazeuse. Ces médicaments sont extraits du plasma par partage entre le chloroforme et une phase aqueuse tamponnée. L'extrait final est évaporé à sec et le résidu est repris par une solution méthanolique d'étalon interne (la méthqualone). Un

aliquote de l'extrait final est injecté dans une colonne d'OV₁ 3% (0,8 m ; 100 x 120 mm) sans dérivatisation préalable.

b) Résultats

Les droites d'étalonnage pour le phénobarbital et pour la phénytoïne sont linéaires jusqu'à 1,5 mg/ml.

La sensibilité limite est de 3 µg/ml pour la phénytoïne et de 1µg/ml pour le phénobarbital.

Le rendement d'extraction est voisin de 65% compte tenu des volumes d'extraits chloroformiques mis en oeuvre.

Dans les conditions opératoires, ni les benzodiazépines, ni la carbamazépine, ni l'atropine que reçoivent certains patients examinés n'interféraient dans le dosage aux doses thérapeutiques.

I.2.2. - CPG avec un détecteur thermoionique (azote-phosphore)

I.2.2.1. - *Détermination du topiramate dans le sérum (85)*

a) Principe

Le principe repose sur la détermination du topiramate par une procédure de chromatographie en phase gazeuse. La méthode met en oeuvre une extraction de l'échantillon préalablement ajusté à pH 9,5 avec un tampon de borate saturé par l'acétate d'éthyle. Un aliquote de l'extrait est injecté dans la colonne capillaire de méthyle de silicone à gros calibre (0,5 µm ; 10 m x 0,53 mm) reliée à un détecteur à azote-phosphore qui permet la quantification du produit. Le mépivicaine est utilisé comme étalon interne.

b) Résultats

Les courbes de calibration sont linéaires de 2,5 à 150 mg/l de topiramate.

Le dosage a une limite de quantification de 2,5mg/l.

Les anticonvulsivants classiques et les médicaments extractibles en milieu base /neutre n'interfèrent pas dans le dosage.

I.2.2.2. - Détermination du diazépam et de son principal métabolite dans les liquides biologiques (79)

a) Principe

Il s'agit de la détermination du diazépam et de son principal métabolite (N-desméthyldiazépam) dans les liquides biologiques (urine et plasma) par chromatographie en phase gazeuse. Le prazépam est utilisé comme étalon interne. Une microextraction en phase liquide par un solvant d'extraction (mélange acétate de butyle : 1-octanol (1:1, v/v) pour l'urine ou mélange d'hexyléther : 1-octanol (1:3, v/v) pour le plasma) est nécessaire avant l'analyse. La séparation est réalisée dans une colonne analytique capillaire de polyméthyl silicone (0,25 µm ; 30 m x 0,25 mm).

b) Résultats

Les courbes de calibration sont linéaires dans une gamme de concentrations de 0,5 à 8 nmol/l de diazépam et de N-desméthyl diazépam.

Les limites de détection pour le N-desméthyl diazépam dans l'urine et le plasma sont respectivement 0,020 nmol/ml et 0,115 nmol/l. La limite de détection pour le diazépam dans le plasma est 0,025 nmol/ml.

Les limites de quantification pour N-desméthyl diazépam dans l'urine et le plasma sont respectivement 0,070 nmol/ml et 380 nmol/ml. La limite de quantification pour le diazépam dans le plasma est 0,080 nmol/ml.

Les rendements d'extraction trouvés pour le N-desméthyl diazépam dans l'urine et le plasma sont respectivement 69% et 50%. Le rendement d'extraction pour le diazépam dans le plasma est 68%.

Aucun pic interférant n'est détecté lors de l'analyse de chacun des échantillons d'urine ou de plasma.

I.2.2.3. - Détermination simultanée de la lamotrigine, de la carbamazépine, de l'époxy carbamazépine, de la phénytoïne, du phénobarbital et de la primidone dans le plasma (63)

a) Principe

Le principe repose sur la détermination de ces médicaments antiépileptiques par chromatographie en phase gazeuse dans le plasma après microextraction en phase solide.

b) Résultats

La méthode montre une bonne linéarité comprise entre 0,05 et 40 µg/ml.

La limite minimale de quantification pour les médicaments étudiés dans le plasma varie entre 0,05 et 0,20 µg/ml selon le médicament.

I.2.3. - CPG avec un détecteur à spectromètre de masse

I.2.3.1. - Détermination de la tiagabine dans le sérum (13)

a) Principe

Le principe consiste en la détermination de la tiagabine dans le sérum surchargé d'étalon interne (anologue desméthylé de la tiagabine) par chromatographie en phase gazeuse. Après extraction liquide-liquide par le mélange éthyl éther-isobutanol (98 : 2), la tiagabine et l'étalon interne sont méthylés dans une phase organique en présence de méthanol par le triméthylsilyl diazométhane. Les extraits sont injectés en mode splitless dans une colonne capillaire phényl méthyl siloxane (30 m x 0,25 mm ; 0,25 µm) et sont détectés par un spectromètre de masse à 156 m/z.

b) Résultats

La courbe de calibration est linéaire dans la gamme de concentrations de 0 à 455,5 ng/ml.

La limite de détection est de l'ordre de 0,4 ng/ml.

La limite de quantification est 5 ng/ml.

Aucune interférence n'est observée avec les seize antiépileptiques concomitamment administrés en polythérapie et leurs métabolites lors du dosage de spécificité.

I.2.3.2. - Détermination de la gabapentine dans le sérum (50)

a) Principe

Le principe repose sur l'analyse de la gabapentine dans le sérum par chromatographie en phase gazeuse. L'étalon interne utilisé est l'acide 1-(aminométhyl)-cycloheptane acétique. Après extraction par du méthanol, la séparation est réalisée dans une colonne capillaire remplie de 5% de diphenyl polysiloxane et de 95% de diméthyl polysiloxane (25 m x 0,22 mm ; 0,33 µm). La détection se fait par spectrométrie de masse en utilisant les masses 153 m/z pour la gabapentine et 167 m/z pour l'étalon interne.

b) Résultats

La méthode est linéaire jusqu'à une concentration de 40 mg/l.

La limite minimale de détection est 0,05 mg/ml.

Le rendement de 8 mg/l de gabapentine additionnée dans le sérum humain donne une moyenne de 101,6% (99,7% - 105% ; n = 4).

L'interférence par les autres médicaments antiépileptiques (carbamazépine, 2,3 époxy carbamazépine, felbamate, ethosuximide, lamotrigine, phénobarbital, phénytoïne, primidone et acide valproïque) n'est pas observée à des concentrations excédant leurs zones thérapeutiques.

I.2.3.3. - Microdosage de la primidone et de ses métabolites dans le sérum, la salive et le lait maternel (58)

a) Principe

Une méthode chromatographique en phase gazeuse couplée à une spectrométrie de masse a été développée pour la détermination quantitative de la primidone et de ses métabolites (phényl éthyl malondiamide (PEMA), phénobarbital et para-hydroxy-phénobarbital) libres et conjugués dans le sérum humain, la salive, le lait maternel et les tissus. Les analogues méthylées de la primidone, du phénobarbital et du PEMA sont utilisées comme étalons internes. Après extraction par le mélange d'acétate d'éthyle et de benzène (20 : 80), les extraits sont divisés en deux portions égales : l'une est éthylée par la méthode de Greeley's pour l'analyse de la primidone, du phénobarbital et de l'hydroxy-phénobarbital tandis que l'autre est triméthylsilylée pour l'analyse de la primidone et du PEMA.

b) Résultats

Les courbes de calibration sont linéaires dans une gamme de concentrations entre 100 ng/ml et 30 µg/ml.

Les limites minimales de détection trouvées sont entre 1,4 et 3,7 ng/ml.

Les rendements d'extraction des médicaments des médicaments varient entre 80 et 93%.

I.2.3.4. - Analyse de la lamotrigine dans le plasma (18)

a) Principe

Il s'agit de l'identification et de la quantification de la lamotrigine par chromatographie en phase gazeuse couplée à une spectrométrie de masse après extraction et dérivatisation.

La lamotrigine est extraite du sérum alcalinisé par le chloroforme et subit une dérivatisation avec le N-méthyl-N-(tert. Butyldiméthylsilyl) trifluoroacétamide contenant 2% de tert.-butyldiméthylchlorosilane. Le d-5-oxazépam est utilisé comme étalon interne. Le dérivé tert.-butyldiméthylsilyl de la lamotrigine montre des ions moléculaires distincts à 483 et 485 m/z. De même, le dérivé tert.-butyldiméthylsilyl du d-5-oxazépam montre des ions moléculaires à 519 et 521 m/z. Pour l'analyse de la lamotrigine, le spectromètre de masse fonctionne en mode de contrôle de l'ion choisi.

b) Résultats

Le dosage est linéaire pour des concentrations de lamotrigine dans le sérum de 0,5 à 20 µg/ml.

La limite de détection est 0,25 µg/ml.

Les antidépresseurs tricycliques classiques, les benzodiazépines, les autres antiépileptiques classiques, les salicylates et l'acétaminophène n'interfèrent pas dans le dosage.

I.2.3.5. - Détermination des benzodiazépines dans le sang total (38)

a) Principe

Le principe repose sur la détermination des benzodiazépines dans le sang total par chromatographie en phase gazeuse couplée à une spectrométrie de masse. Le fludiazépam est utilisé comme étalon interne.

Après extraction en phase solide par le dichlorométhane, la séparation est réalisée dans une colonne capillaire (15 m x 0,32 mm ; 0,25 µm). Les masses entre 242 et 394 m/z sont détectées en mode impact électronique.

b) Résultats

La linéarité est excellente dans une gamme de concentrations de 5 à 500 ng/ml de sang.

Les limites de détection pour le diazépam et pour le clonazépam sont respectivement 1 ng/ml et 20 ng/ml de sang.

Les rendements d'extraction pour le diazépam et pour le clonazépam sont respectivement 95,9% et 104,6% pour une concentration de 10 ng/ml.

L'extrait de l'échantillon blanc du sang total ne donne pas de pic qui interfère avec les benzodiazépines dans les chromatogrammes.

La limite de détection obtenue avec le spectromètre de masse qui est de l'ordre du ng/ml est meilleure que celle obtenue avec un détecteur thermoionique qui est en dessous du μ g/ml. Le détecteur à ionisation de flamme présente des limites de détection plus grandes qui sont de l'ordre du μ g/ml.

I.3. - ELECTROPHORESE CAPILLAIRE

Elle s'applique non seulement à la séparation des espèces non chargées, mais également à celle des espèces non chargées en mettant en profit l'introduction de certains additifs ou simplement le déplacement électro-osmotique.

I.3.1.- Détermination de l'acide valproïque dans le sérum (41)

a) Principe

Il s'agit de la détermination de l'acide valproïque dans le sérum humain par électrophorèse capillaire en solution libre avec détection fluorimétrique par excitation au laser. Le système tampon est optimisé avec 2,5 mM de phosphate borate à pH 8,4. L'acide hexanoïque est utilisé comme étalon interne. Après déprotéinisation du sérum par l'acétonitrile, la séparation est réalisée dans le système d'électrophorèse capillaire. La détection fluorimétrique indirecte est effectuée aux longueurs d'onde d'excitation et d'émission respectives de 488 nm et 520 nm.

b) Résultats

La gamme de concentrations linéaire pour l'acide valproïque est entre 4,5 et 144 µg/ml.

Les limites de détection et de quantification sont respectivement 0,9 µg/ml et 3 µg/ml.

Les rendements d'extraction absolus pour l'acide valproïque aux concentrations de 90 µg/ml et 54,2 µg/ml sont respectivement 69,2% et 60,02%.

Les antiépileptiques (éthosuximide, phénobarbital, primidone, phénytoïne, carbamazépine) n'interfèrent pas avec la détection de l'acide valproïque sous les conditions développées dans cette étude.

I.3.2. - Détermination de la carbamazépine et de ses principaux métabolites dans le plasma (33)

a) Principe

Le principe repose sur la détermination de la carbamazépine et de ses principaux métabolites (10, 11-diol carbamazépine, 10, 11 époxy carbamazépine) dans le plasma par chromatographie capillaire électrocinétique micellaire. L'étalon interne utilisé est le méthylpropyl succinimide. Après extraction liquide-liquide par l'acétate d'éthyle, la séparation est effectuée dans le système électrophorétique avec un système tampon constitué de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_4$ (pH 9,2) et de sulfate dodécyl sodium. La détection se fait par spectrophotométrie d'absorbance dans l'UV à la longueur d'onde de 210 nm.

b) Résultats

La limite de détection est 0,5 μM pour la carbamazépine (CBZ), 0,03 μM pour le 10,11-diol carbamazépine (CBZD) et 0,1 μM pour le 10, 11 époxy-carbamazépine (CBZE).

Les rendements d'extraction de la CBZ, du CBZD et du CBZE sont respectivement 100%, 93,2% et 83,4%.

L'électrophorégramme montre des pics des autres antiépileptiques (phénytoïne, éthosuximide, primidone) n'interférant pas dans le dosage. Aucune interférence des autres médicaments psychotropes (antidépresseurs, neuroleptiques, tranquillisants) n'est détectable donc la méthode est sélective.

II – DOSAGE DES ANTIEPILEPTIQUES DANS LES PREPARATIONS PHARMACEUTIQUES

Des méthodes chromatographiques et spectrofluorimétriques sont mises en œuvre pour mieux s'assurer de la qualité des médicaments.

II.1. - CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE HAUTE PERFORMANCE

II.1.1. - CLHP avec un détecteur spectrophotométrique

II.1.1.1- Analyse du clonazépam dans les comprimés (73)

a) Principe

Une méthode de chromatographie liquide haute performance à phase inverse et à petit calibre a été développée pour la détermination du clonazépam dans les comprimés. La méthode met en œuvre une détection UV à 254 nm et utilise une colonne (150 x 3 mm) remplie d'octyldécyl silane (5µm) avec une phase mobile constituée d'eau, de méthanol et d'acétonitrile (40 : 30 : 30, v/v/v). Le 1,2- dichlorobenzéne est utilisé comme étalon interne.

b) Résultats

La limite de détection pour le clobazam est 24 ng/ml.

Le rendement d'extraction est 101%.

L'interférence des agents conservateurs additionnés dans la forme comprimé n'est pas démontrée.

II.1.2. - CLHP avec un détecteur réfractométrique

II.1.2.1. - Dosage de la couche enrobée du topiramate dans les comprimés pelliculés (19)

a) Principe

Le principe repose sur la détermination de la couche enrobée du topiramate dans les comprimés pelliculés par chromatographie liquide haute performance. La colonne analytique est de type phényl/B à phase inverse (5 µm, 25cm x 4.6 mm) et l'élution se fait en mode isocratique.

b) Résultats

Les limites de détection et de quantification sont respectivement 0.7 µg/ml et 1 µg/ml.

Le rendement d'extraction est 99%.

La limite de détection obtenue avec le détecteur spectrophotométrique est plus basse que celle obtenue avec le détecteur réfractométrique.

II.2. - SPECTROFLUORIMETRIE

II.2.1. - Détermination du vigabatrin et de la gabapentine dans les préparations pharmaceutiques (3)

a) Principe

Il s'agit de la détermination du vigabatrin et de la gabapentine dans les préparations pharmaceutiques par spectrofluorimétrie. La méthode est basée sur la réaction entre la fonction amine primaire des deux médicaments et le fluoréscamine dans un tampon borate à pH 8,2 pour donner des dérivés hautement fluorescents qui sont détectés à des longueurs d'onde d'excitation et d'émission respectives de 472 nm et 390 nm.

b) Résultats

Les courbes de calibration sont linéaires dans une gamme de concentrations de 0,8 à 3,2 µg/ml.

Les limites de détection du vigabatrin et de la gabapentine sont respectivement 0,05 µg/ml et 0,06 µg/ml.

Les rendements d'extraction moyens du vigabatrin et de la gabapentine sont respectivement 100,21% et 99,43%.

Les excipients présents dans les formes pharmaceutiques n'interfèrent pas dans le dosage.

II.2.2. - Détermination de la carbamazépine dans les préparations pharmaceutiques (36)

a) Principe

Il s'agit de la détermination de la carbamazépine dans les préparations pharmaceutiques par spectrofluorimétrie après un flux d'injection photochimique. La carbamazépine est convertie par réaction photochimique en milieu acide chlorhydrique

dilué en un puissant composé fluorescent qui est détecté aux longueurs d'onde d'excitation et d'émission respectives de 254 nm et 478 nm.

b) Résultats

La courbe de calibration est linéaire dans une gamme de concentrations de carbamazépine de 2 à 250 ng/ml.

La limite de détection est 0,08 ng/ml.

Le rendement d'extraction est en moyenne 100%. Aucune interférence n'est démontrée lors du dosage.

II.2.3. - Détermination des 1,4-benzodiazépines dans les préparations pharmaceutiques (20)

a) Principe

Le principe consiste en la détermination des 1,4 – benzodiazépines (oxazépam, diazépam, nitrazépam) dans les préparations pharmaceutiques par spectrofluorimétrie après un flux d'injection. La méthode est basée sur la formation de produits fluorescents après hydrolyse avec l'acide sulfurique en milieu éthanolique ou méthanolique. Le produit fluorescent du diazépam est détecté aux longueurs d'onde d'excitation et d'émission respectives de 241 nm et 370 nm.

b) Résultats

La courbe de calibration du diazépam est linéaire dans une gamme de concentrations de 0,010 à 0,125 mg/ml.

La limite de détection du diazépam est 0,005 mg/ml.

Les excipients utilisés dans les préparations pharmaceutiques n'interfèrent pas dans le dosage.

II.2.4. - Détermination du vigabatrin dans les comprimés (59)

a) Principe

La méthode est basée sur la réaction de dérivatisation du vigabatrin avec le 7-chloro-4-nitrobenzofurazane en milieu alcalin. Après extraction par l'acétate d'éthyle, les intensités de fluorescence du dérivé sont mesurées aux longueurs d'onde d'excitation et d'émission respectives de 460 nm et 520 nm.

b) Résultats

La courbe de calibration est linéaire dans la gamme de concentrations de 0,05 à 1 µg/ml.

La limite de détection est 0,01 µg/ml.

Le rendement d'extraction est 106,10 %.

Les excipients présents dans les comprimés n'interfèrent pas dans l'analyse.

CONCLUSION

La découverte de nouveaux médicaments antiépileptiques a apporté un espoir pour une bonne prise en charge des patients souffrant d'épilepsie.

Le but du traitement antiépileptique est de contrôler les crises avec un minimum d'effets secondaires.

Cependant, tous les antiépileptiques présentent des effets indésirables parfois graves.

La dose et la fréquence de prise des médicaments antiépileptiques qui sont déterminées par la pharmacocinétique doivent être maîtrisées par les prescripteurs.

Comme il n'existe pas d'antiépileptique idéal, les problèmes pharmacocinétiques engendrés par les médicaments antiépileptiques doivent être pris en considération.

Le suivi thérapeutique, par le biais des dosages plasmatiques des médicaments antiépileptiques, est une aide précieuse pour le prescripteur.

Les dosages plasmatiques des médicaments antiépileptiques permettent d'évaluer et de tenir compte des particularités pharmacocinétiques de chaque médicament :

- effet inducteur enzymatique (phénobarbital, phénytoïne, carbamazépine) ;
- effet d'inhibition ou de compétition pour les enzymes du métabolisme (phénytoïne, phénobarbital) ;
- cinétique non linéaire, dose dépendante (phénytoïne) ;
- fixation sur les protéines plasmatiques et donc modification de la fraction libre en fonction des interactions ou de la concentration totale (acide valproïque), seule la fraction libre étant susceptible de pénétrer dans le cerveau ;
- activité pharmacologique anticonvulsivante des métabolites formés dans l'organisme et cinétique différente des métabolites et du produit parent (primidone, carbamazépine, diazépam ...).

Le dosage des médicaments antiépileptiques dans le sang fait appel le plus souvent à des techniques chromatographiques et dans une moindre mesure à des techniques électrophorétiques.

Des méthodes spectrofluorimétriques sont aussi utilisées pour le dosage de ces médicaments surtout dans les préparations pharmaceutiques.

En ce qui concerne ces méthodes, elles sont fiables et ont des limites de détection qui permettent de déterminer le taux plasmatique des médicaments chez les épileptiques à des fins de suivi thérapeutique.

Cependant, les techniques chromatographiques (CLHP et CPG) restent les méthodes de référence pour l'analyse des antiépileptiques.

Pour ce qui est du Sénégal, le dosage de ces médicaments antiépileptiques n'est pas effectué en routine à notre connaissance. Il importe donc en raison des problèmes de pharmacocinétique, d'interaction de ces médicaments, de la présence d'effets secondaires parfois graves et de mauvaise observance du traitement de mettre en œuvre un suivi thérapeutique par l'intermédiaire du dosage plasmatique des médicaments antiépileptiques.

BIBLIOGRAPHIE

1. BARBOSA N. R. AND MIDIO A. F.

Validated high-performance liquid chromatographic method for the determination of lamotrigine in human plasma.

J. Chromatogr. B. Biomed. Sci. Appl., 2000, 12 ; 741 (2) : 289-93.

2. BATTINO D., ESTIENNE M., AVANZINI G.

Clinical pharmacokinetics of antiepileptic drugs in pediatric patients.

Clin. Pharma., 1995, 29 : 341-369.

3. BELAL F., ABDINE H., AL-MAJED A., KHALIL N. Y.

Spectrofluorimetric determination of vigabatrin and gabapentin in urine and dosage forms through derivatization with fluorescamine ;

J. Pharm. Biomed. Anal., 2002, 27 : 253-260.

4. BERNARD C., HIRSCH J., BEN-ARI Y.

Récepteurs excitateurs glutamatergiques et épilepsie du lobe temporal ;

Rev. Neurol., 1997, 153 (Suppl 1) : 14-24.

5. BHATTI M. M., HANSON G. D. AND SCHULZ L.

Simultaneous determination of phenytoin, carbamazepine, and 10,11-carbamazepine epoxyde in human plasma by high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection.

J. Pharm. Biomed. Anal., 1998, 16 (7): 1233-1240.

6. BOISSY L. G.

Prise en charge de patients épileptiques dans un programme décentralisé de santé mentale le centre Dalal Xël de Thiès.

Thèse Méd., Dakar, 2001, n°38.

7. BOLNER A., TAGLIARO F. AND LOMEA A.

Optimised determination of clobazam in human plasma with extraction and high-performance liquid chromatography analysis.

J. Chromatogr. B., 2001, 750 : 177-180.

8. BOULAC M., ARZIMANOGLOU A., SEMAH F., CAVALCANTI D.

Options thérapeutiques offertes par les nouveaux médicaments antiépileptiques.

Rev. Neurol., 1997, 153 (1) : 21-33.

9. BRITZI M., SOBACK S., ISOHERRANEN N., LEVY R. H., PERUCCA E., DOOSE D. R., MARYANOFF B. E. AND BIALER M.

Analysis of topiramate and its metabolites in plasma and urine of healthy subjects and patients with epilepsy by use of a novel liquid chromatography-mass spectrometry assay.

Ther. Drug. Monit., 2003, 25 : 314-322.

10. BROGLIN D.

Etats de mal épileptique : bases pharmacocinétiques du traitement antiépileptique chez l'adulte.

Ann. Fr. Anesth. Réanim., 2001, 20 : 159-70.

11. BRUNI J.

Antiepileptic drug selection and adverse effects : an overview.

Can. J. Neurol. Sci., 1994, 21 : S3-S6.

12. BUREAU M., LASCHET J., MINIER F., CHAUVEL P.

Intervention de la neurotransmission GABAergique dans les épilepsies partielles.

Rev. Neurol., 1997, 153 : 46-54.

13. CHOLLET D. F., CASTELLA E., GOUMAZ L. AND ANDEREGG G.

Gas chromatography mass spectrometry assay method for the therapeutic drug monitoring of the antiepileptic drug tiagabine ;

J. Pharm. Biomed. Anal., 1999, 21 (3) : 641-646.

14. COMMISSION ON CLASSIFICATION AND TERMINOLOGY OF THE INTERNATIONAL LEAGUE AGAINST EPILEPSY.

Proposal for revised clinical and electroencephalographic classification of epileptic Seizures.

Epilepsia, 1981, 22 : 489-501

15. CONTIN M., RIVA R., ALBANI F. AND BARUZZI A.

Simple and rapid liquid chromatographic-turbo ion spray mass spectrometric determination of topiramate in human plasma.

J. Chromatogr. B., 2001, 761 : 133-137.

16. CORNELIS J., CHAILLET F.

Détermination simultanée par chromatographie liquide haute performance de huit antiépileptiques et sédatifs dans le plasma.

Ann. Biol. Clin., 1984, 42 : 295-299.

17. CROCI D., SALMAGGI A., GRAZIA U. AND BERNARDI G.

New high-performance liquid chromatographic liquid method for plasma/serum analysis of lamotrigine.

Ther. Drug. Monit., 2001, 23 : 665-668.

18. DASGUPTA A., HART A. P.

Lamotrigine analysis in plasma by gas chromatography-mass spectrometry after conversion to a tert. butyldimethylsilyl derivative ;

J. Chromatogr. B. Biomed. Sci. Appl., 1997, 693 (1) : 101-7.

19. DEPAULIS A., DERANSART C. VERGNES M., MARESCAUX C.

Mécanismes GABAergiques dans les épilepsies généralisées : la dimension Neuroanatomique.

Rev. Neurol., 1997 ; 153 : 8-13.

20. DOLEJŠOVÁ J., SOLICH P., POLYDOROU C. K., KOUPPARIS M. A. AND EFSTATHIOU C. E.

Flow-injection fluorimetric determination of 1,4-benzodiazepines in pharmaceutical formulations after acid hydrolysis ;

J. Pharm. Biomed. Anal., 1999, 20 : 357-362.

21. DOMINGUEZ A. M., PEIRÓ M. E. C., AGUSTI M. G., TOMÁS J. V. M. AND ROMERO J. E.

Therapeutic drug monitoring of anticonvulsant drugs by micellar HPLC with direct injection of serum samples.

Clin. Chem., 2002, 48 : 1696-1702.

22. DUONG H. T., GUH H. Y., KO C. Y., MICHEEL A. P., THAKUR M. S.

A HPLC assay for coating integrity of topiramate sprinkle formulation ;

J. Pharm. Biomed. Anal., 2002, 29 : 69-74.

23. EMILIEN G., MALOTEAUX J.M.

Pharmacological management of epilepsy. Mechanism of action, pharmacokinetic drug interactions and new drug discovery possibilities.

Int. J. Clin. Pharma. Ther., 1998, 36 : 181-194.

24. ERTURK S., AKTAS E. S. AND ATMACA S.

Determination of vigabatrin in human plasma and urine by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection.

J. Chromatogr. B., 2001, 760 : 207-212.

25. FARINOTTI R., PFAFF M. C. ET MAHUZIER G.

Dosage simultané du phénobarbital et de l'acide valproïque dans le plasma par chromatographie liquide haute performance.

Ann. Biol. Clin., 1978, 36 : 347-353.

26. FAUGHT E., SACHDEO R. C., REMLER M. P. AND AL.

Felbamate monotherapy for partial-onset seizures : an active-control trial.

Neurology, 1993, 43 : 688-692.

27. FRANCK G.

Les médications antiépileptiques.

Rev. Méd., Liège, 1996, 51 (1) : 53-60.

28. GAUTHIER D. AND GUPTA R.

Determination of gabapentin in plasma by liquid chromatography with fluorescence detection after solid-phase extraction with a C₁₈ column.

Clin. Chem., 2002, 48 : 2259-2261.

29. GRAM L.

Tiagabine : a novel drug with a GABAergic mechanism of action.

Epilepsia, 1994, 35 (Suppl 5) : S85-S87.

30. GRANT S. M., HEEL R. C.

Vigabatrin. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic potential in epilepsy.

Drugs, 1991 ; 41 : 889-926.

31. GUSTAVSON L. E., CHU S. Y.

High-performance liquid chromatographic procedure for the determination of tiagabine concentrations in human plasma using electrochemical detection.

J. Chromatogr., 1992 ; 574 : 313-318.

32. HAAS H. L., BOURGEOIS B. F. D.

Anticonvulsivants ;

In : Pharmacologie des concepts fondamentaux aux applications thérapeutiques.
Schorderet M. et coll., 3e éd., 1998, 28 : 435-444.

33. HÄRTTER S., JENSEN B., HIEMKE C., LEAL M., WEIGMANN H. AND UNGER K.

Micellar electrokinetic capillary chromatography for therapeutic drug monitoring of carbamazepine and its main metabolites ;
J. Chromatogr. B., 1998, 712 : 253-258.

34. HEMPENIUS J., HENDRIKS G., HINGSTMAN J., MENSINK C. K., JONKMAN J. H. AND LIN C. C.

An automated analytical method for the determination of felbamate in plasma by robotic sample preparation and reversed-phase high performance liquid chromatography.

J. Pharm. Biomed. Anal., 1994, 12 (11): 1443-51.

35. HOUIN G. et coll.

Pharmacocinétique, 1990.

36. HUANG C., HE Q. AND CHEN H.

Flow injection photochemical spectrofluorimetry for the determination of carbamazepine in pharmaceutical preparations.

J. Pharm. Biomed. Anal., 2002, 30 (1) : 59-65.

37. HWEI C. S., LUNG W. H., CHIOU S. M., SHANG K. H.

Trace analysis of ethosuximide in human plasma with a chemically removable derivatizing reagent and high-performance liquid chromatography.

J. Chromatogr. B., 1999, 729 : 111-117.

38. INOUE H., MAENO Y., IWASA M., MATOBA R., NAGAO M.

Screening and determination of benzodiazepines in whole blood using solid-phase extraction and gas chromatography/mass spectrometry.

Forensic. Sci. Int., 2000, 113 : 367-373.

39. JALLON P.

Epilepsy in developing countries. II AE Workshop Report.
Epilepsia, 1997, 38 : 1143-1151.

40. JALLON P. ET PERRIG S.

Médicaments, crises épileptiques et épilepsie.
Rev. Méd., Suisse Normande, 2003, 123 : 11-15.

41. JIN L. J., WANG T. AND LI S. F. Y.

Indirect laser-induced fluorescence detection of valproic acid in human serum by capillary electrophoresis ;
Electrophoresis, 1999, 20 : 1856-1861.

42. JONES A. L., PROUDFOOT A. T.

Features and management of poisoning with modern drugs used to treat epilepsy.
Q. J. Med., 1998, 91 : 325-332.

43. KABRA P. M., NELSON M. A., MARTON L. J.

Simultaneous very fast liquid-chromatographic analysis of ethosuximide, primidone, phenobarbital, phenytoin, and carbamazepine in serum.
Clin. Chem., 1983, 29 (3): 473-6.

44. KATZUNG B. G.

Pharmacologie fondamentale et clinique.
7^eéd., 2000.

45. KEMP J. A., FOSTER A. C., WONG E. H.

Non-competitive antagonists of excitatory amino acid receptors ;
Trends Neurosci., 1987 ; 10 : 294-298.

46. KHIL R. K. EL, BATT A.-M., SIEST G., TRIDON P. ET WEBER M.

Méthode de dosage de la diphenylhydantoin et du phénobarbital par chromatographie en phase gazeuse.
Path. Biol., 1975, 23 (5) : 409-416.

47. KRIVANEK P., KOPPATZ K. AND TURNHEIM K.

Simultaneous isocratic HPLC determination of vigabatrin and gabapentin in human plasma by dansyl derivatisation.
Ther. Drug. Monit., 2003, 25 : 374-377.

48. LANGTRY H. D., GILLIS J. C., DAVID R.

Topiramate. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and clinical efficacy in the management of epilepsy.
Drugs, 1997, 54 : 752-73.

49. LEACH J. P., BRODIE M. J.

Tiagabine.
Lancet, 1998, 351 : 203-207.

50. LENTE F. V. AND GATAUTIS V.

Cost-efficient use of gas chromatography-mass spectrometry : a “piggy back” method for analysis of gabapentin.

Clin. Chem., 1998, 44 : 2044-2045.

51. LEVERT H., ODOU P., ROBERT H.

Simultaneous determination of four antiepileptic drugs in serum by high-performance liquid chromatography.

Biomed. Chromatogr., 2002, 16 : 19-24.

52. LEVY R. H., MATTSON R. H., MELDRUM B. S.

Antiepileptic drugs.

Raven Press, New York, 1995.

53. LOISEAU P.

Interactions médicamenteuses chez les épileptiques.

Thérapie, 1995, 50 : 227-228.

54. MACDONALD R. L., MELDRUM B. S.

Principles of antiepileptic drug action.

In : Antiepileptic drugs.

Levy R., Mattson R., Meldrum B., Penry J.K., Dreifuss F. E.

éd. *Raven Press*, New York, 1989, 3rd : 59-83.

55. MELDRUM B. S.

Excitatory amino acid transmitters in epilepsy.

Epilepsia, 1991, 32 (Suppl 2) : S1-S2.

56. MOULIN M.

Pharmacologie.

Masson édit., Paris Milan Barcelone, 1998.

57. MOUTON P., DEFER G.-L.

Cas clinique. Troubles comportementaux par intoxication aiguë au vigabatrin.

Rev. Neurol., 2000, 156 (2) : 184-186.

58. NAU H., JESDINSKY D., WITFOHT W.

Microassay for primidone and its metabolites phenylethylmalondiamide, phenobarbital and p-hydroxy phenobarbital in human serum, saliva, breast milk and tissues by gas chromatography-mass spectrometry using selected ion monitoring.

J. Chromatogr., 1980, 182 (1) : 71-9.

59. OLGUN N., ERTURK S., ATMACA S.

Spectrofluorimetric and spectrophotometric methods for the determination of vigabatrin in tablets ;
J. Pharm. Biomed. Anal., 2002, 29 : 1-5.

60. PATSALOS P. N.

New antiepileptic drugs.
Ann. Clin. Biochem., 1999, 36 : 10-19.

61. POQUETTE M. A.

Isothermal gas chromatographic method for the rapid determination of felbamate concentration in human serum.
Ther. Drug. Monit., 1995, 17 (2) : 168-73.

62. PORTER R. J., MELDRUM B. S.

Antiépileptiques.
In : Pharmacologie fondamentale et clinique.
Katzung B.G.
5e éd., 1996, 23 : 413-437.

63. QUEIROZ M. E., SILVA S. M., CARVALHO D., LANCAS F. M.

Determination of lamotrigine simultaneously with carbamazepine, carbamazepine epoxide, phenytoin, phenobarbital and primidone in human plasma by solid-phase microextraction and gas chromatography with thermoionic specific detection.

J. Chromatogr. Sci., 2002, 40 (4) : 219-23.

64. RAMBECK B., SPECHT U., WOLF P.

Pharmacokinetic interactions of the new antiepileptic drugs.
Clinical Pharm., 1996, 31 : 309-324.

65. RICARD M. B., COURAUD F.

Rôle des canaux ioniques potentiel dépendants dans l'épileptogènèse.
Neurophysiol. Clin., 1993, 395-421.

66. RICHARD L., LEDUCQ B., BATY C. AND JAMBOU J.

Dosage plasmatique de sept médicaments usuels par chromatographie liquide haute performance.
Ann. Biol. Clin., 1989, 47 : 79-84.

67. SACHDEO R., KRAMER L. D., ROSENBERG A., SACHDEO S.
Felbamate monotherapy : controlled trial in patients with partial onset seizures.
Ann. Neurol., 1992, 32 : 386-392.

68. SADZOT B.
Pharma Clinics. Le médicament du mois : le topiramate (Topamax®).
Rev. Méd., Liège, 2000, 55 (2) : 114-116.

69. SCHEEN A. J.
Pharma Clinics. Le médicament du mois : la lamotrigine (Lamictal®).
Rev. Méd., Liège, 1997, 52 (11) : 738-740.

70.- SCHEEN A. J.
Actualités thérapeutiques 2000.
Rev. Méd., Liège, 2000, 55 (9) : 852-861.

71. SCHEEN A. J.
Actualités thérapeutiques 2001.
Rev. Méd., Liège, 2001, 56 (9) : 612-624.

72. SEMAH F. ET BOULAC M.
Epilepsies.
Encycl. Méd. Chir., (Elsevier, Paris), Thérapeutique, 1996, 25-441-A-10 : 10 p.

73. SPELL J. C. AND STEWART J. T.
Analysis of clonazepam in a tablet dosage form using small bore HPLC.
J. Pharm. Biomed. Anal., 1998, 18 : 453-460.

74. TAYLOR C. P.
Mechanism of action of new anti-epileptic drugs.
R. Soc. Med. Serv. Limit., 1993, 198 : 13-40.

75. THOMAS P.
Les nouveaux médicaments antiépileptiques.
Presse Médicale, 2003, 33 : 410-9.

76. THOMAS P.
Traitement médical des épilepsies.
Encycl. Méd. Chir., (Elsevier, Paris), Neurologie, 1999, 17-045-A-50 : 11 p.

77. THOMAS P., ARZIMANOGLOU A.
Abrégés d'épilepsie.
Masson édit., Paris Milan Barcelone, 2000.

78. TRIMBLE M. R.

Les effets cognitifs des médicaments antiépileptiques.

Rev. Neurol., 1987, 143 : 420-429.

79. UGLAND H. G., KROGH M., RASMUSSEN K. E.

Liquid-phase microextraction as a sample preparation technique prior to capillary gas chromatographic-determination of benzodiazepines in biological matrices ;

J. Chromatogr. B., 2000, 749 : 85-92.

**80. VEYRAC G., MARCADE G., CHIFFOLEAU A., BOURIN M.
et JOLLIET P.**

Caractéristiques du système d'hypersensibilité à la lamotrigine : revue à partir d'un cas observé au CRPV de Nantes.

Thérapie, 2002, 57 (3) : 289-296.

81. WAD N. AND KRÄMER G.

Sensitive high-performance liquid chromatographic method with fluorometric detection for the simultaneous determination of gabapentin and vigabatrin in serum and urine.

J. Chromatogr. B., 1998, 705 : 154-158.

82. WASTERLAIN C. G., WALLIS R. A., ADAMS L. M., PANIZZON K.

Felbamate is a potent neuroprotective agent.

Epilepsia, 1993, 34 (Suppl 2) : 92.

83. WEBER M.

Que peut-on attendre des nouveaux médicaments antiépileptiques ?

Presse Médicale, 1999, 28 (15) : 791-792.

84. WEBER M.

Actualités des nouveaux médicaments antiépileptiques.

Let. Neurol., 1999, Vol 3 (5) : 298-302.

85. WOLF C. E., CROOKS C. R. AND POKLIS A.

Rapid gas chromatographic procedure for the determination of topiramate in Serum.

J. Anal. Toxicol., 2000, 24 (7) : 661-3.