

## **Développement d'une méthode de screening urinaire pour le suivi de l'observance et le diagnostic de la résistance au traitement antihypertenseurs**

Dorine Mommarty<sup>1,2</sup>, Yeleen Fromage<sup>2</sup>, Sylvain Dulaurent<sup>2</sup>, Caroline Monchaud<sup>2</sup>, Pierre Marquet<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Faculté de Pharmacie Limoges, DFASP2 filière internat (promotion « Mandragore ») ;

<sup>2</sup>CHU de Limoges, service de Pharmacologie, Toxicologie et Pharmacovigilance, CBRS, 2<sup>ème</sup> étage

### **Introduction**

L'hypertension artérielle est une maladie avec une prévalence importante en France. Elle est asymptomatique et silencieuse au début puis peut s'aggraver en cas d'absence de prise en charge adaptée ou d'inobservance de la part du patient.

### **Méthode d'analyse par HPLC-MS/MS**

La méthode développée est un screening urinaire des molécules antihypertensives. Cette méthode inclut une extraction liquide-solide (cartouches SPE OASIS<sup>®</sup> MCX 3C.), une séparation HPLC (colonne HALO C18 2,7 $\mu$ m;2,1 mm;50 mm avec un débit de phase mobile de 400  $\mu$ L/min pour un gradient 2-98) et une détection des différentes molécules d'intérêts via le logiciel de retraitement Analyst<sup>®</sup> sur un spectromètre de masse en tandem (Sciex<sup>®</sup> QTRAP 5500). Le temps d'analyse de 6 min par molécule.

A ce jour, cette méthode permettrait de déceler 54 molécules antihypertensives (et leurs métabolites) sur 61 disponibles sur le marché Français. A notre connaissance, cette méthode permet de cibler certaines molécules n'ayant pas encore fait l'objet de méthode de détection.

Actuellement cette méthode est en cours d'optimisation au sujet des molécules fortement métabolisées, donc très peu retrouvées sous forme inchangées dans les urines (< 1%) comme les dihydropyridines. Une recherche bibliographique des métabolites est menée afin d'intégrer ces derniers dans la méthode.

### **Conclusion**

L'observance thérapeutique est très importante dans la réussite du traitement de l'hypertension artérielle et cette méthode d'analyse permettrait d'apporter une aide au clinicien afin de différencier les patients non-répondeurs des patients non-observants.

# "Développement d'une méthode de screening urinaire pour le suivi de l'observance et le diagnostic de la résistance au traitement antihypertenseurs"

Dorine Mommarty<sup>1,2</sup>, Yeleen Fromage<sup>2</sup>, Sylvain Dulaurent<sup>2</sup>, Caroline Monchaud<sup>2</sup>, Pierre Marquet<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Faculté de Pharmacie Limoges, DFASP2 filière internat (promotion « Mandragore ») ;  
<sup>2</sup>CHU de Limoges, service de Pharmacologie, Toxicologie et Pharmacovigilance, CBRS, 2ème étage.

## L'hypertension artérielle (HTA) :

L'HTA se définit comme une **pression artérielle  $\geq 140/90$  mmHg** mesurée en consultation et persistant dans le temps.

C'est une **maladie généralement asymptomatique** et silencieuse au départ, elle se découvre de manière fortuite la plupart du temps. Cependant **quelques signes** peuvent faire évoquer une HTA comme des **maux de têtes, des saignements de nez (épistaxis), une asthénie, une insomnie** ou encore **une nervosité**. Au cours du temps, si l'HTA n'est pas traitée, elle peut **s'aggraver et provoquer des détériorations** au niveau des organes ce qui amène à une **majoration des symptômes**.

## Traitements antihypertenseurs :

Le traitement permet de **réduire le risque de morbi-mortalité cardiovasculaire sur le long terme** en diminuant les atteintes organiques et leurs progressions.

Il existe des **traitements non médicamenteux** (qui sont la première action à mettre en place) comme l'instauration de mesures hygiéno-diététiques ou **médicamenteux** : les **antihypertenseurs** (ou **anti-HTA**). Les anti-HTA sont divisés en **6 sous-familles** : les **diurétiques**, les **bétabloquants**, les **inhibiteurs calciques**, les **interférants avec le SRAA**, les **alpha-bloquants** et les **anti-HTA d'action centrale**. Ils ont chacun un mécanisme d'action et une structure bien spécifique.

## L'objectif :

L'objectif de cette méthode de screening urinaire est d'apporter une aide au clinicien afin de faire la différence entre un **patient non-répondeur** et un **patient non-observant**.

Pour cela cette méthode a pour but de **rechercher qualitativement les molécules** et leurs **métabolites** dans les urines.

## Méthode d'analyse par HPLC-MS/MS :

Cette méthode cible **54 molécules** (dont leurs métabolites) sur 61 molécules disponibles sur le marché Français à ce jour. Les molécules ont été sélectionnées en fonction de leur fréquence de vente en officine et en fonction de leur données pharmacocinétiques (demi-vie, prodrogue ou non, % forme inchangée dans les urines, voie d'élimination).

La **spectrométrie de masse** est une technique de **détection** sensible et spécifique des molécules. Pour cette technique l'échantillon à analyser doit être **conditionné** pour **optimiser au maximum la qualité de détection** de cette méthode, c'est pour cela qu'une étape **d'extraction liquide/solide** et une étape de **séparation HPLC** sont ajoutées au processus au préalable.

Actuellement cette méthode est **en cours d'optimisation** au sujet des **molécules fortement métabolisées**, donc très peu retrouvées sous forme inchangées dans les urines (< 1%) comme les **dihydropyridines**. Une recherche bibliographique des métabolites est menée afin d'intégrer ces derniers dans la méthode.

### Extraction

Cartouche SPE OASIS® MCX 3C

### Séparation : HPLC

Colonne chromatographique HALO C18  
2,7 micromètres, 2,1 mm, 50 mm avec un  
débit de phase mobile de 400 microl/min,  
un gradient 2-98 et un temps d'analyse de  
6 min.

### Détection : MS/MS

Spectromètre de masse  
Sciex® QTRAP 5500  
et logiciel de détection Analyst®

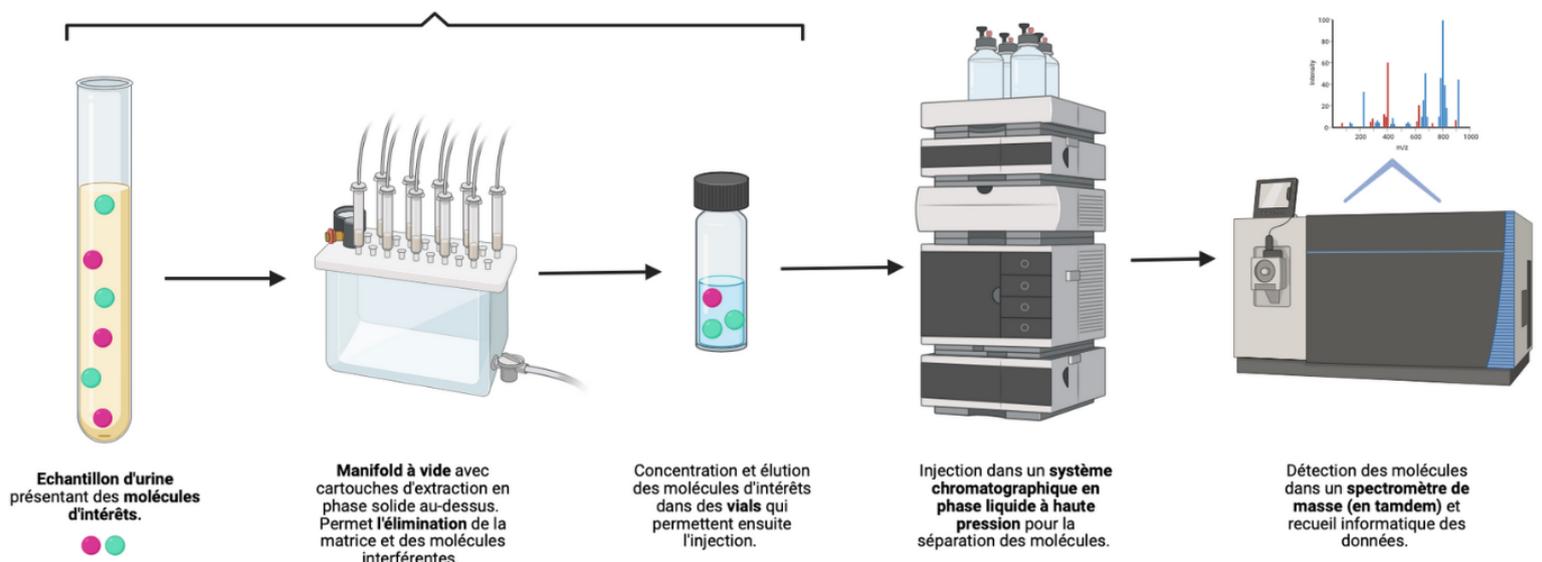


Schéma récapitulatif des différentes étapes techniques de la méthode d'analyse par HPLC-MS/MS.