



**HAL**  
open science

# Antidépresseurs imipraminiques : mise au point du dosage par CPG dans les milieux biologiques

Benoît Pinteur

► **To cite this version:**

Benoît Pinteur. Antidépresseurs imipraminiques : mise au point du dosage par CPG dans les milieux biologiques. Sciences pharmaceutiques. 1993. dumas-03210957

**HAL Id: dumas-03210957**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03210957>**

Submitted on 28 Apr 2021

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

## AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance.

La propriété intellectuelle du document reste entièrement celle du ou des auteurs. Les utilisateurs doivent respecter le droit d'auteur selon la législation en vigueur, et sont soumis aux règles habituelles du bon usage, comme pour les publications sur papier : respect des travaux originaux, citation, interdiction du pillage intellectuel, etc.

Il est mis à disposition de toute personne intéressée par l'intermédiaire de [l'archive ouverte DUMAS](#) (Dépôt Universitaire de Mémoires Après Soutenance).

Si vous désirez contacter son ou ses auteurs, nous vous invitons à consulter la page de DUMAS présentant le document. Si l'auteur l'a autorisé, son adresse mail apparaîtra lorsque vous cliquerez sur le bouton « Détails » (à droite du nom).

Dans le cas contraire, vous pouvez consulter en ligne les annuaires de l'ordre des médecins, des pharmaciens et des sages-femmes.

Contact à la Bibliothèque universitaire de Médecine Pharmacie de Grenoble :

[bump-theses@univ-grenoble-alpes.fr](mailto:bump-theses@univ-grenoble-alpes.fr)



115 015441 3

UNIVERSITÉ JOSEPH FOURIER  
LE I - SCIENCES - TECHNOLOGIE - MEDECINE

2<sup>e</sup> exemplaire

U.F.R. DE PHARMACIE  
Domaine de la Merci - LA TRONCHE

ANNÉE 1993

N° D'ORDRE 7061

**ANTIDEPRESSEURS IMIPRAMINIQUES :  
MISE AU POINT DU DOSAGE PAR C.P.G.  
DANS LES MILIEUX BIOLOGIQUES**

**THESE**

Présentée à l'Université Joseph FOURIER - GRENOBLE I  
pour obtenir le grade de DOCTEUR EN PHARMACIE

Par

**Monsieur Benoit PINTEUR**

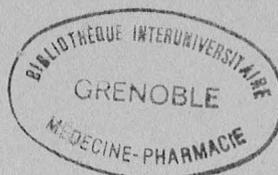
*[Données à caractère personnel]*

Cette thèse sera soutenue publiquement le 22 décembre 1993  
Devant Mademoiselle le Professeur J. ALARY, Président du Jury

et

**Madame C. GROSSET, maître de conférences**

**Madame N. JOURDIL, praticien hospitalier**



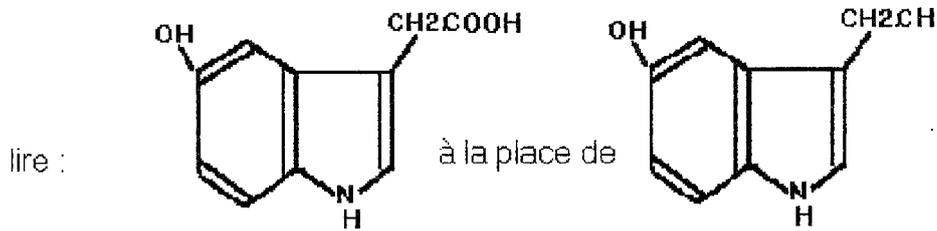
## ERRATUM

- Page II: 1.4.4. lire : "Autres traitements"  
1.6.2. et 1.6.3 lire : " traitement" à la place de "traitemeny"
- Page III 5.1. lire : "techniques" à la place de "traitemeny"  
5.1.2. lire : "techniques immunofluorimétriques" à la place de "techniques"
- Page IV V lire : "extension" à la place de "extensionde"
- Page V 2.1 lire : "OV1" à la place de "OV"  
3.2.4. lire: "reproductibilité"à la place de "reproductibnilité"
- Page 2 lire : "lui-même" à la place de "lui même"
- Page 3 lire : " lui-même" à la place de "lui même"
- Page 4 lire : "\_" à la place de "\*"
- Page 6 lire : "ralentit" à la place de "ralentie"
- Page 7 lire : "psychologique," à la place de "psychologique-on"  
lire : "lui-même" à la place de "lui même"
- Page 8 lire : "cardio-vasculaire" à la place de "cardio vasculaire"  
lire : "anxieuses" à la place de "anxieuse"

Page 9 lire : "soi-même" à la place de "soi même"

Page 10 lire : " auto-agressivité" à la place de "auto-agressivité"

Page 13 lire " 5 OH INCOLACETALDEHYDE" à la place de "5 OH INDOLACETALDEHIDE"



Page 14 lire "le L.C.R." à la place de "la L.C.R."

lire "il semble "à la place de "il emble"

Pages 16/17 "la plaquette reste cependant, un reflet approximatif du système nerveux central, car elle ne renferme que la MAOb" doit se trouver en page 17 après "...Il pourrait en moduler l'action, ce "recepteur" à l'imipramine étaye l'hypothèse sérotoninergique des dépressions"

Pages 21 lire "Anafranil<sup>r</sup> Tofranil<sup>r</sup> Pertofran<sup>r</sup>" à la place de "Anafranil r Tofranil r pertofran r"

Page 32 lire " demi-vie" à la place de "demi vie"

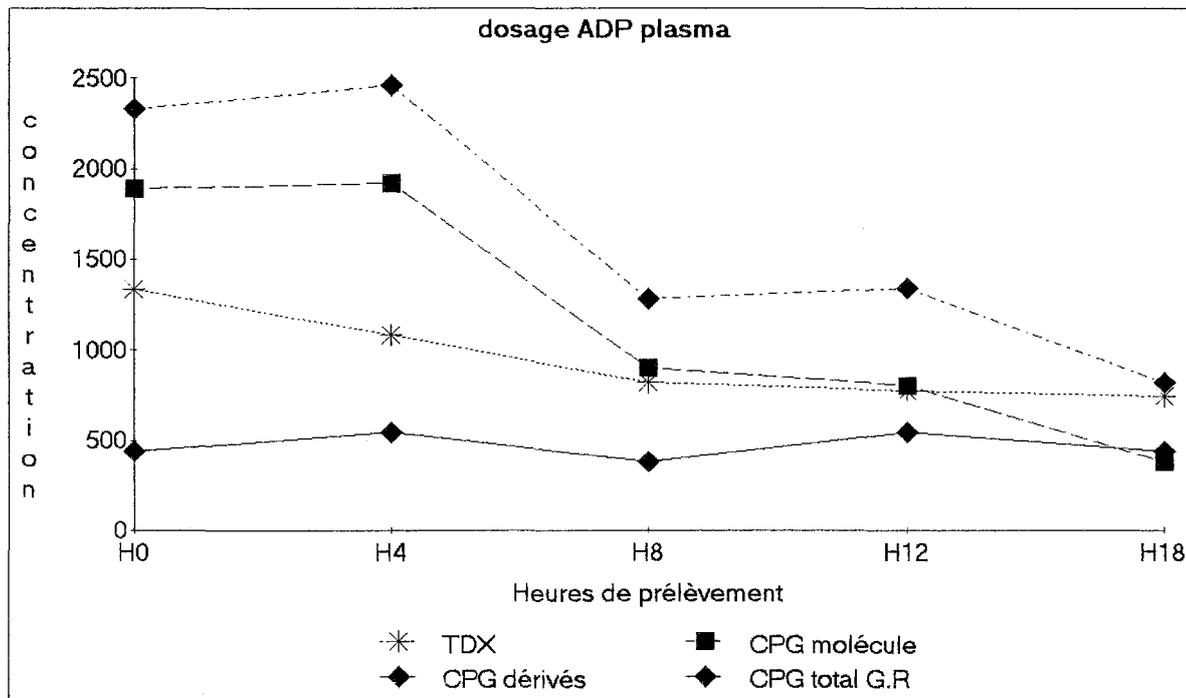
Page 33 lire "biotransformations" à la place de "biotransformation"

Page 34 lire "nortriptyline" et "amitriptyline" à la place de "nortriptiline" et "amitriptiline"

- Page 36 lire "racourcissement du temps" à la place de "racourcissement de temps"
- Page 38 lire "global" à la place de "globale"
- page 41 lire "cliniciens" à la place de "clinitiens"
- Page 43 lire "solutions mère" à la place de "solution mère"
- Page 45 lire "méthylsilicone" à la place de "méthylsilicone"
- Page 48 lire dans le tableau "trimipramine µl à 1mg/ml ; D.M.trimipramine µl à 1mg/ml ; O.H.trimipramine µl à 1mg/ml" à la place des concentrations à 10mg/ml
- Page 49 lire "standard" à la place de "standards"
- Pages 51 et suivantes lire "facteur de réponse" à la place de "facteur de linéarité"
- Pages 52 et suivantes dans les tableaux lire "Y/X" à la place de "X/Y"
- Page 61 lire : "observations" à la place de "observation"
- Page 62 lire "amitriptyline" à la place de "amitriptiline"
- Page 69 lire "recueillie" et "différente" à la place de "recueillie" et "différent"  
lire dans le tableau "trimipramine µl à 1mg/ml ; D.M.trimipramine µl à 1mg/ml ; O.H.trimipramine µl à 1mg/ml" à la place des concentrations à 10mg/ml
- Page 74 lire dans la légende du graphique "total C.P.G. G.R." à la place de "total C.P.G."

Page 80 lire dans le tableau "1344 et 822" à la place de "1210 et 1040"

Page 81 le graphique est modifié comme suit :



Page 83 lire "alimémazine" à la place de "alinémazine" et "apolaire" à la place de "appolaire"

Page 84 lire "silicone" à la place de "siliconne"  
lire "celles observées" à la place de "celle observé"  
lire "seule l'épaisseur du film a été modifiée" à la place de "seul.....modifié"

Page 85 lire "nortriptyline" à la place de "nortriptiline"

Page 86 lire "nortriptyline" à la place de "nortriptiline"

Page 97 lire "dosages" à la place de "dosage"  
lire "n'est pas dû" à la place de "n'est pas due"

Page 99

lire "susceptible" à la place de "succeptible"

Page 100

lire "HAMI" à la place de "HAMA"

Page 101

lire "MADRS" à la place de "MADRES"

Page 102

lire "12 personnes traitées" à la place de "12 personnes traités"

Page 113

lire "analytique" à la place de "anakytique"

lire "...anticholinergique centrale..." à la place de "...anticholinergique central"

Page 112

lire "1985" à la place de "1885"

Page 117

lire "doxépine" à la place de "dothiépine"

lire "1992 à la place de "1192"

SOMMAIRE :

## II

### Remerciement

<u>Introduction</u>	1
<u>I La dépression</u>	2
1. Définition	2
1.1 Symptomatologie de base	3
1.2. Les différents types de dépression	5
1.2.1. la dépression endogène	5
1.2.2. la dépression exogène, névrotique, réactionnelle	8
1.2.3. les dépressions associées ou symptomatiques	11
1.3. Biologie de la dépression	12
1.3.1. le catabolisme des amines	13
1.3.2. modification des activités enzymatiques	16
1.3.3. modification des activités endocriniennes	16
1.3.4. études des sites récepteurs membranaires	17
1.4 Traitements de la dépression	18
1.4.1. diagnostic	18
1.4.2. les différents traitements de la dépression	18
1.4.3. les antidépresseurs	19
1.4.4.	25
1.5. Choix du traitement antidépresseur	27
1.6. Instauration, poursuite et surveillance du traitement	28
1.6.1. instauration	28
1.6.2. la réponse au traitement est favorable	29
1.6.3. la réponse au traitement est défavorable	29
1.6.4. l'arrêt du traitement	30



### III

<b><u>II Pharmacologie des imipraminiques</u></b>	<b>32</b>
1. Pharmacocinétique	32
2. Métabolisme	33
3. Relation entre effet thérapeutique et concentration	34
4. Antidépresseurs et suivi thérapeutique	36
4.1 le suivi thérapeutique pourquoi ?	36
4.2 le suivi thérapeutique comment	37
5. méthodes de dosages	38
5.1 technique immunologiques	38
5.1.1 immunoenzymologiques = E.M.I.T.	38
5.1.2. immunofluorimétrie = F.P.I.A.	39
5.2 Techniques chromatographiques	40
5.2.1 H.P.L.C.	40
5.2.2. C.P.G.	40
<b><u>III Dosage de la trimipramine et de ses métabolites dans le plasma</u></b>	<b>41</b>
1. Matériel	41
1.1 Reactifs	41
1.2. Traitement de la verrerie pour l'extraction	43
1.3. Préparation des solution mères	43
1.4. Préparation des solutions diluées	44
1.5. Appareillage	45

## IV

<b>2. Protocole</b>	47
<b>3. validation de la technique</b>	50
3.1 Linéarité	51
3.2. Limite de linéarité	55
3.3 Répétabilité	55
3.4 Reproductibilité	57
3.4 Limite de détection	58
3.6 Pourcentage de récupération	59
3.7 Spécificité/sélectivité	61
<b>4. Discussion</b>	63
<b>5. Application clinique</b>	65

### IV Application de la méthode au dosage de la trimipramine et de ses dérivés dans les globules rouges

<b>1. Adaptation de la méthode plasmatique aux globules rouges</b>	67
<b>2. Protocole</b>	68
<b>3. validation</b>	69
<b>4. Applications cliniques</b>	73

### V Extension de la méthode

<b>1. Dosage plasmatique et intra-érythrocytaire de la clomipramine</b>	75
1.1 linéarité du dosage plasmatique	76
1.3 conclusion	77

## V

<b>2. Elimination des problèmes d'interférences</b>	<b>82</b>
2.1 colonnes OV	83
2.2 colonne SE54	84
2.3 colonne OV1701	85
2.4 colonne spiravax	86
2.5 colonne Carbowax 20M-AM	87
2.6 conclusion	
<b>3. Modification de la technique avec le midazolam comme standard interne : dosage simultané de la clomipramine et de la trimipramine</b>	<b>89</b>
3.1 Utilisation d'un standard interne unique pour le dosage de la trimipramine et de la clomipramine	90
3.2 Validation de la nouvelle méthode	90
3.2.1. linéarité dans le plasma	90
3.2.2 étude dans les globules rouges	92
3.2.3 répétabilité	93
3.2.4. reproductibilité	95
3.2.5. conclusion	96
<b><u>VI Application clinique</u></b>	<b>97</b>
1. but de l'étude	97
2. méthodologie	98
3. population de l'étude	99
5. évaluation clinique	100

## VI

<u>CONCLUSION</u>	109
<u>BIBLIOGRAPHIE</u>	110
<u>ANNEXES</u>	118

• *A Mademoiselle le professeur J. ALARY*

*qui me fait l'honneur de présider ce jury de thèse. Qu'elle veuille bien trouver, ici, l'expression de ma gratitude.*

• *A Madame C. GROSSET*

*qui me fait l'honneur de juger ce travail. Je la prie d'accepter mes sincères remerciements.*

• *A Madame N. JOURDIL*

*qui m'a accueilli au sein de son équipe, m'a donné tous les moyens pour mener à bien ce travail et aussi pour sa constante gentillesse. Je la remercie sincèrement.*

• *A Messieurs les professeurs GAVEND et BESSARD, ainsi qu'à toute l'équipe du Laboratoire de Pharmacologie du Centre Hospitalier Régional et Universitaire de Grenoble qui m'ont souvent conseillé et fréquemment aidé tout au long de mon stage hospitalier.*

*Qu'ils trouvent ici, l'expression de ma reconnaissance.*

## INTRODUCTION :

Le but de ce travail est la mise au point d'une nouvelle méthode de dosage d'antidépresseurs tricycliques par chromatographie en phase gazeuse et son application clinique.

Dans une première partie, nous présenterons des données sur la dépression et sur son traitement.

Nous exposerons par la suite les caractéristiques pharmacologiques des antidépresseurs tricycliques ainsi que les méthodes actuelles permettant d'effectuer leur dosage.

Nous décrirons dans la troisième partie, la méthode de dosage, sa validation, son application au dosage de la trimipramine et de ses métabolites dans le serum.

La technique sera ensuite appliquée au dosage intra-érythrocytaire de la trimipramine et de ses dérivés.

Puis la méthode sera utilisée pour le dosage de la clomipramine et améliorée, pour permettre le dosage simultané des deux médicaments précédemment testés.

Ce dosage par chromatographie gazeuse est proposé pour le suivi thérapeutique des antidépresseurs lors d'un essai clinique

# I La dépression

## 1 Définition (1) (4) (16) (18) (20)

La dépression du point de vue de la psychologie médicale, correspond à une traduction physique et psychique d'une régression du Moi. C'est un mouvement de repli de l'individu sur lui même et sur son monde intérieur, accompagné d'une autoagressivité s'exerçant au nom de ses principes moraux, ses interdits, ses idéaux.

D'un point de vue psychiatrique, la dépression est la manifestation d'un trouble de *l'humeur ou thymie*, qui selon la définition de Jean DELAY correspond à : "la disposition affective de base qui donne à chacun de nos états d'âme une tonalité agréable ou désagréable, oscillant entre les deux pôles extrêmes du plaisir et de la douleur."

D'un point de vue neurophysiologique, la dépression se traduirait par une stimulation excessive du système sympathique et une inhibition du tonus parasympathique.

On distingue trois grands types de dépression : endogène, psychogène (ou névrotique) et symptomatique (ou associée).

### 1.1. symptomatologie de base :(1)(4)(10)(16)(18)(33)

Quelles que soient les dépressions, il existe une symptomatologie de base présente à des degrés divers :

- affaissement de l'humeur, élément sémiologique élémentaire, qui se traduit par les signes cliniques suivants :

- tristesse morbide qui s'exprime par un pessimisme global. Le patient se sous estime, se désintéresse de tout ce qui n'a pas de rapport avec sa pathologie.

- refus de communiquer, avec cependant un besoin d'aide ressenti : le déprimé veut que sa dépression soit partagée, sans pour autant exprimer ce qu'il attend de son entourage.

- rupture du comportement : le patient dit "ne plus être lui même", l'entourage ne le reconnaît plus, il y a apparition de symptômes, tel que l'irritabilité, le refus de certaines règles sociales....

- inhibition psychomotrice marquée par un ralentissement tant physique que cérébral :

- sentiment de fatigue intense qui empêche tout effort. Le patient est sans force, las, asthénique, épuisé. Cette fatigue est généralement matinale et correspond à la traduction somatique d'un refus d'action, d'une angoisse à affronter une nouvelle journée.

- sentiment de lenteur qui s'exprime par une difficulté de mémorisation, de concentration, accompagnée par une diminution de l'élocution, une absence totale de créativité et d'initiative.

- une démarche et une mimique prostrée sont souvent observées.

- la douleur morale : s'exprime dans sa forme la plus élémentaire par une auto-dépréciation qui peut évoluer vers une autoaccusation, une autopunition.

- Le malade se persuade de son inutilité de son incapacité.

- le déprimé se concentre sur son vécu douloureux, ses plaintes, ses alarmes, il se sent incurable.

- \* le sentiment d'angoisse est omniprésent, entretenu par une agressivité retournée contre soi.

D'autres manifestations s'ajoutent à ces trois critères majeurs de la dépression :

- manifestations somatiques :

- Troubles digestifs (nausées) accompagnés par des troubles de l'appétit, généralement dominés par l'anorexie ; les déprimés étant souvent des personnes amaigries.

- Algies diverses telles que les céphalées (syndrome d'atlas), des sensations de suffocations, d'oppressions respiratoires, des palpitations.

- Inappétences sexuelles, impuissance, frigidité.

- Troubles vasomoteurs, sudation excessive, extrémités froides, hypotension artérielle.

Ces manifestations somatiques sont souvent exprimées par des plaintes lancinantes, obsédantes renforcées par des poussées anxieuses.

- Troubles du sommeil :

Il s'agit généralement de difficultés d'endormissement, et surtout de réveil précoce avec impossibilité de se rendormir.

Il semble que l'architecture du sommeil soit perturbée (diminution du sommeil profond, phases III et IV et apparition précoce du sommeil paradoxal)

Tout se passe comme si l'angoisse partiellement dominée le jour, par l'investissement psychique du déprimé, se réveillait la nuit provoquant des cauchemars et des insomnies. Ceci augmentant la fatigue matinale, le sentiment d'incapacité et créant un véritable cercle vicieux dont il est difficile de sortir.

- Les idées suicidaires :

Le déprimé se concentre sur sa pathologie, il a le sentiment d'être pris au piège, "d'être englué". Le suicide lui semble être la seule réponse à ses angoisses. Ce risque suicidaire est fondamental et doit être évalué en fonction de l'intensité de la dépression, du type de dépression, des antécédents personnels et familiaux de passage à l'acte.

**1.2. Les différents types de dépression :** (1)(4) (11) (16) (18)(20)

**1.2.1 la dépression endogène :**

C'est la dépression qui correspond à la forme la plus typique, elle appartient au groupe des affections maniaco-dépressives. Les psychoses maniaco-dépressives peuvent être bi-polaires, c'est à dire avec accès maniaques entre les phases dépressives ou unipolaires, uniquement dépressives, correspondant alors au diagnostic de mélancolie.

### Origine de la mélancolie :

Il ne semble pas y avoir d'éléments extérieurs déclenchants francs. La dépression endogène serait due à des facteurs héréditaires, confirmés par l'étude des antécédents familiaux des patients développant ce genre de pathologie.

Il semblerait qu'une perturbation du métabolisme cérébral, avec modification de la teneur en amine biogène serait à l'origine des accès mélancoliques.

### Chronologie et symptomatologie de la dépression endogène :

#### - symptôme "d'installation" :

L'état mélancolique se constitue habituellement assez lentement; Pendant des semaines voir des mois, le malade accuse une certaine asthénie, des céphalées, de la difficulté à travailler, un manque de goût général et surtout une insomnie qui s'aggrave progressivement. Il devient soucieux, son activité professionnelle se ralentie.

#### - Symptôme d'état :

L'attitude : Le mélancolique demeure assis, immobile, le corps plié, la tête fléchie. Son visage exprime la tristesse dans une mimique prostrée, les yeux sont grands ouverts, le regard est fixe. Le malade, accablé ne parle pas, il gémit ou pleure.

L'inhibition : Le mélancolique se sent impuissant à vouloir, il s'abandonne à l'inertie , à l'apathie. L'asthénie du début a atteint un degré tel, que le malade n'a même plus la force de se lever. L'inhibition physique est le symptôme le plus constant, il y a réduction globale de toute force, comme une sorte de

paralysie. Du point de vue psychologique-on observe un ralentissement de l'idéation, les associations sont difficiles, l'évocation est pénible, l'effort et la synthèse mentale sont impossibles. L'attention est focalisée sur les thèmes mélancoliques, la perception du monde extérieur est partiellement modifiée, il semble au malade qu'il vit dans une atmosphère froide, lointaine et irréelle. Le mélancolique est souvent bloqué dans un semi mutisme, parfois un mutisme complet.

Les sentiments dépressifs : Ils sont caractéristiques de la maladie, et envahissent progressivement la conscience du déprimé. Il a de la peine à exprimer sa douleur morale, faite de dégoût de découragement, de désespoir. Cette tristesse est monotone, profonde, résiste aux sollicitations de l'entourage. Le mélancolique éprouve un sentiment vague, diffus, d'insécurité, qui provoque des poussées d'angoisse, des sentiments d'incapacité et auto-dépréciation. Le pessimisme ne s'exprime pas toujours clairement, mais constitue une orientation générale : "l'avenir est bouché, le sujet ne s'en sortira pas...". Ce sentiment vise surtout le sujet lui même, c'est l'auto-accusation. L'hypochondrie, qui est la crainte et à la fois le désir de la maladie, est présente.

Les idées mélancoliques peuvent s'exprimer sous formes délirantes, monotones, (le malade répète toujours les mêmes idées) et passives ( le malade accepte "ses malheurs" avec une accablante fatalité). Les thèmes les plus souvent exprimés sont la culpabilité (fautes ,souillures, péchés, damnation...), la frustration (ruine, l'échec, perte d'un passé idéal...), la négation corporelle (disparition du coeur, esprit inexistant, malformation...), la possession (esprit habité par un être supérieur, ou un animal).

Signes Physiques : Les troubles digestifs sont constants, accompagnés de troubles hépato-biliaires. L'examen cardio vasculaire montre des perturbations du pouls et de la tension (hypotonie dans les dépressions à dominante inhibitrice, hypertonie dans celles à dominante anxieuse). aménorrhées, hypotonie musculaire et désordres neurologiques sont fréquents.

Le suicide : Il est constant et s'exprime du simple refus d'alimentation à la véritable tentative de suicide. Ce suicide est obsédant, sans cesse imaginé, sans cesse recherché, mettant le mélancolique en perpétuel danger de mort.

Le passage à l'acte est très soudain, sans signe d'alarme, inattendu car souvent successif à un état de calme apparent, à une pseudo régression de la maladie.

- Evolution : la crise mélancolique évolue spontanément en plusieurs mois, et finit généralement comme elle a commencé, c'est à dire lentement. Les rechutes sont toujours à redouter, d'autant plus que certaines formes se transforment en forme chronique (mélancolie chronique simple ou délires chroniques mélancoliques)

### 1.2.2. la dépression exogène, névrotique, réactionnelle :(1)

C'est un type d'affection plus couramment rencontré qui s'exprime de façon moins "violente" que dans le cas d'une dépression endogène.

### Origine de la dépression psychogène :

Contrairement à la dépression endogène, il semble que ce type d'affection survienne après des expériences vécues comme une frustration. Il ne faut cependant pas écarter le fait que, certaines personnes sont plus prédisposées que d'autres à développer ce type de maladie. L'origine de la névrose remonterait, pour les psychanalystes, à l'enfance sous forme d'un vécu "oedipien" mal ressenti : conflit intra-psychique, angoisse de castration suivie d'un sentiment d'insécurité permanent dans la relation avec les autres. Cette fragilité ou tendance névrotique peut ne jamais s'exprimer. La "crise de dépression névrotique" est fondamentalement différente de la psychose maniaco-dépressive, dans le sens où un facteur déclenchant lui est associé. Le phénomène déclenchant peut être un deuil, une déception, un abandon, un échec social ou professionnel.

Cette origine implique un mode de relation à autrui basé sur un immense besoin de l'autre pour pouvoir exister soi même.

Aucun facteur héréditaire ne semble intervenir dans l'apparition de la dépression névrotique.

### Chronologie de la dépression exogène.

Le mécanisme est complexe et imbriqué. Il est déclenché par l'apparition d'une frustration qui engendre l'agressivité, laquelle engendre la culpabilité, la crainte de perdre l'estime et l'affection d'autrui. Finalement, l'agressivité se retourne contre le sujet qui "auto stresse" et provoque une angoisse intolérable.

Les symptômes associés:

Il y a peu ou pas de troubles d'attitude, contrairement à la dépression endogène.

En revanche, on peut noter :

- Inhibition et angoisse : L'inhibition est beaucoup moins marquée que dans la dépression endogène, on retrouve cependant les symptômes d'asthénies,, de fatigue matinale...

- Anxiété: elle est généralement intense, spectaculaire, paralysante et parfois théâtrale. Elle est souvent en relation avec l'événement causal. Tout se passe comme si le patient considèrait soudain que les difficultés de la vie étaient devenues insurmontables. L'événement déclenchant provoque chez le sujet un effondrement des structures affectives et sentimentales établies, comme si jusqu'à présent il vivait dans l'imaginaire et qu'il venait de se réveiller et devait faire face à une réalité à laquelle il n'est pas préparé. Le sentiment d'impuissance semble être le centre de la conscience du déprimé névrotique.

- Idées dépressives : on les retrouve comme dans la dépression endogène, mais elles n'ont pas de caractères délirants. Le patient a très souvent conscience de son état, il voudrait en sortir et émet une demande d'aide continue et répétitive à son entourage. Le malade se fait des reproches, mais il se plaint, veut qu'on l'écoute, le reconforte.

- Auto-agressivité : elle est moins violente que celle observée chez les mélancoliques. Il s'agit plus d'une auto frustration qui entretient le sentiment d'infériorité.

- Symptômes physiologiques : Ils sont peu différents de ceux observés dans la dépression endogène : désordres digestifs, cardio-vasculaires, neuro-végétatifs.

- suicide : le comportement du déprimé névrotique est moins radical, il s'agit souvent de réaction pseudo-suicidaire ou même de chantage au "suicide". Il faut cependant rester vigilant, car certains cas de syndromes névrotiques évoluent en prenant l'aspect de dépression endogène.

L'évolution et l'intensité de la maladie sont variables, et souvent non proportionnelles à l'événement déclenchant.

### 1.2.3. Les dépressions associées ou symptomatiques :

Ce sont des éléments dépressifs en rapport avec une affection psychiatrique, ou une affection somatique, qu'il faut systématiquement rechercher.

- les états dépressifs symptomatiques d'une psychose :

La plupart des psychoses débutent par un accès dépressif aigu. On observe ainsi des épisodes dépressifs avec poussées délirantes dans les cas de schizophrénie.

Les thèmes délirants tels que le délire de négation, d'énormité, d'immortalité, et d'hypochondrie que l'on rencontre chez les mélancoliques se systématisent en une obsession.

D'autres maladies sont associées à la dépression, c'est le cas de l'épilepsie. Ces états dépressifs sont de durées très variables : de quelques heures à plusieurs semaines. Dans tous les cas, le suicide est à redouter.

- les états dépressifs symptomatiques des affection cérébrales :

Des modifications de l'humeur peuvent se rencontrer, lors des affections organiques, d'où la nécessité d'un examen général complet pour déceler l'origine d'une dépression. Les principales affections organiques du système nerveux central susceptibles d'entraîner un état dépressif sont les tumeurs cérébrales, les méningo-encéphalites syphilitiques, l'encéphalite épidémique, la sclérose en plaques, etc. Par ailleurs, un syndrome dépressif peut être observé après un traumatisme crânien, concomitant à une cure de désintoxication (chez les alcooliques ou les toxicomanes), dans la sénilité, après une modification hormonale (thyroïdectomie, post-partum), ou même d'origine iatrogène.

### 1.3. biologie de la dépression :(10)(14)(22)(23)(29)

De nombreuses recherches, effectuées sur des modèles expérimentaux, ainsi que des études chez des déprimés, mettent en évidence l'existence d'anomalies biochimiques accompagnant les dépressions.

Ces troubles biologiques, participant à l'effondrement de l'humeur, seraient particulièrement observés dans les dépressions endogènes. Cependant, aucune théorie biologique des dépressions n'a pu être établie avec certitude, même si l'hypothèse d'un déficit en amine biogène semble être la plus probable.

Les perturbations biochimiques suspectées dans les phénomènes dépressifs sont:

- le catabolisme des amines.
- la modification des activités enzymatiques.
- la modification des activités endocriniennes
- l'état membranaire de certaines cellules

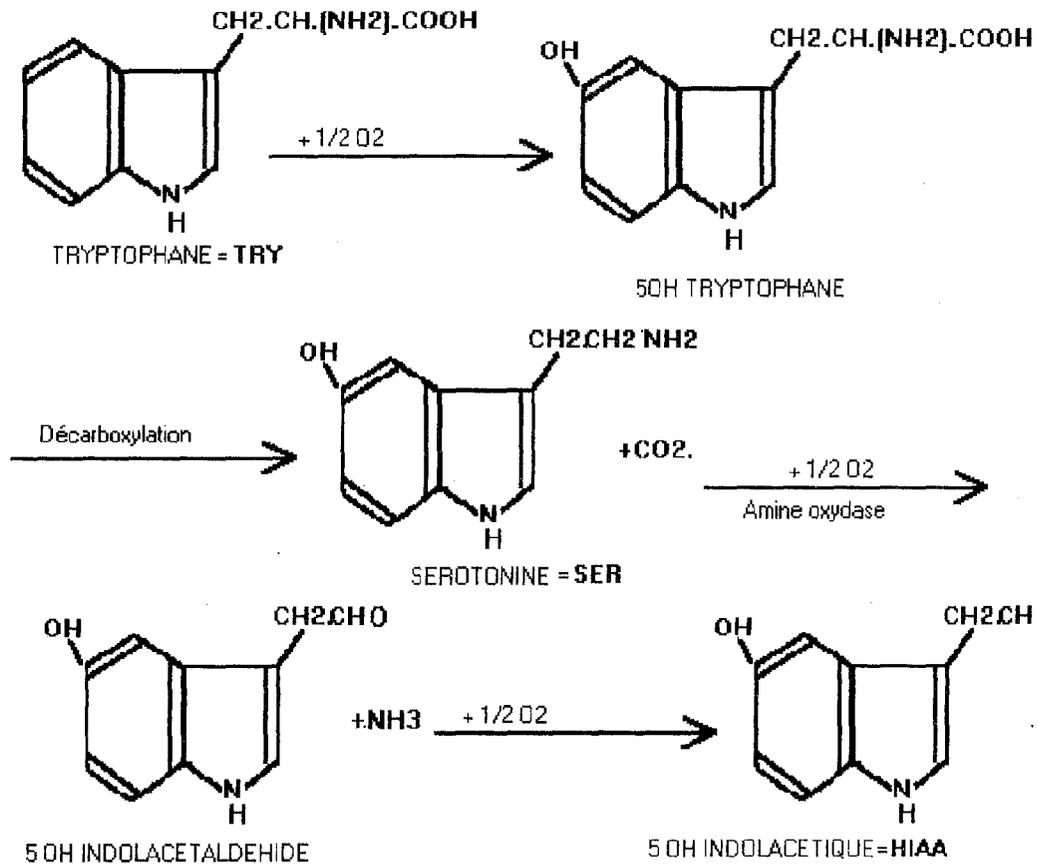
### 1.3.1. Le catabolisme des amines :

Les monoamines cérébrales, sérotonine, noradrénaline et dopamine ont été très étudiées.

- La sérotonine :

Le système sérotoninergique est étudié à partir du précurseur (tryptophane = TRY) et du principal métabolite (l'acide 5 hydroxyindolacétique = HIAA) de la sérotonine (= SER)

#### métabolisme de la sérotonine



Les sujets déprimés seraient caractérisés par un taux de TRY abaissé, une diminution du rapport TRY/acides aminés, une modification circadienne du taux de TRY.

De plus, le taux de H.I.A.A. déterminé dans la L.C.R. est abaissé

Le métabolisme plaquettaire de la SER s'avère lui aussi perturbé.

- la noradrénaline :

L'étude de la voie noradrénergique est effectuée à partir de deux de ses catabolites, l'acide 3-methoxy 4-hydroxy-phenyl-glycolique (M.H.P.G.) et le 3-4-hydroxy-phenyl-glycol (D.O.P.E.G.).

Le MHPG glucuronoconjugué étant principalement d'origine périphérique, le dérivé sulfoconjugué d'origine centrale sera dosé préférentiellement.

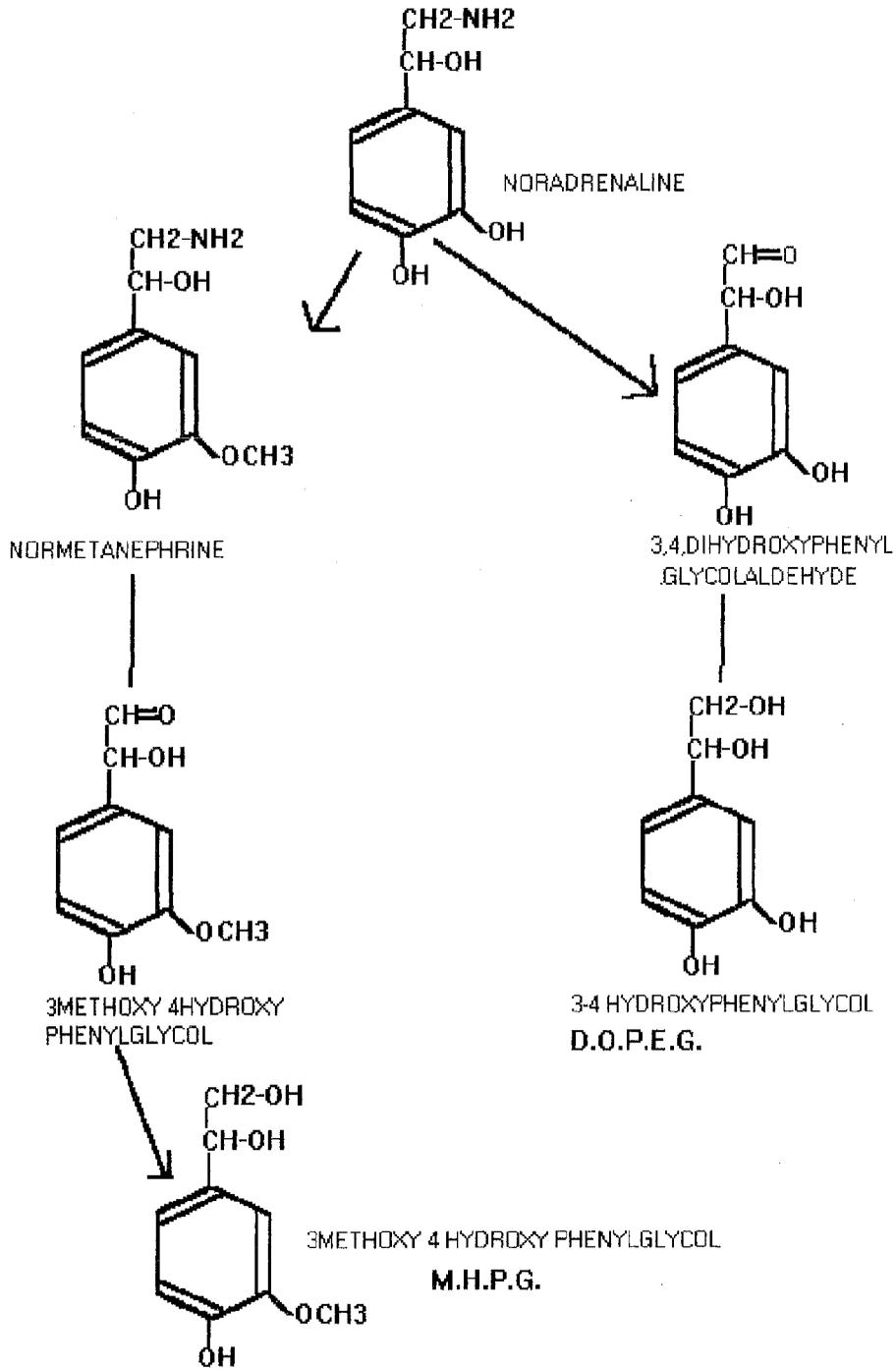
Les résultats des dosages du M.H.P.G. permettent de séparer les déprimés en deux catégories : ceux atteints d'une hyposécrétion de NA (taux de métabolite inférieur au témoin) et ceux dont la sécrétion est normale, voire augmentée.

Ces derniers auraient, selon Goodwin, une hyposécrétion de sérotonine. En réalité il semble que l'hypothèse dualiste de la dépression ne soit pas adaptée : certains patients déprimés présentent une hyposécrétion de M.H.P.G. et également une baisse de sécrétion de S.E.R.

Le D.O.P.E.G. provient de la désamination de la NA par la MAO. Le taux de ce métabolite est abaissé chez les patients déprimés. Cependant les résultats obtenus ne sont pas homogènes et différents facteurs indépendants de l'état pathologique étudié pourraient intervenir sur l'excrétion de ce catabolite.

La voie noradrénergique aurait un rôle dans la dépression, mais la justification de cette hypothèse n'est pas encore clairement établie.

métabolisme de la noradrénaline



- la dopamine :

Plusieurs arguments permettent de dire que ce neuromédiateur aurait un rôle dans certaines dépressions. En effet, le taux d'acide homovanillique est diminué dans les cas de dépressions endogènes, caractérisées par une inhibition motrice : Analogie avec l'hypokinésie du parkinsonien.

### 1.3.2. modification des activités enzymatique :

Les systèmes enzymatiques responsables du catabolisme des monoamines ont été particulièrement étudiés :

La C.O.M.T. serait responsable de l'inhibition motrice, mais n'expliquerait pas l'altération de l'humeur.

L'activité de la M.A.O. plaquettaire a été trouvée diminuée dans les psychoses maniaco-dépressives bipolaires et augmentée dans les dépressions unipolaires.

La plaquette reste cependant, un reflet approximatif du système nerveux central, car elle ne renferme que la MAOb.

### 1.3.3. modification des activités endocriniennes :

On observe une augmentation du cortisol, ainsi qu'une modification du rythme circadien de l'ACTH et du cortisol.

L'axe hypothalamo-hypophysio-thyroïdien est lui aussi altéré : modification du rythme de sécrétion de la TSH, de la T<sub>3</sub> et T<sub>4</sub> au cours du nyctémère.

Modification de la sécrétion de l'hormone de croissance, et de la prolactine.

#### 1.3.4. Etude des sites récepteurs membranaires :

- Au niveau plaquettaire, ont été mis en évidence des sites de liaison à haute affinité pour l'imipramine (premier des antidépresseurs tricycliques). Les études faites sur les plaquettes de déprimés révèlent une diminution de ces sites de liaison. Cependant ces résultats même si ils sont contestés, posent le problème du rôle et de l'identité de ces sites de liaison, et soulèvent la question de l'existence d'un ligand endogène responsable des dérèglements de l'humeur. Il apparaît, que ce site de fixation serait en étroite relation avec le site de capture de la SER, mais il lui est différent. Il pourrait en moduler l'action, ce "récepteur" à l'imipramine étaye l'hypothèse sérotoninergique des dépressions.

- L'étude des récepteurs adrénérgiques donne des résultats contradictoires : selon le type de marqueurs utilisés on obtient, soit une réponse identique chez les patients déprimés et les témoins, soit une augmentation des sites  $\alpha_2$  adrénérgiques qui se normalise après traitement. La densité des sites  $\alpha_2$  adrénérgiques serait modifiée. D'autres études concluent à une modification des récepteurs  $\beta$ -adrénérgiques post synaptiques lors de la dépression.

D'autres altérations sont observées lors des dépressions comme : une modification du sommeil paradoxal, du taux de sécrétion de GABA et des endorphines.... La variété des anomalies permet de nombreuses hypothèses sur l'origine de la maladie et rend difficile l'explication des mécanismes. Il existe cependant de très fortes présomptions pour que la dépression soit due à une modification des voies monoaminergiques et plus particulièrement sérotoninergiques.

#### 1.4. traitements de la dépression : (8)(12)(14)(16)(23)(30)(34)

##### 1.4.1. diagnostic :

Le diagnostic est basé sur l'observation et la reconnaissance des principaux signes cliniques (*cf 1.1. symptôme de base*) Pour connaître la gravité de la dépression et le type de dépression, le médecin dispose d'échelles d'évaluations (M.A.D.R.S, DSM III, HARD, COVI, HAMILTON). Ces "outils" fournissent des renseignements d'ordre qualitatif et quantitatif sur la dépression : intensité, évaluation du potentiel suicidaire, orientation (inhibitrice, anxieuse...)

Par exemple le diagramme H.A.R.D est constitué de 4 pôles qui comportent chacun 3 items appréciés de 0 à 6 (*annexe I*) On peut définir ainsi l'humeur, l'anxiété, le ralentissement, le danger qui affectent le patient.

Ces renseignements permettent au médecin d'orienter le diagnostic et de choisir correctement le traitement adapté.

##### 1.4.2. les différents traitements. de la dépression :

A l'origine, calmer la douleur morale était la principale préoccupation des prescripteurs. L'utilisation de sédatifs (opium, laudanum, barbituriques) fut longtemps l'unique possibilité de traitement.

On utilisa ensuite la sismothérapie ou électrochoc qui fut le seul traitement efficace avant l'apparition des antidépresseurs. Il est à noter que la sismothérapie est toujours employée dans certains cas.

En 1957 deux produits sont proposés aux psychiatres :

-l'iproniazide, qui est au départ un antituberculeux. L'effet antidépresseur a été confirmé et l'iproniazide est à l'origine de la synthèse de la famille des I.M.A.O.

-l'imipramine, dont les dérivés sont les antidépresseurs tricycliques (imipraminiques).

- une dernière "famille" est récemment apparue les non-I.M.A.O. non-imipraminiques qui regroupent un grand nombre de structures chimiques différentes.

#### 1.4.3. Les antidépresseurs :(8)(12)(14)(16)

Tous agissent sur le métabolisme des neurotransmetteurs mono-aminergiques. Ils peuvent ainsi avoir une action préférentielle sur l'un d'entre eux, mais aucun n'a de spécificité absolue.

L'instauration d'un traitement antidépresseur demande une grande surveillance, compte tenu des effets secondaires possibles.

L'action de ces médicaments est retardée, les délais d'action sont variables en fonction des molécules utilisées et surtout du malade : l'effet est observé après 10 à 15 jours de traitement, voir 3 à 4 semaines pour les I.M.A.O. Le suivi thérapeutique a donc une très grande importance et l'arrêt prématuré n'est à envisager qu'en cas d'apparition d'effets secondaires graves ou de survenue d'une pathologie interdisant l'emploi de ces médicaments.

L'amélioration de l'état du patient, se fait en premier par la levée de l'inhibition. Cette reprise psychomotrice peut constituer un danger en favorisant la tentative de suicide en début de traitement.

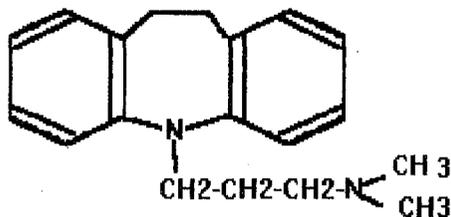
On peut éventuellement observer des inversions de l'humeur sous forme d'états maniaques.

La prise de poids est généralement observée avec l'amélioration. Elle peut être importante et constituer un motif d'arrêt du traitement de la part du malade, surtout si celui-ci n'a pas été prévenu.

L'apparition d'une hypotension artérielle orthostatique est fréquente, ainsi qu'un certain nombre de troubles sexuels et une diminution de la libido.

### les tricycliques : (15)(19)(33)

Le chef de file de ces médicaments est l'imipramine :



Ce sont des antidépresseurs de base qui agissent en s'opposant à la recapture des amines biogènes, sérotonine et noradrénaline. Leur délai d'action est généralement de 15 jours, les premiers effets thérapeutiques étant la levée de l'inhibition, une reprise de l'appétit et surtout une amélioration du sommeil. Cette action sédatrice varie selon les produits, ce qui permet de les distinguer en antidépresseurs sédatifs anxiolytiques et en stimulants désinhibiteurs. Ces différences sont vraisemblablement dues à une action préférentielle au niveau adrénergique pour les stimulants ou sérotoninergique pour les sédatifs.

Cas des Antidépresseurs (ADP) stimulants : Anafranil r Tofranil r Pertofran r

Ces produits sont réactivateurs de l'angoisse, pouvant même activer l'insomnie, ils sont associés à une médication anxiolytique sédatrice. Ils sont prescrits en prise matinale pour éviter les perturbations du sommeil. L'autre risque important est l'action précoce sur le ralentissement sans normalisation de la thymie : le potentiel suicidaire est exacerbé par un passage à l'acte "facilité".

Les ADP sédatifs sont le Laroxyl<sup>®</sup> le Surmontil<sup>®</sup> Ludiomil<sup>®</sup>. Ces médicaments sont très appréciés en début de traitement, car ils permettent de retrouver un certain calme, mais leur composante sédatrice limite leur posologie.

Tous les ADP tricycliques ont des actions anticholinergiques qui provoquent des effets secondaires : sécheresse de la bouche, sueurs, constipation, trouble de l'accommodation visuelle, troubles urinaires, tachycardie, bouffée vaso-motrice. Ils ont aussi des composantes adréno-lytiques et centrales qui provoquent les désordres suivants : hypotension orthostatique, sédation, tremblement, convulsions.

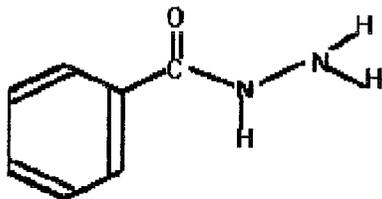
Certains de ces effets indésirables nécessitent une modification des posologies ou même un arrêt du traitement.

Les contre-indications majeures sont le glaucome à angle fermé, l'hypertonie prostatique, l'insuffisance rénale ou hépatique, les accidents cardio-vasculaires ou cardiaques, l'épilepsie ou l'alcoolisme.

L'association avec les I.M.A.O. est formellement interdite, de même que la co-prescription de plusieurs ADP. Les psychotropes doivent être prescrits avec prudence avec un traitement antidépresseur.

les I.M.A.O. :(8)(14)(16)(30)(34)

l'iproniazide ou Marsilid<sup>®</sup> est le premier médicament de ce type :



Leur utilisation n'est pas très répandue, en France tout du moins, car les prescripteurs redoutent les incompatibilités avec certains aliments et les anesthésiques. Leur action se situe au niveau du catabolisme des amines en inhibant l'enzyme "destructeur". Ils contribuent donc à l'augmentation du taux de neuromédiateurs au niveau synaptique.

Ces molécules ont peu d'effets anticholinergiques et pas d'effet sédatif. En revanche le temps de latence est de 3 à 4 semaines. L'absence d'effet sédatif impose généralement la co-prescription d'anxiolytiques et de somnifères, la tolérance est alors excellente, mais souvent une insomnie rebelle accompagnée d'une angoisse réapparaît.

Les effets secondaires les plus fréquents sont l'hypotension orthostatique et les troubles de la libido.

Les risques imputés aux I.M.A.O. sont d'ordre cardio-vasculaires sous la forme de collapsus, d'hypertension artérielle paroxystique. Ces manifestations sont dues à la potentialisation des effets vasopresseurs de certaines substances, telle que la tyramine que l'on retrouve dans de nombreux aliments (fromages fermentés, banane, chocolat...). D'autres substances médicamenteuses à actions vasopressives sont à proscrire : les sympathicomimétiques (dans le Dénorol<sup>r</sup>), les bêta-bloquants, les amphétaminiques .

L'association I.M.A.O./L.Dopa est fortement contre-indiquée compte tenu des risques d'hypertension. De même la co-prescription I.M.A.O./morphiniques ainsi que celle de tous les anesthésiques est dangereuse et a fait déjà l'objet d'accidents graves.

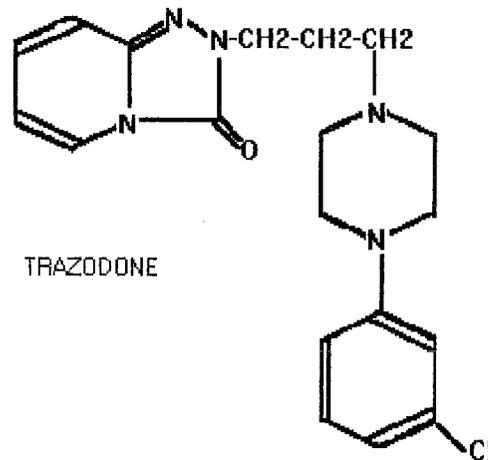
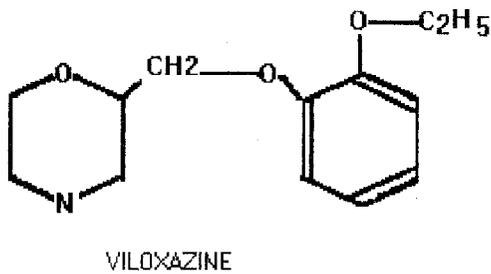
Il est à rappeler que les I.M.A.O. ne doivent jamais être prescrits en même temps que les tricycliques et qu'un changement de traitement (interruption des I.M.A.O. et introduction des ADP imipraminiques) doit être opéré seulement après un délai de 15 jours suivant l'arrêt du traitement initial.

Ces médicaments sont généralement employés à tort en seconde intention après un échec avec les ADP tricycliques.

Les nouveaux ADP, non-I.M.A.O., non-tricycliques :8)(14)(16)(30)(34)

Ils sont de structures chimiques très hétérogènes, on peut citer le Vivalan<sup>f</sup> ou viloxazine ainsi que la trazodone ou Pragmarel<sup>f</sup>.

Structure chimique des deux produits les plus utilisés :



Ces médicaments sont rarement utilisés en première intention, mais plutôt comme relais après échec, intolérance ou contre-indication des ADP classiques.

Ils semblent être moins anticholinergiques, surtout pour le Vivalan<sup>f</sup>, leur action est prédominante sur la sérotonine. Ils peuvent être associés aux I.M.A.O.

Les effets secondaires et le mécanisme d'action sont particuliers à chaque produit .

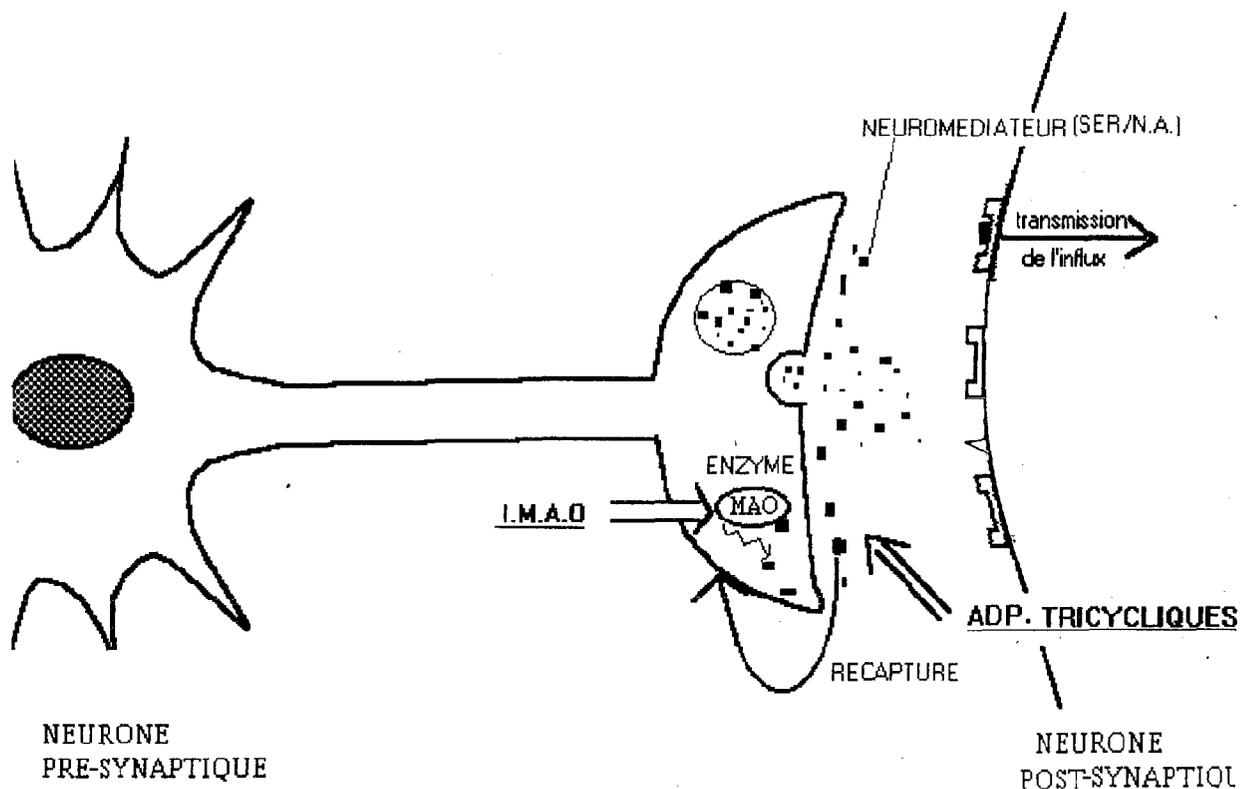
Viloxazine : son mode d'action est l'activation de la transmission adrénergique (inhibition de la recapture, blocage des récepteurs  $\beta_2$  présynaptiques) couplée à une augmentation de la libération de sérotonine.

Les effets secondaires sont des difficultés d'endormissement, des nausées, des vomissements, des diarrhées.

La trazodone agit par inhibition de la recapture sérotoninergique.

Les effets secondaires associés sont la somnolence, la sédation, l'hypotension orthostatique ( $\alpha$  bloquant), les troubles digestifs. Ces effets régressent au cours du traitement.

La figure suivante résume les modes d'actions des différentes classes d'antidépresseurs.



#### 1.4.4. Autres traitements :

La sismothérapie, reste encore utilisée pour les états dépressifs endogènes. Son mécanisme est encore mal connu, on pense à une mobilisation des monoamines cérébrales. Le principal inconvénient de cette thérapie étant la survenue de troubles mnésiques. Ce type de traitement reste réservé aux cas de dépression endogène, lorsque la souffrance morale, l'angoisse et le risque suicidaire sont extrêmes.

Les sels de lithium sont eux utilisés, soit comme traitement préventif dans les psychoses maniaco-dépressives, soit comme traitement curatif pour les états dépressifs résistant aux différentes tentatives précédentes.

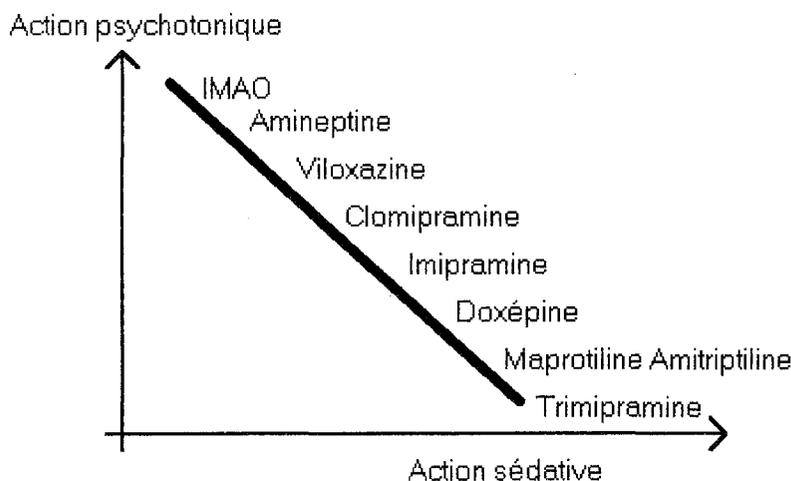
Les traitements neuroleptiques (avec notamment le Dogmatif<sup>l</sup>), les antiépileptiques (Tegréto<sup>l</sup>), les anticonvulsivants (Dépamide<sup>l</sup>) sont utilisés dans les cas d'états dépressifs résistants.

### 1.5.Choix du traitement antidépresseur :(8)(14)(16)(18)(30)(34)

Le prescripteur doit choisir le traitement le mieux adapté au patient et au type de dépression développée.

Ce choix est rendu difficile par la multiplicité des médicaments, le peu de précision concernant leur mode d'action. La décision d'utiliser tel ou tel traitement en fonction de l'origine de la dépression semble être illusoire. Cependant, il ressort chez certains auteurs, qu'une correspondance relative, entre le type de dépression et le traitement à instaurer, ait pu être établie :

Ainsi, il semble que les dépressions endogènes soient les indications de choix des ADP tricycliques. On prescrit des imipraminiques sédatifs ou stimulants selon l'importance de la composante anxieuse ou inhibitrice de la maladie.



Pour les dépressions névrotiques à forte composante asthénique on utilisera préférentiellement les I.M.A.O. ou les ADP tricycliques stimulants.

Les dépressions réactionnelles, elles, sont améliorées par les ADP sédatifs.

L'instauration d'un traitement antidépresseur chez les patients développant une dépression secondaire reste délicate.

### **1.6. Instauration, poursuite et surveillance du traitement :**(3)(8)(9)(14)((16)(30)

#### **1.6.1. Instauration :**

Il faut d'abord déterminer, si le traitement doit être entrepris en ambulatoire, ou à l'hôpital. La décision est fonction du risque suicidaire, de l'isolement du patient, de la gravité du tableau clinique. On considère également la possibilité d'une bonne observance et de la surveillance du traitement.

On effectue, avant toute prescription, un examen clinique qui comporte une exploration hépato-rénale, un ECG ... ainsi qu'un bilan psychologique permettant de déterminer la nature et la gravité de la dépression (*cf 1.4.1 diagnostique*).

Dans la plupart des cas, et sauf contre indication majeure, le traitement de première intention est un tricyclique.

L'ADP est donné progressivement, mais rapidement à dose efficace. La principale cause d'échec d'un traitement étant due à l'insuffisance de la posologie. A l'intérieur de la fourchette d'efficacité (50 à 150 mg), on peut moduler la dose en fonction de certains paramètres : âge ou apparition d'effets secondaires. Cette dose est maintenue jusqu'à l'amélioration nette de l'humeur, c'est à dire 15 jours à 3 semaines. La répartition est généralement de 2 à 3 prises par jour, cette prescription est variable en fonction de la personnalité du patient et de la gravité de sa maladie.

La posologie initiale est ensuite diminuée progressivement à une dose de l'ordre des deux tiers de la posologie maximale, et cela pour une durée de plusieurs mois.

### 1.6.2. La réponse au traitement est favorable.

L'amélioration peut être rapide ou progressive, se manifestant dans un délai de quelques jours à plusieurs semaines (*cf. 1.4.2*).

L'impératif majeur est la poursuite du traitement au delà d'une "guérison" apparente. On peut considérer qu'une période de 6 mois est une période minimum pour que le traitement soit réellement efficace. Si l'état dépressif était sévère, s'il s'agit d'une rechute ou s'il persiste des facteurs extérieurs pouvant réactiver la dépression, le traitement peut être de 12 à 18 mois.

Le pourcentage de rechute diminuant au prorata de la durée de traitement au delà de la "pseudo guérison", tout au long du traitement, le soutien psychothérapeutique aidant le malade à ne pas interrompre le traitement (même en cas d'apparition d'effets secondaires mineurs) reste primordial. De plus, il y a une grande tentation dès l'amélioration, particulièrement de la part de l'entourage à "ne plus se droguer".

L'arrêt prématuré du traitement peut provoquer une sensation de confort par la disparition rapide des effets secondaires, mais souvent suivi d'une rechute qui replonge le malade dans une désespérance plus importante que la précédente. La reprise du traitement initial n'est parfois pas garante de succès.

### 1.6.3. La réponse au traitement est défavorable.

Outre l'arrêt imposé par l'apparition d'une incompatibilité majeure, on ne peut conclure à l'échec, que si le traitement a été réalisé dans des conditions correctes de durée et de posologie. Pour s'assurer notamment que cette posologie était satisfaisante, un dosage sanguin est nécessaire. L'échec peut

être dû aux manifestations d'intolérances ayant entraîné une mauvaise observance ou même un arrêt du traitement sans avis médical. Dans certains cas, malgré une observance et une tolérance correctes aucune amélioration n'est observée. On essaye alors d'augmenter les posologies, avec généralement une surveillance médicale renforcée. Les conditions de traitement peuvent être aussi transformées : le patient traité jusqu'alors en ambulatoire est admis en milieu hospitalier, ceci entraîne des modifications de vie, le patient étant mieux suivi, cela peut améliorer le traitement.

En cas d'échec confirmé, un changement d'antidépresseurs s'impose, en choisissant un médicament dont le mode d'action ou le spectre est différent. C'est dans ce cas, que les nouveaux antidépresseurs et les I.M.A.O. prennent toute leur importance. Dans certains cas, les traitements sont renforcés par une sismothérapie, une coprescription (I.M.A.O. et Vivalan<sup>f</sup>), mais généralement les polythérapies sont évitées.

#### 1.6.4. l'arrêt du traitement :

Il doit se faire uniquement après un maintien des doses d'équilibre (traitement d'entretien) d'au moins 4 mois. La suppression de la médication doit être la plus progressive possible, on baisse par paliers la posologie d'ADP. Généralement, dans un premier temps, la posologie des ADP est peu modifiée, mais on supprime progressivement les médicaments associés tel que les somnifères et les anxiolytiques. Secondairement, est envisagée la diminution des ADP en évitant tout arrêt brutal. On doit surveiller la réapparition des troubles et suspendre la tentative d'arrêt le cas échéant. On peut étaler cette tentative de suppression totale sur plusieurs mois, mais elle n'est pas obligatoire.

Parfois, le patient demande la reprise "légère" ou le maintien d'un traitement utilisant des doses minimales. Il n'est pas certain que l'effet ne soit que placebo même pour des posologies de l'ordre de 10 mg.

## II PHARMACOLOGIE DES IMIPRAMINIQUES

(3)(8)(24)(27)

Les généralités concernant cette famille thérapeutique ont été développées dans les chapitres précédents (1.5 les antidépresseurs ; 1.6 choix du traitement...)

### 1. Pharmacocinétique :<sup>(27)</sup>

Les tricycliques sont rapidement résorbés au niveau de l'intestin grêle (2 à 3 heures). Il est cependant à noter que leur propriété parasympholytique peut entraîner un retard de résorption.

Ils subissent un effet de premier passage hépatique important (30 à 80 % de biodisponibilité).

Ces médicaments se fixent massivement sur les protéines plasmatiques (75 à 90 % sur l'albumine), cette fixation est soumise à de fortes variations inter-individuelles expliquant les réponses cliniques très hétérogènes que l'on observe entre les patients.

Ce sont des molécules liposolubles qui ont une affinité pour tous les tissus, surtout foie, cerveau, rein, coeur, poumon. Le volume de distribution est donc très important et il existe encore des métabolites actifs dans le sang 24 heures après une prise de médicament

Leur élimination se fait par cycles entérohépatiques, expliquant la demi vie relativement longue des imipraminiques. Mais là encore de très grandes variations inter individuelles sont observées.

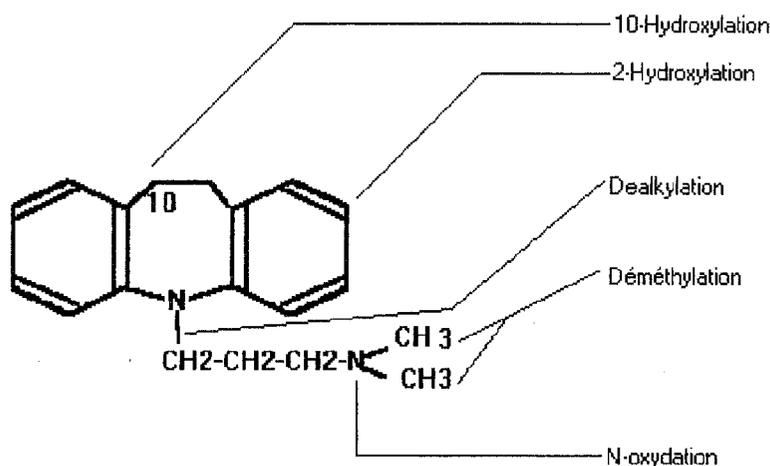
Ils franchissent la barrière placentaire, ont une excrétion essentiellement urinaire, les concentrations à l'état d'équilibre sont obtenues au bout de 1 à 4 semaines (ce qui correspond au temps de latence et au temps "d'imprégnation")

## 2.Métabolisme<sup>(5)(6)</sup>

Les études ont été faites principalement sur l'imipramine et l'amitriptyline. Les tricycliques subissent principalement deux biotransformation :

- Il s'agit principalement d'une déméthylation en bout de chaîne donnant des métabolites actifs dans le cas des ADP de structure "amine tertiaire".
- On observe aussi une hydroxylation en 10 suivie d'une glucuroconjugaison.

### Métabolites de l'imipramine:



L'imipramine donne donc un dérivé actif, la desmethyl-imipramine (DMI) et un dérivé hydroxylé qui sous la forme de glucuroconjugué est éliminé.

La proportion plasmatique entre l'imipramine et la DMI varie rapidement jusqu'à équilibre.

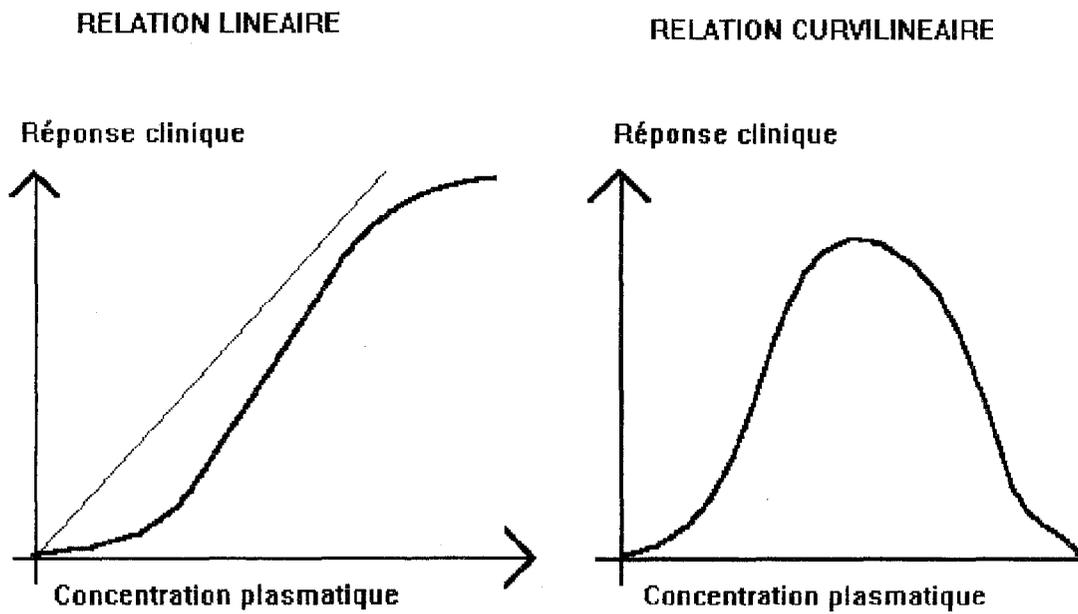
### 3.Relation entre effet thérapeutique et concentration :(5)(6)(9)(12)(24)(28)(35)

Les imipraminiques sont les produits qui ont été le plus étudiés, et les premiers pour lesquels des corrélations taux sériques /effet clinique ont été démontrées. Ils représentent actuellement l'essentiel de l'activité de routine du suivi thérapeutique de cette classe de médicaments.

Les difficultés techniques de dosage ( taux plasmatiques d'antidépresseurs très faibles, de l'ordre du ng / ml ) et les controverses sur les relations entre les niveaux sanguins d'antidépresseurs et leur efficacité clinique ont largement contribué à freiner la généralisation de la surveillance des taux plasmatiques d'antidépresseurs. Il semble néanmoins que la plupart des études de méthodologie correcte et comparable aboutissent à des résultats relativement concordants dont on peut tirer les applications pratiques suivantes :

- Nortriptiline : (NT) Taux efficaces : 50 à 150 ng / ml  
( relation curvilinéaire)
- Amitriptiline : (AMI) Taux efficaces : 100 à 300 ng / ml  
exprimés en AMI + NT  
( relation curvilinéaire )

- Désimipramine : (DMI) Taux efficaces supérieurs à 125 ng / ml  
( relation linéaire)
- Imipramine : (IMI + DMI) Taux efficaces supérieurs à 200 ng / ml  
exprimés en IMI + DMI  
( relation linéaire)



#### 4. Antidépresseurs et suivi thérapeutique.

##### 4.1.) Le suivi thérapeutique : pourquoi?(3)(6)(9)(24)(28)(35)

De nombreux cliniciens ont mis à jour un certain nombre de problèmes auxquels il était urgent de répondre:

- L'existence, pour une même posologie, de grandes variations inter-individuelles dans les concentrations plasmatiques (écarts entre 5 et 12).
- La diminution prévisible du pourcentage de résistances thérapeutiques en s'assurant que le produit est donné à une posologie correcte, c'est-à-dire que la concentration sanguine s'inscrit dans une fourchette satisfaisante. Les antidépresseurs ont un faible index thérapeutique, les doses toxiques n'étant que de 3 à 4 fois supérieures aux doses thérapeutiques.
- L'augmentation de la compliance. On sait que le monitoring des antiépileptiques a eu d'abord comme effet d'augmenter la compliance des épileptiques. Il est probable qu'il en serait de même pour les déprimés, surtout ceux qui doivent observer un traitement au long cours.
- Le bénéfice coût / efficacité paraît bien démontré (racourcissement de temps d'hospitalisation, reprise plus précoce de l'activité professionnelle).
- Apparition d'effets secondaires à une posologie dite normale.
- Influence d'une coadministration et d'états pathologiques divers.

"Comme il n'existe pas de paramètres cliniques permettant de définir à priori dans quelle catégorie se trouve un malade donné, il est difficile de prévoir quelle sera la posologie adéquate ; c'est la raison pour laquelle le suivi thérapeutique peut être utilisé comme un outil pour contrôler la variabilité pharmacocinétique".

#### 4.2.) le suivi thérapeutique : comment?(6)

Par le dosage des molécules dans le plasma.

Ceci n'est pas sans problème, malgré tous les progrès techniques des dix dernières années, les antidépresseurs tricycliques figurent parmi les médicaments les plus difficiles à doser, les concentrations très faibles de ces médicaments engendrant des difficultés techniques très importantes.

Les méthodes contemporaines sont essentiellement :

- la chromatographie phase gazeuse ( C.P.G. ) avec détecteur spécifique à azote/phosphore
- la C.L.H.P.
- les techniques immunologiques non spécifiques, comme les techniques E.M.I.T. ou F.P.I.A.

Quelle que soit la méthode choisie ,elle devra répondre à plusieurs critères :

- être spécifique, c'est-à-dire capable de mesurer l'antidépresseur ( et ses métabolites actifs ) individuellement sans interférence des autres métabolites et des autres médicaments coadministrés.
- Etre très sensible afin de pouvoir mesurer des concentrations de l'ordre de 5 à 10 ng /ml.
- Etre rapide et facile à utiliser pour assurer un suivi de routine.

## 5 Méthodes de dosages.(6)((9)(21)(31)(32)(36)

### 5.1. Techniques immunologiques

#### 5.1.1. Immunoenzymologie = E.M.I.T.

---E.M.I.T. : Enzyme Multiplied Immunoassay Technic de SYVA.

Deux techniques sont possibles :

- Le dosage sélectif. Il met en jeu des anticorps spécifiques et s'opère après passage du plasma sur colonne à chromatographier pour éliminer les métabolites hydroxylés. Dans l'éluat se trouve les amines III et II à quantifier.

On pratique alors un dosage spécifique des 4 molécules suivantes :

Amitriptyline, nortriptyline, imipramine, ou desipramine, à l'exclusion des autres antidépresseurs.

- Le dosage globale dans la gamme EMIT-TOX non spécifique ( AC = nortriptyline ) qui caractérise l'ensemble des antidépresseurs tricycliques.

Cette technique permet :- une manipulation simple et réduite,

- une automatisation pour les grandes séries.

Mais il existe des réactions croisées entre les amines et son coût est élevé.

### 5.1.2. Immunofluorimétrie = F.P.I.A.(5) (6)

--F.P.I.A. : Fluorescence Polarisation ImmunoAssay de ABBOTT.

La méthode antidépresseurs tricycliques TDX d'ABBOTT est avant tout destinée au dosage des 4 antidépresseurs tricycliques principaux :

- L'imipramine
- La désipramine
- L'amitriptyline
- La nortriptyline

L'antidépresseur contenu dans le réactif TDX marqué à la fluorescéine ( traceur ) est l'imipramine. La possibilité d'appliquer la méthode à d'autres antidépresseurs doit être interprétée en fonction de leur réactivité croisée relative. La concentration plasmatique trouvée dans un échantillon de plasma est la mesure exacte de la quantité totale des antidépresseurs et de leurs métabolites desméthylés. Un dosage exact de la quantité totale ou individuelle des antidépresseurs présents devra être effectué par une méthode de confirmation telle que la C.L.H.P. ou la C.P.G.

Sensibilité de la technique : 20ng/ml

Mêmes avantages que précédemment.

Mais non différenciation des molécules mères et de leurs métabolites.

## 5.2. Techniques chromatographiques.

### 5.2.1. C.L.H.P.

--C.L.H.P. Chromatographie Liquide Haute Performance.

Détection simultanée des métabolites et des molécules mères,

Automatisation possible.

Mais sensibilité et spécificité limitées.

### 5.2.2. C.P.G.(7)

--C.P.G. Chromatographie Phase Gazeuse.

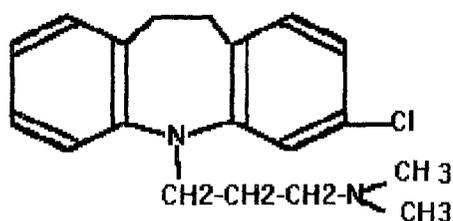
Très bonne sensibilité si l'on travaille avec un détecteur approprié.

Mais parfois délicate à utiliser.

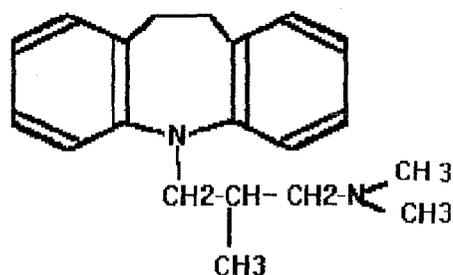
### III. DOSAGE DE LA TRIMIPRAMINE ET DE SES METABOLITES DANS LE PLASMA.<sup>(19)</sup>

Nous avons développé récemment au laboratoire de pharmacologie du C.H.R.U.G. une méthode spécifique et sensible par chromatographie gazeuse couplée avec un détecteur azote/phosphore, dans le but de quantifier préférentiellement les antidépresseurs tricycliques fréquemment utilisés en clinique et pour lesquels les dosages immunochimiques n'apportent qu'une réponse semi-quantitative (faible réaction croisée de l'AC avec la molécule), à savoir :

- La clomipramine ( ANAFRANIL ) : taux efficaces exprimés en ( clomipramine + métabolite desméthylé ) = 250 à 550 ng/ml. Il n'existerait pas de relation taux plasmatiques à l'équilibre / réponse clinique de type curvilinéaire.



- La trimipramine ( SURMONTIL ) : des études de corrélation pharmaco-cliniques sont sollicitées par les cliniciens, car peu nombreuses à ce jour, bien qu'il s'agisse d'une molécule prescrite de longue date.



## 1. Matériel :

La méthode mise au point est destinée au dosage simultané de la trimipramine et de ses principaux métabolites (la desméthyl- et l'hydroxy-2 trimipramine) dans le plasma et dans les érythrocytes humains à des concentrations thérapeutiques.

Les extraits biologiques sont analysés par chromatographie en phase gazeuse utilisant une colonne capillaire de silice fondue greffée par une phase stationnaire apolaire (O.V.1) et un détecteur spécifique azote phosphore.

### 1.1. Réactifs :

- La trimipramine et ses métabolites (mono-desméthyl- et 2 hydroxy-trimipramine) sont fournis par le laboratoire Rhône-Poulenc (Vitry sur seine/ France).
- Les standards internes : clomipramine et maprotiline proviennent du laboratoire Ciba Geigy (Bâle / Suisse).
- La solution d'ammoniaque à 20%, l'éthanol absolu, le dichlorométhane et l'alcool isoamylique sont de qualité "RP normapur pour analyse" et fournis par le laboratoire Prolabo (France), l'hexane 99 % pestipur provient de SDS (France).

### 1.2. Traitement de la verrerie employée pour l'extraction :

Les composés "polycycliques aminés" se fixent à la surface du verre ce qui rend leur analyse quantitative délicate surtout pour les amines secondaires. Ce phénomène est dû à une réaction ionique entre les groupements "OH" du verre (groupement silanol) et la fonction amine secondaire :



Pour éviter ce genre de problème la technique classique consiste en une silylation du verre souvent complétée par une acylation des amines secondaires. Mais ces procédés étant longs et difficiles nous préférons utiliser un traitement à l'ammoniaque consistant uniquement en une addition de 2ml d' $\text{NH}_4\text{OH}$  à 20% avant l'addition du plasma à extraire.

### 1.3. Préparation des solution mères

- produits à analyser : - Trimipramine maléate (13.94 mg; équivalent à 10 mg de trimipramine).
  - Desméthyltrimipramine maléate (14,13mg ; équivalent à 10 mg desméthyl trimipramine).
  - Hydroxytrimipramine fumarate(11.87 mg ; équivalent à 10 mg hydroxy--trimipramine)

- Standards internes : -Clomipramine chlorhydrate(11.15 mg ; équivalent à 10 mg de clomipramine)
  - Maprotiline chlorhydrate (11.31 mg;équivalent à 10 mg de maprotiline)

Ces produits sont dissous dans 100 ml d'éthanol absolu pour constituer la réserve de solutions mères. Celles-ci sont stockées à l'abri de la lumière et au froid (à - 25°C) et sont utilisables pendant trois mois. La préparation des solutions diluées se fait extemporanément celles-ci sont utilisables durant trois jours.

#### 1.4. Préparation des solutions diluées :

Elle se fait par dilution des solutions mères :

- \* les solutions de trimipramine, desméthyltrimipramine, hydroxytrimipramine sont diluées au 1/100 pour obtenir des concentrations de 1 mg/l.
- \* les solutions de clomipramine et de maprotiline sont diluées au 1/10 pour obtenir des concentrations de 10 mg/l.

### 1.5. Appareillage

- Le chromatographe : chromatographe Hewlett-Packard modèle 5890A équipé d'un détecteur "azote-phosphore" et d'un injecteur à système split-splitless.

- Détecteur azote phosphore (NDP) : détecteur sélectif pour l'analyse des composés contenant des atomes de phosphore ou d'azote.

Principe : le détecteur NDP est un détecteur à ionisation de flamme dans lequel le collecteur contient un cylindre en alumine revêtu de sel de rubidium (élément actif) qui réagit à haute température.

En présence de cette source thermo-ionique l'azote et le phosphore contenus dans les produits à analyser sont ionisés ==> création d'un courant qui est mesuré.

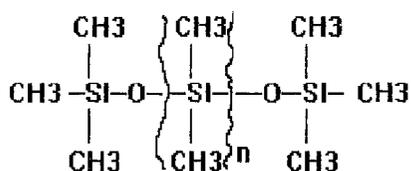
Caractéristiques : très grande sensibilité, et sélectivité pour les molécules contenant de l'azote ou du phosphore.

- La colonne : colonne capillaire OV1

Longueur : 25m

Diamètre interne : 0.32mm

Nature de la phase : OV1 greffée (100% méthylsilicone)



Support : silice fondue

Remplissage : statique, épaisseur du film=0.2µm

- intégrateur : "D-2500 Merck" calcule directement la concentration en produit à l'aide du rapport :  $\frac{\text{Pic de l'échantillon}}{\text{Pic du standard interne}}$

### 1.6. Conditions opératoires

- Température de l'injecteur : 280°C

du four : 195°C

du détecteur : 280°C

- débits gazeux hélium débit colonne = 2.6ml / mn

(gaz vecteur + gaz d'appoint) = 33ml / mn.

hydrogène = 2.8ml/mn

air = 55ml/mn

} pour détecteur

- volume d'injection 2 à 6 µl

- atténuation 3 à 5

## 2. Protocole :

Le protocole utilisé pour le dosage de la trimipramine et de ses principaux métabolites ( la desmethyl- et l' hydroxy- trimipramine ) dans le plasma est décrit ci-dessous.

Introduire dans l'ordre dans un tube sovirel :

- 2ml de NH<sub>4</sub>OH concentré
- Agiter 10 sec. sur vortex pour traiter le verre (cf 1.2. Traitement de la verrerie employée pour l'extraction )
- 2ml d'eau distillée
- 2ml de plasma

Ajouter:

- 50µl de clomipramine à 10mg/l dans l'éthanol (standard interne de la trimipramine) diluée au 1/10 à partir de la solution mère.
- 80µl de maprotiline à 10mg/l dans l'éthanol (standard interne de la desméthyl-trimipramine) diluée au 1/10 à partir de la solution mère.

Choisir la procédure suivante s'il s'agit d'une calibration :

La gamme est réalisée par addition de concentration croissante de solutions diluées à 1 mg/l dans l'éthanol.

Concentration finale en ng/ml	50	100	150	200	250
Clomipramine (S.I. Trimipramine) µl à 10 mg/ml	50	50	50	50	50
Maprotiline (S.I. Métabolites DMT) µl à 10 mg/ml	80	80	80	80	80
Trimipramine µl à 10 mg/ml	100	200	300	400	500
D.M. Trimipramine µl à 10 mg/ml	100	200	300	400	500
OH. Trimipramine µl à 10 mg/ml	100	200	300	400	500

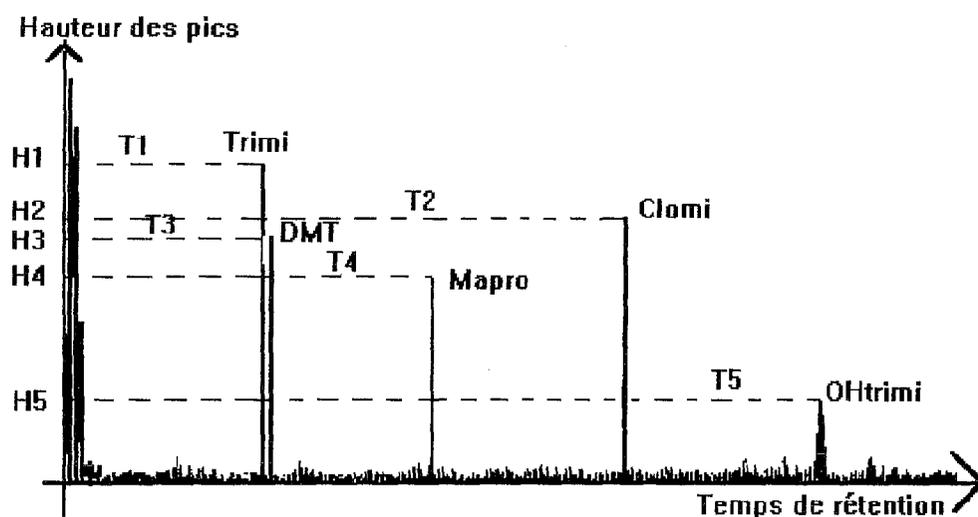
Continuer dans tous les cas comme suit :

Ajouter:

- 9ml du mélange hexane 57% / dichlorométhane 42% / Alcool .IsoAmylique.1%,
- Agiter 15mn à l'aide d'un agitateur mécanique (20 à 30 tours /mn),
- Centrifuger 10 mn,
- Prélever immédiatement la phase organique dans un réactifial,
- Evaporer à sec, sous flux d'air.
- Reprendre le résidu sec par 50µl d'éthanol,
- Injecter 2 à 6 µl .

NB : La température du four peut être modifiée au cours du vieillissement de la colonne ou selon les interférences éventuelles. La courbe d'étalonnage sera évidemment réalisée dans les même conditions.

Calcul des concentrations :



Les concentrations de trimipramine et de ses dérivés sont calculés par rapport à celle des standards internes :

La clomipramine est le standard interne des amines tertiaires trimipramine et OH trimipramine.

La maprotiline est le standard interne de l'amine secondaire DMT.

$$S = \text{signal} = \frac{(\text{Hauteur du pic de la molécule} \times \text{Temps de rétention})}{(\text{Hauteur du pic du standard} \times \text{Temps de Rétention})}$$

$$S_{(\text{Triimi})} = S_T = T1H1/T2H2 \quad S_{(\text{DMT})} = S_{\text{DMT}} = T3H3/T4H4$$

$$S_{(\text{OHTrimini})} = S_{\text{OHT}} = T5H5/T2H2$$

### 3. Validation de la technique :(13)

La validation est la vérification que la méthode décrite répond à certains critères :

- la linéarité,
- la reproductibilité,
- la répétabilité,
- l'exactitude et limite de détection,
- la sensibilité.

### 3.1. Linéarité

C'est l'étude de la proportionnalité entre la quantité de substance à étudier et la réponse obtenue par la méthode de dosage (signal).

Elle se vérifie avec la droite d'étalonnage : l'étude se fait sur 5 points de gamme, la droite d'étalonnage correspond à la droite de régression linéaire calculée par la méthode des moindres carrés :

Equation de la droite : $Y = aX + b$
--------------------------------------

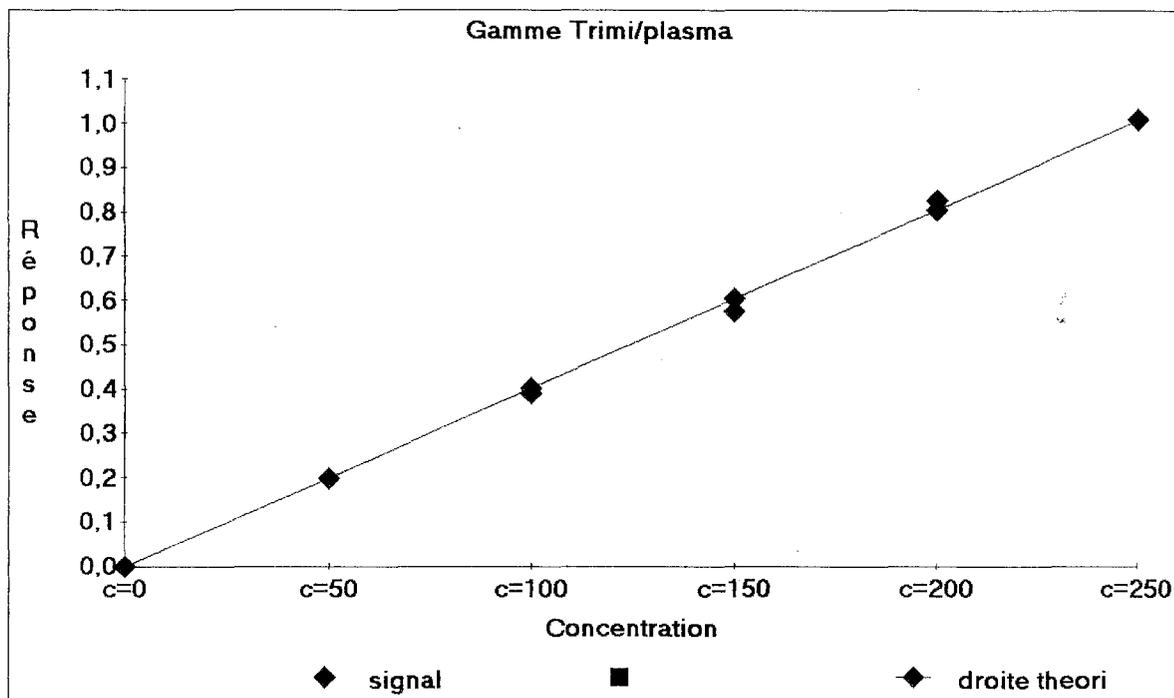
- . Y : signal = surface des pics des molécules à tester  
surface des pics des standards internes
- . X : concentration
- . a : pente de la droite
- . b : ordonnée à l'origine
- . Le coefficient de corrélation R qui indique le degré de liaison entre les deux variables X et Y doit être proche de 1.

On peut vérifier la linéarité en calculant le facteur de linéarité et en vérifiant qu'il est constant quelle que soit la concentration du point de gamme étudié (facteur de linéarité = Y/X)

\* Trimipramine / clomipramine

## Droite de régression

concentration en ng/l	50	100	150	200	250
signal	0,2129	0,39	0,574	0,825	1,011



$$Y = 3.97 \cdot 10^{-3} X + 0.09$$

$$R = 0.999$$

Facteur de linéarité : Y / X

concentration en ng/l	50	100	150	200	250
X/Y	0,00425	0,0039	0,00382	0,00412	0,00394

$$m = \text{moyenne} : 4.01 \cdot 10^{-3}$$

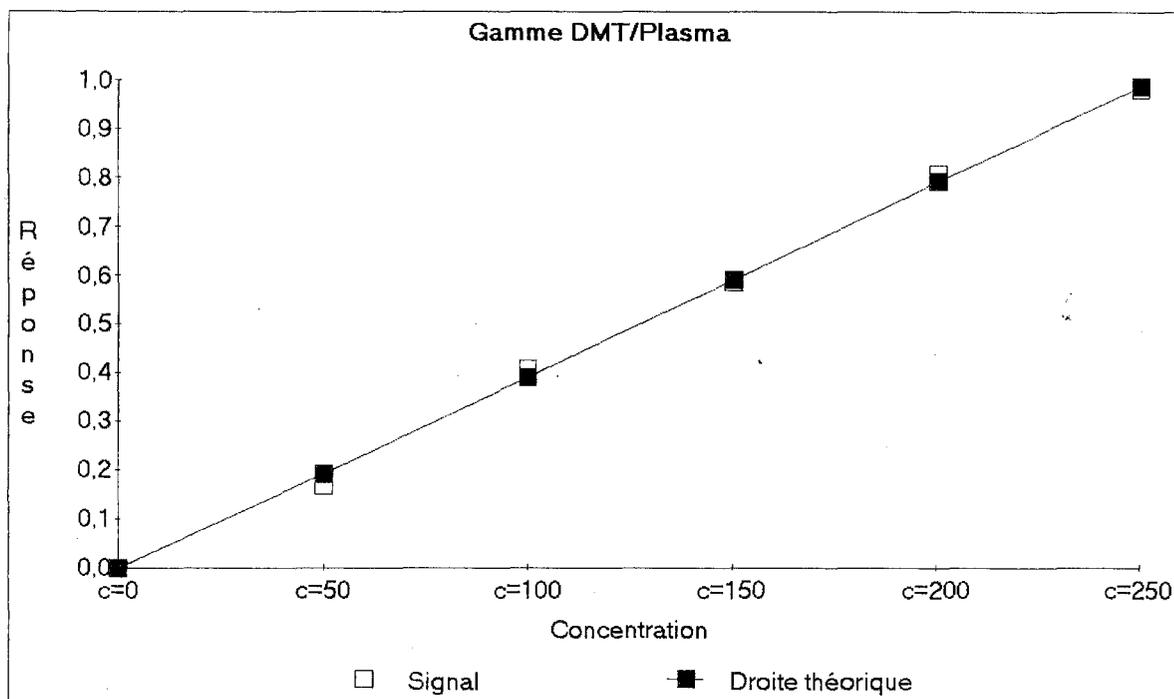
$$s = \text{ecart type} : 1.58 \cdot 10^{-3}$$

$$\text{C.V.} = \text{coefficient de variation} : 3.94\%$$

\* Desméthyltrimipramine / maprotiline

## Droite de régression

concentration	50	100	150	200	250
signal	0.166	0.406	0.584	0.806	0.984



$$Y = 4.011 \cdot 10^{-3} X - 0.012$$

$$R = 0.999$$

## Facteur de linéarité X / Y :

concentration en ng/l	50	100	150	200	250
X/Y	0.00332	0.00406	0.00389	0.00403	0.00393

$$m = 3.84 \cdot 10^{-3}$$

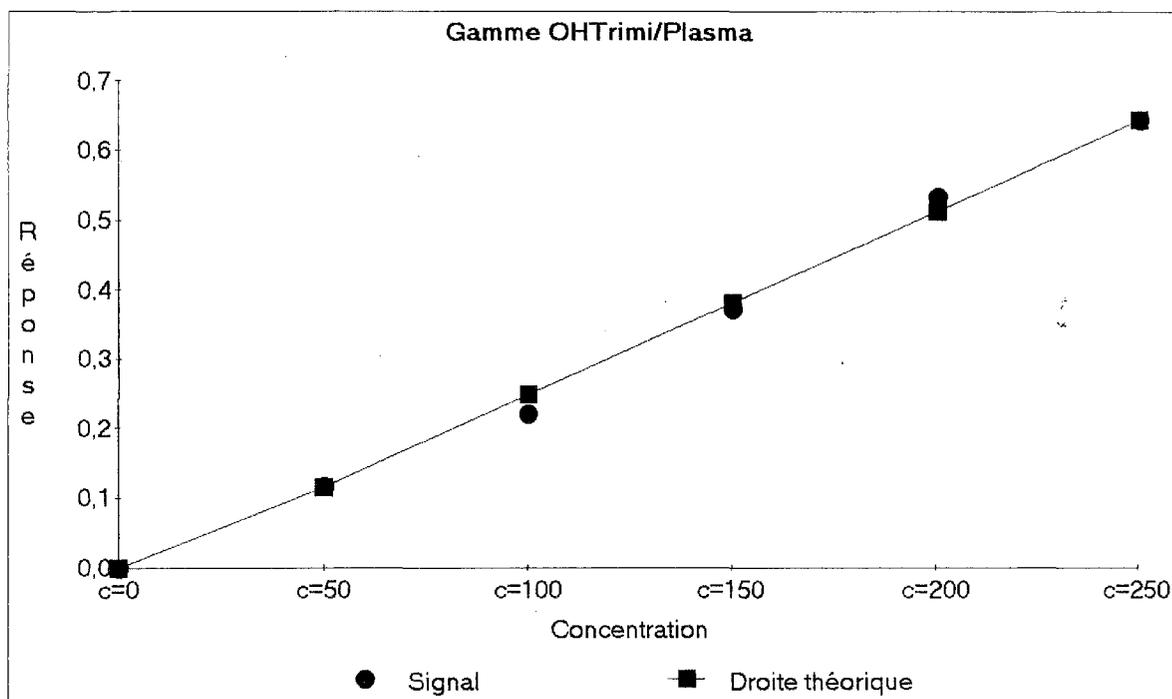
$$s = 2.70 \cdot 10^{-3}$$

$$C.V. = 7.03\%$$

\* Hydroxytrimipramine / clomipramine

## Droite de régression

concentration	50	100	150	200	250
signal	0,117	0,22	0,372	0,533	0,644



$$Y = 2.64 \cdot 10^{-3}X - 0.0156$$

$$R = 0.961$$

## Facteur de linarité

concentration en ng/l	50	100	150	200	250
X/Y	0,0023	0,0022	0,0025	0,0026	0,0019

$$m = 2.31 \cdot 10^{-3}$$

$$s = 2.6 \cdot 10^{-4}$$

$$C.V. = 11\%$$

### 3.2. Limite de linéarité ( CFANNEXE)

Nous l'avons déterminée par une méthode graphique, en injectant des doses massives de produit et en déterminant graphiquement la distorsion entre le résultat du dosage et la concentration réellement injectée.

Résultats : Trimipramine : 1000ng / ml.

Desméthyltrimipramine : 930 ng / ml.

Hydroxytrimipramine : 810 ng / ml

### 3.3. Répétabilité

Elle traduit la fidélité de la méthode, c'est à dire l'identité de réponse pour une multitude de dosages provenant d'un même échantillon.

Il s'agit de tester la précision intra-essais : nous avons injecté 10 fois de suite une concentration connue de produit, un même jour, par le même opérateur. Nous calculons ensuite la moyenne, l'écart type et le coefficient de variation.

Nous avons testé la répétabilité sur trois points de gamme : 50 ng/ml ; 150 ng/ml ; 250 ng/ ml.

\* Trimipramine / clomipramine :

concentration théorique	moyenne de concentration ng/ml	coefficient de variation	différence/valeur théorique
50	47,8 ± 1,1	2,30%	-4,4
150	154,9 ± 1,5	1,00%	3,2
250	243,4 ± 3 3	2,30%	-2,7

\* Desmethytrimipramine / maprotiline :

concentration théorique	moyenne de concentration ng/ml	coefficient de variation	différence/valeur théorique
50	52,0 ± 1,1	2,10%	4,0
150	143,6 ± 3,3	2,20%	-4,3
250	245,6 ± 2,8	1,10%	-1,8

\* Hydroxytrimipramine / clomipramine :

concentration théorique	moyenne de concentration ng/ml	coefficient de variation	différence/valeur théorique
50	50,2 ± 1,8	3,50%	0,4
150	138,8 ± 4,4	4,40%	-7,5
250	258,7 ± 4,8	1,80%	3,4

### 3.4. Reproductibilité

Elle exprime la fidélité du dosage dans des conditions différentes.

Il s'agit de tester la précision inter-essais ; nous injectons 5 fois de suite une concentration connue de produit, trois jours de suite en changeant chaque jour d'opérateur, de lot de produit étudié. On estime la variation inter-essais en calculant la moyenne, l'écart type et le coefficient de variation de la population.

Nous avons testé la reproductibilité sur trois points 50 ng/ml ; 150 ng/ml ; 250 ng/ml.

\* trimipramine / clomipramine

concentration théorique	moyenne de concentration ng/ml	coefficient de variation	différence/valeur théorique
50	51,0 ± 2,9	5,60%	2,0
150	151,5 ± 7,6	5,00%	1,1
250	248,2 ± 5,8	1,80%	-0,7

\* Desmethyltrimipramine / maprotiline:

concentration théorique	moyenne de concentration ng/ml	coefficient de variation	différence/valeur théorique
50	43,6 ± 1,1	2,50%	-12,8
150	152,5 ± 6,1	4,00%	1,6
250	246,2 ± 5,8	2,30%	-1,5

\* Hydroxytrimipramine / clomipramine

concentration théorique	moyenne de concentration ng/ml	coefficient de variation	différence/valeur théorique
50	49,6 ± 3,3	6,60%	-0,6
150	143,0 ± 4,5	3,10%	-4,7
250	249,2 ± 4,3	1,70%	-0,3

3.5. Limite de détection

La limite de détection est le plus petit signal exprimé en concentration qui peut être distingué d'un blanc réaction réalisé dans les mêmes conditions.

Pour de très basses concentrations, il est difficile de savoir si une valeur observée pour le signal X est due à la présence de la substance à doser ou à des variations incontrôlées du blanc (impûretés, bruit de fond,...). Il faut donc procéder à des mesures répétées du blanc.

Nous avons effectué ce test sur 10 blancs réaction, les limites de détection que nous présentons correspondent aux moyennes des valeurs obtenues.

Limite de détection pour un extrait issu de 2ml de plasma :

- Trimipramine : 3 ng / ml.
- Desmethyltrimipramine : 4 ng / ml.
- Hydroxytrimipramine : 4 ng / ml.

### 3.6. Pourcentage de récupération.

Il permet de comparer les valeurs obtenues par dosage avec les valeurs réelles théoriques : On applique le procédé de dosage et d'extraction à un échantillon reconstitué dont la concentration est déterminée.

Dans ce cas, le rendement correspond au pourcentage d'extraction.

Notre étude porte sur trois échantillons dont la concentration est mesurée 10 fois. La différence entre la valeur théorique et la valeur réelle est estimée par le rapport de surface des pics .

Les résultats présentés sont les moyennes correspondant à dix mesures.

\* Trimipramine / clomipramine

concentration	Surface du pic (mesuré)	Surface du pic (théorique)	% de récupération
50	0,231	0,241	95,80%
150	0,65	0,743	84,20%
250	1,04	1,041	97,90%

\* Desmethyltrimipramine / maprotiline

concentration	Surface du pic (mesuré)	Surface du pic (théorique)	% de récupération
50	0,208	0,227	91,60%
150	0,503	0,597	84,20%
250	1,02	1,041	97,90%

\* Hydroxytrimipramine

Concentration	Surface du pic (mesurée)	Surface du pic théorique	% de récupération
50	0,127	0,151	84,10%
150	0,247	0,289	85,40%
200	0,92	1,07	85,90%

### 3.7. Spécificité/Sélectivité

La spécificité se traduit par l'absence d'interférences, la méthode est alors adaptée uniquement aux produits auxquels elle est destinée.

Dans notre cas, il est à noter l'absence d'interférences avec les composés normaux du plasma.

Pour tester d'éventuelles interactions nous avons injecté du plasma additionné de molécules proches de celles à doser : seuls l'imipramine interfère avec la trimipramine et le diazépam avec la clomipramine.

Par ailleurs nous avons testé les molécules utilisées en comédication ou de potentiel thérapeutique proche ( psychotropes). Certaines molécules donnent une réponse dans les mêmes conditions analytiques, mais avec un temps de rétention différent : Desimipramine, amitriptyline, nortriptyline, médifoxamine, fluoxétine, alimémazine, cyamémazine, prométhazine, lévopromazine, carbamazépine, clobazam, clonazépam, desmethyldiazépam, prazépam, lorazépam, bromazépam, nitrazépam.

D'autres molécules ne donnent aucune réponse : phénobarbital, phénytoïne, valproate de sodium, lithium, theophylline, digoxine, digitoxine, amikacine, gentamicine, hydroquinidine.

Ces observation sont rassemblées dans le tableau page suivante.

Molécules testées	Interférence	Réponse sans interférence			
			Desmethyl-diazépam		oui
Imipramine	oui avec la trimipramine		Prazépam		oui
Diazépam	oui avec la clomopramine		Lorazépam		oui
Desimipramine		oui	Bromazépam		oui
Amitriptiline		oui	Nitrazépam		oui
Nortriptyline		oui	Phénobarbital		aucune
Médifoxamine		oui	Phénitoïne		aucune
Fluoxétine		oui	Valproate de sodium		aucune
Alimémazine		oui	Lithium		aucune
Cyamémazine		oui	Théophylline		aucune
Prométhazine		oui	Digoxine		aucune
Lévopromazine		oui	Amikacine		aucune
Carbamazépine		oui	Gentamicine		aucune
Clobazam		oui	Hydroquinine		aucune
Clonazépam		oui			

#### 4. DISCUSSION.

Les antidépresseurs tricycliques sont des bases lipophiles, extraites par une phase organique à partir d'une phase aqueuse à pH >10.

La simple addition d'ammoniaque avant l'introduction du plasma ou des solvants d'extraction permet donc de remplir les conditions de pH, mais aussi d'éviter l'adsorption des molécules sur le verre.

La méthode est donc plus simple et plus rapide que celles nécessitant une, une silanisation ou un traitement à l'éthanol.

Le choix des solvants a été fait en fonction de leur faible tendance à donner des émulsions et de leur grande capacité d'extraction : le mélange hexane / dichlorométhane donnant moins d'émulsion que le diéthylacétate ou l'éther de pétrole, a été adopté. Cependant ce risque existant (d'autant plus si le rapport phase organique / phase aqueuse est faible), nous ajoutons de l'alcool isoamylique dans la proportion de 1% v/v au mélange précédent ; cette quantité ne peut être augmentée car ce constituant donne un dépôt lors de l'évaporation, qui provoque de nombreux pics parasites en chromatographie, rendant l'interprétation impossible.

D'autres mélanges ont été essayés au préalable :

- Hexane / Alcool IsoAmylique (A.I.I.) (99%,1%)
- Hexane / nbutanol / A.I.A. (94%, 5%, 1%)

Le mélange final hexane/dichlorométhane / A.I.A (52%, 47%, 1%) permet une extraction unique en analyse de routine et s'évapore facilement. La technique d'extraction est donc rapide et performante.

Les bénéfices des colonnes capillaires utilisées dans ce travail résident dans les nombreuses possibilités de séparation, en diminuant le risque d'interférences avec d'autres médicaments psychotropes ou utilisés en comédication.

L'utilisation d'un autre antidépresseur tricyclique comme standard interne constitue un avantage, car ces molécules sont faciles à obtenir, et se comportent chimiquement comme les produits à doser. De plus ils ne sont, virtuellement, jamais prescrits en comédication.

Nous utiliserons la clomipramine ( amine III ) comme standard interne des amines III pour le dosage de la trimipramine et de l'hydroxytrimipramine, la maprotiline (amine II) comme standard interne de l'amine II (la desméthyl-trimipramine ).

Ce choix sélectif réside dans une meilleure performance chromatographique et dans un plus haut degré de précision de la méthode.

### 5 Application clinique.

La méthode est actuellement employée comme complément du dosage immunologique T.D.X. pour les cas d'intoxication ou de mise en route d'un protocole thérapeutique.

Cette technique, plus sélective, servira à :

- Etudier les variations de l'efficacité avec le rapport de déméthylation.
- Corréler les taux élevés avec des signes d'intolérance.
- Corréler les taux à la 24<sup>ème</sup> heure avec le taux à l'état d'équilibre.

## IV APPLICATION DE LA METHODE AU DOSAGE DE LA TRIMIPRAMINE ET DE SES DERIVES DANS LES GLOBULES ROUGES.<sup>(7)(21)</sup>

Le globule rouge est un compartiment biologique particulier : son origine cellulaire, certaines de ses activités enzymatiques et la structure histologique de sa membrane peuvent autoriser des rapprochements avec les cellules nerveuses. Il est donc possible d'espérer que la confrontation des taux analytiques des antidépresseurs et des observations cliniques laissera apparaître des corrélations. Ainsi pour les patients traités par la clomipramine, il a été démontré l'importance déterminante dans l'amélioration clinique des taux du dérivé déméthylé et des rapports dérivés déméthylés / molécule mère plasmatique et intra-érythrocytaire, qui chez les malades "répondeurs" atteignent des valeurs bien supérieures dans les globules rouges (11). L'extension de la technique aux dosages intra-érythrocytaires de la trimipramine, peu pratiqués à ce jour, semble donc être d'un intérêt prometteur.

### 1. Adaptation de la méthode plasmaticque aux globules rouges

Si la séparation du culot globulaire du plasma ne pose aucun problème, le traitement de ce dernier est plus délicat.

- Il faut :
- provoquer une hémolyse,
  - extraire les produits de l'hémolysat,
  - ne pas coextraire de substances interférant avec le dosage.

Dans un premier temps nous avons traité 2 ml de globules rouges par la procédure habituelle.

==> l'hémolyse est instantanée compte tenu du pH très alcalin,

==> l'extraction en revanche n'est pas possible car le solvant extractif provoque une émulsion et une prise en masse dès l'arrêt de l'agitation.

Après avoir essayé différents solvants, il s'avère que c'est le rapport entre la phase organique et la phase aqueuse qu'il faut modifier. Le matériel utilisé a changé la Concentration Micellaire Critique (C.M.C.) du mélange final. Il faut donc ajouter 4 ml d'eau au mélange, ce qui casse l'émulsion et rend alors possible l'extraction.

## 2. protocole.

Il est identique à celui utilisé dans le plasma avec cependant quelques modifications :

Le prélèvement sanguin est centrifugé pendant 2 mn à 3000T/mn. Le plasma surnageant est éliminé. Le culot globulaire est lavé avec deux fois 5 ml de NaCl 0.9%, centrifugé, le surnageant est éliminé entre chaque lavage.

Introduire dans l'ordre dans un tube soviel :

- 2ml de NH<sub>4</sub>OH concentré
- Agiter 10 sec. sur vortex pour traiter le verre (cf 1.2. Traitement de la verrerie employée pour l'extraction )
- Ajout de 4 ml d'eau
- 2ml de culot globulaire

Ajouter:

- 50µl de clomipramine à 10mg/l dans l'éthanol (standard interne de la trimipramine) diluée au 1/10 à partir de la solution mère.
- 80µl de maprotiline à 10mg/l dans l'éthanol (standard interne de la desméthyl-trimipramine) diluée au 1/10 à partir de la solution mère.

Choisir la procédure suivante s'il s'agit d'une calibration :

La gamme est réalisée par addition de concentration croissante de solutions diluées à 1 mg/l dans l'éthanol.

Concentration finale en ng/ml	50	100	150	200	250
Clomipramine (S.I. Trimipramine) µl à 10 mg/ml	50	50	50	50	50
Maprotiline (S.I. Métabolites DMT) µl à 10 mg/ml	80	80	80	80	80
Trimipramine µl à 10 mg/ml	100	200	300	400	500
D.M. Trimipramine µl à 10 mg/ml	100	200	300	400	500
OH. Trimipramine µl à 10 mg/ml	100	200	300	400	500

Continuer dans tous les cas comme suit :

Ajouter:

- 9ml du mélange hexane 57% / dichlorométhane 42% / A.I.A.1%,
- Agitation sur balancelle pour diminuer le risque d'émulsion : Les tubes sont placés sur un support plan, animé d'un mouvement de rotation lent, permettant le mélange sans risque d'émulsion.
- Centrifuger 10 mn,
- La phase organique doit être séparée immédiatement et recueillie dans un réactifial, après l'agitation.
- Evaporer à sec, sous flux d'air.
- Reprendre le résidu sec par 50µl d'éthanol,
- Injecter 2 à 6 µl .

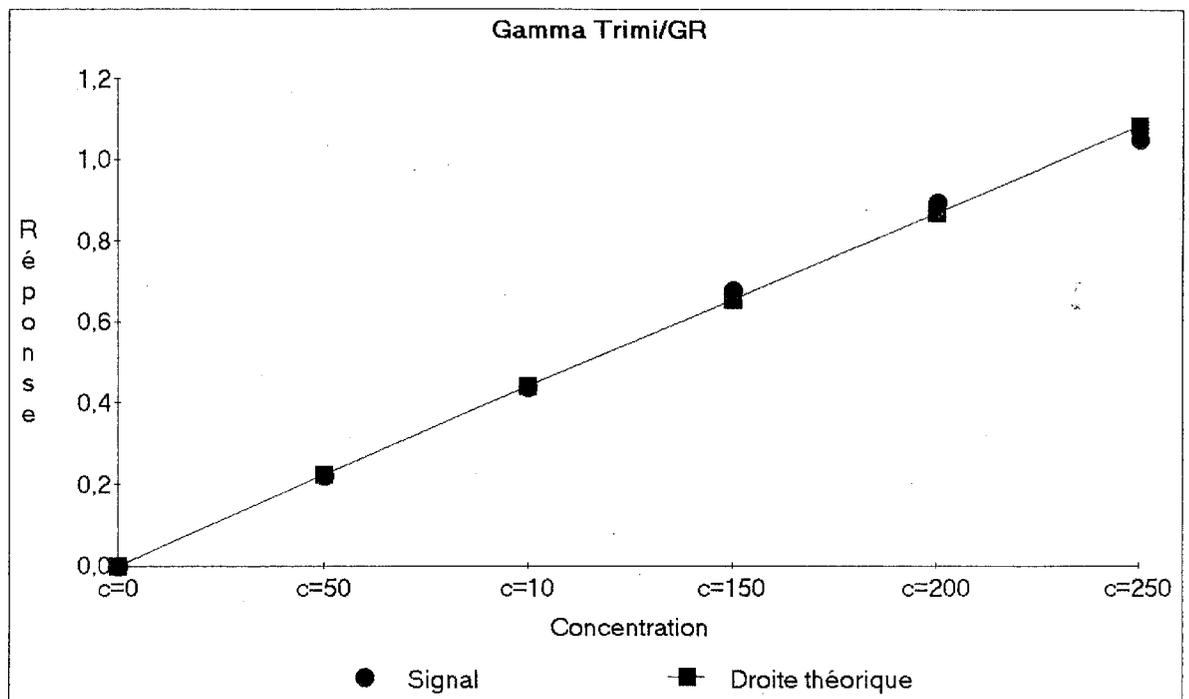
### 3. Validation

La méthode de dosage de la trimipramine dans les globules rouges étant peu différent de celle du dosage plasmatique, nous ne présenterons ici que le résultat concernant la linéarité.

\* Trimipramine / clomipramine

## Droite de régression

concentration en ng/l	50	100	150	200	250
signal	0,22	0,437	0,678	0,896	1,052



$$Y = 4.3 \cdot 10^{-3}X + 9.38 \cdot 10^{-3}$$

$$R = 0.998$$

## Facteur de linéarité: Y / X

concentration en ng/l	50	100	150	200	250
x/y	0,0044	0,00437	0,00452	0,00448	0,0042

$$m = \text{moyenne} : 4.3 \cdot 10^{-3}$$

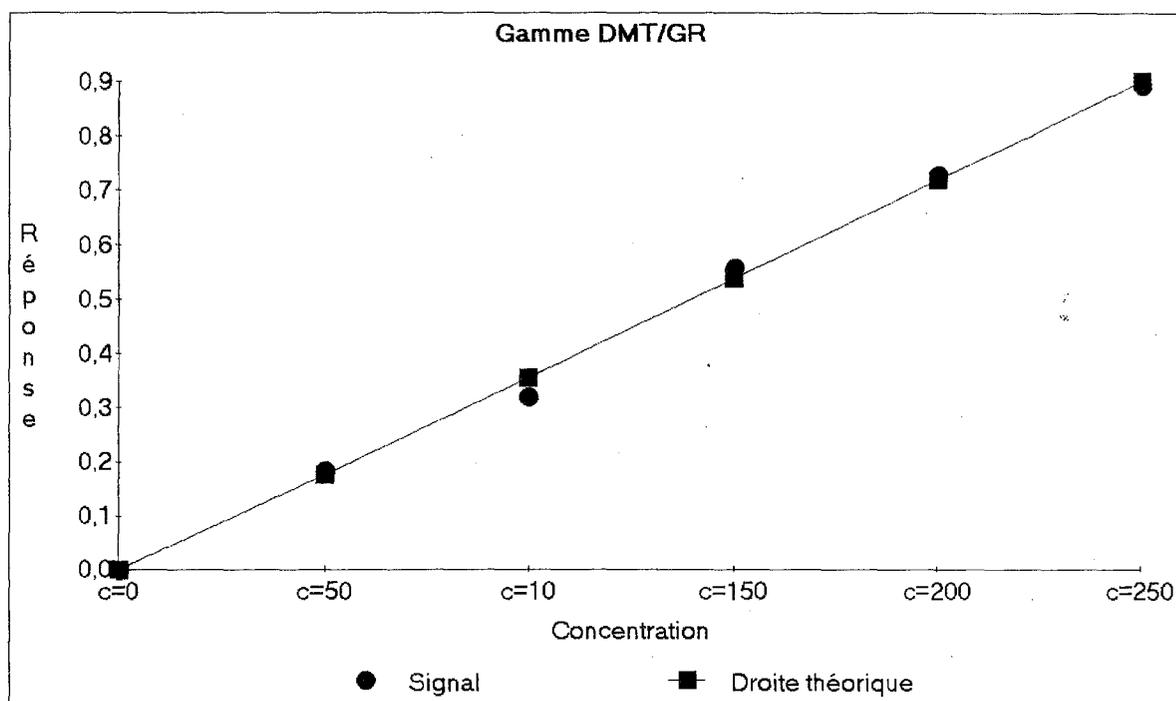
$$s = \text{ecart type} : 1.208 \cdot 10^{-3}$$

$$\text{C.V.} = \text{coefficient de variation} : 2.75\%$$

\* Desméthyl trimipramine / maprotiline

## Droite de régression

concentration	50	100	150	200	250
signal	0,183	0,32	0,557	0,729	0,893



$$Y = 3.62 \cdot 10^{-3} X - 5.87 \cdot 10^{-3}$$

$$R = 0.998$$

## Facteur de linéarité

concentration en ng	50	100	150	200	250
X/Y	0,00366	0,0032	0,00371	0,00364	0,00357

$$m = 3.55 \cdot 10^{-3}$$

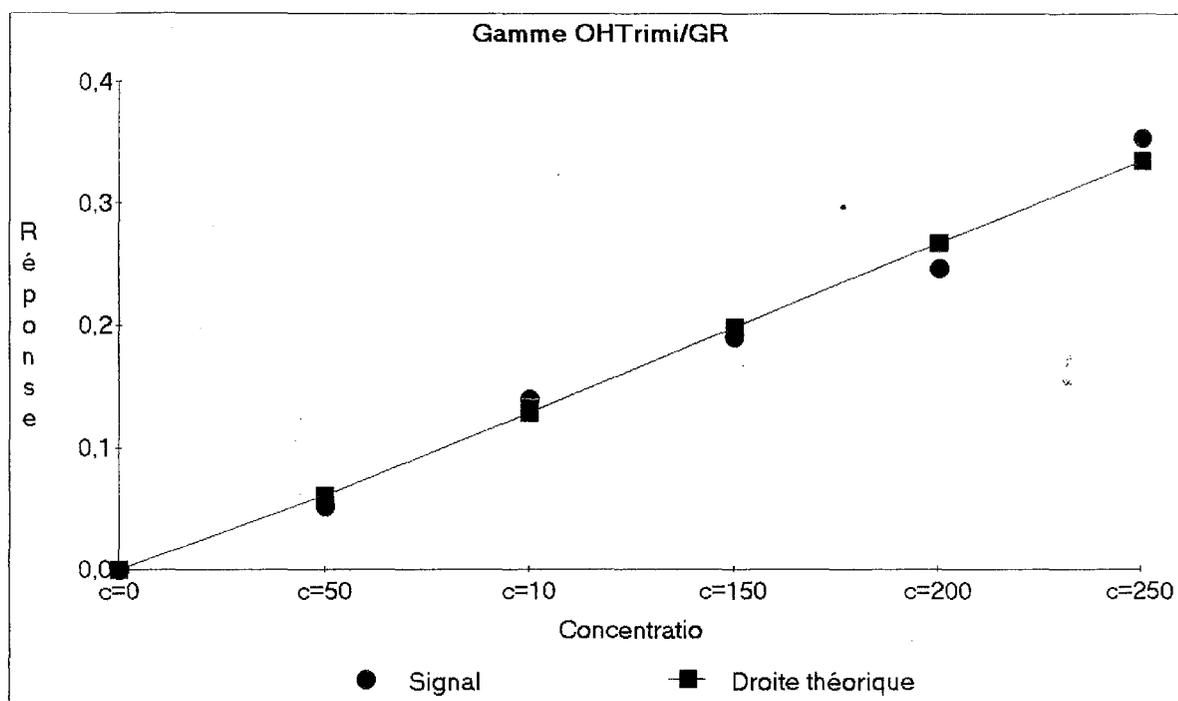
$$s = 2.064 \cdot 10^{-4}$$

$$C.V. = 5.8\%$$

\* Hydroxytrimipramine / clomipramine

## Droite de régression

concentration	50	100	150	200	250
signal	0,052	0,14	0,19	0,246	0,353



$$Y = 1.3710^{-3}X - 7.85 \cdot 10^{-3}$$

$$R = 0.994$$

## Facteur de linéarité

concentration en ng	50	100	150	200	250
X/Y	0,00104	0,0014	0,00126	0,00124	0,00141

$$m = 1.27 \cdot 10^{-3}$$

$$s = 1.50 \cdot 10^{-4}$$

$$C.V.=11.8\%$$

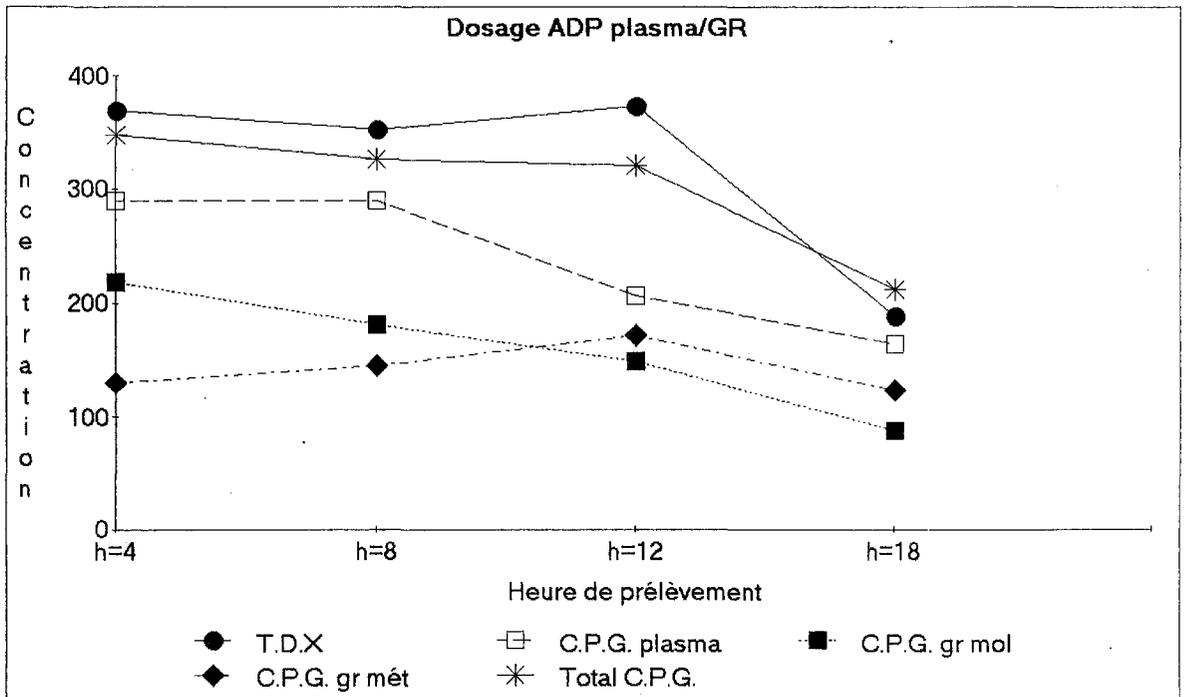
#### 4.Applications cliniques.

Nous avons effectué le dosage des antidépresseurs dans les globules rouges parallèlement au plasma.

Nous avons constaté, comme nous le pensions que les concentrations intra-érythrocytaires sont différentes de celles du plasma. On observe notamment une grande variation avec les dérivés déméthylés (*cf fiche de malade*), mais nous n'avons pas eu suffisamment de malades pour faire une étude statistique correcte. Cependant ces observations pourraient déboucher sur une étude qui permettrait de corréler, concentration intra-érythrocytaire, concentration intra-plasmatique et réponse thérapeutique.

Exemple de dosage d'ADP chez un patient :

Tps en heures	T.D.X.	C.P.G. PLASMA			C.P.G. GLOBULES ROUGES		
		molécule	metabolite	total et %	molécule	metabolite	total et %
H=4	369ng	290ng	0	290ng	218ng	130ng	348 62/38
H=8	353ng	290ng	0	290ng	181ng	145ng	326 55/45
H=12	373ng	206ng	0	206ng	149ng	172ng	321 46/54
H=18	188ng	164ng	0	164ng	88ng	124ng	212 41/59



## V EXTENSION DE LA METHODE

### 1.) Dosage plasmatique et intra-érythrocytaire de la clomipramine.

Le dosage de la trimipramine a été dans un premier temps étendu au dosage de la clomipramine ( ANAFRANIL ), un grand nombre de malades étant traités par ce médicament.

Le protocole d'étude reste le même (*III.2. Protocole*) nous avons simplement modifié la méthode en inversant les standards internes et les produits à doser :

20µl de trimipramine comme standard interne de la clomipramine,

100µl de maprotiline comme standard interne de la desméthyl-clomipramine.

Les dérivés hydroxylés de l'Anafranil n'ont pas pu être dosés faute de produit de référence pour effectuer une gamme.

L'extension de la méthode est appliquée tant au niveau du dosage plasmatique qu'au niveau du dosage intra-érythrocytaire.

Concentration finale en ng/ml	50	100	150	200	250
Trimipramine (S.I. Clomipramine) µl à 10 mg/ml	20	20	20	20	20
Maprotiline (S.I. Métabolites DMC) µl à 10 mg/ml	100	100	100	100	100
Clomipramine µl à 10 mg/ml	100	200	300	400	500
D.M. Clomipramine µl à 10 mg/ml	100	200	300	400	500

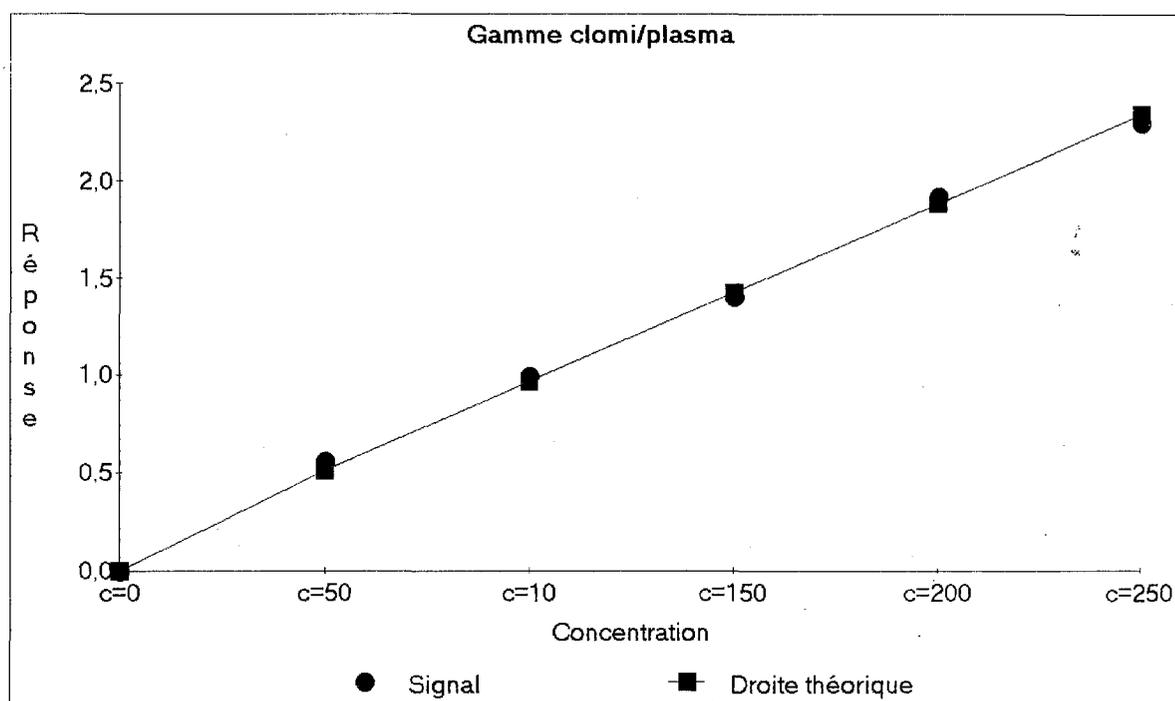
Une vérification de la linéarité de la "nouvelle" méthode s'impose :

### 1.1. Linéarité du dosage plasmatique

#### \* Clomipramine / trimipramine

Droite de régression

concentration	50	100	150	200	250
signal	0,56	0,994	1,403	1,922	2,297



$$Y = 9.13 \cdot 10^{-3}X + 0.054$$

$$R = 0.998$$

Facteur de linéarité : Y / X

concentration en ng/	50	100	150	200	250
X/Y	0,011	0,00994	0,00935	0,00961	0,00916

$$m = \text{moyenne} : 9.854 \cdot 10^{-3}$$

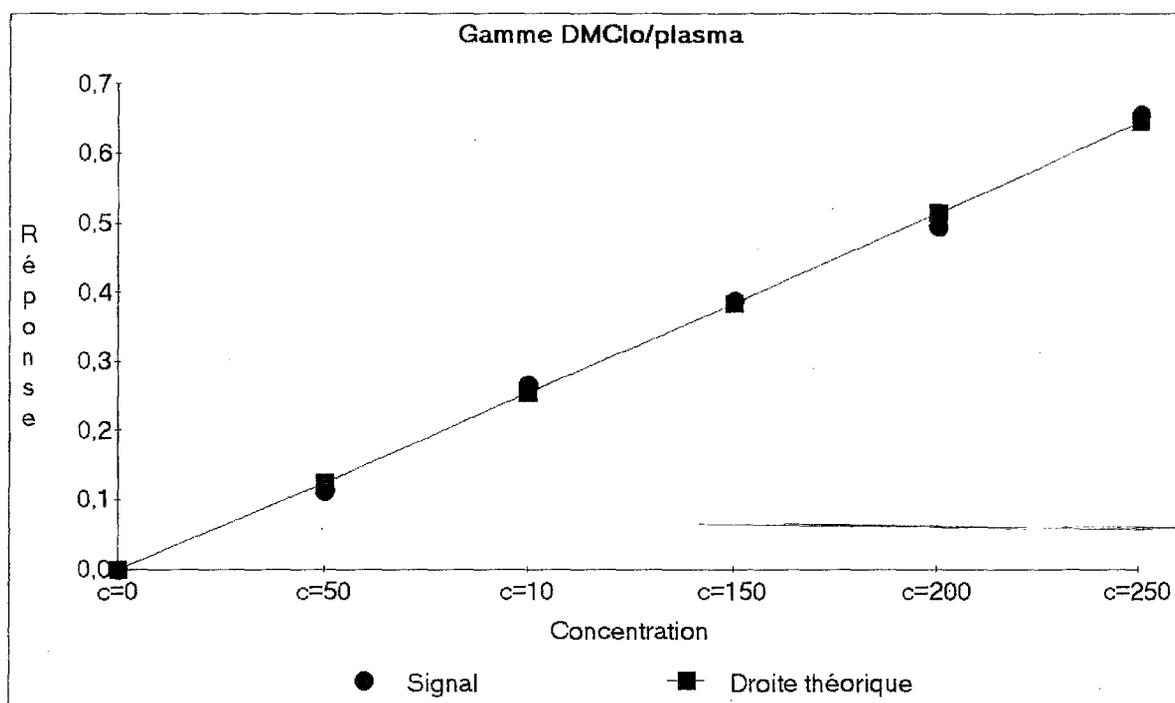
$$s = \text{ecart type} : 8.062 \cdot 10^{-4}$$

$$C.V = \text{coefficient de variation} : 8.18\%$$

\* Desméthylclomipramine / maprotiline

## Droite de régression

concentration	50	100	150	200	250
signal	0,112	0,266	0,388	0,495	0,657



$$Y = 2.60 \cdot 10^{-3} X - 5.76 \cdot 10^{-3}$$

$$R = 0.998$$

## Facteur de linéarité

concentration en ng/	50	100	150	200	250
X/Y	0,0024	0,00266	0,00258	0,00247	0,00262

$$m = 2.516 \cdot 10^{-3}$$

$$s = 1.706 \cdot 10^{-4}$$

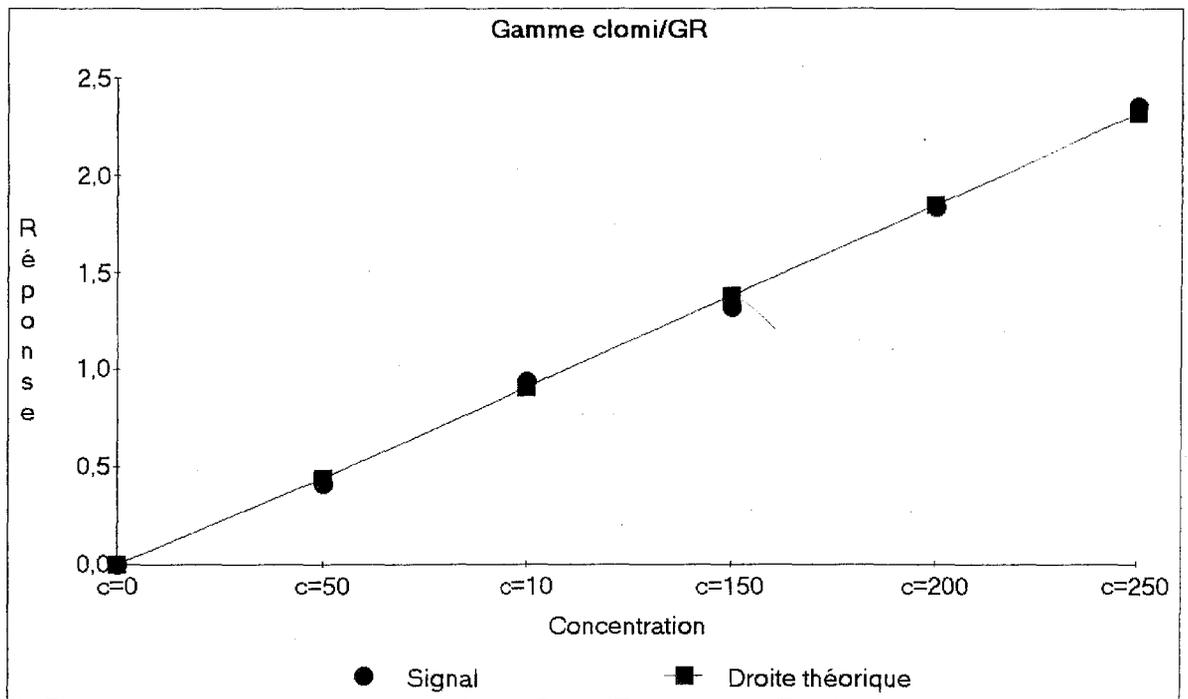
$$C.V. = 6.78\%$$

## 1.2. Linéarité du dosage intra-érythrocytaire

\* Clomipramine / trimipramine.

Droite de régression

concentration	50	100	150	200	250
signal	0,41	0,94	1,32	1,84	2,36



$$Y = 9.41 \cdot 10^{-3}X + 0.031$$

$$R = 0.998$$

Facteur de linéarité

concentration en ng/	50	100	150	200	250
X/Y	0,0082	0,0094	0,0088	0,0092	0,00944

$$m = \text{moyenne} : 9.008 \cdot 10^{-3}$$

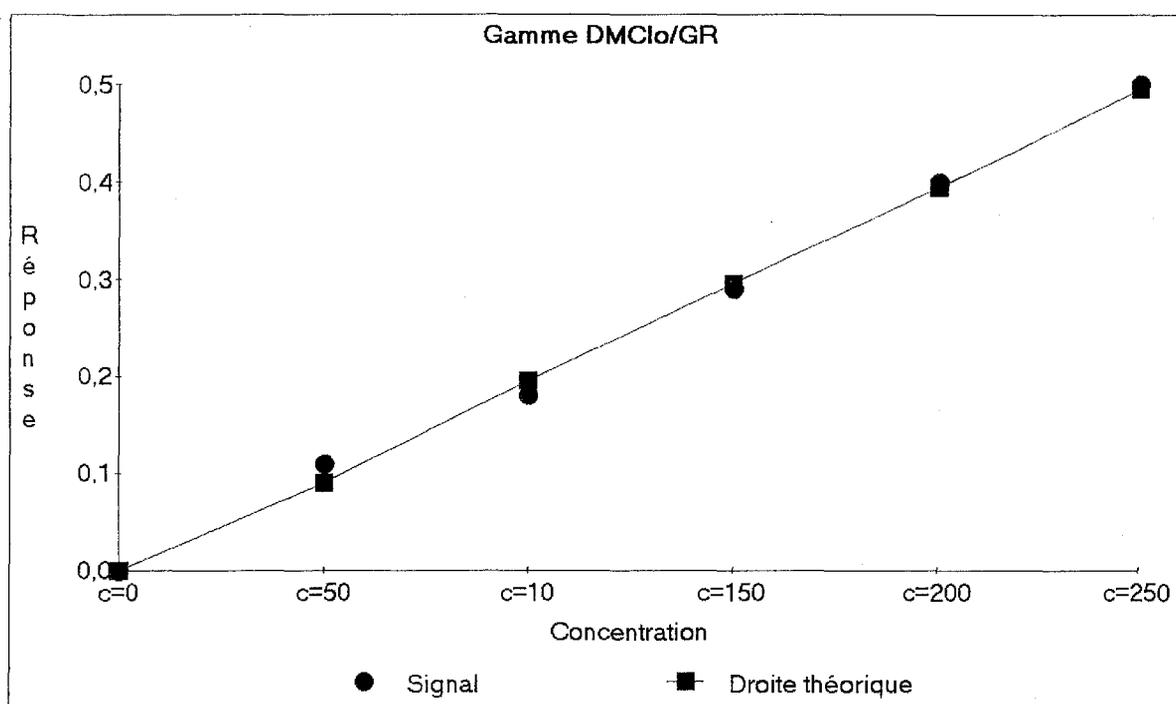
$$s = \text{écart type} : 5.179 \cdot 10^{-4}$$

$$C.V = \text{coefficient de variation} : 5.7\%$$

\* Desméthylclomipramine / maprotiline

## Droite de régression

concentration	50	100	150	200	250
signal	0,11	0,18	0,29	0,4	0,5



$$Y = 2.02 \cdot 10^{-3} X - 0.016$$

$$R = 0.972$$

## Facteur de linéarité

concentration en ng/	50	100	150	200	250
X/Y	0,0022	0,0018	0,0013	0,002	0,002

$$m = 1.86 \cdot 10^{-3}$$

$$s = 3.43 \cdot 10^{-4}$$

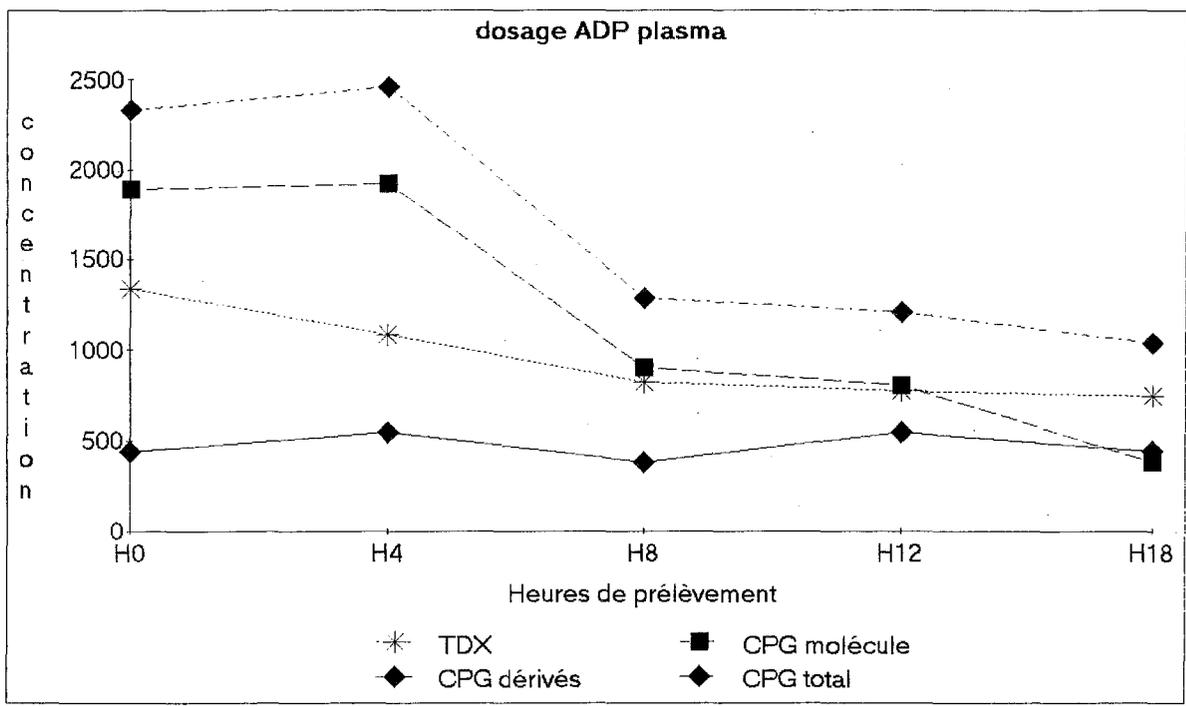
$$C.V. = 18\%$$

### 1.3. Conclusion

La linéarité de la méthode étant établie, nous avons effectué nos dosages en milieu biologique. Cette méthode est employée comme complément du dosage immunologique T.D.X.

Comme pour le dosage de trimipramine, nous obtenons dans les résultats une grande différence dans les valeurs trouvées entre les dosages plasmatiques de molécule et de ses dérivés:

Tps en heures	T.D.X.	C.P.G. PLASMA		
		molécule	metabolite	total et %
H=0	1335	1890	440	2330
H=4	1086	1920	544	2464
H=8	819	900	382	1282
H=12	775	800	544	1210
H=18	745	382	440	1040



## 2. Elimination des problèmes d'interférences.

Lors du dosage de la trimipramine ou de la clomipramine chez des patients intoxiqués, divers problèmes surviennent :

- Interférence entre la clomipramine et le valium qui empêche le dosage de l'anafranil mais aussi celui de la trimipramine, (interférence avec le standard interne).

- Le fait que la clomipramine soit le standard interne choisi risque de rendre le dosage inopérant en cas d'ingestion massive de plusieurs antidépresseurs tricycliques.

- Même problème avec l'interférence imipramine/ trimipramine.

Le principe de base de la méthode n'étant pas à remettre en cause, nous avons plutôt essayé d'améliorer la séparation des produits.

Pour cela, nous avons fait une étude sur différentes colonnes.

Essais successifs de phases stationnaires de polarité croissante :

2.1) Colonnes O.V.1 :

- 2.1.1 O.V.1 Spiral : 25 m \* 0.32mm

film = 0.2µm

Compositon de la phase stationnaire : 100% Methyl silicone = phase appolaire.

- Résultats :

<u>T.R. (mn)</u>	<u>Molécule</u>
8,03	Médazépam Trimipramine Imipramine Doxépine
8,6	D.M. Trimipramine Protriptyline
8,7	Prométhazine
9,62	Alinémazine
11,14	Maprotiline
14,34	Clomipramine Diazépam
15,32	D.M. Clomipramine
18,24	OH Trimipramine Librium
23,63	Midazolam

Les interférences notamment celles entre la clomipramine et le diazépam et celle observée avec la trimipramine nous obligent à tester une autre colonne.

- 2.1.2 O.V.1Macherey Nagel : 25 m \* 0.32 mm

film : 0.25µm

Composition de la phase stationnaire : 100% methyl silicone.

Seul l'épaisseur du film a été modifié, nous avons pensé que ceci suffirait à améliorer la séparation des molécules.

- Résultats : - Même conclusion que pour la colonne précédente, le seul fait d'augmenter l'épaisseur du film ne suffit pas à améliorer les conditions d'analyse.

- On observe par ailleurs une augmentation du temps de rétention, ce qui n'est pas favorable pour une méthode de routine.

2.2) Colonne S.E.54 50 m \* 0.32 mm

film : 0.2 µm

Composition de la phase stationnaire : 94% methyl silicone, 5% Phenyl silicone, 1% vinyl silicone. Cette phase est plus polaire donc plus sélective.

Par ailleurs, la longueur de la colonne est augmentée ceci devant encore augmenter le pouvoir séparateur.

- Résultats : - Ils sont décevants car imipramine et trimipramine sont confondues ; la trimipramine est confondue avec la nortriptiline.
- Les temps de rétention sont globalement augmentés ce qui n'est pas un avantage pour une méthode de routine.
- Le seul point positif est la séparation de la clomipramine et du valium mais ce n'est pas suffisant.
  
- Conclusion : En choisissant une phase de polarité intermédiaire nous pensions séparer les amines tertiaires tout en évitant l'adsorption des amines secondaires sur la colonne, mais la séparation des amines tertiaires n'est pas bonne.

---

2.3.) Colonne O.V. 1701 spiral. 25 m \* 0.22 mm

film : 0.2  $\mu$ m

Composition de la phase stationnaire : 88% methyl silicone, 7% phenyl silicone, 5% cyanopropyl. Cette phase est encore plus polaire que la précédente.

- Résultats:

<u>T.R. (mn)</u>	<u>Molécule</u>
7,30	Amitriptyline
7,39	trimipramine
7,74	Imipramine
7,99	Nortriptyline
8,82	DMTrimipramine
13,26	Clomipramine
21,4	Diazepam
nd	Maprotiline
nd	DMClomipramine
nd	OHTrimipramine

nd = non déterminé

- Conclusion : La colonne O.V.1701 convient parfaitement pour la séparation des amines tertiaires ( les interférences entre trimipramine / imipramine / amitriptyline ainsi que celle entre Clomipramine / Valium sont supprimées ) mais la trop forte polarité de sa phase exclut son utilisation pour les amines secondaires qui ont trop d'affinité pour la phase stationnaire.

2.4.) Colonne spiravax ( équivalent Carbowax ) 25 m \* 0.32 mm

film : 0.12 µm

Composition de la phase stationnaire : Polyéthylène glycol 20000

- Résultats : les amines secondaires sont trop fortement fixées.

2.5.) Colonne Carbowax.20M-AM basic for amine ( Macherey Nagel )

25 m\*0.32 mm

film : 0.25 µm

Composition de la phase stationnaire : Polyéthylène glycol 20000 traité par KOH.

- Résultats :

<u>T.R. (mn)</u>	<u>Molécule</u>
10,18	trimipramine
10,78	Amitriptyline
12,68	Imipramine
15,88	Nortriptyline
15,95	DMTrimipramine
21,62	Protrytiline
25,4	Maprotiline
25,59	Clomipramine
40,6	DMClomipramine
nd	OHTrimipramine
nd	Diazepam
nd	Midazolam

- Résultats : Toutes les amines sont séparées, on résoud ainsi le problème des interférences avec la trimipramine et le valium n'interfère plus avec la clomipramine.

Seule restriction, les dérivés hydroxylés sont fortement fixées sur la colonne, leur dosage est donc impossible. Les temps de rétention sont souvent augmentés et inadaptés pour une méthode de routine.

- Conclusion : Cette colonne présente des avantages pour les dosages complexes, mais pour les dosages de routine nous garderons la colonne OV1, car c'est la seule qui permet le dosage simultané des molécules mères, des métabolites déméthylés et hydroxylés.

## 2.6.) Conclusion

La recherche d'une nouvelle colonne comme moyen d'amélioration de la méthode n'est pas suffisante. Cependant cela nous a permis de connaître le comportement des "amines" par rapport à différentes phases. Nous retiendrons par exemple que la séparation de ces produits est d'autant plus grande que la phase est polaire. Par ailleurs, ce test nous a révélé le midazolam comme possible standard interne pour les amines tertiaires.

**3.) Modification de la technique avec le midazolam comme standard interne**  
**: Dosage simultané de la clomipramine et de la trimipramine**

Cette modification a été motivée par le fait que les produits utilisés comme standards internes sont susceptibles d'être présents dans le sang d'un malade ayant absorbé volontairement plusieurs psychotropes, la coprescription de deux antidépresseurs tricycliques étant rarissime et non justifiée.

Plusieurs produits ont été essayés comme standard interne :

- La protriptyline
- L'imipramine
- La terfluzine
- Le médazépam
- Le midazolam

Seul le midazolam sera retenu ( temps de rétention compatible ) : c'est une benzodiazépine utilisée uniquement en anesthésiologie, donc le risque de comédication est pratiquement nul. Il est bien séparé des molécules à doser ainsi que des autres benzodiazépines.

### 3.1.) Utilisation d'un standard interne unique pour le dosage de la trimipramine et de la clomipramine.

Le protocole d'extraction et d'obtention des gammes reste le même, seul change le standard interne. Le midazolam convient parfaitement pour les deux amines tertiaires et les dérivés hydroxylés mais le résultat n'est pas satisfaisant pour les amines secondaires (variation importante des tests de répétabilité et reproductibilité).

### 3.2.) Validation de la nouvelle méthode ( *CF ANNEXE POUR LES COURBES* )

#### 3.2.1.) Linéarité (étude dans le plasma)

Trimipramine: - Droite de régression linéaire :  $Y = 4.16 \cdot 10^{-3}X - 0.022$   
 - Coefficient de corrélation :  $r = 0.985$   
 - Facteur de linéarité :  $m = 3.97 \cdot 10^{-3}$   
 $\sigma = 4.1 \cdot 10^{-4}$   
 C.V. = 10%

Clomipramine: - Droite de régression linéaire :  $Y = 2.88 \cdot 10^{-3} X + 0.018$   
 - Coefficient de corrélation :  $r = 0.998$   
 - facteur de linéarité :  $m = 3.14 \cdot 10^{-3}$   
 $\sigma = 2.78 \cdot 10^{-4}$   
 C.V. = 8.85%

OHtrimipramine: - Droite de régression linéaire :  $Y = 1.3 \cdot 10^{-3} X - 6.5 \cdot 10^{-3}$

- Coefficient de corrélation :  $r = 0.994$

- Facteur de linéarité :  $m = 1.23 \cdot 10^{-3}$

$\sigma = 1.1 \cdot 10^{-4}$

C.V. = 9.3%

DMtrimipramine: - Droite de régression linéaire :  $Y = 4.54 \cdot 10^{-3} X + 0.036$

- Coefficient de corrélation :  $r = 0.991$

- facteur de linéarité :  $m = 4.161 \cdot 10^{-3}$

$s = 3.6 \cdot 10^{-4}$

C.V. = 8.6%

DMclomipramine: - Droite de régression linéaire :  $Y = 2.44 \cdot 10^{-3} X + 7.0 \cdot 10^{-3}$

- Coefficient de corrélation :  $r = 0.996$

- Facteur de linéarité :  $m = 2.4 \cdot 10^{-3}$

$s = 2.1 \cdot 10^{-4}$

C.V. = 8.5%

### 3.2.2. étude dans les globules rouges

Trimipramine - Droite de régression linéaire :  $Y = 4.1710^{-3} X - 0.031$   
 - Coefficient de corrélation :  $r = 0.994$   
 - Facteur de linéarité :  $m = 3.8 \cdot 10^{-3}$   
 $s = 3.26 \cdot 10^{-4}$   
 C.V. = 8.5%

Clomipramine: - Droite de régression linéaire :  $Y = 3.79 \cdot 10^{-3} X - 0.001$   
 - Coefficient de corrélation :  $r = 0.999$   
 - Facteur de linéarité :  $m = 3.64 \cdot 10^{-3}$   
 $s = 2.1 \cdot 10^{-4}$   
 C.V. = 5.6%

OHtrimipramine: - Droite de régression linéaire :  $Y = 3.910^{-4} X - 2.6 \cdot 10^{-3}$   
 - Coefficient de corrélation :  $r = 0.979$   
 - Facteur de linéarité :  $m = 3.5 \cdot 10^{-4}$   
 $s = 5.2 \cdot 10^{-5}$   
 C.V. = 14%

DMtrimipramine: - Droite de régression linéaire :  $Y = 3.44 \cdot 10^{-3} X + 0.016$

- Coefficient de corrélation :  $r = 0.985$

- Facteur de linéarité :  $m = 3.57 \cdot 10^{-3}$

$s = 3.32 \cdot 10^{-4}$

C.V. = 9.3%

DMclomipramine: - Droite de régression linéaire :  $Y = 1.15 \cdot 10^{-3} X + 0.034$

- Coefficient de corrélation :  $r = 0.95$

- Facteur de linéarité :  $m = 1.29 \cdot 10^{-3}$

$s = 4.2 \cdot 10^{-4}$

C.V.=32%

### 3.2.2 Répétabilité

L'étude n'a pu être faite que pour la méthode plasmatique et uniquement en comparant les rapports entre les concentrations et les signaux correspondants. Cette opération n'est réalisée que pour la trimipramine, la clomipramine et l'hydroxytrimipramine. Le midazolam ne convient pas comme standard interne pour les amines secondaire. La répétabilité est nettement moins bonne que celle obtenue avec la maprotiline comme standard. L'étude ayant déjà été effectuée pour les dérivés déméthylés nous ne la recommençons pas (*cf. III.3.3*)

Trimipramine / midazolam :

concentration théorique	moyenne des signaux	écart type	coefficient de variation
50	0,249	0,015	6,05%
150	0,6315	0,069	11,06%
250	0,89	0,065	7,33%

Clomipramine/midazolam :

concentration théorique	moyenne des signaux	écart type	coefficient de variation
50	0,196	0,0069	3,50%
150	0,544	0,0052	9,60%
250	0,77	0,055	7,15%

Hydroxytrimipramine/midazolam :

concentration théorique	moyenne des signaux	coefficient de variation	différence/valeur théorique
50	0,079	0,0062	7,80%
150	0,3116	0,0301	9,60%
250	0,45	0,0217	4,70%

### 3.2.3. Reproductibilité

Le test a été effectué sur 3 jours (nous injectons chaque jour, 5 fois la même concentration). Les valeurs présentées correspondent aux résultats journaliers obtenus pour chaque concentration .

#### Trimipramine/midazolam :

concentration théorique	moyenne des signaux	écart type	Coefficient de variation
50	0,2472	0,00942	3,80%
150	0,623	0,0066	1,00%
250	0,95	0,06	6,30%

#### Clomipramine/midazolam :

concentration théorique	moyenne des signaux	écart type	Coefficient de variation
50	0,2	0,013	6,90%
150	0,514	0,0305	5,90%
250	0,0788	0,03	4,00%

#### Hydroxytrimipramine/midazolam :

concentration théorique	moyenne des signaux	écart type	Coefficient de variation
50	0,084	0,014	14,00%
150	0,281	0,003	13,00%
250	0,495	0,039	8,00%

#### .3.2.4.Conclusion

L'absence d'interférences et la possibilité de doser simultanément la clomipramine et la trimipramine, ainsi que leurs métabolites, correspond à une extension particulièrement intéressante de la méthode.

## APPLICATION CLINIQUE : (2)(25)

Suite à cette étude, un protocole de recherche sur l'intérêt de la pratique de dosage intra-érythrocytaire et plasmatique d'ADP chez des patients présentant un état dépressif majeur, a été mis en oeuvre.

Cette étude a été effectuée grâce l'équipe de pharmacologie du Professeur BESSARD en collaboration avec l'équipe du service de psychothérapie du Professeur BOUCHARLAT.

---

### 1. But de l'étude :

Comme nous l'avons mentionné dans le chapitre I 4.1. (*le suivi thérapeutique pourquoi?*), il existe des cas de résistance aux traitements antidépresseurs. Par cette étude clinique, on pourra vérifier tout d'abord qu'une posologie et un délai d'action suffisant ont été respectés.

Le cas échéant, et si on observe une résistance thérapeutique, on cherchera à connaître si cet échec n'est pas due à une concentration plasmatique anormalement basse, n'entrant pas dans la fourchette de taux d'efficacité expérimentalement définie. Cependant, l'adaptation de la posologie, permettant d'obtenir une concentration plasmatique suffisante, n'exclut pas tous les cas de résistance.

On peut formuler l'hypothèse que l'un des facteurs de résistance, est dû à une mauvaise pénétration cellulaire du médicament. Ceci est déjà exploité dans le dosage du lithium, pour lequel seul un rapport des concentrations érythroplasmatiques permet de comprendre certains cas de résistance.

On se propose de vérifier cette hypothèse concernant les ADP, en réalisant chez des patients présentant un état dépressif majeur, des dosages intra-érythrocytaires et plasmatiques. On recherche, une éventuelle corrélation entre l'efficacité clinique et la concentration intra-érythrocytaire mesurée ainsi que le ratio érythroplasmatique.

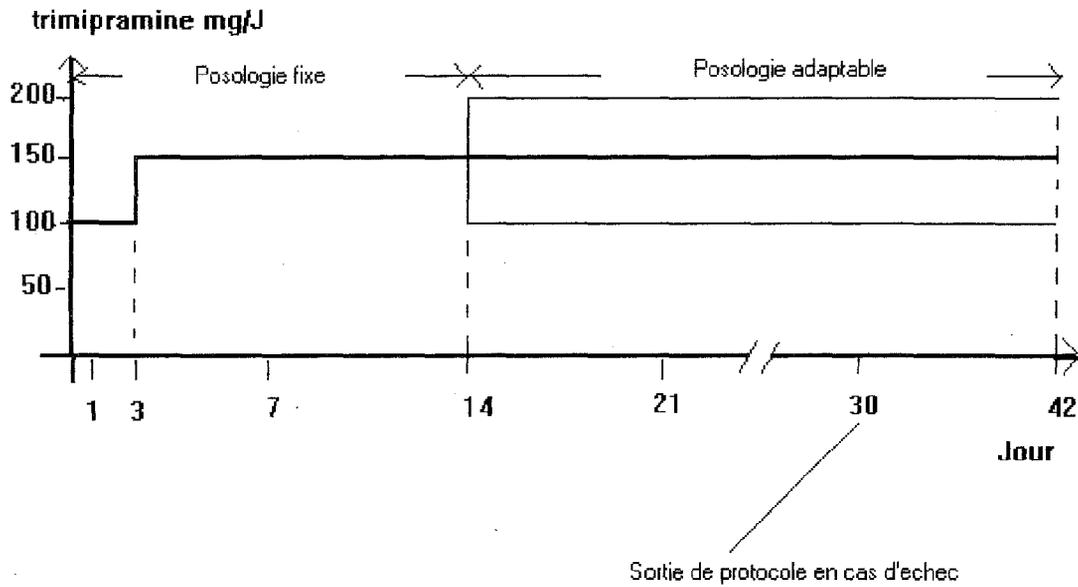
## 2.Méthodologie

L'étude concerne des patients présentant un état dépressif majeur au sens DSM III (*cf I.1.4.1. diagnostie*) Ils sont traités par la trimipramine en monothérapie avec une posologie fixe de 100mg pour les jours J0 et J1. A partir de J2, la posologie est de 150 mg et ce, jusqu'à J14 date, à laquelle la posologie peut être modifiée, en fonction des résultats cliniques et biologiques. La posologie est adaptée avec une diminution à 100mg ou au contraire une augmentation à 200mg.

Les dosages plasmatique et intra-érythrocytaire sont réalisés sur des prélèvements effectués à J0, J1, J3, J7, J14, J21, J30, J42.

Parallèlement un suivi clinique est effectué pour une évaluation à J0, J7, J14, J30, J42.

Un résumé d'observations est rédigé à la date de sortie du protocole, qu'il s'agisse de la fin (J42) ou d'une sortie prématurée.



### 3. Population de l'étude :

Critères d'inclusion :

On pourra inclure des patients des deux sexes quel que soit leur âge.

Ils devront présenter un état dépressif majeur au sens DSM III avec un score à l'échelle MADRS supérieur ou égal à 23.

Critère d'exclusion:

Les patients présentant une contre indication majeure à la trimipramine, utilisant un autre traitement incompatible avec la prescription de surmontil, ou susceptible d'interférer de façon gênante avec la réalisation technique du dosage.



### 5. Evaluation clinique :

Le tableau ci-dessous résume l'évaluation clinique de la dépression :

	J0	J1	J3	J7	J14	J30	J42
Identification	X						
Antécédents, examen général	X						
Diagnostic DMS III	X						
Critères d'inclusion non inclusion	X						
CGI	X			X	X	X	X
MADRS	X			X	X	X	X
HAMA	X			X	X	X	X
Traitement actuel	X			X	X	X	X
Biologie générale	X						
Dosage de trimipramine	X	X	X	X	X	X	X

CGI, HAMA, MADRS, sont des échelles d'évaluation de la dépression.

**Modalités pratiques :**

**Données cliniques :**

Les dossiers d'observation sont mis à la disposition des cliniciens, une séance de cotation pour l'échelle MADRES est prévue afin d'homogénéiser les évaluations.

**Données biologiques :**

Les dosages plasmatiques et intra-érythrocytaires sont effectués dans le laboratoire de pharmacologie.

Il convient de respecter les modalités de prélèvement, de conditionnement et de transport pour les échantillons sanguins :

- 
- prélèvement sur deux tubes d'héparinate de sodium (bien remplir les tubes).
  - prélèvement effectué avant toute prise de médicament (prescrire le surmontil préférentiellement le soir).
  - transport assuré en moins de trois heures.
  - les tubes sont étiquetés en précisant les coordonnées du patient (code), la date du prélèvement.
  - le bon accompagnant le prélèvement doit préciser la mention "PROTRI", le jour du prélèvement et les médications associées.

**Résultats :**

L'étude préliminaire est faite sur 12 personnes traités à la trimipramine.

Les résultats des ratios érythroplasmatiques de la trimipramine et de la DMT montrent une répartition différente de la molécule et de ses métabolites dans le plasma et les globules rouges, ceci confirme les résultats déjà signalés par certains auteurs pour d'autres ADP :

PATIENT	TGR/TPL	DMTGR/DMTPL
1	0,54	2,3
2	0,4	1,4
3	0,39	1,57
4	0,25	1,41
5	0,31	1,66
6	0,42	1,95
7	0,47	1,14
8	0,37	0,91
9	0,5	2,08
10	0,44	1,51
11	0,33	1,04
12	0,6	1,95
MOYENNE	0,42	1,58
± écart type	0,10	0,43
C.V.	23,79	27,37

En référence aux résultats de corrélation clinicobiologique de MATUZAS pour l'imipramine à savoir :

- Taux des répondeurs supérieurs à celui des non répondeurs
- Rapport de déméthylation des répondeurs supérieurs à celui des non répondeurs,

des tableaux on été présentés :

**Tableau II :** réponse clinique : % d'amélioration / score initial

**Tableau III :** rapport plasmatique et érythrocytaire de la trimipramine et de la DMT

**Tableau IV et V :** valeurs des  $C_{max}$  (maximum plasmatique) et  $T_{max}$  (temps d'apparition du maximum plasmatique) et gradient d'absorption extrapolé par le rapport  $C_{max}/T_{max}$ .

### Conclusion:

**Tableau II :** 8 des 12 sujets étudiés répondent favorablement au traitement, 2 présentent une réponse fragile et 2 sont non répondeurs.

**Tableau III :** Pour les patients 8 et 6 (non répondeurs) ainsi que pour les patients 9 et 11 (répondeurs fragiles), les rapports de déméthylation plasmatique et érythrocytaire ne diffèrent pas des sujets répondeurs tant pour la trimipramine que pour la DMT.

**Tableau IV** 6 sur 8 sujets bon répondeurs atteignent leur Tmax de trimipramine en 3 ou 7 jours pour des concentrations allant de 75 à 390 ng/ml ( $m=183 \pm 100$ ng:ml) avec un gradient d'absorption moyen de  $35,6 \pm 40$ .

Chez les sujets fragiles ou non répondeurs, le Tmax de trimipramine se situe plus tardivement entre 7 et 42 jours avec des concentrations allant de 72 à 227 ng/ml ( $m=154 \pm 81$  ng/ml) mais surtout ces patients présentent un gradient d'adsorption plus faible de  $9,5 \pm 6,2$ .

**Tableau II**

PATIENT	J7 %	J15 %	J30 %	J42 %	REPONSE GLOBALE
1	20-50	20-50	40-65	-	+
2	20-25	20-35	40-58	60-90	+
3	17-43	24-48	50-63	67-93	+
4	30-52	67-86	67-93	67-80	+
5	20-57	20-87	60-97	80-100	+
6	0-25	16-31	16-46	33-55	-
7	20-34	20-46	-	-	+
8	7-20	7-20	15-40	23-40	-
9	20-43	40-86	80-100	60-76	±
10	16-61	50-82	66-79	66-81	+
11	8-20	8-53	16-46	40-78	±
12	16-52	72-83	-		+

code + Amélioration

± Amélioration fragile

- Echec

Tableau III

Rapport de déméthylation :

des répondeurs:

PATIENT	PLASMA DMT PL/T PL	G.R. DMT GR/T GR
1	0,15	0,49
2	0,27	0,97
3	0,21	0,33
4	1,26	6,91
5	0,06	0,37
7	0,93	4,2
10	0,16	0,49
12	0,6	1,95

des répondeurs fragiles :

9	0,36	1,5
11	0,1	0,32

des non répondeurs :

6	0,58	2,68
8	0,15	0,42

**TABLEAU IV**

Valeurs des Cmax et Tmax

Trimipramine:

Répondeurs :

PATIENT	PLASMA			GLOBULE ROUGE		
	Cmax (ng/ml)	Tmax (Jour)	Cmax Tmax	Cmax (ng/ml)	Tmax (Jour)	Cmax Tmax
1	75	7	10,7	51	7	7,3
2	121	3	40,3	65	7	9,3
3	254	7	36,3	108	21	5,1
4	390	3	130,0	70	15	4,7
5	182	7	26,0	41	7	5,9
7	196	7	28,0	74	7	10,6
10	136	21	6,5	59	21	2,8
12	116	15	7,7	96	7	13,7
MOYENNE	183,8		35,7	70,5		7,4
Ecart type	100		40	22		3,5
C.V.	54,4		112,1	31,2		47,2

Répondeurs fragiles ou non répondeurs :

9	98	7	14,0	47	7	6,7
11	72	42	1,7	26	21	1,2
6	222	30	7,4	92	42	2,2
8	227	15	15,1	84	15	5,6
MOYENNE	154,8		9,6	62,3		3,9
Ecart type	81		6,2	31		2,6
C.V.	52,3		64,8	49,8		66,1

**TABLEAU IV (suite)**

DMT :

Répondeurs :

PATIENT	PLASMA			GLOBULE ROUGE		
	Cmax (ng/ml)	Tmax (Jour)	<u>Cmax</u> <u>Tmax</u>	Cmax (ng/ml)	Tmax (Jour)	<u>Cmax</u> <u>Tmax</u>
1	23	15	1,5	43	15	2,9
2	34	15	2,3	56	15	3,7
3	50	15	3,3	104	21	5,0
4	294	15	19,6	520	15	34,7
5	12	15	0,8	18	3	6,0
7	228	15	15,2	459	21	21,9
10	35	21	1,7	92	7	13,1
12	25	7	3,6	61	7	8,7
MOYENNE	87,6		6,0	169,1		12,0
Ecart type	109		7,2	200		11
C.V.	124,4		120,1	118,3		91,7

Répondeurs fragiles ou non répondeurs :

9	38	7	5,4	92	7	13,1
11	19	42	0,5	9	30	0,3
6	165	30	5,5	232	15	15,5
8	41	15	2,7	30	15	2,0
MOYENNE	65,8		3,5	90,8		7,7
Ecart type	66		7,2	31		7,6
C.V.	100,4		204,0	34,2		98,4

Conclusion :

Cette étude n'est qu'un préliminaire, elle présente une difficulté d'interprétation au niveau des Cmax et Tmax dans la mesure où le protocole inclut une augmentation de posologie à partir de J2 (J0-J1 = 100mg -J2 et + =150mg)

L'idée de corréler l'efficacité à la valeur d'un coefficient d'absorption est nouvelle, aucune étude sur la trimipramine ou des antidépresseurs tricycliques n'ayant été abordée dans ce sens jusqu'à ce jour.

Une étude plus large sur un grand nombre de cas devrait être envisagée prenant en compte les paramètres suivants :

- même protocole d'appréciation clinique
- une seule posologie par patient du début à la fin de l'étude.
- éventuellement 2 groupe de patients :
  - 1 à posologie faible
  - 1 à posologie moyenne

permettant d'évaluer un seuil d'efficacité (déjà étudié sans succès) auquel on ajouterait l'évaluation chiffrée :

- 1) du gradient d'absorption
- 2) du plateau d'équilibre des concentrations dans le temps
- 3) des métabolites déméthylés et hydroxylés.

## CONCLUSION

L'accès aux concentrations basses d'antidépresseurs dans le plasma comme dans les globules rouges par la mise au point de la technique rapide de quantification que nous venons de décrire et d'évaluer est d'un grand intérêt pratique.

Cette méthode corrige le manque de sensibilité et de spécificité des techniques courantes immunochimiques et offre l'accès aux dosages simultanés non seulement de la molécule mère, mais également du métabolite hydroxylé (cardiotoxique ; temps de demi-vie long ; reflet de la métabolisation du dérivé déméthylé), ce qui est rarement décrit à ce jour.

De plus, la technique offre l'avantage d'être rapide, ne mettant en jeu ni silanisation de la verrerie, ni dérivation, ni double extraction, ce qui la rend bien adaptée aux analyses de routine.

La surveillance des taux plasmatiques de trimipramine et de clomipramine (ainsi que leurs métabolites) présente le triple intérêt :

- de compléter les données pharmacocliniques peu nombreuses concernant ces deux molécules chez les sujets traités au long cours,
- d'éviter les résistances thérapeutiques ou le risque de toxicité liés à une posologie mal adaptée,
- d'améliorer la compliance.

Plus démonstratif encore est l'intérêt de la détermination intra-érythrocytaire de ces mêmes molécules car il s'agit d'un domaine peu étudié : la réponse aux antidépresseurs peut être différente pour des posologies identiques et des taux plasmatiques semblables.

L'application de cette technique pour la réalisation du protocole clinique effectué par le laboratoire de pharmacologie du Professeur GAVEND, en collaboration avec le service de psychothérapie du Professeur BOUCHARLAT en a démontré l'efficacité analytique.

Par ailleurs cette étude préliminaire ouvre la voie aux études de corrélation pharmacocliniques.

# BIBLIOGRAPHIE

- (1) AIMARD (G), VIGHETTO (A.)  
THERAPEUTIQUE NEUROPSYCHIATRIQUE  
MASSON édition  
1989 : 17-24
  
- (2) AMITAI (Y.), ERICKSON (T.), KENNEDY (E.J.)  
"Tricyclic antidepressants in red cells and plasma : correlation with impaired  
intraventricular conduction in acute overdose"  
Clinical pharmacology & therapeutic ; 1993 ; 54 (2) : 219-27
  
- (3) BALANT-GORGIA (A.B.), BALANT (L.P.)  
"Le suivi ,thérapeutique des antidépresseurs tricycliques"  
La lettre du pharmacologue, 1987 - Volume 1, (6) : 185-8
  
- (4) BERGERET (J.)  
PSYCHOLOGIE PATHOLOGIQUE  
MASSON édition  
1992 : 146-7
  
- (5) BERTSCHY (G.), VANDEL (S.), ALLERS (G.), BECHTEL (P.)  
"Concentrations plasmatiques de désipramine et réponse clinique chez des patients  
déprimés majeurs"  
Thérapie 1989 ; 44 : 375-6

- (6) BINRT (P.), AYMARD (N.)  
"Intérêt des dosages plasmatiques et érythrocytaires des antidépresseurs tricycliques et de leurs dérivés déméthylés en vue du suivi thérapeutique."  
Psychologie médicale 1986 ; 18 ; 2045-6
- (7) BOIVIN (P.)  
"Structure, métabolisme et physiologie des globules rouges humains"  
Encyclopédie médico- chirurgicale (Paris) : 7, 1987 ; 1-16
- (8) BOURIN (M.)  
"Les antidépresseurs : de la clinique à la pharmacologie"  
La lettre du pharmacologue, bulletin de surveillance thérapeutique pratique 1985 ;  
(4) : 1-4
- (9) BOURIN (M.), KERGUERIS (M.F.), LE NORMAND (Y.), LARROUSSE (C.)  
Surveillance thérapeutique des traitements par antidépresseurs tricycliques.  
La lettre du pharmacologue, bulletin de surveillance thérapeutique pratique 1985 ;  
n°4 : 4-8
- (10) BOYER (P.)  
"Etats dépressifs et marqueurs biologiques "  
La revue du praticien, mai 1985 ; 35, (27) : 1627-30

- (11) BULZYHENKOV (V.), CHRISTEN (Y.), PRILIPKO (L.)  
GENETIC APPROCES IN THE PREVENTION OF MENTAL DISORDERS  
SPRINGER - VERLAG 1989 : 39-44
- (12) CAILLE (G.) LACASSE (Y.)  
"Relation structure activité des antidépresseurs tricycliques"  
Toxicological european research volume, 1979 ; II (6) : 267-272
- (13) CAPORAL-GAUTIER (J.), NIVET (J.M.), ALGRANTI (P.), GUILLOTEAU (M.),  
HISTE (M.), LALLIER (M.), N'GUYEN-HUU (J.J.), RUSSOTTO (R.)  
"Guide de validation anakytique, rapport d'une commission SFTP"  
SFTP Pharma ; 1992, 2 (4) : 205-239
- (14) DABROWSKI (R.)  
"Les antidépresseus"  
Tempo médical 1981, (91) : 152-59
- (15) DUFOUR (P.), BILLA (J.P.), FABRE (J.), ROQUEBERT (J.)  
"Evaluation de l'activité anticholinergique central des antidépresseurs."  
Annale Pharmaceutique Française 1989 ; 47 (3) : 135-41

- (16) FERRI (M.), RUFIN (J.C.), ALBY (J.M.)  
"Le généraliste face au déprimé"  
Gazette médicale 1984, 91 (32), 37-48
- (17) HECKMANN (V.)  
"La trimipramine dans le traitement des états dépressifs"  
Thèse de doctorat en médecine 1989 : 36-37 Grenoble
- (18) JEAMMET (PH.), REYNAUD (M.), CONSOLI (S.)  
PSYCHOLOGIE MEDICALE  
MASSON 1980 ; IV 2. : 157
- (19) LAPIERRE (Y.D.)  
"A review of trimipramine 30 years of clinical use"  
Drugs ; 1989 : 38 (supp 1.) 17-24
- (20) LEMPIERE (TH.), FELINE (A.)  
PSYCHIATRIE DE L'ADULTE  
MASSON ; 1977 : 202-214
- (21) LIONNOILA (M.), FLOYD (D.)  
"Plasma and Erythrocyte levels of Tricyclique antidepressants in Depressed Patients"  
American Journal of Psychiatry 1978 ; 135 5 : 557-61

- (22) LOO (H.)  
"Biologie de la dépression"  
Gazette médicale ; 1984 ; 91 (32) : 97-102
- (23) LUPP (A.), BAR (K.I.), LUCKING (C.H.), FEUERSTEIN (T.J.)  
"Different effect of serotonin (5-HT) uptake blockers in caudate nucleus and hippocampus of the rabbit role of monoamine oxidase in dopaminergic terminals"  
Psychopharmacology 1992 ; 106 : 118-26
- (24) MARTY (H.), VAROQUAUX (O.), CORDONNIER (P.)  
"Compared plasma and brain pharmacokinetics of clomipramine and its metabolite demethylclomipramine in two strains of mice (NMRI and CD1)"  
Fundam Clinical Pharmacology ; 1992 ; 6 : 49-57
- (25) MATUZAS (W.), JAVAD (I.)  
"Plasma and red blood cell imipramine levels and clinical response among depressed outpatients"  
Psychopharmacology bulletin ; 1983 ; 19, (4) : 652-4
- (26) MERCIAN (A.), LOPEZ (J.)  
"Intérêt de la toxicologie analytique dans les intoxications aiguës aux antidépresseurs tricycliques"  
THESES de médecine 1993 : 91-6 Grenoble

- (27) MUSA (M.N.)  
"nonlinear kinetics of trimipramine in depressed patients"  
Journal. Clinical of Pharmacology. 1989 ; 29 : 746-47
- (28) ORSULAK (P.J.), HAVEN (M.C.)  
"Issues in methodology and application for therapeutic monitoring of antidepressant drugs"  
Clinical Chemistry ; 1989 ; 35 (7) : 1318-25
- (29) ORTIZ (J.) ARTIGAS (F.)  
"Effects of monoamine uptake inhibitors on extracellular and platelet 5-Hydroxytrimipramine in rat blood : different effects of clomipramine and fluoxetine"  
British. Journal. of Pharmacology. ; 1992 ; 105 : 941-946
- (30) PLANAT (P.)  
"Les traitements de la dépression"  
Gazette Médicale ; 1984 ; 91 (32) : 107-14
- (31) POKLIS (A.), SOGHOIAN (D.), CROOKS (C.R.), SAADY (J.J.)  
"Evaluation of the ABBOT ADx total serum tricyclic immunoassay"  
Clinical toxicology ; 1990 ; 28 (2) : 235-48

- (32) RIFAI (N.), HOWLETT (C.M.), LEVTZOW (C.B.)  
"Measurement of antidepressants using solid-phase extraction and wide-bore capillary gas chromatography with nitrogen-Selective detection"  
Therapeutic Drug monitoring ; 1988 ; 10 : 194-96
- (33) RUTHER (E.)  
"Depression, circadian rhythms and trimipramine"  
Drugs ; 1989 ; 38 (supp 1.) 1-3
- (34) SIMON (P.)  
"Le monde des antidépresseurs et quelques clés pour s'y retrouver"  
Prescrire ; 1983 ; 3 (25) : 15-20
- (35) SIMPSON (G.M.), PI (E.H.), GROSS (L.), BARON (D.)  
"Plasma levels and therapeutic response with trimipramine treatment of endogenous depression"  
J.Clin. Psychiatry ; 1988 ; 49 (3) ; 113-6
- (36) TAYLOR (P.J.), CHARLES (B.G.), NORRIS (R.)  
"Measurement of dothiepin and its major metabolites in plasma by high-performance liquid chromatography"  
J. of Chromatography ; 1992 ; 581 : 152-5

(37) VALLI (M.), JADOT (G.)

"Le globule rouge indicateur pharmacologique à réévaluer"

Nouvelle presse médicale ; 1981 ; 10 41 : 3369-3370



# ANNEXES

## I Diagramme de dépression H.A.R.D

### Humeur :

#### Tristesse :

- 0- absente
- 1-
- 2- paraît découragé ; demande à être soutenu.
- 3-
- 4- pessimisme exprimé spontanément ou à l'interrogatoire. Tristesse apparente (par la mimique, attitude, la voie, la tendance à pleurer).
- 5
- 6- sentiment prégnant de désespoir exprimé verbalement et/ou par l'attitude.

#### Désintérêt

- 0- intérêt habituel pour le monde et autrui.
- 1-
- 2- moindre goût pour les plaisirs habituels.
- 3-
- 4- perte de sollicitude pour les proches ; absence d'intérêt pour le monde environnant.
- 5-
- 6 repli sur sa préoccupation pessimiste. Inertie douloureuse des émotions. "Plus rien ne touche"

#### Appétit

- 0- normal
- 1-
- 2- légèrement réduit
- 3-
- 4- Trouve la nourriture sans goût ; se force pour manger
- 5-
- 6- ne mange que si on l'invigorer

### Angoisse :

#### Anxiété psychique :

- 0- calme
- 1-
- 2- inquiétude, tension passagère inhabituelle
- 3-
- 4- sentiment permanent de tension intérieure ; attente douloureuse, crises d'anxiété intermittentes
- 5-
- 6- anxiété majeur durable ,désarroi

anxiété somatique:

- 0- absente
- 1-
- 2- discrète : préoccupation corporelles fréquentes ; dyspepsie ; algies diverses
- 3
- 4- moyenne : trouble vasomoteur ; extrémités glacées ; bouffées de chaleur ; impression de serment ; suffocation ; céphalée ; nausée ; troubles du transit ; palpitation ; impulsion boulimique.
- 5-
- 6- angoisse importante ; ces troubles deviennent incapacitants

Insomnie:

- 0- sommeil normal
- 1-
- 2- insomnie d'endormissement
- 3-
- 4- réveil fréquent ; sommeil réduit (interrompu au moins deux heures) agité non réparateur troublé de cauchemars
- 5-
- 6- moins de trois heures de sommeil par 24 heures ; insomnie régulière du petit matin (sans pouvoir se rendormir)

Ralentissement :

- Lassitude :
- 0- absente
  - 1-
  - 2- difficulté à entreprendre les activités ( professionnels, scolaires, domestiques).  
Prédominance à l'asthénie.
  - 3
  - 4 sentiment pénible d'effort pour mener à bien les activités quotidiennes. Impression intermittente d'être "bloqué"
  - 5-
  - 6- Lassitude extrême, épuisement permanent, incapacité à agir sans aide.

Concentration :

- 0- pas de difficulté
- 1-
- 2- Concentration et mémoire requière un effort inhabituel
- 3-
- 4- Signal une baisse de ses capacités intellectuelles (attention, concentration, mémoire) prouve des difficulté à ,suivre une conversation , le calcul, la télévision.
- 5-
- 6 -Troubles gênant l'entretien, difficulté de compréhension et de mémorisation des formations.

**Attitude :**

- 0- Pas de ralentissement apparent
- 1-
- 2 Mimique, langage, ou marche légèrement ralenti
- 3-
- 4- Mimique, langage, ou marche manifestement ralenti
- 5-
- 6- ralentissement qui gêne l'entretien

**Danger :****Dévalorisation**

- 0- Aucune
- 1-
- 2- Sentiment d'infériorité perte d'estime de soi si on l'interroge
- 3-
- 4- Propos inquiétant de dévalorisation: "je ne vauds rien, je suis inférieur"
- 5-
- 6- Idées délirantes d'auto-dépréciation: "je suis un détrit"

**Idées suicidaires :**

- 0- Aucune
- 1-
- 2- S'interroge sur la nécessité de vivre
- 3-
- 4- "idées noires" le suicide est évoqué comme une solution si le traitement n'apportait pas d'amélioration.
- 5-
- 6- Intentions suicidaires manifestes. Tentative de suicide récente.

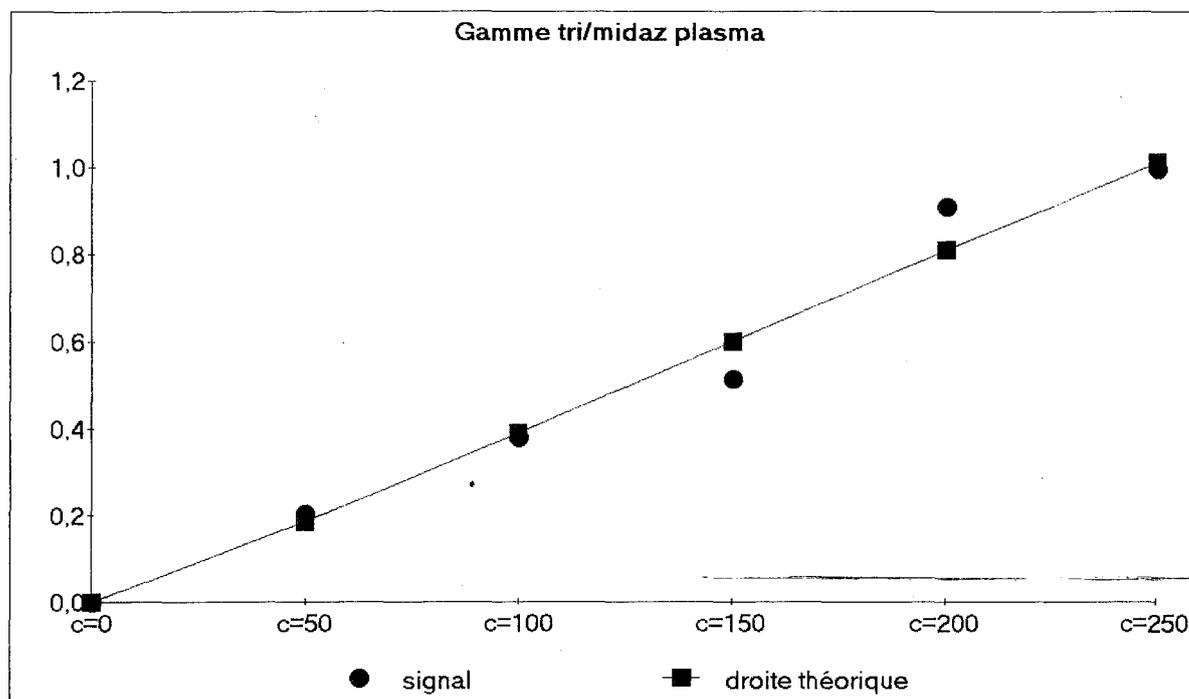
**Idées délirantes :**

- 0- Aucune
- 1-
- 2- Déformation de la réalité : "voit tout en noir"
- 3-
- 4- Vision altérée du monde dominé par le soupçon, le drame, l'absence de recours
- 5-
- 6- Auto- accusation franche. Idées délirantes d'indignité, d'incurabilité, d'hypochondrie de ruine, hallucinations menaçantes

## II Linéarité dans le plasma (Standard interne = modazolam)

### Trimipramine/midazolam:

concentration	50	100	150	200	250
signal	0,205	0,38	0,516	0,91	0,997



- Droite de régression linéaire :  $Y = 4.16 \cdot 10^{-3}X - 0.022$

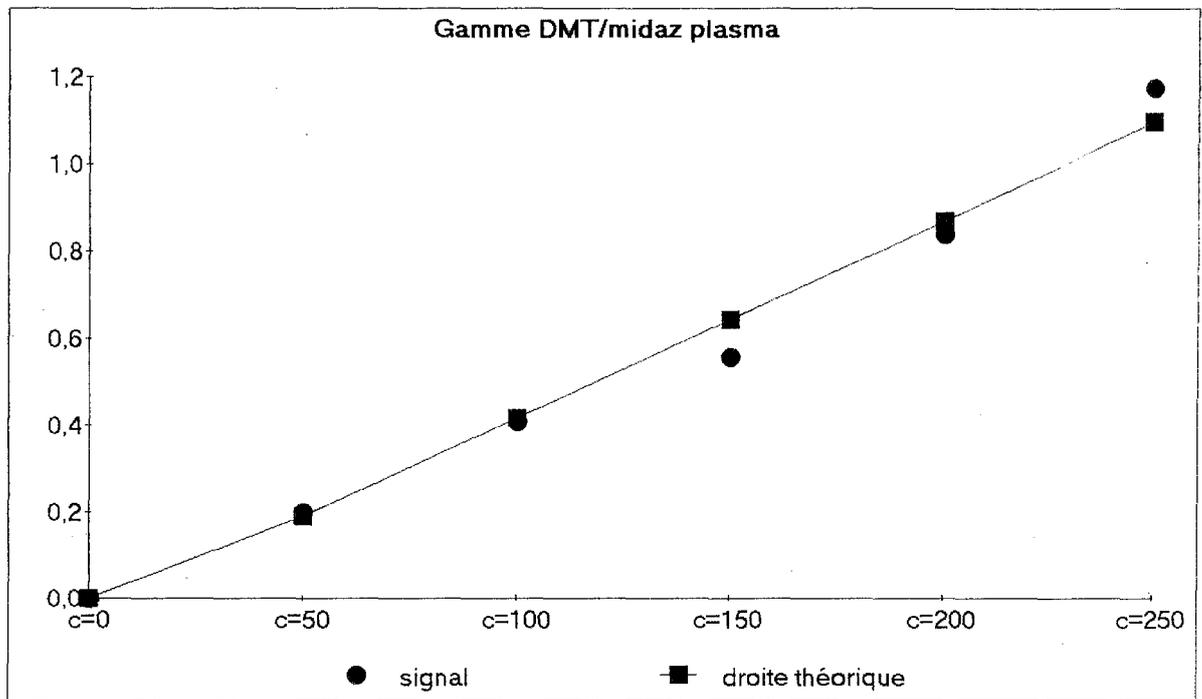
- Coefficient de corrélation :  $r = 0.985$

concentration en ng/l	50	100	150	200	250
X/Y	0,0041	0,0038	0,00344	0,00455	0,00399

- Facteur de linéarité :  $m = 3.97 \cdot 10^{-3}$   
 $\sigma = 4.1 \cdot 10^{-4}$   
 C.V. = 10%

DMtrimipramine/midazolam

concentration	50	100	150	200	250
signal	0,2	0,41	0,56	0,84	1,176



- Droite de régression linéaire :  $Y = 2.88 \cdot 10^{-3} X + 0.018$

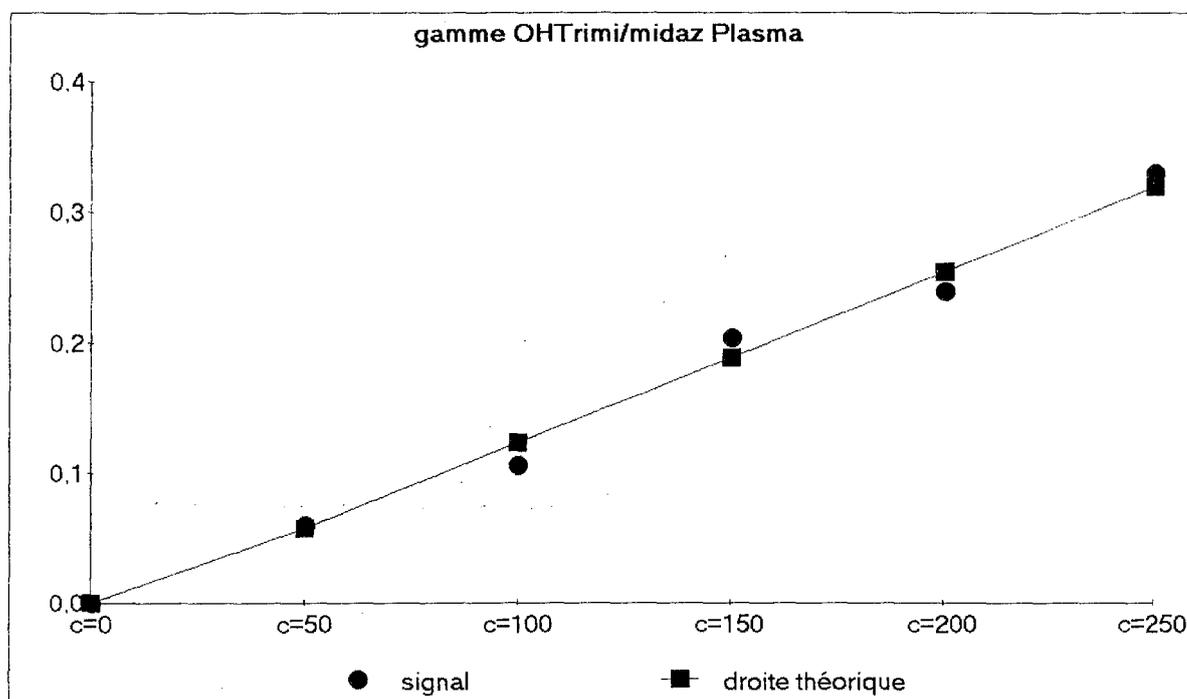
- Coefficient de corrélation :  $r = 0.998$

concentration en ng/l	50	100	150	200	250
X/Y	0,004	0,0041	0,00373	0,0042	0,0047

- facteur de linéarité :  $m = 3.14 \cdot 10^{-3}$   
 $\sigma = 2.78 \cdot 10^{-4}$   
C.V. = 8.85%

OHTrimipramine/midazolam:

concentration	50	100	150	200	250
signal	0,06	0,107	0,204	0,24	0,33



- Droite de régression linéaire :  $Y = 1.3 \cdot 10^{-3} X - 6.5 \cdot 10^{-3}$

- Coefficient de corrélation :  $r = 0.994$

concentration en ng/l	50	100	150	200	250
X/Y	0,0012	0,00107	0,00136	0,0012	0,00132

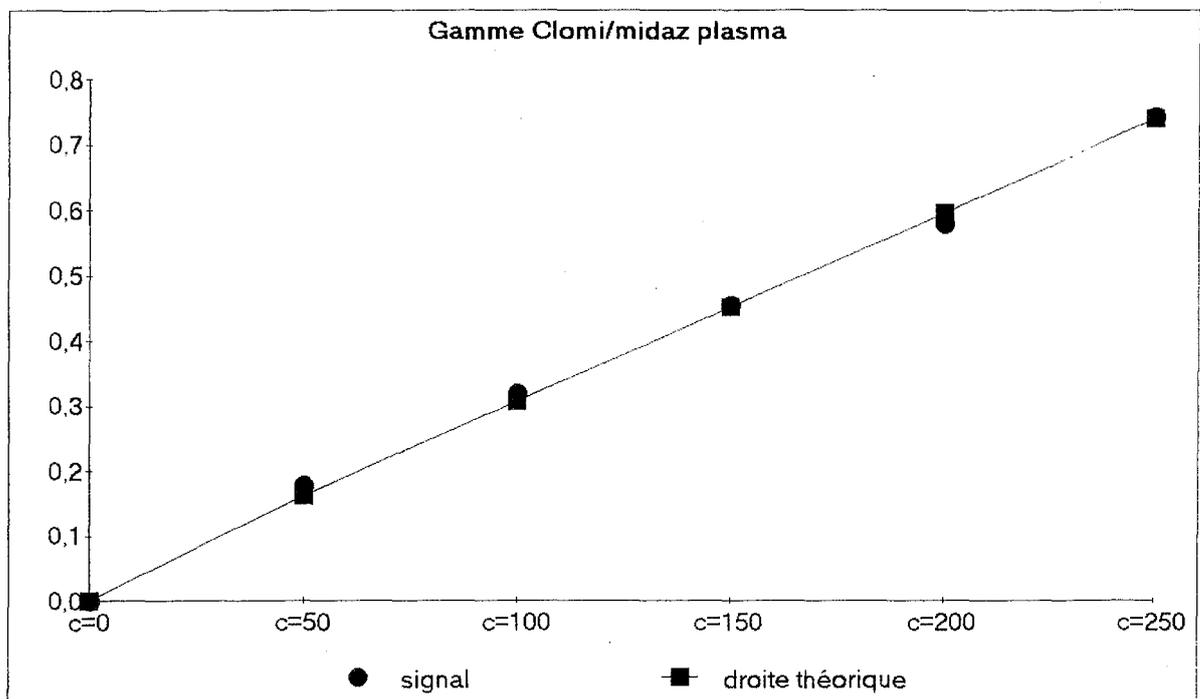
- Facteur de linéarité :  $m = 1.23 \cdot 10^{-3}$

$\sigma = 1.1 \cdot 10^{-4}$

C.V. = 9.3%

Clomipramine/midazolam:

concentration	50	100	150	200	250
signal	0,18	0,32	0,456	0,58	0,744



: - Droite de régression linéaire :  $Y = 4.54 \cdot 10^{-3} X + 0.036$

- Coefficient de corrélation :  $r = 0.991$

concentration en ng/l	50	100	150	200	250
X/Y	0,0036	0,0032	0,00304	0,0029	0,00298

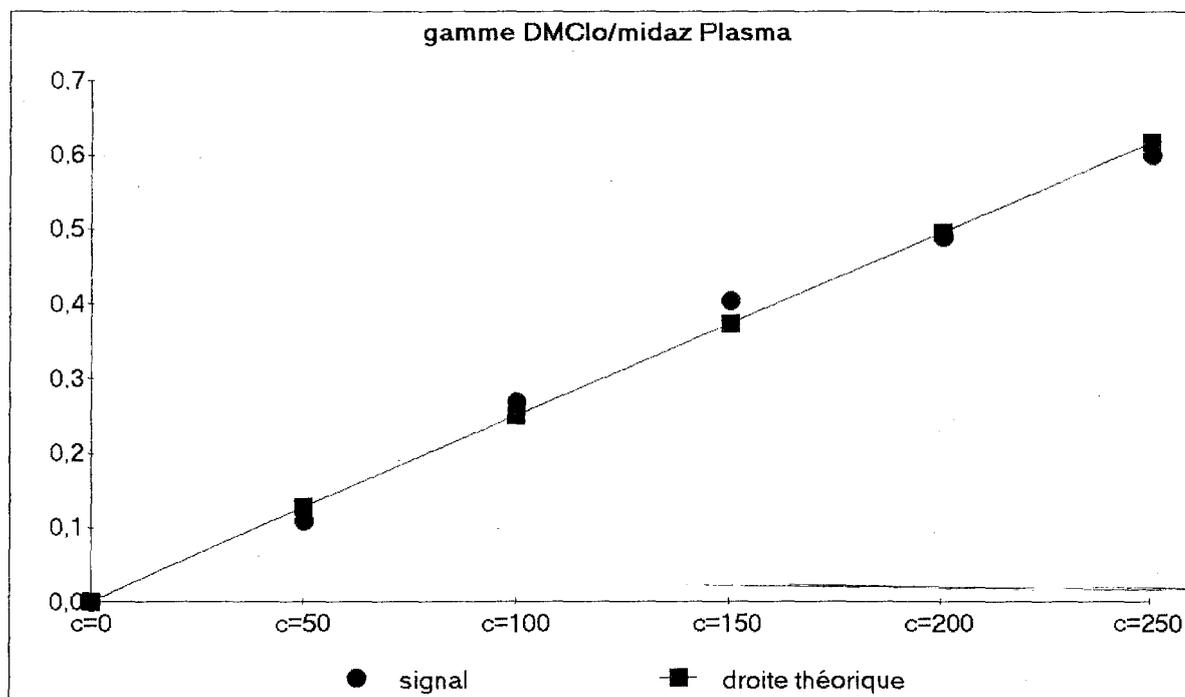
- facteur de linéarité :  $m \ 4.1.61 \cdot 10^{-3}$

$s = 3.6 \cdot 10^{-4}$

C.V. = 8.6%

DMclomipramine/midazolam:

concentration	50	100	150	200	250
signal	0,11	0,27	0,404	0,49	0,6



- Droite de régression linéaire :  $Y = 2.44 \cdot 10^{-3} X + 7.0 \cdot 10^{-3}$

- Coefficient de corrélation :  $r = 0.996$

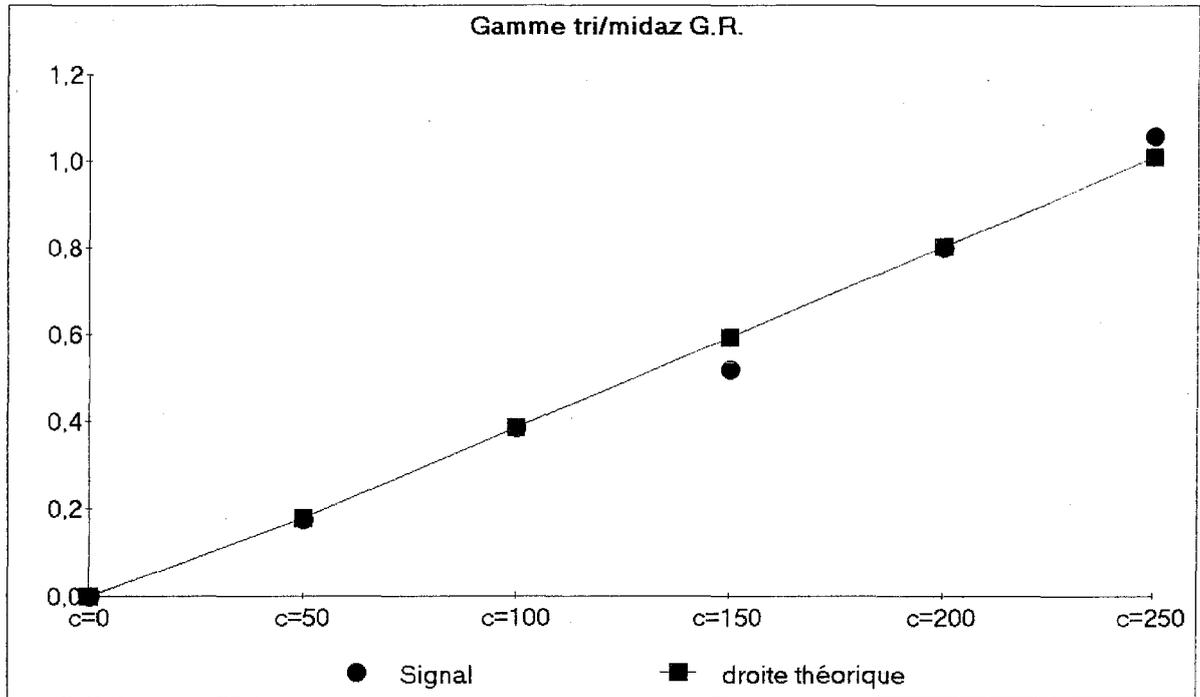
concentration en ng/l	50	100	150	200	250
X/Y	0,0022	0,0027	0,00269	0,00245	0,0024

- Facteur de linéarité :  $m = 2.4 \cdot 10^{-3}$   
 $s = 2.1 \cdot 10^{-4}$   
 C.V. = 8,5%

### III Linéarité dans les Globules Rouges (Standard interne = midazolam)

#### *Trimipramine/midazolam G.R.:*

concentration	50	100	150	200	250
signal	0,176	0,387	0,52	0,8	1,06



- Droite de régression linéaire :  $Y = 4.1710^{-3} X - 0.031$

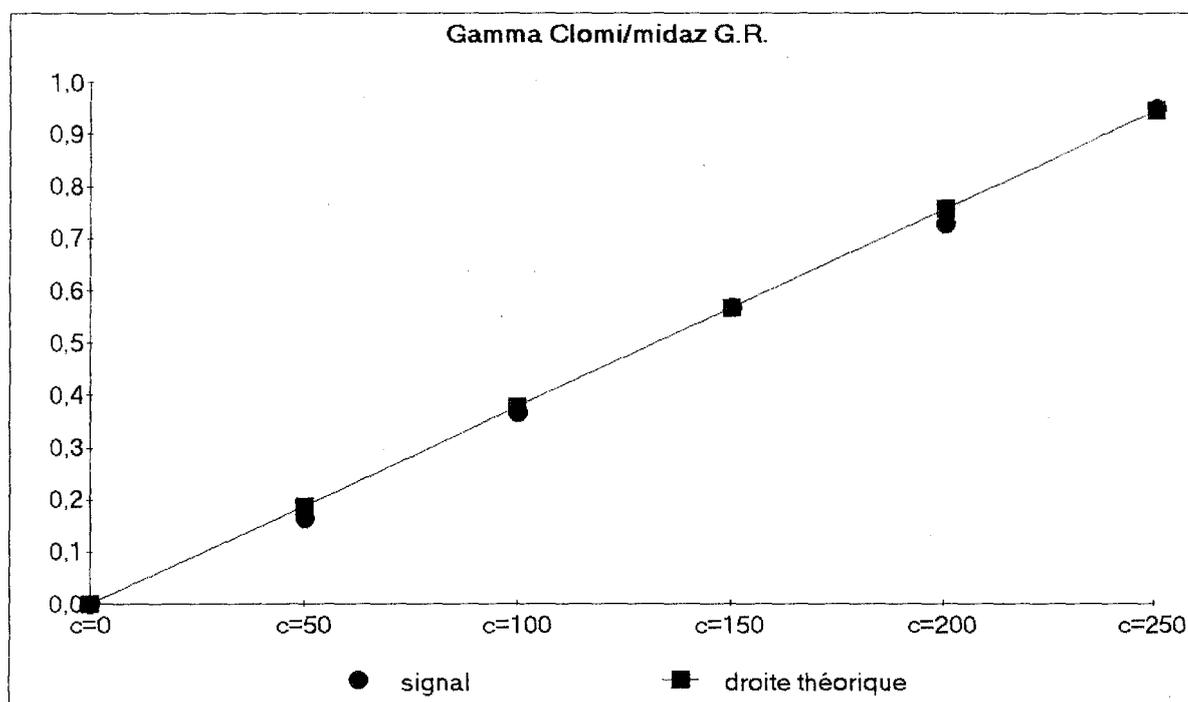
- Coefficient de corrélation :  $r = 0.994$

concentration en ng/l	50	100	150	200	250
X/Y	0,00352	0,00387	0,00347	0,004	0,00424

- Facteur de linéarité :  $m = 3.8 \cdot 10^{-3}$   
 $s = 3.26 \cdot 10^{-4}$   
 C.V. = 8.5%

Clomipramine/midazolam G.R.:

concentration	50	100	150	200	250
signal	0,165	0,368	0,57	0,729	0,95



- Droite de régression linéaire :  $Y = 3.79 \cdot 10^{-3} X - 0.001$

- Coefficient de corrélation :  $r = 0.999$

concentration en ng/l	50	100	150	200	250
X/Y	0,0033	0,00368	0,0038	0,00365	0,0038

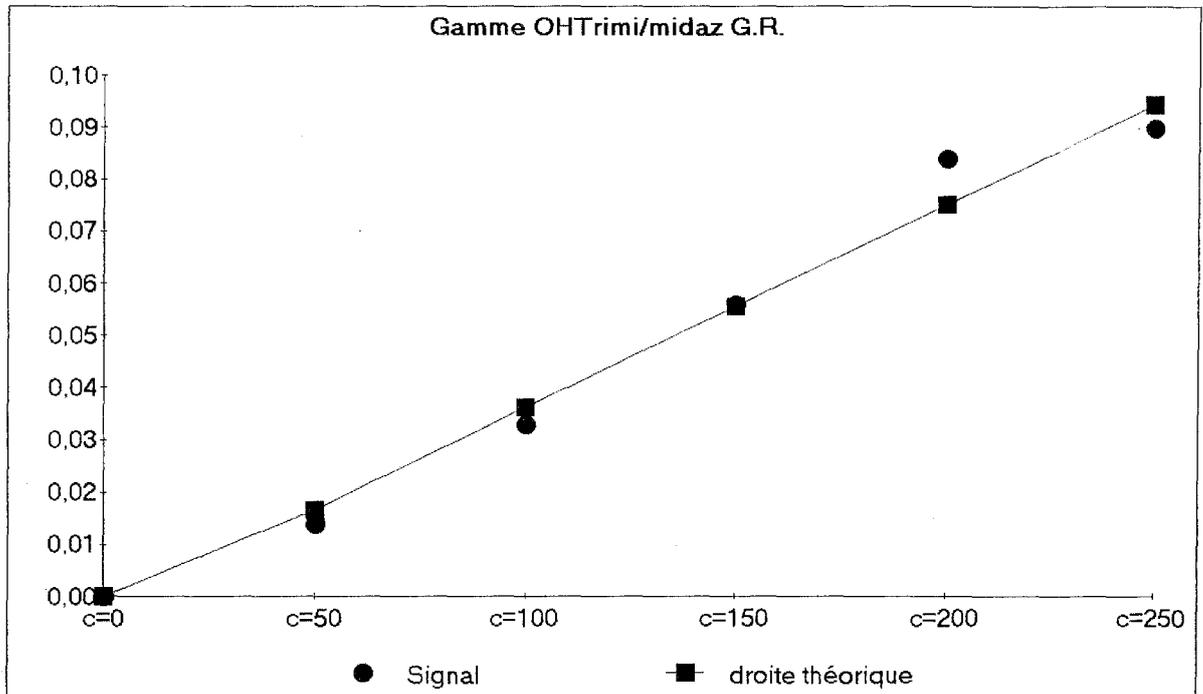
- Facteur de linéarité :  $m = 3.64 \cdot 10^{-3}$

$s = 2.1 \cdot 10^{-4}$

C.V. = 5.6%

OHtrimipramine/midazolam G.R.:

concentration	50	100	150	200	250
signal	0,014	0,033	0,056	0,084	0,09



- Droite de régression linéaire :  $Y = 3.910^{-4} X - 2.6 \cdot 10^{-3}$

- Coefficient de corrélation :  $r = 0.979$

concentration en ng/l	50	100	150	200	250
X/Y	0,00028	0,00033	0,00037	0,00042	0,00036

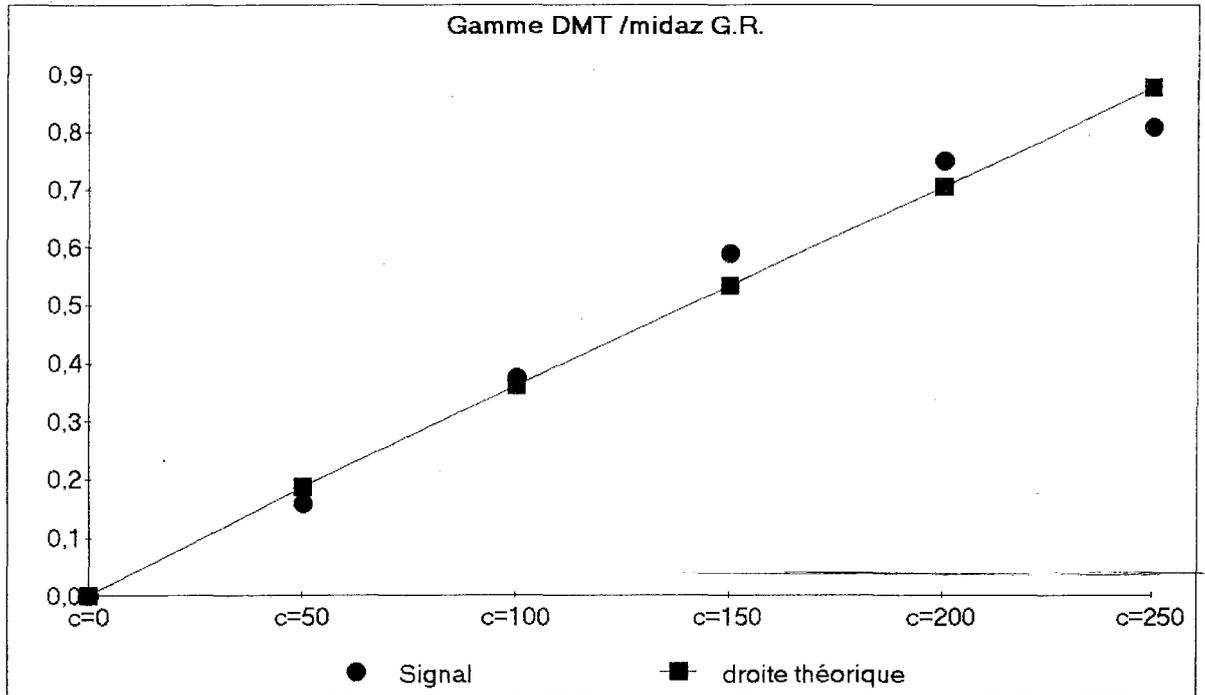
- Facteur de linéarité :  $m = 3.5 \cdot 10^{-4}$

$s = 5.2 \cdot 10^{-5}$

C.V. = 14%

DMtrimipramine/midazolam G.R.:

concentration	50	100	150	200	250
signal	0,16	0,375	0,59	0,75	0,81



- Droite de régression linéaire :  $Y = 3.44 \cdot 10^{-3} X + 0.016$

- Coefficient de corrélation :  $r = 0.985$

concentration en ng/l	50	100	150	200	250
X/Y	0,0032	0,00375	0,00393	0,00375	0,00324

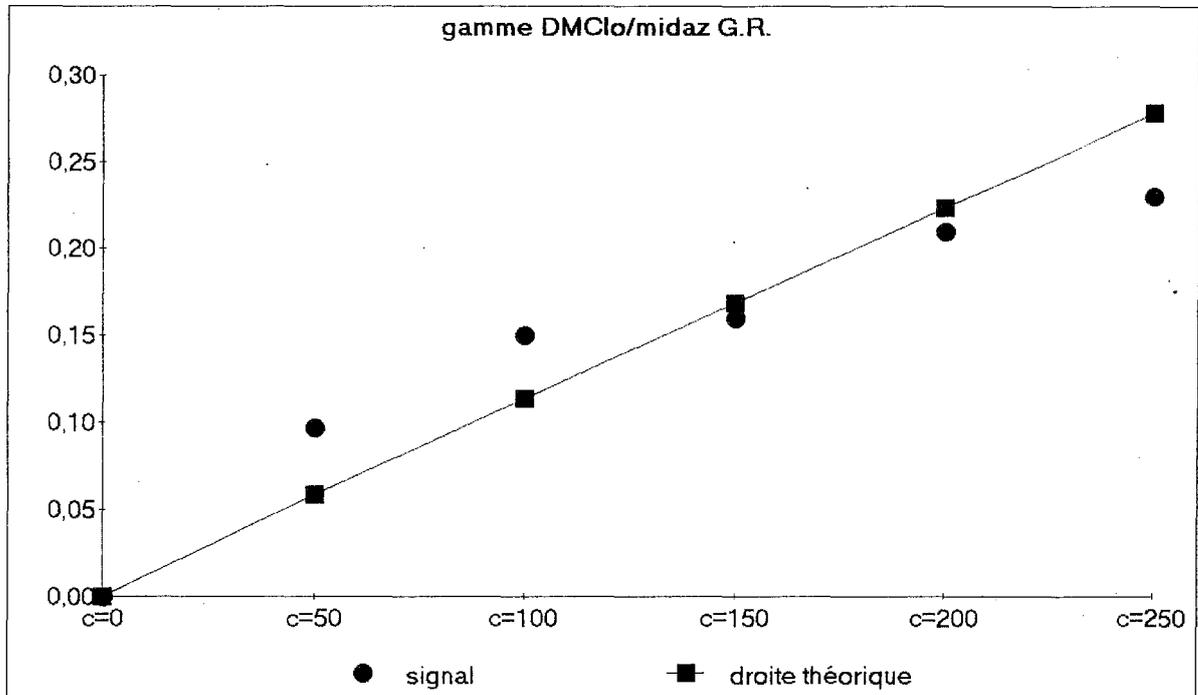
- Facteur de linéarité :  $m = 3.57 \cdot 10^{-3}$

$s = 3.32 \cdot 10^{-4}$

C.V. = 9.3%

DMclomipramine/midazolam G.R.:

concentration	50	100	150	200	250
signal	0,097	0,15	0,16	0,21	0,23



- Droite de régression linéaire :  $Y = 1.15 \cdot 10^{-3} X + 0.034$

- Coefficient de corrélation :  $r = 0.95$

concentration en ng/l	50	100	150	200	250
X/Y	0,00194	0,0015	0,00107	0,00105	0,00092

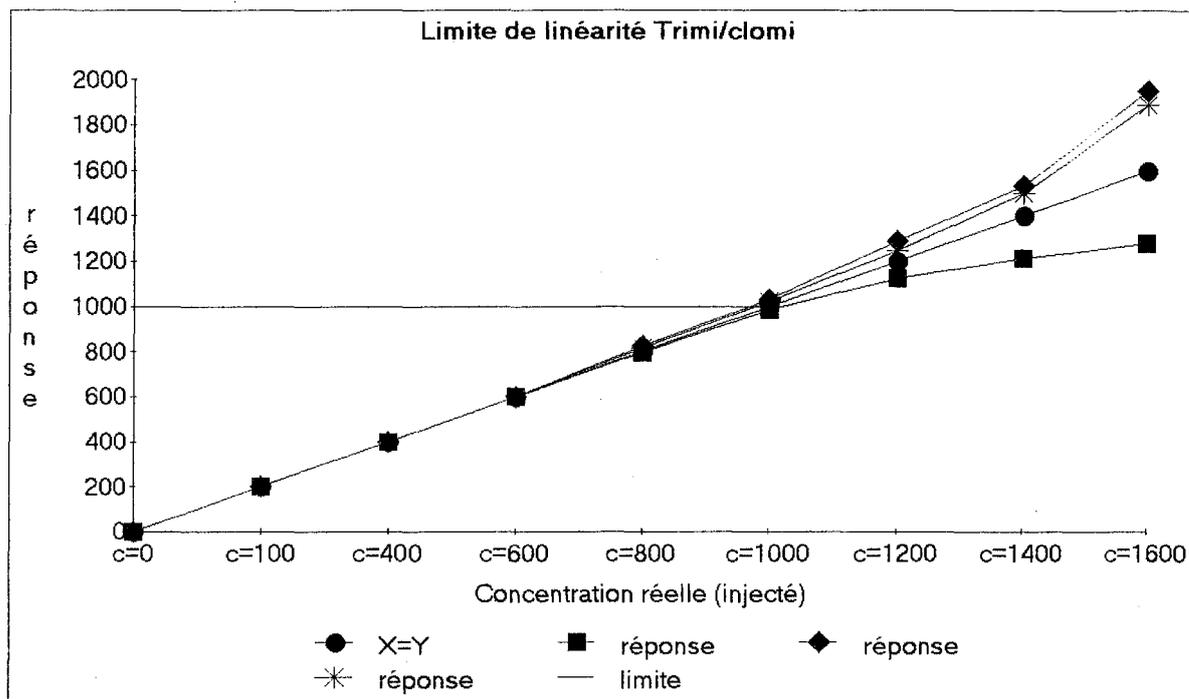
- Facteur de linéarité :  $m = 1.29 \cdot 10^{-3}$

$s = 4.2 \cdot 10^{-4}$

C.V.=32%

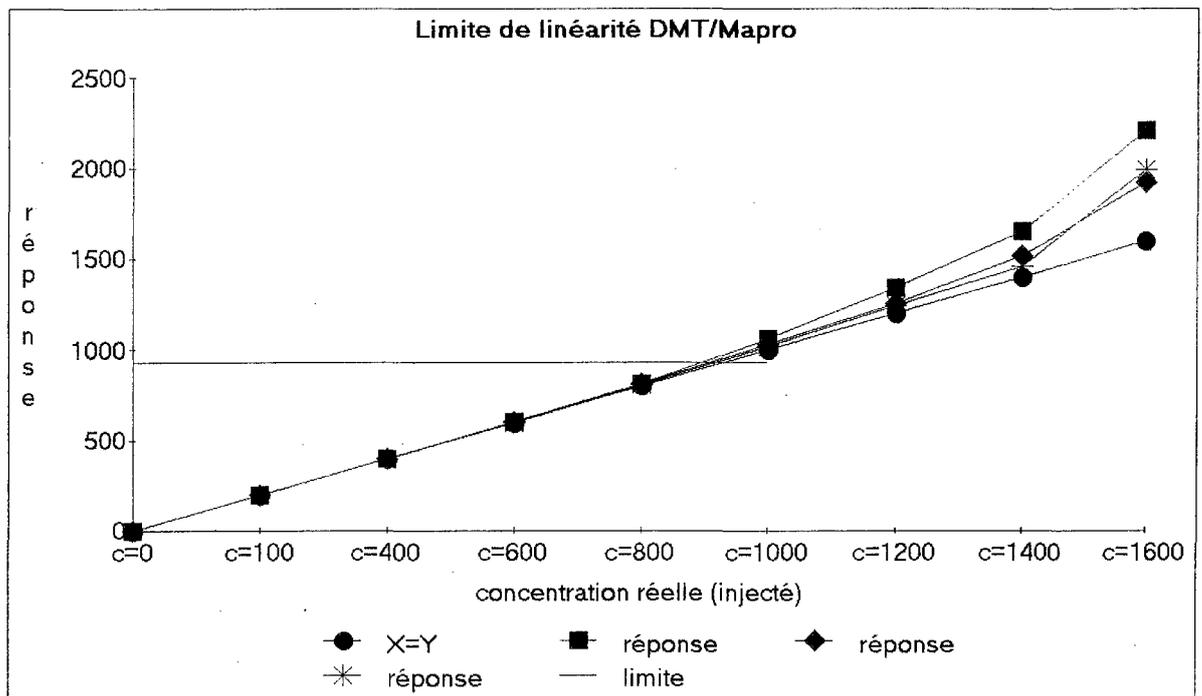
#### IV LIMITE DE LINEARITE

#### TRIMIPRAMINE :



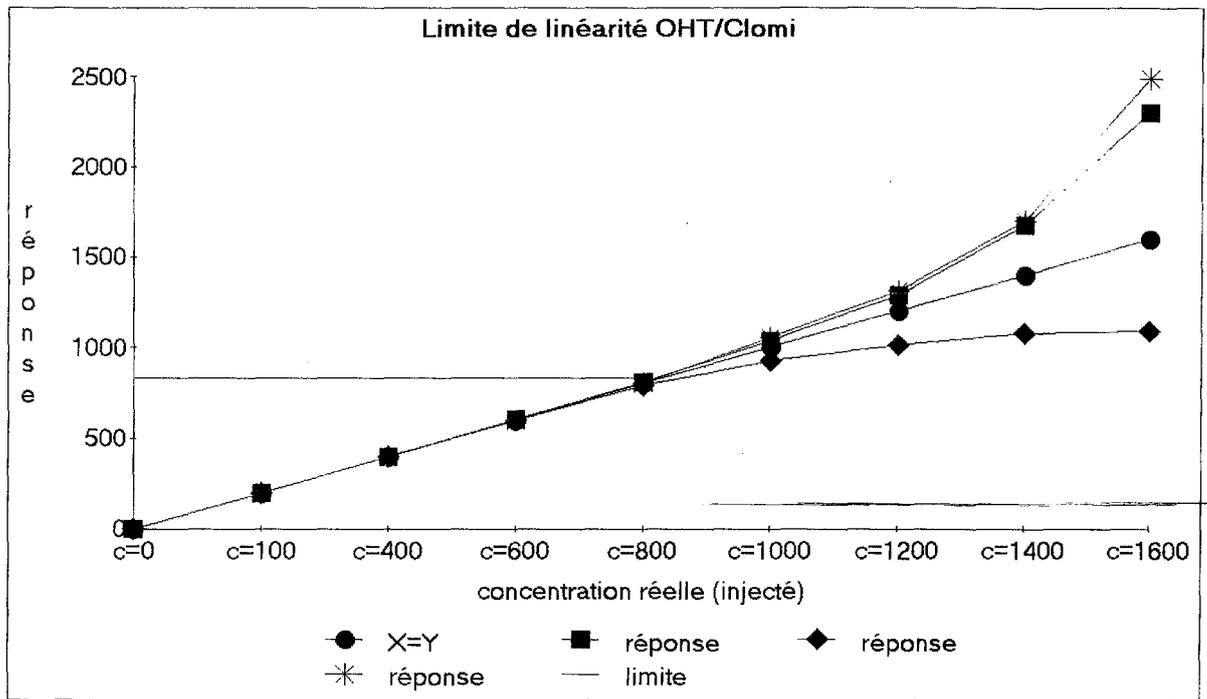
Résultats : à partir de 1000mg et plus on a une déviation:

**Limite de linéarité = 1000mg**

DMT:

Résultats : à partir de 930mg et plus on a une déviation:

**Limite de linéarité = 930mg**

OHTRIMI :

Résultats : à partir de 810mg et plus on a une déviation:

**Limite de linéarité = 810mg**

# AUTORISATION D'IMPRESSION ET DE SOUTENANCE

-----

De la Thèse dont l'intitulé est : \_\_\_\_\_

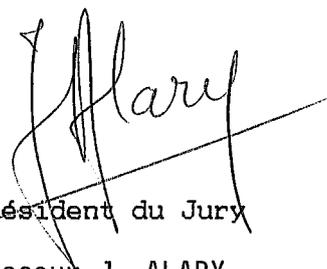
LES ANTIDEPRESSEURS IMIPRAMINIQUES : Dosage par chromatographie en phase gazeuse  
dans les milieux biologiques.

\_\_\_\_\_

CANDIDAT : Monsieur Benoit PINTEUR

VU

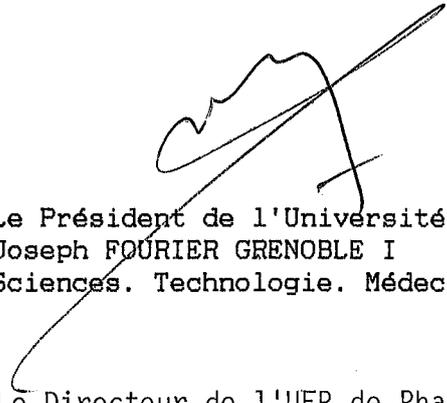
GRENOBLE, le 8 Octobre 1993



Le Président du Jury  
Professeur J. ALARY

VU

GRENOBLE, le 13 décembre 1993



P/ Le Président de l'Université  
Joseph FOURIER GRENOBLE I  
Sciences. Technologie. Médecine

Le Directeur de l'UFR de Pharmacie

J. ROCHAT

