

# Recherche et dosage de la nitrendipine dans un cas mortel d'intoxication polymédicamenteuse

## *Determination of nitrendipine in a fatal case due to a multidrug poisoning*

Phak-Rop Pos POK<sup>(1)\*</sup>, Marie-Noëlle de SAINT-LÉGER<sup>(1)</sup>, Isabelle ELIE<sup>(1)</sup>,  
Michel MAURAS<sup>(1)</sup>, Joëlle BURLE<sup>(1)</sup>, Erika KUHLMANN<sup>(1)</sup>,  
Philippe-Emmanuel COIFFAIT<sup>(1)</sup>, Alain VIALA<sup>(2)</sup>

(1) Laboratoire de Police Scientifique de Marseille, section Toxicologie

(2) Professeur honoraire, Faculté de Pharmacie de Marseille

\*Auteur à qui adresser la correspondance : P. Rop P. POK, Laboratoire de Police Scientifique de Marseille, section Toxicologie, 97, Boulevard Camille Flammarion - 13245 Marseille Cedex 4  
Tél : 04 91 62 85 00 - Fax : 04 91 62 97 70 - E-mail : rop-pos.pok@interieur.gouv.fr

(Reçu le 24 août 2006 ; accepté après modifications le 20 novembre 2006)

### RÉSUMÉ

La nitrendipine est un inhibiteur calcique utilisé dans le traitement de l'hypertension. Nous présentons dans ce travail une procédure analytique, effectuée en routine au laboratoire, permettant l'analyse toxicologique de la nitrendipine. Nous rapportons ensuite les résultats obtenus dans un cas mortel d'intoxication polymédicamenteuse où la nitrendipine était impliquée. Des échantillons autopsiques de sang, d'urine et de contenu gastrique, prélevés sur la victime ont été analysés par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM) et par chromatographie en phase liquide à haute performance avec détecteur à barrette de diodes (CLHP-DBD). Le dosage sanguin de la nitrendipine a été réalisé par CLHP-DBD. La méthode de dosage a été validée et la stabilité du produit a été vérifiée. La dégradation *in vitro* et *in vivo* de la nitrendipine a été discutée. La concentration de la nitrendipine dans le sang périphérique (0,750 mg/L) était 15 fois plus élevée que la valeur extrême de la fourchette thérapeutique. Les concentrations sanguines des autres composés mis en évidence (paracétamol et triazolam) étaient également toxiques. L'association de ces trois composés était vraisemblablement à l'origine du décès.

### MOTS-CLÉS

Nitrendipine, CPG-SM, CLHP-DBD, sang.

### SUMMARY

Nitrendipine is a calcium antagonist, used in hypertensive treatment. We present in this work a procedure routinely applied in our laboratory for the toxicological analysis of nitrendipine. Then we reported the result of toxicological analysis from a case of letal poisoning, involving nitrendipine. Necropsic samples from a deceased (blood, urine and gastric content) were analysed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) and high performance liquid chromatography-diode-array detection (HPLC-DAD). The quantitation of nitrendipine in blood was carried out by HPLC-DAD. The quantitative method have been validated and the stability of the drug have been checked. *In vitro* and *in vivo* degradation of nitrendipine was discussed. The peripheral blood concentration of nitrendipine was 0,750 mg/L; this level was 15 times greater than the highest therapeutic level of the drug. The blood concentrations of the associated drugs (paracetamol and triazolam) were within their toxic ranges. The combined toxicity of nitrendipine and associated drugs could be the cause of the death.

### KEY-WORDS

Nitrendipine, GC-MS, HPLC-DAD, blood.

## Introduction

La nitrendipine,  $C_{18}H_{20}N_2O_6$ , PM : 360 (figure 1) est un inhibiteur calcique appartenant à la famille des dihydropyridines. Elle est utilisée dans le traitement de l'hypertension artérielle. La nitrendipine est commercialisée en France sous la dénomination de Baypress® et Nidrel® (1, 2). D'autres spécialités génériques telles que la Nitrendipine Merck® et la Nitrendipine Teva®, sont commercialisées. La nitrendipine est sensible à la lumière (2, 3) ; son principal produit de dégradation est la déshydronitrendipine (figure 1), qui représente aussi dans l'organisme le métabolite majeur du médicament (4). L'étude de la stabilité des préparations à base de nitrendipine montre qu'il n'y a pratiquement pas de dégradation du principe actif au moins pendant trois ans, si le produit est conservé à l'abri de la lumière et au froid (2).

Par voie orale, la résorption de la nitrendipine est pratiquement totale. Elle se distribue rapidement dans tout l'organisme (1). Elle se lie fortement aux protéines plasmatiques (98% environ). Sa biotransformation par le foie aboutit à cinq métabolites (2) : le premier, la déshydronitrendipine, est formé par déshydrogénation de la molécule mère (2, 4); les quatre autres se forment par hydrolyse, déméthylation et hydroxylation (2-5). Tous ces métabolites sont 1000 fois moins actifs que la nitrendipine (5). L'élimination du principe actif se fait essentiellement par voie urinaire et biliaire et totalement sous forme de métabolites conjugués. La demi-vie d'élimination varie entre 8 et 23 heures (1). Les concentrations sanguines "thérapeutiques" sont comprises entre 0,010 et 0,050 mg/L (6). La symptomatologie au cours des surdosages est peu connue (1, 12) ; on peut noter parfois une hypotension sévère avec collapsus, tachycardie ou bradycardie. Plusieurs méthodes ont été proposées pour l'analyse de la nitrendipine dans les milieux biologiques (7-11). Nous rapportons ci-après le développement de nos méthodes utilisées ainsi que le résultat d'une analyse toxicologique effectuée dans un cas léthal d'intoxication où la nitrendipine était impliquée.

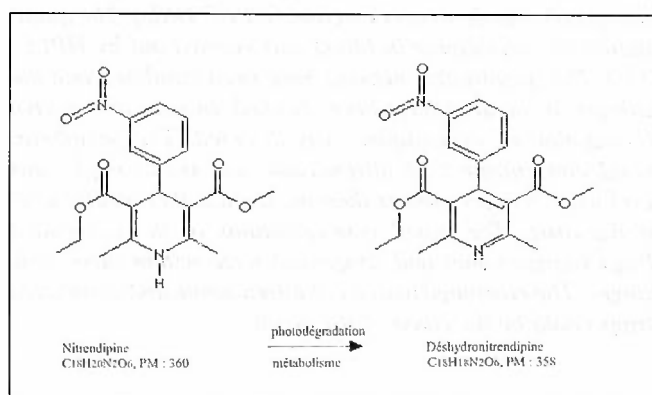


Figure 1 : Structure chimique de la nitrendipine et de la déshydronitrendipine.

## Cas médico-légal

Il s'agit d'un quinquagénaire retrouvé mort dans sa voiture. Une régurgitation était observée. Aucune trace de violence n'était signalée. L'autopsie a été pratiquée sur la victime. Les échantillons autopsiques de sang périphérique, d'urine et de contenu gastrique feront l'objet d'un examen toxicologique. La nitrendipine a pu être mise en évidence par la procédure analytique appliquée en routine dans notre laboratoire pour la recherche générale des toxiques organiques dans les milieux biologiques, sans avoir modifié les conditions initiales. Le protocole général utilisé comprenait :

- une phase d'extraction par chloroforme/isopropanol en milieu alcalin et acide, par Toxi-tube® A et Toxi-tube® B,
- une phase analytique utilisant deux screening successifs par CPG-SM (injection directe et après dérivation) et par CLHP-DBD,
- puis une quantification soit par CPG-SM, soit par CLHP-DBD.

Dans le cas présent, la CLHP-DBD a été choisie pour le dosage de la nitrendipine, car elle a permis de quantifier en même temps les autres composés décelés.

## Matériel et méthodes

### Réactifs et solvants

Le méthanol, l'acétonitrile et l'eau distillée (qualité CLHP), le chloroforme, le dichlorométhane, l'acide acétique et l'isopropanol (qualité analytique), le phosphate dipotassique et l'acétate d'ammonium (pureté à 99%) ont été fournis par les laboratoires Carlo Erba (France). Le triméthylchlorosilane (TMS) a été fourni par le laboratoire Macherey Nagel (France). Les Toxi-tubes A et B (kit d'extraction liquide-liquide) ont été fournis par Amilabo (France). La nitrendipine et le clotiazépan (étalon interne) provenaient respectivement des laboratoires Schwarz Pharma (France) et Shire (France). La déshydronitrendipine a été préparée par photodégradation de la nitrendipine, selon la méthode décrite par Tipe (3).

### Préparation des solutions étalons

Les solutions mères de nitrendipine et de clotiazépan à 1 g/L dans le méthanol ont été conservées à  $-10^{\circ}C$  et à l'abri de la lumière. Les solutions filles à 0,1 g/L, 0,01 g/L et 0,001 g/L ont été préparées extemporanément par dilutions successives de la solution mère avec le même solvant.

La solution de déshydronitrendipine a été préparée à partir de la solution mère de nitrendipine (1g/L), expo-

sée à la lumière pendant 70 h (10 h/jour, pendant 7 jours) à +25°C. La solution obtenue a été ensuite diluée avec du méthanol afin d'éliminer les autres produits mineurs de dégradation. La dernière solution diluée a servi à l'analyse de la déshydronditrendipine.

## Appareillage et conditions chromatographiques

**CPG-SM :** La séparation a été effectuée à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse de marque Agilent Technologies, modèle 6890N, équipé d'une colonne capillaire greffée (5% phényl-95% méthyl siloxane ; 15 m x 0,25 mm d.i ; 0,25 µm d'épaisseur de film) de marque Varian, utilisant de l'hélium comme gaz vecteur. La détection a été assurée par un spectromètre de masse de marque Agilent Technologies, modèle 5973N. L'ionisation des molécules par impact électronique a été faite à 70 eV pour une gamme de masse m/z de 40 à 800. Le débit d'hélium était de 1,5 mL/min. La température du four était programmée à 50°C pendant 1 min, puis de 25°C/min jusqu'à 220°C, 5°C/min jusqu'à 260°C, 30°C/min jusqu'à 330°C et maintenue pendant 10 min à ce niveau. Les températures de l'injecteur et de l'interface étaient réglées à 250°C et 300°C respectivement. Les spectres de masse des composés obtenus ont été comparés à ceux existant dans la bibliothèque NIST fournie avec l'appareillage utilisé. L'ensemble était piloté par un micro-ordinateur équipé du logiciel MSDCHEM® pour Windows XP.

**CLHP-DBD :** La séparation a été réalisée à l'aide d'un chromatographe en phase liquide Waters, composé d'un module de séparation 2695 réunissant une pompe quaternaire, un dégazeur, un injecteur automatique et un four à colonne et équipé d'une colonne Symmetry C8 Waters (25 cm x 4,6mm d.i ; particules de 5µm). La détection a été assurée par un détecteur à barrette de diodes 996 Waters. Le four à colonne était réglé à 30°C. La phase mobile était constituée d'un mélange ternaire : solution d'acétate d'ammonium 0,1 M - acétonitrile - méthanol (v/v/v). On a utilisé un gradient d'élution à débit constant (1 mL/min) pendant 54 min. La composition initiale (phase aqueuse 60% - acétonitrile 20% - méthanol 20%) a été maintenue pendant 2 min. A partir de la 2<sup>ème</sup> minute, le pourcentage de la phase aqueuse (60%) a été diminué en trois segments linéaires ; le premier pendant 20 min pour descendre à 40%, le deuxième pendant 16 min pour descendre à 30% et le troisième pendant 12 min pour descendre à 10%. A partir de la 50<sup>ème</sup> minute, le pourcentage de la phase aqueuse a été remonté linéairement pendant 4 min pour retrouver la composition initiale. Les chromatogrammes et les spectres d'absorption UV-Visible des substances analysées ont été explorés entre 200 et

400 nm. Les spectres obtenus ont été comparés à ceux des 400 produits de la bibliothèque spectrale du laboratoire Tox222-LPSM, créée dans les conditions décrites ci-dessus. Le dosage a été réalisé à 237 nm. Toutes les données analytiques ont été intégrées par un logiciel Millennium 3.2 Waters.

### Screening toxicologique par CPG-SM et CLHP-DBD :

Pour l'analyse par CPG-SM, les échantillons (sang, urine et contenu gastrique) ont été extraits par un mélange de solvants organiques : chloroforme/isopropanol (95 : 5, v/v), en milieu alcalin et en milieu acide. La prise d'essai (1mL) a été prélevée dans un tube à extraction, puis alcalinisée à pH 8,4 avec la solution de phosphate dipotassique 1M (1 mL) ou acidifiée à pH 3 avec l'acide acétique 10% (1mL). Le mélange chloroforme/isopropanol (3 mL) a été ajouté dans le tube. Après agitation (20 min) et centrifugation (3 min, à 3000 tours /min), la phase organique a été transférée dans un tube conique et évaporée à sec sous courant d'azote. Pour l'analyse en direct, le résidu sec obtenu a été repris par le dichlorométhane (100 µL) et une partie aliquote de cette solution (1µL) a été injectée directement dans le chromatographe. Pour l'analyse après dérivation, le résidu a été repris par le triméthylchlorosilane TMS (100 µL) et chauffé pendant 20 min à 70°C dans un tube fermé. Après refroidissement, une partie aliquote de cette solution (1µL) a été injectée dans le chromatographe. L'analyse de l'échantillon non dérivé apparaît suffisante pour mettre en évidence la présence de nitrendipine et de son métabolite.

Pour l'analyse par CLHP, les échantillons à analyser (sang, urine et contenu gastrique) ont été extraits en milieu alcalin par le Toxi-tube A et en milieu acide par le Toxi-tube B. L'échantillon (1mL) a été ajouté dans le Toxi-tube et complété au trait de jauge du tube par de l'eau distillée. Après agitation manuelle (3 min) et centrifugation (3 min à 3000 tours /min), la phase organique a été transférée dans un tube Eppendorf conique et évaporée à sec sous courant d'azote. Le résidu sec obtenu a été repris par le méthanol (100 µL) et une partie aliquote de cette solution (20 µL) a été injectée dans le chromatographe.

### Dosage de la nitrendipine dans le sang par CLHP-DBD :

Le dosage de la nitrendipine dans le sang a été réalisé par la méthode CLHP-DBD après extraction par Toxi-tube A, en présence de clotiazépam comme étalon interne. Le sang périphérique (1 mL) et la solution de clotiazépam à 0,1 g/L (10 µL) ont été ajoutés dans le Toxi-tube A. Le mélange a été complété au trait de jauge du Toxi-tube par de l'eau distillée. Après agitation manuelle (3 min) et centrifugation (3 min à 3000 tours /min), la phase organique a été transférée dans un tube Eppendorf conique et évaporée à sec sous courant

d'azote. Le résidu sec obtenu a été repris par le méthanol (100 µL) ; une partie aliquote de cette solution (20 µL) a été injectée dans le chromatographe.

## Validation de la méthode de dosage

La méthode de dosage sanguin par CLHP-DBD a été validée par des séries d'essais expérimentaux.

- La courbe d'étalonnage a été réalisée à partir d'échantillons sanguins blancs surchargés de nitrendipine à des concentrations croissantes (0,020 - 0,050 - 0,125 - 0,250 - 0,500 et 1 mg/L, n=3 pour chaque concentration) et extraits dans les mêmes conditions que le sang analysé. La méthode est linéaire pour des concentrations en nitrendipine allant de 0,020 à 1 mg/L avec un coefficient de corrélation  $r^2 = 0,999$  et la droite d'équation suivante :  $y = 1,627x - 0,0207$  où y = rapport (en aire) nitrendipine/étalon interne et x = concentration en mg/L.

- Les coefficients de variation obtenus après les essais de répétabilité intra-journée (n=6) et de reproductibilité inter-journée (n=6) à des concentrations de 0,250 mg/L, 0,500 mg/L et 1 mg/L, sont inférieurs à 10 %.

- Le test d'extraction a été réalisé selon le procédé préconisé sur le sang blanc (1 mL) surchargé d'une quantité connue de nitrendipine : 0,250 µg, 0,500 µg et 1 µg (n=3 pour chaque concentration sanguine). Le rapport (Re) en aire (nitrendipine/étalon interne) obtenu dans cette série d'essais a été comparé avec celui obtenu dans la série de témoins (Rt). Pour la série témoin, la nitrendipine est ajoutée à la fin de l'extraction, dans la phase organique avant l'évaporation sous azote. Le pourcentage d'extraction (r %) est calculé selon la formule  $r \% = (Re)/(Rt) \times 100$ . Dans l'ensemble, r % est supérieur à 60%.

- La limite de détection déterminée à 237 nm est estimée à 3 ng de nitrendipine (signal/bruit de fond = 3) ; il s'agit d'une limite de détection absolue donnée par le détecteur (à 237 nm) après injection de 20µL de la solution (à 0,15 mg/L) du produit dans le méthanol. La limite de quantification dans les conditions décrites, à la même longueur d'onde, est estimée à 20 ng par mL de sang analysé (soit 0,020 mg/L).

- En ce qui concerne la sélectivité de la méthode vis à vis des composés testés (400 composés enregistrés dans la bibliothèque spectrale précitée), quelques interférences peuvent se remarquer, notamment de la part de : la vinburnine (28,81 min), le dihydrocristine mésylate (28,86 min) et le dihydroergocristine mésylate (28,77 min), dont les temps d'élution sont très proches de celui de la nitrendipine (28,84 min). Aucune inter-

férence des constituants endogènes n'a été observée avec la nitrendipine ni avec l'étalon interne. Selon Kann et al. (4) le métabolite déshydrogéné de la nitrendipine,  $C_{18}H_{18}N_2O_6$ , PM : 358 (figure 1) peut être également retrouvé dans le sang. La sélectivité de la méthode vis à vis de ce métabolite nous a conduit à analyser la déshydronitrendipine, obtenue après la photodégradation de la nitrendipine, ainsi que celle obtenue in vivo. Dans les conditions analytiques proposées, la déshydronitrendipine a été bien séparée de la nitrendipine et caractérisée par son temps de rétention 28,26 min (figure 3a) et son spectre UV-Visible dont le maximum d'absorption est à 265nm (figure 3c). Cette bonne spécificité est également assurée par la CPG-SM.

## Étude de la stabilité de la nitrendipine

La stabilité in vitro de la nitrendipine a été étudiée selon la procédure décrite par Tipre (3). Pour la stabilité des solutions étalons méthanoliques, le test a été effectué sur la solution à 1 g/L conservée dans des conditions différentes (Tableau I). A l'issue des conservations, les solutions filles à 1 mg/L ont été analysées (n=3). Les résultats obtenus (moyenne des aires du pic de la nitrendipine) ont été comparés à ceux obtenus avant la conservation. Les résultats sont répertoriés dans le Tableau I. Sous l'action de la lumière, la nitrendipine est oxydée en plusieurs composés, dont la déshydronitrendipine qui représente le produit de dégradation le plus important (3). En solution méthanolique à + 4°C et à l'abri de la lumière, aucune dégradation de la nitrendipine n'a été observée pendant au moins un mois. En solution méthanolique exposée à la lumière et à la température du laboratoire (+25° C), la nitrendipine n'est stable que pendant 8h ; après 12h d'exposition, la perte en produit initial est de 1,64% ; elle peut atteindre 51% au bout de 70h. Aucune dégradation de la nitrendipine n'a été observée pendant l'extraction et l'analyse. Pour la stabilité du produit dans les échantillons sanguins, le test a été effectué sur les échantillons de sang à 0,250, 0,500 et 1 mg/L (n=3 pour chaque concentration) conservés à -10° C à l'abri de la lumière pendant une période d'un mois. Après cette période de conservation, les échantillons sanguins ont été analysés selon la procédure décrite. Les résultats obtenus (moyennes des concentrations trouvées) ont été comparés à ceux obtenus avant la conservation. Les résultats sont également répertoriés dans le Tableau I. La nitrendipine est stable pendant au moins un mois.

Tableau I : Test de stabilité de la nitrendipine.

Conditions de conservation	Temps d'essai	Perte %
Solution méthanolique +4°C à l'abri de la lumière	0	0
	7 jours	0
	15 jours	0
	30 jours	0
Solution méthanolique exposée à la lumière et température ambiante du laboratoire (+25°C)	8 h	0
	12 h	1,64%
	40 h (4 jours)*	22%
	70 h (7 jours)*	51%
Extraction et Analyse	1,5 h environ	0
Échantillon sanguin -10°C à l'abri de la lumière	30 jours	0

\* : Exposition à la température du laboratoire et seulement 10 h/jour à la lumière (de 8h à 18h).

## Résultats et discussion

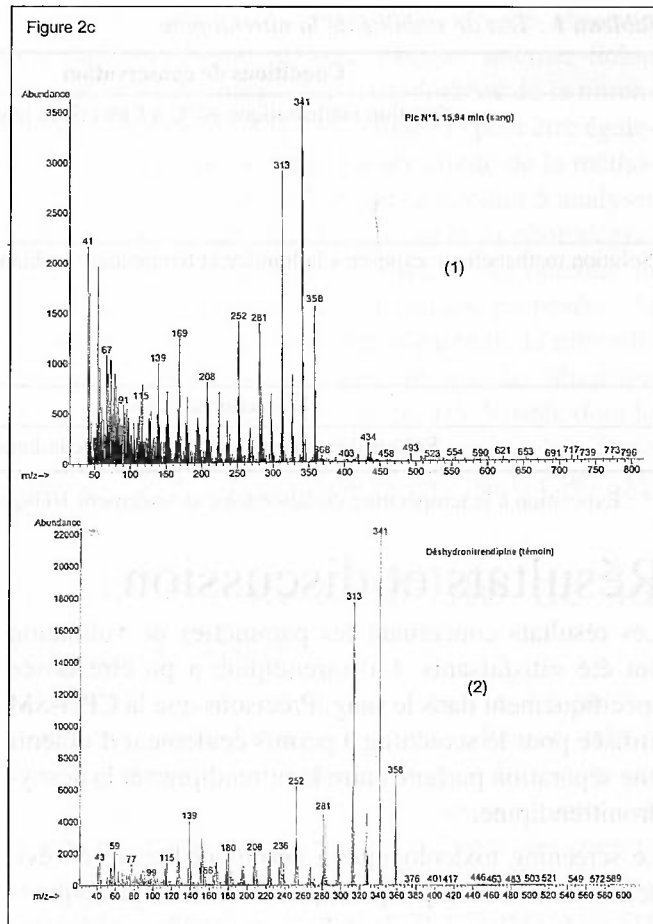
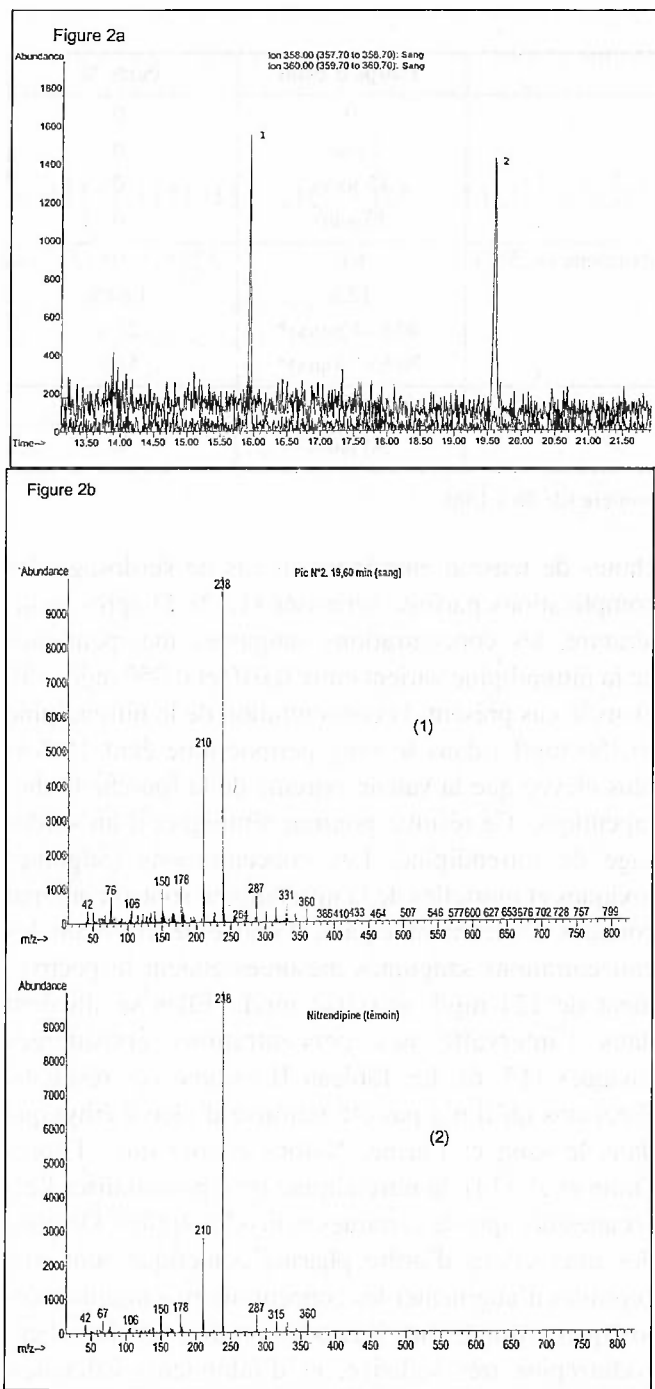
Les résultats concernant les paramètres de validation ont été satisfaisants. La nitrendipine a pu être dosée spécifiquement dans le sang. Précisons que la CPG-SM utilisée pour le screening a permis également d'obtenir une séparation parfaite entre la nitrendipine et la déshydronitrendipine.

Le screening toxicologique a permis de mettre en évidence dans le sang périphérique, le contenu gastrique et l'urine, la présence de nitrendipine (associée ou non à son métabolite principal), de paracétamol et de triazolam.

La figure 2 illustre les résultats obtenus après analyse du sang par CPG-SM. Sur le chromatogramme de la figure 2a, le pic n°2 à 19,60 min a pu être attribué, grâce à son spectre de masse (ion parent m/z 360 ; ions fils m/z 238, 210), à la nitrendipine (figure 2b). Le pic n°1 de la figure 2a, à 15,94 min (ion parent m/z 358, ion fils m/z 341,313) a pu être attribué à la déshydronitrendipine (figure 2c). La figure 3 illustre les résultats obtenus après analyse du sang par CLHP-DBD. Sur le chromatogramme de la figure 3a, le pic portant le n°4, à 28,84 min, a pu être attribué, grâce à son spectre UV-Visible (max : 237 nm et 355 nm, min : 305 nm), à la nitrendipine (figure 3b). Le pic n°3 de la figure 3a, à 28,26 min dont le maximum d'absorption est à 265 nm a pu être attribué à la déshydronitrendipine (figure 3c). Ce métabolite, pharmacologiquement inactif et vraisemblablement peu formé (pic n°3, figure 3a), n'a pas été quantifié. Les autres composés décelés dans le sang, à savoir, le paracétamol et le triazolam, ont été quantifiés par la méthode CLHP-DBD ; les résultats quantitatifs sont résumés dans le Tableau II.

Les inhibiteurs calciques ont plusieurs effets sur le système cardio-vasculaire, sur les fibres lisses et sur le système cérébral. La nitrendipine exerce son effet prédominant sur le système cardio-vasculaire, avec des

chutes de tension entraînant en cas de surdosage des complications parfois sérieuses (1,12). D'après la littérature, les concentrations sanguines thérapeutiques de la nitrendipine varient entre 0,010 et 0,050 mg/L (6). Dans le cas présent, la concentration de la nitrendipine (0,750 mg/L) dans le sang périphérique était 15 fois plus élevée que la valeur extrême de la fourchette thérapeutique. Ce résultat pourrait témoigner d'un surdosage de nitrendipine. Les concentrations sanguines toxiques et mortelles de la nitrendipine sont encore mal connues. Concernant le paracétamol et le triazolam, les concentrations sanguines mesurées étaient respectivement de 124 mg/L et 0,047 mg/L. Elles se situaient dans l'intervalle des concentrations considérées toxiques (13, 6). Le Tableau II résume ces résultats. Précisons qu'il n'a pas été retrouvé d'alcool éthylique dans le sang et l'urine. Notons encore que, d'après Dolin et al. (14), la nitrendipine peut potentialiser l'effet anesthésique de certaines benzodiazépines. De plus, des interactions d'ordre pharmacocinétique sont susceptibles d'augmenter les concentrations sanguines des toxiques : d'une part, l'association du triazolam, benzodiazépine très sédatrice, et d'inhibiteurs calciques, tels que le diltiazem et le vérapamil, est formellement déconseillée car elle peut induire une augmentation des concentrations de l'anxiolytique (15) ; d'autre part, le paracétamol présent à une concentration sanguine toxique (124 mg/L) était susceptible d'engendrer une insuffisance hépatique et une atteinte rénale, conduisant à une augmentation des concentrations sanguines des autres composés associés. Il est donc possible d'envisager que le paracétamol ait pu être responsable d'une modification de la biotransformation et de l'élimination des substances associées. De ce fait, ces substances se sont accumulées dans le milieu sanguin pour atteindre des concentrations toxiques à l'origine du décès.

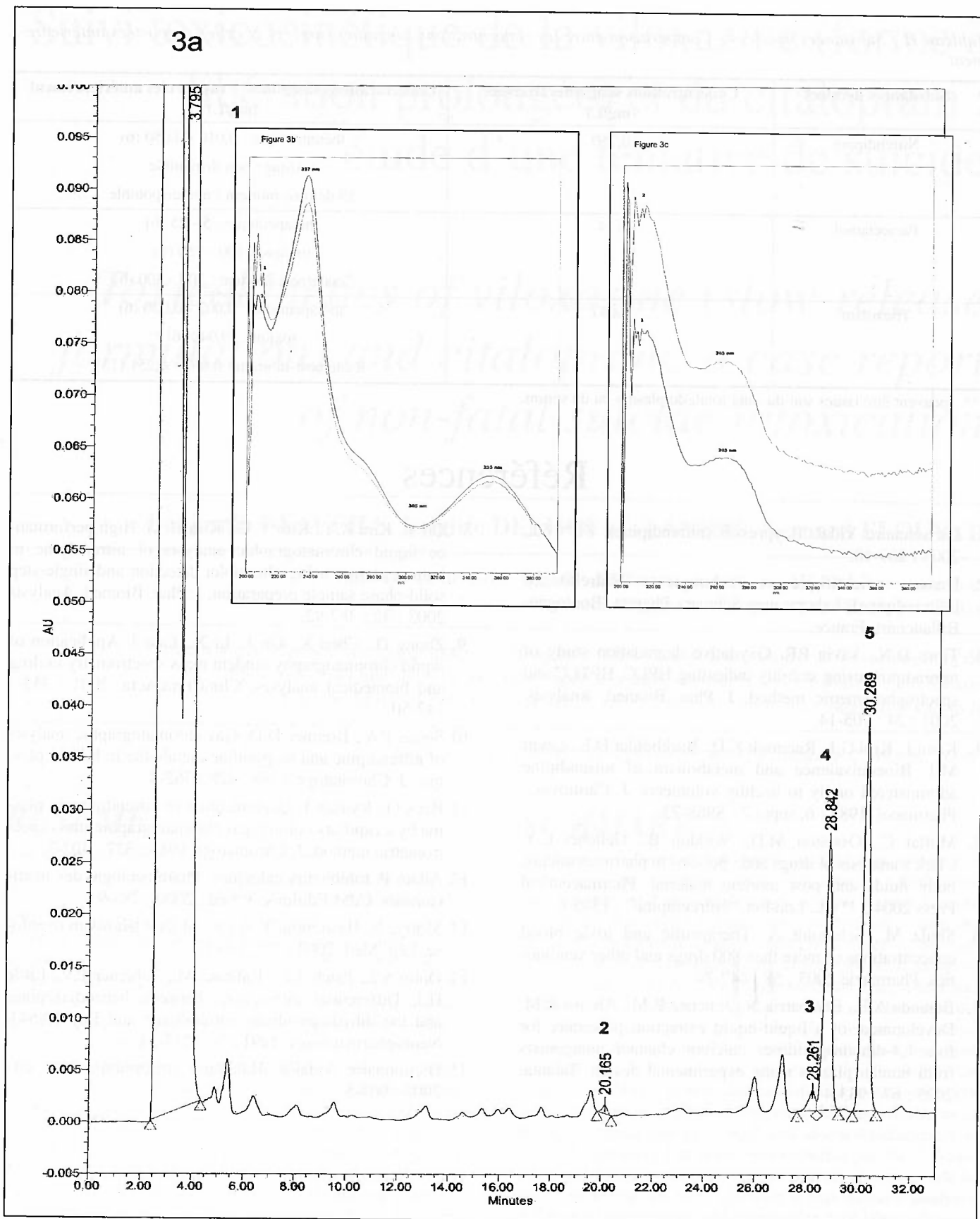


**Figure 2 :** Analyse du sang par CPG-SM :  
 a) Chromatogramme d'ions parents de la nitrendipine  $m/z$  360 et de la deshydronitrendipine  $m/z$  358 : 1 = deshydronitrendipine (15,94 min) ; 2 = nitrendipine (19,60 min).  
 b) Spectres de masse de la nitrendipine (ion parent :  $m/z$  360 ; ions fils :  $m/z$  238, 210) : 1 = nitrendipine dans le sang ; 2 = nitrendipine témoin.  
 c) Spectres de masse de la deshydronitrendipine (ion parent :  $m/z$  358 ; ions fils :  $m/z$  341, 313) : 1 = deshydronitrendipine dans le sang ; 2 = deshydronitrendipine témoin (obtenue par photodégradation).

## Conclusion

Les techniques mises en place (CPG-SM et CLHP-DBD) sont particulièrement adaptées au screening toxicologique et au dosage de la nitrendipine. La méthode mise au point pour le dosage de la nitrendipine dans le sang par CLHP-DBD se caractérise par sa simplicité et sa fiabilité. Il n'existe aucune interférence entre la nitrendipine et la deshydronitrendipine, son produit de transformation in vitro et in vivo. La concentration déterminée dans le sang est donc attribuée au seul composé actif, la nitrendipine ; cette concentration est 15 fois plus élevée que la valeur extrême de la four-

chette thérapeutique. Ce résultat nous conduit à envisager deux hypothèses quant à l'origine de cette concentration importante : soit la concentration en nitrendipine reflète un surdosage, soit elle est issue de l'accumulation de cette substance dans l'organisme, en raison des interactions pharmacocinétiques induites par la présence du paracétamol à concentration toxique. La présente étude, mettant en évidence la nitrendipine, le paracétamol et le triazolam à des concentrations sanguines respectives de 0,750 mg/L, 124 mg/L et 0,047 mg/L, constitue le premier cas mortel documenté d'intoxication polymédicamenteuse où la nitrendipine est impliquée.



**Figure 3 : Analyse du sang par CLHP-DBD :**

a) Chromatogramme à 237 nm : 1 = paracétamol (3,79 min), 2 = triazolam (20,16 min), 3 = déshydronitrendipine (28,26 min), 4 = nitrendipine (28,84 min) et 5 = clotiazéпам, étalon interne (30,29 min).

b) Spectre UV-Visible de la nitrendipine établi entre 200 et 400 nm : 1 = nitrendipine dans le sang ; 2 = nitrendipine témoin.

c) Spectre UV-Visible de la déshydronitrendipine établi entre 200 et 400 nm : 1 = déshydronitrendipine dans le sang ; 2 = déshydronitrendipine témoin obtenue par photodégradation.

**Tableau II** : Substances décelées - Comparaison entre les concentrations sanguines trouvées et celles rapportées antérieurement.

Substances décelées	Concentrations sanguines trouvées (mg/L)	Concentrations sanguines** rapportées antérieurement (mg/L)
Nitrendipine	0,750	thérapeutique : 0,010 - 0,050 (6) toxique : non disponible létale/post-mortem : non disponible
Paracétamol	124	thérapeutique : 5 - 25 (6) toxique : 100 - 150 (6) létale/post-mortem : 200 - 300 (6)
Triazolam	0,047	thérapeutique : 0,002 - 0,020 (6) toxique : 0,040 (6) létale/post-mortem : 0,062 - 0,251 (13)

\*\* : peuvent être issues soit du sang total, du plasma ou du sérum.

## Références

- Dictionnaire Vidal. Baypress® (nitrendipine), 81<sup>ème</sup> éd., 2005 : 209-10.
- Dossier scientifique et technique : Nidrel® 20 (Nitrendipine), Laboratoires Schwarz Pharma, Boulogne-Billancourt, France.
- Tipre D.N., Vavia P.R. Oxydative degradation study of nitrendipine using stability indicating HPLC, HPTLC and spectrophotometric method. *J. Phar. Biomed. Analysis.* 2001 ; 24 : 705-14.
- Kann J., Krol G.J., Raemsch K.D., Burkholder D.E., Levitt M.J. Bioequivalence and metabolism of nitrendipine administered orally to healthy volunteers. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1984 ; 6, suppl.7 : S968-73.
- Moffat C., Osselton M.D., Widdop B., Galichet L.Y. Clark's analysis of drugs and poisons in pharmaceuticals, body fluids and post mortem material. Pharmaceutical Press 2004 ; 3<sup>th</sup> ed., London. "Nitrendipine" : 1345-6.
- Shulz M., Schmoldt A. Therapeutic and toxic blood concentrations of more than 800 drugs and other xenobiotics. *Pharmazie* 2003 ; 58 : 447-74.
- Baranda A.B., Etxebarria N., Jimenez R.M., Alonso R.M. Development of a liquid-liquid extraction procedure for five 1,4-dihydropyridines calcium channel antagonists from human plasma using experimental design. *Talanta.* 2005 ; 67 : 933-41.
- Oh Y., Kim K.Y., Kim Y. G., Kim H. G. High performance liquid chromatographic analysis of nitrendipine in human plasma using ultraviolet detection and single-step solid-phase sample preparation. *J. Phar. Biomed. Analysis* 2003 ; 32 : 387-92.
- Zhong D., Chen X., Gu J., Li X., Guo J. Application of liquid chromatography-tandem mass spectrometry in drug and biomedical analyses. *Clin.Chim.Acta.* 2001 ; 313 : 147-50.
- Soons P.A., Breimer D.D. Gas chromatographic analysis of nitrendipine and its pyridine metabolite in human plasma. *J. Chromatogr.* 1988 ; 428 : 362-8.
- Beck O., Ryman T. Quantification of nitrendipine in plasma by a capillary column gas chromatographic-mass spectrometric method. *J. Chromatogr.* 1985 ; 337 : 402-7.
- Allain P. Inhibiteurs calciques. Pharmacologie des médicaments. CdM Editions, 3<sup>ème</sup> éd., 2000 ; 288-91.
- Moriya F., Hashimoto Y. A case of fatal triazolam overdose. *Leg. Med.* 2003 ; 27 : 110-12.
- Dolin S.J., Patch T.L., Rabbani M., Taberner P.V., Little H.J. Differential interactions between benzodiazepines and the dihydropyridines, nitrendipine and Bay K8644. *Neuropharmacology.* 1991 ; 30 : 217-24.
- Dictionnaire Vidal®. Halcion® (triazolam), 81<sup>ème</sup> éd., 2005 : 904-5.