

## Développement d'une méthode de dosage automatisé du méthotrexate dans le plasma humain par couplage direct à la chromatographie liquide de l'extraction sur phase solide à empreintes moléculaires

Frédéric, LECOMTE<sup>1</sup>, Bruno, BOULANGER<sup>4</sup>, Andrew J., HALL<sup>3</sup>, Börje, SELLERGRÉN<sup>3</sup>, Jacques, CROMMEN<sup>2</sup>, Patrice, CHIAP<sup>2</sup>, Philippe, HUBERT<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire de Chimie Analytique et <sup>2</sup>Laboratoire d'Analyse des Médicaments, Département de Pharmacie, Université de Liège, Avenue de l'Hôpital 1, CHU, Tour 4, Bâtiment B36, 4000 Liège, Belgique ; <sup>3</sup>INFU, Université de Dortmund, Otto-Hahn Str. 6, 44221 Dortmund, Allemagne ; <sup>4</sup>Lilly Development Centre, Rue Granbonpré 11, 1348 Mont-Saint-Guibert, Belgique

Une tendance récente en bioanalyse est l'utilisation de supports sélectifs pour l'extraction sur phase solide (SPE) : les polymères à empreintes moléculaires (MIPs). Ces derniers sont particulièrement intéressants pour le dosage de substances médicamenteuses à l'état de traces dans les fluides biologiques [1].

Les deux polymères à empreintes moléculaires, utilisés pour l'extraction sélective du méthotrexate (MTX), ont été préparés en emprisonnant dans un réseau tridimensionnel deux analogues structuraux : le triméthoprimé et l'acide *N-Z-L*-glutamique [2-3]. Pour chacun de ces MIPs, un polymère non imprimé (NIP) a été synthétisé dans les mêmes conditions mais en l'absence de l'analogue structural. Ensuite, les phases polymériques ont servi au remplissage des cartouches d'extraction utilisées par le système ASPEC XL. Ce dernier permet une préparation entièrement automatisée des échantillons et introduit directement l'extrait obtenu dans le système chromatographique qui lui est couplé.

Afin d'étudier les conditions SPE, nous avons appliqué la méthodologie des plans d'expériences au criblage de six facteurs susceptibles d'agir sur la sélectivité et le pourcentage de récupération. Ainsi, nous avons pu démontrer que le facteur ayant la plus grande influence sur l'étape critique de notre méthode, la transformation des interactions non-sélectives en interactions sélectives, était le solvant organique utilisé comme liquide de lavage des cartouches d'extraction. Sur la base de ces résultats, nous avons entrepris une nouvelle étude faisant de nouveau appel à la planification expérimentale afin de modéliser le comportement des principaux solvants organiques utilisés en fonction de leurs interactions chimiques.

- [1].Lanza F. et coll. The application of molecular imprinting technology to solid phase extraction. *Chromatographia*. 2002; 53 (11-12): 599-611.
- [2].Hall A. J. et coll. A substructure approach toward polymeric receptors targeting dihydrofolate reductase inhibitors. 2. Molecularly imprinted polymers against *Z-L*-glutamic acid showing affinity for larger molecules. *J. Org. Chem.* 2003; 68: 9132-9135.
- [3].Quaglia M. et coll. Target analogue imprinted polymers with affinity for folic acid and related compounds. *J. Am. Chem. Soc.* 2001; 123: 2146-2154.