

VALIDATION D'UNE MÉTHODE DE DOSAGE DE LEVETIRACETAM PAR CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE HAUTE PERFORMANCE DANS LE CADRE D'UNE ETUDE CLINIQUE

ML. TALL, D. LALEYE, A. DE VAUJANY, E. DIOUF, M. LENFANT, N. KOOG, B. DUCARRE, F. PIROT, C. PIVOT
PHARMACIE, GROUPEMENT HOSPITALIER EDOUARD HERRIOT, 5, PLACE D'ARSONVAL, 69437 LYON

INTRODUCTION

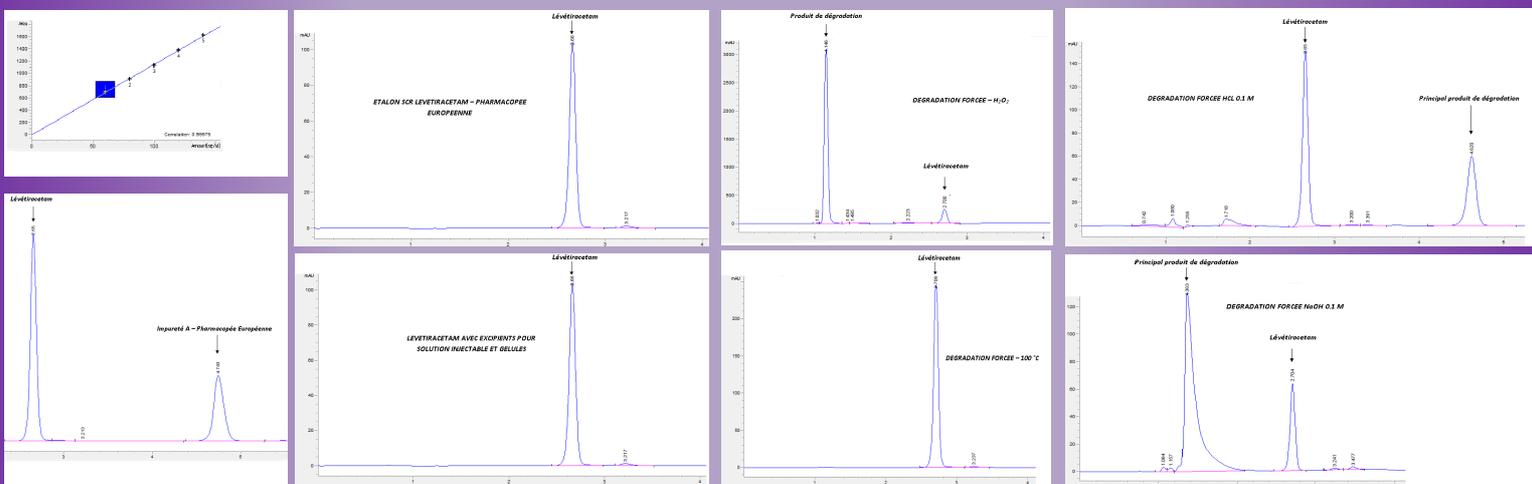
Dans le cadre d'une nouvelle étude clinique institutionnelle (ECI), la Pharmacie à Usage Intérieur (PUI) a été sollicitée pour la préparation et le contrôle qualité de deux médicaments expérimentaux (ME). Ces médicaments concernent des gélules et une solution injectable dosées respectivement à 500 mg et 100 mg/ml (500 mg/5 ml) en Lévétiracetam. Le but de cet ECI consiste en l'évaluation de l'efficacité d'un traitement antiépileptique prophylactique systématique par Lévétiracetam versus placebo à la phase aiguë des hémorragies intracérébrales spontanées. Ce travail a pour but de mettre au point et de valider la méthode de dosage du Lévétiracetam dans ces deux ME par Chromatographie Liquide Haute Performance.

MATÉRIELS ET MÉTHODE

La validation analytique a été conduite selon les recommandations de la Conférence Internationale d'Harmonisation (CIH) dans l'intervalle de mesure situé entre 60 et 140 $\mu\text{g/ml}$. Cette validation a été réalisée à partir d'un étalon de Lévétiracetam de pureté > 99,5% et a consisté à la détermination de la spécificité, de la linéarité (n=5), de la fidélité (répétabilité, fidélité intermédiaire), de l'exactitude, de la limite de détection et de la limite de quantification. Chaque critère de validation a été déterminé sur trois jours avec trois opérateurs différents. Pour évaluer la spécificité, des essais de dégradation forcée (HCl 0,1N, NaOH 0,1N et H_2O_2 10 volumes, Température à 100°C et exposition aux rayons ultraviolets à 365 nm) et des essais portant sur la recherche d'un éventuel effet matrice dû aux excipients ont été effectués. La séparation chromatographique a été obtenue sur une colonne C18, 4 μm , 100 mm x 4,6 mm, thermostatée à 50°C. La phase mobile est composée d'eau acidifiée avec l'acide phosphorique (pH : 2,8-3,0) et du méthanol (75/25). Le débit de la pompe est fixé à 1 ml/min et la détection a été effectuée à 210 nm pour un volume d'injection de 10 μl .

RÉSULTATS

La méthode de dosage a montré une bonne linéarité entre 60 et 140 $\mu\text{g/ml}$ avec un coefficient de corrélation moyen $r = 0,994$, une fidélité satisfaisante avec un coefficient de variation < 2% et une exactitude avec des taux de recouvrement situés entre 100 et 102 %. Les limites de détection et de quantification sont respectivement de 7 et 21 $\mu\text{g/ml}$. Les temps de rétention ont été stables pour toutes les injections à 2,65 min $\pm 5\%$ et la dégradation forcée a permis de valider le critère de spécificité avec une bonne séparation du Lévétiracetam et de ses produits de dégradation. Aucun effet matrice dû aux excipients des gélules et de la solution injectable n'a été mis en évidence.



CONCLUSION

Au vu de ces résultats, cette méthode a été validée selon les recommandations de la CIH. Après cette validation satisfaisante, une étude stabilité est actuellement en cours de réalisation pour ces deux ME.