

# VALIDATION D'UNE MÉTHODE DE DOSAGE D'UN COLLYRE DE CICLOSPORINE À 2 % PAR CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE HAUTE PERFORMANCE

Julie RENAUD, Mamadou Lamine TALL, Damien SALMON, Amandine BAUDOUIN, Alexia MALRIQ, Nicole KOOG, Brigitte DUCARRE, Mélanie LENFANT, Elhadji DIOUF, Christine PIVOT, Fabrice PIROT  
Pharmacie, Hôpital Edouard Herriot, 5 Place d'Arsonval, 69003 Lyon

## INTRODUCTION

Le collyre de ciclosporine à 2 % est indiqué dans la prévention du rejet de greffe lors de kératoplasties ainsi que dans le traitement des maladies auto-immunes de l'œil. Actuellement, un collyre de ciclosporine à 0,05 % est commercialisé, mais ses indications sont limitées. Dans ce contexte, notre Pharmacie à Usage Intérieur (PUI) a mis en place une préparation hospitalière du collyre à 2 % pour répondre à ces besoins spécifiques.

Ce travail a pour but de mettre au point et de valider la méthode de dosage de la ciclosporine par Chromatographie Liquide Haute Performance (CLHP) afin de pouvoir réaliser en routine le contrôle qualité des collyres de ciclosporine à 2 %.

## MATÉRIELS ET MÉTHODE

Le collyre de ciclosporine à 2% contient dans sa formule de la ciclosporine (Sandimmun<sup>®</sup>, solution buvable à 100 mg/ml, dont la teneur en alcool éthylique anhydre = 2%), et de l'huile de ricin.

La validation analytique a été effectuée selon les recommandations des ICH (International Conference on Harmonisation) à partir d'un étalon SCR de la Pharmacopée Européenne (pureté > 99,95 %) => détermination de la spécificité, de la linéarité, de la fidélité (répétabilité, fidélité intermédiaire), de l'exactitude, de la limite de détection et de la limite de quantification.

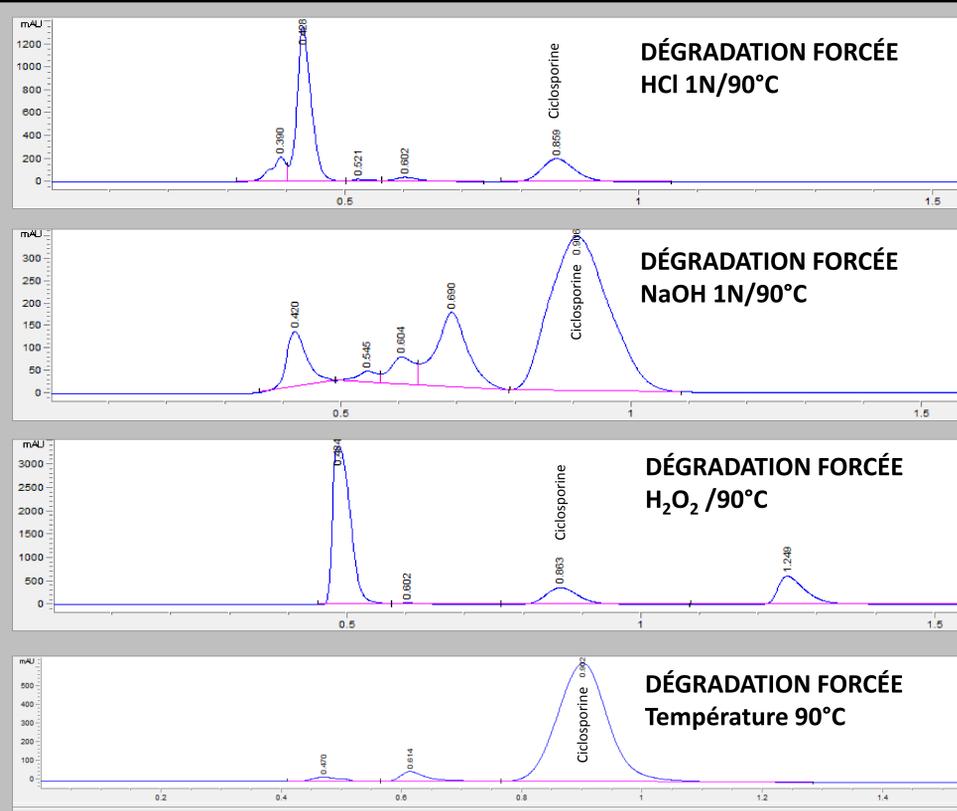
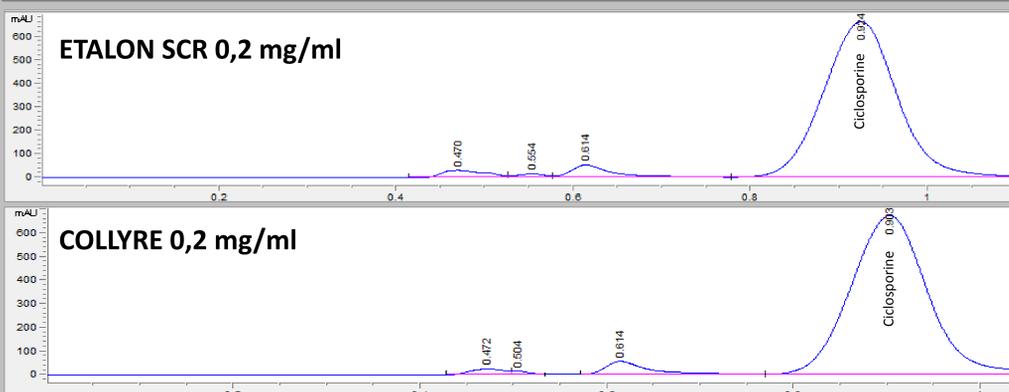
Les échantillons analysés ont été préparés à partir d'une solution mère de ciclosporine à 2 mg/ml dans du méthanol. La spécificité a été vérifiée d'une part par la vérification de l'absence d'interférences dues aux excipients et d'autre part par la réalisation de la dégradation forcée du collyre (HCl 1N, NaOH 1N, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30 volumes, 90°C). La gamme d'étalonnage en 5 points est effectuée de 60 à 140% de la concentration théorique soit entre 0,12 et 0,28 mg/ml.

Les conditions chromatographiques de la méthode : Colonne ZORBAX Bonus-RP C 18, 3.5 μm, 50 mm x 4.6 mm, thermostatée à 58°C ; colonne de garde Phenomenex<sup>®</sup> ; phase mobile : méthanol/eau (86%/14%) ; débit de la pompe : 1 ml/min ; détection à 210 nm ; volume d'injection de 10 μl.

Pour l'analyse des collyres à 2%, tous les échantillons sont soumis à une dilution (1/100<sup>ème</sup>) dans du méthanol pour obtenir une solution à 0,2 mg/ml (milieu de gamme).

## RÉSULTATS

- Le temps de rétention : 0,91 secondes (± 5 %)
- L'absence d'interférences des excipients et la dégradation forcée ont permis de valider le critère de spécificité avec une bonne séparation de la ciclosporine et de ses produits de dégradation.
- Le coefficient de corrélation  $r = 0.995$
- Le % CV de la fidélité < 3,2 %
- Le taux de recouvrement pour l'exactitude : 98 - 102%
- La limite de détection : 19,47 μg/ml
- La limite de quantification : 58,99 μg/ml



## DISCUSSION

Au vu de ces résultats, cette méthode est validée selon les ICH. Elle permettra ainsi de réaliser un dosage rapide et précis des collyres de ciclosporine fabriqués par la PUI.