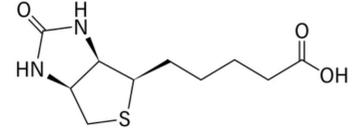


Missita FOFANA¹, Inès JACQUET¹, Vincent ARCANI¹, Caroline CASTERA-DUCROS¹,
Edouard LAMY¹, Nicolas PRIMAS¹, Christophe CURTI¹, Patrice VANELLE¹

(1) Service Central de la Qualité et de l'Information Pharmaceutiques – Hôpital de la Conception, AP-HM
147 Boulevard Baille, 13005 Marseille

INTRODUCTION

La biotine est une vitamine hydrosoluble également appelée vitamine B7, B8 ou H. Synthétisée par l'organisme et apportée par l'alimentation, elle joue un rôle essentiel dans la synthèse des acides gras, des acides aminés et dans la production d'énergie grâce aux nutriments. La pharmacie à usage intérieur (PUI) de l'hôpital de la Conception souhaite réaliser des préparations hospitalières de gélules à 40 mg indiquées dans le déficit en biotinase, le déficit multiple en carboxylase (holocarboxylase synthétase) et le déficit nutritionnel en biotine des nouveau-nés. **L'objectif de ce travail est de valider la méthode de dosage de la biotine par chromatographie liquide haute performance (CLHP) afin d'assurer *in fine* le contrôle qualité et la libération des futures préparations hospitalières.**



MATERIEL ET METHODES

Dosage CLHP UV-visible en phase inverse (monographie issue de la Pharmacopée américaine)

5 opérateurs + 2 automates Ultimate DIONEX® 3000 (logiciel Chromeleon®) pendant 1 mois

Paramètres HPLC

Mode isocratique

Phase mobile = 915 mL d'une solution tampon (perchlorate de sodium, eau UP et H₃PO₄) et 85 mL d'Acétonitrile

Paramètres du dosage

Colonne Agilent Poroshell® 120 EC-C8 150 x 4,6 mm 4 µm

Temps d'analyse : 18 min, débit de 1,2 mL/min

λ = 200 nm, V_{injection} = 50 µL

Rinçage = ACN/eau UP (10/90).



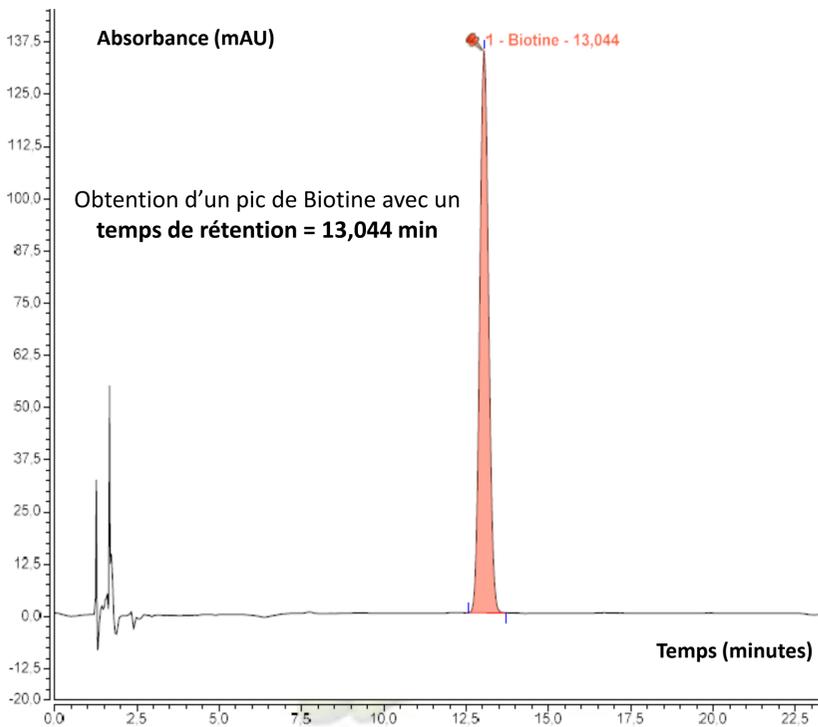
- **Linéarité** : 6 gammes d'étalonnage de 0,02 mg/ml à 0,08 mg/ml (7 points)
 - **Fidélité intermédiaire** : 21 points à 0,04; 0,05 et 0,06 mg/ml
 - **Répétabilité** : 18 points à 0,04; 0,05 et 0,06 mg/ml
- **Essais de dégradation forcée** (matière première de Biotine) : Chaleur (étuve à 80°C), Lumière (lampe UV), Oxydation (H₂O₂ 3%), Acidité (HCl 2N), Basicité (Na₂CO₃ saturé)



Photographie prise au laboratoire du SCQIP

Les données ont été traitées grâce au logiciel Excel®

RESULTATS



Concentration de la gamme d'étalonnage (mg/ml)	Biais absolu moyen (%)	Exactitude (%)
0,02	0,03	101,6
0,03	- 0,01	99,6
0,04	0,01	100,3
0,05	- 0,07	98,6
0,06	0,01	100,1
0,07	0,01	100,2
0,08	0,02	100,2

Gammes d'étalonnage	Valeur R ² (%)
1	100
2	99,99
3	99,88
4	99,86
5	99,73
6	99,99

Etude de linéarité

- Pour tous les niveaux de concentrations : **Biais absolu moyen ≤ 2 %, Exactitude entre 100 % ± 5 %**
- Tous les R² sont > 99 % avec un R² moyen > 99,5 %
- **Tous les points sont dans l'intervalle +/- 10% des écarts maximaux autorisés (EMA)**

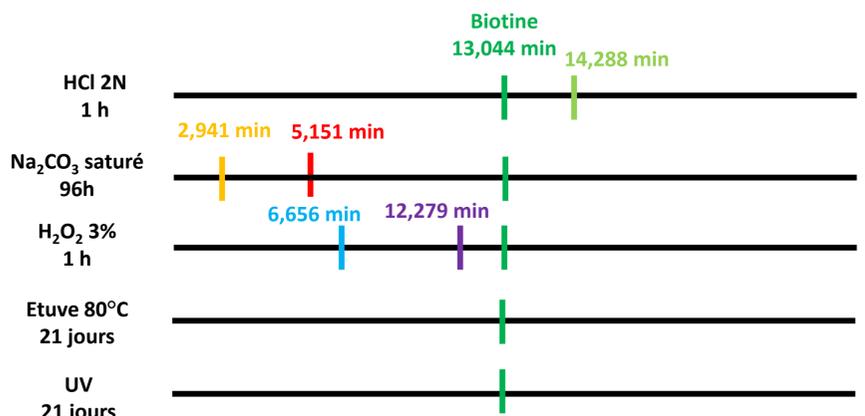
→ Méthode linéaire dans cette gamme de concentration

Concentration (mg/ml)	Coefficient de variation - Répétabilité (%)	Coefficient de variation - Fidélité intermédiaire (%)
0,04	1,938	1,715
0,05	0,754	2,307
0,06	1,186	2,672

Fidélité intermédiaire (21 points) et de la **répétabilité** (18 points) de la méthode sur 3 niveaux de concentration

Le **coefficient de variation (CV)** de la répétabilité et de la fidélité intermédiaire ainsi que le **biais** sont tous deux **inférieurs à 5%**

→ Méthode répétable sans être dépendante de l'opérateur, de l'automate ou des conditions opératoires



Essais de dégradation forcée

- Mise en évidence des produits de dégradation :
- après 96 h en condition basique
 - après 1 h en conditions acide et oxydante
 - Pas de dégradation par la lumière et la chaleur

DISCUSSION – CONCLUSION

La **méthode de dosage de la biotine a été validée**. Cependant cette étude doit se poursuivre sur un premier lot de gélules. Une **étude de stabilité est également nécessaire** afin d'établir les conditions optimales de conservation ainsi qu'une durée maximale de conservation.