

MISE AU POINT D'UNE METHODE DE DOSAGE PAR CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE HAUTE PERFORMANCE (HPLC) DE PREPARATIONS HOSPITALIERES D'HYDROCORTISONE

Référence n°000006



Hortense VILLARD (1), Tiffany KABAC (2), Marine LAENG (1), Christophe JEAN (2), Christophe CURTI (1), Patrice VANELLE (1)

(1) Laboratoire de Contrôle de la Qualité, Service Central de la Qualité et de l'Information Pharmaceutiques (SCQIP) Hôpital de la Conception AP-HM, Marseille

(2) Pui, Hôpital Sainte Marguerite, Marseille

Contexte : L'hydrocortisone, hormone proche de la cortisone naturelle est utilisée dans la prise en charge de l'insuffisance surrénale.

Objectif : Mise au point d'une méthode de dosage d'hydrocortisone par HPLC afin de **contrôler et valider** les préparations hospitalières pédiatriques (gélules à 1 mg et suspensions buvables à 2 mg/mL) réalisées par les Pharmacies à Usage Intérieur.

Matériels et méthodes

Dosage HPLC en phase inverse : Validé sur Ultimate DIONEX 3000 et Agilent 1260 Infinity

Paramètres : *Colonne* : STABILITY 100 BASIC – C18 5µm – 250 x 4,6 mm ; *Phase mobile* : eau/acétonitrile (60/40) ;

Débit : 1 mL/min à température ambiante ; *Longueur d'onde* : 245 nm

Echantillons (gélules d'hydrocortisone 1 mg et solutions buvables d'hydrocortisone 2 mg/mL) : Préalablement dilués dans un mélange de méthanol/eau/acide acétique (89/10/1) avant d'être analysés ; Pic bien résolu qui apparaît à 6,5 min

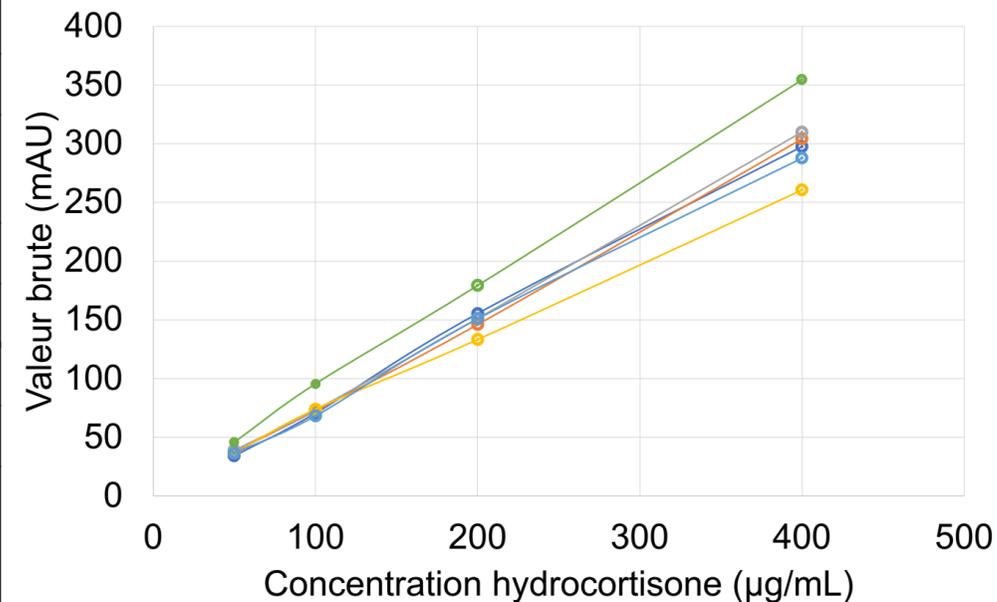
→ Pour vérifier la **spécificité** de la méthode de dosage, nous avons mené une **étude de dégradation forcée** selon les recommandations du GERPAC-SFPC.

Résultats

Mise au point de la méthode de dosage à partir de poudre d'hydrocortisone base :

Concentration		90 µg/ml	100 µg/ml	110 µg/ml
Fidélité intermédiaire	Nombre de séries	6	6	6
	Nombre de mesures par série	3	3	3
	Moyenne	90,89	101,28	112,06
	Ecart type	4,209	3,956	5,655
Justesse	Biais absolu (µg/mL)	0,889	1,278	2,06
	Biais relatif (%)	1,0	1,3	1,9
	Taux de recouvrement (%) (effet matrice et justesse)	101	101	102

Gammes d'étalonnage



Analyse du premier lot de gélules à 1mg :

Teneur en principe actif des gélules **en dessous** des valeurs attendues → Résultats déjà observés par une autre équipe de pharmaciens et ayant conclu à une **interaction** entre la gélatine de l'enveloppe de la gélule et l'hydrocortisone.

→ **Investigation complémentaire**

Réalisation de **nouveaux lots de gélules** avec différents excipients (lactose et mannitol) + des **poudres titrées** → contrôle de la teneur par HPLC → teneur de ces lots **en dehors** des normes d'acceptation.

→ **Hypothèse**

Perte de principe actif lors de la fabrication + interaction entre l'hydrocortisone et les composants de la gélule (enveloppe, excipients).

Conclusion

Le sous dosage systématique des lots de gélules d'hydrocortisone 1 mg rend problématique la réalisation de la préparation pharmaceutique. Afin de ne prendre aucun risque pour le patient, un **passage systématique à la forme buvable** sera proposé aux prescripteurs.

Les suspensions buvables d'hydrocortisone seront soumises au contrôle de leur teneur en principe actif par HPLC ainsi que d'une analyse microbienne avant leur libération.