

Développement et validation d'une méthode de dosage quantitatif du baclofène 10 mg, 20 mg et de ses produits de dégradation pour l'étude de la stabilité d'un médicament expérimental.

Z.MOKDADI [1], E.VISSAC [1], M.VENET [1], C.DHELENS [1], C.MERIEU [1], F.PIROT [1] [2]

¹ Unité de Préparation et de Contrôle des Médicaments, plateforme FRIPHARM, Pharmacie à usage intérieur, Groupement Hospitalier Edouard Herriot - Hospices Civils de Lyon

² Pharmacie à usage intérieur, Groupement Hospitalier Edouard Herriot - Hospices Civils de Lyon

Contexte et objectifs

La pharmacie de l'hôpital Herriot a été sollicitée pour la préparation de gélules de baclofène de 10 mg et 20 mg pour un essai clinique évaluant l'efficacité du baclofène versus placebo afin de réduire la dose de benzodiazépine chez les patients souffrant de troubles de l'utilisation des benzodiazépines (TUB).

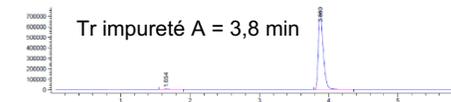
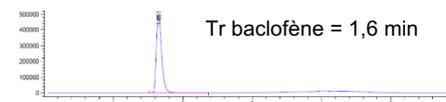
Le développement de ce médicament expérimental inclut l'étude de sa stabilité chimique grâce à une méthode analytique quantitative. L'objectif spécifique de notre étude est de développer et valider une méthode de dosage quantitative indicatrice de stabilité du baclofène dans des gélules de 10 et 20 mg par HPLC-MS.

Matériels et méthodes

Conditions HPLC	Phase stationnaire	Octadécylsililée 150 x 2,1 mm ; dp = 2,6 µm ; 100 Å
	Phase mobile	Voie A : formiate d'ammonium Voie B : ACN + 10 % de voie A
	Débit Gradient	0,4 mL/min 0 – 1 min : 70 % A - 30 % B 1 – 3 min : 70 % A - 30 % B → 30 % A - 70 % B 3 – 4 min : 30 % A - 70 % B → 70 % A - 30 % B 4 – 7 min : 70 % A - 30 % B
	Volume d'injection – Température d'injection	5 µL – 20 °C
Conditions MS	Baclofène	m/z = 214 ; tr = 1,6 min LOQ = 0,9 µg/mL – LOD = 0,03 µg/mL
	Impureté A (Ph.Eur)	m/z = 196 ; tr = 3,8 min LOQ = 0,12 µg/mL – LOQ = 0,04 µg/mL
	Mode ESI Température du N ₂ Débit de Gaz	Mode positif 350 °C 12 L/min
Protocole de dégradation forcée	Protocole GERPAC : HCl (2 M ; 3 H) – NaOH (2 M ; 3H) – Température (60 °C ; 15 j) hν (265 nm ; 6 H) – H ₂ O ₂ (3 % ; 9 J)	
Protocole de validation	Protocole Gerpac - SFSTP V2 La gamme d'étalonnage a été réalisée avec 3 standards de calibrations : 18, 25 et 32 µg/mL, les standards de validation étaient de 20, 25 et 30 µg/mL.	

Résultats et discussion

Conditions
HPLC/MS

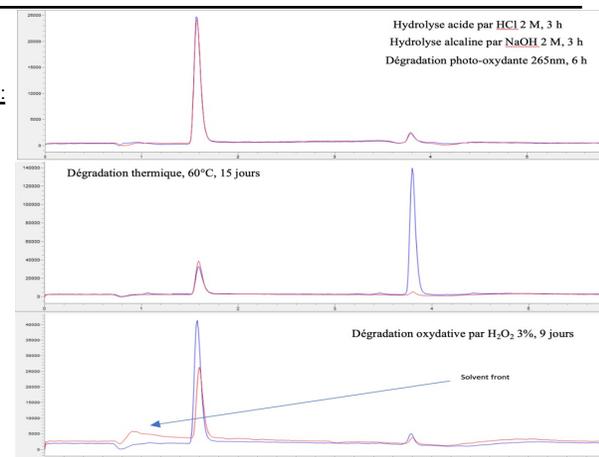


Dégradations
forcées

Conditions acide, alcalines, photo-oxydantes :
Pas la dégradation du baclofène, et aucune impuretés et/ou produits de dégradations n'apparaissent.

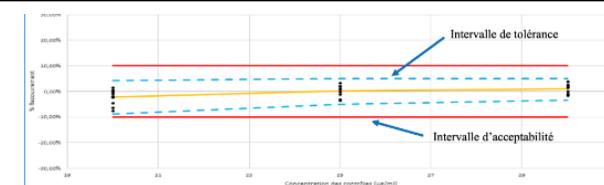
Condition thermique :
Les dégradations forcées dégradent légèrement le baclofène, mais faisaient apparaître l'impureté A.

Conditions oxydatives :
Le baclofène était dégradé mais ne faisaient pas apparaître l'impureté et/ou des produits de dégradations.



Validation de
méthode

Linéarité R² = 0,998 (R₂ > 0,99)
Répétabilité à 1,48 % (CV<5%)
Reproductibilité à 2,63 % (CV<8%)
Justesse à 1,13 % (CV<10%)



Conclusion

Une méthode de dosage quantitatif indicatrice de stabilité des gélules de B par HPLC-DAD-SQ a été validée. Cette technique spécifique, simple et rapide nous permet de réaliser l'étude de stabilité des gélules dans le cadre de cet essai clinique.