

<sup>a</sup> Pharmacie, Hôpital Louis Pradel – Hospices Civils de Lyon  
<sup>b</sup> Pharmacie, Hôpital Edouard Herriot - Hospices Civils de Lyon  
<sup>c</sup> Unité de Préparation et de Contrôle des Médicaments, plateforme FRIPHARM, pharmacie, Hôpital Edouard Herriot- Hospices Civils de Lyon

### Introduction :

L'hôpital Louis Pradel traite actuellement les enfants insuffisants cardiaques par une préparation magistrale de suspension buvable de spironolactone (5 mg/mL). La demande importante suggère d'en faire une préparation hospitalière (PH). La Pharmacopée Européenne exige des contrôles qualité pour libérer un lot de PH, dont le dosage de la teneur en principe actif.

**Objectif :** Développer et valider une méthode analytique de dosage par Chromatographie Liquide Haute Performance couplée à un détecteur ultra-violet afin évaluer la teneur en spironolactone au sein d'une matrice complexe (Ora-Blend®).

### Matériel et méthode :

→ En collaboration avec l'hôpital Edouard Herriot doté d'un laboratoire de contrôle et FRIPHARM.  
 → Selon le guide méthodologique des études de stabilité des préparations du GERPAC

Utilisation d'une 1260 Infinity Agilent Technologies HPLC + détecteur UV

Conditions chromatographiques	Conditions définies
Phase stationnaire	Colonne Luna ® 3 µm, 150 mm x 4,6 mm Octadécylsilylé
Phase mobile	EPPI + acétonitrile (30;70 v:v)
Débit de la pompe	1,0 mL / min
Volume d'injection	20 µL
Longueur d'onde de détection	254 nm

**Standards de calibration :** préparation = spironolactone pure « Chemical Reference Substance » (CRS) + phase mobile.

- 3 niveaux de concentration (bas, moyen, haut) : 15, 50 et 75 µg/mL.

Répétés 2 fois soit 6 points de calibration par jour.

**Standards de validation :** préparation = spironolactone matière à usage pharmaceutique (MPUP) + Ora-blend®.

- 3 niveaux de concentration (bas, moyen, haut) : 35, 50 et 65 µg/mL.

Répétés 3 fois soit 9 points de validation par jour.

### Résultats :

TR, ASC et retours à la ligne de base similaires ; pas d'effet matrice

→ **Spécificité**

$R^2 = 0,99 > 0,95$  → **Linéarité**

Répétabilité : CV = 1,5 % < 5 %

Reproductibilité : CV = 1,8 % < 8 %

→ **Fidélité**

Biais relatif = 1,0 % ± 0,52 ε ] -10 % ; +10 % [

Recouvrement = 100,99 % ± 0,5 ε [ 90 % ; 110 % ]

→ **Justesse**

— — Intervalle d'acceptabilité (α = 10 %)  
 - - - Intervalle de tolérance (β = 80 %)  
 ——— Moyenne des standards de validation  
 \* Valeurs des standards de validation

### Conclusion :

Les Paramètres statistiques sont conformes aux spécifications. Cela renforce la qualité et la sécurisation de la libération d'un lot de PH . Une comparaison des résultats du dosage de la teneur en spironolactone dans le Syrspend® ou l'Inorpha® comme véhicules serait intéressant (ils se distinguent de l'Ora-Blend® notamment par leur osmolarité, leur texture et leurs excipients à effets notoire).

Paramètres	Protocole de validation	Spécifications
Spécificité	Comparaison entre les chromatogrammes CRS et MPUP : temps de rétention (TR), aires sous la courbe (ASC) et retours à la ligne de base	Pas de différence entre les paramètres comparés, pas d'effet matrice
Linéarité	2 gammes de calibration par jour pendant 3 jours avec un opérateur différent chaque jour.	Le coefficient de détermination moyen des gammes $R^2$ doit être supérieur à 0,95
Fidélité	3 gammes de validation par jour pendant 3 jours.	Les coefficients de variations moyens (CV) intra jour (répétabilité) et inter jour (reproductibilité) doivent être inférieurs à 5% et 8% respectivement.
Justesse	3 gammes de validation par jour pendant 3 jours.	Le biais relatif moyen des concentrations doit être $< \pm 10 \%$ , le recouvrement compris dans l'intervalle [ 100 % ± 10 % ]
Profil d'exactitude	Intervalle d'acceptabilité, de tolérance, valeurs et moyenne des standards de validation	Les valeurs et la moyenne des standards de validation sont comprises dans l'intervalle de tolérance et d'acceptabilité

