

DÉVELOPPEMENT ET VALIDATION POUR LE PASSAGE À LA ROUTINE D'UNE MÉTHODE LC-UV POUR LES STUPÉFIANTS

Anne-Sophie Haller¹ ; William Bello^{1,2,3,4} ; Julian Pezzatti¹ ; Farshid Sadeghipour^{1,2,3,4}

¹: Service de Pharmacie, Centre Hospitalier Universitaire Vaudois, Lausanne

²: Centre de Recherche et d'Innovation en Sciences Pharmaceutiques cliniques, Centre Hospitalier Universitaire Vaudois et Université de Lausanne

³: Section des Sciences Pharmaceutiques, Université de Genève, Suisse

⁴: Institut des Sciences Pharmaceutiques de Suisse Occidentale, Université de Genève, Suisse



Introduction

- En pharmacie hospitalière, le dosage analytique des médicaments stupéfiants est souvent effectué avec une méthode propre pour chaque médicament.
- Cela engendre des contraintes tels que de multiples consommables analytiques à stocker, du temps pour la mise en place des équipements et des phases mobiles et une complexification des procédures de travail pour les collaborateurs.

Objectifs

- Développer une méthode analytique générique de chromatographie liquide couplée à la détection UV pour l'analyse de : fentanyl, méthadone, morphine, cocaïne, codéine et kétamine.
- Simplifier et moderniser la procédure analytique, augmenter l'efficacité de travail et baisser les coûts en diminuant la consommation des solvants organiques.

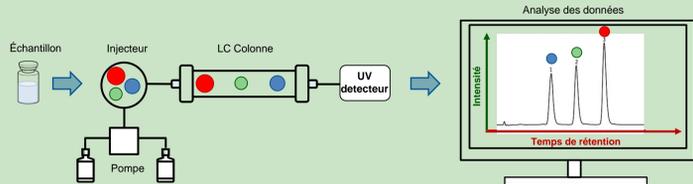
Conclusion

- Développement d'une méthode avec la capacité d'identifier avec spécificité le fentanyl, méthadone, morphine, cocaïne, codéine et kétamine.
- La validation de la méthode permet de quantifier le fentanyl (de 5 à 15 µg/mL), la morphine (de 30 à 70 µg/mL) et la méthadone (de 80 à 120 µg/mL) avec une limite d'acceptation très stricte ($\pm 5-6\%$) dans les productions en série du Service de Pharmacie du CHUV.

Méthodes

Chromatographie liquide en phase inverse (RPLC)

Séparation des composés en fonction de leurs affinités intrinsèques entre la phase mobile et la phase stationnaire.



Séparations LC-UV

Colonne
Acquity UHPLC BEH C8, 1.7 µm, 2.1 mm x 100 mm

Phase mobile
A : H₂O + Ammonium formate 10 mM + acide formique, pH = 3.0
B : H₂O / ACN (10 / 90) + Ammonium formate 10 mM, acide formique, pH = 3.0

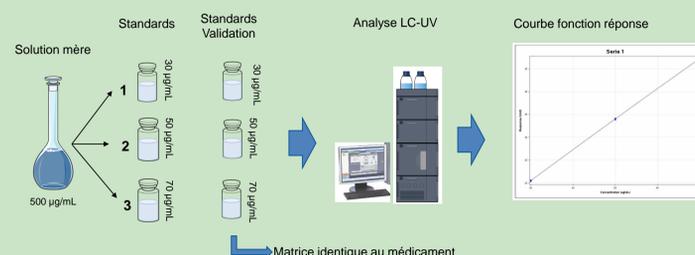
Gradient
10 min

Temps (min)	%A	%B	Débit (mL/min)
0.0	95	5	0.400
0.5	90	10	0.400
1.0	85	15	0.400
3	7	93	0.400
6.0	7	93	0.400
8.0	7	93	0.400
10.0	95	5	0.400

Température
Colonne: 35 °C
Echantillon: 10 °C

Validation analytique

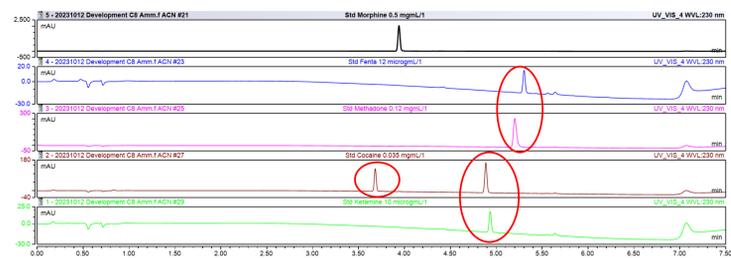
5 courbes fonction réponse générées à 3 niveaux, 5 jours différents, 5 procédures analytiques selon les guidelines de validation des procédures analytiques ICHQ2(R2).



Résultats

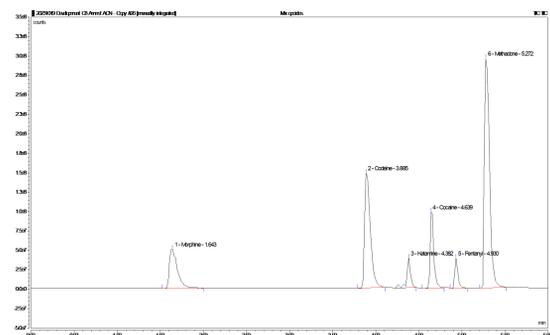
Développement de la méthode LC-UV

- Investigation des différentes phases stationnaires RPLC (C18, Phényl-Héxyl, C8), différents systèmes de solvants et différents modes d'analyse (isocratique ou gradient) pour réussir une séparation à la ligne de base des stupéfiants.



- Difficultés pendant le développement de la méthode : Temps de rétention similaires pour les molécules et produits de dégradation. Composés parfois trop retenus dans la colonne.

- Durée pour le développement: 3 mois.

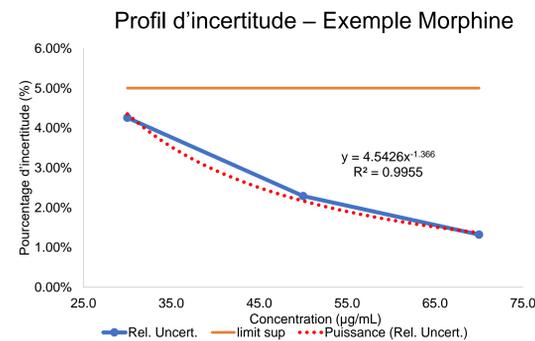
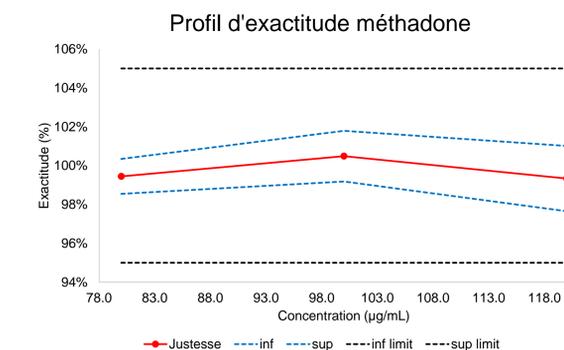
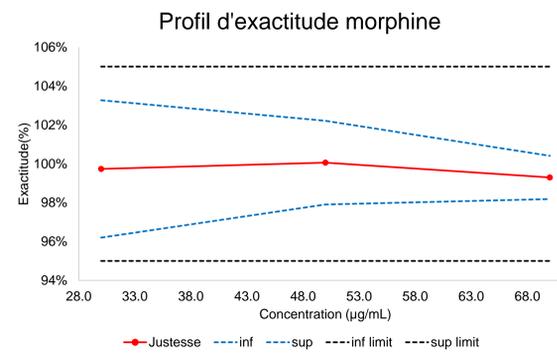
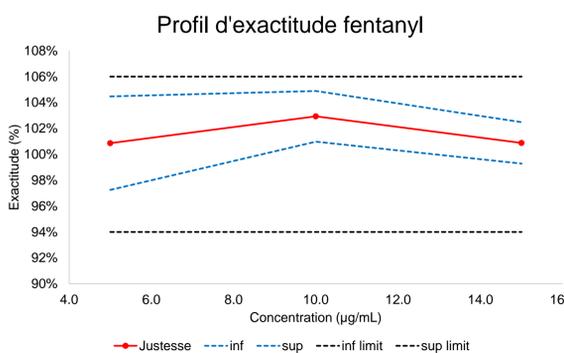


- Conditions d'analyse optimisées pour le fentanyl, morphine, méthadone, cocaïne, codéine et kétamine tout en garantissant des formes de pics gaussiennes sans tailing, fronting ou peak splitting.

- Une colonne de phase stationnaire C8, avec un système de phase mobile ACN - H₂O contenant 10 mM d'ammonium formate à pH = 3.0, en mode gradient (10 min d'analyse totale) a permis d'avoir les meilleures performances analytiques pour les 6 molécules.

Validation analytique de la méthode LC-UV

- Le but est de vérifier que la méthode d'analyse en place est adaptée à doser les stupéfiants dans le médicament.
- La méthode LC-UV pour le fentanyl, la morphine et la méthadone a été validée selon ICH Q2(R2) sur 3 semaines.
- Les profils d'exactitudes ont été générés et ont permis d'établir que la méthode pourra être utilisée pour quantifier le fentanyl (5 à 15 µg/mL), la morphine (30 à 70 µg/mL) et la méthadone (80 à 120 µg/mL).



- Les profils d'incertitude ont été générés et permettront d'estimer l'incertitude de mesure sur les concentrations mesurées dans les produits finis comme avec l'exemple de la morphine. La relation de la droite générée sera utilisée.