

Développement et validation d'une méthode de dosage de la pyriméthamine en suspension buvable par HPLC-UV

Sahra Muhammad, Zoé Ribier, Guy Benoit, Joelle Bordenave
Service de pharmacie à usage intérieur, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France



COM21-98359

Matériels et méthodes

Méthode de dosage

Phase stationnaire	Colonne Coreshell C18 (250 x4,6 mm)			
Phase mobile : Gradient	Temps	KH ₂ PO ₄ pH=3, 10 mM	MetOH	ACN
	0 → 5 min	60%	30%	10%
	5 → 25 min	50%	40%	10%
	27 → 30 min	60%	30%	10%
Débit / température	1,0 mL/min à 40°C			
Longueur d'onde	230 nm, 280 nm et scan (190-400 nm)			

Méthode analytique validée selon les ICH Q2 :

linéarité, exactitude, fidélité et spécificité

Gamme d'étalonnage (avec et sans excipients) de 40 mg/L à 120 mg/L - Fidélité (répétabilité et fidélité intermédiaire) évaluée avec un contrôle à 80 mg/L

Test de dégradation forcée (DF)

Hydrolyse	pH = 2 (HCl 0,01N), pH = 6 (tampon KH ₂ PO ₄ 10 mM) et pH = 12 (NaOH 0,01N)	J0, J3, J16
	60°C, 20°C et 4°C	
Lumière-UV	Lumière naturelle et 365 nm	J0 et 6 h
Oxydation	H ₂ O ₂ 3% Magnesium MonoPeroxyPhthalate (MMPP) 0,01 mM	

Introduction : La pyriméthamine (PYR), associée à la sulfadiazine et l'acide folinique, est le traitement de 1ère ligne de la toxoplasmose congénitale chez le nouveau-né et nourrisson. En France, aucune forme pharmaceutique n'est adaptée à cette classe d'âge : la mise au point d'une suspension buvable de pyriméthamine s'avère indispensable.

Objectif : Développement et validation d'une méthode de dosage et indicatrice de stabilité par HPLC-UV.

Méthode de dosage

Paramètre	Résultats
Linéarité	De 40 à 120 mg/L, $r^2 = 0,997$ et 0,990 (avec et sans excipients)
Exactitude	R = [99,41-100,54]
Répétabilité /Fidélité intermédiaire	CV(r) = 1,77 % CV(fi) = 2,11 %
Spécificité $\alpha=5\%$	Aucune interférence des excipients (sucralose, acide citrique, citrate de Na, gomme de xanthane, Sorbate de potassium)
Temps de rétention	4,98 +/- 0,02 min
Limite de quantification (LOQ) < 0,08% } Conforme aux ICH Q3B Limite de détection (LOD) < 0,4%	

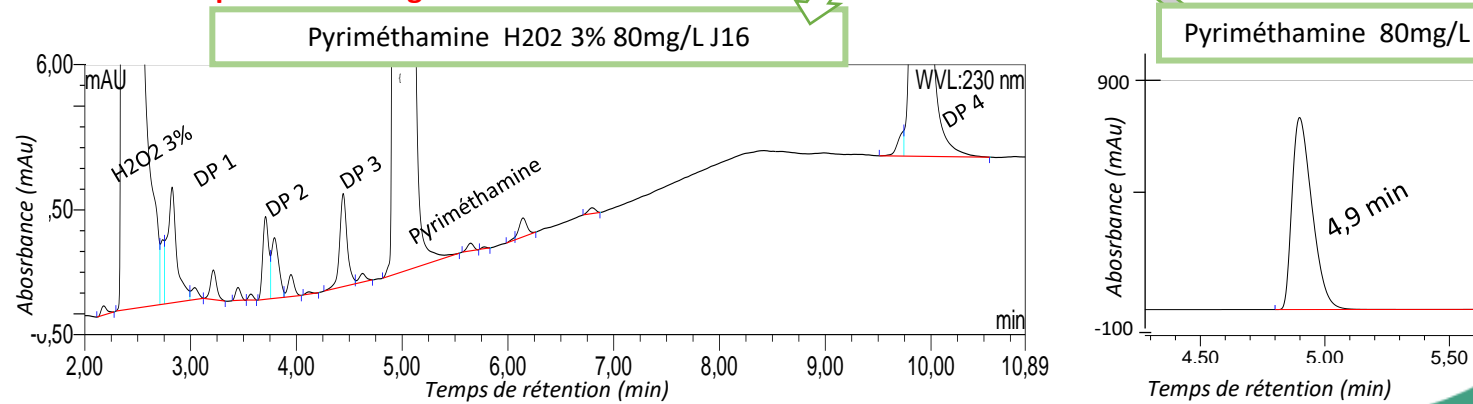
Résultats

condition	PD(1)(3): 230 nm TRR(2) [Aire (% NA)]	%dégradation (m/m)	Durée
pH = 2 pH=6 pH=12	aucun	-4,0% -0,2% -0,2%	16 j
60°C	aucun	-1,6%	16 j
H ₂ O ₂ 3%	0,57; 0,75; 0,89; 2,0 [0,15; 0,18; 0,25; 5,7]	11,3%	16 j
MMPP 0,01 mM	1,25; 1,95 [8,43; 13,2]	ininterprétable (4)	6 h
UV	0,53; 0,54; 0,71; 0,77 [0,07; 0,35; 0,1; 0,23]	1,4%	16 j
lumière	aucun	0,7%	16 j

(1) Produits de dégradation
(2) Temps de rétention relatif

(3) Normalisation d'aire pour aire > 0,1% de l'aire de la pyr
(4) MMPP élué au TR de la pyr (5,0 min)

Suivi des produits de dégradation – 230 nm



Conclusion : La méthode de dosage analytique est validée et les essais de DF ont démontré le caractère indicateur de stabilité : la PYR est très sensible à l'oxydation, peu sensible à la lumière et pas sensible à l'hydrolyse. Cela permettra de réaliser une étude de stabilité sur la formulation en cours de développement afin de déterminer la durée et les conditions de conservation.