

Validation de méthode de dosage par chromatographie liquide à haute performance à détection UV de la lidocaïne, prilocaïne et tétracaïne

B. FARGUET¹, A. PINARD¹, B. DO¹, M. PAUL¹

¹ Hôpital Henri-Mondor, Assistance Publique des Hôpitaux de Paris, France – Pharmacie à usage intérieur

INTRODUCTION

Actuellement, excepté l'injection péri-lésionnelle de lidocaïne, il existe peu d'alternative de prise en charge analgésique, en urgence, d'effraction cutanée traumatique. Cette prise en charge est peu ergonomique pour l'équipe soignante et inconfortable pour le patient.

Dans ce contexte, une nouvelle formulation topique d'anesthésiques locaux a été développée, à partir de lidocaïne, prilocaïne et tétracaïne.



Développer et valider une méthode de dosage par Chromatographie Liquide Haute Performance (CHLP), pour démarrer une étude de stabilité et des évaluations biopharmaceutiques.

MATÉRIELS & MÉTHODES

VALIDATION ANALYTIQUE



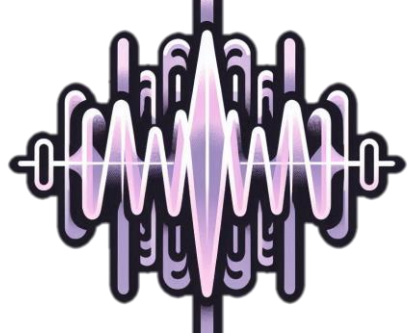
Phase mobile
Acétonitrile/Eau* (40/60)
*Tampon phosphate
40mM à pH = 7



Phase stationnaire
Kinetex® Colonne C18
2,6µm ; 150mm x 4,6mm



CHLP Shimadzu®
Débit 1 mL/min
Injection 20 µL
Thermostaté 25,0 °C



Détecteur UV
220 nm et 330 nm

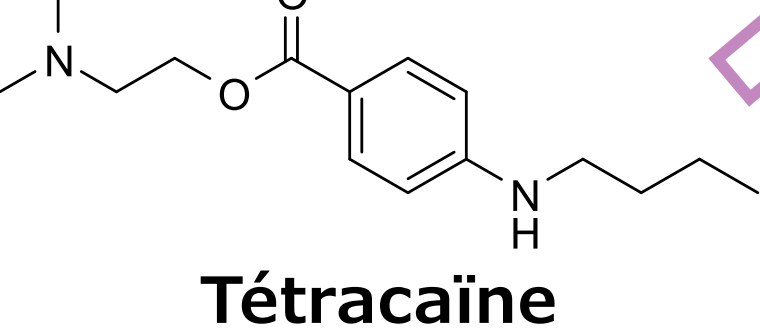
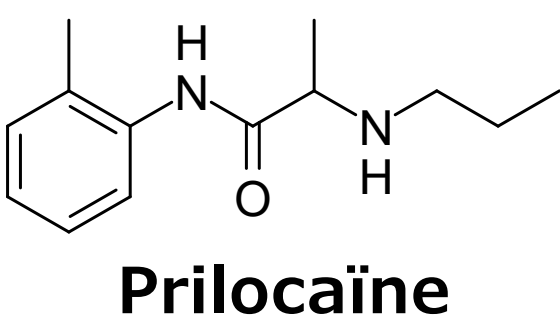
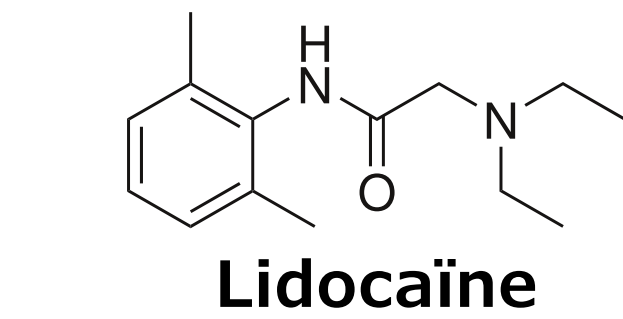


Concentration
Cible 20 µg/mL
Gamme 12 – 28 µg/mL

→ **Spécificité** (Solutions standardisées pour chaque composé), **linéarité**, **exactitude** et **fidélité**

La validation analytique a été conduite selon les recommandations du Conseil international d'harmonisation (ICH)

DÉGRADATION FORCÉE



1mL 80 µg/mL
Flacon de verre scellé
Pour chaque composé

FOUR
100°C

1mL 1N HCl
pendant 6h

1mL 1N NaOH
pendant 1h

1mL 10% H₂O₂
pendant 3h

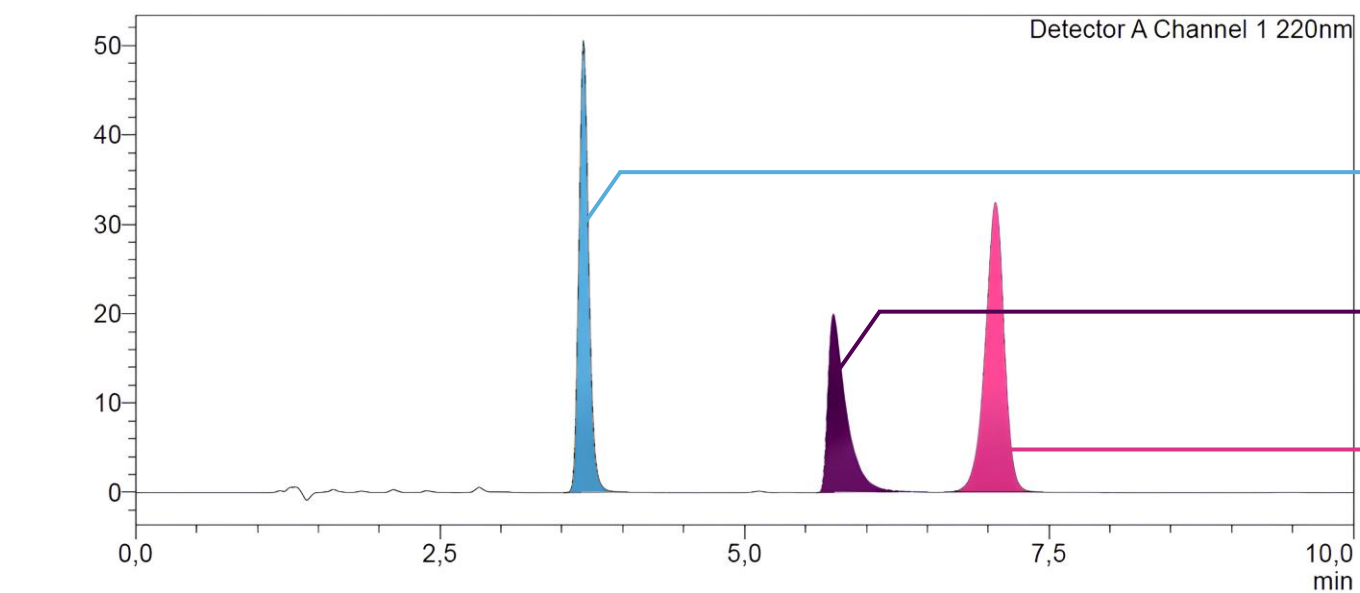
Neutralisation
acido-basique



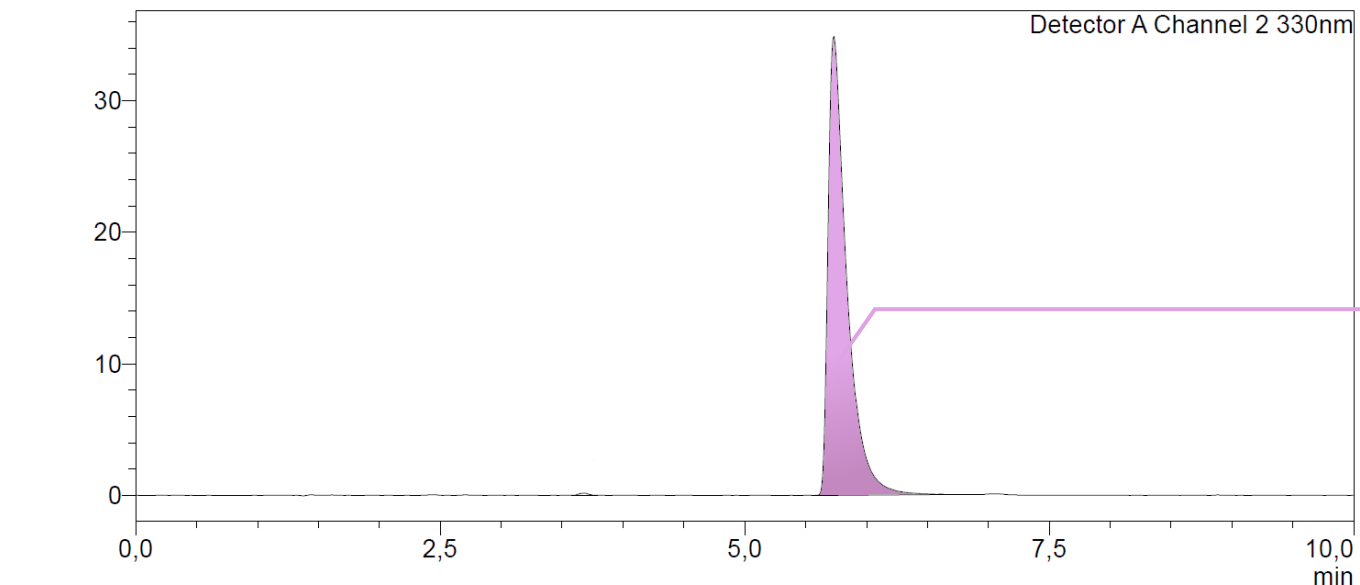
Phase mobile
q.s.p. 4 mL

RÉSULTATS & DISCUSSION

Chromatogramme à 220nm



Chromatogramme à 330nm



Spécificité : Séparation des pics chromatographiques (R > 1,5)

Justesse et exactitude des points de gamme

Concentrations calculées ± Ecart type (µg/mL)	Exactitude (%)	Concentrations calculées ± Ecart type (µg/mL)	Exactitude (%)
Tétracaïne 330nm		Prilocaïne	
12,02 ± 0,16	100,1 ± 1,3	11,90 ± 0,16	99,1 ± 1,3
16,02 ± 0,07	100,1 ± 0,4	16,09 ± 0,19	100,6 ± 1,2
19,98 ± 0,23	99,9 ± 1,2	20,05 ± 0,05	100,3 ± 0,2
23,92 ± 0,12	99,7 ± 0,5	24,03 ± 0,29	100,1 ± 1,2
28,07 ± 0,10	100,2 ± 0,3	27,92 ± 0,12	99,7 ± 0,4
Lidocaïne		Tétracaïne	
11,95 ± 0,18	99,6 ± 1,5	11,94 ± 0,15	99,5 ± 1,2
16,10 ± 0,22	100,6 ± 1,4	15,99 ± 0,03	100,0 ± 0,2
20,06 ± 0,03	100,3 ± 0,2	20,14 ± 0,11	100,7 ± 0,5
23,79 ± 0,07	99,1 ± 0,3	23,98 ± 0,11	99,9 ± 0,5
28,10 ± 0,38	100,4 ± 1,4	27,95 ± 0,12	99,8 ± 0,4

Fidélité intermédiaire : Les coefficients de variation sont < 1.52%
(3 jours : n = 27)

Justesse et exactitude : Taux de recouvrement entre ~99% et ~101%

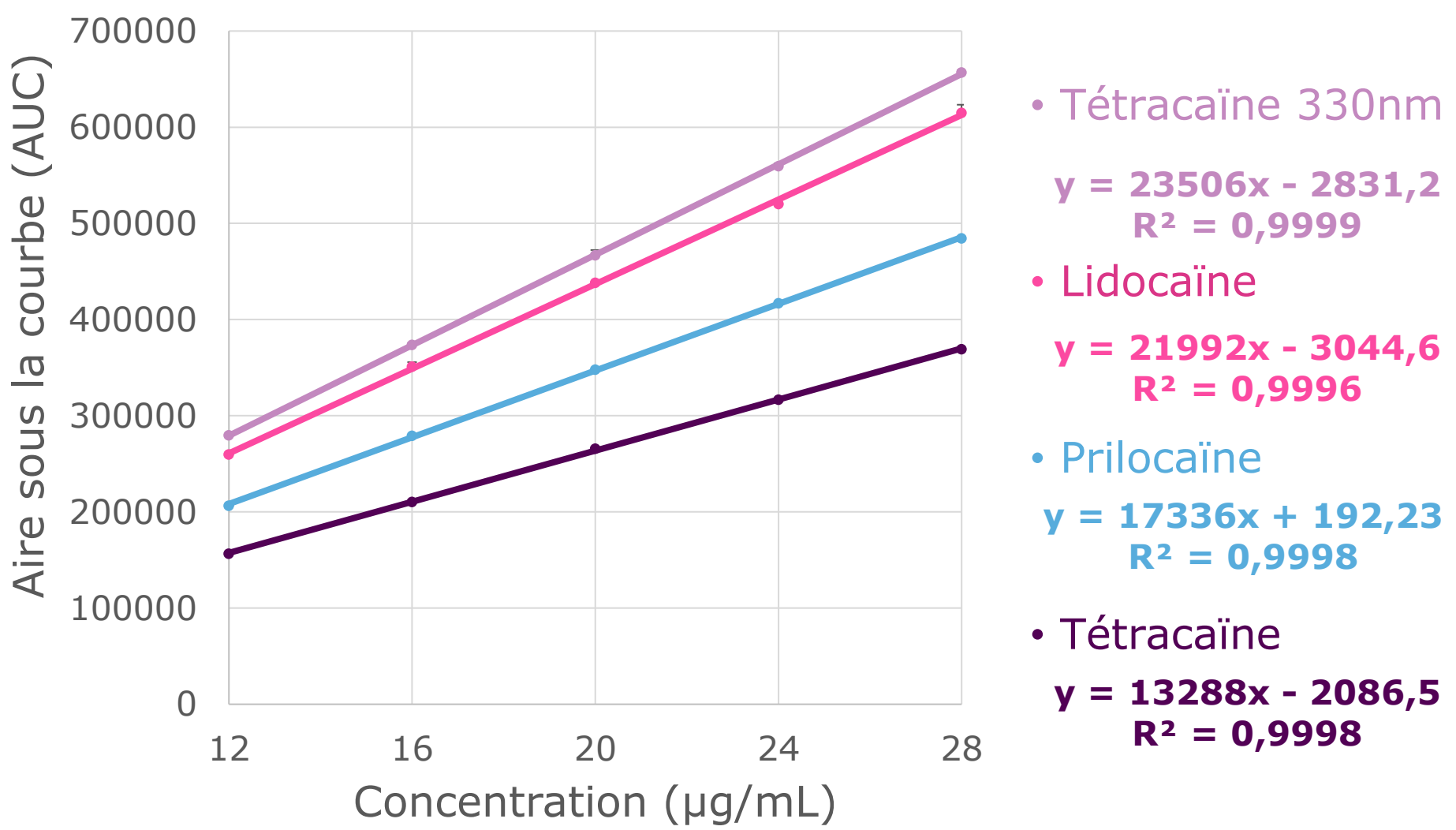
Pourcentage de produit dégradé selon le type de dégradation

	Lidocaïne	Prilocaïne	Tétracaïne
Acide	3 %	4 %	98 %
Basique	2 %	1 %	100 %
Oxydative	78 %	32 %	66 %

CONCLUSION

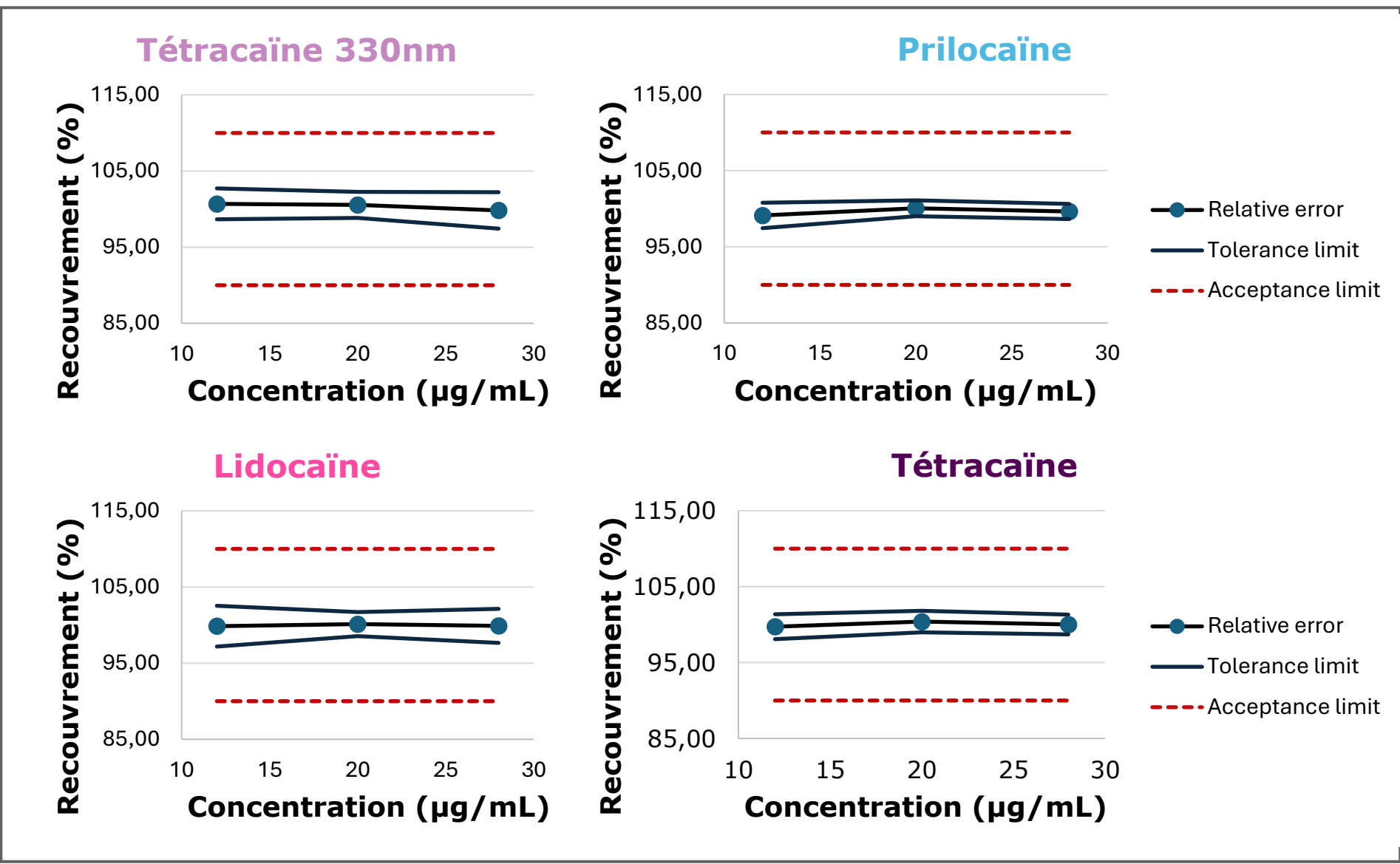
La méthode est validée selon les critères de la directive internationale ICH Q2 (R1). Cette méthode validée permet un **dosage exact et précis de la lidocaïne, de la prilocaïne et de la tétracaïne**. Avec cet outil analytique robuste, les chercheurs peuvent maintenant procéder à des études de stabilité et à des évaluations biopharmaceutiques de la nouvelle formulation topique.

Droites d'étalonnage pour chaque composé
(220nm & 330nm)



Linéarité : La méthode est linéaire dans la gamme étudiée
(3 répétitions, n = 15) ($R^2 > 0,999$) (p-value < 0,05)

Profils d'exactitude (β = 90%)



Aucun produit de dégradation n'est détecté aux Tr des molécules dosées