Développement et validation d'une méthode de dosage indicatrice de stabilité d'une suspension buvable hospitalière de fumarate ferreux destinée aux nouveau-nés prématurés

M. Farys[1], M. Stoops[1], J.Doblado[1], M.Durand[1], A.Oddo[1], M-D. Brunet[1,2], P. Bedouch[1,3], R.Mazet[1]

1. Département de Pharmacie, Centre Hospitalier Universitaire Grenoble Alpes, France, 2. Laboratoire de Bioclinique Radiopharmacie, Université Grenoble Alpes, France, 3. ThEMAS, TIMC-IMAG UMR CNRS 5525, Université Grenoble Alpes, France

Introduction

La carence martiale concerne 25 à 85 % des nouveau-nés prématurés au cours des six premiers mois de vie, avec un risque d'autant plus élevé que l'âge gestationnel et le poids de naissance sont faibles. Le FERROSTRANE® nourrissons, seule spécialité liquide disposant d'une AMM en France dans cette indication, est inadapté (excipients à effet notoire, osmolalité > 4000 mOsm/L). Une préparation hospitalière de fumarate ferreux à 5 mg/mL de fer éléments a été développée pour répondre à ces besoins spécifiques.[1]

Objectif : Développer et valider une méthode de dosage indicatrice de stabilité et établir les profils de dégradation du fumarate de fer seul et dans la matrice.

Matériels et méthodes

Formule développée

Fumarate ferreux
Cellulose microcristalline et carmellose sodique
Sucralose
Sorbate de potassium
Acide citrique
Arome Framboise
Eau stérile

Appareillage[2]

HPLC phase **inverse** en mode **isocratique**
Phase mobile : eau : acétonitrile 40:60 (v:v) Eau avec 0.06M d'acide méthanesulfonique
Colonne : TSKgel Super ODS 50x4.6 mm, 2 µm
Température : 35°C
Débit : 1 mL/min
λ: 282 nm
Temps d'analyse : 6 min

Validation de la méthode de dosage (ICH Q2R2)

Fumarate ferreux complexé à de la bathophenanthroline (Bphen) → **$Fe(Bphen)^{2+}_3$**

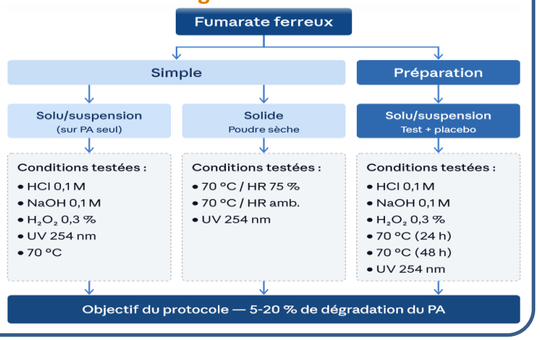
Sur le fumarate ferreux
- 5 standards de calibration
- 1 standard de validation (100 %) répété x6

x3

Sur la formulation
- 5 standards de calibration

x3

Dégradation forcée

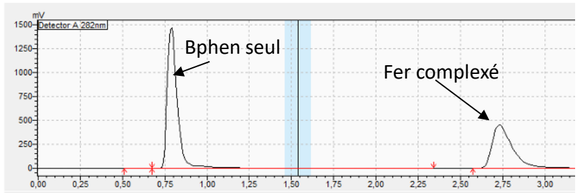


Résultats & Discussions

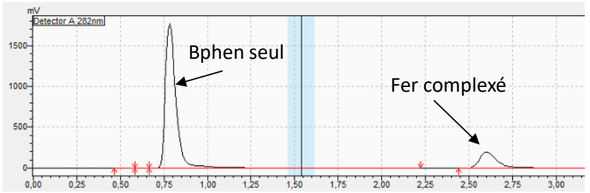
Validation de la méthode de dosage

Paramètres		Résultats
Spécificité		Absence d'interférences
Fonction de réponse	Loi dose réponse	Réponse linéaire D1 (PA seul) : Y = 1,26·10⁶·X + 93 494 ; R^2 = 0,996 D2 (PA + matrice) : Y = 1,20·10⁶·X − 107 944 ; R^2 = 0,991 Défaut d'ajustement non détecté : D1 *p* = 0,477 ; D2 *p* = 0,783.
	Intervalle de validation	60 – 140 % de la teneur nominale (2,83 µg/mL = 100 %).
	Effet matrice	Absence d'effet matrice significatif Comparaison des pentes : *p* = 0,104 Comparaison des ordonnées a l'origines : *p* = 0,086
Fidélité	Répétabilité (intra-jour)	CV = 0,65 % — IC 95 % [0,48 ; 1,00] %
	Fidélité intermédiaire (inter-jour)	CV = 0,75 % — IC 95 % [0,53 ; 1,31] %
Justesse		Recouvrement : 101.19 % — IC 95 % = [100.23 ; 102.15]
LOD / LOQ		LOD = 0,10 µg/mL LOQ = 0,29 µg/mL

- La méthode est linéaire, juste et fidèle
- Absence d'effet matrice



Chromatogramme du fer complexé



Chromatogramme de degradation en matrice simple (Hydrolyse Basique, 3h)

Dégradation forcée

Étude de dégradation forcée — synthèse des résultats						
Matrice	**État du PA**	**Dégradant**	**Temps**	**Dégradation (%)**	**C1***	**C2****
Simple	Solu/suspension	HCl 0,1 M	24 h	10,4	✓	X
	Solu/suspension	NaOH 0,1 M	30 min	21,1	X	✓
	Solu/suspension	H_2O_2 0,3 %	1 min	89,6	X	✓
	Solu/suspension	UV 254 nm***	24 h	16,0	✓	X
	Solu/suspension	70 °C	24 h	61,8	X	✓
	Solide	70 °C / HR 75 %	24 h	17,2	✓	X
	Solide	70 °C / HR amb.	24 h	19,6	✓	X
	Solide	UV 254 nm***	24 h	13,4	✓	X
Préparation	Solu/suspension	HCl 0,1 M	24 h	7,2	✓	X
	Solu/suspension	NaOH 0,1 M	2 h	53,5	X	✓
	Solu/suspension	H_2O_2 0,3 %	5 min	64,8	X	✓
	Solu/suspension	70 °C	24 h	12,9	✓	X
	Solu/suspension	70 °C	48 h	18,6	✓	X
	Solu/suspension	UV 254 nm***	24 h	29,4	X	✓

*C1 : dégradation 5-20 % (objectif)

**C2 : hors 5-20 % (>20 % précoce ou <5 % lointain)

***UV 254 nm : exposition UV-C

- **Aucune condition inerte** : perte ≥ 5 % dans toutes les conditions.
- **H_2O_2/NaOH** : perte > 20 % en moins de 2 h (Fenton [3] ; hydrolyse du Fe^{2+} accélérant son oxydation).
- Chaleur (suspension) : PA seul > préparation, protection attribuée au pH acide (acide citrique).
- **UV-C** : préparation > PA seul, photoréactivité des complexes Fe(III)-carboxylates [4] ; hors ICH Q1B.
- **État solide** : perte de 13 à 20 %, sans effet aggravant de l'humidité.

→ **Voie commune : oxydation Fe^{2+} → Fe^{3+}, modulée par l'oxygène et le pH.**[3][4]

Conclusion

La méthode satisfait aux critères de l'ICH Q2(R2) avec un étalonnage en matrice. Le fumarate ferreux se dégrade principalement par oxydation du Fe^{2+}, accélérée par les oxydants, le pH basique, la chaleur et les UV. Ces données orienteront le conditionnement et le stockage de la préparation, évalués dans l'étude de stabilité en cours.

1. Rao R et al. Clin Perinatol. 2009. — 2. Dias NC et al. J AOAC Int. 2011. — 3. Neyens E et al. J Hazard Mater. 2003. — 4. Zepp RG et al. Environ Sci Technol. 1992.