

Validation d'une méthode indicatrice de stabilité par HPLC-UV : pré-requis pour la réalisation d'une étude de stabilité d'une solution buvable d'isavuconazonium

A. Rusch¹, M. Petit^{1,2}, A. Meddeb¹, A. Dory^{1,3}, G. Ubeaud-Sequier^{1,2}, B. Gourieux^{1,3}

¹Service de Pharmacie-Stérilisation des Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, France ; ²UMR 1260 Nanomédecines Régénératives, INSERM et Université de Strasbourg, France ;

³UR 7296 Laboratoire de pharmacologie et toxicologie neurocardiovasculaire, Université de Strasbourg, France

COM26-95794

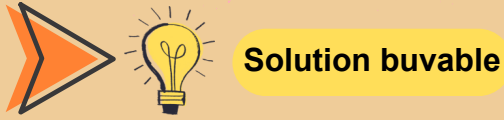
Introduction

L'isavuconazole (ISA) est un antifongique triazolé indiqué dans les aspergilloses invasives et les mucormycoses chez l'adulte et l'enfant de plus de 1 an. Le principe actif est présent sous forme de prodrogue (isavuconazonium, ISN). À ce jour, l'ISA est disponible sous deux formes : **gélule** de 100 mg et poudre pour **solution injectable**. La matière première (ISN) n'est pas disponible en France. Regella et al.⁽¹⁾ ont caractérisé les produits de dégradation forcée de l'ISN, mais les données de stabilité en conditions réelles restent absentes de la littérature.

(1) Identification and structural characterization of four novel degradation products and a process impurity of isavuconazonium sulfate for injection formulation bulk by LC-ESI-QTOF-MS/MS, 2019, Regella et al.

Formes galéniques non adaptées pour les :

petits poids problèmes de capital veineux
déglutition limitée



Solution buvable

Objectifs

1 Valider une méthode indicatrice de stabilité par HPLC-UV

2 Etudier la stabilité préliminaire de la préparation magistrale

Matériel & Méthodes

Conditions chromatographiques

HPLC	Série Shimadzu Nexera CI, Détecteur UV à barrette de diodes		
Colonne	Nucleodur C18 phase inverse (150x4,6mm, 5µm)		
Débit	1mL/min		
Longueur d'onde	220nm : détection qualitative de l'ISN et du mannitol (dans poudre pour solution IV) 280nm : détection qualitative et quantitative de l'ISN et ses produits de dégradation		
Température	Colonne : 40°C, Vial : 6°C		
Volume d'injection	20µL		
Phase mobile	A = méthanol, B = tampon phosphate 16mM pH4,2		
Méthode d'élution	Isocratique (dégradation forcée)	Isocratique jusqu'à élution de l'ISN puis gradient (validation analytique de la méthode et étude de stabilité)	
Temps d'analyse	50min	16min	
Condition d'élution	A/B 58/42% V/V	Temps (min)	Phase mobile A (%)
		0	58
		5,5	58
		6	70
		11	70
		11,01	58
		16	58
			Phase mobile B (%)
		0	42
		5,5	42
		6	30
		11	30
		11,01	42
		16	42

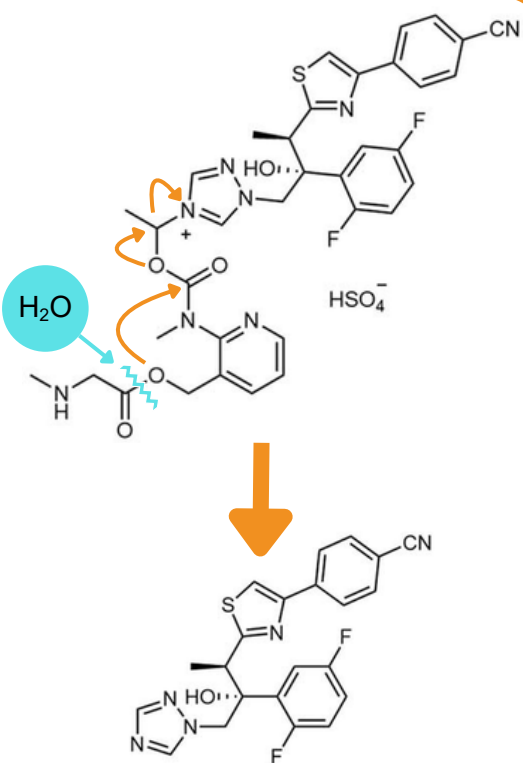


Fig. 1 : Dégradation de l'isavuconazonium (ISN) en isavuconazole (ISA)

Validation de méthode (normes ICH Q2)

Linéarité	5 points de gamme - 3 réplicats - 3 jours
Répétabilité	5 points de gamme - 6 réplicats - 1 jour
Fidélité intermédiaire	5 points de gamme - 3 réplicats - 5 jours
Justesse	3 niveaux de contrôle qualité (CQ) - 3 réplicats - 5 jours
Spécificité (dégradation forcée jusqu'à dégradation de 20-30% de l'ISN)	HCl 0,01M - Temp. ambiante NaOH 0,05M - Temp. ambiante H ₂ O ₂ 3% - 40°C UV - Temp. ambiante 40°C / Temp. ambiante
Temps de rétention de l'ISN	4,5-4,6 min

Etude de stabilité préliminaire

Source de PA	gélule 100mg ISA	IV 200mg ISA
Concentration	10 mg/mL équivalent ISA	
Excipient	Inorpha®	H ₂ O (reconstitution), Inorpha®
Conservation	2-8°C	
Temps de prélèvement	0 - 7 - 21 jours	
Suivi des paramètres	Examen visuel Teneur (concentration), pH Produits de dégradation	

Résultats

Validation de méthode

Gamme	30 - 40 - 50 - 60 - 70 mg/L équivalent ISA		
Linéarité	Y = 64298x - 57565		R ² = 0,9990 > 0,998
Equation de la droite			
Répétabilité (CV)	CV < 0,47% < 5%		
Fidélité intermédiaire (CV)	CV < 2,04% < 5%		
Justesse (% d'erreur)	+/- [0,99-4,52]% < 5%	+/- [0,60-2,60]% < 5%	+/- [0,27-3,88]% < 5%
Limite de quantification	203 ng - 10,15 ng/µL équivalent ISA		
Limite de détection	61 ng - 3,05 ng/µL équivalent ISA		

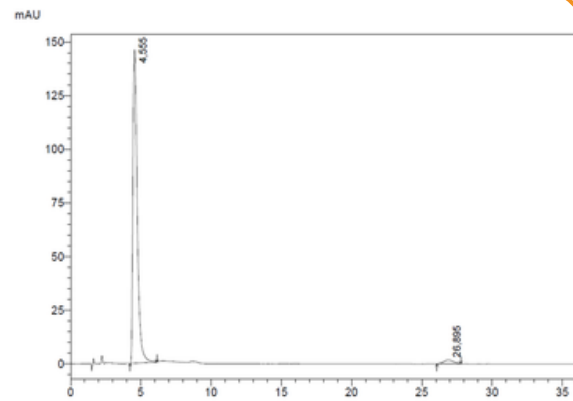


Fig. 2 : Chromatogramme de l'ISN non dégradé (280nm)

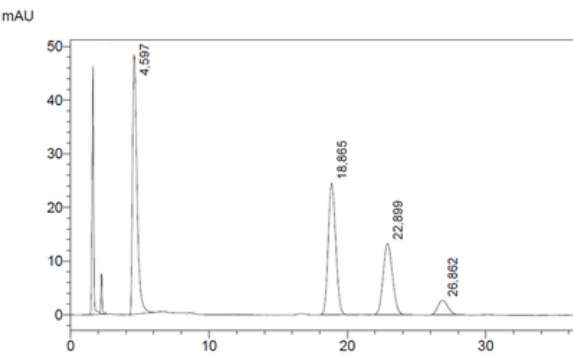
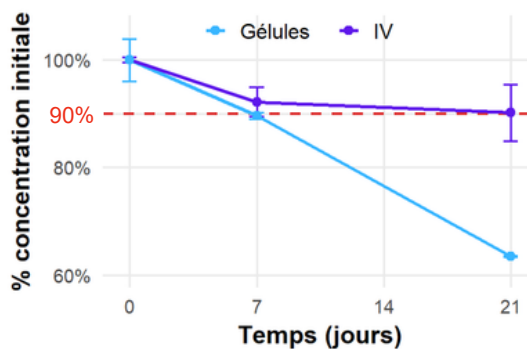


Fig. 3 : Chromatogramme de l'ISN dégradé à 65% dans NaOH (280nm)

Dégradation forcée

	HCl 0,01M	NaOH 0,05M	H ₂ O ₂ 3% + 40°C	UV	40°C	Temp. ambiante
Dégradation (%)	34%	65%	22%	20%	34%	29%
Temps de dégradation	5 min	20 sec	24h	18h	4h	24h
Temps de rétention (Tr) des produits de dégradation (min)	18,9 22,9 26,9	18,9 22,9 26,9	26,9	2,2 26,8	26,9	26,9

Evolution de la teneur en ISN selon la source de PA



Pas de changement visuel de J0 à J21

Evolution du pH selon la source de PA

	J0	J7	J21
IV	2,53	2,63	2,49
Gélules	4,77	4,71	4,66

Pourcentage d'aire relative de chaque produit de dégradation (PD)

	Identification	J0	J7	J21
IV	PD1	0,4%	0,6%	1,1%
	PD2	2,7%	3,5%	4,3%
	PD3	2,4%	3,0%	4,5%
Gélules	PD1	0,8%	3,0%	7,1%
	PD2	4,3%	7,4%	7,9%
	PD3	4,1%	10,9%	24,4%

Discussion & Conclusion

1 La méthode indicatrice de stabilité par HPLC-UV est validée

2 L'étude de stabilité préliminaire montre une faible stabilité en solution buvable même si elle est meilleure pour la formulation réalisée à partir de la forme injectable en raison du milieu plus acide⁽²⁾

(2) Biowaver Monograph for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms: Isavuconazonium Sulfate, 2024, Plano et al.

Perspectives :

- Optimiser la formulation en adaptant le pH pour prolonger la stabilité dans le temps
- Réaliser une étude de stabilité physico-chimique et microbiologique selon les ICH et la Pharmacopée Européenne
- Identifier les produits de dégradation par spectrométrie de masse

A ce jour, il s'agit de la première étude robuste s'intéressant à la stabilité de l'isavuconazonium en solution buvable