



ASSISTANCE PUBLIQUE HÔPITAUX DE PARIS

ETUDE DE LA STABILITE DE LA SOLUTION COMMERCIALE D'IRINOTECAN (CAMPTO®) APRES PRELEVEMENTS REITERES DANS LE MEME FLACON

E. Huet, S. Roy, C. Hochart, A. Bellanger, R. Farinotti, C. Fernandez

Laboratoire d'Analyse du médicament – Unité de Pharmacie Clinique Oncologique - Service de Pharmacie
GH Pitié-Salpêtrière - 47-83 boulevard de l'hôpital, 75 013 Paris FRANCE

INTRODUCTION - OBJECTIFS

L'irinotécan, inhibiteur de la topoisomérase I, est indiqué dans le traitement du cancer colo-rectal localement avancé ou métastatique. La spécialité pharmaceutique CAMPTO®, commercialisée par le laboratoire Pfizer, se présente sous forme prête à l'emploi (20 mg/mL), conditionnée sous azote et disponible en flacons de 40, 100 et 300 mg. Les unités de préparations centralisées, sous responsabilité pharmaceutique, ont dorénavant souvent recours au dosage le plus élevé. Le reliquat, du fait des manipulations en atmosphère stérile, est susceptible d'être utilisé pour une préparation ultérieure. Cependant, aucune donnée sur la conservation de la solution commerciale à 20 mg/mL, après première utilisation du flacon n'a été communiquée par le laboratoire. L'objectif de ce travail est d'étudier la stabilité physico-chimique de la solution de Campto® 20 mg/mL après prélèvements répétés dans le même flacon.

MATERIELS ET METHODES

1- Préparation des dilutions

Un échantillon a été prélevé quotidiennement entre J0 (premier prélèvement pris comme référence) et J8 dans un même flacon de Campto® à 20 mg/mL à l'aide d'une seringue en polypropylène et d'une aiguille. 3 lots différents ont été analysés. Entre chaque prélèvement, les flacons ont été conservés à température ambiante.

Les dilutions ont été réalisées dans une solution de glucose à 5% de manière à obtenir des concentrations finales théoriques de 0.3 et 2 mg/mL.

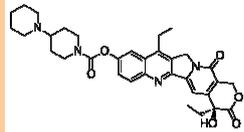


Figure 1: Structure chimique de l'irinotécan

2- Tests de dégradation forcée

L'étude de la dégradation accélérée de l'irinotécan à 20 mg/mL a été réalisée selon les recommandations ICH, dans des conditions extrêmes de pH [basiques (soude, NaOH 9N, (1:1, v/v) et acides (acide chlorhydrique, HCl 9 N)], oxydantes (eau oxygénée 110 vol (1:1, v/v)) et de chaleur (bain marie thermostaté à 60°C pendant une heure).

La concentration de la solution de travail a été choisie afin de s'assurer que même en cas de faible dégradation, les composés issus de ces réactions seraient détectables. Chaque essai de dégradation a été réalisé sur un échantillon de solution d'irinotécan commerciale, sans dilution préalable (20 mg/mL).

3- Equipement et paramètres chromatographiques

- Instrument: Dionex® pompe quaternaire Ultimate, Détecteur RF 2000 Fluorescence
- Colonne: Curosil-PPF, 250x4.6 mm, 5µm
- Phase Mobile: Tampon phosphate pH 6 – acétonitrile (72:28, v/v)
- Volume d'injection: 10 µL
- Débit: 1,0 mL/min
- Longueur d'onde d'excitation: 355 nm
- Longueur d'onde d'émission: 550 nm

4- Validation de la méthode

La méthode analytique a été validée conformément aux recommandations ICH. Nous avons vérifié sa spécificité, sa linéarité, sa fidélité et son exactitude.

Linéarité et fidélité

Trois gammes basses (0.2 à 1.0 mg/mL) et hautes (1.0 à 2.4 mg/L) ont été préparées et analysées sur trois jours différents. Pour chacune des gammes, les mesures ont été réalisées sur cinq niveaux de concentrations. Chaque mesure a été répétée trois fois.

La méthode est dite linéaire si le coefficient de corrélation calculé sur chacun des trois jours est supérieur à 0.99.

Deux niveaux de concentration (0.4 et 0.8 mg/mL pour la gamme basse et 1.4 et 2.0 pour la gamme haute) ont été choisis pour tester la répétabilité (n = 5, même jour) et la reproductibilité (n = 15, trois jours différents). La fidélité de la méthode est jugée satisfaisante si les coefficients de variation (CV) sont inférieurs à 5%.

Exactitude et limite de quantification:

L'exactitude a été calculée sur cinq niveaux de concentrations (1 à 5 mg/mL). La limite de quantification (LQ) a été déterminée par injections successives de concentrations décroissantes d'irinotécan.

RESULTATS

✓ Validation de la méthode

La gamme de concentrations étudiée a été divisée en deux afin d'optimiser la linéarité et la fidélité de la méthode.

Linéarité et fidélité:

Gamme basse: la fonction de réponse a suivi un modèle linéaire jusqu'à 1.0 mg/mL (dernière concentration testée). (r = 0,998).

Gamme haute: la fonction de réponse a suivi un modèle linéaire de 1.0 à 2.4 mg/mL. (r = 0,998).

Les fidélités (répétabilité et reproductibilité) des 2 méthodes (gamme basse et haute) ont été jugées satisfaisantes, avec des coefficients de variation (CV) inférieurs à 5%.

Exactitude et limite de quantification:

L'exactitude calculée sur les 4 derniers niveaux de concentration de la gamme basse et les 5 niveaux de la gamme haute est supérieure à 95%. La limite de quantification (LQ) est estimée à 0,2 mg/mL avec une variabilité inférieure à 5% (CV = 3%).

✓ Dégradation

Les essais de dégradation réalisés en milieu acide, alcalin ont montré une dégradation partielle de l'irinotécan en un composé de temps de rétention de 12.0 minutes (Figure 2). A 60°C, la kétamine est également dégradée partiellement en un composé au temps de rétention de 3.6 minutes. Ces produits de dégradation sont déjà présents à J0 mais à des concentrations moindres. L'analyse des spectres PDA montre que les produits de dégradation n'interfèrent pas avec le pic d'irinotécan.

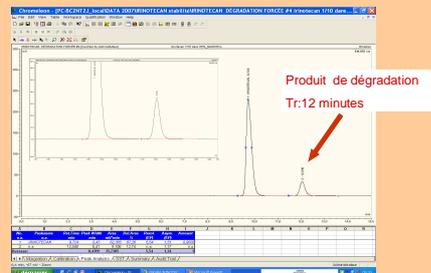


Figure 2: Dégradation forcée de l'irinotécan dans des conditions de pH basique

✓ Stabilité

Après 8 jours de stockage à température ambiante, dans le flacon d'origine et malgré des prélèvements répétés, la solution de CAMPTO® est restée physico-chimiquement stable: les concentrations mesurées ont en effet été supérieures à 99.2% de la concentration initiale

CONCLUSION

Les résultats de nos essais ont montré que la solution prête à l'emploi d'irinotécan (CAMPTO®) peut être conservée à température ambiante dans son flacon d'origine pendant 8 jours après la première utilisation, sans risque de dégradation physico-chimique du principe actif. En pratique courante, cette durée de stabilité excède largement la durée de conservation du flacon entamé.

References

- Weekes J and al., Irinotecan therapy and molecular targets in colorectal cancer: a systemic review *World J Gastroenterol* 2009; 15: 3597-602.
- Friedman HS and al., Bevacizumab alone and in combination with irinotecan in recurrent glioblastoma. *J Clin Oncol* 2009; 27: 4733-40.
- ICH. Text on validation of analytical procedures: methodology. ICH Harmonised Tripartite Guideline. « Q2A: Validation of Analytical Procedures » 1996;4:1-8.
- ICH. Text on validation of analytical procedures: methodology. ICH Harmonised Tripartite Guideline. « Q2B: Validation of Analytical Procedures: Methodology » 1996;4:1-8.
- ICH. Text on validation of analytical procedures: methodology. ICH Harmonised Tripartite Guideline. « Q1C: Stability Testing For New Dosage Forms » 1996;4:1-8.



Mandelieu, 15, 16 Octobre 2009
Poster 3