

INTRODUCTION

L'azacitidine (Vidaza®) ou **AzaC** est indiquée dans différentes hémopathies malignes. Elle se présente sous la forme d'une poudre à diluer pour suspension injectable. La suspension obtenue est stable 22h entre +2 et +8°C dans de l'eau PPI conservée au réfrigérateur. Le schéma thérapeutique préconise une administration durant 7 jours consécutifs ce qui contraint actuellement à reconstituer le produit en dehors des jours ouvrables. L'objectif de ce travail est d'évaluer la stabilité de l'AzaC et l'apparition de 2 composés de dégradation (N-formylguanylrribosylurée ou **RGU-CHO** et guanylrribosylurée ou **RGU**) dans la suspension conservée entre +2 et +8°C pendant 72 heures.

MATERIELS ET METHODES

Préparation des échantillons et conservation : L'AzaC est reconstituée sous hotte à flux laminaire avec de l'eau PPI à +4°C (concentration finale 25 mg/mL). La suspension obtenue est répartie en 11 seringues de 2 mL conservées entre +2 et +8 °C à l'abri de la lumière. Trois analyses sont réalisées sur chacune des 11 seringues issues de la même préparation et d'un même lot d'AzaC à différents temps (T0, T+1h, T+2h, T+3h, T+4h, T+6h, T+8h, T+12h, T+24h, T+48h, T+72h). Chaque prise d'essai est diluée extemporanément à la concentration de 10 µg/mL dans de l'eau PPI (+4°C) à la sortie du réfrigérateur, pour permettre l'analyse par HPLC/UV.

Méthode de dosage : Les échantillons sont analysés par HPLC/UV

- Détection : 210 nm pour le RGU et 240 nm pour l'AzaC et le RGU-CHO
- Colonne : phase inverse C18, 3 µm, 4,6 x 150 mm (Prontosil®)
- Phase mobile : gradient tampon phosphate 10 mM pH 6,5/Acétonitrile
- Débit : 1 mL/minute
- Volume d'injection : 20 µL
- Durée de l'analyse : 10 minutes, séparation des trois composés en 7 minutes

Validation de la méthode chromatographique :

- Solution mère d'AzaC (25 mg/mL)
- Zone de linéarité : 6-14 µg/mL
- Contrôles qualités : 7, 11 et 13 µg/mL
- Validation selon les normes ICH

RESULTATS

• Nous présentons pour l'AzaC, le RGU et le RGU-CHO, les résultats selon l'évolution sur 72 heures des rapports des AUC de chaque composé sur la somme des AUC des 3 composés

• Une dégradation de l'AzaC de 9,1% est observée dès T0, de 12,8% à T+24h, de 13,1% à T+48h et de 15,8% à T+72h.

• La cinétique de dégradation de l'AzaC se fait en deux temps : le RGU-CHO est le premier formé des métabolites (de 7,7 à 10,9% dans les 72 premières heures), la formation du RGU est plus tardive (de 1,4% à 4,9%).

• Le processus de dégradation observé est lent dans les premières 48h, puis s'accélère.

Jours	Variabilité intra-journalière			Variabilité inter-journalière		
	Contrôle qualité (n=6)	Exactitude	Précision (CV %)	Contrôle qualité (n=18)	Exactitude	Précision (CV%)
Jour 1	7 µg/ml	102.00	0.46			
	11 µg/ml	101.27	0.43			
	13 µg/ml	101.04	0.45			
Jour 2	7 µg/ml	99.12	0.25	7 µg/ml	100.06	1.46
	11 µg/ml	99.35	0.28	11 µg/ml	100.41	1.11
	13 µg/ml	98.76	0.14	13 µg/ml	99.96	1.11
Jour 3	7 µg/ml	99.07	0.52			
	11 µg/ml	100.61	1.28			
	13 µg/ml	100.22	1.04			

Tableau 1 : Critères de validation analytique intra et inter journalières selon les conditions définies par les normes ICH

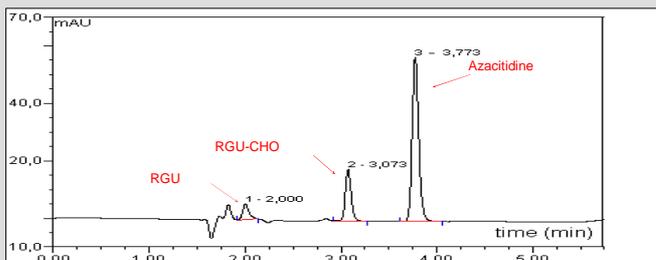


Figure 1 : Chromatogramme obtenu après dégradation forcée à température ambiante (48 heures) de la suspension d'AzaC à 25mg/mL

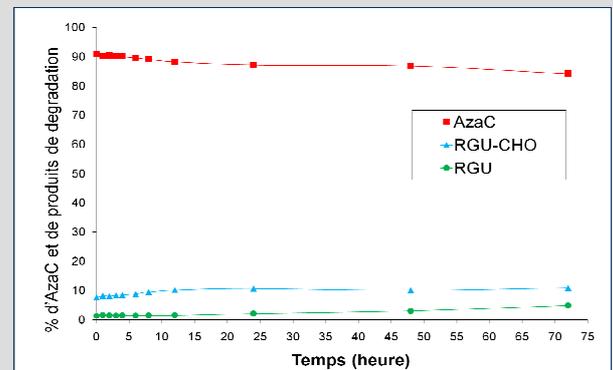


Figure 2 : Evolution de la suspension d'AzaC à 25mg/mL après préparation et conservation entre 2 et 8°C sur 72 heures

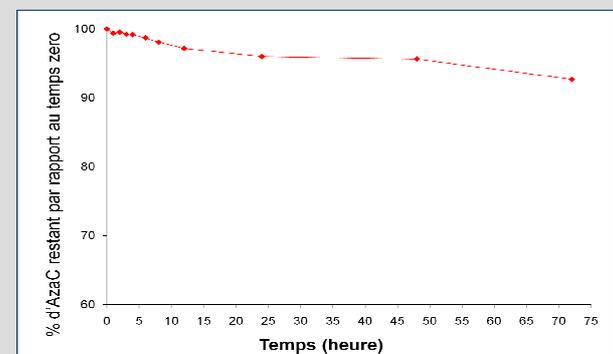


Figure 3 : Pourcentage d'AzaC restant par rapport au temps zéro dans la suspension d'AzaC à 25 mg/mL après préparation et conservation entre 2 et 8°C

DISCUSSION ET CONCLUSION

L'augmentation du pourcentage de dégradation de l'AzaC (4%) et l'augmentation des produits de dégradations (2,4% et 1,6%) dans les 48 premières heures, témoignent de la stabilité de la suspension conservée entre +2 et +8°C au regard de la norme ICH Q1A (<5%). Ces résultats préliminaires sont encourageants car ils offrent par rapport à la congélation/décongélation une alternative de stockage simple et adaptée à la pratique clinique. Cette stabilité de 48h, à confirmer par des études de granulométrie, autorise la préparation des traitements à l'avance pour les administrations en dehors des jours ouvrables.