

Préta L-H.¹, Henry H.^{1,2}, Masse M.^{1,2}, Carta N.¹, Kouach M.¹, Foulon C.¹, Goossens J-F.¹, Barthélémy C.¹, Lannoy D.^{1,2}, Genay S.^{1,2}, Décaudin B.^{1,2}, Odou P.^{1,2}

¹ EA 7365 - GRITA - Groupe de Recherche sur les formes Injectables et les Technologies Associées, Faculté de Pharmacie, Université de Lille, Lille, France

² CHU Lille, Institut de Pharmacie, Lille, France

CONTEXTE

A l'hôpital, les médicaments pour perfusion sont majoritairement dilués dans une solution salée isotonique (SSI). Ils peuvent également être dilués dans une solution glucosée isotonique (SGI) pour répondre aux contraintes spécifiques des services de pédiatrie et de néonatalogie. C'est le cas de l'insuline asparte.

OBJECTIF

Évaluer l'impact du choix du diluant sur la stabilité de l'insuline asparte à 1 UI/mL.

MÉTHODE

La spécialité commerciale composée d'insuline asparte et de deux conservateurs (phénol et métacrésol) a été diluée dans du SSI et dans du SGI à la concentration de 1 UI/mL.

- **Étude en CLHP-UV selon une méthode indicatrice de stabilité (Tableau 1) de :**
 - l'impact du diluant (nature, pH) sur la stabilité de l'insuline asparte
 - la dégradation forcée (acide, basique, température et oxydation)
 - la cinétique d'apparition d'un éventuel nouveau composé par évaluation relative des signaux (n=4) sur 24h
- **Étude en CLHP-SM en mode full scan (Tableau 2) de :**
 - la formation potentielle d'un nouveau composé dans les différents diluants

Appareillage : Agilent 1260 Infinity, Agilent Technologies®	
Paramètres	Conditions
Phase stationnaire	C18 ; 2,6 µm, 100 x 2,1 mm
Phase mobile	Eau ultrapure / Acétonitrile / sulfate de sodium / acide orthophosphorique 85% (77 / 21 / 1,8 / 0,2 ; m/m)
Débit phase mobile	0,3 mL/min
Température colonne	25°C
Volume d'injection	100 µL
Longueur d'onde	214 nm

Tableau 1 : Conditions CLHP-UV

Appareillage : CLHP : UFLC-XR, Shimadzu® - MS : API QTrap 5500, AB Sciex®	
Paramètres	Conditions
Phase stationnaire	C18 ; 5 µm, 100 x 2,1 mm
Phase mobile	Eau ultrapure / Acétonitrile (80/20 ; v/v) et 0,1% d'acide formique
Débit phase mobile	0,4 mL/min
Source ionisation	Electrospray ionisation positive
Volume d'injection	10 µL

Tableau 2 : Conditions CLHP-SM

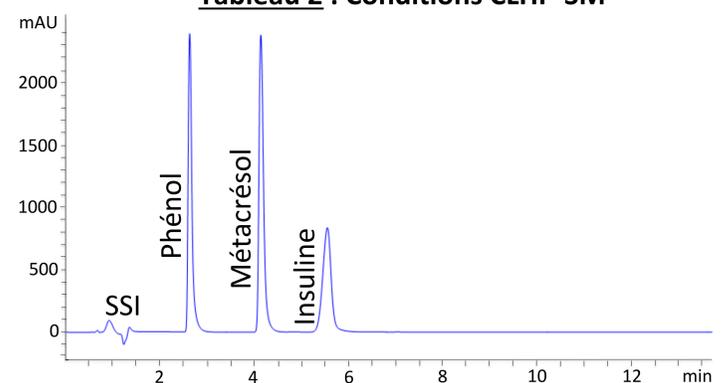


Figure 1 : Insuline 1 UI/mL dans du SSI

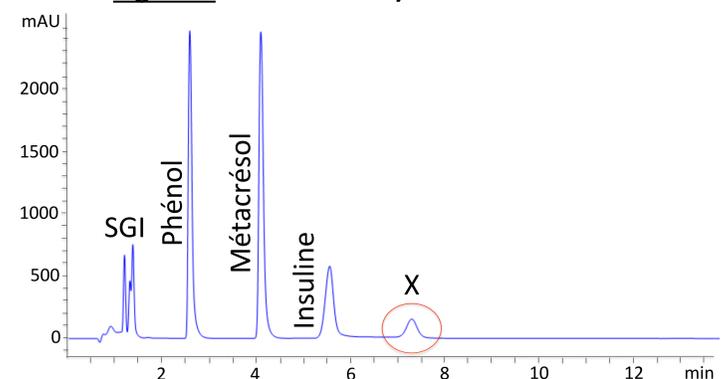


Figure 2 : Insuline 1 UI/mL dans du SGI

RÉSULTATS

- Dans le SSI on constate 3 signaux en CLHP-UV (**Figure 1**).
- Après dilution de la spécialité commerciale dans du SGI, on constate l'apparition d'un quatrième signal (**Figure 2**).
- Les essais d'influence du pH et de dégradation forcée n'ont pas permis d'attribuer ce signal à une dégradation de l'insuline.
- L'analyse par CLHP-SM a permis de mettre en évidence une différence de masse entre l'insuline et le produit formé de **162 Da**, soit la masse d'une molécule de glucose ayant perdu une molécule d'eau par liaison à l'insuline (phénomène de **glycation**).
- Enfin, la cinétique sur 24 heures montre que le phénomène de glycation de l'insuline semble augmenter avec le temps de contact entre l'insuline et le glucose (**Figure 3**).

DISCUSSION - CONCLUSION

Ainsi, la dilution de l'insuline asparte dans le SGI entraîne une glycation de l'insuline. Afin de mieux caractériser ce phénomène, l'identification du site de glycation de l'insuline asparte devra être effectuée. L'effet biologique de la glycation sur l'insuline asparte sera également à évaluer.

Bibliographie :

- Poulsen & al. , 2008 , *Pharmaceutical Research*
- O'Harte & al. , 1996 , *Peptides*
- Hunter & al. , 2003 , *Diabetes*

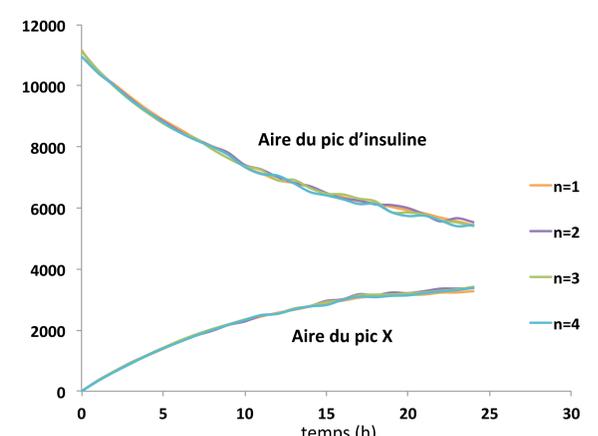


Figure 3 : Evolution des aires du pic insuline et du pic X au cours du temps sur 24 h