

2nd International Infusion Symposium on infusion technologies



LE PHÉNOMÈNE DE GLYCATION EST-IL PRÉSENT CHEZ UN ANALOGUE DE L'INSULINE ?

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

Organizers:



1

2nd International Infusion Symposium on infusion technologies
5th - 6th July 2018

2nd International Infusion Symposium on infusion technologies

CONTEXTE

- Médicaments pour perfusion : majoritairement dilués dans une solution salée isotonique (SSI)
- Services de pédiatrie et néonatalogie : contraintes spécifiques → dilution dans une solution glucosée isotonique (SGI)
→ 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

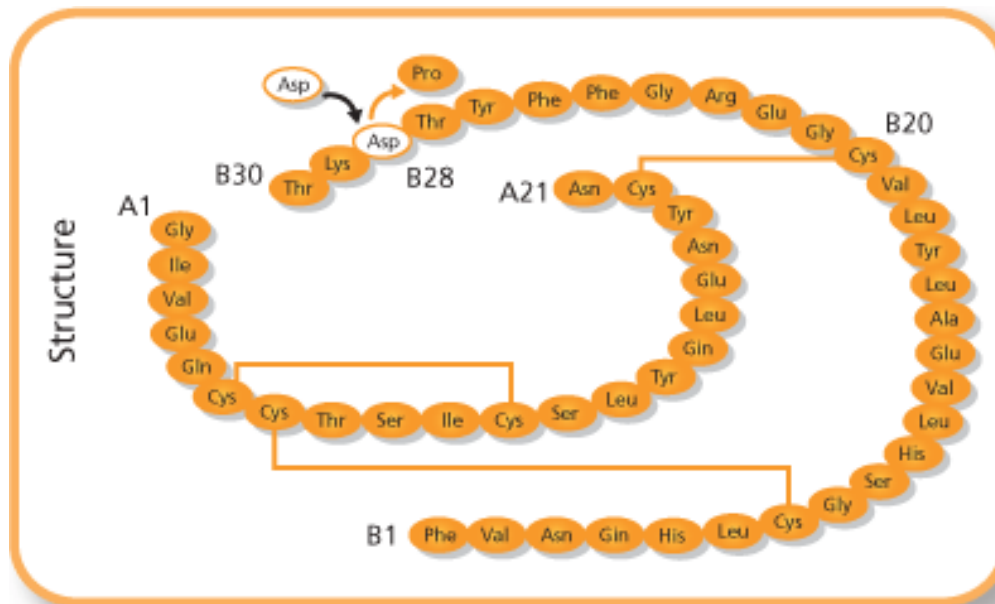
Organizers:



2nd International Infusion Symposium on infusion technologies

MÉTHODE (1)

- Spécialité commerciale Novorapid® : flacon de solution injectable d'insuline asparte 100 UI/mL



- 2 conservateurs : Phénol & Métacrésol

Organizers:

2nd International Infusion Symposium on infusion technologies

MÉTHODE (2)

- CLHP-UV

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

- Solutions à 1 UI/mL : spécialité diluée dans du SSI et dans du SGI
- Cinétique d'apparition d'un éventuel composé par évaluation relative des signaux toutes les heures pendant 24h (n= 4)
- Tests de dégradation forcée (acide, basique, température et oxydation)
- Tests de pH : dilution de la spécialité dans du SSI et de l'Eppi acidifiés par HCl au pH du SGI

Organizers:

2nd International Infusion Symposium on infusion technologies

MÉTHODE (3)

- CLHP-SM :

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

- Analyse en mode full scan en mode positif
- Solution commerciale diluée dans Eppi et SGI à 1 UI/mL

Organizers:

2nd International Infusion Symposium on infusion technologies

RÉSULTATS (1)

- CLHP-UV

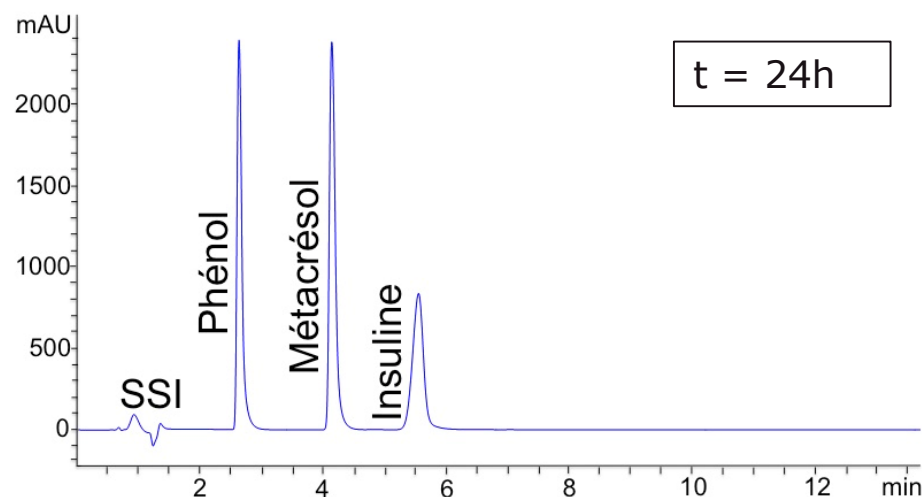


Figure 1 : Insuline 1 UI/mL dans du SSI

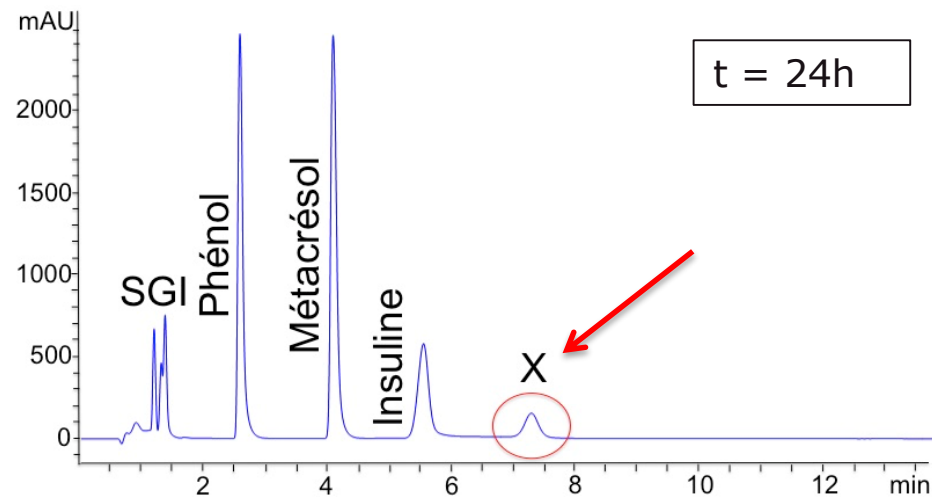


Figure 2 : Insuline 1 UI/mL dans du SGI

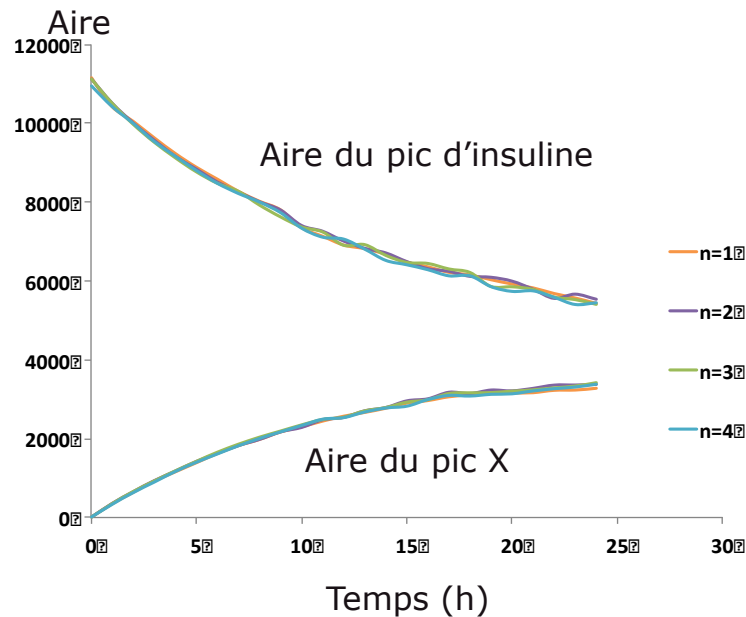
- Insuline asparte diluée dans le SGI : apparition d'un pic
- Hypothèse : Formation d'un nouveau composé quand l'insuline est diluée dans du SGI ?

Organizers:

2nd International Infusion Symposium on infusion technologies

RÉSULTATS (2)

- Dilution insuline asparte dans SGI
- Evaluation cinétique apparition du produit X par CLHP-UV toutes les heures pendant 24h (n= 4)

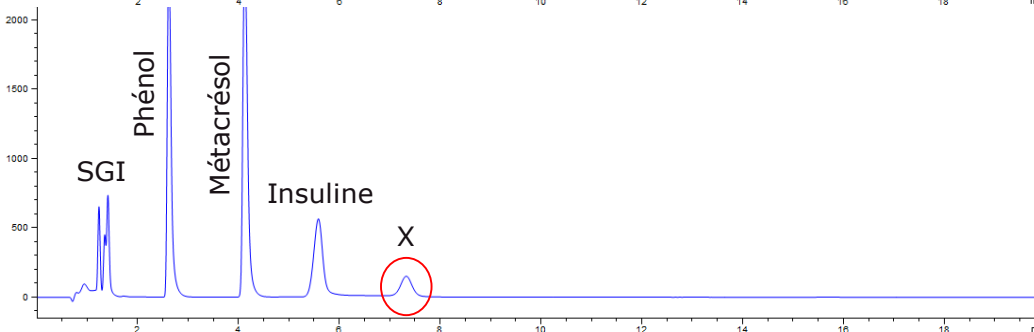
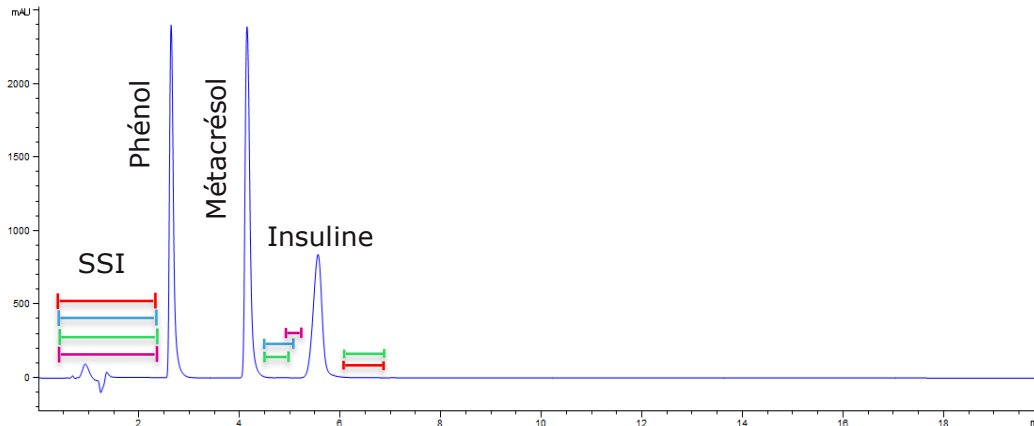


Organizers:

2nd International Infusion Symposium on infusion technologies

RÉSULTATS (3)

- Dégradations forcées : effectuées par une méthode indicatrice de stabilité validée selon le guide SFPC – GERPAC



PDD issus de la dégradation :

- Acide
- Basique
- Thermique
- Oxydative

→ Aucun PDD ne correspond à X

Organizers:

2nd International Infusion Symposium on infusion technologies

RÉSULTATS (4)

pH moyen SSI : $5,87 \pm 0,15$ (n=5)

pH moyen SGI : $3,93 \pm 0,09$ (n=5)

Point isoélectrique insuline asparte (Merck Index) : 5,30-5,35

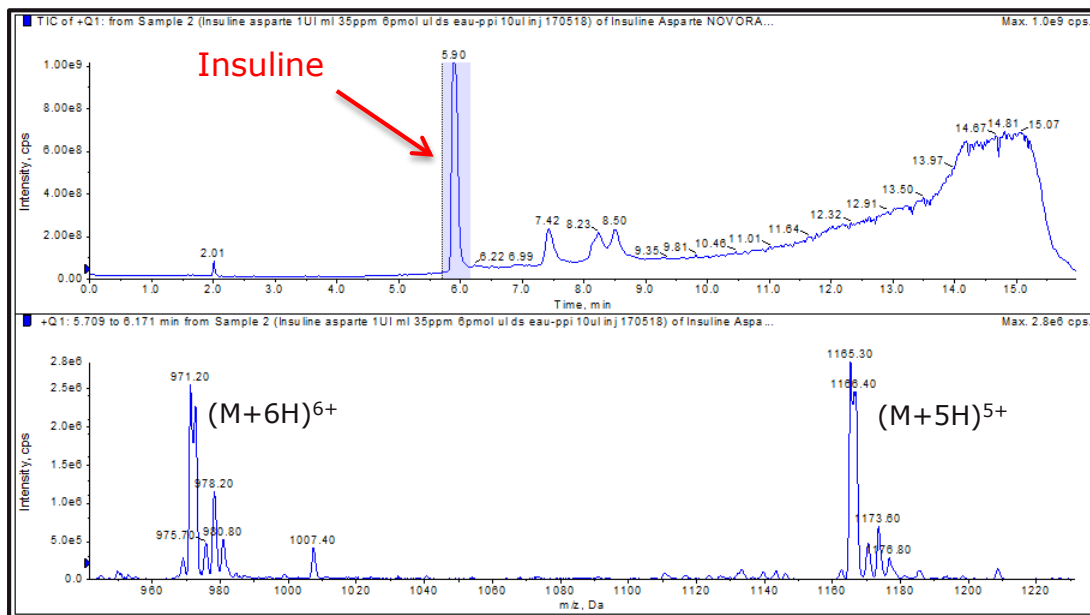
- Dilution de la spécialité dans du SSI et de l'Eppi acidifiés au pH du SGI
- Pas d'apparition du pic X

→ Apparition du pic X ne semble pas liée au pH acide de la solution de SGI

2nd International Infusion Symposium on infusion technologies

RÉSULTATS (5)

- CLHP-SM
A- Insuline dans l'Eppi



→ On obtient 1 signal
correspondant à 2 ions
multichargés

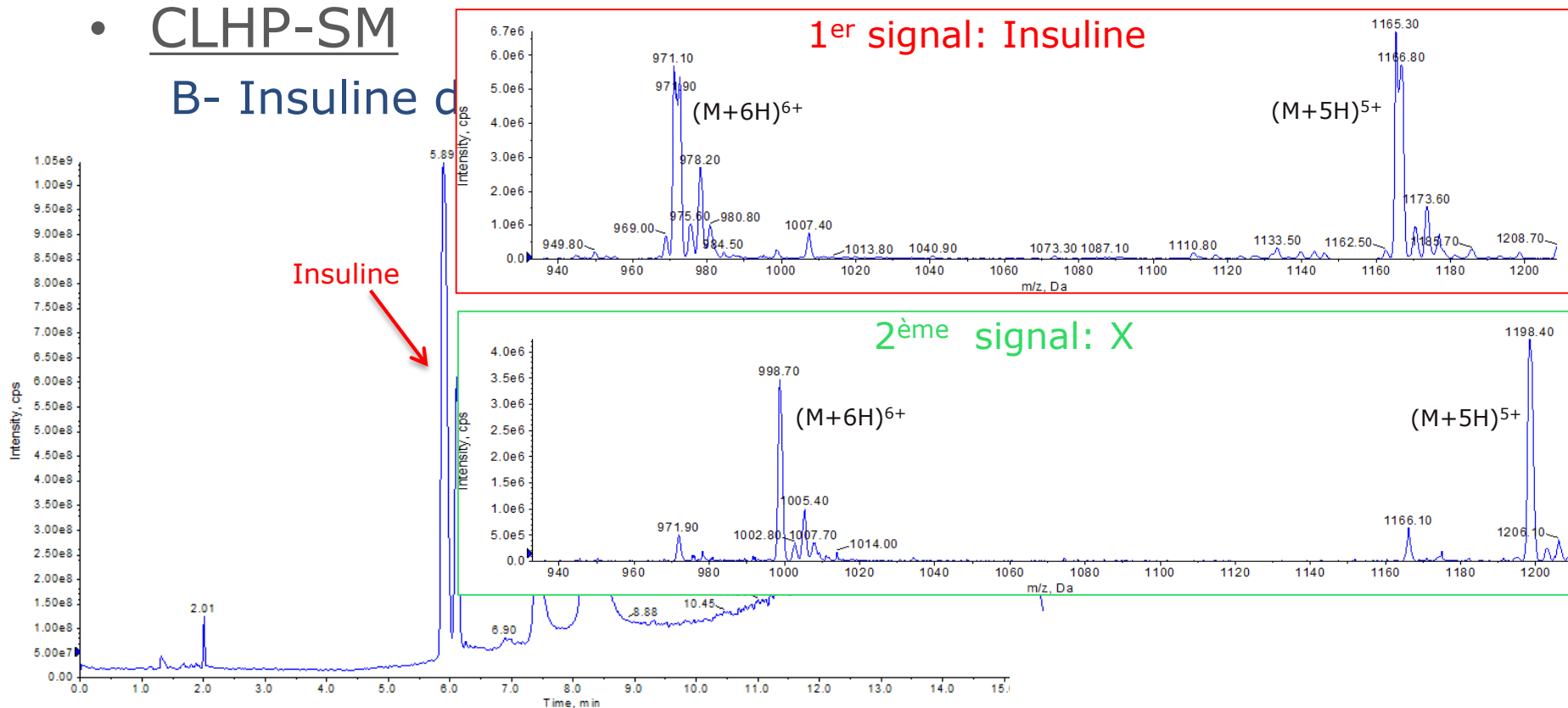
On obtient :
M= 5824,05 Da

2nd International Infusion Symposium on infusion technologies

RÉSULTATS (6)

- CLHP-SM

B- Insuline d



Si on fait la différence entre les 2 pics : $5986,60 - 5824,05 = 162,55$ Da

→ **GLYCATION**

Organizers:



2nd International Infusion Symposium on infusion technologies

DISCUSSION - CONCLUSION

CONCLUSION :

- Dilution de l'insuline aspartate dans le SGI → glycation

PERSPECTIVES :

- Confirmer que pic X est de l'insuline glyquée
- Identification du site de glycation
- Effet biologique à évaluer

Bibliographie :

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

Organizers:

2nd International Infusion Symposium on infusion technologies

Merci pour votre attention

Merci à toute l'équipe de recherche GRITA

Organizers:



13

2nd International Infusion Symposium on infusion technologies
5th - 6th July 2018

2nd INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON INFUSION TECHNOLOGIES

avec le soutien de
l'Université de Lille

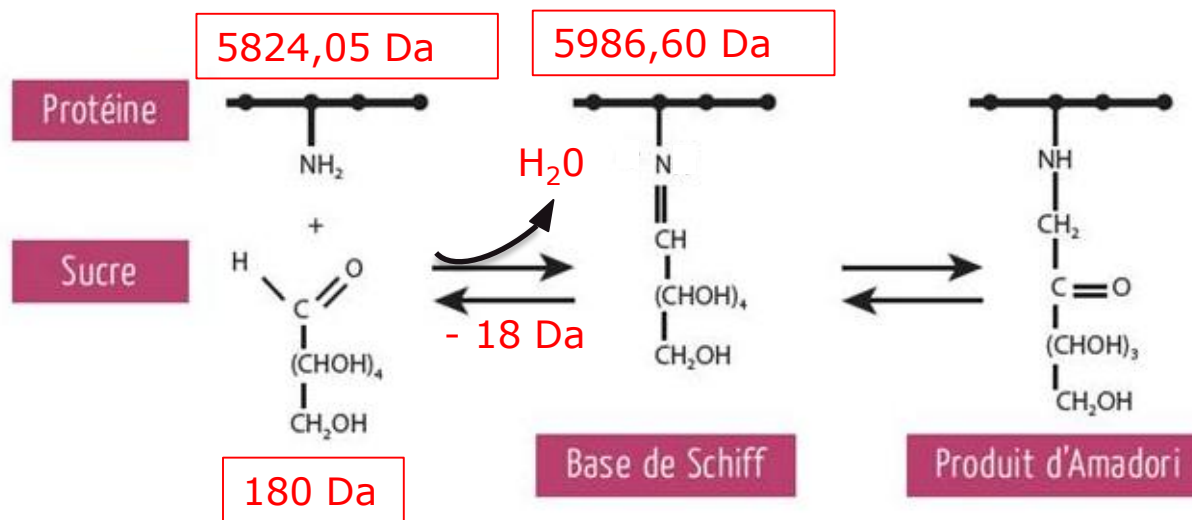


5 & 6 Juillet 2018
Lille, France

Faculté de Pharmacie - Université de Lille
3, rue du Pr. Laguesse - 59000 Lille

2nd International Infusion Symposium on infusion technologies

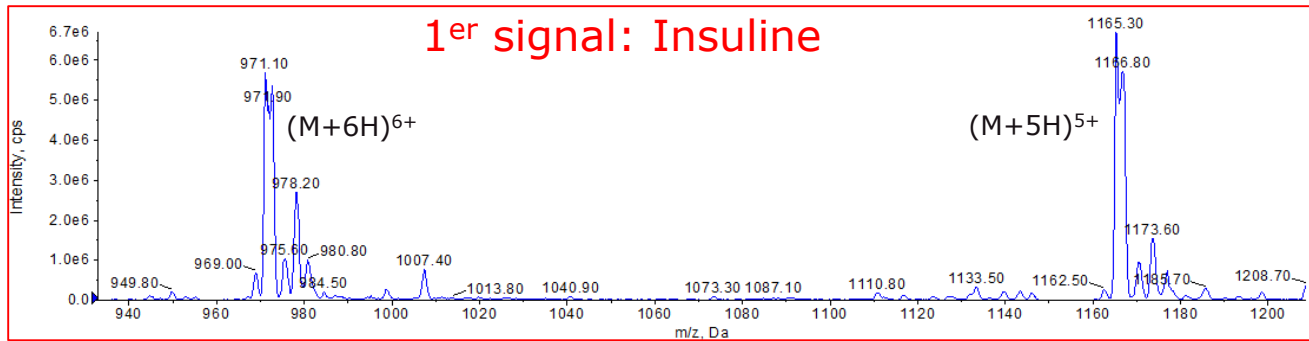
La réaction de glycation



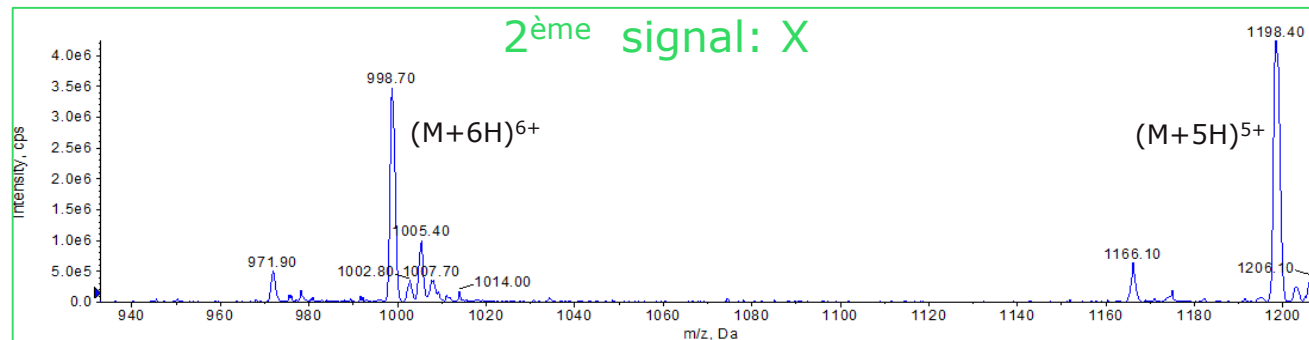
Organizers:

2nd International Infusion Symposium on infusion technologies

RÉSULTATS (7)



→ Correspond aux pics d'insuline dans l'Eppi



→ m/z différents de ceux du premier pic :
998,70 Da et
1198,40 Da
On obtient :
M = 5986,6 Da

Si on fait la différence entre les 2 pics : $5986,60 - 5824,05 = 162,55$ Da
→ **GLYCATION**

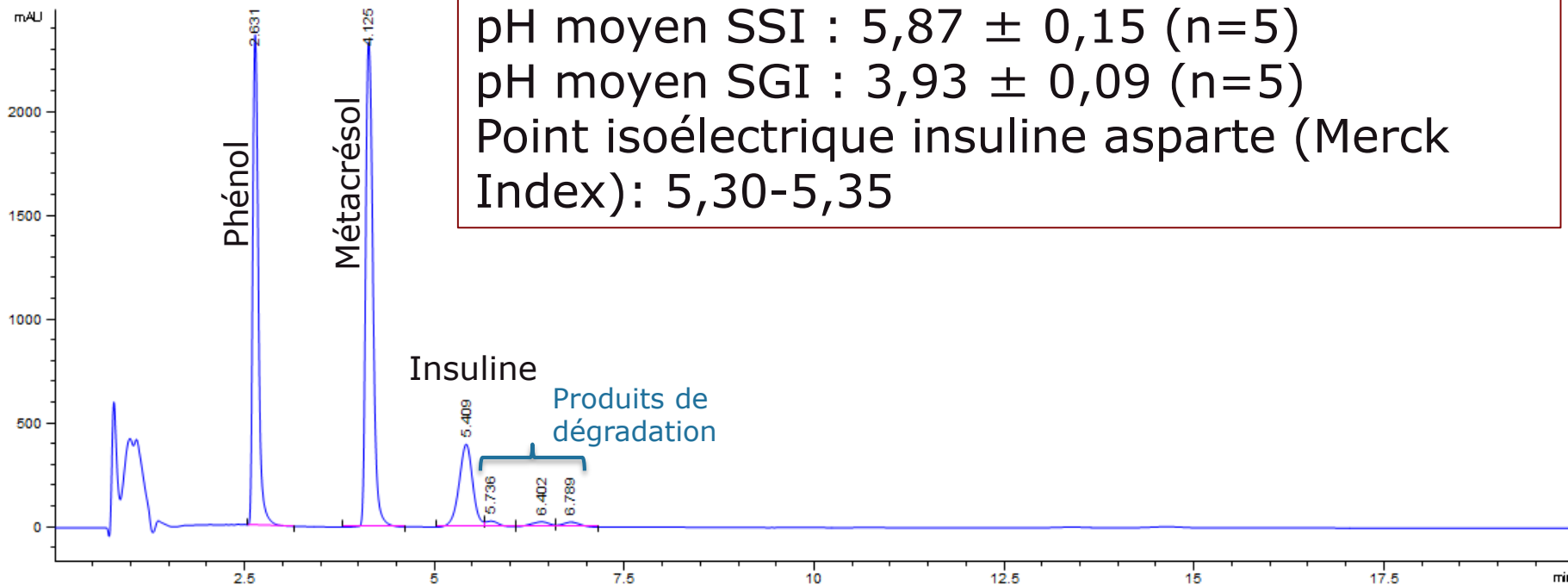
Organizers:

2nd International Infusion Symposium on infusion technologies

RÉSULTATS (3)

- Dégradation forcée acide : HCl 10 M – 1h

pH moyen SSI : $5,87 \pm 0,15$ (n=5)
pH moyen SGI : $3,93 \pm 0,09$ (n=5)
Point isoélectrique insuline asparte (Merck Index): 5,30-5,35



Organizers: