

ORIGINAL

Desarrollo y validación de un método para la determinación de darunavir en plasma mediante LC-MS/MS[☆]

Sonia Pajares García*, David Guillén Tunica y Mercè Brunet Serra

Laboratorio de Farmacología y Toxicología, Servicio de Bioquímica y Genética Molecular, Hospital Clínic y Provincial de Barcelona, IDIBAPS, Universidad de Barcelona, Barcelona, España

Recibido el 31 de mayo de 2010; aceptado el 13 de diciembre de 2010
Disponible en Internet el 4 de mayo de 2011

PALABRAS CLAVE

Darunavir;
Inhibidor de
proteasa;
Tratamiento
antirretroviral;
Monitorización
farmacocinética;
LC/MS/MS

Resumen

Introducción: Darunavir es uno de los fármacos inhibidores de la proteasa de última generación utilizado para el tratamiento de la inmunodeficiencia adquirida por VIH debido a su destacada eficacia terapéutica y su mejor tolerancia, entre otras peculiaridades. Varios estudios demuestran una correlación entre la dosis y el efecto de darunavir, aunque todavía no se ha establecido un intervalo terapéutico para las concentraciones del fármaco. Estos factores junto con una elevada variabilidad farmacocinética interindividual además de interacciones farmacológicas con otros fármacos, refuerzan la idea de la importancia de disponer de un método sensible para la monitorización de sus concentraciones plasmáticas en pacientes tratados.

Objetivos: Validación técnica de un método para la determinación de las concentraciones plasmáticas de darunavir mediante LC/MS/MS.

Materiales y métodos: El proceso de validación se desarrolló según el procedimiento descrito en la guía ICH Topic Q2B *Validation of Analytical Procedures: Methodology (CPMP/ICH/281/95)*. El darunavir se extrae del plasma mediante una precipitación de proteínas. La separación cromatográfica se consiguió utilizando una columna X-Bridge™ C18 3,5 μm 2,1 × 100 mm (Waters®) con un programa de elución en gradiente de acetonitrilo y tampón. Para la detección de los analitos, se utilizó un espectrómetro de masas de triple cuadrupolo *Quattro micro* con electrospray en modo de ionización positivo.

Resultados: Linealidad (0,1-10 μg/mL): $y = 18,85x - 150,4$ $r^2 = 0,997$. Precisión: CV intraensayo: 1,07-4,62%. CV interensayo: 2,72-4,70%. Exactitud: intra-ensayo: 1-9%; inter-ensayo: 2-7%; LD: 0,05 μg/mL; LQ: 0,15 μg/mL.

Conclusiones: Este método desarrollado basado en LC/MS/MS, posee una adecuada sensibilidad y reproducibilidad para la determinación de darunavir en plasma de pacientes tratados.

© 2010 AEBM, AEFA y SEQC. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

[☆] Este trabajo corresponde a una comunicación científica presentada y premiada en el III Congreso Nacional del Laboratorio Clínico celebrado en Valencia del 14 al 16 de octubre de 2009.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: spajares@clinic.ub.es (S. Pajares García).

KEYWORDS

Darunavir;
Protease inhibitor;
Antiretroviral
treatment;
HIV;
Pharmacokinetics
monitoring;
LC/MS/MS

Development and assessment of a method for the determination of darunavir in plasma by LC-MS/MS

Abstract

Introduction: Darunavir is a latest generation of protease inhibitors (PI) drugs used as a treatment of HIV infection owing to its improved efficacy and its better tolerance among other characteristics. Several studies have demonstrated a correlation between the dose and the effect of darunavir, although a therapeutic range for the drug concentrations has not yet been established. These factors, besides the high inter-individual variability and the adverse effects resulting from drug interactions, reinforce the need for having a sensitive method for monitoring its plasma concentrations in treated patients.

Objective: Technical validation of a new method for darunavir plasma concentration monitoring by LC/MS/MS.

Materials and methods: The method validation procedure was based on the recommendations published in the guidelines *ICH Topic Q 2B Validation of Analytical Procedures: Methodology (CPMP/ICH/281/95)*. Darunavir was extracted from plasma samples by a protein precipitation procedure. The chromatographic separation was achieved with a gradient program (acetonitrile/buffer) on an X-Bridge™ C18 3.5 μm 2.1×100 mm (Waters®). Analytes quantification is performed by electrospray ionization in positive mode, a Quattro Micro triple quadrupole mass spectrometer.

Results: Linearity (0.1-10 μg/mL): $y = 18.85x - 150.4$ $r^2 = 0.997$. Precision: Intra-assay CV: 1.07-4.62%. Inter-assay CV: 2.72-4.70%. Accuracy: Intra-assay: 1-9%. Inter-assay: 2-7%. LOD: 0.05 μg/mL, LLOQ: 0.15 μg/mL.

Conclusion: The developed method based on LC/MS/MS has an adequate sensibility and reproducibility for the determination of plasma concentrations of darunavir in treated patients.

© 2010 AEBM, AEFA y SEQC. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introducción

El tratamiento de la enfermedad producida por el VIH se fundamenta en una terapia combinada de varios fármacos antiretrovirales incluyendo generalmente dos análogos nucleosídicos de la transcriptasa inversa (INRT), junto con un inhibidor de la proteasa (IP) o un inhibidor no nucleosídico de la transcriptasa inversa (INNRT). En los últimos años se han desarrollado nuevas opciones terapéuticas que aportan una mayor eficacia y tolerancia y sobretodo con especial interés en el desarrollo de tratamientos dirigidos a pacientes que han tenido experiencia previa con tratamientos antiretrovirales y que han presentado resistencia a estos fármacos¹.

Darunavir (DRV) es uno de los nuevos inhibidores de proteasa de última generación con potente actividad frente a diferentes cepas virales del VIH resistentes a otros IP. Darunavir recibe el nombre comercial de Prezista® y es utilizado en combinación con otros fármacos antiretrovirales en pacientes con experiencia previa de tratamientos antiretrovirales y en pacientes "naïve".

Actividad antiviral

Darunavir presenta en su estructura molecular un grupo 3(R), 3a(S), 6a(R)-bistetrahidrofuraniluretanaisómero (fig. 1). Este grupo favorece la formación de fuertes enlaces de tipo puentes de hidrógeno con el centro activo de la proteasa. Este tipo de unión representa una asociación rápida con la enzima y también una disociación lenta

teniendo como consecuencia una mayor eficacia y duración de acción contra la proteasa viral. La K_d (indicadora de la afinidad o fuerza de unión del enzima al sustrato) del darunavir es de $K_d 4,5 \times 10^{-12}$ mol/L, 100 veces superior al amprenavir ($K_d 3,9 \times 10^{-10}$ mol/L), otro fármaco inhibidor de la proteasa, el cual presenta una estructura química similar al darunavir^{2,3}.

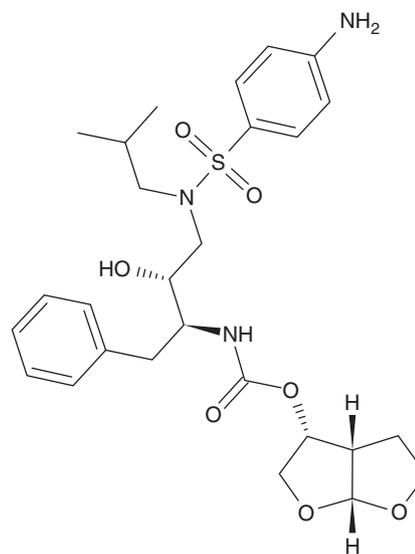


Figura 1 Estructura molecular de darunavir (presenta un grupo 3(R), 3a(S), 6a(R)-bistetrahidrofuraniluretanaisómero).

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/2578275>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/2578275>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)