

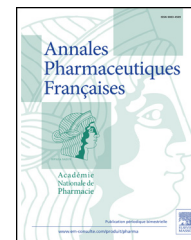


Disponible en ligne sur

ScienceDirect
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France

EM|consulte
www.em-consulte.com



ORIGINAL ARTICLE

UPLC-MS/MS method for determination of sofosbuvir in human plasma



UPLC-MS/MS, méthode de détermination du sofosbuvir dans le plasma humain

B.M. Gandhi^a, A.L. Rao^{b,*}, J.V. Rao^c

^a Department of Pharmaceutical Analysis, Sri Vasavi Institute of Pharmaceutical Sciences, Tadepalligudem, AP, India

^b Department of Pharmaceutical Analysis, V. V. Institute of Pharmaceutical Sciences, Gudlavalleru, AP, India

^c Department of Pharmaceutical Analysis, St. Paul's College of Pharmacy, Turkayamjal, Hyderabad, TS, India

Received 27 December 2016; accepted 5 April 2017

Available online 8 May 2017

KEYWORDS

Sofosbuvir;
UPLC-MS/MS;
Method validation;
Human plasma;
Stability studies

Summary

Introduction. — A sensitive and rapid method for quantitation of Sofosbuvir in human plasma has been established using ultra performance liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry (UPLC-ESI-MS/MS).

Materials and methods. — Sofosbuvir d3 was used as an internal standard. Sofosbuvir and internal standard in plasma sample were extracted using ethyl acetate (liquid liquid extraction). A centrifuged upper layer was then evaporated and reconstituted with the mobile phase of 0.5% formic acid: methanol (30:70, v/v). The reconstituted samples were injected into a Gemini C18 (50 × 4.6 mm, 5 μm) column.

Results. — Using MS/MS in the multiple reaction monitoring mode, Sofosbuvir and Sofosbuvir d3 were detected without severe interferences from human plasma matrix. Sofosbuvir produced a protonated precursor ion ($[M+H]^+$) at m/z 428.35 and a corresponding product ion at m/z 279.26. The internal standard produced a protonated precursor ion ($[M+H]^+$) at m/z 431.38 and a corresponding product ion at m/z 282.37. The calibration curves for the analyte was linear ($R^2 \geq 0.9956$, $n = 4$) over the concentration range of 4.063–8000.010 ng/mL. Stability studies revealed that Sofosbuvir was stable in plasma during bench top (7 h at room temperature), in injector (20 h), at the end of five successive freeze and thaw cycles and long term at $-70^\circ\text{C} \pm 15^\circ\text{C}$ for 15 days.

* Auteur correspondant.

E-mail address: dralrao@gmail.com (A.L. Rao).

MOTS CLÉS

Sofosbuvir ;
UPLC-MS/MS ;
La validation de
méthode ;
Plasma humain ;
Études de stabilité

Conclusion. — The developed method was validated as per the guidelines of USFDA and the obtained results were found to be within the limits and could be successfully employed for the determination of Sofosbuvir in human plasma for regular and pharmacokinetic studies.

© 2017 Académie Nationale de Pharmacie. Published by Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

Résumé

Introduction. — Une méthode sensible et rapide pour la quantification du Sofosbuvir dans le plasma humain a été établie en utilisant une chromatographie en phase liquide à ultra performance, par spectrométrie de masse en tandem par ionisation par électrospray (UPLC-ESI-MS/MS).

Matériels et méthodes. — Sofosbuvir d3 a été utilisé comme standard interne. Sofosbuvir et standard interne dans les échantillons plasmatiques ont été extraits à l'aide d'acétate d'éthyle (extraction liquide-liquide). Une couche supérieure a été centrifugée puis évaporée et reconstituée avec la phase mobile constituée de 0.5 % d'acide formique: méthanol (30:70, v/v). Les échantillons reconstitués ont été injectés dans une colonne Gemini C 18 (50 × 4,6 mm, 5 μm).

Résultats. — En utilisant la MS/MS dans le mode de surveillance multiples, Sofosbuvir et Sofosbuvir d3 ont été détectés sans interférence à partir de plasma humain matrice. Sofosbuvir produit un ion précurseur protoné ($[M+H]^+$) en m/z 428.35 et un produit correspondant à l'ion m/z 279.26. L'étalon interne produit un ion précurseur protoné ($[M+H]^+$) en m/z 431.38 et un produit correspondant à l'ion m/z 282.37. La courbe d'étalonnage pour l'analyte est linéaire ($r^2 \geq 0.9956$, $n=4$) pour des concentrations allant de 4,063 à 8000,010 ng/mL. Des études ont révélé que le sofosbuvir était stable dans le plasma après conservation durant 7 h sur paillasse, dans l'injecteur (20 h), à la fin des cinq cycles de congélation et décongélation successifs et à long terme à $-70^\circ\text{C} \pm 15^\circ\text{C}$ pour 15 heures.

Conclusion. — La méthode mise au point a été validée selon les lignes directrices de l'USFDA et les limites se situaient dans les normes et pourrait être employée avec succès pour la détermination du sofosbuvir dans le plasma humain pour des études de pharmacocinétiques.

© 2017 Académie Nationale de Pharmacie. Publié par Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Introduction

Sofosbuvir (SOF) (Fig. 1) is chemically propan-2-yl (2S)-2-[[[(S)-{[(3R, 4R, 5R)-5-(2, 4-dioxo-1, 2, 3, 4-tetrahydropyrimidin-1-yl)-4-fluoro-3-hydroxy-4-methyloxolan-2-yl] methoxy} (phenoxy) phosphoryl] amino} propanoate [1]. Nucleotide NS5B Inhibitor GS-7977 is an orally available

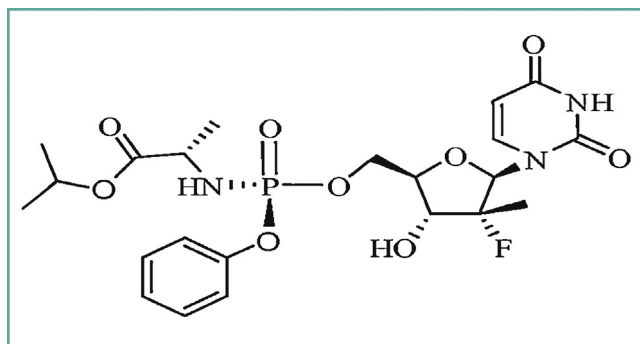


Figure 1. Chemical structure of Sofosbuvir.
Structure chimique du Sofosbuvir.

nucleotide prodrug and a hepatitis C virus (HCV) NS5B polymerase inhibitor with potential HCV inhibiting activity [2]. Upon oral administration, Sofosbuvir is metabolized to 2'-deoxy-2'-alpha-fluoro-beta-C-methyluridine-5'-monophosphate, which is then converted into the active triphosphate nucleotide that inhibits the NS5B polymerase, thereby preventing viral replication [3]. The HCV NS5B protein, an RNA-dependent RNA polymerase, is essential for the replication of the viral HCV RNA genome [4].

Analysis of anti viral drugs and anti hepatitis drugs is the need of the hour in present day analysis [5,6]. Very few research articles on analytical studies were reported for the determination of SOF individually or in combination with other drugs [7–10]. However, to our knowledge no method was reported for the determination of SOF using isotopic internal standard. It is always recommended to select an internal standard with close chemical properties to have effective extraction and recovery values. Hence, we made an attempt to develop a simple and rapid UPLC-MS/MS method for the determination of SOF in human plasma using isotopic internal standard. UPLC-MS/MS possesses high pressure pumps to accommodate the use of sub-2 mm particle size columns, with the sample injector system

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/5546986>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/5546986>

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