

Validasi metode analisis 6-merkaptopurin dan 6-metilmerkaptopurin secara simultan dalam dried blood spot dengan kromatografi cair kinerja ultra tinggi tandem spektrometri massa = Validation of a simultaneous analytical method of 6 mercaptopurine and 6 methylmercaptopurine in dried blood spot using ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry

Marlina Ika Marlina Ika, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20432117&lokasi=lokal>

Abstrak

6-Merkaptopurin (6-MP) merupakan agen kemoterapi kanker yang termasuk dalam golongan antimetabolit antagonis purin. 6-Merkaptopurin harus melalui jalur metabolisme oleh tiopurin S-metiltransferase (TPMT) untuk menjadi metabolit inaktifnya, yaitu 6-metilmerkaptopurin (6-MMP) untuk mengurangi efek sitotoksik dari 6-MP yang dapat menyebabkan mielosupresi. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh metode optimum dan tervalidasi dalam menganalisis 6-MP dan 6-MMP secara simultan dalam sampel Dried Blood Spot menggunakan kromatografi cair kinerja ultra tinggi tandem spektrometri massa. Larutan kontrol kualitas dan kurva kalibrasi dibuat dengan menotolkan masing-masing sebanyak 40 L pada kertas CAMAG DBS dan dikeringkan selama 3 jam. Kertas DBS dipotong dengan diameter 8 mm dan diekstraksi dengan larutan asetonitril-metanol (1:3) yang mengandung baku 5-fluorourasil (5-FU). Pemisahan dilakukan dengan kolom Waters Acquity UPLC Class BEH C18 1,7 m (2,1 x 100 mm) dengan fase gerak berupa asam format 0,1% dalam air - asam format 0,1% dalam asetonitril dengan gradient elusi dan laju alir 0,2 mL/menit. Deteksi massa dilakukan dengan Waters Xevo TQD dengan Electrospray Ionization (ESI) positif untuk 6-MP dan 6-MMP dan ESI negative untuk 5-FU pada mode Multiple Reaction Monitoring. Deteksi 6-MP, 6-MMP, 5-FU berturut-turut adalah 153,09 > 119,09; 167,17 > 126,03; 129,09 > 42,05. Metode ini linear dalam rentang 26 - 1000 ng/mL untuk 6-MP dan 13 - 500 ng/mL untuk 6-MMP dengan r berturut-turut adalah 0,998 dan 0,999. Nilai % diff dan koefisien variasi (KV) untuk akurasi dan presisi intra hari dan antar hari tidak lebih dari 15% dan tidak lebih dari 20% pada konsentrasi LLOQ. Metode ini memenuhi persyaratan selektivitas, linearitas, akurasi, presisi, carry-over, dan efek matriks yang mengacu pada EMEA Guidelines.

.....

6-Mercaptopurine (6-MP) is a cancer chemotherapeutic agent that belongs to a class of purine antagonist antimetabolite. 6-Mercaptopurine has to go through the metabolic pathway by thiopurine S-methyltransferase (TPMT) to become its inactive metabolite, 6-methylmercaptopurine (6-MMP) to reduce the cytotoxic effect of 6-MP which can cause myelosuppression. This study aimed to obtain an optimum and validated method in analyzing 6-MP and 6-MMP simultaneously in Dried Blood Spot samples using ultra high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. The quality control and calibration curves solutions were made by respectively spot 40 L at DBS CAMAG paper and dried for 3 hours. DBS papers were cut with a diameter of 8 mm and extracted with acetonitrilemethanol (1:3) containing internal standard 5-fluorouracil (5-FU). Separation was performed with Waters Acquity UPLC BEH C18 column Class 1.7 m (2.1 x 100 mm) with a mobile phase consists of 0.1% formic acid in water ? 0.1% formic acid in acetonitrile with gradient elution and flow rate 0.2 mL/minute. Mass detection was done using Waters Xevo

TQD with positive electrospray ionization (ESI) for 6-MP and 6-MMP and negative ESI for 5-FU in Multiple Reaction Monitoring mode. Detection of 6-MP, 6-MMP, 5-FU respectively was 153.09> 119.09; 167.17> 126.03; 129.09> 42.05. This method is linear with the range 26-1000 ng / mL for 6-MP and 13 to 500 ng / mL for 6-MMP with consecutive r value is 0,998 and 0,999. % Diff value and coefficient of variation (CV) for accuracy and precision of intra-day and inter-day are not more than 15% and not more than 20% at a concentration LLOQ. This method fulfilled the requirements of selectivity, linearity, accuracy, precision, carry-over, and matrix effects which refers to the EMEA Guidelines.