

Escudero-Ortiz V. *, Estañ-Cerezo G. §, Conesa-García V. ‡, Antón-Torres R. †, García-Monsalve A. †, Mancheño-Maciá E. *, Navarro-Ruiz A. †
* Grupo de Investigación en Farmacia y Nutrición Clínica, Universidad CEU Cardenal Herrera. § HGUE-FISABIO. ‡ Servicio de Hematología HGUE. † Servicio de Farmacia HGUE.

ANTECEDENTES Y OBJETIVOS

Imatinib y dasatinib son fármacos inhibidores de la tirosina quinasa (TKis) que presentan una elevada variabilidad farmacocinética (PK) intraindividual. La Monitorización Terapéutica de Fármacos (TDM) de TKis permite optimizar las dosis mediante la cuantificación de los niveles de fármaco en sangre [1]. La realización de TDM de TKis precisa de métodos analíticos para su cuantificación en plasma humano.

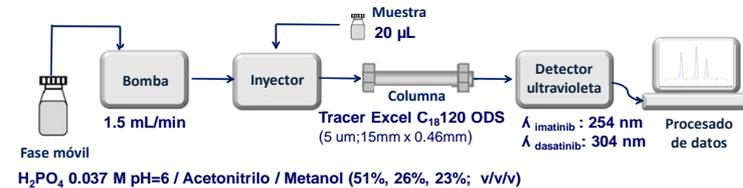
El objetivo del presente estudio ha sido validar un método analítico para la cuantificación de imatinib y dasatinib en muestras plasmáticas de pacientes oncohematológicos mediante cromatografía líquida de alta resolución acoplada a detección de ultravioleta (HPLC-UV) y valorar su aplicabilidad en la práctica clínica.

METODOLOGÍA

✓ Soluciones stock, calibradores y controles de calidad (QC)

Soluciones stock	Calibradores en plasma	QC en plasma
Imatinib (5 mg/mL)	Imatinib 100 – 7000 ng/mL	Imatinib 250, 1000 y 5000 ng/mL
Dasatinib (5mg/mL)	Dasatinib 20 – 200 ng/mL	Dasatinib 15, 50 y 150 ng/mL

✓ Condiciones cromatográficas



✓ Preparación de las muestras

La extracción de imatinib y dasatinib de las muestras de plasma se ha realizado mediante una extracción por precipitación de proteínas con acetonitrilo. Los calibradores y los QC en plasma se han analizado de la misma forma que las muestras de plasma de los pacientes.

✓ Validación del método

La validación del método se ha llevado a cabo según estándares de las Agencias Regulatoras (FDA [2] y EMA [3]) en términos de linealidad, límite de cuantificación (LLOQ), selectividad, precisión, exactitud y recuperación. Para la linealidad, precisión y exactitud se han realizado cinco determinaciones por concentración en tres días diferentes.

RESULTADOS

✓ Validación del método

Linealidad: Coeficiente de correlación (r) superior a 0.99 en tres rectas de calibrado de imatinib (100-7000 ng/mL) y dasatinib (20-200 ng/mL).

Selectividad: No se detectaron interacciones entre los componentes endógenos del plasma humano (en seis muestras diferentes) a los tiempos de retención de imatinib (Figura 1a) y dasatinib (Figura 1b).

Recuperación: La recuperación para imatinib en concentraciones de 100-7000 ng/mL fue superior a 62.1 ± 4.5 %. La recuperación para dasatinib en concentraciones de 20-200 ng/mL fue superior a 65.3 ± 8.4%.

Precisión, exactitud y límite de cuantificación: Los valores obtenidos de precisión y exactitud intra e interdía para los QC (<15%) y el LLOQ (<20%) muestran que el método es exacto y reproducible (Tabla 1).

Tabla 1. Exactitud y precisión de la cuantificación de imatinib y dasatinib en plasma humano.

Concentración imatinib (ng/mL)	Intradía			Interdía		
	C. observada (DE±) (ng/mL)	Exactitud (ERM,%)	Precisión (CV,%)	C. observada (DE±) (ng/mL)	Exactitud (ERM,%)	Precisión (CV,%)
100	80.7 (6.1)	19.3	7.5	93.2 (10.3)	6.8	11.2
250	270.4 (16.7)	8.1	6.2	271 (13.4)	8.5	4.9
1000	1008.7 (60.1)	0.9	6.0	1023.9 (49.3)	2.4	4.8
5000	4670.4 (41.6)	6.6	0.9	4773.8 (249.9)	4.5	5.2

Concentración dasatinib (ng/mL)	Intradía			Interdía		
	C. observada (DE±) (ng/mL)	Exactitud (ERM,%)	Precisión (CV,%)	C. observada (DE±) (ng/mL)	Exactitud (ERM,%)	Precisión (CV,%)
20	19.3 (2.1)	3.5	11.1	19.5 (1.4)	2.5	7.1
25	26.7 (0.7)	6.8	2.7	26.7 (1.2)	6.7	4.6
45	41.2 (1.7)	8.5	4.1	45.0 (4.2)	0.1	9.4
150	149.2 (3.1)	0.5	2.1	149.4 (6.8)	0.4	4.5

C.: concentración; DE: desviación estándar; ERM: error relativo medio; CV: coeficiente de variación

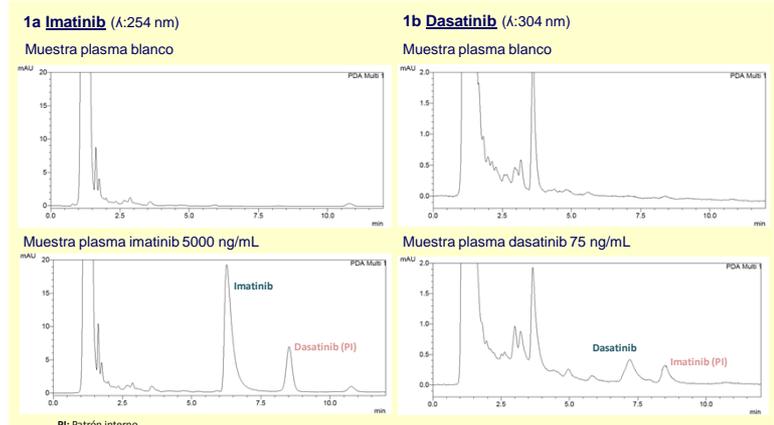


Figura 1. Cromatogramas método analítico imatinib (izquierda) y dasatinib (derecha).

✓ Aplicabilidad clínica del método analítico

La Figura 2 muestra los perfiles de concentración plasmática vs tiempo de 12 pacientes oncohematológicos en tratamiento con imatinib o dasatinib. La media de C_{max} y C_{min} tras la administración de 400 mg/día de imatinib es de 2419.7 (±443.3) ng/mL y 1150.1 (±270.2) ng/mL, respectivamente. La media de C_{max} y C_{min} tras la administración de 20-100 mg/día de dasatinib es de 55.3 (±56.5) ng/mL y 11.5 (±3.4) ng/mL, respectivamente.

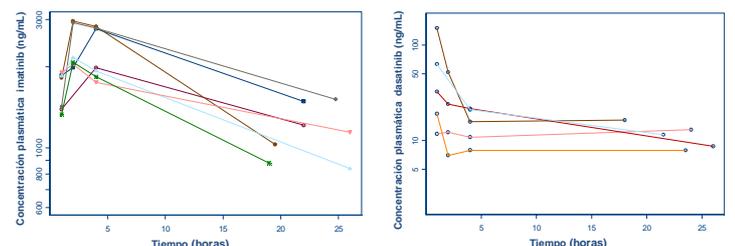


Figura 2. Perfiles de concentración vs tiempo de pacientes en tratamiento con imatinib 400 mg/día (izquierda, 2a) y dasatinib 20 – 100 mg/día (derecha, 2b)

CONCLUSIÓN

- ✓ El método desarrollado mediante HPLC-UV para la cuantificación de imatinib y dasatinib en plasma humano es rápido, simple y preciso y cumple con los estándares de calidad descritos por la FDA y EMA.
- ✓ El método analítico puede ser empleado en la práctica clínica rutinaria para la realización de TDM de imatinib y dasatinib.

Proyecto financiado por: Conselleria de Educación, Investigación, Cultura y Deporte. Generalitat Valenciana.

Bibliografía: 1- Klumpen H et al. Cancer Treat Rev 2011.37:251-60. 2- FDA. Guidance for Industry: Bioanalytical Method Validation. May 2001. 3- EMA. Guideline on Validation of Analytical procedures: Methodology,1998.