

# Pengembangan Metode Analisis Siklofosfamid dan 4-Hidroksisiklofosfamid dalam DBS dan Aplikasinya untuk Studi Kecepatan 4-Hidroksilasi Siklofosfamid pada Pasien Kanker Etnis Melayu = Development of Methods for Analysis of Cyclophosphamide and 4-Hydroxycyclophosphamide in DBS and Its Application for Study of 4-Hydroxylation Rate of Cyclophosphamide in Malay Ethnic Cancer Patients

Yesi Ihdina Fityatal Hasanah, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20516083&lokasi=lokal>

---

## Abstrak

Siklofosfamid (CP) adalah antikanker golongan pengalkilasi (nitrogen mustar) dan prodrug yang akan dimetabolisme menjadi bentuk metabolit aktif, 4-hidroksisiklofosfamid (4-OHCP). Oleh karena itu, efektivitas terapi CP ditentukan oleh konsentrasi 4-OHCP dalam darah. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan metode analisis tervalidasi dari CP dan 4-OHCP secara simultan dalam Dried Blood Spots (DBS) dengan SIL (Stable Isotop Labeled) 4-OHCP-d4 sebagai baku dalam menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Ultra Tinggi-Tandem Spektrometri Massa (KCKUT-SM/SM) dan mengaplikasikannya untuk studi kecepatan 4-hidroksilasi siklofosfamid pada pasien kanker etnis Melayu. Preparasi sampel dilakukan secara pengendapan protein menggunakan metanol. Pemisahan dilakukan pada kolom BEH C18 menggunakan fase gerak asam format 0,01% - asetonitril dalam mode gradien pada 0,2 mL/menit. Deteksi massa dilakukan pada Waters Xevo TQD menggunakan ESI + untuk CP, 4-OHCP-SCZ, dan baku dalam 4-OHCP-d4-SCZ dengan nilai m/z berturut-turut: 260,90 > 140,01; 333,90 > 220,94; dan 337,97 > 224,93. Metode ini linier dalam kisaran 10 - 40.000 ng/mL untuk CP dan 5 - 4.000 ng/mL untuk 4-OHCP dengan nilai r keduanya 0,9980. Metode ini memenuhi persyaratan validasi yang mengacu pada pedoman EMEA 2011 dan FDA 2018. Studi kecepatan 4-hidroksilasi siklofosfamid terhadap 40 pasien kanker etnis Melayu dilakukan berdasarkan nilai rasio bioaktivitasnya (kadar 4-OHCP terhadap siklofosfamid) dan diperoleh hasil 80% sebagai ultrarapid metabolizer (UM) dan 20% sebagai poor metabolizer (PM).

.....Cyclophosphamide (CP) is an anticancer alkylating group (nitrogen mustard) and a prodrug that will be metabolized into a form of its active metabolite, 4-hydroxycyclophosphamide (4-OHCP). Therefore, the effectiveness of CP therapy is determined by 4-OHCP concentration in blood. The purpose of this study was to obtain a validated analysis method of CP and 4-OHCP simultaneously in Dried Blood Spots (DBS) with SIL (Stable Isotope Labeled) 4-OHCP-d4 as an internal standard by Ultra High Performance Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry (UPLC-MS/MS) and applied it to the study of the 4-hydroxylation of cyclophosphamide rate of Malay ethnic cancer patients. Sample preparation was carried out by protein precipitation using methanol. Separation was carried out at BEH C18 column using 0.01% formic acid - acetonitrile mobile phase in gradient mode at 0.2 mL/min. Mass detection was carried out at Waters Xevo TQD using ESI + for CP, 4-OHCP-SCZ, and internal standard 4-OHCP-d4-SCZ with m/z values, respectively: 260,90 > 140,01; 333,90 > 220,94; and 337,97 > 224,93. This method is linear in the range of 10 - 40,000 ng/mL for CP and 5 - 4,000 ng/mL for 4-OHCP with both r values 0.9980. This method has successfully met the validation requirements that refer to the EMEA 2011 and FDA 2018

guidelines. Study of cyclophosphamide 4-hydroxylation rate to 40 subjects of Malay ethnic cancer patients was carried out based on the value of its bioactivity ratio (4-OHCP level to cyclophosphamide) and obtained results of 80% as ultrarapid metabolizer (UM) and 20% as poor metabolizer (PM).