

Pengembangan dan Validasi Metode Analisis Efavirenz dalam Dried Blood Spot (DBS) Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi - Photodiode Array = Development and Validation of Bioanalytical Method for Efavirenz in Dried Blood Spot (DBS) Using High Performance Liquid ChromatographyâPhotodiode Array (HPLCâPDA)

Dysaprita Nabila Putri, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=9999920548847&lokasi=lokal>

Abstrak

Efavirenz perlu mencapai konsentrasi serum memadai (1-4 µg/mL) karena ketidaksesuaian kadar obat dapat menyebabkan kegagalan terapi atau toksisitas sistem saraf pusat. Terdapat variabilitas yang signifikan dalam respon pasien terhadap pengobatan efavirenz sehingga perlu dilakukan pemantauan terapi obat (PTO) pada pasien yang menerima efavirenz. Oleh karena itu, diperlukan pengembangan metode bioanalisis efavirenz. Sebelumnya telah dikembangkan metode analisis efavirenz dalam <i>dried blood spot</i> (DBS) menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi-*Photodiode Array* (KCKT-PDA) tanpa menggunakan baku dalam dengan hasil analisis yang kurang baik pada parameter sensitivitas, akurasi dan presisi, serta tidak sesuai dengan panduan bioanalisis terkini. Penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan metode analisis efavirenz dalam DBS yang optimal dan tervalidasi menggunakan baku dalam. Preparasi sampel DBS dilakukan menggunakan metode presipitasi protein dengan volume penotolan darah 30 µL, pengeringan selama 2 jam, ekstraksi menggunakan 300 µL metanol, pengocokan dengan vorteks selama 10 detik, sonikasi selama 1 menit, dan sentrifugasi dengan kecepatan 5.000 rpm selama 5 menit. 200 µL supernatan dipipet dan diuapkan dengan aliran gas nitrogen, kemudian direkonstitusi dengan 100 µL fase gerak. Hasil preparasi sampel dianalisis dengan elusi isokratik menggunakan kolom C18 (SunfireTM 5 µm; 250 x 4.6 mm) pada suhu 40°C; fase gerak asetonitril (ACN):dapar fosfat 10 mMol pH 3 (70:30); laju alir 0,8 mL/min; deteksi UV pada 245 nm; dan baku dalam warfarin natrium. Metode ini memperoleh LLOQ 0,1 µg/mL dan menunjukkan linearitas dalam rentang konsentrasi 0,1-30 µg/mL. Metode ini telah terbukti valid sesuai dengan persyaratan yang ditetapkan oleh US Food and Drug Administration (2018) dan European Medicines Agency (2022). Metode ini lebih sensitif serta lebih akurat dan presisi dengan penambahan baku dalam. Metode juga lebih sederhana sehingga membuatnya pada PTO menjadi lebih mudah dengan memberikan hasil yang tepat untuk mengurangi risiko efek samping dan meningkatkan efektivitas pengobatan.

.....Efavirenz needs to reach adequate serum concentrations (1-4 µg/mL) as inconsistencies in drug levels may result in treatment failure or central nervous system toxicity. Significant variability in patient response to efavirenz treatment requires monitoring of drug levels in blood. Therefore, the development of bioanalytical methods for efavirenz is necessary. The previously published method for determining efavirenz in dried blood spot (DBS) using High-Performance Liquid Chromatography-Photodiode Array (HPLC-PDA) did not use any internal standard and showed poor results in terms of sensitivity, accuracy, and precision. It also did not comply with the current bioanalytical guidelines. This study aims to develop an optimum and validated analysis of efavirenz in DBS, utilizing an internal standard. DBS sample preparation used the protein precipitation method with 30 µL blood spotting volume, dried for 2 hours, extracted using

300 µL of methanol, vortexed for 10 seconds, sonicated for 1 minute, and centrifuged at 5000 rpm for 5 minutes. The 200 µL supernatant was pipetted and evaporated using nitrogen gas flow, then reconstituted with 100 µL of mobile phase. Samples were analyzed with isocratic elution using C18 column (Sunfire TM 5 µm; 250 x 4.6 mm) at 40°C; mobile phase acetonitrile (ACN):phosphate buffer 10 mM pH 3 (70:30); flow rate of 0.8 mL/min; UV detection at 245 nm; and warfarin as internal standard. This method obtained LLOQ of 0.1 µg/mL and shows linearity within the concentration range of 0.1-30 µg/mL. The method has been validated according to the requirements set by the US Food and Drug Administration (2018) and the European Medicines Agency (2022). This method is more sensitive, accurate, and precise with the addition of an internal standard. This simpler method makes its application for therapeutic drug monitoring (TDM) easier and ensures appropriate results, thereby reducing the risk of side effects and increasing the effectiveness of the treatment.