

**DETERMINATION OF ATORVASTATIN IN HUMAN PLASMA
WITH SOLID PHASE MICRO-EXTRACTION FOLLOWED BY
LC MS/MS METHOD AND ITS APPLICATION TO
PHARMACOKINETICS STUDY**

PATTARAWIT RUKTHONG

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE IN PHARMACY
(PHARMACEUTICS)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY**

2007

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

การวัดยาอาทอร์วาสตาตินในเลือดมนุษย์ด้วยวิธีการ SOLID PHASE MICRO-EXTRACTION ตามด้วย LC MS/MS และการประยุกต์ใช้ในการศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ (DETERMINATION OF ATORVASTATIN IN HUMAN PLASMA WITH SOLID PHASE MICRO-EXTRACTION FOLLOWED BY LC MS/MS METHOD AND ITS APPLICATION TO PHARMACOKINETICS STUDY)

ภัทรวิทย์ รักษ์ทอง 4637606 PYPT/M

ภ.ม. (เภสัชการ)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: กอบรัม สติรกุล, Ph.D., พลกฤษณ์ แสงวานิช, Ph.D

บทคัดย่อ

การหาปริมาณยาในเลือดด้วยวิธี HPLC นั้นเป็นที่ยอมรับอย่างกว้างขวางในการวิเคราะห์ยาในทางคลินิก อย่างไรก็ตามเมื่อสารตัวอย่างมีปริมาณน้อยและต้องการความไว (sensitivity) ในการตรวจพบยาซึ่งเป็นปัญหาทางเภสัชจลนศาสตร์เมื่อทำการวัดระดับยาในเลือดมนุษย์และสัตว์ โดยยาอาทอร์วาสตาตินเป็นยากลุ่มยับยั้งเอนไซม์ HMG Co-A reductase ซึ่งมีฤทธิ์อย่างแพร่หลายในการลดไขมันในเลือดและป้องกันการเกิดภาวะโรคหัวใจโดยวิธีการสกัดยาออกจากพลาสมานั้นใช้วิธีการ solid phase micro-extraction และตามด้วย LC MS/MS ในการหาปริมาณยานั้นและใช้ electrospray ด้านบวกและ multiple reaction monitoring (MRM) โดยมีมวลต่อประจุของยาอาทอร์วาสตาตินที่ 559.2 และ 440.1 สำหรับ Internal standard ใช้ยาฟลูวาสตาติน ซึ่งมีประจุมวลเท่ากับ 412.2 และ 224.2 ในการทดลองครั้งนี้พบว่าความสัมพันธ์เชิงเส้นอยู่ในช่วงความเข้มข้นที่ 0.2-80 นาโนกรัม/มิลลิลิตร ความเข้มข้นที่สามารถตรวจพบอยู่ที่ 0.05 นาโนกรัม/มิลลิลิตร และมีความเข้มข้นของยาค่าสูงสุดที่สามารถหาปริมาณได้อยู่ที่ 0.1 นาโนกรัม/มิลลิลิตร โดยมีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ไม่เกิน 12 % ค่าการค้นพบยาหลังจากการสกัดที่ความเข้มข้น ต่ำ กลาง สูง พบ 84.16±7.99%, 96.8±6.14 และ 102.84±6.73 ตามลำดับ จากการวิเคราะห์พบว่าจะใช้ปริมาณพลาสมาไม่เกิน 250 ไมโครลิตรซึ่งสามารถลดปริมาณตัวอย่างและเวลาในการสกัดโดยสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการศึกษาเภสัชจลนศาสตร์, ชีวประสิทธิผล และชีวสมมูลของยาอาทอร์วาสตาติน

DETERMINATION OF ATORVASTATIN IN HUMAN PLASMA WITH SOLID PHASE MICRO-EXTRACTION FOLLOWED BY LC MS/MS METHOD AND ITS APPLICATION TO PHARMACOKINETICS STUDY.**PATTARAWIT RUKTHONG 4637606 PYPT/M****M.Sc. in Pharm. (PHARMACEUTICS)****THESIS ADVISORS: KORBTHAM SATHIRAKUL, Ph.D., POLKIT SANGVANICH, Ph.D.****ABSTRACT**

Determination of drugs in human plasma using the HPLC technique has been widely accepted as an effective method owing to its practical applicability in routine drug analysis in clinical trials. Nevertheless, the method sensitivity can be compromised once limited sample volume is available. This problem is typically encountered in pharmacokinetics studies from which small volume of plasma samples either from humans or animals can be obtained. Atorvastatin, an HMG-CoA reductase inhibitor widely prescribed for the treatment of hypercholesterolemia and the prevention of cardiovascular diseases was selected as a model drug in this study. Drug extraction from human plasma was performed with the aid of reversed-phase C18 solid phase micro-extraction. The detection was accomplished by triple quadrupole mass spectrometer interfaced operated in electrospray positive ion mode. Quantitation was achieved by using multiple reaction monitoring (MRM) precursor-product transitions at m/z 559.2 and 440.1 for atorvastatin and m/z 412.2 and 224.2 for fluvastatin (internal standard). Linearity was found within the atorvastatin concentration range of 0.2-80 ng/ml. The limit of detection was found to be 0.05 ng/ml. The lower limit of quantification was 0.1 ng/ml with a relative standard deviation (%RSD) of less than 12%. Acceptable precision and accuracy were obtained for the concentrations within the calibration curve range. The average recovery at low, medium and high of atorvastatin concentrations from spiked plasma: quality control samples, were $84.16 \pm 7.99\%$, $96.82 \pm 6.14\%$, and $102.84 \pm 6.73\%$, respectively. The need for less than 250 ml of plasma volume each sample made it possible to decrease sample preparation time. The method was successfully validated and proved appropriate for the analysis of atorvastatin in human plasma and can be applied for pharmacokinetics, bioavailability and bioequivalence studies.

KEY WORDS: ATORVASTATIN / LC MS MS / PLASMA / SOLID PHASE MICRO-EXTRACTION / PHARMACOKINETIC STUDY**136 P..**