

Quantificação de diltiazem em plasma humano por LC-MS/MS com padrão interno customizado: benzoil-diltiazem

Diogo Oliveira-Silva^{1,*} (PQ), Vinícius M. Rezende² (PQ), Paulo A. R. Galvinas³ (PQ), Rafael E. Barrientos-Astigarraga³ (PQ), Gilberto De Nucci⁴ (PQ)

E-mail: dosilva@unifesp.br

¹ Universidade Federal de São Paulo – Campus Diadema, Diadema – SP, Brasil.

² Prima Consultoria, São Paulo – SP, Brasil.

³ Magabi Pesquisas Clínicas e Farmacêuticas, São Paulo – SP, Brasil.

⁴ Universidade Estadual de Campinas, Campinas – SP, Brasil.

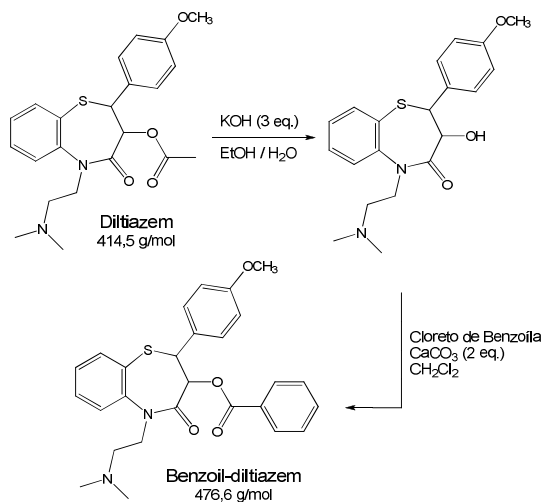
Palavras Chave: diltiazem, benzoil-diltiazem, método bioanalítico, LC-MS/MS, quantificação, bioequivalência.

Introdução

O **diltiazem** é um composto benzotiazepínico utilizado como bloqueador de canal de cálcio no tratamento de angina, hipertensão e arritmia cardíaca.¹ A avaliação das suas apresentações farmacêuticas exige a quantificação de forma confiável e embora sejam encontrados artigos envolvendo a determinação do diltiazem,²⁻⁵ frequentemente os protocolos empregam como padrão interno (PI) substâncias de difícil aquisição ou mesmo com características distintas do diltiazem, o que dificulta execução e compromete a performance e o *throughput* do ensaio.⁶ Neste estudo, apresentamos um método bioanalítico alternativo para quantificação de diltiazem em plasma humano, por LC-MS/MS e utilizando o **benzoil-diltiazem** como padrão interno customizado.

Resultados e Discussão

A preparação do PI customizado (benzoil-diltiazem) foi realizada por meio da hidrólise do diltiazem em meio básico, seguida da acilação com cloreto de benzoíla (Esquema 1).



Esquema 1

O benzoil-diltiazem recristalizado e totalmente caracterizado foi usado no desenvolvimento e validação do método bioanalítico para determinação de diltiazem em plasma humano por LC-MS/MS.

As amostras foram extraídas com éter/hexano (80/20, v/v) por LLE. A separação cromatográfica foi realizada em fase reversa e acoplada ao espectrômetro de massas no modo ESI+ com detecção por MRM das transições 415.1 > 177.8 (diltiazem) e 477.1 > 177.8 (benzoil-diltiazem).

A curva de calibração foi linear no intervalo 0,5 – 500 ng/mL e o limite de detecção (S/R ≥ 3) 0,47 ng/mL. A exatidão e o CV variaram entre 96,8 – 102,5% e 1,2 – 4,9%, respectivamente.

O protocolo foi completamente validado, obedecendo aos critérios da ANVISA e do FDA para ensaios bioanalíticos e posteriormente aplicado em 2 estudos de bioequivalência. Foram quantificadas 3224 amostras desconhecidas de plasma humano com 100% de aprovação das corridas analíticas.

Conclusões

A validação do método usando o benzoil-diltiazem sintetizado como PI provou sua robustez e reprodutibilidade. Sua aplicabilidade como protocolo alternativo para determinação de diltiazem em plasma humano foi demonstrada na quantificação de amostras de estudos de biodisponibilidade.

Agradecimentos

Agradecemos a todos os membros da Cartesius Analytical Unit.

¹ Georgita, C.; Albu, F.; David, V.; Medvedovici, A. *Biomed. Chromatogr.* **2008**, 22, 289.

² Li, S.; Liu, G.; Jia, J.; Liu, Y.; Pan, C.; Yu, C.; Cai, Y.; Ren, J. J. *Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* **2007**, 847, 174.

³ Li, J. L.; Wang, X. D.; Wang, C. X.; Fu, Q.; Liu, L. S.; Huang, M.; Zhou, S. F. *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* **2008**, 867, 111.

⁴ Dasandi, B.; Shah, S.; Shivprakash J. *Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* **2009**, 877, 791.

⁵ Sultana, N.; Arayne, M. S.; Shafi, N.; Siddiqui, F. A.; Hussain, A. J. *Chromatogr. Sci.* **2011**, 49, 774.

⁶ Stokvis, E.; Rosing, H.; Beijnen, J. H. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2005**, 19, 401.