FUNCIONES DEL ERROR ANALÍTICO DE ANTIRRETROVIRALES COMO MÉTODICA DE PONDERACIÓN EN FARMACOCINÉTICA CLÍNICA

Pilar Modamio Charles, Verónica Albert Sánchez, Cecilia Fernández Lastra, Eduardo L. Mariño Hernández

Unidad de Farmacia Clínica y Farmacoterapia. Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad de Barcelona. Avda. Joan XXIII s/n. 08028, Barcelona (España)
http://www.ub.es/farcli/wp0.htm

Resumen

Se han establecido individualmente y comparado las funciones del error analítico de tres métodos cromatográficos (HPLC) para la determinación de los antirretrovirales saquinavir, ritonavir y abacavir, en plasma humano. Los métodos desarrollados fueron previa y convenientemente validados. La función del error no se ajusta a un patrón previsto *a priori*, sino que puede ser descrito mediante una función lineal (DE = 4,84 + $7{,}14 \times 10^{-2}$C para saquinavir y DE = -1,07 + 0,04xC para abacavir) o función no lineal (DE = 39,98 + $2{,}40 \times 10^{-5}C^2$ para ritonavir). Dichas funciones del error se constituyen en una alternativa a las metódicas clásicas de ponderación empleadas en la estimación de parámetros, mediante regresión no lineal, en los estudios farmacocinéticos de pacientes infectados con VIH, especialmente en la monitorización farmacocinética.

Abstract

Analytical error functions associated to three high-performance liquid chromatography methods for the determination of saquinavir, ritonavir and abacavir in human plasma have been established individually and compared. The methods developed were previously fully validated. Analytical error do not fit any pattern foreseen a priori, but, rather they can be described by linear (DE = 4,84 + $7{,}14 \times 10^{-2}$C for saquinavir and DE = -1,07 + 0,04xC for abacavir) and non-linear (DE=39,98+$2{,}40 \times 10^{-5}C^2$ for ritonavir) functions. These error functions will be used as an alternative weighting method in non-linear regression analysis of pharmacokinetic studies in HIV-infected patients, especially in therapeutic drug monitoring.

Introducción

La función del error de un método analítico que ha sido previamente validado, se considera una alternativa a las metódicas clásicas de ponderación (1, 1/C, $1/C^2$) para la determinación de parámetros farmacocinéticos por regresión no lineal (1).

El objetivo del presente estudio ha sido la determinación de las funciones del error asociadas a los métodos analíticos para la cuantificación en plasma humano de tres antirretrovirales: saquinavir, ritonavir y abacavir, mediante cromatografía líquida de alta eficacia, así como la comparación de las mismas.

Materiales y Métodos

En primer lugar, tras el desarrollo y puesta a punto de los métodos analíticos para la cuantificación de saquinavir, ritonavir y abacavir en plasma humano, se procedió a la validación de los mismos (2).

En segundo lugar, para la determinación de cada una de las funciones del error analítico de los tres métodos validados se analizó una curva de calibrado (3 replicados de cada nivel de concentración) durante seis días diferentes y se calculó la media y la desviación estándar (DE) de

cada nivel de concentración de la curva y para cada día. La función que mejor relacionaba las DE obtenidas (como variable dependiente) y las concentraciones teóricas (como variable independiente) se obtuvo a partir del análisis de regresión múltiple (método *Stepwise Forward*) (3, 4). Se inició el análisis con un polinomio de tercer grado, cuya ecuación general es $DE = A_0 + A_1C + A_2 C^2 + A_3 C^3$. El análisis numérico y estadístico se realizó con el programa Microstat® (Ecosoft Inc.).

Resultados y Discusión

Los métodos analíticos desarrollados para saquinavir y ritonavir incluyeron un proceso de extracción y unas condiciones cromatográficas muy similares; mientras que abacavir presentó algunas diferencias, entre ellas el solvente empleado en la extracción y la fase móvil. La curva de calibrado seleccionada fue diferente en los tres antirretrovirales estudiados (Tabla 1).

	Saquinavir	*Ritonavir*	*Abacavir*
Rango (ng/ml)	100-2.500	200-2.500	50-2.500
Extracción	Hexano: etilacetato (50:50, v/v)	Hexano: etilacetato (50:50, v/v)	Etilacetato: dietiléter (75:25, v/v)
Columna	Luna C18 (150 x 4,6 mm i.d.)	Luna C18 (150 x 4,6 mm i.d.)	Luna C18 (150 x 4,6 mm i.d.)
Fase móvil	Tampón fosfato pH 5 / Acetonitrilo (54:46, v/v)	Tampón fosfato pH 5 / Acetonitrilo (54:46, v/v)	Agua HPLC / Acetonitrilo (17:83, v/v)
Flujo (ml/min)	1	1	1
Volumen inyección (µl)	200	200	80
Detección UV- λ (nm)	240	210	285

Tabla 1. Características de los métodos analíticos desarrollados.

Las funciones del error analítico discriminadas a partir de los coeficientes de correlación, el estadístico F y el nivel de probabilidad fueron las siguientes:

Saquinavir: $DE = 4,84 + 7,14x10^{-2}C$

Ritonavir: $DE = 39,98 + 2,40x10^{-5}C^2$

Abacavir: $DE = -1,07 + 0,04xC$

En las Figuras 1-3 se muestran las funciones del error obtenidas para cada uno de los métodos analíticos desarrollados y convenientemente validados. Se han representado los valores medios de las DE obtenidas *versus* las concentraciones teóricas de la curva de calibrado (C)

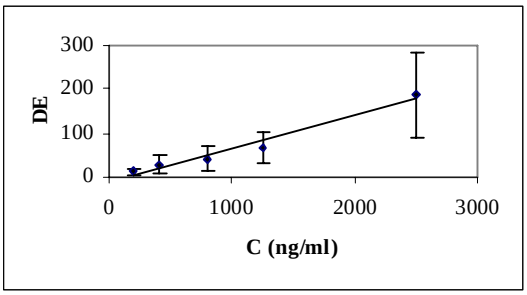

Figura 1: Función del error para saquinavir.

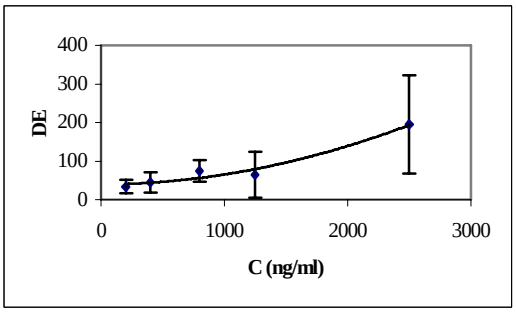

Figura 2: Función del error para ritonavir

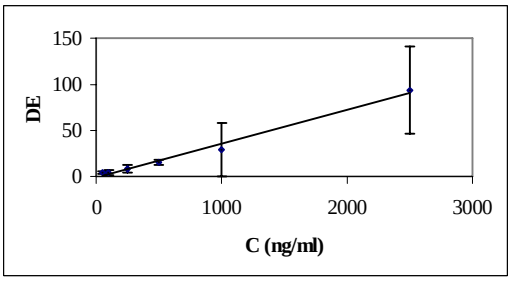

Figura 3: Función del error para abacavir.

A la vista de los resultados se observa que la función del error puede ser lineal (saquinavir y abacavir) y no lineal (ritonavir). Los métodos analíticos para la cuantificación de niveles plasmáticos de saquinavir y ritonavir en humanos generaron funciones de error diferentes, aún teniendo unas condiciones analíticas muy similares. Por el contrario, el método analítico empleado para la determinación de abacavir en plasma humano, generó una función similar a la de saquinavir, aún siendo más diferentes las condiciones de análisis.

Se puede concluir que la función del error asociada a un método de análisis debe ser determinada para cada fármaco concreto. Dicha función puede ser empleada como metódica de ponderación en la monitorización de los niveles plasmáticos de los antirretrovirales estudiados en pacientes infectados con el VIH, ya que representa, al menos, una parte del error que puede ser explicado.

Bibliografía

1. Jansat JM, Lastra CF, Mariño EL. Comparative study of different weighting methods in non-linear regression analysis: implications in the parametrization of carebastatine after intravenous administration in healthy voluntees. Int J Clin Phamacol Ther, 36, 340, (1998).
2. AEFI. Validación de métodos analíticos. AEFI, La Bisbal (Girona), 2001
3. Albert V, Modamio P, Lastra CF, Mariño EL. Determination of saquinavir and ritonavir in human plasma by reversed-phase high-performance liquid chromatography and the analytical error function. J Pharm Biomed Anal, 36, 835, (2004).
4. Ferrer MS, Modamio P, Lastra CF, Mariño EL. Determination of abacavir in human plasma by high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection and the analytical error function. Biomed Chromatogr, 18, 862, (2004).

Autor de contacto:
Nombre y apellidos: Eduardo L. Mariño Hernández
e-mail: emarino@ub.edu
Institución: Universidad de Barcelona.
Dirección: Facultad de Farmacia. Dpto. de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Avda. Joan XXIII s/n
Ciudad: 08028, Barcelona
Telf.: 93 4024544; Fax: 93 4035714