

INTISARI

Sebuah metode analisis yang tervalidasi, sederhana, dan cepat diperlukan dalam uji bioekivalensi obat-obat yang memiliki peran penting dalam terapi suatu penyakit, salah satunya adalah levofloksasin (LEV). Meskipun demikian, metode-metode analisis yang ada saat ini masih terlalu rumit untuk diaplikasikan di laboratorium. Untuk mengatasi masalah ini, sebuah metode kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) telah dikembangkan dan divalidasi untuk mengkuantifikasi LEV dalam plasma manusia.

Pemisahan kromatografik dilakukan secara isokratik pada kolom Luna Phenomenex[®] C18 (150 × 4,6 mm, 5 μm) dengan mengalirkan fase gerak yang terdiri dari ACN, MeOH, dan dapar fosfat 25 mM pH 3,0 (13:7:80 v/v/v) pada kecepatan 1,5 mL/menit. Analit dideteksi dengan detektor ultraviolet pada λ 280 nm. Penyiapan sampel plasma dilakukan dengan menambahkan ACN untuk mengendapkan protein kemudian dilanjutkan dengan sentrifugasi, evaporasi dan rekonstitusi. Siprofloksasin (SPR) digunakan sebagai standar internal.

Metode ini telah divalidasi sesuai dengan panduan validasi metode bioanalisis FDA. Kurva kalibrasi yang dikalkulasi menggunakan metode *weighted linear regression* dengan faktor pembebanan $1/x^2$ terbukti linear ($r = 0,995$) pada rentang 1,77-28,33 μg/mL sesuai dengan rentang farmakokinetik LEV. Batas bawah kuantifikasi (LLOQ) metode analisis LEV ada pada konsentrasi 1,77 μg/mL dengan persen kesalahan dan RSD berturut-turut tidak lebih dari 20% dan 9% sedangkan batas deteksi (LOD) ada pada konsentrasi 0,57 μg/mL (RSD 18,78%). Pada konsentrasi di atas LLOQ, persyaratan akurasi dan presisi terpenuhi dengan nilai persentase kesalahan tertinggi tidak lebih dari 12% dan RSD tidak lebih dari 7%. Studi *robustness* telah dilakukan dan terbukti bahwa perubahan-perubahan kecil pada parameter-parameter KCKT masih menunjukkan akurasi dan presisi yang dapat diterima. Metode ini terbukti dapat dipercaya untuk analisis kuantitatif LEV dalam plasma dan sesuai untuk uji farmakokinetik LEV pada manusia.

Kata Kunci: Levofloksasin, KCKT-UV, validasi, plasma manusia

ABSTRACT

A validated, simple, and rapid bioanalytical method was needed for conducting bioequivalence studies of some important drugs such as levofloxacin (LEV). However, the previous developed analytical methods was still too complicated to be applied in bioequivalence laboratories. In order to solve the problem, a simple and rapid high performance liquid chromatographic (HPLC) method was developed and validated for quantifying LEV in human plasma.

Chromatographic separation was performed under isocratic elution on a Luna Phenomenex[®] C18 (150 × 4.6 mm, 5 μm) column. The mobile phase comprised of a mixture of ACN, MeOH, and phosphate buffer 25 mM pH 3.0 (13:7:80 v/v/v) was pumped at a flow rate 1.5 mL/min. The ultraviolet detector was operated at 280 nm. Samples were pre-treated with ACN to precipitate plasma protein followed by centrifugation, evaporation, and reconstitution step. Ciprofloxacin (CPR) was used as an internal standard.

The method was validated according to FDA guideline on bioanalytical method validation. Calibration curve, calculated by using weighted linear regression, was linear ($w = 1/x^2$; $r = 0.995$) in the ranges of 1.77-28.33 μg/mL appropriate with pharmacokinetic range of LEV. The lower limit of quantification (LLOQ) was established at 1.77 μg/mL with the percentage of error and RSD at this concentration did not exceed 20% and 9% respectively. The limit of detection (LOD) was found at concentration 0.57 μg/mL (RSD 18.78%). At the concentration level above LLOQ, accuracy and precision were meet the requirement with percentage of errors and RSD did not exceed 12% and 7% respectively. The robustness study was conducted and proved that any small changes in HPLC parameters still showed acceptable accuracy and precision. The method was proved reliable for quantitative analysis LEV in human plasma and suitable for pharmacokinetic study in human.

Keyword: Levofloxacin, HPLC-UV, validation, human plasma