

Monitoring von Alkylantien und toxikologisch relevanten Hilfsstoffen bei Kindern in der Hochdosis-Chemotherapie



D. Oechtering¹, J. Boos¹, G. Hempel^{1,2}

¹ Pädiatrische Hämatologie und Onkologie,
Universitätsklinikum Münster

² Institut für Pharmazeutische und Medizinische Chemie,
Westfälische Wilhelms-Universität
Münster

Monitoring von Busulfan und N,N-Dimethylacetamid

- Wieso Drug Monitoring von Wirk- und Hilfsstoff ?
- Busulfan Drug-Monitoring:
 - Analytische Bestimmungsmethode
 - Plasmaspiegelverläufe
- Methodenentwicklung: N,N-Dimethylacetamid

Intravenöses Busulfan

Busulfex® (1999), Busilvex® (2003)



- Konditionierungstherapie vor Stammzelltransplantation
- Standarddosis: 16 x 0,8 mg/kg KG über 4 Tage
- Dosislimitierend: Hepatotoxizität
- Hilfsstoff: N,N-Dimethylacetamid (DMA)
 - potentielle Leber-, Neurotoxizität¹
 - kumulative Belastung: 0,7 g/kg (über 4 Tage)
⇒ ca. 25 % der LD₅₀ (i.v. Ratte)

1) Weiss et al., A Phase I-Study of Dimethylacetamid. Cancer Chemotherapy Reports 1962, 16: 477-490

Intravenöses Busulfan bei Kindern

Busulfex[®] - Studie: Münster, März 2001 - Sept. 2002

- Ziel: vergleichbare Dosisintensität, geringere Variabilität¹
- Ergebnisse:
 - 19 Patienten (0,9 - 17,3 Jahre)
 - geringere Dosisintensität, verringerte Variabilität

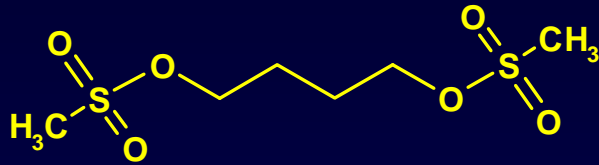
Off-label-use
Dosierung
Toxizität Busulfan/ DMA



Drug Monitoring:
Wirkstoff und
Hilfsstoff

1) Vassal *et al.*, Is 600 mg/m² the appropriate dosage of busulfan in children undergoing bone marrow transplantation? *Blood* 1992, 79: 2475-2479

Analytik: LC/MS



Busulfan



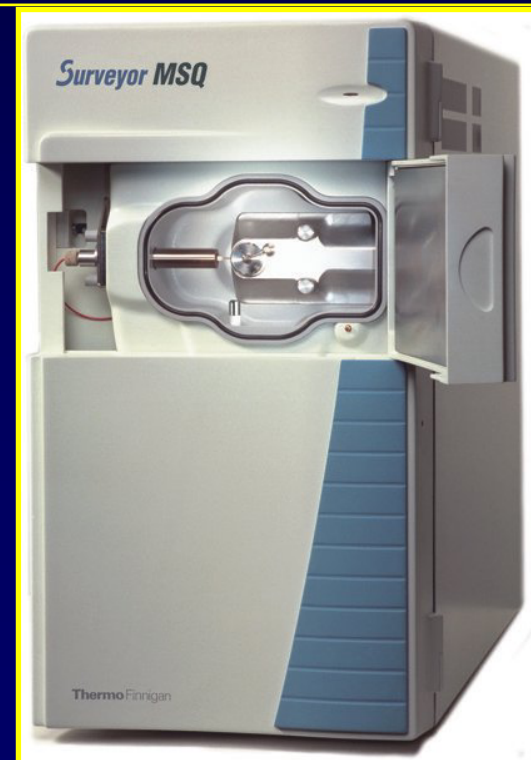
DMA

- **HPLC:**

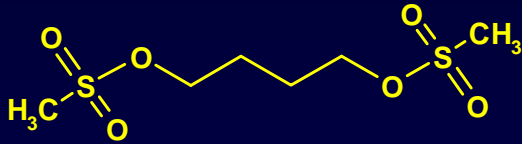
- Hochdruckgradient
- RP8, 150 x 2 mm
- Flussraten 0,2 – 0,4 ml/min

- **Massenspektrometer:**

- Single Quadrupol
- Orthogonal-Spray
- API-Ionisation (ESI/ APCI)



Busulfan: Bestimmungsmethode¹

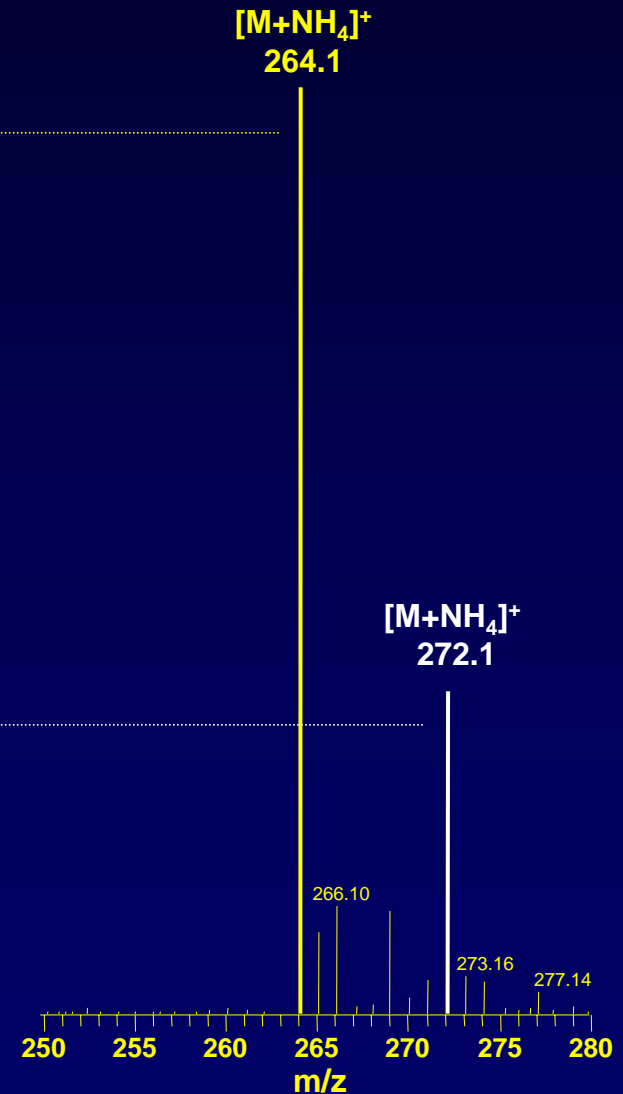
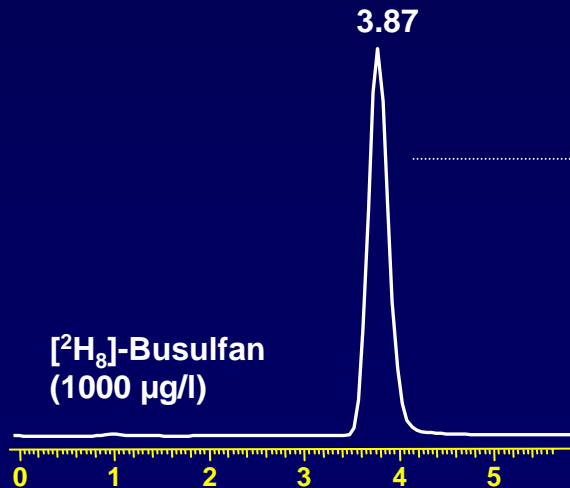
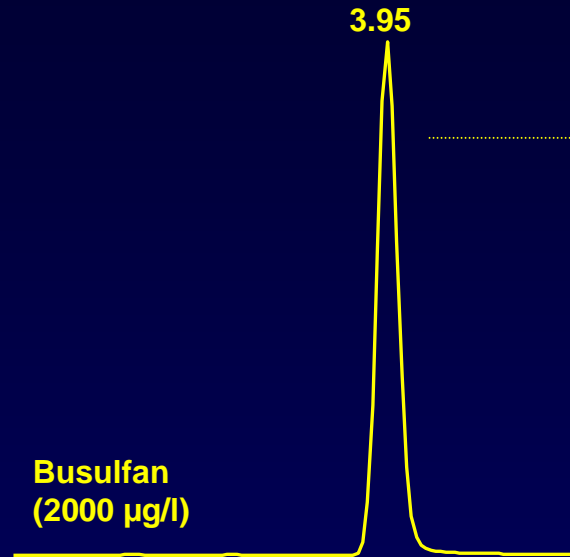


MW 246

Probenaufarbeitung:
Flüssig-Flüssig-Extraktion
aus **200 µl Plasma**

HPLC-Methode:
NH₄Ac-Puffer/ ACN
Gradient

MS-Detektion:
NH₄⁺- Addukt
SIM-Modus
LOQ: 5 µg/l



1) Mürdter et al., Sensitive and rapid quantification of busulfan in small plasma volumes by liquid chromatography-electrospray mass spectrometry. Clin.Chem. 2001, 47:1437-1442

Busulfan: Validierung

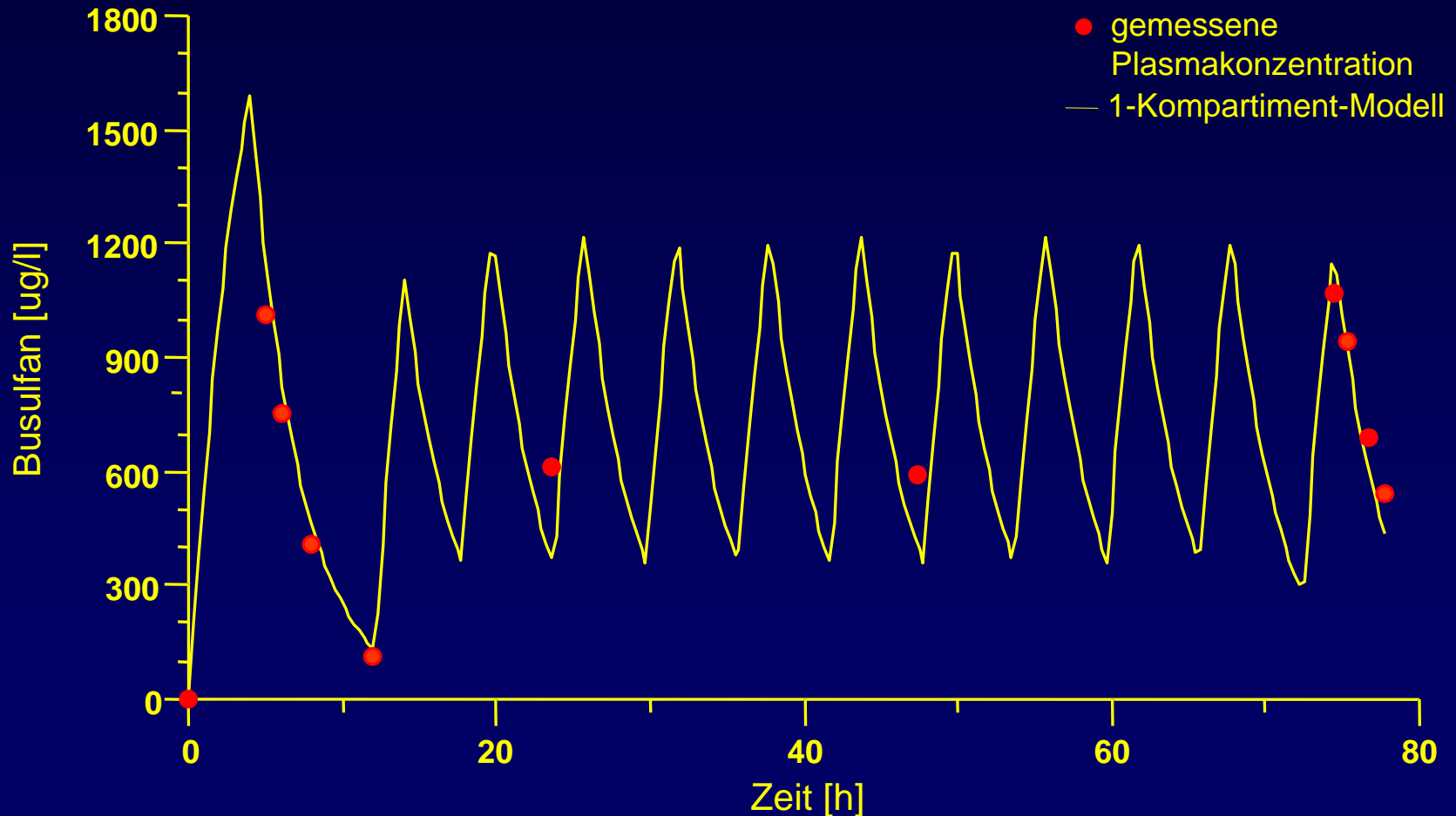
Kalibrationsbereiche: 5 µg/l – 50 µg/l
50 µg/l – 2000 µg/l

	Konz. [µg/l]	Konz. _{cal} [µg/l]	Richtigkeit (Abw.) [%]	Präzision (RSD) [%]
Intraday (n=6)	5	5,15	3,0	3,3
	50	48,9	-2,3	3,6
	50	47,0	-5,9	4,2
	200	205	2,6	3,9
	2000	1940	-3,1	3,2
Interday (n=6)	5	5,22	4,5	5,9
	50	48,4	-3,2	2,7
	50	44,5	-11,0	4,3
	200	206	3,2	2,5
	2000	1991	-0,4	2,7

Busulfan: Drug Monitoring

Plasmaspiegelverlauf:

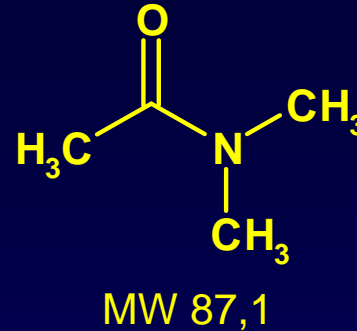
(Patient: 2 Jahre, 13 kg, 1 mg/kg KG)



DMA: Methodenentwicklung

Eigenschaften:

- polare Flüssigkeit
- Sdp.: 166 °C
- kein Chromophor

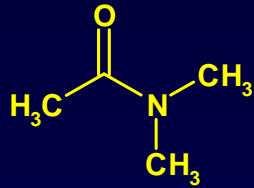


Quantifizierung im Plasma:

- Literatur: GC-MS mit LOQ 2 mg/l¹
- **Ziel: LC-MS mit LOQ 0,5 mg/l**

1) Lindström et al., Gas chromatographic-mass spectrometric method for the determination of dimethylacetamide and metabolites in whole blood. J Chromatogr.1988, 428: 156-159

DMA: Methodenentwicklung



MW 87,1

Fließmittel:

H₂O / ACN

(+ 0,1% Ameisensäure)

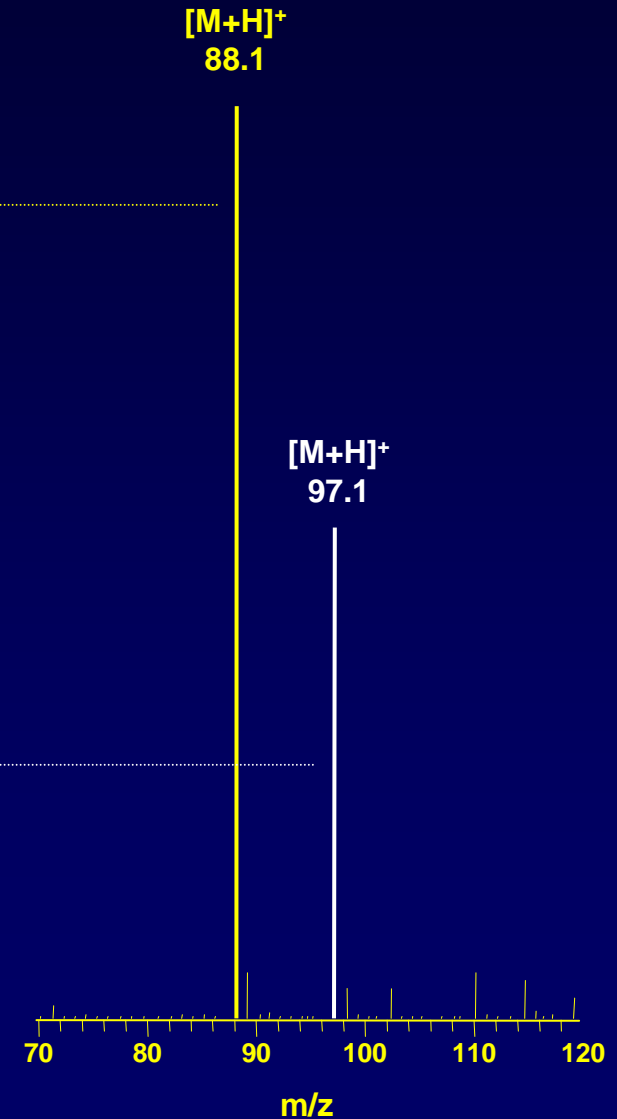
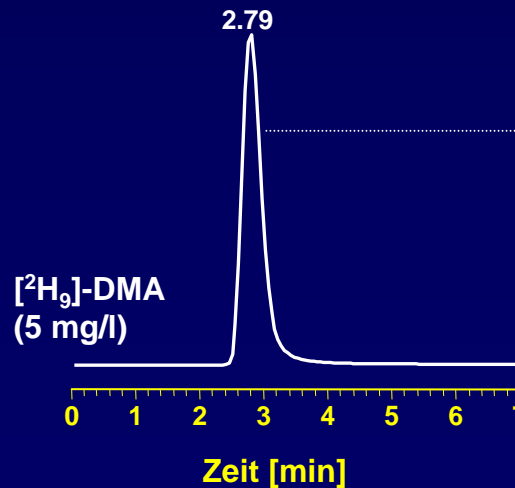
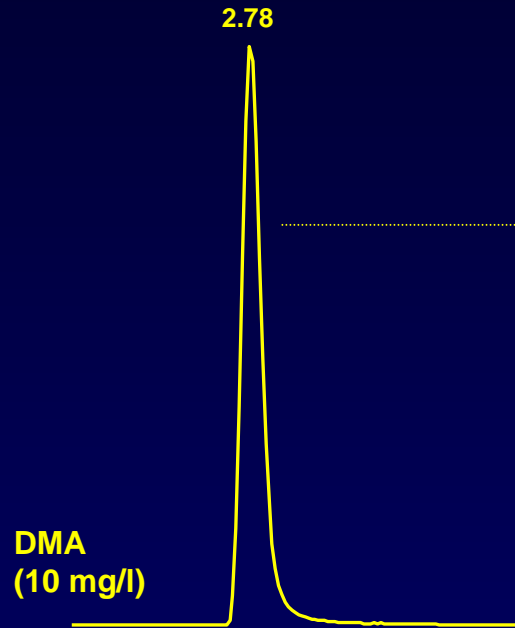
MS-Detektion:

H⁺-Addukt

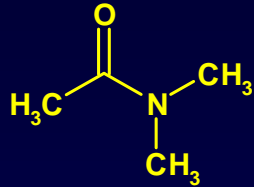
SIM-Modus

Linear von

0,1 mg/l – 10 mg/l



DMA: Bestimmung aus Plasma

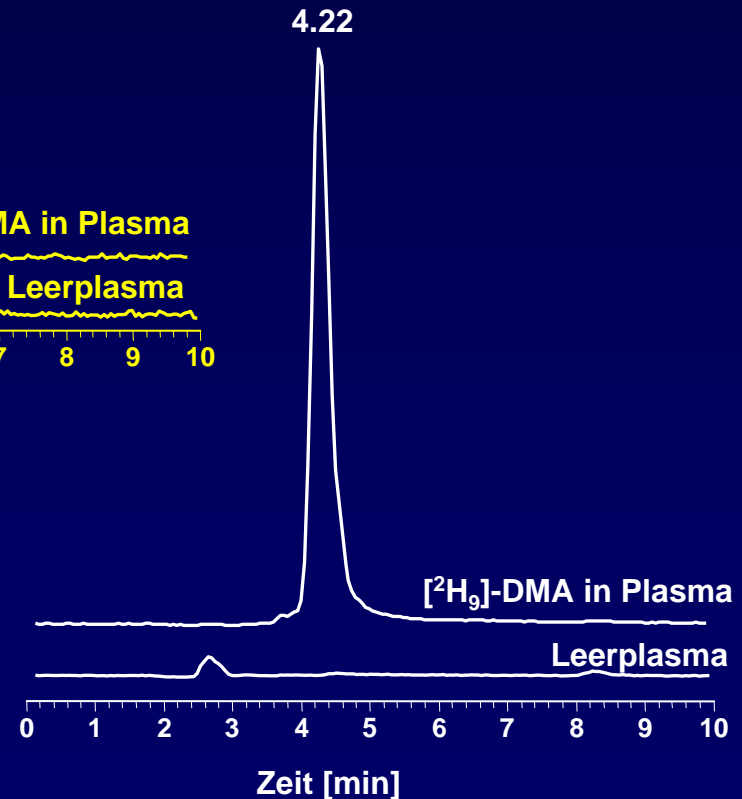
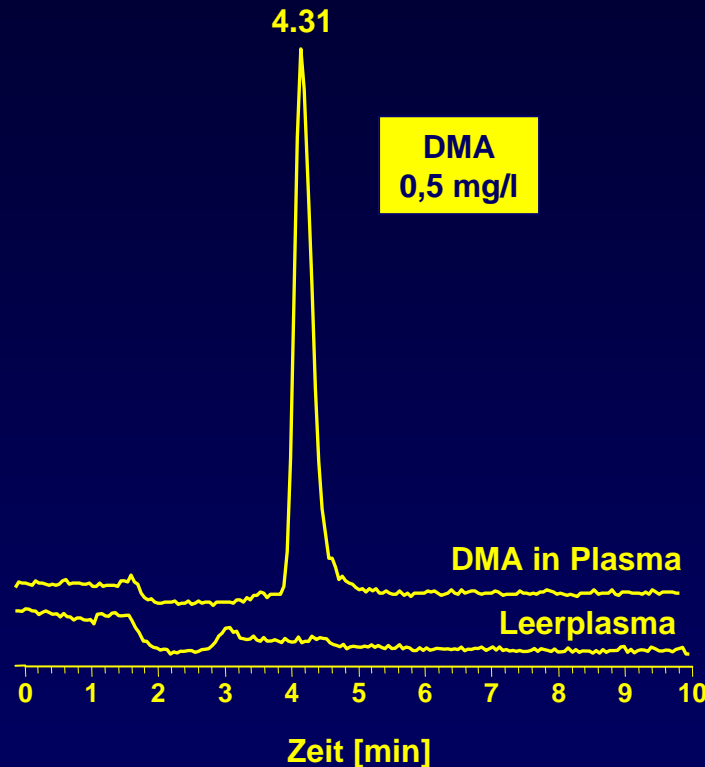


MW 87,1

Probenaufarbeitung:
TCA-Fällung aus
200 µl Plasma

HPLC-Methode:
H₂O / ACN
(+ 0,1% Ameisensäure)
isokratisch

MS-Detektion:
H⁺- Addukt
SIM-Modus:
m/z 87,6 – 88,6 DMA
m/z 96,6 – 97,6 ISTD



Zusammenfassung

Busulfan

- ✓ Bestimmungsmethode mit LOQ 5 µg/l
- ✓ Drug-Monitoring
- ✓ Therapiekontrolle bei Kindern

DMA

- ✓ Bestimmung relevanter Plasmakonzentrationen (0,5 mg/l)
- ? Etablierung der DMA-Bestimmungsmethode
- ? Monitoring und kinetische Auswertung von DMA

? Beurteilung: Toxizität Busulfan/ DMA in Busulfex®