



An Automated On-Line-SPE-HPLC Method for the Direct Pharmacokinetic Studies on Rat Plasma Samples of 3'-Azido Analogue of Doxorubicin

Weikang GUO ^{1#}, Xiaoning YANG ^{2#}, Lina GUO ¹, Ye XING ¹, Hui ZHAO ¹, Hanwen ZHANG ³, Shuwen YU ^{4,5}, Peng WANG ^{1,6}, Zheng YIN ¹, & Yaxin LU ^{1*}

¹ College of Pharmacy & Tianjin Key Laboratory of Molecular Drug Research, Nankai University, Tianjin 300071, P.R. China

² Tianjin Hemay Bio-Tech Co., Ltd., Tianjin 300192, P.R. China

³ College of Life Science, Nankai University, Tianjin 300071, P.R. China

⁴ Institute of Biochemical and Biotechnological Drug, School of Pharmaceutical Sciences, Shandong University, Jinan, Shandong 250100, P.R. China

⁵ Department of Pharmacy, Jinan Central Hospital, Jinan, Shandong 250012, P.R. China

⁶ State Key Laboratory of Medicinal Biological Chemistry, Nankai University, Tianjin 300071, P.R. China

SUMMARY. A solid phase extraction (SPE) column and a Venusil MP C18 column were jointly assembled to build an automated on-line-SPE-HPLC system. The rat plasma samples containing 3'-azido analogue of doxorubicin (ADOX), without any pre-treatment, were directly loaded onto the HPLC system, and pharmacokinetic (PK) analyses were accomplished by a diode array detector (DAD). Such an automated method reduced both the experimental period and batch variation. The lower limit of quantification (LLQQ) was 20 ng/mL and the linear dynamic range of the calibration curve was 20-2000 ng/mL. The intra-day and inter-day precisions were less than 5.7 and 6.6%, respectively. Fast *in vivo* clearance of ADOX was observed, and the elimination half-life was 0.86 h. Our work demonstrated the high efficiency and quality of a new automated on-line-SPE-HPLC method for PK studies in a drug development program. Moreover, the extensive discussions on the chromatographic conditions would shed light on the future applications of this automated method to other analytical projects.

RESUMEN. Una columna de extracción en fase sólida (SPE) y una columna Venusil MP C18 fueron ensambladas para construir un sistema automatizado on-line-SPE-HPLC. Las muestras de plasma de rata que contienen el análogo de 3'-azido de la doxorubicina (ADOX), sin ningún tratamiento previo se cargaron directamente en el sistema HPLC y los análisis farmacocinéticos (PK) se llevaron a cabo por un detector de red de diodos (DAD). El método automatizado redujo tanto el período experimental como la variación de lote. El límite inferior de cuantificación (LLQQ) fue de 20 ng/mL y el rango dinámico lineal de la curva de calibración fue 20-2000 ng/mL. Las precisiones intra-día e inter-día fueron menores de 5,7 y 6,6%, respectivamente. Se observó una rápida eliminación *in vivo* de ADOX y la vida media de eliminación fue de 0,86 h. Los resultados demostraron la eficiencia y calidad del nuevo método automatizado on-line-SPE-HPLC para los estudios farmacocinéticos en un programa de desarrollo de fármacos. Por otra parte, la discusión sobre las condiciones cromatográficas arrojarían luz sobre las futuras aplicaciones de este método automatizado a otros proyectos analíticos.

KEY WORDS: ADOX, Anthracycline, On-line-SPE-HPLC, Pharmacokinetic.

* Author to whom correspondence should be addressed. E-mail: yaxinlu@nankai.edu.cn

These authors contributed equally to this work as co-first authors.