



Simultaneous Determination of Gefitinib and its Active Metabolite by UPLC–MS/MS in Rat Plasma and its Application to a Pharmacokinetic Study

Jian-hua XIONG #,*, Lian-guo CHEN #, Ting-ting ZHU , Xiao-le CHEN, De-guan YU & Xiao-hua CAI

Wenzhou People's Hospital,
Wenzhou 325000, Zhejiang, PR China

SUMMARY. Gefitinib is an orally selective inhibitor of the epidermal growth factor receptor (EGFR) tyrosine kinase and is used as an oral monotherapy in patients with advanced non-small cell lung cancer (NSCLC). The aim of this study was to establish a rapid and sensitive ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) method for the determination of concentrations of gefitinib and its active metabolite O-desmethyl gefitinib in rat plasma. The gefitinib and its active metabolite and the internal standard (apartinib) were separated on an Acquity UPLC BEH C18 chromatography column (2.1 × 50 mm, 1.7 μm) using gradient elution with a mobile phase of acetonitrile and 5 mM ammonium acetate in water at a flow rate of 0.4 mL/min. The detection was performed on a triple quadrupole tandem mass spectrometer by multiple reaction monitoring (MRM) mode to monitor the precursor-to-product ion transitions of m/z 447.2→128.1 for gefitinib, m/z 433.1→128.1 for O-desmethyl gefitinib and m/z 398.3→212.1 for apartinib (IS) using a positive electrospray ionization interface. The method was validated for 1.0-4000 ng/mL for gefitinib and 0.1-100 ng/mL for O-desmethyl gefitinib using 100 μL of plasma sample. Total time for each chromatograph was 2.0 min. The intra- and inter-day precision and accuracy of the quality control samples at low, medium, and high concentration levels exhibited relative standard deviations (RSD) < 8.7% and the accuracy values ranged from -9.8 to 9.2%. The method was successfully applied to a pharmacokinetic study of gefitinib in rats after oral administration.

RESUMEN. Gefitinib es un inhibidor oral selectivo del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) tirosina quinasa y se utiliza como monoterapia oral en pacientes con cáncer avanzado de células no pequeñas de pulmón (NSCLC). El objetivo de este estudio fue establecer un método rápido y sensible de espectrometría de masas en tándem con cromatografía líquida de ultra rendimiento (UPLC-MS/MS) para la determinación de concentraciones de gefitinib y su metabolito activo O-desmetil gefitinib en plasma de rata. El gefitinib y su metabolito activo y el patrón interno (apartinib) se separaron en una columna de cromatografía Acquity UPLC BEH C18 (2,1 x 50 mm, 1,7 μm) utilizando elución en gradiente con una fase móvil de acetonitrilo y acetato de amonio 5 mM en agua a una tasa de 0,4 mL/min de flujo. La detección se realizó en un espectrómetro de triple cuadrupolo de masas en tándem por el modo de monitorización de reacción múltiple (MRM) para monitorizar las transiciones de m/z 447.2-precursor-producto a iones →128,1 para gefitinib, m/z 433,1→128,1 para gefitinib O-desmetil y m/z 398,3→212,1 para apartinib (SE), utilizando una interfaz de ionización electrospray positiva. El método fue validado de 1,0 a 4000 ng/mL para gefitinib y de 0,1 a 100 ng/mL para gefitinib O-desmetil, usando 100 μL de muestra de plasma. El tiempo total para cada cromatografía fue de 2,0 min. La precisión y exactitud intra e inter-día de las muestras de control de calidad a niveles de concentración bajo, medio y alto mostraron desviaciones estándar relativas (RSD) < 8,7% y los valores de precisión variaron entre -9,8 a 9,2%. El método se aplicó con éxito a un estudio farmacocinético de gefitinib en ratas después de la administración oral.

KEY WORDS: gefitinib, O-desmethyl gefitinib, UPLC-MS/MS, plasma, pharmacokinetics.

* Author to whom correspondence should be addressed. *E-mail:* wzxiongjianhua@126.com, xjhwzsrmyy@163.com

These authors contributed equally to this work.