



## Pharmacokinetic Study of Macitentan in Rat Plasma by Ultra Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry

Lianguo CHEN<sup>1</sup>, Suping YANG<sup>2</sup>, Zezheng LIU<sup>2</sup>, Lijing ZHANG<sup>2</sup>, Yingying LIN<sup>2</sup>,  
Minle CHEN<sup>3</sup>, Quan ZHOU<sup>3</sup>, Congcong WEN<sup>2</sup> & Xuebao WANG<sup>3</sup>\*

<sup>1</sup> Department of Pharmacy, Wenzhou People's Hospital, Wenzhou 325000, China.

<sup>2</sup> Laboratory Animal Centre, Wenzhou Medical University, Wenzhou 325035, China.

<sup>3</sup> Analytical and Testing Center, Wenzhou Medical University, Wenzhou 325035, China.

**SUMMARY.** Macitentan is a novel, orally active dual endothelin receptor antagonist, which is currently under investigation for the treatment of diseases associated with endothelin dysfunction, including pulmonary arterial hypertension (PAH). In this work, a sensitive and selective ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) method for determination of macitentan in rat plasma was developed and validated. After addition of diazepam as an internal standard (IS), protein precipitation by acetonitrile-methanol (9:1, v/v) was used to prepare samples. Chromatographic separation was achieved on a UPLC BEH C18 column (2.1 × 100 mm, 1.7 μm) with 0.1% formic acid and methanol as the mobile phase with gradient elution. An electrospray ionization source was applied and operated in positive ion mode; multiple reactions monitoring (MRM) mode was used for quantification using target fragment ions  $m/z$  588.9→203.4 for macitentan, and  $m/z$  285.1→193.1 for IS. Calibration plots were linear throughout the range 10-4000 ng/mL for macitentan in rat plasma. Mean recoveries of macitentan in rat plasma ranged from 80.2 to 93.0%. RSD of intra-day and inter-day precision were both < 12%. The accuracy of the method was between 89.3 and 105.1%. The method was successfully applied to pharmacokinetic study of macitentan after either oral or intravenous administration. The bioavailability of macitentan was reported as 79.6%.

**RESUMEN.** Macitentan es un nuevo receptor dual antagonista de endotelina activo por vía oral que se encuentra actualmente bajo investigación para el tratamiento de enfermedades asociadas con la disfunción de la endotelina, incluyendo la hipertensión arterial pulmonar (PAH). En este trabajo fue desarrollado y validado un método sensible y selectivo de ultra cromatografía líquida en tándem con espectrometría de masas (UPLC-MS/MS) para la determinación de macitentan en plasma de rata. Después de la adición de diazepam como estándar interno (IS), las proteínas se precipitaron con acetonitrilo-metanol (9:1, v/v) para preparar las muestras. La separación cromatográfica se desarrolló en una columna de UPLC BEH C18 (2,1 × 100 mm, 1,7 μm) con 0,1% de ácido fórmico y metanol como fase móvil, con gradiente de elución. Se aplicó una fuente de ionización por electrospray operada en modo ion positivo, utilizando el monitoreo en modo múltiples reacciones (MRM) para la cuantificación, usando iones fragmento diana  $m/z$  588,9→203,4 para macitentan y  $m/z$  285,1→193,1 para IS. Los gráficos de calibración fueron lineales en todo el rango de 10 a 4000 ng/mL para macitentan en plasma de rata. Las recuperaciones medias de macitentan en plasma de rata oscilaron entre 80,2 y 93,0%. La precisión RSD intra-día y entre días fueron ambos < 12%. La precisión del método estuvo entre 89,3 y 105,1%. El método se aplicó con éxito para el estudio farmacocinético de macitentan después de la administración oral o intravenosa. La biodisponibilidad de macitentan resultó ser 79,6%.

**KEY WORDS:** macitentan, UPLC-MS/MS, pharmacokinetics, rat

\* Author to whom correspondence should be addressed. E-mail: xuebao\_wang@163.com