

Determination of Ivabradine and its Main Metabolite in Rat Plasma by UPLC-MS/MS and its Application to Pharmacokinetics

Wei SUN¹, Cheng-Ke HUANG¹, Zhe WANG¹, Qing-Quan LIAN^{1,2},
Guo-Xin HU³, Zeng-Shou WANG^{1*} & Hui CHEN^{1*}

¹ The Second Affiliated Hospital & Yuying Children's Hospital
of Wenzhou Medical University, Wenzhou 325027, China

² Department of Anesthesiology, Critical Care and Pain Medicine,
Zhejiang Province Key Laboratory of Anesthesiology, Wenzhou 325027, China

³ School of Pharmacy, Wenzhou Medical College, Wenzhou 325035, China

SUMMARY. A sensitive and rapid high-performance liquid chromatography-mass spectrometry method (UPLC-MS/MS) was developed to determine ivabradine and its main metabolite: *N*-demethyl ivabradine in rat plasma using carbamazepine as the internal standard (IS). The analytes and IS were separated on a Waters ACQUITY BEH C18 column (50 mm × 2.1 mm i.d., 1.7 μm particle size) with a total run time of 3.0 min. The detection was performed on a triple quadrupole tandem mass spectrometer equipped with electrospray ionization (ESI) by multiple reactions monitoring (MRM) of the transitions at 469.3 → 177.2 for ivabradine, 455.2 → 262.2 for *N*-demethyl ivabradine and 237.1 → 194.2 for IS. The calibration curves were linear over the 0.2–100 ng/mL for ivabradine and 0.05–25 ng/mL for *N*-demethyl ivabradine in plasma, respectively. Relative standard deviation (RSD) of intra-day and inter-day precision were in the range of 2.36%–12.39% for ivabradine and 6.25%–13.51% for *N*-demethyl ivabradine, respectively. The developed method was successfully applied to pharmacokinetic studies after single intragastric administration of ivabradine 0.8 mg/kg to rats.

RESUMEN. Fue desarrollado un método de cromatografía líquida de alto rendimiento con espectrometría de masas sensible y rápido (UPLC-MS/MS) para determinar ivabradina y su metabolito principal: *N*-desmetil ivabradina en plasma de rata, utilizando carbamazepina (IS) como estándar interno (IS). Los analitos y el IS se separaron en una columna Waters ACQUITY BEH C18 (50 mm x 2,1 mm de diámetro, 1,7 μm de tamaño de partícula) con un tiempo de ejecución total de 3,0 min. La detección se realizó en un espectrómetro de triple cuadrupolo de masas en tándem con ionización por electro spray (ESI) mediante seguimiento de múltiples reacciones (MRM) de las transiciones a 469,3→177,2 para ivabradina, 455,2→262,2 para ivabradina *N*-desmetil y 237,1→194,2 para el IS. Las curvas de calibración fueron lineales entre 0,2 y 100 ng/mL para la ivabradina y 0,05-25 ng/mL para *N*-desmetil ivabradina en plasma, respectivamente. La desviación estándar relativa (RSD) de la precisión intra-día y entre días estaba en el rango de 2,36-12,39% para ivabradina y 6,25-13,51% para *N*-desmetil ivabradina, respectivamente. El método desarrollado se aplicó con éxito en estudios farmacocinéticos después de la administración intragástrica única de 0,8 mg/kg de ivabradina a ratas.

KEY WORDS: ivabradine, pharmacokinetics, rat plasma, UPLC-MS/MS.

* To whom correspondence should be addressed. *E-mails:* wzchenhui@126.com (Hui Chen), wzwangzs@126.com (Zeng-Shou Wang).