



## An Easily Implementable Liquid Chromatography Assay for Therapeutic Drug Monitoring of Irinotecan and Major Metabolites in Plasma

Roberta Z. HAHN <sup>1,2</sup>, Priscila C. ARNHOLD <sup>1</sup>, Natalia B. ANDRIGUETTI <sup>1,2</sup>,  
Anelise SCHNEIDER <sup>1</sup>, Helena KLÜCK <sup>3</sup>, Ramon M.M. VILELA <sup>3</sup>, Simone L. DOS REIS <sup>3</sup>,  
Gilberto SCHWARTSMANN <sup>3</sup>, Marina V. ANTUNES <sup>1,2</sup> & Rafael LINDEN <sup>1,2</sup> \*

<sup>1</sup> Analytical Toxicology Laboratory, Universidade Feevale, Novo Hamburgo-RS, Brazil

<sup>2</sup> Graduate Program on Toxicology and Analytical Toxicology,  
Universidade Feevale, Novo Hamburgo-RS, Brazil

<sup>3</sup> Serviço de Oncologia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre-RS, Brazil

**SUMMARY.** The objective of this study was to develop an easily implementable liquid-chromatographic assay for clinical application in therapeutic drug monitoring of irinotecan (IRI), including the metabolite SN-38 and its glucuronide SN-38G. IRI and the metabolites SN-38 and SN-38G were extracted from plasma, after protein precipitation, with methyl-*tert*-butyl ether. SN-38G levels were estimated by treating plasma with  $\beta$ -glucuronidase and evaluating the difference of SN-38 levels. Separation was performed in a reversed phase column with isocratic elution and fluorescence detection. Total chromatographic run time was 19 min. The assay was linear in the range of 10 to 3,000 ng/mL for IRI and 1 to 300 ng/mL for SN-38. Accuracy was 97.8-105.2%, intra-assay precision was 2.1-4.72% and inter-assay precision was of 1.66-4.37%. The assay was applied in samples from 10 patients under IRI chemotherapy. The assay was validated and due to its simple setup can be implemented in clinical laboratories aiming to pharmacokinetically individualize IRI doses. Particularly, the simple estimation of the glucuronidation ratio of the active metabolite SN-38 can be used to identify patients on risk for severe toxicity.

**RESUMEN.** El objetivo de este estudio fue desarrollar un ensayo cromatográfico líquido fácilmente implementable para la aplicación clínica en la monitorización terapéutica del fármaco del irinotecán (IRI), que incluye el metabolito SN-38 y su glucurónido SN-38G. IRI y los metabolitos SN-38 y SN-38G se extrajeron del plasma, después de la precipitación de proteínas, con metil-*tert*-butil éter. Los niveles de SN-38G se estimaron tratando el plasma con  $\beta$ -glucuronidasa y evaluando la diferencia de los niveles de SN-38. La separación se realizó en una columna de fase invertida con elución isocrática y detección de fluorescencia. El tiempo total de ejecución cromatográfica fue de 19 min. El ensayo fue lineal en el intervalo de 10 a 3.000 ng/mL para IRI y de 1 a 300 ng/mL para SN-38. La precisión fue de 97.8-105.2%, la precisión intra-ensayo fue de 2.1-4.72% y la precisión entre ensayos fue de 1.66-4.37%. El ensayo se aplicó en muestras de 10 pacientes con quimioterapia IRI. El ensayo fue validado y debido a su configuración simple puede implementarse en laboratorios clínicos con el objetivo de individualizar farmacocinéticamente las dosis de IRI. Particularmente, la simple estimación de la relación de glucuronidación del metabolito activo SN-38 puede usarse para identificar pacientes con riesgo de toxicidad grave.

**KEY WORDS:** HPLC-FL ; irinotecan; SN-38; therapeutic drug monitoring.

\* Author to whom correspondence should be addressed. *E-mail:* rafael.linden@feevale.br