

## UPLC-MS/MS Method for the Quantification of a Novel Non-Steroidal Androgen Receptor Inhibitor Apalutamide in Rat Plasma

Qiong WANG<sup>1</sup>, Youyan ZHONG<sup>1</sup>, Haiyun WANG<sup>1</sup> & Yun XIANG<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup> Wenzhou People's Hospital, Wenzhou, Zhejiang 325000, China

<sup>2</sup> The People's Hospital of Lishui, Lishui, Zhejiang 323000, China

**SUMMARY.** In this study, our aim was to develop and validate a sensitive and selective ultra performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) assay for the quantification of apalutamide in rat plasma. After addition of diazepam as internal standard (IS), sample preparation was finished by acetonitrile through protein precipitation. An Acquity UPLC BEH C18 (2.1 × 50 mm, 1.7 μm) was used for chromatographic separation, and the mobile phase consisted of 0.1% formic acid in water and acetonitrile with gradient elution. Apalutamide was monitored by *m/z* 478.2→221.1 transition for quantification and *m/z* 478.2→450.0 transition for qualification in multiple reaction monitoring (MRM) mode with electrospray ionization (ESI) source. The standard curve of apalutamide in rat plasma was linear over the range of 0.5-2500 ng/mL, and lower limit of quantification (LLOQ) was 0.5 ng/mL. Both inter- and intra-day precision and accuracy were assessed and showed better than 13.9%. In addition, recovery of apalutamide from rat plasma was in the range of 88.0-96.1%. The validated method proved stability for apalutamide in rat plasma and was suitable for pharmacokinetic studies of apalutamide in rats due to its high sensitivity, high recovery and low cost.

**RESUMEN.** Nuestro objetivo en este estudio fue desarrollar y validar una técnica de cromatografía líquida sensible y selectiva de ultra rendimiento con un ensayo de espectrometría de masas en tándem (UPLC-MS/MS) para la cuantificación de apalutamida en plasma de rata. Después de la adición de diazepam como estándar interno (IS), la preparación de la muestra se terminó por acetonitrilo a través de precipitación de proteínas. Se usó una columna Acquity UPLC BEH C18 (2,1 × 50 mm, 1,7 μm) para la separación cromatográfica, y la fase móvil consistió en ácido fórmico al 0,1% en agua y acetonitrilo con gradiente de elución. La apalutamida se controló mediante la transición *m/z* 478.2→221.1 para la cuantificación y la transición *m/z* 478.2→450.0 para la calificación en el modo de monitoreo de reacción múltiple (MRM) con fuente de ionización por electroaspersión (ESI). La curva estándar de apalutamida en plasma de rata fue lineal en el rango de 0.5-2500 ng/mL, y el límite inferior de cuantificación (LLOQ) fue de 0.5 ng/mL. Tanto la seguridad como la precisión inter- e intradiaria se evaluaron y resultaron mayores al 13.9%. Además, la recuperación de apalutamida del plasma de rata estuvo en el rango de 88.0-96.1%. El método validado demostró estabilidad para apalutamida en plasma de rata y fue adecuado para estudios farmacocinéticos de apalutamida en ratas debido a su alta sensibilidad, alta recuperación y bajo costo.

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

\* Author to whom correspondence should be addressed. E-mail: 502767289@qq.com