



Development and Validation of a RP-HPLC Method for Vemurafenib in Human Urine

Gülşen GÜVEN *

Department of Chemistry, Faculty of Arts and Sciences,
Aydın Adnan Menderes University, Aydın, Turkey

SUMMARY. Vemurafenib (propane-1-sulfonic acid{3-[5-(4-chlorophenyl)-1H-pyrrolo[2,3-b]pyridine-3-carbonyl]-2,4difluoro-phenyl}-amide) is a BRAF enzyme inhibitor approved by the U.S. Food and Drug Administration (FDA) for the treatment of late stage melanoma. Reversed phase high performance liquid chromatography (RP-HPLC) method was developed and validated for the determination of vemurafenib and erlotinib was used as an internal standard. Erlotinib (IS) and vemurafenib were separated by using a X-Terra RP-18 column (250 x 4.60 mm, ID 5 μ m) and detected by a DAD detector set at 249 nm. The mobile phase consisted of a mixture of acetonitrile:water 60:40 (v/v) at a flow rate of 1.0 mL/min. Isocratic separation was performed in less than 7 min. The calibration was found to be linear in the range 0.2-10 mg/L. Inter-day and intra-day precision was less than 0.72 %. This analytical method was successfully applied in spiked samples of human urine.

RESUMEN. Vemurafenib (ácido propano-1-sulfónico{3-[5-(4-clorofenil)-1H-pirrollo[2,3-b] piridina-3-carbonil]-2,4difluoro-fenil}-amida) es una inhibidor enzimático del BRAF aprobado por la Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos (FDA) para el tratamiento del melanoma en etapa tardía. El método de cromatografía líquida de alto rendimiento de fase inversa (RP-HPLC) fue desarrollado y validado para la determinación de vemurafenib y se utilizó erlotinib como estándar interno. Erlotinib (IS) y vemurafenib se separaron mediante el uso de una columna X-Terra RP-18 (250 x 4,60 mm, ID 5 μ m) y se detectaron mediante un detector DAD configurado a 249 nm. La fase móvil consistió en una mezcla de acetonitrilo: agua 60:40 (v/v) a un caudal de 1,0 mL/min. La separación isocrática se realizó en menos de 7 min. Se encontró que la calibración era lineal en el rango de 0.2-10 mg/L. La precisión interdía e intradía fue inferior al 0,72%. Este método analítico se aplicó con éxito en muestras enriquecidas de orina humana.

KEY WORDS: human urine, liquid chromatography, vemurafenib.

* Author to whom correspondence should be addressed. E-mail: gguven@adu.edu.tr