

## Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometric Assay for AZD9291 in Rat Plasma

Xin-juan SU, Jie HU \*, Lei ZHANG & Li LI

Luoyang Central Hospital Affiliated to Zhengzhou University,  
471003 Luoyang, PR China

**SUMMARY.** An ultra-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) method was developed to determine AZD9291 in rat plasma using carbamazepine as internal standard (IS). Sample preparation was accomplished through a protein precipitation procedure with acetonitrile to 0.1 mL plasma sample. The analyte and IS were separated on an Acquity UPLC BEH C18 column (2.1 × 50 mm, 1.7 μm) with the mobile phase of acetonitrile and 0.1% formic acid in water with gradient elution at a flow rate of 0.40 mL/min. The injection volume was 2 μL. 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  $m/z$  500.3→72.0 for AZD9291 and  $m/z$  237.1→194.2 for IS. The linearity of this method was found to be within the concentration range of 2-500 ng/mL with a lower limit of quantification of 2 ng/mL. Only 3.0 min was needed for an analytical run. The matrix effect was 92.4 to 106.1% for AZD9291. The intra- and inter-day precision (RSD%) were less than 8.9% and accuracy (RE%) was within ± 8.0%. The recovery ranged from 75.7 to 82.0%. AZD9291 was sufficiently stable under all relevant analytical conditions. The method was also successfully applied to the pharmacokinetic study of AZD9291 in rats. The pharmacokinetic parameters were demonstrated as followed:  $t_{1/2}$  was 8.18 ± 1.36 h,  $C_{max}$  was 415.99 ± 132.88 ng/mL, and  $AUC_{0-∞}$  was 4973.66 ± 959.19 ng/mL·h.

**RESUMEN.** Se desarrolló un método de espectrometría de masas en tándem con cromatografía líquida de alto rendimiento (UPLC-MS/MS) para determinar AZD9291 en plasma de rata usando carbamazepina como estándar interno (IS). La preparación de la muestra se realizó mediante un procedimiento de precipitación de proteínas con acetonitrilo de 0,1 mL de muestra de plasma. El analito y el IS se separaron en una columna Acquity UPLC BEH C18 (2,1 × 50 mm, 1,7 μm) con la fase móvil de acetonitrilo y ácido fórmico al 0,1% en agua, con elución en gradiente a un caudal de 0,40 mL/min. El volumen de inyección fue de 2 μL. La detección se realizó en un espectrómetro de masas tándem de triple cuadrupolo equipado con ionización por electronebulización (ESI) mediante el monitoreo de múltiples reacciones (MRM) de las transiciones a  $m/z$  500.3→72.0 para AZD9291 y  $m/z$  237.1→194.2 para IS. Se encontró que la linealidad de este método está dentro del rango de concentración de 2-500 ng/mL con un límite inferior de cuantificación de 2 ng/mL. Sólo se necesitaron 3.0 min para una corrida analítica. El efecto matriz fue de 92,4 a 106,1% para AZD9291. La precisión intra- e inter-día (RSD%) fue inferior al 8,9% y la precisión (RE%) fue de ± 8,0%. La recuperación osciló entre 75,7 y 82,0%. AZD9291 fue suficientemente estable en todas las condiciones analíticas relevantes. El método también se aplicó con éxito al estudio farmacocinético de AZD9291 en ratas. Los parámetros farmacocinéticos fueron los siguientes:  $t_{1/2}$  fue de 8.18 ± 1.36 h, la  $C_{max}$  fue de 415.99 ± 132.88 ng / mL y el  $AUC_{0-∞}$  fue de 4973.66 ± 959.19 ng/mL·h.

**KEY WORDS:** AZD9291, pharmacokinetics, rat plasma, UPLC-MS/MS.

\* Author to whom correspondence should be addressed. E-mail: luoyanghujie@126.com