

A Simplified, Accurate and Feasible LC-MS/MS Method for the Quantification of Dabigatran and its Application to a Pharmacokinetic Study in Healthy Chinese Subjects

Yilin WANG^{1,2} & Yan WANG^{1,2} *

¹ College of Pharmacy, Dali University, Dali 671000, China

² Yunnan Key Laboratory of Screening and Research on Anti-pathogenic Plant Resources from Western Yunnan (Cultivation), Dali 671000, China

SUMMARY. A simplified, reliable and accurate liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) method was developed and validated for the quantification of dabigatran in human plasma. The method was also evaluated for its applicability for pharmacokinetic studies in healthy Chinese subjects. Dabigatran was extracted from plasma by protein precipitation method using acetonitrile. A Hanbon Hedera ODS-2 and a mobile phase consisting of 0.2% formic acid aqueous (containing 2 mM ammonium acetate) and methanol were used to achieve chromatographic separation. The flow rate was set at 0.5 mL/min. Dabigatran and benazeprilat, which was employed as the internal standard (IS), were analyzed by multiple reaction monitoring in positive electrospray ionization source (ESI) mode at m/z transitions of 471.7→289.2 for dabigatran and 397.2→351.2 for IS. The lower limit of quantification of dabigatran was 1.038 ng/mL, and the calibration curve was linear over a concentration range of 1.038-415.2 ng/mL ($r \geq 0.9935$). The validation parameters, which included specificity, precision, accuracy, matrix effect, extraction recovery, and stability, were well within acceptable limits. The major advantages of the current approach involve one-step precipitation of plasma protein with acetonitrile, selectivity with a lower limit of quantitation of 1.038 ng/mL and a short run time of 5 min per sample, which allow its applicability for a pharmacokinetic study in healthy Chinese subjects.

RESUMEN. Se desarrolló y validó un método simplificado, fiable y preciso de cromatografía líquida y espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS) para la cuantificación de dabigatrán en plasma humano. El método también se evaluó en cuanto a su aplicabilidad para estudios farmacocinéticos en sujetos chinos sanos. El dabigatrán se extrajo del plasma mediante el método de precipitación de proteínas utilizando acetonitrilo. Se usaron un Hanbon Hedera ODS-2 y una fase móvil que consistía en una solución acuosa de ácido fórmico al 0,2 % (que contenía acetato de amonio 2 mM) y metanol para lograr la separación cromatográfica. El caudal se fijó en 0,5 ml/min. Dabigatrán y benazeprilato, que se empleó como patrón interno (IS), se analizaron mediante monitorización de reacciones múltiples en modo de fuente de ionización por electropulverización positiva (ESI) en transiciones m/z de 471,7→289,2 para dabigatrán y 397,2→351,2 para IS. El límite inferior de cuantificación de dabigatrán fue de 1,038 ng/mL y la curva de calibración fue lineal en un rango de concentración de 1,038-415,2 ng/mL ($r \geq 0,9935$). Los parámetros de validación, que incluyeron especificidad, precisión, exactitud, efecto de matriz, recuperación de extracción y estabilidad, estuvieron dentro de los límites aceptables. Las principales ventajas del enfoque actual implican la precipitación en un solo paso de la proteína plasmática con acetonitrilo, la selectividad con un límite inferior de cuantificación de 1,038 ng/mL y un tiempo de ejecución corto de 5 min por muestra, lo que permite su aplicabilidad para un estudio farmacocinético en sujetos chinos sanos.

KEY WORDS: dabigatran, LC-MS/MS, pharmacokinetics

* Author to whom correspondence should be addressed. *E-mail:* jessica9428@sina.com