



Highly Sensitive HPLC Method with Non-extractive Sample Preparation and Fluorescence Detection for Determination of Crizotinib in Human Plasma

Nasr Y. KHALIL, Tanveer A. WANI, Ibrahim A. DARWISH* & Abdel-Rahman A. AL-MAJED

Department of Pharmaceutical Chemistry, College of Pharmacy,
King Saud University, P.O. Box 2457, Riyadh 11451, Saudi Arabia.

SUMMARY. This study describes the development and validation of a highly sensitive HPLC method with fluorescence detection for the determination of crizotinib (CZT) in human plasma. Telmisartan (TLM) was used as internal standard (IS). After a simple protein precipitation using methanol, CZT and TLM (IS) were separated by isocratic mode on a μ -Bondapak CN column, (150 mm length \times 3.9 mm i.d., 5 μ m particle diameter) using a mobile phase consisted of 1% acetic acid:acetonitrile (70:30, v/v). CZT and TLM were eluted at 2.18 and 3.42 min, respectively. The detection of CZT and TLM (IS) was carried out at a wavelength of 264 nm for excitation and 382 nm for emission. Under the optimum chromatographic conditions, linear relationships with excellent correlation coefficient ($r = 0.9999$, $n = 6$) were found between the peak area ratio of CZT to that of TLM and the concentration of CZT in the concentration range of 2-512 ng/mL. The accuracy of the method was also validated and the % recovery values from spiked human plasma for the intra-day analysis were 98.37 – 103.01% with a mean value of 100.69% \pm 7.26% whereas the values for the inter-day analysis were 98.37 – 102.44% with a mean value of 100.26% \pm 7.06%. The method had higher throughput as it involved simple sample preparation procedure and short run-time (<5 min). The results demonstrated the great value of the proposed method in pharmacokinetic studies of CZT.

RESUMEN. Este estudio describe el desarrollo y validación de un método de HPLC de alta sensibilidad con detección por fluorescencia para la determinación de crizotinib (CZT) en plasma humano, utilizando telmisartan (TLM) como estándar interno (IS). Después de una sencilla precipitación de proteínas usando metanol, CZT y TLM se separaron en modo isocrático en una columna μ -Bondapak CN (longitud 150 mm \times 3.9 mm d.i., 5 μ m de diámetro de partícula) usando una fase móvil de 1 % acético ácido-acetonitrilo (70:30, v/v). CZT y TLM eluyeron a 2,18 y 3,42 min, respectivamente. La detección de CZT y TLM se llevó a cabo a una longitud de onda de 264 nm para la excitación y 382 nm para la emisión. Bajo las condiciones cromatográficas óptimas, fueron encontradas relaciones lineales con un excelente coeficiente de correlación ($r = 0,9999$, $n = 6$) entre la relación de área de pico de CZT a la de TLM y la concentración de CZT en el intervalo de concentración de 2-512 ng/mL. La precisión del método también se validó y los valores de recuperación % de plasma humano para el análisis intra-día fueron 98,37 a 103,01 %, con un valor medio de 100,69 \pm 7,26 %, mientras que los valores para el análisis inter-día fueron 98,37-102,44 % con un valor medio de 100,26 \pm 7,06 %. El método tiene un alto rendimiento pues implica un sencillo procedimiento de preparación de la muestra y un tiempo de ejecución corto (< 5 min). Los resultados demostraron el gran valor del método propuesto en el estudio farmacocinético de CZT.

KEY WORDS: Crizotinib, Fluorescence detection, High throughput analysis, HPLC, Pharmacokinetic studies, Plasma.

* Author to whom correspondence should be addressed. E-mail: idarwish@ksu.edu.sa