



A Simple HPLC Method for the Determination of Fluconazole in Human Plasma and Application to a Pharmacokinetic Study

Shuang YUAN ¹, Li SONG ¹, Liu-chuang ZHENG ¹, Yu LI ², Jian-fei QIU ² & Li-gong HOU ¹ *

¹ Children's Hospital of Zhengzhou, Zhengzhou Institute of pediatric research, Zhengzhou, 450053, China

² Medical College of Henan University of Science and Technology, Luoyang 471003, China

SUMMARY. In this study, a simple, rapid and sensitive high performance liquid chromatography (HPLC) method is developed for determination of fluconazole (FLA) in human plasma samples using phenacetin as the internal standard (IS). Sample preparation was accomplished through one-step liquid-liquid extraction by ethyl acetate, and chromatographic separation was carried out on a Hypersil ODS-C18 (4.6 × 250 mm, 5 μm) at 40 °C. Mobile phase composed of a mixture of acetonitrile-0.15 M NaH₂PO₄-water (27:27:46) at flow rate of 0.8 mL/min. Wavelength was set at 261 nm. The chromatographic retention times of FLA and IS were 5.9 and 7.4 min, respectively. The lower limit of quantitation (LLOQ) was 0.05 μg/mL, and no interferences were detected in the chromatograms. The devised HPLC method was validated by evaluating its intra- and inter-day precisions and accuracies in a linear concentration range between 0.05 and 10.00 μg/mL. The method was successfully applied to a pharmacokinetic study of oral FLA capsules in Chinese healthy volunteers.

RESUMEN. En este estudio se ha desarrollado un método de cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) simple, rápido y sensible para la determinación de fluconazol (FLA) en muestras de plasma humano utilizando fenacetina como patrón interno (IS). La preparación de la muestra se llevó a cabo a través de extracción líquido-líquido de un solo paso con acetato de etilo y la separación cromatográfica se realizó con una columna Hypersil ODS-C18 (4,6 x 250 mm, 5 μm) a 40 ° C. La fase móvil está compuesta de una mezcla de acetonitrilo-0.15 M-NaH₂PO₄-agua (27:27:46) a un caudal de 0,8 mL/min. La longitud de onda se fijó en 261 nm. Los tiempos de retención cromatográficos de FLA y de IS fueron de 5,9 y 7,4 minutos, respectivamente. El límite inferior de cuantificación (LLOQ) fue de 0,05 μg/mL y no se detectaron interferencias en los cromatogramas. El método HPLC ideado fue validado mediante la evaluación de sus precisiones intra-e inter-día y una precisión en un rango de concentración lineal entre 0,05 y 10,00 μg/mL. El método se aplicó con éxito a un estudio farmacocinético de cápsulas FLA orales en voluntarios sanos chinos.

KEY WORDS: Fluconazole, HPLC, Plasma, Pharmacokinetic study.

* Author to whom correspondence should be addressed. E-mail: houligong88@163.com