



## Determination of Hydrochlorothiazide in Human Plasma by HPLC: Application to a Pharmacokinetic Study

Bao-fang PEI<sup>1</sup>, Han GUO<sup>1</sup>, Liu-chuang ZHENG<sup>1</sup>, Ming SUN<sup>2</sup>,  
Jian-fei QIU<sup>2</sup>, Hai-yan CHEN<sup>1</sup>, & You-hong HU<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Children's Hospital of Zhengzhou, Zhengzhou Institute of Pediatric Research, Zhengzhou, 450053, China

<sup>2</sup> 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 the determination of hydrochlorothiazide (HCT) in human plasma samples using fluconazole as the internal standard (IS). Sample preparation was accomplished through liquid-liquid extraction, and chromatographic separation was carried out on an Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C18 (4.6 × 150 mm, 5 μm) at 30 °C. Mobile phase composed of a mixture of acetonitrile-0.1% trifluoroacetic acid-water (20:40:40) at flow rate of 0.8 mL/min. Wavelength was set at 266 nm. The chromatographic retention times of HCT and IS were 4.2 and 5.5 min, respectively. The lower limit of quantitation (LLOQ) was 5 ng/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 5 and 400 ng/mL. The method was successfully applied to a pharmacokinetic study of oral HCT tablets in Chinese healthy volunteers.

**RESUMEN.** En este estudio se ha desarrollado un método simple, rápido y sensible de cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) para la determinación de la hidroclorotiazida (HCT) en muestras de plasma humano, usando fluconazol como patrón interno (IS). La preparación de la muestra se llevó a cabo mediante extracción líquido-líquido y la separación cromatográfica se realizó en un Agilent Zorbax Eclipse XDB-C18 (4,6 × 150 mm, 5 μm) a 30 °C. La fase móvil estuvo compuesta de una mezcla de agua-acetonitrilo-ácido trifluoroacético 0,1% (20:40:40) a un caudal de 0,8 mL/min. La longitud de onda se fijó en 266 nm. Los tiempos de retención cromatográficos de HCT e IS fueron 4,2 y 5,5 min, respectivamente. El límite inferior de cuantificación (LLOQ) fue de 5 ng/mL y no se detectaron interferencias en los cromatogramas. El método de HPLC desarrollado fue validado mediante la evaluación de sus precisiones y exactitudes intra- e inter-día en un rango de concentración lineal entre 5 y 400 ng/mL. El método se aplicó con éxito a un estudio farmacocinético de tabletas de HCT en voluntarios sanos chinos.

**KEY WORDS:** Hydrochlorothiazide, HPLC, Plasma, Pharmacokinetic study.

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