



Quantitative Analysis of Acetaminophen in Human Plasma by HPLC

Chenwei PAN¹, Weilai CHEN², Wei LIN¹, Lingxiang JIN¹,
Lu ZHUGE¹, Yi ZHENG¹, Peipei FANG¹ & Guangyao ZHOU^{1*}

¹ The Second Affiliated Hospital & Yuying Children's Hospital
of Wenzhou Medical University, Wenzhou 325027, China

² Wenzhou People's Hospital, Wenzhou 325027, China

SUMMARY. In this study, a simple, rapid and sensitive high performance liquid chromatography (HPLC) method is developed for the determination of acetaminophen (APAP) in human plasma samples using theophylline as the internal standard (IS). Sample preparation was accomplished through 35% perchloric acid precipitation, and chromatographic separation was carried out on an Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C18 (4.6 × 150 mm, 5 μm) at 40 °C. Mobile phase composed of a mixture of methanol-0.1% trifluoroacetic acid-water (29:20:51) at flow rate of 0.8 mL/min. Wavelength was set at 266 nm (0-3.5 min) and 274 nm (3.5-4.5 min). The chromatographic retention times of APAP and IS were 3.1 and 3.8 min, respectively. The lower limit of quantitation (LLOQ) was 50 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 50 and 10000 ng/mL. The method was successfully applied to a pharmacokinetic study of oral APAP 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 acetaminofeno (APAP) en muestras de plasma humano, utilizando teofilina como estándar interno (IS). La preparación de la muestra se llevó a cabo por precipitación con ácido perclórico al 35% y la separación cromatográfica se realizó en un equipo Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C18 (4,6 x 150 mm, 5 μm) a 40 °C. La fase móvil estuvo compuesta de una mezcla de agua-metanol-ácido trifluoroacético al 0,1% (29:20:51) a un caudal de 0,8 mL/min. La longitud de onda se fijó en 266 nm (0-3,5 min) y 274 nm (3,5 a 4,5 min). Los tiempos de retención cromatográficos de APAP e IS fueron de 3,1 y 3,8 minutos, respectivamente. El límite inferior de cuantificación (LLOQ) fue de 50 ng/mL y no se detectaron interferencias en los cromatogramas. El método de HPLC desarrollado fue validado mediante la evaluación de su precisión y seguridad intra- e inter-día en un rango de concentración lineal entre 50 y 10.000 ng/mL. El método se aplicó con éxito a un estudio farmacocinético de tabletas de APAP en voluntarios sanos chinos.

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

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