

Quantification of Lorazepam in Human Plasma Using HPLC: Application to a Pharmacokinetic Study

Jian-fang FENG¹, Rui-le SHEN², Dong-tao ZHANG¹,
Zhen-yu DONG¹, Dong-dong ZHANG¹, Hong-yun WANG^{3*}

¹ Medical College of Henan University of Science and Technology, Luoyang, 471003, PR China

² The First Affiliated Hospital of Henan University of Science and Technology, Luoyang, 471003, PR China

³ School of Nursing of Henan University of Science and Technology, Luoyang, 471003, PR China

SUMMARY. In this study, a simple, rapid and sensitive high performance liquid chromatography (HPLC) method is developed for the determination of lorazepam in human plasma samples using diazepam as the internal standard (IS). Sample preparation was accomplished through one-step liquid-liquid extraction with diethyl ether, and chromatographic separation was carried out on an Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C8 (4.6 × 150 mm, 5 μm) at 25 °C. Mobile phase composed of a mixture of acetonitrile-water (39:61) at flow rate of 1.0 mL/min. Wavelength was set at 230 nm. The chromatographic retention times of lorazepam and IS were 3.3 and 5.6 min, respectively. The lower limit of quantitation (LLOQ) was 2 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 2 and 200 ng/mL. The method was successfully applied to a pharmacokinetic study of oral lorazepam 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 lorazepam en muestras de plasma humanos utilizando diazepam como estándar interno (IS). La preparación de la muestra se llevó a cabo a través de extracción líquido-líquido de un solo paso con éter dietílico, y la separación cromatográfica se realizó en un Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C8 (4,6 × 150 mm, 5 μm) a 25 °C. La fase móvil estaba compuesta de una mezcla de acetonitrilo-agua (39:61) a un caudal de 1,0 mL/min. La longitud de onda se fijó en 230 nm. Los tiempos de retención cromatográficos de lorazepam y IS fueron 3,3 y 5,6 min, respectivamente. El límite inferior de cuantificación (LLOQ) fue de 2 ng/ml, y no se detectaron interferencias en los cromatogramas. El método HPLC ideado fue validado mediante la evaluación de sus intra e inter-día precisiones y exactitudes en un rango de concentración lineal de entre 2 y 200 ng/mL. El método se aplicó con éxito a un estudio farmacocinético de tabletas de lorazepam en voluntarios sanos chinos.

KEY WORDS: HPLC, human plasma, lorazepam, pharmacokinetic study.

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