



## Determination of 5-Fluorouracil in Plasma Using High-Performance Liquid Chromatography with Porous Graphitic Carbon Stationary Phase and Diode Array Detection

Bruna TANG, Roberta Z. HAHN, Anelise SCHNEIDER,  
Marina V. ANTUNES & Rafael LINDEN \*

Toxicological Analysis Laboratory, Instituto de Ciências da Saúde,  
Universidade Feevale, Novo Hamburgo-RS, Brazil

**SUMMARY.** The aim of this study was to develop and validate a high-performance liquid chromatographic method for the measurement of plasma concentrations of 5-fluorouracil in the context of therapeutic drug monitoring. 5-FU was extracted from 500  $\mu\text{L}$  plasma samples with a mixture of ethyl acetate after protein precipitation with acetonitrile. The extract was injected in the porous graphitic carbon stationary phase and eluted with a mixture of water and acetonitrile (85:15, v/v), in isocratic mode. Chromatograms were monitored at 260 nm. Chromatographic run time was 10 min. The assay was linear in the concentration range of 50 to 2,500  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Intra- and inter-assay precision was 1.2-2.2 % and 3.9-8.1 %, respectively. Accuracy was 97.1-108.6. Processed samples are stable up to 12 h in the autosampler and for three freeze and thaw cycles. The developed method was fully validated and might be suitable to therapeutic drug monitoring of 5-FU in patients receiving infusional chemotherapy with this drug.

**RESUMEN.** El objetivo de este estudio fue desarrollar y validar un método de cromatografía líquida de alta resolución para la medición de las concentraciones plasmáticas de 5-fluorouracilo en el contexto de la monitorización terapéutica. 5-FU se extrajo a partir de 500  $\mu\text{L}$  de muestras de plasma con una mezcla de acetato de etilo después de la precipitación de las proteínas con acetonitrilo. El extracto se inyectó en la fase estacionaria de carbono gráfico poroso y se eluyó con una mezcla de agua y acetonitrilo (85:15, v/v), en modo isocrático. Los cromatogramas se monitorizaron a 260 nm y el tiempo de ejecución de la cromatografía fue de 10 min. El ensayo fue lineal en el intervalo de concentraciones de 50 a 2500  $\text{mg}/\text{mL}$ . La precisión intra- e inter-ensayo fue de 1,2-2,2% y 3,9 a 8,1%, respectivamente. La seguridad fue de 97,1 a 108,6. Las muestras procesadas son estables hasta 12 h en el inyector automático y por tres ciclos de congelación y descongelación. El método desarrollado fue plenamente validado y podría ser adecuado para la monitorización terapéutica de 5-FU en pacientes que reciben quimioterapia de infusión con esta droga.

**KEY WORDS:** 5-fluorouracil, high performance liquid chromatography, porous graphitic carbon stationary phase, therapeutic drug monitoring.

\* Author to whom correspondence should be addressed. E-mail: rafael.linden@feevale.br