



A Simple, Sensitive and Economical HPLC-UV Method for Determination of Favipiravir in Microsamples of Rat Plasma and its Application in a Pharmacokinetic Study

José Carlos AGUILAR CARRASCO ¹*, Alberto GUTIÉRREZ-LÓPEZ ²,
Marisol Daniela CRUZ-CRUZ ³, José Ignacio AGUILAR-CARRASCO ⁴ & Ivan PANTIC ⁵

¹ *Laboratory of Experimental Pharmacology*, ³ *Department of Nutrition and Bioprogramming*,

⁵ *Department of Developmental Neurobiology, National Institute of Perinatology,*

Ministry of Health of Mexico Montes Urales 800. Col. Lomas de Virreyes, 11000, Mexico City, Mexico

² *Faculty of Veterinary and Zootechny, National Autonomous University of Mexico, Mexico City, Mexico*

⁴ *Technological Superior of Mexico, Campus Ciudad Constitución, BCS, Mexico*

SUMMARY. The aim of this study was to develop and validate a simple, sensitive, selective, rapid, and inexpensive high-performance liquid chromatographic assay with ultraviolet detection for the quantification of favipiravir in microsamples (25 μ L) of rat plasma. Favipiravir was extracted by a simple protein precipitation step using microvolumes of cold absolute ethanol. The analysis was carried out on a reversed-phase C18 column using a mixture of acetonitrile and 0.4% phosphoric acid aqueous solution (6:94 v/v) as mobile phase. The flow-rate was set at 1 mL/min, the eluent was detected at 360 nm and the total analysis time was 5.5 min/sample. Validation tests were performed according to the FDA requirements. The method provided selectivity and good linearity over the evaluated concentration range (0.1-200 μ g/mL). The intra- and inter-day coefficients of variation were <10%. The usefulness of this method was demonstrated in a pharmacokinetic study carried out in Wistar rats after the oral administration of 25, 50 or 100 mg/kg of favipiravir. The method described herein demonstrated accuracy and precision in determination of favipiravir in microsamples of rat plasma with a good cost-effectiveness ratio and it can be considered as a potential bioanalytical option for the quantification of favipiravir in plasma samples.

RESUMEN. El objetivo de este estudio fue desarrollar y validar un ensayo cromatográfico líquido de alta resolución sencillo, sensible, selectivo, rápido y económico con detección ultravioleta para la cuantificación de favipiravir en micromuestras (25 μ L) de plasma de rata. El favipiravir se extrajo mediante un simple paso de precipitación de proteínas utilizando microvolúmenes de etanol absoluto frío. El análisis se llevó a cabo en una columna C18 de fase inversa utilizando una mezcla de acetonitrilo y una solución acuosa de ácido fosfórico al 0,4% (6:94 v/v) como fase móvil. La velocidad de flujo se estableció en 1 mL/min, el eluyente se detectó a 360 nm y el tiempo total de análisis fue de 5,5 min/muestra. Las pruebas de validación se realizaron de acuerdo con los requisitos de la FDA. El método proporcionó selectividad y buena linealidad en el rango de concentración evaluado (0,1-200 μ g/mL). Los coeficientes de variación intra e interdiarios fueron del 10%. La utilidad de este método quedó demostrada en un estudio farmacocinético realizado en ratas Wistar tras la administración oral de 25, 50 o 100 mg/kg de favipiravir. El método aquí descrito demostró exactitud y precisión en la determinación de favipiravir en micromuestras de plasma de rata con una buena relación costo-efectividad y puede considerarse como una opción bioanalítica potencial para la cuantificación de favipiravir en muestras de plasma.

KEY WORDS: favipiravir, HPLC-UV, microsamples, pharmacokinetics, rats.

* Author to whom correspondence should be addressed. *E-mail:* jcacpharma18@gmail.com