

## A Simple and Rapid HPLC Method for Determination of Chlorogenic Acid in Microsamples of Rat Plasma and its Application in a Pharmacokinetic Study

A. GUTIÉRREZ-LÓPEZ <sup>1</sup>, I. HERNÁNDEZ RODRÍGUEZ <sup>2</sup>, I. LARA XOMETL <sup>3</sup>,  
J.I. AGUILAR CARRASCO <sup>4</sup> & J.C. AGUILAR CARRASCO <sup>5</sup>

<sup>1</sup> Faculty of Veterinary Medicine and Zootechnics,  
National Autonomous University of México, Mexico City., Mexico.

<sup>2</sup> Faculty of Higher Studies Iztacala, National Autonomous University of México, Mexico City, Mexico.

<sup>3</sup> Faculty of Higher Studies Cuautitlán, National Autonomous University of México, Mexico City, Mexico.

<sup>4</sup> Higher Technological Institute of Ciudad Constitución, Ciudad Constitución, BCS, Mexico

<sup>5</sup> Laboratory of Experimental Pharmacology, National Institute of Perinatology, Mexico City, Mexico.

**SUMMARY.** The aim of this study was develop and validate a simple, sensitive and rapid bioanalytical method for determination of chlorogenic acid (CA) in microsamples of rat plasma. After a simple protein precipitation of plasma samples (25  $\mu$ L), the analysis was carried out on a reversed-phase C18 column using a mixture of acetonitrile and 0.4% phosphoric acid aqueous solution (10:90 v/v) as mobile phase. The flowrate was set at 1.1 mL/min, the eluent was detected at 327 nm. The method provided selectivity and good linearity over the evaluated concentration range (0.05 to 10  $\mu$ g/mL). The intra- and inter-day coefficients of variation were < 13%. The average of absolute recovery was around 96%. Additionally, CA was stable in all tested evaluations. The usefulness of this method was demonstrated in a pharmacokinetic study carried out in Wistar rats. Our results were consistent the observation of a non-linear absorption rate of CA as previously was reported.

**RESUMEN.** El objetivo de este estudio fue desarrollar y validar un método bioanalítico simple, sensible y rápido para la determinación de ácido clorogénico (AC) en micromuestras de plasma de rata. Después de una simple precipitación de proteínas de muestras de plasma (25  $\mu$ L), el análisis se llevó a cabo en una columna C18 de fase reversa utilizando una mezcla de acetonitrilo y solución acuosa de ácido fosfórico al 0,4% (10:90 v/v) como fase móvil. El caudal se fijó en 1,1 mL/min, el eluyente se detectó a 327 nm. El método proporcionó selectividad y buena linealidad en el rango de concentración evaluado (0,05 a 10  $\mu$ g/mL). Los coeficientes de variación intra e interdiario fueron < 13%. El promedio de recuperación absoluta estuvo en torno al 96%. Además, CA se mantuvo estable en todas las evaluaciones probadas. La utilidad de este método se demostró en un estudio farmacocinético realizado en ratas Wistar. Nuestros resultados fueron consistentes con la observación de una tasa de absorción no lineal de CA, como se informó anteriormente.

**KEY WORDS:** chlorogenic acid, HPLC, pharmacokinetics, rats.

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