

Optimization and validation of a high-performance liquid chromatography method for the determination of amlodipine in patients plasma after gastrectomy – pilot study

Optymalizacja i walidacja metody HPLC w celu oznaczenia amlodypiny w osoczu pacjentów po gastrektomii – badanie pilotażowe

Hanna Urjasz¹, Agnieszka Karbownik¹, Edyta Szalek¹, Dawid Murawa², Karol Połom^{3,4}, Bogna Fiszer¹, Edmund Grześkowiak¹

¹ Department of Clinical Pharmacy and Biopharmacy, Faculty of Pharmacy, Karol Marcinkowski University of Medical Sciences, Poznań, Poland

² Department of General and Minimally Invasive Surgery, Poland Baptism Monument Hospital, Gniezno, Poland

³ General Surgery and Surgical Oncology Department, University of Siena, Siena, Italy

⁴ Department of Surgical Oncology, Medical University of Gdansk, Gdansk, Poland

Abstract

Background. A sensitive, rapid and simple high-performance liquid chromatography (HPLC) method has been developed for the assay of amlodipine in human plasma, by off-line solid-phase extraction followed by HPLC coupled with ultraviolet Dual Absorbance Detector (UV). **Material and methods.** Separation of compounds was achieved on a Symmetry, C18 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) analytical column using a mobile phase consisting of 0.1 M ammonium octane in water/acetonitrile (40:60, v/v), at a flow rate of 1.0 ml/min, with diltiazem added as internal standard. Linear calibration curves in human plasma were generated over the range of 2-16 ng/ml with values for the coefficient of determination of 0.997. Amlodipine was detected by UV at 239 nm. Plasma (1000 μl) was diluted 1:1 with 2% phosphoric acid subjected to a solid-phase extraction on a C18 cartridge. After matrix components elimination, amlodipine was subsequently eluted with 1000 μl of methanol. The resulting eluate was evaporated under nitrogen at room temperature and the residue was reconstituted in mobile phase and a volume of 50 μl was injected onto the HPLC column. **Results.** The calibration curves are linear between 2.0 and 16.0 ng/ml. The method is precise with mean inter-day coefficients of variation (CV) within 5.4-10.6%, and accurate (range of inter-day deviations -9.5 to +8.5%). **Conclusion.** This method can be used in routine clinical practice to monitor plasma amlodipine concentrations in patients. (*Farm Współ 2018; 11: 3-7*)

Keywords: amlodipine, HPLC with ultraviolet detection (UV), validation

Streszczenie

Wstęp. Opracowano szybką i prostą metodą analityczną HPLC w nadfiolecie (UV) do oznaczania amlodypiny w osoczu ludzkim z wykorzystaniem ekstrakcji w fazie stałej. **Materiał i Metody.** Rozdział przeprowadzono na kolumnie analitycznej Symmetry, C18 (250 mm x 4.6 mm, 5μm) wykorzystując fazę ruchomą w składzie 0.1 M wodny roztwór octanu amonu / acetonitryl w stosunku stechiometrycznym 40:60 v/v, przepływ 1ml/min, standard wewnętrzny diltiazem. Zakres krzywej wzorcowej obejmował 2-16 ng/ml, współczynnik korelacji r = 0.997. Amlodypinę oznaczano przy 239 nm. Osocze (1000 μl) rozcieńczono w stosunku stechiometrycznym 1 : 1 za pomocą 2% kwasu orto-fosforowego i ekstrahowano w fazie stałej na kolumnach C18. Po rozdzieleniu składników matrycy, amlodypinę wymywano za pomocą metanolu 1000 μl. Po odparowaniu w strumieniu azotu suchą pozostałość rozpuszczono w fazie ruchomej. Objętość nastrzyku wynosiła 50 μl. **Wyniki.** Krzywa kalibracyjna liniowa w zakresie stężeń 2-16 ng/ml. Metoda analityczna precyzyjna (współczynnik zmienności CV dla inter-day w zakresie 5.4-10.6%) i dokładna (inter-day -9.5 – +8.5%). **Wnioski.** Opracowana metoda może być wykorzystana w laboratoriach klinicznych do monitorowania stężenia amlodypiny u pacjentów. (*Farm Współ 2018; 11: 3-7*)

Słowa kluczowe: amlodypina, HPLC z detekcją w nadfiolecie (UV), walidacja