

Development and Validation of a RP-HPLC Method for Determination of Pidotimod in Plasma and its Efficient Application to a Pharmacokinetic Study

Xiaole QI ^{1*}, Lishuang WANG ², Jiabi ZHU ¹ & Zhenyi HU ¹

¹ *Department of Pharmaceutics, China Pharmaceutical University, Nanjing, China*

² *Institute of Drug Research, Nanjing Chiatai-Tianqing Pharmaceutical Co. Ltd, Nanjing, China*

SUMMARY. The detection of pidotimod in plasma is frequently troublesome due mainly to the endogenous interference caused by some analogues in plasma. Moreover, the application of conventional reversed phase columns in high-performance liquid chromatography (HPLC) for the detection has not been reported to date. In this study, a low-cost and effective reversed phase HPLC method using an ultraviolet detector at 210 nm was developed, by systematically optimizing protein precipitation agents, the polarity and the pH value of the mobile phase. Pidotimod was successfully separated from the endogenous interference in plasma using equal-volume 10 % perchloric acid as protein precipitation agent, and 0.01 M sodium dihydrogen phosphate (pH 4.0 with concentrated phosphoric acid)-methanol-isopropanol (97:2:1, v/v) as mobile phase. After validation of specificity, linearity, recovery, precision, accuracy and stability, this method has been successfully applied to a pharmacokinetic study in rats.

RESUMEN. La detección de pidotimod en plasma es con frecuencia problemática debido principalmente a la interferencia endógena causada por algunos análogos. Por otra parte, la aplicación de columnas de fase inversa convencionales en cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) para la detección no ha sido reportada hasta la fecha. En este estudio fue desarrollado un método de HPLC de fase inversa eficaz y de bajo costo utilizando un detector ultravioleta a 210 nm, mediante la optimización sistemática de los agentes de precipitación de proteínas, la polaridad y el valor del pH de la fase móvil. Pidotimod se separó con éxito de la interferencia endógena en el plasma utilizando igual volumen de ácido perclórico al 10% como agente de precipitación de proteínas y 0,01 M de fosfato monosódico (pH 4,0 con ácido fosfórico concentrado)-metanol-isopropanol (97:2:1, v/v) como fase móvil. Después de la validación de la especificidad, la linealidad, la recuperación, la precisión, la exactitud y la estabilidad, este método se ha aplicado con éxito a un estudio farmacocinético en ratas.

KEY WORDS: pH, Pharmacokinetic, Pidotimod, RP-HPLC.

* Author to whom correspondence should be addressed. *E-mail:* qixiaole523@163.com