



Sensitive UPLC-Tandem Mass Spectrometric Method for Determination and Validation of Hydrochlorothiazide in Human Plasma

Tanveer A. WANI^{1*} & Seema ZARGAR²

¹ Department of Pharmaceutical Chemistry, College of Pharmacy,
King Saud University, P.O. Box 2457, Riyadh 11451, Saudi Arabia.

² Department of Biochemistry, College of Science, King Saud University,
PO Box 22452, Riyadh 11451, Saudi Arabia.

SUMMARY. Reduction in the time of analysis whereas maintaining good efficiency has been of substantial focus on high-speed chromatographic separations and UPLC-MS/MS is an analytical instrument for this fast biomedical analysis. In this study a simple, rapid, sensitive and specific UPLC-MS/MS method was developed and validated for quantification of hydrochlorothiazide a common diuretic and anti-hypertensive agent in human plasma. Samples were extracted by protein precipitation using methanol and acetonitrile and on Acquity UPLC BEH™ C18 column (50 × 2.1 mm, i.d. 1.7 μm, Waters, USA) with mobile phase consisted of acetonitrile: 8 mM ammonium acetate: 0.1% formic acid (80:10:10 v/v/v) pumped at a flow rate of 0.3 mL/min and detected by tandem mass spectrometry with negative ion mode. The ion transitions recorded in multiple reaction monitoring mode were m/z 295.93→268.90 for hydrochlorothiazide and m/z 427.2→193.08 for internal standard (IS) irbesartan. The assay exhibited a linear dynamic range of 1-500 ng/mL for hydrochlorothiazide in human plasma with good correlation coefficient of (0.997) and with a limit of quantitation of 1 ng/mL. The intra- and inter-assay precisions were satisfactory; the relative standard deviations did not exceed 11.59%. The proposed UPLC-MS/MS method is simple, rapid and highly sensitive, and hence it could be reliable for pharmacokinetic and toxicokinetic study in both animals and humans

RESUMEN. La reducción del tiempo de análisis con el mantenimiento de una buena eficiencia ha sido el enfoque sustancial en las separaciones cromatográficas de alta velocidad, por lo que la UPLC-MS/MS es un instrumento analítico rápido para el análisis biomédico. En este estudio un método de UPLC-MS/MS sencillo, rápido, sensible y específico fue desarrollado y validado para la cuantificación en plasma humano de la hidroclorotiazida, un diurético común y agente anti-hipertensivo. Las muestras se extrajeron por precipitación de proteínas usando metanol y acetonitrilo; se utilizó una columna Acquity UPLC BEH™ C18 (50 × 2,1 mm, ID 1,7 μm, Waters, EE.UU.), usando como fase móvil acetonitrilo:acetato de amonio 8 mM:ácido fórmico al 0,1% (80:10:10 v/v/v) bombeada a una velocidad de flujo de 0,3 mL/min y detectada por espectrometría de masas en tándem con el modo de ion negativo. Las transiciones de iones en modo de monitorización de reacción múltiple fueron m/z 295,93→268,90 para hidroclorotiazida y m/z 427,2→193,08 para el estándar interno (IS) irbesartán. El ensayo mostró un rango dinámico lineal de 1-500 ng/mL para la hidroclorotiazida en plasma humano con un buen coeficiente de correlación (0.997) y un límite de cuantificación de 1 ng/mL. Las precisiones intra e inter-ensayo fueron satisfactorias; las desviaciones estándar relativas no excedieron 11.59%. El método UPLC-MS/MS propuesto es simple, rápido y altamente sensible y por lo tanto podría ser fiable para estudios farmacocinéticos y toxicocinéticos en animales y seres humanos.

KEY WORDS: High throughput analysis, Hydrochlorothiazide, Pharmacokinetics, Tandem mass spectrometry, Toxicokinetics, UPLC.

* Author to whom correspondence should be addressed. E-mail: tanykash@yahoo.co.in