



## Determination of Oxypaeoniflorin in Rat Plasma after Intravenous Administration by UPLC-MS/MS and its Application to a Pharmacokinetic Study

Houxing LEI<sup>1</sup> #, Minle CHEN<sup>2</sup> #, Huanchun SONG<sup>3</sup>,  
Shuhua TONG<sup>3</sup>, Pei YOU<sup>1</sup>, Xiaoyu WANG<sup>1</sup> & Shuanghu WANG<sup>2</sup> \*

<sup>1</sup> Department of Pediatrics, Lishui Hospital of Traditional Chinese Medicine, Lishui 323000, China

<sup>2</sup> Laboratory of Clinical Pharmacy, The People's Hospital of Lishui, Lishui 323000, China

<sup>3</sup> Department of Clinical Pharmacy, Jinhua Central Hospital, Jinhua 321000, China

**SUMMARY.** In this work, a sensitive and selective UPLC-MS/MS method for the determination of oxypaeoniflorin in rat plasma is developed and validated, and applied to a pharmacokinetic study. After addition of lithospermoside as internal standard (IS), protein precipitation by acetonitrile-methanol (9:1, v/v) was used to prepare samples. Chromatographic separation was achieved on a UPLC BEH C18 column (2.1 × 100 mm, 1.7 μm) with 0.1% formic acid and methanol as the mobile phase with gradient elution. An electrospray ionization source was applied and operated in positive ion mode; multiple reactions monitoring (MRM) mode was used for quantification using target fragment ions m/z 519.1→219.1 for oxypaeoniflorin and m/z 330.1→168.0 for IS. Calibration plots were linear throughout the range 20-5000 ng/mL for oxypaeoniflorin in rat plasma. Mean recoveries of oxypaeoniflorin in rat plasma ranged from 80.6 to 88.7%. RSD of intra-day and inter-day precision were both < 13%. Accuracy of the method was between 95.7 and 107.4%. The method was successfully applied to a pharmacokinetic study of oxypaeoniflorin after intravenous administration in rats.

**RESUMEN.** En este trabajo se desarrolló y validó un método de UPLC-MS/MS sensible y selectivo para la determinación de oxypaeoniflorina en plasma de rata y se lo aplicó a un estudio farmacocinético. Después de la adición de litospermósido como estándar interno (IS), para preparar las muestras se usó la precipitación de proteínas por acetonitrilo-metanol (9: 1, v/v). La separación cromatográfica se realizó en una columna de UPLC BEH C18 (2,1 × 100 mm, 1,7 μm) con ácido fórmico al 0,1% y metanol como fase móvil, con gradiente de elución. Se aplicó una fuente de ionización por electrospray operada en modo de ion positivo; se utilizó el modo de monitorización de múltiples reacciones (MRM) para la cuantificación, usando iones de fragmentos diana m/z 519,1→219,1 para oxypaeoniflorina y m/z 330,1→168,0 para el IS. Las curvas de calibración fueron lineales en todo el rango de 20 a 5000 ng/mL para la oxypaeoniflorina en plasma de ratas. Las recuperaciones medias de oxypaeoniflorina en plasma variaron de 80,6 a 88,7%. Las RSD de precisión intra-día y entre días fueron ambas < 13%. La precisión del método estuvo entre 95,7 y 107,4%. El método fue aplicado con éxito para el estudio farmacocinético de oxypaeoniflorina tras la administración intravenosa en ratas.

**KEY WORDS:** oxypaeoniflorin, pharmacokinetics, rat plasma, UPLC-MS/MS.

\* Author to whom correspondence should be sent. E-mail: wsh0417@163.com

# These authors contributed equally to this work.