



Simultaneous Determination of Five Isosteroidal Alkaloids in Siberian Fritillary Bulb in Rat Plasma and its Application in Pharmacokinetic Study by HPLC-MS/MS

Yanping LIU¹, Min LIANG¹, Jintao XUE², Jianzhong WANG¹, Kaiyue LI¹ & Liming YE¹ *

¹ West China School of Pharmacy, Sichuan University, Chengdu 610041, P.R. China;

² School of Pharmacy, Xinxiang Medical University, Xinxiang 453003, Henan Province, P.R. China

SUMMARY. In this study, a sensitive high-performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS) method established for simultaneously determining five main isosteroidal alkaloids: imperialine-3- β -D-glucoside (imperialine-G), imperialine, peimine, hupehenine, and yibeinoside A in Siberian Fritillary Bulb, was applied to pharmacokinetic studies in rat plasma. The plasma samples pretreated using liquid-liquid extraction with ethyl acetate were quantitated by multiple reaction monitoring (MRM) via positive electrospray ionization (ESI) mode. Chromatographic separation was performed on an Intersil ODS-2 column (5 μ m, 4.6 \times 150 mm) with a single 15 min run using gradient elution. The mobile phase consisted of (A) 10 mM ammonium acetate (containing 0.1% of formic acid) and (B) methanol. Method validation results showed that the developed method had good accuracy and precision over the corresponding linearity range for all the analytes. Besides, bench-top, autosampler, freeze-thaw circulation and long-term storage stabilities met the acceptable limit. This study examined a specific and robust method which was successfully applied to analyze rat plasma samples for pharmacokinetic study of five isosteroidal alkaloids.

RESUMEN. En este estudio se estableció un método de cromatografía líquida de alta resolución sensible con espectrometría de masas en tándem (HPLC-MS/MS) para determinar simultáneamente cinco principales alcaloides isosteroidales: imperialina-3- β -D-glucoside (imperialina-G), imperialina, peimina, hupehenina y yibeinósido A) en bulbo de fritilaria siberiana y se aplicó a estudios farmacocinéticos en plasma de rata. Las muestras de plasma pretratadas utilizando una extracción líquido-líquido con acetato de etilo se cuantificaron por monitorización de reacción múltiple (MRM) por medio del modo de ionización por electrospray (ESI). La separación cromatográfica se realizó en una columna Intersil ODS-2 (5 μ m, 4.6 \times 150 mm) con un solo intervalo de 15 min usando gradiente de elución. La fase móvil consistió en (A) acetato de amonio 10 mM (que contenía 0,1% de ácido fórmico) y (B) metanol. Los resultados de la validación del método mostraron que el método desarrollado tenía buena precisión y precisión sobre el rango de linealidad correspondiente para todos los analitos. Además, la congelación-descongelación y estabilización de almacenamiento a largo plazo cumplió con el límite aceptable. Este estudio utilizó un método específico y robusto que se aplicó con éxito para analizar muestras de plasma de ratas para el estudio farmacocinético de cinco alcaloides isosteroidales.

KEY WORDS: Gender difference, HPLC-MS/MS, Isosteroidal alkaloids, Pharmacokinetic study, Siberian Fritillary Bulb.

* Author to whom correspondence should be addressed. E-mail: yeliminglaoshi@126.com