



## Determination and Pharmacokinetic Study of Synephrine in Rat by UPLC-MS/MS After Intravenous Administration

Haili XIE<sup>1</sup>, Zhe WANG<sup>2</sup>, Qianqian WANG<sup>3</sup>, Jing ZHANG<sup>3</sup>, Junyan CHEN<sup>3</sup>, Yanwen DONG<sup>3</sup>, Hua ZHOU<sup>1</sup>, Dongxin CHEN<sup>1</sup>, Shuanghu WANG<sup>4</sup> & Yunfang ZHOU<sup>4</sup>\*

<sup>1</sup> Department of Pharmacy, Ningbo Medical Treatment Center Lihuili Hospital, Ningbo 315040, China

<sup>2</sup> The Second Affiliated Hospital and Yuying Children's Hospital, Wenzhou Medical University, Wenzhou 325000, China

<sup>3</sup> Laboratory Animal Centre, Wenzhou Medical University, Wenzhou 325035, China

<sup>4</sup> The Laboratory of Clinical Pharmacy, The People's Hospital of Lishui, Lishui 323000, China

**SUMMARY.** Synephrine is the primary alkaloid found in the immature fruits of *Citrus aurantium*, whereas the other alkaloids are present at lower levels. Synephrine is present in the peel and the edible part of the fruit. In this work, a sensitive and selective UPLC-MS/MS method for determination of synephrine in rat plasma is developed. The UPLC-MS/MS method was validated for selectivity, linearity, accuracy, precision, recovery and stability with a total run time of 3 min. After addition of carbamazepine as an internal standard (IS), protein precipitation by acetonitrile was used to prepare samples. Chromatographic separation was achieved on a UPLC BEH C18 column (2.1 × 50 mm, 1.7 μm) with 0.1% formic acid and acetonitrile 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 168.0→107.0 for synephrine, and m/z 237.3→194.3 for IS. Calibration plots were linear throughout the range 5-2500 ng/mL for synephrine in rat plasma. Mean recoveries of synephrine in rat plasma ranged from 73.4 to 76.6%. RSD of intra-day and inter-day precision were both less than 12%. The accuracy of the method was between 88.5 and 109.5%. The method was successfully applied to pharmacokinetic study of synephrine after intravenous administration in rats.

**RESUMEN.** La sinefrina es el principal alcaloide encontrado en los frutos inmaduros de *Citrus aurantium*, mientras que los otros alcaloides están presentes en niveles más bajos. La sinefrina está presente en la cáscara y en la parte comestible del fruto. En este trabajo se desarrolla un método sensible y selectivo de UPLC-MS/MS para la determinación de sinefrina en plasma de rata. El método fue validado para la selectividad, linealidad, precisión, seguridad, recuperación y estabilidad con un tiempo de ejecución total de 3 min. Después de la adición de carbamazepina como estándar interno (IS) se realizó la precipitación de proteínas con acetonitrilo para preparar las muestras. La separación cromatográfica se llevó a cabo en una columna UPLC BEH C18 (2,1 × 50 mm, 1,7 μm) con ácido fórmico al 0,1% y acetonitrilo como fase móvil, con elución de gradiente. Se aplicó una fuente de ionización por electrospray y se operó en modo de iones positivos; Se utilizó el modo de monitorización de múltiples reacciones (MRM) para la cuantificación usando iones de fragmentos diana m/z 168,0→107,0 para sinefrina y m/z 237,3→194,3 para IS. Las parcelas de calibración fueron lineales en el intervalo de 5-2500 ng/mL para sinefrina en plasma de rata. Las recuperaciones medias de sinefrina en plasma de rata oscilaron entre 73,4 y 76,6%. La RSD de intra-día y la precisión inter-día fueron menores al 12%. La exactitud del método estuvo entre 88,5 y 109,5%. El método se aplicó con éxito al estudio farmacocinético de la sinefrina después de la administración intravenosa en ratas.

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

\* Author to whom correspondence should be addressed. E-mail: zyf2808@126.com.