



Determination of Esculentoside A in Rat Plasma by UPLC-MS/MS and Applied to a Pharmacokinetic Study

Ke REN¹ #, Shuyi QIAN² #, Xiaoting TU³, Xiufa PENG³, Wenhao CHEN³, Gaotong LIN⁴,
Jifeng WANG⁴, Jianshe MA², Zhenan ZHANG², Congcong WEN³ * & Yilong WANG³ *

¹ Department of Pharmacy, Ningbo Yin Zhou No. 2 Hospital, Ningbo 315192, China

² Analytical and Testing Centre, ³ Laboratory Animal Centre,
Wenzhou Medical University, Wenzhou 325035, China

⁴ Department of Pharmacy, Taizhou Cancer Hospital, Wenling 317500, China

SUMMARY. Esculentoside A has remarkable efficacies of anti-inflammatory, immunosuppression, increasing the rate of DNA synthesis. In this work, a sensitive and selective ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) method for determination of esculentoside A 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 4 min. After addition of astragaloside IV as an internal standard (IS), protein precipitate on 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 827.5 → 515.4 for esculentoside A, and m/z 785.5 → 143.0 for IS. Calibration plots were linear throughout the range 1-1000 ng/mL for esculentoside A in rat plasma. Mean recoveries of esculentoside A in rat plasma were better than 83.9%. RSD of intra-day and inter-day precision were both less than 11%. The accuracy of the method was between 93.5 and 108.0%. The method was successfully applied to pharmacokinetic study of esculentoside A after intravenous administration in rats.

RESUMEN. El esculentósido A tiene notable eficacia como anti-inflamatorio e inmunosupresor, aumentando la tasa de síntesis de ADN. En este trabajo, se desarrolla un método de espectrometría de masa entándem con cromatografía líquida ultra-alta (UPLC-MS/MS) sensible y selectivo para la determinación de esculentósido A en plasma de rata. El método UPLC-MS/MS fue validado para la selectividad, linealidad, precisión, precisión, recuperación y estabilidad, con un tiempo total de ejecución de 4 min. Después de la adición de astragalósido IV como patrón interno (IS), se precipitaron las proteínas con acetonitrilo para preparar las muestras. La separación cromatográfica se consiguió 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 gradiente de elución. 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, utilizando los iones fragmentos objetivo m/z 827,5→515,4 para esculentósido A y m/z 785,5 → 143,0 para IS. Los gráficos de calibración fueron lineales en el intervalo de 1-1000 ng/mL para esculentósido A en plasma de rata. Las recuperaciones medias de esculentósido A en plasma de rata fueron superiores al 83,9%. Las RSD de intra-día y precisión inter-día fueron ambas menores al 11%. La exactitud del método fue entre 93,5 y 108,0%. El método se aplicó con éxito al estudio farmacocinético de esculentósido A después de la administración intravenosa en ratas.

KEY WORDS: esculentoside A, pharmacokinetics, plasma, UPLC-MS/MS.

These authors contributed equally to this work.

* Authors to whom correspondence should be addressed. E-mails: bluce494949@163.com (Congcong Wen) and wanyilongwz@163.com (Yilong Wang).