

## Determination of Astragaloside IV in Rat Plasma by UPLC-MS/MS and Application to a Pharmacokinetic Study

Jufen YE<sup>1,#</sup>, Liming HU<sup>2,#</sup>, Jifeng WANG<sup>3,#</sup>, Minle CHEN<sup>4</sup>, Miaomiao ZHANG<sup>2</sup>, Gaotong LIN<sup>3</sup>  
& Shuanghu WANG<sup>4,\*</sup>

<sup>1</sup> Department of Ultrasound, The Second People's Hospital of Lishui, Lishui 323000, China

<sup>2</sup> Department of Pharmacy, The First People's Hospital of Wenling, Wenling 317500, China

<sup>3</sup> Department of Pharmacy, Taizhou Cancer Hospital, Wenling 317500, China

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

**SUMMARY.** Astragaloside IV is a monomeric compound isolated from total saponins of *Radix astragali* (*Astragalus* sp. root) and the pharmacological studies showed that it owns many effects, such as immune regulation, anti-inflammation, anti-virus, antioxidant, hypoglycemic, improving insulin resistance. In this work, a sensitive and selective ultra-performance liquid-chromatography tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) method for determination of astragaloside IV 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 hirsuterine 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 785.5→143.0 for astragaloside IV, and m/z 367.2→170.0 for IS. Calibration plots were linear throughout the range 1-200 ng/mL for astragaloside IV in rat plasma. Mean recoveries of astragaloside IV in rat plasma were better than 80.3%. RSD of intra-day and inter-day precision were both less than 10%. The accuracy of the method was between 98.3% and 109.0%. The method was successfully applied to pharmacokinetic study of astragaloside IV after oral administration in rats.

**RESUMEN.** Astragalósido IV es un compuesto monomérico aislado de saponinas totales de *Radix astragali* (raíz de *Astragalus* sp.) y los estudios farmacológicos mostraron que posee muchos efectos, tales como la regulación inmune, anti-inflamación, anti-virus, antioxidante, hipoglucémico y mejora de resistencia a la insulina. En este trabajo se desarrolla un método de espectrometría de masas en tándem con cromatografía líquida de ultra-rendimiento (UPLC-MS/MS) sensible y selectivo para la determinación de astragalósido IV en plasma de rata. El método se validó para la selectividad, linealidad, exactitud, precisión, recuperación y estabilidad con un tiempo de ejecución total de 4 min. Después de la adición de hirsuterina como estándar interno (IS), se utilizó la precipitación de proteínas por acetonitrilo para preparar 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 operada en modo de iones positivos; para la cuantificación se usó el modo de múltiples reacciones (MRM) usando fragmentos de iones diana m/z 785,5→143,0 para astragalósido IV y m/z 367,2→170,0 para IS. Las curvas de calibración fueron lineales largo del rango 1-200 ng/mL para astragalósido IV en plasma de rata, con recuperaciones medias de astragalósido IV en plasma de rata mayores al 80,3%. La precisión RSD de intra-día y entre días fueron menores al 10%. La precisión del método fue de entre 98,3% y 109,0%. El método se aplicó con éxito para el estudio farmacocinético de astragalósido IV después de la administración oral en ratas.

**KEY WORDS:** astragaloside IV, pharmacokinetics, plasma, UPLC-MS/MS.

# These authors contributed equally to this work.

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