



Determination of Esculetin in Rat Plasma by a Fast and Simple UPLC-MS/MS and its Application to a Pharmacokinetic Study

Liming HU #, Miaomiao ZHANG #, Jinzhong XU, Haihui GUO,
Dongbo DAI, Wenting YOU, Caiming CHEN * & Jingshi LIN *

Department of Pharmacy, The First People's Hospital of Wenling,
Wenling 317500, Zhejiang Province, China

SUMMARY. Esculetin is the compound of *Cichorium glandulosum* with major hepatoprotective effects. To further study the pharmacology of esculetin, it is necessary to investigate pharmacokinetics. In this study, we used UPLC-MS/MS to detect esculetin in rat plasma, and investigated its pharmacokinetics in rats. Apigenin was utilized as internal standard and acetonitrile precipitation method was used to process the plasma samples. Chromatographic separation was achieved using a UPLC BEH C18 column using mobile phase of acetonitrile-10 mmol/L ammonium acetate (containing 0.1 % formic acid) with gradient elution. Flow rate was set at 0.4 mL/min. Electrospray ionization (ESI) tandem mass spectrometry in multiple reaction monitoring (MRM) mode with positive ionization was applied. The results indicated that within the range of 2-500 ng/mL, linearity of esculetin in rat plasma was acceptable ($r > 0.995$), and the lower limit of quantification (LLOQ) was 2 ng/mL. Intra-day and inter-day precision RSD of esculetin in rat plasma were lower than 13%. Accuracy range was between 95.3 and 112.8 %, recovery was higher than 90.5 %, and matrix effect was between 98.7 and 107.4%. The method was successfully applied in the pharmacokinetics of esculetin in rats after oral and intravenous administration. The absolute bioavailability of the esculetin was 32.7% in rats.

RESUMEN. Esculetin es un compuesto de *Cichorium glandulosum* con importantes efectos hepatoprotectores. Para estudiar más a fondo la farmacología de la esculetina, es necesario investigar la farmacocinética. En este estudio, utilizamos UPLC-MS/MS para detectar esculetina en plasma de rata e investigamos su farmacocinética. La apigenina se utilizó como patrón interno y el método de precipitación con acetonitrilo se utilizó para procesar las muestras de plasma. La separación cromatográfica se logró usando una columna UPLC BEH C18 usando fase móvil de acetonitrilo-10 mmol/L de acetato de amonio (que contiene 0,1% de ácido fórmico) con gradiente de elución. La velocidad de flujo se ajustó a 0,4 mL/min. Se aplicó espectrometría de masas en tándem por electro-nebulización (ESI) en modo de monitorización de reacción múltiple (MRM) con ionización positiva. Los resultados indicaron que dentro del rango de 2-500 ng/mL, la linealidad de la esculetina en plasma de rata fue aceptable ($r > 0.995$), y el límite inferior de cuantificación (LLOQ) fue de 2 ng/mL. La RSD de precisión intradiaria e interdiaria de esculetina en plasma de rata fue inferior al 13%. El rango de precisión estuvo entre 95.3 y 112.8%, la recuperación fue mayor que 90.5% y el efecto de matriz fue entre 98.7 y 107.4%. El método se aplicó con éxito en la farmacocinética de esculetina en ratas después de la administración oral e intravenosa. La biodisponibilidad absoluta de la esculetina fue del 32,7% en ratas.

KEY WORDS: esculetin, pharmacokinetics, bioavailability, rat, UPLC-MS/MS

These authors contributed equally to this work.

* Authors to whom correspondence should be addressed. E-mails: ccm6177@163.com (Caiming Chen); 1291321446@qq.com (Jingshi Lin).