

## Simultaneous Determination of Six Flavonoids from *Hedyotis diffusa*-*Scutellaria barbata* Herb Pair in Rat Plasma via the UPLC-MS/MS Method and its Application in Pharmacokinetic Study

Dong-xue SONG<sup>1</sup>\*, Yu SUN<sup>2</sup>, Ning CHEN<sup>1</sup>, Ying-jie LIU<sup>1</sup> & Miao YU<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Research Center on Life Sciences and Environmental Sciences,  
Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China

<sup>2</sup> The Third Affiliated Hospital of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine,  
Shenyang 110003, China

**SUMMARY.** This study aims to evaluate the pharmacokinetic behavior of six representative active flavonoids in herb pair after oral administration in rats. Chromatographic analyses were performed using an Agilent 1290 series UPLC system (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) equipped with a binary pump, an online degasser, an auto plate sampler, and a thermostatically controlled column compartment. The determination was carried out at 30 °C on a Waters Acquity UPLC C<sub>18</sub> column (100 × 2.1 mm, 1.7 μM, Waters, Milford, MA, USA). The mobile phase consisted of 0.1% formic acid (A) and acetonitrile (B) using a gradient elution at a flow rate of 0.35 mL/min. Detection was performed under the multiple reaction monitoring (MRM) in the negative electrospray ionization (ESI) mode. The calibration curves exhibited good linearity ( $r^2 > 0.99$ ) over a wide concentration range for all constituents. The accuracies ranged from 1.5% to 7.6%, and the intra-day and inter-day precisions at three different levels were below 15%. Our pharmacokinetic results showed that these compounds were quickly absorbed after the administration, and  $T_{max}$  ranged from 30 to 120 min. The *in vivo* concentrations of scutellarein and wogonoside were significantly higher than the reported *in vitro* effective doses, indicating that they could partly contribute to the therapeutic effect. We conclude that pharmacokinetic studies of representative bioactive chemicals after administration of complex herbal products are not only necessary but also feasible. Moreover, these six flavonoids that were absorbed *in vivo* can be used as indicator standards for quality control and for determining pharmacokinetic behavior of herb pair in clinical studies.

**RESUMEN.** El propósito de este estudio es evaluar el comportamiento farmacocinético de seis flavonoides activos representativos de un par de hierbas después de su administración oral en ratas. Los análisis cromatográficos fueron realizados utilizando un sistema de UPLC Agilent 1290 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA), equipado con una bomba binaria, un desgasador en línea, un portador de muestras automático y un compartimiento de columna automáticamente controlado. La determinación fue llevada a cabo a 30 °C en una columna Waters Acquity UPLC C<sub>18</sub> (100 × 2.1 mm, 1.7 μM, Waters, Milford, MA, USA). La fase móvil consistió en ácido fórmico al 0,1 % (A) y acetonitrilo (B), usando un gradiente de elución a una velocidad de flujo de 0,35 mL/min. La detección fue realizada mediante monitoreo de múltiples reacciones (MRM) en el modo de ionización por electropulverización. Las curvas de calibración exhibieron una buena linealidad ( $r^2 > 0.99$ ) en un amplio rango de concentración para todos los constituyentes. La seguridad varió de 1,5 a 7.6% y las precisiones intra-día e inter-día estuvieron por debajo del 15%. Nuestros resultados farmacocinéticos mostraron que estos compuestos fueron rápidamente absorbidos después de la administración y que la  $T_{max}$  varió entre 30 y 120 min. Las concentraciones *in vivo* de escutelarina y wogonósido fueron significativamente más altas que las dosis *in vitro* efectivas, indicando que pueden contribuir parcialmente al efecto terapéutico. Se concluye que los estudios farmacocinéticos de los compuestos químicos bioactivos representativos después de la administración de productos herbarios complejos no sólo son necesarios sino también factibles. Más aún, estos seis flavonoides que fueron absorbidos *in vivo* pueden ser usados como indicadores estándar para control de calidad y para determinar el comportamiento farmacocinético del par herbario en estudios clínicos.

**KEY WORDS:** *Hedyotis diffusa*, pharmacokinetic study, *Scutellaria barbata*, UPLC-MS/MS method.

\* Author to whom correspondence should be addressed. E-mail: limo024024@163.com