

## Determination and Pharmacokinetics of Glucoraphanin in Rat Plasma by UPLC-MS/MS

Ze Zheng LIU <sup>1</sup> #, Huamin LIU <sup>2</sup> #, Yazhen WU <sup>2</sup>, Xiaoxin XU <sup>2</sup> & Jianshe MA <sup>3</sup> \*

<sup>1</sup> *Ultrasonography Department, Wenzhou People's Hospital, Wenzhou 325000, China;*

<sup>2</sup> *Laboratory Animal Centre, 3 Experimental Function Center,  
Wenzhou Medical University, Wenzhou 325035, China*

**SUMMARY.** Glucoraphanin is a  $\beta$ -thioglycoside N-hydroxyl sulfate found in broccoli and other cruciferous vegetables. In this work, we used UPLC-MS/MS to detect glucoraphanin in plasma and studied their pharmacokinetics, oral and intravenous, and then calculated absolute bioavailability. Midazolam was used as an internal standard. Plasma samples were processed by protein precipitation using methanol as a precipitant. AUPLC BEH C18 was used for chromatographic separation using mobile phase of methanol-0.1% formic acid with gradient elution. Multiple reaction monitoring (MRM) mode using electrospray ionization (ESI) tandem mass spectrometry in positive ionization was applied for quantitative analysis. Within the range of 2-2000 ng/mL, the linearity of glucoraphanin in rat plasma was acceptable ( $r > 0.995$ ), and the lower limit of quantification (LLOQ) was 2 ng/mL. Accuracy range was between 91.3% and 107.9%, precision was lower than 12%, the recovery was better than 76.7%. The developed UPLC-MS/MS method was successfully applied in the pharmacokinetics of glucoraphanin in rats after oral and intravenous administration. The absolute bioavailability of the glucoraphanin was 22.5% in rats.

**RESUMEN.** La glucorafanina es un N-hidroxilsulfato de  $\beta$ -tioglicosido que se encuentra en el brócoli y otras verduras crucíferas. En este trabajo, utilizamos UPLC-MS/MS para detectar glucorafanina en plasma y estudiamos su farmacocinética, oral e intravenosa, y luego calculamos la biodisponibilidad absoluta. El midazolam se utilizó como patrón interno. Las muestras de plasma se procesaron por precipitación de proteínas usando metanol como precipitante. Se usó AUPLC BEH C18 para la separación cromatográfica usando fase móvil de metanol-ácido fórmico al 0,1% con gradiente de elución. Se aplicó el modo de monitoreo de reacción múltiple (MRM) usando espectrometría de masas en tándem con ionización por electropulverización (ESI) en ionización positiva para el análisis cuantitativo. Dentro del rango de 2-2000 ng/mL, la linealidad de la glucorafanina en plasma de rata fue aceptable ( $r > 0.995$ ), y el límite inferior de cuantificación (LLOQ) fue de 2 ng mL. El rango de precisión estuvo entre 91.3 y 107.9%, la precisión fue inferior al 12% y la recuperación fue mayor al 76.7%. El método desarrollado de UPLC-MS/MS se aplicó con éxito en la farmacocinética de glucorafanina en ratas después de la administración oral e intravenosa. La biodisponibilidad absoluta de la glucorafanina fue del 22,5 % en ratas.

**KEY WORDS:** glucoraphanin, pharmacokinetics, bioavailability, rat, UPLC-MS/MS

# These authors contributed equally to this work.

\* Authors to correspondence should be addressed. *E-mail:* jianshema@gmail.com