



Determination of Rubiadin in Mouse Blood by Ultra-Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry and its Application to Pharmacokinetics

Lingjiu SHAO¹ #, Qishun LIANG² #, Yongxi JIN³, Congcong WEN² *, & Fang CHEN² *

¹ Department of Nephrology, Wenzhou Central Hospital, Wenzhou 325000, China

² Laboratory Animal Centre, Wenzhou Medical University, Wenzhou 325035, China

³ Department of Rehabilitation, Wenzhou Municipal Hospital of Traditional Chinese Medicine, Wenzhou 325005, China

SUMMARY. Rubiadin exists in various plants, such as *Lepironia*, *Quassia*, *Amaranthaceae*, etc. Its resources are plentiful, it has no estrogenic side effects as a bone resorption inhibitor, and it possesses antituberculous, antifungal, and anticarcinogenic activities, thus showing a good prospect for application. A rapid and simple UPLC-MS/MS method was developed to determine rubiadin in mouse blood and its application to a pharmacokinetic study. Licochalcone A (internal standard, IS) and rubiadin were gradient eluted by mobile phase of acetonitrile and water (0.1% formic acid) in a Waters UPLC BEH C18 column. The multiple reaction monitoring of m/z 253.1→224.8 for rubiadin and m/z 337.2→119.7 for IS with an electrospray ionization (ESI) source was used for quantitative detection. The calibration curve ranged from 5 to 5000 ng/mL ($r > 0.995$). The matrix effects ranged from 87.1% to 92.6%, and the recovery was higher than 83.1%. The precision was less than 13%, and the accuracy ranged from 91.3% to 109.7%. The developed UPLC-MS/MS method was successfully used for a pharmacokinetic study of rubiadin in mice after oral (20 mg/kg) and intravenous administration (5 mg/kg), and the absolute availability of rubiadin was 22.2%.

RESUMEN. La rubiadina existe en varias plantas, como *Lepironia*, *Quassia*, *Amaranthaceae*, etc. Sus recursos son abundantes, no tiene efectos secundarios estrogénicos como inhibidor de la resorción ósea, y posee actividades antituberculosas, antifúngicas y anticancerígenas, por lo que presenta una buena perspectiva de aplicación. Se desarrolló un método UPLC-MS/MS rápido y simple para determinar rubiadina en sangre de ratón y su aplicación a un estudio farmacocinético. La licochalcona A (estándar interno, IS) y la rubiadina se eluyeron en gradiente mediante la fase móvil de acetonitrilo y agua (ácido fórmico al 0,1%) en una columna Waters UPLC BEH C18. La monitorización de reacciones múltiples de m/z 253,1→224,8 para rubiadina y m/z 337,2→119,7 para el IS con una fuente de ionización por electropulverización (ESI) se utilizó para la detección cuantitativa. La curva de calibración osciló entre 5 y 5000 ng/mL ($r > 0,995$). Los efectos de la matriz variaron del 87,1 al 92,6% y la recuperación fue superior al 83,1%. La precisión fue inferior al 13% y la precisión osciló entre el 91,3 y el 109,7%. El método de UPLC-MS/MS desarrollado se utilizó con éxito para el estudio farmacocinético de rubiadina en ratones después de la administración oral (20 mg/kg) e intravenosa (5 mg/kg), y la disponibilidad absoluta de rubiadina fue del 22,2%.

KEY WORDS: bioavailability, determination, mice, rubiadin, UPLC-MS/MS

These authors contributed equally to this work.

* Authors to whom correspondence should be addressed. *E-mails:* bluce494949@wmu.edu.cn (C. Wen); 8714419@qq.com (F. Chen).