



## Development and Validation of UPLC-MS/MS Method for the Determination of Andrographolide in Human Plasma

Hongchang YUAN<sup>1</sup>, Jianfang FENG<sup>1</sup>, Dongtao ZHANG<sup>1</sup>,  
Jie ZHANG<sup>2</sup>, Yajun WANG<sup>1</sup>, & Xiangjun QIU<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> *Medical College of Henan University of Science and Technology, Luoyang, 471003, PR China*

<sup>2</sup> *Forensic Medicine School of Henan University of Science and Technology, Luoyang, 471003, PR China*

**SUMMARY.** In this study, a simple, rapid and sensitive ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) method is described for determination of andrographolide in human plasma samples using chlorzoxazone as the internal standard (IS) from pharmacokinetic assays. Sample preparation was accomplished through protein precipitation with acetonitrile, and chromatographic separation was performed on an Acquity BEH C18 column (2.1 × 50 mm, 1.7 μm) with gradient profile at a flow of 0.40 mL/min. Mass spectrometric analysis was performed using a QTrap5500 mass spectrometer coupled with an electro-spray ionization (ESI) source in the negative ion mode. The linearity of this method was found to be within the concentration range of 5-400 ng/mL for andrographolide in human plasma. Only 3.0 min was needed for an analytical run. The method was applied to a pharmacokinetic study of andrographolide in healthy human subjects.

**RESUMEN.** En este estudio se describe un método de espectrometría de masas en tándem con cromatografía líquida de ultra desempeño (UPLC-MS/MS) simple, rápido y sensible para la determinación de andrografólido en muestras de plasma humanos utilizando la clorzoxazona como estándar interno (IS) en ensayos farmacocinéticos. La preparación de la muestra se llevó a cabo a través de la precipitación de proteínas con acetonitrilo, y la separación cromatográfica se realizó en una columna Acquity BEH C18 (2,1 × 50 mm, 1,7 μm) con perfil de gradiente a un caudal de 0,40 mL/min. Se realizó un análisis de espectrometría de masas usando un espectrómetro de masas QTrap 5500 junto con una fuente de ionización por electro-pulverización (ESI) en el modo de ion negativo. Se encontró que la linealidad del método estaba dentro del intervalo de concentración de 5-400 ng/mL para andrografólido en plasma humano. Se necesitan sólo 3,0 min para una serie de análisis. El método se aplicó a un estudio farmacocinético de andrografólido en sujetos humanos sanos.

**KEY WORDS:** andrographolide, human plasma, pharmacokinetic, UPLC-MS/MS.

\* Author to whom correspondence should be addressed. *E-mail:* lyxiangjun@126.com