



Determination of Benzoylaconine, Benzoylhypaconine and Atractylenolide I in Rat Plasma by UPLC-MS/MS and its Pharmacokinetics Study of Fuzi Decoction

Xiaoying ZHU¹ #, Feifei CHEN² #, Jiquan SHEN¹, Deru MENG¹, Hui JIANG¹ & Bo WANG¹ *

¹ Department of Orthopaedics, The First Affiliated Hospital of Lishui University,
Lishui 323000, Zhejiang, China;

² Department of Pharmacy, Ningbo First Hospital,
Ningbo, 315010, Zhejiang, China.

SUMMARY. Fuzi decoction was commonly used for the treatment of Yang exhaustion and inward invasion of cold-damp according to the theory of Traditional Chinese Medicine (TCM). In the study, UPLC-MS/MS was used to establish a selective and sensitive method to determine three main components in Fuzi decoction- benzoylaconine, benzoylhypaconine and atractylenolide I with carbamazepine as IS (internal standard) in plasma of rat. The sample was prepared by precipitating acetonitrile as a precipitant to precipitate the protein. Separation of benzoylaconine, benzoylhypaconine, atractylenolide I and carbamazepine were performed on a CORTECS UPLC C18 column (2.1×50 mm, $1.6 \mu\text{m}$). The mobile phase (acetonitrile: water of 0.1% formic acid) by gradient elution was set a flow rate of 0.4 mL/min. The ions of target fragment, $604.3 \rightarrow 105$ m/z for benzoylaconine, $574.3 \rightarrow 105$ m/z for benzoylhypaconine, $231.04 \rightarrow 185.11$ m/z for atractylenolide I and $237 \rightarrow 194.1$ m/z for IS, could quantify the electrospray ionization which positive of multiple reaction monitoring (MRM) mode. The linear calibration curve of the concentration range were 0.5-100 ng/mL for benzoylaconine and atractylenolide I, with a LLOQ (lower limit of quantification) of 0.1 ng/mL and 1-250 ng/mL for benzoylhypaconine, with a LLOQ of 0.2 ng/mL. RSD of inter-day and intra-day precision were both no more than 7.42% with the accuracy ranged from 98.81% and 106.05%. The average recovery of BAC, BHC and ALT were 98.87%, 102.24% and 101.33%. The developed and validated method was perfectly used in the pharmacokinetic study of Fuzi decoction after oral administration in rats.

RESUMEN. La decocción de Fuzi se usaba comúnmente para el tratamiento del agotamiento del Yang y la invasión interna de la humedad fría de acuerdo con la teoría de la Medicina Tradicional China (MTC). En el estudio, se utilizó UPLC-MS/MS para establecer un método selectivo y sensible para determinar tres componentes principales en la decocción de Fuzi: benzoilaconina, benzoilhipaconina y atractilenólido I con carbamazepina como IS (estándar interno) en plasma de rata. La muestra se preparó precipitando acetonitrilo como precipitante para precipitar la proteína. La separación de benzoilaconina, benzoilhipaconina, atractilenolida I y carbamazepina se realizó en una columna CORTECS UPLC C18 (2.1×50 mm, $1.6 \mu\text{m}$). La fase móvil (acetonitrilo: agua de ácido fórmico al 0,1%) mediante elución en gradiente se fijó en un caudal de 0,4 mL/min. Los iones del fragmento objetivo, $604.3 \rightarrow 105$ m/z para benzoilaconina, $574.3 \rightarrow 105$ m/z para benzoilhipaconina, $231.04 \rightarrow 185.11$ m/z para atractilenolido I y $237 \rightarrow 194.1$ m/z para IS, pudieron cuantificar la ionización por electropulverización positiva del modo de monitorización de reacciones múltiples (MRM). La curva de calibración lineal del rango de concentración fue 0.5-100 ng/mL para benzoilaconina y atractilenolido I, con un LLOQ (límite inferior de cuantificación) de 0.1 ng/mL y 1-250ng/mL para benzoilhipaconina, con un LLOQ de 0.2 ng/mL. Las RSD de precisión entre días e intradiarios no superaron el 7,42% con una precisión que varió entre el 98,81% y el 106,05%. La recuperación promedio de BAC, BHC y ALT fue 98,87%, 102,24% y 101,33%. El método desarrollado y validado se utilizó perfectamente en el estudio farmacocinético de la decocción de Fuzi después de la administración oral en ratas.

KEY WORDS: Fuzi decoction, pharmacokinetic study, rat plasma, UPLC-MS/MS.

These authors contributed equally to this work.

* Author to whom correspondence should be addressed. E-mail: bowang3332@lsu.edu.cn