

液相色谱-串联质谱法定量分析人血浆中曲克芦丁

许 毓, 刘 飞, 黄金昌, 郭庆祥

(中国科学技术大学化学系, 安徽 合肥 230026)

Quantitative Analysis of Troxerutin in Human Plasma Using Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry

XU Yu, LIU Fei, HUANG Jin-chang, GUO Qing-xiang

(Department of Chemistry, University of Science and Technology of China, Hefei 230026, China)

Abstract: A sensitive and specific liquid chromatography-tandem mass spectrometry method was developed and validated to quantify troxerutin in human plasma using rutin as the internal standard. After a simple protein precipitation with perchloric acid, the post-treatment samples were analyzed on a Phenomenex Synergi Fusion-RP column interfaced with a tripequadrupole tandem mass spectrometer using positive electrospray ionization. The assay was linear over the concentration range 31.25-4 000 pg/mL using a 20 μ L aliquot of plasma. The correlation coefficients for the calibration curves ranged from 0.999 5 to 0.999 6. The intra- and inter-day precisions over the entire concentration were not more than 13.5%. Acetonitrile and water (20 : 80, *v/v*) is used as the isocratic mobile phase, with 0.1% of formic acid in water. The method was successfully applied for pharmacokinetic study after a single oral administration of 300 mg troxerutin to 18 healthy volunteers.

Key words: liquid chromatography-tandem mass spectrometry; troxerutin; human plasma

中图分类号: O657.63 文献标识码: A 文章编号: 1004-2997(2006)增刊-90-02

曲克芦丁为芦丁经羟乙基化制成的半合成黄酮化合物, 具有抑制红细胞和血小板聚集、防止血栓形成、增加血中氧饱和度、改善微循环的作用, 同时能对抗 5-羟色胺、缓激肽引起的血管损伤, 增加毛细血管抵抗力, 降低毛细血管通透性, 可防止血管通透性升高引起的水肿。对急性缺血性脑损伤有显著的保护作用^[1]。

曲克芦丁在血浆中的浓度测定, 有两篇文献

报道采用高效液相方法^[2-3], 但检测限为 1 μ g/mL。本文报道了一种简单快捷的液质联用方法, 用于测定曲克芦丁在人血浆中的浓度, 芦丁作为内标, 最低定量限为 31.25 pg/mL。血浆样品的前处理采用简单的高氯酸蛋白沉淀法, 此测定方法被成功的应用于 18 个健康志愿者口服 300 毫克曲克芦丁的药代动力学研究。

1 试验部分

1.1 主要仪器

TSQ Quantum Ultra AM 型液相色谱-质谱联用仪,美国 Finnigan 公司产品,配有电喷雾离子源(ESI)及 Xcalibur1.4 数据处理系统;

1.2 主要材料与试剂

曲克芦丁对照品,中国药品生物制品检定所,含量 95.0%;芦丁对照品,中国药品生物制品检定所,含量 91.7%。乙腈:色谱纯,德国 Merck 公司产品;甲酸:色谱纯,美国 Tedia 公司产品;高氯酸:分析纯,上海金鹿化工有限公司;水:三重蒸馏水,自制。

1.3 试验条件

1.3.1 色谱条件 色谱柱:Phenomenex Synergi Fusion—RP 柱 100 mm×2.0 mm I.D. 4 μm(广州菲罗门科学仪器有限公司);流动相:乙腈:水(含 0.1% 甲酸)=20:80,流速 0.2 mL/min,柱温:20℃。进样量 20 μL。

1.3.2 质谱条件 离子源为 ESI 源;电喷雾电

压 4.8 kV;毛细管温度:340℃;源内碰撞电压(CID):6 V;鞘气流速:27 mL/min;辅助气流速:3 mL/min;正离子方式检测,扫描方式为选择反应监测(SRM),用于定量的离子分别为曲克芦丁母离子 m/z 743.2,子离子 m/z 435.0,碰撞能 22 V;内标芦丁母离子 m/z 610.9,子离子 m/z 303,碰撞能 22 V;扫描时间为 0.5s。

2 结果与讨论

本文建立了一种快速灵敏的液相色谱-串联质谱法测定人血浆中曲克芦丁,该方法测定曲克芦丁的线性范围为 31.25~4 000 pg/mL,定量下限为 31.25 pg/mL,以质控样品计算,该方法的日内精密性(RSD)小于 10.87%,日间精密性小于 13.5%,沉淀回收率为 88.0~115.7%。该法灵敏、准确、快速,成功地用于 18 名受试者单剂量口服 300 mg 曲克芦丁的药代动力学研究。

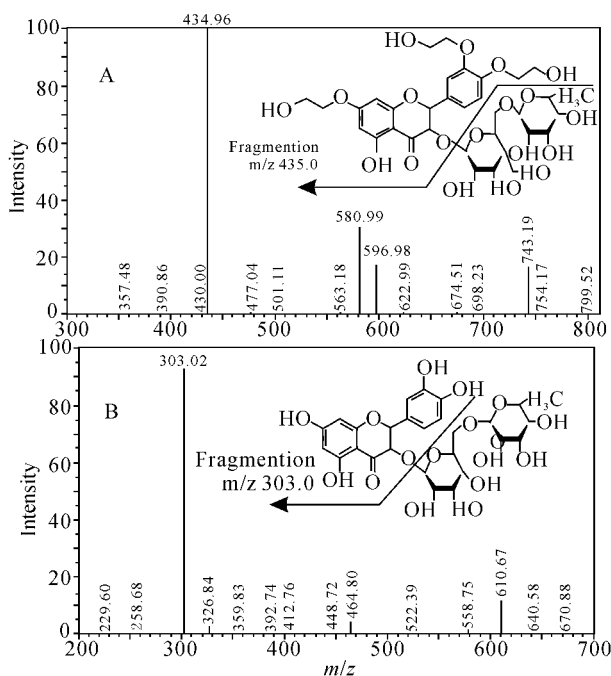


图 1 曲克芦丁(A)和芦丁(B)的 $[M+H]^+$ 的二级质谱图

Fig. 1 Product ion scan of $[M+H]^+$ ion of troxerutin (A) and rutin (B)

参考文献:

- [1] 袁 成,朱丽青,王景祥,等. 维脑路通及其各组分在 7 例患者的药物动力学[J]. 中国临床药理学与治疗学杂志, 1998, 3(1):14-16.
- [2] 张 辉,周 静,杨俊毅,等. RP-HPLC 测定人血浆中曲克芦丁的浓度[J]. 华西药理学杂志, 2004, 19(6): 439-440.
- [3] Dittrich P, Ostrowski J, Beubler E, et al. HPLC determination of troxerutin in plasma and urine following oral administration in man[J]. Arzneimittelforschung. 1985, 35(4):765-767.