

HPLC 测定人血浆中霉酚酸及其代谢物浓度

赵强^{1,2}, 高峰³(1. 山西医科大学公共卫生学院, 太原 030001; 2. 解放军 305 医院, 北京 100017; 3. 总参警卫局卫生保健处, 北京 100017)

摘要: 目的 建立反相高效液相色谱法, 同时测定人血浆中霉酚酸(mycophenolic acid, MPA)、酚化葡萄糖醛麦考酚酸(phenol glucuronide metabolite, MPAG)、酰基化 MPAG(acyl-MPAG, AcMPAG)的浓度。方法 用蛋白沉淀法对样品进行处理。固定相为 Zorbax Eclipse XDB C₁₈ 柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm), 流动相: 甲醇: 20 mmol·L⁻¹ NaH₂PO₄(用 20%磷酸调至 pH 3.0)为 55:45, 流速: 1.2 mL·min⁻¹, 检测波长: 304 nm, 柱温: 45 °C。结果 MPA、MPAG、AcMPAG 浓度在 0.2~50 μg·mL⁻¹($r=0.999\ 7$)、2.8~531 μg·mL⁻¹($r=0.999\ 9$)、0.3~24 μg·mL⁻¹($r=0.999\ 4$)内呈良好的线性关系。MPA 及其代谢物的绝对回收率均大于 80%, MPA、MPAG、AcMPAG 的相对回收率分别为 94.0%~101.4%, 98.4%~101.9%和 96.1%~104.2%。日内及日间 RSD 远低于 15%。结论 采用反相高效液相色谱法测定人血浆中 MPA、MPAG、AcMPAG 的浓度和进行药物代谢动力学研究, 方法灵敏度高、重复性强。

关键词: 霉酚酸; 酚化葡萄糖醛麦考酚酸; 酰基化 MPAG; 反相高效液相色谱法; 血浆浓度

中图分类号: R969.11

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2010)09-0836-05

Determination of Mycophenolic Acid and its Metabolins in Human Plasma by RP-HPLC

ZHAO Qiang^{1,2}, GAO Feng³(1. School of Public Health of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China; 2. 305 Hospital of PLA, Beijing 100017, China; 3. Health Care Division, Security Bureau of Headquarters of the General Staff, Beijing 100017, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE RP-HPLC method detection for simultaneous determination of Mycophenolic acid (MPA), its phenol glucuronide metabolite (MPAG) and acyl-MPAG (AcMPAG) in human plasma was established. **METHODS** The plasma samples were prepared with protein-precipitating reagent, and the supernatant was eluted on Zorbax column (250 mm×4.6 mm, 5 μm) with 20 mmol·L⁻¹ NaH₂PO₄ buffer (pH 3.0, adjusted with 20% phosphoric acid) and methanol (45:55) at 304 nm. The column temperature was 45 °C, and the flow rate was 1.2 mL·min⁻¹. **RESULTS** The assay was linear within the range of 0.2–50 μg·mL⁻¹ for MPA ($r=0.999\ 7$), 2.8–531 μg·mL⁻¹ for MPAG($r=0.999\ 9$), and 0.3–24 μg·mL⁻¹ for AcMPAG($r=0.999\ 4$). Mean absolute

作者简介: 赵强, 男, 副主任药师 Tel: (010)63098442 E-mail: frankzhao1972@yahoo.com.cn

recovery of MPA and its metabolites was more than 80%. The average recoveries of MPA, MPAG and AcMPAG were 94%.0–101.4%, 98.4%–101.9% and 96.1%–104.2 %, respectively. The RSD of within-day and between-day were all lower than 15%. **CONCLUSION** The method described is sensitive, reproducible, and will be useful in TDM or pharmacokinetic studies of MPA.

KEY WORDS: mycophenolic acid; phenolic glucuronide of mycophenolic acid; acyl-MPAG; RP-HPLC; plasma concentration

霉酚酸(Mycophenolic acid, MPA)为免疫抑制剂吗替麦考酚酯在体内的活性代谢物,广泛应用于器官移植中预防急性排异反应^[1]。MPA 在体内代谢为酚化葡萄糖醛麦考酚酸(phenol glucuronide metabolite, MPAG),后者为经尿排泄的主要代谢物^[2-3]。MPAG 无药理活性,可经肝肠循环重新生成 MPA^[4]。MPA 还可以代谢为酰基化 MPAG (acyl-MPAG, AcMPAG), AcMPAG 与 MPA 的某些毒副作用有关^[5]。MPA 的 AUC 与急性排异反应有关,可以作为吗替麦考酚酯治疗的重要指标。有研究表明,MPA 与 MPAG 及 AcMAG 的治疗药物监测有助于提高疗效并减少不良反应^[6]。目前已有的监测 MPA 及其代谢物的方法主要包括免疫法、HPLC 及 HPLC-MS^[7-10]。本研究建立了一种简单、快速、经济的 RP-HPLC,同时测定人血浆中 MPA、MPAG、AcMPAG 浓度。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

Angilent 1100 高效液相系统,包括等度泵、二极管阵列检测器、柱温箱及自动进样器(美国安捷伦公司);BS224 精密电子天平(Satorious);XW-80A 旋涡混合器(上海医科大学仪器厂);Milli-Q 超纯水系统(美国 Millipore 公司);TGL-16C 高速离心机(上海安亭科学仪器厂)。MPA、MPAG 及 AcMPAG 标准品(美国罗氏公司,批号:1150383);卡马西平标准品(中国药品生物制品检定所,批号:100142-199503);甲醇、乙腈(TEDIA, HPLC 级)。其余试剂均为分析纯。

1.2 色谱条件

Zorbax Eclipse XDB C₁₈ 柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm), Angilent 公司。流动相:甲醇-20 mmol·L⁻¹ NaH₂PO₄(用 20%磷酸调至 pH 3.0)=55:45,流速:1.2 mL·min⁻¹。检测波长为 215, 254 及 304 nm。柱温:45℃。

1.3 样品制备

1.3.1 储备液的配制 取适量 MPA、MPAG 及 AcMPAG 适量,精密称量。用甲醇溶解并稀释,得 MPA、MPAG、AcMPAG 储备液浓度分别为 2.0,

29.5 及 1.2 mg·mL⁻¹,密封后-40℃保存。精密称取卡马西平 10 mg,用甲醇溶解 10 mg·mL⁻¹,4℃保存。

1.3.2 工作液配制 用正常人空白血浆,加入一定量的储备液配成一系列浓度的血浆标准品,其中 MPA 的浓度分别为 0.2, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0, 25.0, 50.0 μg·mL⁻¹; MPAG 的浓度分别为 2.8, 5.6, 11.2, 22.4, 44.8, 88.5, 265.5, 531.0 μg·mL⁻¹; AcMPAG 的浓度分别为 0.3, 0.6, 1.2, 2.4, 4.8, 9.6, 12.0, 24.0 μg·mL⁻¹。另外配制浓度不同的质控样品(QCs),其中 MPA 的浓度分别为 0.35, 7.00, 30.00 μg·mL⁻¹; MPAG 的浓度分别为 4.20, 73.80, 295.00 μg·mL⁻¹, AcMPAG 的浓度分别为 0.48, 7.20, 18.00 μg·mL⁻¹。

1.3.3 血样的预处理 取血浆 100 μL,加入 20%磷酸 5 μL,混匀;加入含有卡马西平(4 μg·mL⁻¹)的乙腈 200 μL,振荡 20 s 混匀;16 000 r·min⁻¹ 离心 10 min,取上清液 30 μL 进样。

2 结果

2.1 色谱分离

在“1.2”项色谱条件下,MPA、AcMPAG、MPAG 及内标能够得到良好的分离。用 6 份不同空白血浆,按“1.3.3”项下处理后进样,发现与 215 及 254 nm 的色谱图相比,304 nm 时血浆内成分对 MPA 及其代谢物与内标的干扰最小,因此最后选择 304 nm 作为检测波长,见图 1。

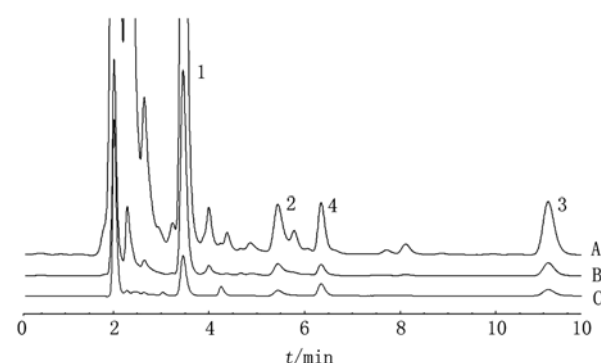


图 1 血浆中 MPA, MPAG, AcMPAG 在不同波长下的色谱图

A-210 nm; B-254 nm; C-304 nm; 1-MPAG; 2-AcMPAG; 3-MPA; 4-IS
Fig 1 Chromatographs for MPA, MPAG and AcMPAG in plasma sample under different wavelength.

A-210 nm; B-254 nm; C-304 nm; 1-MPAG; 2-AcMPAG; 3-MPA; 4-IS

2.2 标准曲线

连续测定 3 次标准曲线, MPA 在 $0.2\sim 50\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, MPAG 在 $2.8\sim 531\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, AcMPAG 在 $0.3\sim 24\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 内, 线性良好。MPA 标准曲线为 $Y = 0.449\ 0X + 0.007\ 295$ ($r=0.999\ 7$); MPAG 标准曲线为 $Y = 0.101\ 7X + 0.092\ 63$ ($r=0.999\ 9$); AcMPAG 标准曲线为 $Y = 0.266\ 3X - 0.016\ 97$ ($r=0.999\ 4$)。其中 X 为浓度($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), Y 为样品峰面积与内标峰面积比值。

2.3 回收率

分别取 3 种浓度质控品血浆若干份, 另用水将

MPA 及其代谢物稀释成相应浓度标本, 分别按照“1.3.3”项下操作, 进样。以血浆中 MPA、MPAG、AcMPAG 面积与相应浓度对照品水溶液峰面积之比求算绝对回收率, 用标准曲线测得对照品血浆浓度与配制浓度的比值计算相对回收率, 见表 1。

2.4 精密度

取 3 种不同浓度对照品血浆若干份, 于同一日内按“1.3.3”操作平行测定 5 次, 根据测定结果计算日内 RSD, 另连续 5 d, 1 次 $\cdot\text{d}^{-1}$, 按“1.3.3”操作并进样测定, 根据测定结果计算日间 RSD, 见表 1、表 2、表 3。

表 1 MPA 不同浓度样品的回收率及日内、日间变异系数($n=6$)

Tab 1 The recovery and accuracy of the HPLC assay for the quantification of MPA in human plasma($n=6$)

样品浓度/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	回收率		日内变异系数			日间变异系数		
	回收率/%	RSD/%	测得量/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	回收率/%	RSD/%	测得量/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	回收率/%	RSD/%
0.35	80.7 $\pm$ 4.9	6.0	0.33 $\pm$ 0.02	94.0 $\pm$ 6.6	7.0	0.35 $\pm$ 0.03	100.0 $\pm$ 8.8	8.8
7.00	82.6 $\pm$ 4.9	5.9	7.10 $\pm$ 0.35	101.4 $\pm$ 5.0	4.9	7.10 $\pm$ 0.35	101.2 $\pm$ 3.9	3.8
30.00	80.9 $\pm$ 1.5	1.9	29.26 $\pm$ 1.38	97.5 $\pm$ 4.6	4.7	29.26 $\pm$ 1.38	97.4 $\pm$ 5.0	5.2

表 2 MPAG 不同浓度样品的回收率及日内、日间变异系数($n=6$)

Tab 2 The recovery and accuracy of the HPLC assay for the quantification of MPAG in human plasma($n=6$)

样品浓度/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	回收率		日内变异系数			日间变异系数		
	回收率/%	RSD/%	测得量/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	回收率/%	RSD/%	测得量/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	回收率/%	RSD/%
4.20	86.4 $\pm$ 1.0	1.2	4.13 $\pm$ 0.20	98.4 $\pm$ 4.7	4.8	4.30 $\pm$ 0.29	102.30 $\pm$ 6.7	6.5
73.80	83.6 $\pm$ 0.7	0.9	75.10 $\pm$ 3.81	101.8 $\pm$ 5.2	5.1	71.40 $\pm$ 3.06	96.80 $\pm$ 4.1	4.3
295.00	86.8 $\pm$ 2.1	2.4	300.70 $\pm$ 13.5	101.9 $\pm$ 4.6	4.5	299.70 $\pm$ 17.0	101.65 $\pm$ 5.8	5.7

表 3 AcMPAG 不同浓度样品的回收率及日内、日间变异系数($n=6$)

Tab 3 The recovery and accuracy of the HPLC assay for the quantification of AcMPAG in human plasma($n=6$)

样品浓度/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	回收率		日内变异系数			日间变异系数		
	回收率/%	RSD/%	测得量/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	回收率/%	RSD/%	测得量/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	回收率/%	RSD/%
0.48	85.5 $\pm$ 8.3	9.7	0.50 $\pm$ 0.04	104.2 $\pm$ 8.1	7.8	0.52 $\pm$ 0.06	107.9 $\pm$ 12.4	11.4
7.20	86.2 $\pm$ 1.9	2.2	6.92 $\pm$ 0.27	96.1 $\pm$ 3.8	4.0	6.82 $\pm$ 0.20	94.8 $\pm$ 2.8	2.9
18.00	86.9 $\pm$ 1.9	2.2	17.35 $\pm$ 0.93	96.4 $\pm$ 5.2	5.4	18.00 $\pm$ 0.93	99.8 $\pm$ 5.2	5.2

2.5 检测限和定量限

检出限根据信噪比 3/1 确定, 定量限用标准曲线最低点。MPA、MPAG、AcMPAG 检测限分别为 0.1, 0.5, 0.1 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 取 MPA、MPAG、AcMPAG 含量分别为 0.2, 2.8, 0.3 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的标准品 6 份, 按“1.3.3”项下操作, 进样, 将峰面积与 IS 比值代入标准曲线计算, 得 3 种成分定量限分别为 0.2, 2.8, 0.3 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

2.6 稳定性试验

取 3 种浓度质控样品各 3 份, 在室温放置 24 h 后按“1.3.3”操作。另取每种浓度血浆样品各 9 份,

置于 $-35\ ^\circ\text{C}$ 冰箱中冷冻后, 取出放于室温下自然融化, 其中每种浓度各 3 份按“1.3.3”操作测定, 其余重新置于 $-35\ ^\circ\text{C}$ 下保存, 这样重复进行 3 次, 评价冻融稳定性。另将样品若干份 $-35\ ^\circ\text{C}$ 保存 1 个月, 按“1.3.3”操作测定, 评价长期稳定性。取样品若干份按“1.3.3”操作, 取出上清液放入自动进样器放置 24 h, 进样测定。见表 4、表 5、表 6。

2.7 方法应用

9 位肾移植患者, 移植术后接受标准三联免疫抑制治疗(包括吗替麦考酚酯 MMF、环孢素 A 和激素), 其中 MMF 剂量为 1 g, 每天 2 次。1 周后,

表 4 血浆中 MPA 的稳定性($n=6$)

Tab 4 The stability of MPA in human plasma($n=6$)

样品浓度/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	放置 24 h 样品		放置 1 月样品		冻融样品		处理后样品	
	测得量/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	RSD/%	测得量/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	RSD/%	测得量/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	RSD/%	测得量/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	RSD/%
0.35	0.37 $\pm$ 0.02	5.40	0.38 $\pm$ 0.03	6.58	0.34 $\pm$ 0.02	5.88	0.33 $\pm$ 0.02	6.06
7.00	6.72 $\pm$ 0.16	2.38	7.22 $\pm$ 0.46	6.37	7.32 $\pm$ 0.12	1.64	7.21 $\pm$ 0.35	4.85
30.00	30.83 $\pm$ 0.24	0.78	31.83 $\pm$ 1.24	3.90	29.57 $\pm$ 0.59	2.00	30.90 $\pm$ 2.47	7.99

表 5 血浆中 MPAG 的稳定性($n=6$)

Tab 5 The stability of MPAG in human plasma($n=6$)

样品浓度/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	放置 24 h 样品		放置 1 月样品		冻融样品		处理后样品	
	测得量/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	RSD/%	测得量/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	RSD/%	测得量/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	RSD/%	测得量/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	RSD/%
4.20	4.29 $\pm$ 0.41	9.56	4.16 $\pm$ 0.38	9.13	4.36 $\pm$ 0.39	8.94	4.10 $\pm$ 0.28	6.83
73.80	68.70 $\pm$ 3.41	4.96	72.70 $\pm$ 4.22	5.80	75.80 $\pm$ 3.55	4.68	75.00 $\pm$ 4.93	6.57
295.00	318.90 $\pm$ 6.94	2.18	302.60 $\pm$ 4.55	1.50	305.20 $\pm$ 6.44	2.11	315.50 $\pm$ 23.84	7.56

表 6 血浆中 AcMPAG 的稳定性($n=6$)

Tab 6 The stability of AcMPAG in human plasma($n=6$)

样品浓度/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	放置 24 h 样品		放置 1 月样品		冻融样品		处理后样品	
	测得量/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	RSD/%	测得量/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	RSD/%	测得量/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	RSD/%	测得量/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	RSD/%
0.48	0.51 $\pm$ 0.04	7.92	0.43 $\pm$ 0.04	8.14	0.48 $\pm$ 0.03	6.18	0.48 $\pm$ 0.05	11.30
7.20	6.57 $\pm$ 0.29	4.41	6.27 $\pm$ 0.35	5.58	7.59 $\pm$ 0.12	1.58	7.19 $\pm$ 0.33	4.59
18.00	19.07 $\pm$ 0.65	3.41	18.57 $\pm$ 0.76	4.09	18.29 $\pm$ 0.22	1.20	18.67 $\pm$ 0.92	4.93

采集服药前及服药后 0.5, 1, 1.5, 2, 4, 6, 8, 10, 12 h 血标本。采用建立的方法测定血浆中 MPA、MPAG、AcMPAG 浓度。药时曲线见图 2。

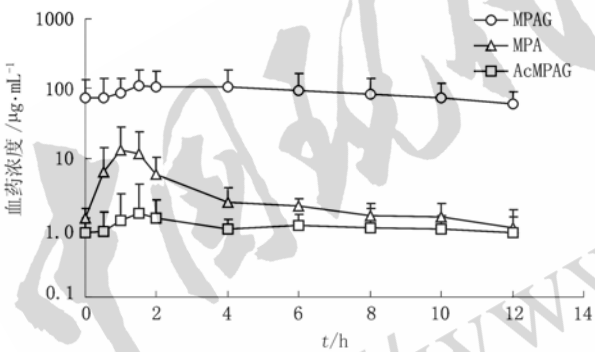


图 2 9 位肾移植患者 MPA、MPAG、AcMPAG 药-时曲线
Fig 2 Concentration-time curve of MPA and its metabolites MPAG, AcMPAG in 9 patients after renal transplant

3 讨论

MPA 检测最主要的方法为 HPLC, 包括采用 UV 检测器和荧光检测器, 方法均能满足 MPA 血药浓度监测和药动力学研究的要求。近年基于免疫原理的方法也开始应用, 如均相酶免疫技术(enzyme multiplied immunoassay technology, EMIT), EMIT 有商品化的试剂盒, 方便快捷, 适宜于 MPA 常规监测。但 EMIT 仅能检测 MPA 原形药物, 而且存在着免疫测定法的共同缺点: 特异性不高, 易受结构相似物质包括代谢物的干扰。因此, HPLC 仍是

目前应用最为广泛的方法, 尤其是在测定 MPA 及其代谢物时。已有不同研究分析 MPA 及代谢物, 包括 HPLC-UV, HPLC/MS/MS。其中 LC/MS/MS 灵敏度更高, 但由于价格过于昂贵, 目前国内多数单位无法配备。笔者根据已有条件, 采用了等度洗脱的 HPLC-UV 法同时分析 MPA、MPAG 及 AcMPAG。方法简便经济、分析迅速准确, 能够满足 MPA 及其代谢物的监测及药动力学研究。

MPA 及其代谢物 MPAG 和 AcMPAG 的 UV 光谱显示其存在 3 个吸收峰, 分别位于 215, 254 及 304 nm。MPA 及其在 304 nm 处吸收比 215 nm 处小 8.3, 21.8 和 9.4 倍, 比 254 nm 处分别小 2.0, 5.0 和 2.7 倍, 在 215 nm 和 254 nm 时灵敏度更高。但在 215 和 254 nm 时, 血浆内源物质以及同时服用药物的干扰也更加明显, 影响了 MPA 及其代谢物的测定。同时, 304 nm 时灵敏度也能满足 TDM 和相关药动力学研究的需要, 因此笔者选用的检测波长为 304 nm。

目前用于 MPA 及其代谢物浓度测定的样品处理主要有固相萃取(SPE)、液-液萃取(LLE)以及蛋白沉淀。根据已有的研究, 采用 SPE 和 LLE 方法, 血浆中杂质对测定干扰更小。但这 2 种方法的操作步骤都较为繁琐, 此外, SPE 法需要昂贵的固相萃取小柱, 而 LLE 法需要使用大量的有机溶剂, 对环

境有污染且有一定危险性。这 2 种方法都不适于临床常规检测使用。蛋白沉淀法的灵敏度和分离效果可能不如 SPE 和 LLE 法,但这种方法更加简便经济。本研究中根据文献,试验了不同量的甲醇、乙腈、高氯酸作为沉淀剂,最后确定采用 2 倍体积的乙腈,在灵敏度、重复性等方面都达到了要求。

血浆样品的稳定性对 MPA 及其代谢物的 TDM 非常关键。Shipkova 等^[7]发现,AcMPAG 在生理的 pH 条件下储存在 4 °C 时很快会水解。而当血样酸化为 pH 2.5,并存放于-20 °C 时,样品保持稳定。在研究中将样品室温放置 24 h,AcMPAG 及 MPA 的回收率分别为 60.4% 和 120.4%,说明部分 AcMPAG 水解为 MPA。因此,在样品采集后要迅速分离血浆并存放入低温冰箱中。另外,在进行样品操作时需在样品中加入 5 μL 磷酸,提高样品的稳定性。处理后的样品在室温放置 24 h 后浓度未有明显改变。

REFERENCES

- [1] SCHÜTZ E, SHIPKOVA M, ARMSTRONG VW, et al. Oellerich. Identification of a pharmacologically active metabolite of mycophenolic acid in plasma of transplant recipients treated with mycophenolate mofetil [J]. Clin Chem, 1999, 45(3): 419-422.
- [2] BULLINGHAM R, NICHOLLS A J, KAMM B R, et al. Clinical pharmacokinetics of mycophenolate mofetil [J]. Clin Pharmacokinet, 1998, 34(6): 429-455.
- [3] SHAW L M, NICHOLLS A, HALE M. Therapeutic monitoring of mycophenolic acid: a consensus panel report [J]. Clin Biochem, 1998, 31(5): 317-322.
- [4] SHAW L M, PAWINSKI T, KORECKA M. Monitoring of mycophenolic acid in clinical transplantation [J]. Ther Drug Monit, 2002, 24(1): 68-73.
- [5] WIELAND E, SHIPKOVA M, SCHELLHAAS U, et al. Induction of cytokine release by the acyl glucuronide of mycophenolic acid: a link to side effects [J]. Clin Biochem, 2000, 33(2): 107-113.
- [6] HOLT D W. Monitoring mycophenolic acid [J]. Ann Clin Biochem, 2002, 39(3): 173-183.
- [7] SHIPKOVA M, SCHUTZ E, ARMSTRONG V W, et al. Determination of the acyl glucuronide metabolite of mycophenolic acid in human plasma by HPLC and Emit [J]. Clin Chem, 2000, 46(3): 365-372.
- [8] KHOSHSORUR G, ERWA W. Liquid chromatographic method for simultaneous determination of mycophenolic acid and its phenol- and acylglucuronide metabolites in plasma [J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2004, 799(2): 355-360.
- [9] PATEL C G, AKHLAGHI F. High-performance liquid chromatography method for the determination of mycophenolic acid and its acyl and phenol glucuronide metabolites in human plasma [J]. Ther Drug Monit, 2006, 28(1): 116-122.
- [10] BRANDHORST G, STREIT F, GOETZE S, et al. Quantification by liquid chromatography tandem mass spectrometry of mycophenolic acid and its phenol and acyl glucuronide metabolites [J]. Clin Chem, 2006, 52(10): 1962-1964.

收稿日期: 2009-12-28