液相色谱-串联质谱法测定人血浆中二甲双胍的浓度

张丹, 王国才, 黄建权, 郑天雷, 王涛, 杨漫, 王振龙, 刘会臣*

(航天中心医院临床药理室, 北京 100049)

摘要 目的: 建立 LC-MS/MS法测定人血浆中二甲双胍的浓度。方法: 人血浆样本以乙腈沉淀蛋白后, 选用 Zorbax SB-C_{18} Narrow-Bore色谱柱(150 mm × 2.1 mm, 5 μm), 以甲醇-10 mmol·L^{-1}乙酸铵(含1%甲酸)(5∶95)为流动相, 流速为0.3 mL·min^{-1}; 选用 API3200型三重四极杆串联质谱仪的多重反应监测(MRM)扫描方式进行监测, 电喷雾离子化源, 正离子方式, 选择监测离子反应分别为 m/z 130.1→m/z 71.0(二甲双胍)和 m/z 147.1→m/z 58.2(内标米曲肼)。结果: 二甲双胍和米曲肼的保留时间分别为1.27 min和1.26 min; 血浆中二甲双胍的线性范围为0.010~3.000 mg·L^{-1}(r> 0.99), 定量下限为0.010 mg·L^{-1}; 日内、日间 RSD均小于6%; 相对偏差(RE)均在±6%的范围以内; 平均提取回收率为(86.6±5.4)%; 稳定性试验中, 在各种贮存条件下血浆中二甲双胍均较稳定。结论: 该方法快速、灵敏, 专属性强, 重现性好, 适用于人血浆中二甲双胍浓度的测定, 可应用于盐酸二甲双胍肠溶片的人体生物等效性研究。

关键词: 二甲双胍; 人血浆; 液相色谱-串联质谱联用法; 生物等效性

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(2011)02-0317-05

LC-MS/MS determination of metformin in human plasma

ZHANG Dan, WANG Guo-cai, HUANG Jian-quan, ZHENG Tian-lei, WANG Tao, YANG Man, WANG Zhen-long, LIU Hui-chen*

(Clinical Pharmacology Department, Aerospace Center Hospital, Beijing 100049, China)

Abstract Objective: To develop an LC-MS/MS method for determination of metformin in human plasma. **Methods:** After protein precipitation with acetonitrile, the analyte and internal standard, mildronate, were separated on a Zorbax SB-C_{18} (150 mm × 2.1 mm, 5 μm) Narrow-Bore analytical column using the mobile phase of methanol and 10 mmol·L^{-1} ammonium acetate (containing 1% formic acid) (5∶95) at a flow rate of 0.3 mL·min^{-1}. Detection was carried out by electrospray positive ionization mass spectrometry in the multiple reaction monitoring (MRM) mode. The MRM transitions of m/z 130.1→m/z 71.0 and m/z 147.1→m/z 58.2 were used to quantify metformin and internal standard, respectively. **Results:** Metformin and internal standard were eluted at 1.27 and 1.26 min, respectively. The calibration curve was linear over the concentration range of 0.010-3.000 mg·L^{-1} with the lower limit of quantitation (LLOQ) 0.010 mg·L^{-1}. Intra and inter day RSD were both less than 6%, and the relative errors (RE) were within 6%. The mean extract recoveries were (86.6±5.4)%. In the stability studies, metformin in plasma was found to be stable under various storage conditions. **Conclusion:** It is a rapid, sensitive, selective and reliable method for the determination of metformin in human plasma. The method is successfully applied to a bioequivalence study of metformin hydrochloride enteric-coated tablets in healthy volunteers.

Key words: metformin; human plasma; LC-MS/MS; bioequivalence

二甲双胍(metformin)化学名称为1,1-二甲基双胍(化学结构见图1A), 是治疗Ⅱ型糖尿病的常用药。盐酸二甲双胍口服制剂可增强机体对胰岛素的敏感性, 加强外周组织对葡萄糖的摄取, 抑制肝脏糖异生, 减少肝葡萄糖输出, 减少肠道葡萄糖吸收[1,2]。临床上常用其作为单独的治疗药物, 或者与其他药物联合用药。因此, 为进行人体药代动力学研究和治疗药物监测, 有必要建立快速、灵敏、准

* 通讯作者 Tel: (010) 59971772; E-mail: liu-huichen@163.com

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

确地测定人血浆中二甲双胍浓度的方法。国内外对生物样本中二甲双胍的测定方法有气相色谱法(GC)[3]、毛细管电泳法(CE)[4]、液相色谱法(LC-UV)[5~9]、液相色谱-串联质谱联用法(LC-MS/MS)[10~19]等,但都存在一定的局限性,如方法灵敏度较低[4,5,16]、定量上限较低[13~15],无法满足盐酸二甲双胍口服制剂的人体药代动力学的研究;样本处理过程复杂[3,4,9~13],色谱条件复杂[13,14,17],血浆用量较大(≥500 μL)[9,10,18],检测时间较长(≥10 min)[6~10,19]等。为了研究盐酸二甲双胍口服制剂的人体药代动力学,本实验建立高效、灵敏、准确、专属性强的 LC-MS/MS方法,以测定人血浆中二甲双胍的浓度。

1 仪器与试药

API3200型三重四极杆串联质谱仪:美国 Applied Biosystems公司产品,配有电喷雾离子化源(ESI)以及 Analyst 1.4.2数据处理软件;Prominence 20A液相色谱仪:日本 Shimadzu公司产品,包括 LC-20AD型二元泵,DGU-20A3型脱气机,SIL-20A型自动进样器,CTO-20A型柱温箱,CBM-20A系统控制器;QB-600型高速振荡混合器:海门市其林贝尔仪器制造有限公司产品;Sigma 3-18K台式高速离心机:德国 Sartorius Stedim Biotech公司产品。

盐酸二甲双胍对照品(纯度以 $C_4H_{11}N_5 \cdot HCl$ 计为 100%)购自中国药品生物制品检定所,批号:100664-200602;米曲肼(纯度为 98.5%),由北京新领先医药科技发展有限公司提供;受试制剂:盐酸二甲双胍肠溶片,规格:250 mg·片$^{-1}$(按盐酸二甲双胍计),北京京丰制药有限公司研制并提供,批号:090501;参比制剂:盐酸二甲双胍肠溶片,规格:250 mg·片$^{-1}$(按盐酸二甲双胍计),北京利龄恒泰药业有限公司生产,批号:080910;甲醇:色谱纯,美国 Fisher公司产品,批号:086535;甲酸:色谱纯,美国 Dikma公司产品,批号:14111;其他试剂均为分析纯;空白人血浆由航天中心医院提供。

2 溶液的配制

对照品储备液:精密称取盐酸二甲双胍对照品 6.41 mg(相当于二甲双胍 5.00 mg),置 5 mL量瓶中,加乙腈-水(1∶1)的溶液溶解,并稀释至刻度,配制成浓度为 1.00 g·L^{-1}的二甲双胍储备液。

对照品血浆:分别取适量二甲双胍储备液,用空白血浆稀释成浓度分别为 0.010,0.030,0.100,0.300,1.000,3.000 mg·L^{-1}的对照品血浆。

质控样本:分别取适量二甲双胍储备液,用空白血浆稀释成浓度分别为 0.030,0.300,2.400 mg·L^{-1}的质控样本。

质控溶液:分别取适量二甲双胍储备液,用乙腈稀释成浓度分别为 0.150,1.500,12.000 mg·L^{-1}的质控溶液。

内标溶液:精确称取米曲肼 5.08 mg 置 5 mL量瓶中,加乙腈-水(1∶1)的溶液溶解,并稀释至刻度,配制成浓度为 1.00 g·L^{-1}的米曲肼储备液。取适量米曲肼储备液,用乙腈稀释成浓度为 20.0 mg·L^{-1}的溶液。

3 血浆样本处理

精密取血浆样本 50 μL置于 1.5 mL EP管中,加入内标溶液 10 μL,乙腈沉淀剂 190 μL,涡流 1 min,10000 r·min^{-1}离心 10 min,将全部上清液(230 μL)转移至另一洁净的 1.5 mL EP管中,加入醋酸溶液(1 mol·L^{-1})50 μL,涡流 1 min后,取 100 μL于进样瓶中进行 LC-MS/MS分析。

4 色谱条件及质谱条件

4.1 色谱条件 预柱:美国 Phenomenex C_{18}保护柱(4 mm×3.0 mm,5 μm);分析柱:Agilent Zorbax SB-C_{18} Narrow-Bore柱(150 mm×2.1 mm,5 μm);流动相:甲醇-10 mmol·L^{-1}乙酸铵(含 1%甲酸)(5∶95);洗脱方式:等度洗脱;流速:0.3 mL·min^{-1};柱温:40 ℃;进样量:2 μL。

4.2 质谱条件 离子源:电喷雾离子源(ESI),正离子方式监测;离子喷射电压:1.2 kV;温度:550 ℃;源内气体 1(GS1,N_2)压力:345 kPa,气体 2(GS2,N_2)压力:517 kPa,气帘气体(N_2)压力:138 kPa,碰撞气(CAD,N_2)压力:34 kPa,扫描方式为多重反应监测(MRM);用于定量分析的离子反应分别为 m/z 130.1→m/z 71.0(二甲双胍)和 m/z 147.1→m/z 58.2(米曲肼),解簇电压(DP)分别为 29 V和 18 V,碰撞能量(CE)分别为 30 eV和 38 eV;Q1和 Q3分辨率均为 UNIT。

5 分析方法确证

5.1 质谱分析 分别将二甲双胍、米曲肼储备液用乙腈稀释成浓度为 0.100 mg·L^{-1}和 1.00 mg·L^{-1}的溶液,采用蠕动泵以 10 μL·min^{-1}的恒定速度泵入 MS/MS系统,进行碎片离子分析,相应的二级全扫描质谱图见图 1。

5.2 特异性 分别取 6名健康志愿者的空白血浆(加入乙腈代替内标溶液),对照品血浆(加入内标溶液)和一名健康志愿者口服盐酸二甲双胍肠溶片 500 mg后 4 h的血浆样本(加入内标溶液),按“3”、

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

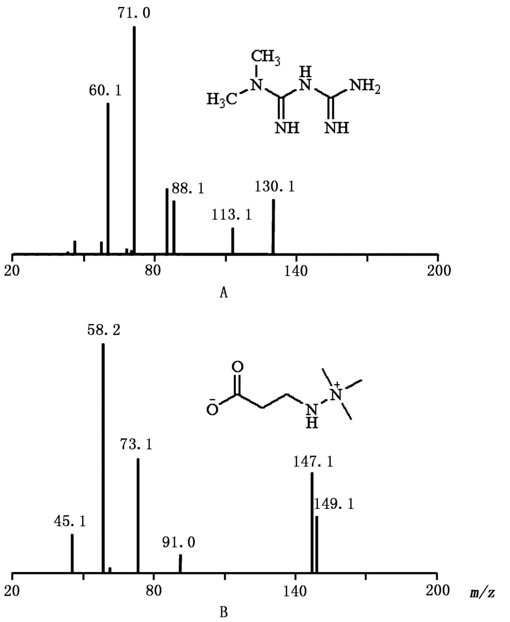

图 1　二甲双胍(A)和米曲肼(B)$[M+H]^+$的二级全扫描质谱图

Fig 1　Full-scan product ion spectra of $[M+H]^+$ for metformin (A) and mildronate (B)

"4"项操作,其色谱图见图 2。二甲双胍和米曲肼的保留时间分别为 1.27 min和 1.26 min,血浆中内源性物质在二甲双胍和内标出峰处均无杂峰。

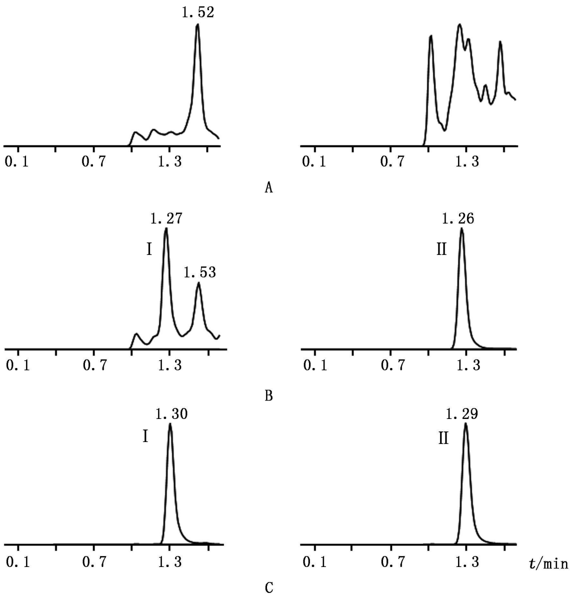

图 2　二甲双胍(Ⅰ)和米曲肼(Ⅱ)的典型色谱图

Fig 2　Chromatograms of metformin(Ⅰ) and mildronate (Ⅱ)

A. 空白血浆(blank plasma)　B. 0.010 mg·L^{-1}二甲双胍对照品血浆[standard sample (0.010 mg·L^{-1}) added internal standard]

C. 志愿者口服盐酸二甲双胍肠溶片 500 mg后 4 h的血浆样本(plasma sample from a healthy volunteer 4 h after a single oral administration of 500 mg metformin hydrochloride enteric-coated tablets)

5.3　基质效应　取空白血浆(6个不同来源)50 μL,除不加内标溶液,且加入乙腈沉淀剂体积改为200 μL外,按"3"项操作,离心后将全部上清(230 μL)转移至另一干净 1.5 mL EP管中,分别加入内标溶液和相应浓度的质控溶液(0.150,1.500,12.000 mg·L^{-1}二甲双胍的乙腈溶液)各 10 μL,及醋酸溶液(1 mol·L^{-1})50 μL,涡流 1 min,每一浓度进行 6样本分析(每一浓度均有 6个不同来源的空白血浆各 1份),按"4"项操作。另取水 30 μL,加入乙腈 200 μL,分别加入内标溶液和相应浓度的质控溶液(0.150,1.500,12.000 mg·L^{-1}二甲双胍的乙腈溶液)各 10 μL,及醋酸溶液(1 mol·L^{-1})50 μL,涡流 1 min,每一浓度进行 6样本分析,按"4"项操作。以每一浓度 2种处理方法的峰面积比值,计算血浆中内源性物质对二甲双胍和米曲肼的基质效应[20]。血浆中内源性物质对低、中、高 3个浓度的二甲双胍的基质效应分别为(87.5 ±5.9)%,(85.0 ±4.5)%,(88.9 ±4.3)%;平均基质效应为(87.1 ±4.9)%,血浆中内源性物质对内标米曲肼的基质效应为(76.0 ±5.8)%。

5.4　标准曲线和定量下限

分别取对照品血浆 50 μL,按"3"、"4"项操作。以血浆中待测物浓度为横坐标 X(mg·L^{-1}),待测物与内标物的峰面积比值为纵坐标 Y,用加权($W=1/x^2$)最小二乘法进行回归运算,求得的直线回归方程为:

$Y=3.02X-0.311\times10^{-4}$　$r=0.9988$

本方法测定人血浆中二甲双胍的线性范围为 0.010 ~ 3.000 mg·L^{-1}。

取浓度为 0.010 mg·L^{-1}的对照品血浆 50 μL,按"3"、"4"项操作,进行 6样本分析,连续测定 3 d。根据当日的标准曲线,计算每一样本的浓度。准确度与精密度结果列于表 1,本方法测得人血浆中二甲双胍的定量下限为 0.010 mg·L^{-1}。

5.5　准确度与精密度　分别取质控样本 50 μL,按"3"、"4"项操作,每一浓度进行 6样本分析,连续测定 3 d。根据当日的标准曲线,计算质控样本的测定浓度。准确度与精密度结果列于表 1,相对偏差(RE)均在 ±6% 的范围以内,日内、日间 RSD均小于 6%。

5.6　提取回收率　分别取质控样本 50 μL,按"3"项操作,离心后将全部上清(230 μL)转移至另一洁

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

表 1 人血浆中二甲双胍 LC-MS/MS 测定方法的准确度与精密度结果 ($n = 18$)

Tab 1 Results of precision and accuracy for the determination of metformin in human plasma

浓度(concentration)/mg·L⁻¹ 加入量(added)	测定量(found)	精密度(precision)RSD/% 日内(intra-day)	日间(inter-day)	准确度(accuracy, RE)/%
0.010	0.010±0.001	5.5	6.4	0.0
0.030	0.030±0.002	5.5	3.6	0.0
0.300	0.308±0.006	1.9	2.9	2.7
2.400	2.272±0.037	1.7	0.9	-5.3

净 1.5 mL EP管中,加入乙腈 20 μL,及醋酸溶液(1 mol·L⁻¹) 50 μL,涡流 1 min,每一浓度进行 6样本分析,按"4"项操作。另取空白血浆 50 μL,除不加内标溶液,且加入乙腈沉淀剂体积改为 200 μL外,按"3"项操作,离心后将全部上清(230 μL)转移至另一干净 1.5 mL EP管中,分别加入内标溶液和相应浓度的质控溶液(0.150,1.500,12.000 mg·L⁻¹二甲双胍的乙腈溶液)各 10 μL,及醋酸水溶液(1 mol·L⁻¹) 50 μL,涡流 1 min,每一浓度进行 6样本分析,按"4"项操作。以每一浓度 2种处理方法的峰面积比值,计算血浆中二甲双胍和米曲肼的提取回收率。血浆中低、中、高 3个浓度的二甲双胍的提取回收率分别为:(82.9±6.8)%,(88.8±3.4)%,(88.2±4.1)%,平均提取回收率为(86.6±5.4)%,血浆中米曲肼的提取回收率为(64.8±5.4)%。

5.7 稳定性试验　分别取质控样本 50 μL,按"3"、"4"项操作,每一浓度进行 3样本分析,考察血浆样本室温放置 8 h、经 3次冻融、-50 ℃冰冻放置 2个月,以及血浆样本经处理后于自动进样器中室温放置 8 h后二甲双胍的稳定性。结果列于表 2,测定浓度与理论浓度的 RE均在 ±7%以内,表明在血浆样本室温放置、反复冻融、长期冰冻放置过程中,以及处理后分析测定过程中,二甲双胍均较为稳定,各种贮存条件不影响对样本浓度进行准确测定。

6 方法应用

22名中国健康男性志愿者,平均年龄(24±3)岁,体重(64.1±6.6) kg,身高(1.73±0.06) m,体重指数(21±1) kg·m⁻²,采用随机双周期自身交叉对照试验设计,口服盐酸二甲双胍肠溶片受试制剂和参比制剂,给药剂量均为 500 mg。应用本方法测定志愿者口服受试制剂和参比制剂后不同时间血浆中二甲双胍的浓度,计算药代动力学参数,研究受试制剂的相对生物利用度,并进行生物等效性评价。

22名志愿者口服盐酸二甲双胍肠溶片(受试制剂)和盐酸二甲双胍肠溶片(参比制剂)后平均血药浓度-时间曲线示于图 3,主要药代动力学参数 C_{max}分别为(1.349±0.575) mg·L⁻¹和(1.496±0.903) mg·L⁻¹,T_{max}分别为(4.36±0.85) h和(4.18±0.96) h,$t_{1/2}$分别为(3.53±0.67) h和(4.00±1.97) h;采用梯形法计算,$AUC_{0\sim t}$分别为(7.277±2.696) mg·h·L⁻¹和(7.940±2.905) mg·h·L⁻¹,$AUC_{0\sim\infty}$分别为(7.407±2.707) mg·h·L⁻¹和(8.203±2.981) mg·h·L⁻¹;盐酸二甲双胍肠溶片受试制剂相对于参比制剂的平均相对生物利用度为(97.1±33.6)% (以 $AUC_{0\sim t}$计),(96.1±33.6)% (以 $AUC_{0\sim\infty}$计)。主要药代动力学参数 C_{max}、$AUC_{0\sim t}$、$AUC_{0\sim\infty}$对数转换后进行方差分析、双向单侧 t检验和 90%置信区间计算,T_{max}采用配对 Wilcoxon法检验,结果表明 2种制剂具有生物等效性。

表 2 各种贮存条件下血浆中二甲双胍稳定性试验结果 ($n = 3$)

Tab 2 Results of stability studies of metformin in plasma under various storage conditions

贮存条件(storage conditions)	浓度(concentration)/mg·L⁻¹ 加入量(added)	测定量(found)	RE/%
血浆样本于室温放置 8 h(in human plasma at room temperature for 8 h)	0.030	0.031±0.001	2.2
	0.300	0.308±0.010	2.8
	2.400	2.318±0.030	-3.4
血浆样本于-50 ℃冰冻、室温熔融 3次(in human plasma after 3 freeze-thaw cycles)	0.030	0.031±0.001	3.3
	0.300	0.312±0.002	3.9
	2.400	2.255±0.040	-6.0
血浆样本于-50 ℃冰冻放置 2个月(in human plasma at -50 ℃ for 2 months)	0.030	0.031±0.000	3.3
	0.300	0.310±0.002	3.2
	2.400	2.268±0.052	-5.5
血浆样本经处理后于自动进样器中室温放置 8 h(in the autosampler at room temperature for 8 h)	0.030	0.031±0.001	4.4
	0.300	0.308±0.002	2.6
	2.400	2.297±0.041	-4.3

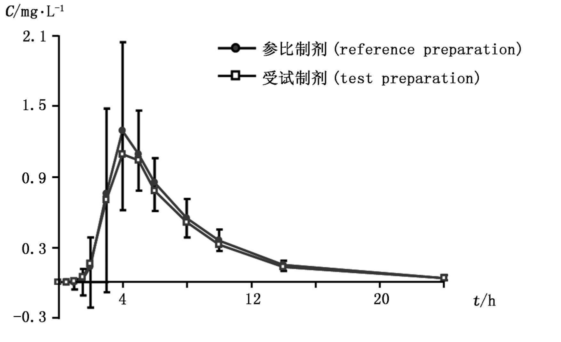

图 3 22名健康志愿者口服盐酸二甲双胍肠溶片 500 mg后二甲双胍的平均血药浓度-时间曲线

Fig 3 Mean plasma concentration-time profiles of metformin in 22 healthy volunteers after a single oral administration of 500 mg metformin hydrochloride enteric-coated tablets

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

7 讨论

二甲双胍的极性较强，在一般反相高效液相色谱(RP-HPLC)柱中难以保留，采用 RP-HPLC-MS/MS法测定二甲双胍浓度时，血浆的基质容易对方法的准确性、重现性等造成较大的影响。采用亲水相互作用色谱-串联质谱联用法(HILIC-MS/MS)测定血浆中二甲双胍的浓度[15]，可以减少分析测定方法受到的基质效应，该方法定量范围为 0.5 ~ 500 μg·L^{-1}，然而盐酸二甲双胍口服制剂的人体药代动力学参数个体差异较大，采用该方法测定二甲双胍浓度时，凡是浓度大于 500 μg·L^{-1}的血浆样本需经过稀释才可定量，样本的稀释复测导致工作量的增加，因此该方法虽然具有较高的灵敏度，但对于盐酸二甲双胍口服制剂的人体药代动力学的研究并不合适。

本研究建立了测定人血浆中二甲双胍的 LC-MS/MS法，并进行了系统的方法学确证。沉淀蛋白前处理方法简单快速，优化后的等度洗脱色谱条件不仅极大缩短检测时间，同时也解决了二甲双胍因极性强在一般反相 C_{18}色谱柱难以保留的问题，减少了沉淀蛋白后生物样本中基质对二甲双胍的测定影响。每个样本分析仅需 1.7 min，每 8 h可分析测定 200~250个样本，实现了高通量测定。本方法灵敏度高，血浆用量仅 50 μL，定量范围为 0.010~3.000 mg·L^{-1}，能够满足二甲双胍的人体药代动力学研究的需要。

参考文献

1 Bailey CJ, Turner RC. Metformin. *N Engl J Med*, 1996, 334(9): 574

2 Kirpichnikov D, McFarlane SI, Sowers JR. Metformin: an update. *Ann Intern Med*, 2002, 137(1): 25

3 Brohon J, Noël M. Determination of metformin in plasma therapeutic levels by gas-liquid chromatography using a nitrogen detector. *J Chromatogr*, 1978, 146(1): 148

4 Song JZ, Chen HF, Tian SJ, *et al*. Determination of metformin in plasma by capillary electrophoresis using field-amplified sample stacking technique. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl*, 1998, 708(1-2): 277

5 Zarghi A, Foroutan SM, Shafaati A, *et al*. Rapid determination of metformin in human plasma using ion-pair HPLC. *J Pharm Biomed Anal*, 2003, 31(1): 197

6 Cheng CL, Chou CH. Determination of metformin in human plasma by high-performance liquid chromatography with spectrophotometric detection. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl*, 2001, 762(1): 51

7 Zhang M, Moore GA, Lever M, *et al*. Rapid and simple high-performance liquid chromatographic assay for the determination of metformin in human plasma and breast milk. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2002, 766(1): 175

8 Amini H, Ahmadiani A, Gazerani P. Determination of metformin in human plasma by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2005, 824(1-2): 319

9 AbuRuz S, Millership J, McElnay J. Determination of metformin in plasma using a new ion pair solid phase extraction technique and ion pair liquid chromatography. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2003, 798(2): 203

10 Porta V, Schramm SG, Kano EK, *et al*. HPLC-UV determination of metformin in human plasma for application in pharmacokinetics and bioequivalence studies. *J Pharm Biomed Anal*, 2008, 46(1): 143

11 Marques MA, Soares Ade S, Pinto OW, *et al*. Simple and rapid method determination for metformin in human plasma using high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry: application to pharmacokinetic studies. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2007, 852(1-2): 308

12 Zhong GP, Bi HC, Zhou S, *et al*. Simultaneous determination of metformin and gliclazide in human plasma by liquid chromatography-tandem mass spectrometry: application to a bioequivalence study of two formulations in healthy volunteers. *J Mass Spectrom*, 2005, 40(11): 1462

13 Koseki N, Kawashita H, Niina M, *et al*. Development and validation for high selective quantitative determination of metformin in human plasma by cation exchanging with normal-phase LC/MS/MS. *J Pharm Biomed Anal*, 2005, 36(5): 1063

14 Wang M, Miksa IR. Multi-component plasma quantitation of anti-hyperglycemic pharmaceutical compounds using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2007, 856(1-2): 318

15 Liu A, Coleman SP. Determination of metformin in human plasma using hydrophilic interaction liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2009, 877(29): 3695

16 Huttunen KM, Rautio J, Leppänen J, *et al*. Determination of metformin and its prodrugs in human and rat blood by hydrophilic interaction liquid chromatography. *J Pharm Biomed Anal*, 2009, 50(3): 469

17 Heinig K, Bucheli F. Fast liquid chromatographic-tandem mass spectrometric (LC-MS-MS) determination of metformin in plasma samples. *J Pharm Biomed Anal*, 2004, 34(5): 1005

18 Mistri HN, Jangid AG, Shrivastav PS. Liquid chromatography tandem mass spectrometry method for simultaneous determination of antidiabetic drugs metformin and glyburide in human plasma. *J Pharm Biomed Anal*, 2007, 45(1): 97

19 Zhang L, Tian Y, Zhang Z, *et al*. Simultaneous determination of metformin and rosiglitazone in human plasma by liquid chromatography/tandem mass spectrometry with electrospray ionization: application to a pharmacokinetic study. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2007, 854(1-2): 91

20 Matuszewski BK, Constanzer ML, Chavez-eng CM. Strategies for the assessment of matrix effect in quantitative bioanalytical methods based on HPLC-MS/MS. *Anal Chem*, 2003, 75(13): 3019

(本文于 2010年 8月 18日修改回)

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net