血浆中Mk-4和Mk-7的测定

张海明
应用及技术服务部
天津博纳艾杰尔科技有限公司，天津开发区西区南大街179号，300462

概述

在动物体内具有生物活性的是维生素K2，而维生素K1和维生素K3都要转化为维生素K2才能起作用。三种维生素K的形式都在肝中转化成维生素K2，并和胃肠微生物合成的维生素K2一起被吸收利用。维生素K2是一系列含有2-甲基-1, 4-萘醌母核及C3位带有数目不等的异戊二烯结构单元的萜烯侧链化合物的统称，根据萜烯侧链上碳元素的数目，可分为K2(10)、K2(20)、K2(35)、K2(40)等。维生素K2(35)则为萜烯侧链上有35个碳元素的维生素K2；维生素K2(35)亦称为甲萘醌-7，这是根据其萜烯侧链上有7个异戊二烯侧链命名的。维生素k2包括几种不同的形式，人类饮食中最常见的维生素k2形式为甲萘醌-4(mk4)和甲萘醌-7(mk7)。

关键词

MK-4；MK-7；Peptide-4-W；Kinetex F5；LC-MS/MS

化合物信息

表1. 化合物信息

名称	CAS号	分子量
MK-4	863-61-6	444.6
MK-7	2124-57-4	649.0

实验部分

3.1仪器、试剂与材料

3.1.1主要仪器设备

液相色谱串联质谱仪(AB SCIEX Triple Quad™5500)，配有电喷雾离子源(APCI)；
孔正压装置(Agela Cleanert M96)；
氮吹浓缩仪(Agela Cleanert V96)。

3.1.2试剂材料

96孔板：Peptide-4-W
屈臣氏蒸馏水，甲醇、甲酸、乙醇均为色谱级。

3.1.3样品基质

EDTA抗凝大牛血浆

3.2样品前处理方法

预处理：200 µL血浆加入800 µL甲醇涡旋，10000g/5min 离心取上清，待净化；
活化：96孔板依次使用 1mL甲醇、1mL水活化；
上样：加载预处理后的血浆至活化后孔板；
淋洗：使用1mL水淋洗孔板；
洗脱：用500 µL乙醇洗脱2次，涡旋混合，待检测。

3.3仪器检测条件

3.3.1色谱条件

色谱柱： Kinetex F5（3.0×50 mm, 2.6 µm, 100 Å）；P/N: 00B-4723-Y0
流动相A相：0.1%甲酸水溶液；
流动相B相：0.1%甲酸甲醇溶液；
流　速：0.6 mL/min；
柱　温：40 ℃；
进样量：15 µL；
梯度程序见表2：

表2. 梯度条件

时间 (min)	流速 (mL/min)	B (%)
0	0.6	20
0.5	0.6	20
1.5	0.6	100
3.8	0.6	100
4.2	0.6	20

6.0	0.6	20

3.3.2质谱条件

离子源类型：电喷雾离子源（APCI+）

扫描方式：多反应监测正负离子模式（MRM）

喷雾针电压：5500 V

离子源温度：500 ℃

加热器（GS1）：60 psi

辅助加热气（GS2）：60 psi

气帘气（CUR）：40 psi

碰撞气（CAD）：10 psi

为获得较好的稳定性和灵敏度，各化合物监测离子对的去簇电压（DP）和碰撞电压（CE），目标化合物定量离子对以及内标监测离子对等参数均需经过系统优化。*本案例参数仅供参考不具备法律效力。*

表3. 化合物定性、定量离子和质谱分析参数

化合物	Q1	Q3	DP/V	CE/V
MK-4	445.3	187.2	80	32
	445.3	253.1	80	39
MK-7	649.5	187.2	70	37
	649.5	225.1	70	35

3.4结果与讨论

由表4可知，MK-4、MK-7在外标法模式下相对标准偏差RSD小于10%可以满足分析需求。

表4. 加标回收实验结果

化合物	外标法相对回收率 %	RSD % （n=8）
MK-4	120	7.3
MK-7	40	9.5

3.5实验谱图

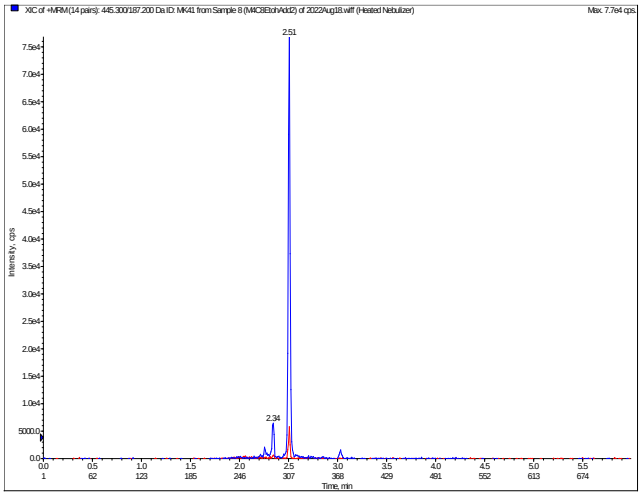

图1. 血浆MK-4 5ng/ml加标回收色谱图

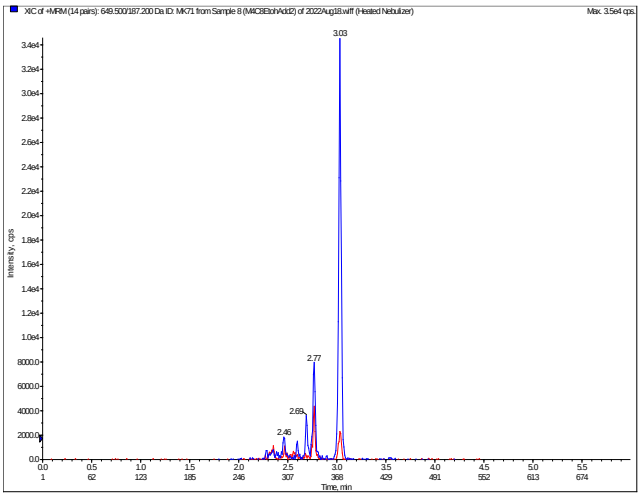

图2. 血浆MK-7 5ng/ml加标回收色谱图

结论

本实验建立了血浆中MK-4、 MK-7的检测方法。

如果您对于本方法的执行有任何问题，或想要了解更多信息，
请拨打400-606-8099 联系我们的技术专家，我们很乐意为您提供帮助！

Xccelerator

Xccelerator 加速服务

探索分离，使命加速

Mission to Accelerate Separation

在新药、仿制药研发和科学研究过程中，抢占先机越来越多被大家提及，同时在食品、环境、临床等行业的客户也都面临着项目周期压缩的压力。基于此，我们成立了上海和天津两个方法开发服务中心，为客户加快项目进度提供支持。

Xccelerator 以客户为中心，以色谱技术为中心，为药物研发和科学研究提供全方位加速服务。

三大研发中心

中国天津
地址：天津市开发区西区南大街179号
电话：400-606-8099
邮箱：cninfo@phenomenex.com

中国上海
地址：上海市长宁区福泉北路518号1号楼1层
电话：400-606-8099
邮箱：cninfo@phenomenex.com

美国总部
地址：411 Madrid Avenue Torrance, CA 90501-1430, USA
Tel：+1 (310) 212-0555
Fax：+1 (310) 328-7768
Email：cninfo@phenomenex.com

仅用于研究目的，不可用于临床诊断程序。
© 2022 天津博纳艾杰尔科技有限公司保留所有权利。

如果您对于本方法的执行有任何问题，或想要了解更多信息，
请拨打*400-606-8099* 联系我们的技术专家，我们很乐意为您提供帮助！

phenomenex®