



UPLC-MS/MS Simultaneous Determination of Citrate, Succinate, Fumarate, Lactate and Pyruvate in Rat Plasma and its Application

Yongxi JIN¹ #, Huiyan FU² #, Yue JIN², Qing WU³ * & Congcong WEN² *

¹ *Department of Rehabilitation, Wenzhou Municipal Hospital of Traditional Chinese Medicine, Wenzhou 325005, China*

² *Laboratory Animal Centre of Wenzhou Medical University, Wenzhou 325035, China*

³ *First Affiliated Hospital of Wenzhou Medical University, Wenzhou 325000, China*

SUMMARY. The aim of this study was to establish a method for simultaneous determination of citric, succinic, fumaric, lactic, and pyruvic acid in plasma by ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS). The plasma samples were prepared by acetonitrile precipitation. The chromatographic separation was performed on a UPLC HSS C18 (2.1 × 100 mm, 1.7 μm) column using a gradient elution of methanol-water (containing 0.3% formic acid) as mobile phase. The multiple reaction monitoring in electrospray was for quantitative determination. The precision was less than 10%, intra and inter-day accuracy ranged from 92.2 to 109.2%. The standard curve was linear in the range of 0.05-20 μg/mL with a correlation coefficient *r* greater than 0.995. This method could be used to determine citric, succinic, fumaric, lactic, and pyruvic acids in plasma of sub-healthy rat model. The results showed that succinate and fumarate increased in the sub-health group, while those in the control group decreased.

RESUMEN. El objetivo de este estudio fue establecer un método para la determinación simultánea en plasma de los ácidos cítrico, succínico, fumárico, láctico y pirúvico mediante cromatografía líquida de ultra alta eficacia-espectrometría de masas en tándem (UPLC-MS/MS). Las muestras de plasma se prepararon por precipitación con acetonitrilo. La separación cromatográfica se realizó en una columna UPLC HSS C18 (2,1 × 100 mm, 1,7 μm) usando una elución en gradiente de metanol-agua (que contiene 0,3% de ácido fórmico) como fase móvil. El monitoreo de la reacción múltiple en electrospray fue para la determinación cuantitativa. La precisión fue menor al 10%, la precisión intra e interdía varió del 92.2 al 109.2%. La curva estándar fue lineal en el rango de 0.05-20 μg / mL con un coeficiente de correlación *r* mayor a 0.995. Este método podría usarse para determinar los ácidos cítrico, succínico, fumárico, láctico y pirúvico en plasma del modelo de ratas subalimentado. Los resultados mostraron que el succinato y el fumarato aumentaron en el grupo de sub-salud, mientras que aquellos en el grupo de control disminuyeron.

KEY WORDS: UPLC-MS/MS; Citric acid; Succinic acid; Fumarate; Lactic acid; Pyruvate; Sub-health

These authors contributed equally to this work.

* Authors to whom correspondence should be addressed. *E-mails:* bluce494949@163.com (Congcong Wen), 13588922312@163.com (Qing Wu).