

★ 论著 ★

液相色谱 – 串联质谱法测定人血浆中替扎尼定

万咪咪^{1,2}, 詹燕², 陈笑艳², 张逸凡², 钟大放^{1,2*}

(1. 苏州大学药学院, 苏州 215006; 2. 中国科学院上海药物研究所, 上海 201203)

摘要 目的: 建立灵敏的液相色谱 – 串联质谱法测定人血浆中替扎尼定的浓度。方法: 血浆样品碱化后经乙醚液 – 液萃取, 以甲醇 – 10 mmol · L⁻¹ 醋酸铵 – 甲酸 (55:45:0.1, v/v/v) 为流动相, 采用 Zorbax SB C₁₈ 柱 (150 mm × 4.6 mm, 5 μm) 分离, 通过电喷雾电离源, 以选择反应监测 (SRM) 方式进行正离子检测, 用于定量分析的离子反应分别为 m/z 254 → 44 (替扎尼定) 和 m/z 243 → 210 (内标, 石杉碱甲)。结果: 测定血浆中替扎尼定方法的线性范围为 10.0 ~ 5000 pg · mL⁻¹, 定量下限可达 10.0 pg · mL⁻¹。日内、日间精密度 (RSD) 均小于 10.0%, 准确度 (RE) 在 ±3.6% 以内。结论: 本方法灵敏度高, 血浆用量少, 适用于替扎尼定制剂的人体药物动力学研究。

关键词: 替扎尼定; 咪唑啉衍生物; 液相色谱; 质谱法; 药物动力学

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 0254 – 1793 (2011) 08 – 1435 – 05

LC – MS/MS determination of tizanidine in human plasma

WAN Mi – mi^{1,2}, ZHAN Yan², CHEN Xiao – yan²,
ZHANG Yi – fan², ZHONG Da – fang^{1,2*}

(1. School of Pharmacy, Soochow University, Suzhou 215006, China;

2. Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201203, China)

Abstract Objective: To develop and validate a liquid chromatography – tandem mass spectrometric (LC – MS/MS) method for the determination of tizanidine in human plasma. **Methods:** Tizanidine and the internal standard huperzine A were separated from plasma by alkalized liquid – liquid extraction with diethyl ether. Chromatographic separation was performed on a Zorbax SB C₁₈ (150 mm × 4.6 mm, 5 μm) column with an isocratic mobile phase consisting of methanol – 10 mmol · L⁻¹ ammonium acetate – formic acid (55:45:0.1, v/v/v). A tandem mass spectrometer equipped with electrospray ionization source was adopted as detector. Selected reaction monitoring (SRM) transitions of m/z 254 → 44 and m/z 243 → 210 were measured in positive mode for tizanidine and internal standard, respectively. **Results:** The linear concentration range of the calibration curve for tizanidine was 10.0 – 5000 pg · mL⁻¹. The lower limit of quantification was 10.0 pg · mL⁻¹. The intra – day and inter – day relative standard deviation over the entire concentration range was less than 10.0%. The accuracy was within 3.6% in terms of relative error. **Conclusion:** The method is sensitive and suitable for pharmacokinetic study of tizanidine in human subjects.

Key words: tizanidine; imidazoline derivative; liquid chromatography; mass spectrometry; pharmacokinetics

替扎尼定 (tizanidine) 为咪唑啉衍生物, 是目前最常用的抗痉挛药物之一。临床上用于治疗因脑和脊髓损伤、脑出血、脑炎以及多发性硬化病等所致的骨骼肌张力增高、肌痉挛和肌强直等疾病^[1]。与其他同类解痉药物相比, 具有更好的疗效及耐受性^[2]。

替扎尼定用于疼痛性痉挛时, 每次口服 2 mg, 每日 3 次, 并根据年龄、症状酌情增减。药动学研究表明^[2,3], 替扎尼定胃肠道吸收迅速、完全, 血药浓度约在 1 ~ 2 h 达峰, 在 0 ~ 20 mg 存在线性动力学性质; 健康受试者单剂量口服 5 mg¹⁴C – 替扎尼定后全血 C_{max} 仅为 3.1 ng · mL⁻¹。由于该药血药浓度非

* 通讯作者 Tel/Fax: (021) 50800738; E – mail: dfzhong@mail.sh.cnsc.ac.cn

常低,个体差异大,需要建立非常灵敏的分析方法测定人血浆中的替扎尼定。

目前测定人血浆中替扎尼定的分析方法主要有放射性免疫分析法^[4]、GC-MS法^[5]。放射性免疫分析法^[4]在专属性方面存在一定缺陷;而GC-MS法^[5]除了选择性差外,还存在灵敏度低、色谱分析时间长和血浆用量大等缺点。近年来已有人采用API 4000型三重四极杆串联质谱仪建立了灵敏的LC-MS/MS^[6]测定人血浆中替扎尼定(4 mg)的浓度,定量下限可达50 pg·mL⁻¹,但是亦存在血浆用量大的缺点,并且未给出实际样品测定结果和所获得药动学参数。为了评价更低剂量(2 mg)替扎尼定在健康受试者体内的药动学行为,需要建立更为灵敏的LC-MS/MS法测定人血浆中替扎尼定的浓度。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 美国 Thermo Finnigan 公司 TSQ Quantum Ultra 型液相色谱-串联质谱联用仪,配备电喷雾电离源(ESI)以及 Xcalibur 2.0.7 数据处理系统; Agilent 1100 液相色谱系统(包括 G1311A 型四元输液泵, G1367A 型自动进样器, G1316A 型柱温箱和 G1322A 型脱气机),美国 Agilent 公司; Turbo Vap* LV 蒸发仪,美国 Zymark 公司; Milli-Q Gradient 超纯水系统,法国 Millipore 公司; DAS 2.0 药动学计算软件。

1.2 药品与试剂 盐酸替扎尼定对照品(纯度 99.9%)由四川科瑞德制药有限公司提供;石杉碱甲对照品(纯度 100%)购自中国药品生物制品检定所。盐酸替扎尼定片(每片 2 mg,批号 090102)由四川科瑞德制药有限公司生产。乙醚和无水碳酸钠均为分析纯(国药集团化学试剂有限公司);甲醇(Sigma,美国)、甲酸(Fluka,德国)和醋酸铵(Tedia,美国)均为色谱纯;水为 Millipore 超纯水。

2 实验方法

2.1 质谱条件 为了获得最佳灵敏度,优化离子源为 ESI 源;源喷射电压为 4.2 kV;加热毛细管温度为 320 °C;鞘气(N₂)压力为 6.125 MPa;辅助气(N₂)压力为 1.400 MPa;碰撞气(Ar)压力为 0.160 Pa;正离子方式检测;碰撞诱导解离(CID)电压均为 30 eV;扫描方式为选择反应监测(SRM);用于定量分析的离子反应分别为 m/z 254→44(替扎尼定)和 m/z 243→210(内标,石杉碱甲);扫描时间为 200 ms。

2.2 色谱条件 为了获得良好的色谱峰形和适宜的保留时间,优化色谱柱为 Agilent Zorbax SB C₁₈ 柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm);预柱为 Phenomenex Security Guard C₁₈ 柱(4.0 mm×3.0 mm, 5 μm);流动

相为甲醇-10 mmol·L⁻¹醋酸铵-甲酸(55:45:0.1, v/v/v);流速为 0.50 mL·min⁻¹;柱温 35 °C;进样量 20 μL。

2.3 溶液的配制 精密称取盐酸替扎尼定对照品适量,用甲醇溶解并稀释至刻度,配成浓度为 874 μg·mL⁻¹的替扎尼定储备液。以甲醇-水(50:50, v/v)依次稀释替扎尼定储备液,获得浓度依次为 0.040, 0.120, 0.400, 1.20, 4.00, 8.00, 20.0 ng·mL⁻¹的对照品系列溶液。精密称取内标石杉碱甲对照品适量,用甲醇溶解并稀释至刻度,配成浓度为 20.0 ng·mL⁻¹的石杉碱甲溶液。另外精密称取盐酸替扎尼定对照品适量,用甲醇溶解并稀释至刻度,配成浓度为 1.0 mg·mL⁻¹的替扎尼定质控储备液。以甲醇-水(50:50, v/v)稀释替扎尼定质控储备液,获得浓度为 0.100, 2.00, 16.0 ng·mL⁻¹的质控溶液。

2.4 血浆样品处理 向 200 μL 血浆中分别加入甲醇-水(50:50, v/v)溶液 50 μL 和内标溶液(20.0 ng·mL⁻¹石杉碱甲溶液) 40 μL,混匀,加入 2 mol·L⁻¹碳酸钠溶液 100 μL,混匀;加 3 mL 乙醚,涡流混合 1 min,往复振荡 10 min(240 次·min⁻¹),离心 5 min(2100 g),分取全部上层有机相于另一试管中,40 °C 空气流下吹干,残留物加入 100 μL 流动相溶解,涡流混合,取 20 μL 进行 LC-MS/MS 分析。

3 实验结果

3.1 质谱分析 在选定的色谱条件中,替扎尼定和内标石杉碱甲在 ESI 正离子电离方式下,主要生成准分子离子 $[M+H]^+$ 峰,分别为 m/z 254 和 m/z 243。选择性对 $[M+H]^+$ 峰进行产物离子全扫描分析(见图 1),替扎尼定和内标石杉碱甲生成的主要碎片离子分别为 m/z 44 和 m/z 210,将其作为定量分析时监测的产物离子。

3.2 分析方法的选择性 分别取 6 名受试者服药前血浆 200 μL,按“2.4”项下操作(不加内标溶液),进样 20 μL,得色谱图 2-A;将一定浓度的替扎尼定对照溶液和内标溶液加入空白血浆中,依同法操作,得色谱图 2-B。替扎尼定和内标石杉碱甲的保留时间分别约为 3.4 min 和 3.3 min。取受试者服药后的血浆样品,依同法操作,得色谱图 2-C。与空白血浆样品的色谱图比较,结果表明血浆样品中内源性物质不干扰替扎尼定及内标的测定。

3.3 线性范围和定量下限

参考文献[6],为了评价低剂量(2 mg)替扎尼定药动学行为,将标准曲线设计为 7 个浓度点。取空白血浆 200 μL,加替扎尼定对照品系列溶液 50 μL,配制成浓度为 10.0, 30.0, 100, 300, 1000, 2000,

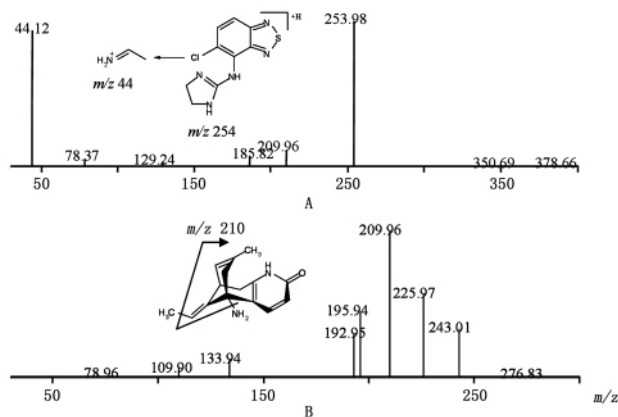


图1 替扎尼定(A)和内标石杉碱甲(B) $[M+H]^+$ 的产物离子全扫描质谱图

Fig 1 Product ion mass spectras of $[M+H]^+$ of tizanidine (A) and huperzine A (B)

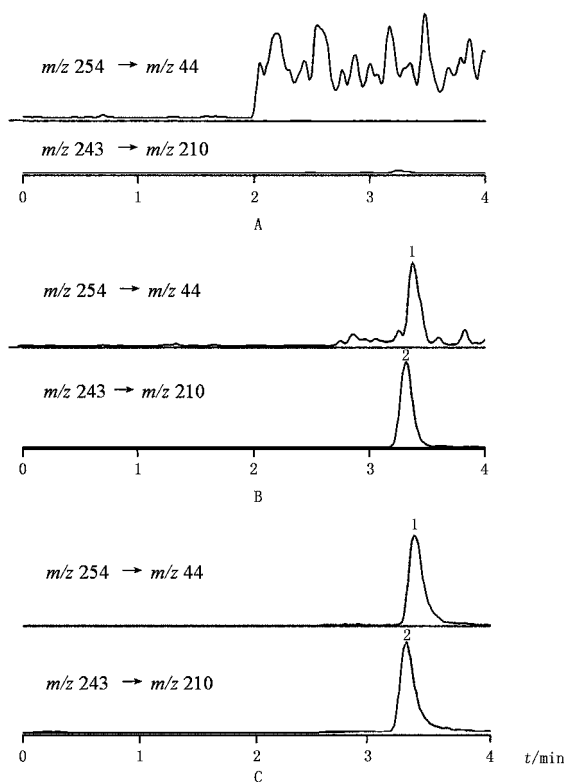


图2 血浆中替扎尼定和内标石杉碱甲的典型SRM色谱图

Fig 2 Representative SRM chromatograms of tizanidine and huperzine A in human plasma.

A. 空白血浆 (blank plasma) B. 空白血浆中加入替扎尼定至 $10.0 \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和内标石杉碱甲至 $4.00 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ (blank plasma spiked with tizanidine $10.0 \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$ and huperzine A $4.00 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$)
C. 受试者口服 2 mg 替扎尼定片剂后 0.75 h 后血浆样品 (plasma 0.75 h after an oral administration of 2 mg tizanidine to a healthy volunteer)

1. 替扎尼定 (tizanidine) 2. 石杉碱甲 (huperzine A)

$5000 \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 替扎尼定血浆, 每天方法确证时, 对

每一浓度进行双样本分析。同时进行 2 个空白样品 (不加内标), 2 个零点样品 (加内标) 分析, 仅用于判断是否有内源性物质的干扰, 不参与标准曲线计算。以待测物浓度为横坐标, 待测物与内标物的峰面积比值为纵坐标, 用加权 ($W = 1/X^2$) 最小二乘法进行回归运算, 求得的替扎尼定直线回归方程为:

$$Y = 3.90 \times 10^{-4} X + 2.73 \times 10^{-3} \quad r^2 = 0.9937$$

根据标准曲线, 替扎尼定的线性范围为 $10.0 \sim 5000 \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

在方法确证第 2 d, 对血浆浓度为 $10.0 \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的替扎尼定进行 6 样本分析, 并根据当日标准曲线计算每一样本测得浓度。求得该浓度的日内精密密度 (RSD) 为 6.9%, 准确度 (RE) 为 5.3%。该结果表明 LC-MS/MS 测定血浆中替扎尼定的定量下限可达 $10.0 \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

3.4 精密性与准确度 取空白血浆 $200 \mu\text{L}$, 按“3.3”项下的方法配制低、中、高 3 个血浆浓度 ($25.0, 500, 4000 \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$) 的质量控制 (QC) 样品, 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 QC 样品的测得浓度, 结果进行方差分析, 计算方法的准确度与精密性, 结果见表 1。在 3 种浓度下, 替扎尼定的日内精密密度 (RSD) 小于 10.0%, 日间精密密度 (RSD) 小于 8.1%; 准确度 (RE) 在 $\pm 3.6\%$ 之间。结果表明, 本方法精密、准确, 符合有关国际规范 [4] 的要求。

表 1 LC-MS/MS 法测定人血浆中替扎尼定的精密性与准确度 ($n=3$, 每个浓度每天 6 样本)

Tab 1 Precision and accuracy of the LC-MS/MS method to determine tizanidine in human plasma (six sample each day at each lever)

浓度 (concentration) / $\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$		精密性 (precision), RSD / %		相对偏差 (RE) / %
加入量 (added)	测得量 (found)	日内 (intra-day)	日间 (inter-day)	
25.0	24.6	10.0	8.1	-1.7
500.0	487.0	7.6	1.7	-2.6
4000.0	3858.0	5.7	6.6	-3.6

3.5 提取回收率、基质效应和稳定性考察 考察了低、中、高 3 个血浆浓度 ($25.0, 500, 4000 \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$) 的提取回收率 ($n=6$)。以提取后的色谱峰面积与未经提取获得的峰面积之比计算提取回收率。替扎尼定 3 种浓度下样品的提取回收率分别为 96.1%, 106%, 106%, 内标溶液经同样提取处理, 其提取回收率为 65.6%。

分别取 6 名受试者空白血浆 $200 \mu\text{L}$, 不加内标和替扎尼定溶液, 按“2.4”项下依法操作, 向获得的上层有机相中分别加入低、高两浓度质控溶液 50.0

μL 和内标溶液 $40.0 \mu\text{L}$, 涡流混合, 在 40°C 空气流下吹干, 残留物以 $100 \mu\text{L}$ 流动相溶解, 取 $20.0 \mu\text{L}$ 进行 LC-MS/MS 分析, 获得相应峰面积。同时另取水 $200 \mu\text{L}$ 代替空白血浆, 按上述处理, 获得相应峰面积。以 2 种处理方法的峰面积比值计算基质效应。替扎尼定的基质效应在 $92.7\% \sim 93.4\%$ 之间, 内标物为 98.7% , 相对标准差均小于 10.8% 。结果表明在本实验选择的色谱和质谱条件下可忽略基质效应的影响^[8]。

考察了替扎尼定低、高 2 个浓度的血浆 (25.0 和 $4000 \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$) 在不同保存条件下的稳定性 ($n = 3$)。结果表明, 替扎尼定血浆样品室温放置 2 h 稳定 (RE 在 $\pm 5.8\%$ 之内), 血浆样品经液-液提取后室温放置 24 h 稳定 (RE $\pm 3.4\%$ 之内), 血浆样品经历 3 次冷冻-解冻循环后稳定 (RE 在 $\pm 5.1\%$ 之内), 血浆样品 -20°C 放置 97 d 后稳定 (RE 在 $\pm 10.6\%$ 之内)。

3.6 分析方法在药物动力学中的应用 临床试验在兰州大学附属第一医院进行。20 名健康男性志愿者经医学伦理委员会批准, 签署知情同意书, 于试验前一晚 19 时统一进餐, 保证实验前禁食 10 h 以上, 试验当日晨 7 时在室温条件下空腹口服 1 片替扎尼定制剂 (2 mg)。服药后 2 h 方可再饮水, 4 h 和 10 h 进食统一的标准餐。于服药前 (0 h) 及服药后 $0.17, 0.33, 0.50, 0.75, 1.0, 1.5, 2.0, 3.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10 \text{ h}$ 采集静脉血 4 mL , 血浆离心 10 min ($2880 g$), -20°C 保存待测。

未知血浆样品测定按“血浆样品处理”项下操作, 每天建立一条标准曲线, 同时分析低、中、高 (双样本或多样本) 的 QC 样品, 根据当日标准曲线求算未知样品浓度和 QC 样品浓度, 决定当日数据取舍。

本文首次报道了低剂量 2 mg 替扎尼定在中国健康受试者体内的药代动力学特点。图 3 给出了 20 名受试者单剂量口服 1 片替扎尼定制剂 (2 mg) 后, 替扎尼定的血浆浓度-时间混合曲线。从曲线可知, 替扎尼定口服后吸收迅速, 平均在 0.767 h 达到最大血药浓度。实验数据经 DAS 2.0 软件处理, 采用非室模型计算主要药动学参数如下: $C_{\max}$ 为 $(1782 \pm 960) \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$, $t_{1/2}$ 为 $(1.63 \pm 0.45) \text{ h}$, $\text{AUC}_{0-10 \text{ h}}$ 为 $(3926 \pm 1815) \text{ pg} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$, $\text{AUC}_{0-\infty}$ 为 $(4005 \pm 1839) \text{ pg} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。本文结果表明, 替扎尼定的主要药代动力学参数存在较大的个体差异。

4 讨论

目前采用 LC-MS/MS 测定生物样品中替扎尼定的文献已见报道 (见表 2)。替扎尼定分子结构中含有碱性氮原子, 在正离子检测方式下具有较高的响

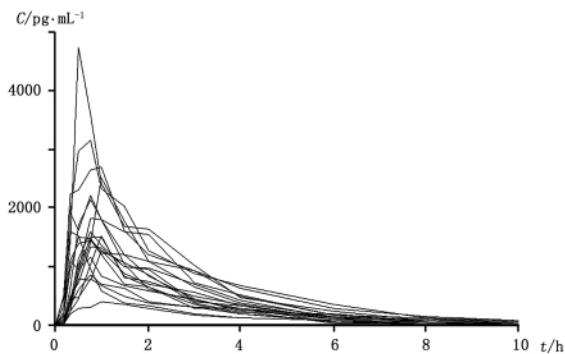


图 3 20 名受试者单剂量口服替扎尼定 2 mg 后的混合血药浓度-时间曲线 ($n = 20$)

Fig 3 Mix plasma concentration-time curves of tizanidine in 20 healthy volunteers after a single oral dose of 2 mg tizanidine

应。进实际样品中发现, ESI 源响应大于 APCI 源, 因此最终选择 ESI 源作为质谱检测的离子源。实验中发现, 在 Zorbax SB C_{18} 柱上能够获得待测物较佳的响应、适宜的色谱保留时间和对称的峰形。流动相中加入 0.1% 的甲酸, 提高了样品在正离子模式下检测的灵敏度, 并且可以改善峰形。当选用甲醇-水-甲酸的流动相体系时, 发现连续进样过程中待测物的色谱保留时间重复性较差, 向流动相中添加 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 醋酸铵可稳定待测物的色谱保留时间。为了获得良好的峰形和适宜的保留时间, 最终采用的流动相组成为甲醇- $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 醋酸铵-甲酸 ($55:45:0.1, v/v/v$)。与文献 [6] 相比, 本实验采用较低的流速 ($0.50 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$), 可进一步提高待测物在 ESI 源下的离子化效率, 从而提高检测的灵敏度。

在优化提取条件时, 为了获得较为干净的提取物和较高的提取回收率, 本实验采用液-液萃取的方法。替扎尼定分子结构含有氨基, 为弱的有机碱。为了使替扎尼定更多的以分子状态存在而增加其在有机相中的溶解度, 可将样品的 pH 约调节在 $10.0 \sim 13.0$ 之间。实验中发现 $2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 碳酸钠 (pH 约为 12) 可以获得较好的重现性和较高的提取回收率。使用较少体积乙醚 (3 mL) 作为提取溶剂, 低浓度点干扰小, 替扎尼定的提取回收率较高。最终选用的样品预处理方法和文献 [6] 相比, 血浆用量少 ($200 \mu\text{L}$), 提取溶剂使用量减少, 替扎尼定的回收率从 74.9 提高到 90% 以上。

在内标物的选择中, 先后考察了几种不同结构的碱性化合物, 包括吉非替尼、金刚烷胺和石杉碱甲。在选定的色谱条件下, 石杉碱甲与替扎尼定的色谱保留时间相近, 保留时间分别约为 3.3 min 和 3.4 min ; 同时石杉碱甲与替扎尼定受基质效应影响程度也较为一致。另外, 本实验低、中、高 3 个浓度替扎尼定的

表2 LC-MS/MS法测定人血浆中替扎尼定的分析方法比较
Tab 2 Comparision of LC-MS/MS methods for the determination of tizanidine in plasma

	文献 ^[6] (reference) ^[6]	本文分析方法(current study)
1 仪器(instrument)	API 4000 型三重四级杆串联质谱仪(API 4000 triple quadrupole instrument)	TSQ Quantum Ultra 型三重四级杆串联质谱仪(TSQ Quantum Vtha triple quadrupde instrumehn)
2 离子反应(ion transition)	(ESI(+) ,MRM) m/z 254. 1 $\rightarrow$ m/z 44. 1(CE = 50 V) m/z 409. 1 $\rightarrow$ m/z 228. 1(CE = 30 V)	ESI(+) ,MRM m/z 254 $\rightarrow$ m/z 44(CE = 30 V) m/z 243 $\rightarrow$ m/z 210(CE = 30 V)
3 内标物(internal standard)	坦洛斯(tamsulosin)	石杉碱甲(huperzine A)
4 色谱柱(column)	Water symmetry C ₈ column(5 μ m,150 mm $\times$ 4. 6 mm i. d.)	Zorbax SB C ₁₈ column(5 μ m,150 mm $\times$ 4. 6 mm i. d.)
5 流动相(mobile phase)	2 mmol $\cdot$ L ⁻¹ 甲酸铵(甲酸调节到 pH 为 2. 8 - 乙腈 2 mmol $\cdot$ L ⁻¹ ammonium formate(pH 2. 8 adjusted with formic acid) - acetonitrile) (10: 90, v/v)	甲醇 - 10 mmol $\cdot$ L ⁻¹ 醋酸铵 - 甲酸 [methanol - 10 mmol $\cdot$ L ⁻¹ ammonium acetate - formic acid] (55: 45: 0. 1, v/v/v)
6 流速(flow rate) /mL $\cdot$ min ⁻¹	1. 0	0. 5
7 进样量(injection volume) / μ L	10	20
8 分析时间(run time) /min	1. 49 替扎尼定(tizanidine) ; 1. 39 坦洛斯(tamsulosin)]	3. 4 替扎尼定(tizanidine) ; 3. 3 石杉碱甲(huper- zime)]
9 样品用量(processing volume) /mL	1. 0	0. 2
10 样品预处理方法(preparation procedures)	乙醚 - 二氯甲烷(7: 3, v/v) 液液 5 mL 萃取 [extraction with 5 mL diethyl ether - dichloromethane(7: 3, v/v)] 5 mL	(extraction with 3 mL diethyl ether)
11 线性范围(linear concentration range) /pg $\cdot$ mL ⁻¹	50 ~ 5000	10 ~ 5000
12 定量下限(LLOQ) /pg $\cdot$ mL ⁻¹	50	10
13 方法学应用(Application)	仅给出 1 个样品的 SRM 色谱图(giving SRM chromato- grams of a subject sample)	给出主要药动学参数(giving main pharmacokinetic pa- rameters)

提取回收率稳定、可重现(相对标准差在 $\pm$ 8. 1% 以内), 内标的提取回收率也很稳定和重现(相对标准差为 4. 9%)。根据以上特点, 选择石杉碱甲作为内标。

本分析方法可检测出受试者单剂量口服 2 mg 替扎尼定片后 10 h 后血浆浓度为(24. 5 $\pm$ 20. 7) pg $\cdot$ mL⁻¹, 和文献^[6] 相比, 可以更全面地评价药代动力学研究中实际受试者消除相的血浆浓度。文献^[6] 在研究替扎尼定与罗非昔布的相互作用中, 9 名健康男性受试者单剂量口服 4 mg 替扎尼定片剂后的 $t_{1/2}$ 为(1. 6 $\pm$ 0. 2) h, $C_{\max}$ 和 $AUC_{0-\infty}$ 分别为(1. 7 $\pm$ 0. 9) ng $\cdot$ mL⁻¹ 和(5. 7 $\pm$ 3. 6) ng $\cdot$ h $\cdot$ mL⁻¹。本实验 20 名中国健康受试者单剂量口服 2 mg 替扎尼定片剂后, $t_{1/2}$ 为(1. 63 $\pm$ 0. 45) h, $C_{\max}$ 和 $AUC_{0-\infty}$ 分别为(1. 78 $\pm$ 0. 960) ng $\cdot$ mL⁻¹ 和(4. 01 $\pm$ 1. 84) ng $\cdot$ h $\cdot$ mL⁻¹。由于替扎尼定存在线性动力学性质, 该结果表明若在相同剂量下, 中国受试者体内替扎尼定的血浆浓度约为白人受试者的两倍, 是否临床使用需要调整剂量有待进一步实验。

5 结论

本研究建立了液相色谱 - 串联质谱法测定人血浆中的替扎尼定, 同文献方法^[6, 4] 相比, 血浆用量少(200 μ L); 灵敏度可达 10 pg $\cdot$ mL⁻¹。结果表明, 本法精密、准确、灵敏度高, 更适用于低剂量替扎尼定的临床药动学研究。

致谢: 感谢兰州大学附属第一医院临床 I 期研究室王婷主

任和相关医护人员提供临床试验血浆样品。

参考文献

- Wagstaff AJ, Bryson HM. Tizanidine: A review of its pharmacology, clinical efficacy and tolerability in the management of spasticity associated with cerebral and spinal disorders. *Drugs*, 1997, 53 (3): 435
- Tse FL, Jaffe JM, Bhuta S. Pharmacokinetics of orally administered tizanidine in healthy volunteers. *Fundam Clin Pharmacol*, 1987, 1 (6): 479
- Emre M, Leslie GC, Muir C, et al. Correlations between dose, plasma concentrations, and antispastic action of tizanidine (Sirdalud) . *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 1994, 57 (11): 1355
- Heazlewood V, Symoniw P, Maruff P, et al. Tizanidine - initial pharmacokinetic studies in patients with spasticity. *Eur J Clin Pharmacol*, 1983, 25 (1): 65
- Lee J, Seo JH, Kim DH. Determination of tizanidine in human plasma by gas chromatography - mass spectrometry. *Analyst*, 2002, 127 (7): 917
- Nirogi RV, Kandikere VN, Shukla M, et al. Quantification of tizanidine in human plasma by liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2006, 20 (15): 2286
- Shah VP, Midha KK, Findlay JW, et al. Bioanalytical method validation - A revisit with a decade of progress. *Pharm Res*, 2000, 17 (12): 1551
- Viswanathan CT, Bansal S, Booth B, et al. Quantitative bioanalytical methods validation and implementation: Best practices for chromatographic and ligand binding assays. *Pharm Res*, 2007, 24 (10): 1962
- Backman JT, Karjalainen MJ, Neuvonen M, et al. Rofecoxib is a potent inhibitor of cytochrome P4501A2: studies with tizanidine and caffeine in healthy subjects. *Br J Clin Pharmacol*, 2006, 62 (3): 345.

(本文于 2010 年 10 月 25 日收到)