

DOI:10.3724/SP.J.1008.2012.00763

· 论 著 ·

苯磺酸左旋氨氯地平血药浓度的 LC-MS/MS 法测定及其人体内手性转化可能性考察

房晶^{1,2}, 范国荣^{2*}, 李 霖², 李 优^{2,3}, 贺建昌⁴, 徐贵丽⁴, 李发美^{1*}

1. 沈阳药科大学药学院分析化学教研室, 沈阳 110016
2. 第二军医大学药学院药物分析学教研室, 上海市药物(中药)代谢产物研究重点实验室, 上海 200433
3. 上海海洋大学食品学院生物技术教研室, 上海 201306
4. 成都军区昆明总医院国家药品临床研究基地 I 期临床试验研究室, 昆明 650032

[摘要] **目的** 建立 LC-MS/MS 法测定人血浆中左旋氨氯地平血药浓度并进行体内手性转化可能性考察。**方法** 以氯氮草为内标, 采用 CHIRAL-AGP 柱(150.0 mm×4.0 mm, 5 μm)对氨氯地平消旋体进行分离手性对映体, 流动相为 10 mmol/L 乙酸铵缓冲液(pH 4.38)-异丙醇(98:2, V/V);选择固相萃取法提取 10 例健康男性受试者单次口服苯磺酸左旋氨氯地平片 2.5 mg 后的血浆样品, 大气压化学电离源(APCI)结合正离子 MRM 扫描分析测定人体内 S(-)-氨氯地平浓度, 其中氨氯地平和内标离子对分别是 m/z 409.0→237.9 和 m/z 300.0→282.0。**结果** S(-)-/R(+)-氨氯地平对映体血药浓度在 0.103 1~20.62 μg/L 范围内线性关系良好($r=0.999\ 8$, $r=0.999\ 7$), 绝对回收率大于 70.0%, 相对回收率均在 85.0%~115.0% 范围内, 日内和日间 RSD 均小于 15.0%。10 例健康男性受试者单剂量口服苯磺酸左旋氨氯地平片 2.5 mg 后体内不同时间点血浆样品均未检测到 R(+)-氨氯地平对映体, S(-)-氨氯地平在健康男性受试者体内的药代动力学参数 $t_{1/2}$ 为 (42.77±8.08) h, C_{max} 为 (3.06±0.51) μg/L, t_{max} 为 (6.3±1.0) h, MRT 为 (69.25±8.04) h, AUC_{0-144} 为 (176.20±31.89) h·μg·L⁻¹, $AUC_{0-∞}$ 为 (197.92±37.54) h·μg·L⁻¹。**结论** 本方法选择性强, 灵敏度高, 无杂质干扰, 精密度高, 成功地应用于苯磺酸左旋氨氯地平人体药代动力学分析, 并证实 S(-)-氨氯地平对映体在健康男性受试者体内未发现其手性转化。

[关键词] 氨氯地平;液相色谱-串联质谱法;手性拆分;药代动力学;手性转化

[中图分类号] R 972.4 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2012)07-0763-07

Determination of levamlodipine concentration by LC-MS/MS and its chiral transformation potential in human plasma

FANG Jing^{1,2}, FAN Guo-rong^{2*}, LI Ji², LI You^{2,3}, HE Jian-chang⁴, XU Gui-li⁴, LI Fa-mei^{1*}

1. Department of Analytical Chemistry, School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, Liaoning, China
2. Department of Pharmaceutical Analysis, School of Pharmacy, Second Military Medical University & Key Laboratory of Shanghai Drug (Chinese Materia Medica) Metabolism Research, Shanghai 200433, China
3. Department of Biological Technology, College of Food Science & Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China
4. Research Section for Phase I Clinical Trial, State Base for Drug Clinical Trial, Kunming General Hospital, PLA Chengdu Military Area Command, Kunming 650031, Yunnan, China

[Abstract] **Objective** To determine S(-)-amlodipine level in human plasma by LC-MS/MS method, and to investigate its chiral transformation potential in healthy male volunteers. **Methods** The separation of amlodipine was performed by CHIRAL-AGP analytical column (150.0 mm×4.0 mm, 5 μm) with 10 mmol/L acetate buffer (pH 4.38)-2-propanol (98:2, V/V) as the mobile phase and chlordiazepoxide as the internal standard. The plasma S(-)-amlodipine was extracted with solid phase extraction in ten healthy male volunteers at different time points after oral test (2.5 mg). Atmospheric-pressure chemical ionization (APCI) and multiple reaction monitoring (MRM) were used with positive ion scans, and the mass transition pairs of

[收稿日期] 2012-04-12 **[接受日期]** 2012-05-21

[基金项目] 国家“重大新药创制”科技专项(2009ZX09301-011-07). Supported by Major Science and Technology Project of “Significant New Drug” of China(2009ZX09301-011-07).

[作者简介] 房晶, 硕士生. E-mail: fsn008@163.com

* 通信作者(Corresponding authors). Tel: 021-81871261, E-mail: Guorfan@yahoo.com.cn; Tel: 024-23986290, E-mail: fameili@163.com

m/z 409.0 \rightarrow 237.9 and m/z 300.0 \rightarrow 282.0 were used to detect amlodipine and internal standard, respectively. **Results** The linear calibration curve of each enantiomer of amlodipine showed excellent correlation over the range of 0.1031 $\mu\text{g/L}$ (20.62 $\mu\text{g/L}$) ($r=0.9998$, $r=0.9997$). The absolute recovery was more than 70.0%, the relative recoveries were 85.0%-115.0%, and intra-run and inter-run relative standard deviation (RSD) were less than 15.0%. No R(-)-amlodipine was detected in the plasma of ten healthy male volunteers at different time points after single oral test. The main pharmacokinetic parameters of S(-)-amlodipine in healthy male volunteers were as follows: $t_{1/2}$ was (42.77 \pm 8.08) h, C_{max} was (3.06 \pm 0.51) $\mu\text{g/L}$, t_{max} was (6.3 \pm 1.0) h, MRT was (69.25 \pm 8.04) h, AUC_{0-144} was (176.20 \pm 31.89) $\text{h}\cdot\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, and $\text{AUC}_{0-\infty}$ was (197.92 \pm 37.54) $\text{h}\cdot\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. **Conclusion** The present method is highly selective, sensitive, accurate and with no endogenous interference for pharmacokinetic study. R-(+)-amlodipine is not found in the plasma, indicating that there is no chiral transformation in healthy male volunteers.

[Key words] amlodipine; liquid chromatography-tandem mass spectrometry; chiral separation; pharmacokinetics; chiral transformation

[Acad J Sec Mil Med Univ.2012,33(7):763-769]

苯磺酸氨氯地平(amlodipine, 商品名:络活喜)具有作用温和、降压平稳、长效安全等特点,目前已成为临床治疗心绞痛、高血压的重要药物^[1]。苯磺酸左旋氨氯地平(施惠达, levamlodipine besilate)是我国首个手性拆分光学纯药物。苯磺酸氨氯地平为手性药物,根据文献^[2-4]报道苯磺酸氨氯地平的药理学性质实际源于左旋氨氯地平,而肢端水肿、头痛、头晕、面部潮红等副作用来自右旋氨氯地平。有关消旋体苯磺酸氨氯地平的药动学研究,目前国内文献^[5-7]已有多篇,但少见左旋氨氯地平的药动学测定结果,并未见对于氨氯地平对映体在人体内手性转化方面的研究报道。

基于苯磺酸左旋氨氯地平临床治疗剂量小、体内血药浓度低及消除半衰期长的特点,目前绝大多数氨氯地平体内测定方法首选 LC-MS/MS 技术^[8-9]。为了实现生物大样本量的快速预处理,降低血浆样品基质效应干扰,我们选择了操作性好、重现性高、专属性强的固相萃取高通量血浆样品预处理方法,并以 CHIRAL-AGP 为手性固定相,建立了生物样品中氨氯地平消旋体直接拆分与灵敏检测的手性 LC-MS/MS 方法,并应用于人血浆中 S(-)-氨氯地平的药浓度测定及其体内手性转化可能性的考察研究。

1 材料

1.1 仪器 Varian HPLC-MS/MS 系统(美国瓦里安公司),包括 ProStar 430 自动进样器、2台 ProStar210 输液泵、1200 L 三重四级杆串联质谱仪,配备大气压化学电离源(APCI)以及 6.3 版本的瓦里安质谱数据处理系统;Supelco 24 管防交叉污染固相萃取装置(美国 Supelco 公司),ThermoFisher CR3i 台式高速冷冻离心机和 ThermoFisher SPD121 减压离心浓缩(ThermoFisher 公司);Vortex Mixer

230 V EU 旋涡混合器(美国 Labnet 公司);XS205 电子天平(瑞士 METTLER TOLEDO 公司)。

1.2 药品和试剂 苯磺酸左旋氨氯地平片(每片 2.5 mg, 施惠达药业集团有限公司,批号 110403);苯磺酸氨氯地平对照品(纯度 99.2%, 中国药品生物制品检定所);S(-)-氨氯地平对照品(纯度 99.5%, 施惠达药业集团吉林有限公司);R-(+)-氨氯地平对照品(纯度 99.5%, 施惠达药业集团吉林有限公司);内标氯氮草(IS, 纯度 99.7%, 中国药品生物制品检定所)。异丙醇(德国 Merck 公司, 色谱纯)、乙酸(美国 Tedia 公司, 色谱纯)、乙酸铵(中国医药集团上海化学试剂公司, 分析纯)。去离子水为 Mili-Q 系统(美国 Millipore 公司)自制超纯水;空白血浆由成都军区昆明总院提供;固相萃取小柱: Oasis HLB(3cc/60 mg)。

2 方法和结果

2.1 血浆中 S(-)/R(+)-氨氯地平对映体含量的测定

2.1.1 色谱条件 分析柱: CHIRAL-AGP 柱(150.0 mm \times 4.0 mm, 5 μm)和分析保护柱: CHIRAL-AGP 柱(10.0 mm \times 3.0 mm, 5 μm)购自英国 ChromTech 公司;流动相:10 mmol/L 乙酸铵缓冲液(pH 4.38) - 异丙醇(98:2, V/V);流速:0.7 ml \cdot min⁻¹;进样量:25 μl ;室温下进样分析;进样针清洗溶剂:90%甲醇水溶液。

2.1.2 质谱条件 大气压化学电离源(APCI), 电晕放电电流:12.0 μA , 加热毛细管温度:200 $^{\circ}\text{C}$, 气化室温度:450 $^{\circ}\text{C}$, 鞘气(N_2)压力:0.36 MPa, 辅助气(N_2)流量:3 L/min, 碰撞气氩气压力:0.24 Pa;正离子方式检测, 多离子选择反应监测(selected reaction monitor, MRM)扫描分析, 用于定量分析的离子反应分别: m/z 409.0 \rightarrow m/z 237.9(氨氯地平)和 m/z 300.0 \rightarrow m/z 282.0(氯氮草);碰撞诱导解离

(CID)电压分别:36 eV(氨氯地平)和 12.5 eV(氯氮草);扫描时间:0.5 s。扫描图结果见图 1。

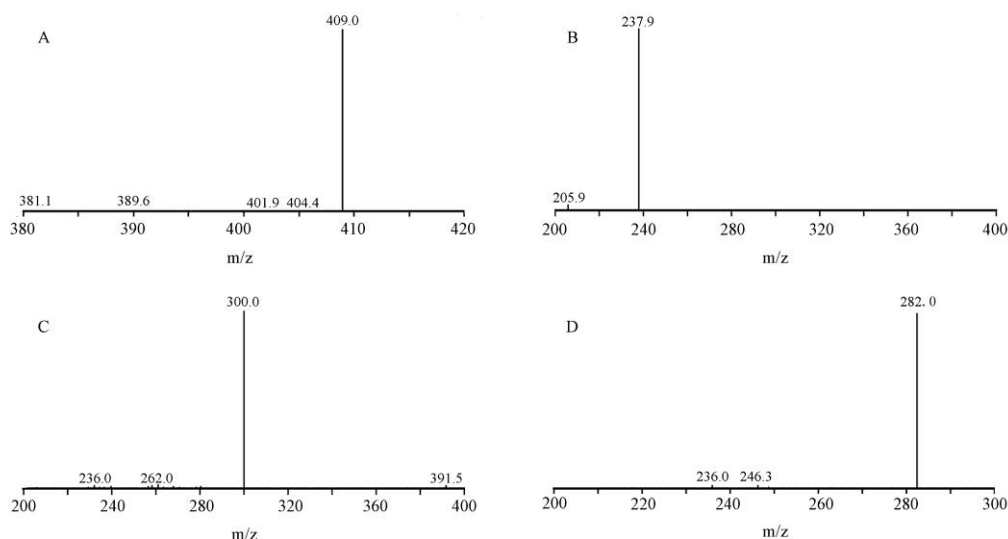


图 1 氨氯地平(A,B)和氯氮草(C,D)的 $[M+H]^+$ 及其产物离子扫描质谱图
Fig 1 Mass spectra of amlodipine (A,B) and chlordiazepoxide (C,D)

2.1.3 血浆样品处理 所有血浆样品萃取在固相萃取小柱上完成。精密量取血浆样品 1 ml,置于 1.5 ml 离心管中,精密加入 10 μ l 2.034 mg/L 内标(除空白血浆样品外)工作溶液,再加入 20 μ l 5%醋酸铵水溶液,涡旋混匀 1 min, 7 000 \times g 离心 10 min, 吸取全部上清液进行固相萃取。

固相萃取流程:先用 1 ml 的甲醇和 1.5 ml 水活化固相萃取小柱(HLB)处理,将离心后的血浆样品上清液通过小柱后,先后用 1 ml 水、1 ml 20%甲醇水溶液和 1 ml 70%甲醇水溶液来冲洗固相萃取小柱,洗脱除去血浆蛋白及杂质成分。最后用含有 2.5%氨水的 1 ml 甲醇溶液洗脱目标物,洗脱液收集,洗脱液用 30 $^{\circ}$ C 水浴中氮气流吹干,残留物加 50 μ l 流动相复溶后涡旋混匀 5 min, 16 000 \times g 离心 10 min, 取 25 μ l 进样分析。

2.1.4 方法的专属性 取人空白血浆 1 ml,按 2.1.3 项下操作(不加内标溶液),进样 25 μ l,得到色谱图 2A;将一定浓度的氨氯地平溶液和内标氯氮草溶液加入空白血清中,依同法操作,得色谱图 2B, R-(+)-氨氯地平, S(-)-氨氯地平和内标氯氮草的保留时间分别为 12.3、16.9 和 16.7 min;对氨氯地平和内标氯氮草监测通道间的“串扰”现象进行评价发现,空白人血浆中仅添加内标(最终浓度 20.34 μ g/L),依同法操作后在氨氯地平的监测通道未见干扰峰,得色谱图 2C;另一组空白人血浆样品仅添加氨氯地平(最终浓度为定量上限浓度 41.24 μ g/L,即 S(-)-/R-(+)-氨氯地平对映体

均是 20.62 μ g/L),即依同法操作后在内标检测通道未发现“串扰”峰,得色谱图 2D;取受试者服药后的血浆样品,依同法操作,得色谱图 2E。结果表明,空白血浆中的内源性物质不干扰氨氯地平和内标的测定,并且两个通道之间无“串扰”现象。

2.1.5 线性范围和最低定量下限 取空白血浆 1.0 ml,加氨氯地平标准系列工作溶液,配制成相当于氨氯地平血浆浓度为 0.206 2、1.031、2.062、4.124、10.31、20.62、41.24 μ g/L 的工作溶液(即 S(-)-/R-(+)-氨氯地平对映体分别是 0.103 1、0.515 5、1.031、2.062、5.155、10.31、20.62 μ g/L)的标准血浆样品,按 2.1.3 项下操作,每一浓度进行双样本分析,记录色谱图,建立标准曲线。以待测物浓度为横坐标,待测物与内标的峰面积比值为纵坐标,用加权($W=1/x$)最小二乘法进行线性回归运算,求得的直线回归方程即为标准曲线, S(-)-氨氯地平标准曲线为 $y=0.034\ 64x+0.002\ 5(R^2=0.999\ 2)$; R-(+)-氨氯地平标准曲线: $y=0.033\ 53x+0.001\ 3(R^2=0.999\ 5)$, S(-)-/R-(+)-氨氯地平对映体的线性范围均为 0.103 1~20.62 μ g/L,定量下限为 0.103 1 μ g/L。

取人空白血浆,配制成相当于 S(-)-氨氯地平和 R-(+)-氨氯地平浓度为 0.103 1 μ g/L 的样品,将其进行 5 样本分析,并根据当日的标准曲线计算每一样本测定浓度,求得该浓度下 S(-)-氨氯地平和 R-(+)-氨氯地平的日内精密性(RSD)分别为 8.98%、11.52%;准确度(RE)分别为 10.15%、

7.45%。该结果表明 LC-MS/MS 法测定血浆中 S(-)-氨氯地平 和 R-(+)-氨氯地平的定量下限均可以达 0.103 1 μg/L。

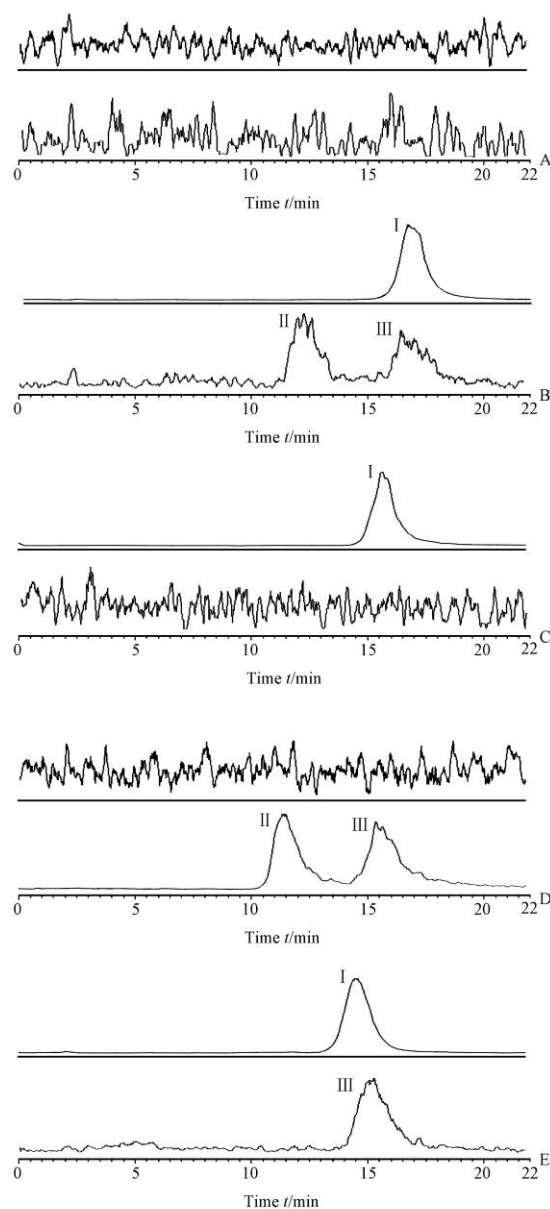


图 2 氨氯地平 和内标氯氮革的典型 MRM 色谱图

Fig 2 Typical chromatograms of amlodipine and internal standard in human plasma samples

A: Blank plasma; B: Plasma spiked with amlodipine (0.103 1 μg/L) and IS (20.34 μg/L); C: Plasma spiked with IS (20.34 μg/L); D: Plasma spiked with amlodipine (41.24 μg/L); E: Plasma sample obtained from healthy volunteer after oral administration; (I) chlordiazepoxide; (II) R-(+)-amlodipine; (III) S(-)-amlodipine. IS: Internal standard chlordiazepoxide

2.1.6 基质效应 (ME) 空白血浆均来自于 5 名受

试者,按 2.1.3 项下操作分别进行提取,加入氨氯地平工作溶液得高、中、低三个浓度 [即含有 S(-)-/R-(+)-氨氯地平对映体分别为 16.496、2.062、0.206 2 μg/L,每个浓度平行 5 份] QC 样品,测得的 S(-)-氨氯地平 和 R-(+)-氨氯地平峰面积分别与相应浓度的氨氯地平对照品中 S(-)-氨氯地平 和 R-(+)-氨氯地平 进行比较,即得血浆样品中氨氯地平的基质效应。此离子增强或抑制效应在本法中可以认为不影响分析。结果见表 1。

表 1 血浆中氨氯地平 和内标的基质效应

Tab 1 Matrix effect of S(-)-/R-(+)-amlodipine and internal standard from human plasma

n=5, $\bar{x} \pm s$, %

Concentration $\rho_B / (\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$	S(-)-amlodipine	R(+)-amlodipine	IS
0.206 2	78.12 ± 10.35	75.09 ± 6.02	76.21 ± 8.34
2.062	80.33 ± 3.28	77.78 ± 9.01	80.54 ± 8.45
16.496	79.18 ± 5.12	82.23 ± 7.81	78.52 ± 5.13

IS: Internal standard chlordiazepoxide

2.1.7 准确度和精密度 制备分别含有 S(-)-氨氯地平 和 R-(+)-氨氯地平 16.496、2.062、0.206 2 μg/L 3 个浓度的 QC 样品 (各平行制备 5 份),测定 3 批,根据每批的标准曲线计算 QC 样品的测得浓度,考察准确度和精密度,结果显示高、中、低 3 个浓度的准确度为 85.0%~115.0% 之间,精密度 RSD 均小于 15%,结果见表 2。

表 2 氨氯地平 在血浆中的日内日间精密度

Tab 2 Precision of the method for determination of S(-)-/R-(+)-amlodipine

n=5, $\bar{x} \pm s$, %

Concentration $\rho_B / (\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$	Intra-day		Inter-day	
	Recovery	RSD	Recovery	RSD
S(-)-amlodipine				
0.206 2	92.79 ± 8.34	8.99	108.57 ± 10.12	9.32
2.062	97.12 ± 7.23	7.44	98.34 ± 6.43	6.54
16.496	104.52 ± 5.23	5.00	92.12 ± 4.23	4.59
R-(+)-amlodipine				
0.206 2	96.59 ± 8.56	8.86	99.25 ± 8.17	8.23
2.062	103.56 ± 7.34	7.09	98.45 ± 6.19	6.29
16.496	104.17 ± 5.46	5.24	95.30 ± 4.38	4.53

RSD: Relative standard deviation

2.1.8 提取回收率 制备分别含有 S(-)-氨氯地平 和 R-(+)-氨氯地平 16.496、2.062、0.206 2 μg/L 3 个浓度的 QC 样品 (各平行制备 5 份),内标浓度 20.34 μg/L,按 2.1.3 项下方法操作,分别记录血浆中内标峰面积和 3 种浓度下的 S(-)-氨氯地平

和R-(+)-氨氯地平峰面积的平均值A;另一组空白人血浆样品,前处理后加入相应浓度的氨氯地平 and 内标氯氮草,记录内标和待测物的峰面积的平均值B。按公式:回收率 = $A/B \times 100\%$,得16.496、2.062、0.2062 $\mu\text{g/L}$ 3个浓度的QC样品和内标氯氮草的提取回收率,结果见表3。

表3 氨氯地平 and 内标在血浆中的提取回收率
Tab 3 Recovery of S(-)/R(+)-amlodipine and internal standard from human plasma

Concentration $\rho_{\text{th}}/(\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$	S(-)-amlodipine	R(+)-amlodipine	IS
0.2062	75.12±6.78	74.38±5.56	72.19±8.45
2.062	70.34±9.23	77.50±4.52	78.28±5.88
16.496	72.45±2.72	80.14±4.13	77.56±2.91

IS: Internal standard chlordiazepoxide

2.1.9 稳定性考察 氨氯地平 and 氯氮草 储备液4℃放置40 d后稳定(RE绝对值分别小于8.27%和7.92%),血浆样品中含有S(-)-氨氯地平 and R-(+)-氨氯地平分别为16.496、2.062、0.2062 $\mu\text{g/L}$ 3个浓度的QC样品-80℃放置40 d后稳定(RE绝对值分别小于9.35%和8.46%),经历3次冷冻-解冻循环稳定(RE绝对值分别小于6.84%和5.95%),室温放置4 h后稳定(RE绝对值分别小于7.89%和6.45%),提取后样品在自动进样器内室温放置72 h后稳定(RE绝对值分别小于11.55%和9.54%)。所有的考察项均是制备5份QC样品平行完成。结果表明氨氯地平血浆样品及氨氯地平 and 内标储备液在上述条件下稳定性良好。

2.2 药代动力学研究

2.2.1 研究对象 10例健康受试者,男性,年龄(23±3)岁,体质量(67±8) kg,身高(166±7) cm。均无药物过敏史,无肝、肾疾病史,心电图、肝、肾功能等检查均正常,无烟酒嗜好,试验前14 d及试验期间未用其他任何药物。试验方案经成都军区昆明总医院医学伦理委员会批准后施行。试验前本课题负责人向受试者说明试验目的、药物特性、临床应用及主要不良反应等,由本人签署知情同意书,并于试验前1 d进入I期临床病房。

2.2.2 给药方法与血样采集 10名受试者于试验前一晚禁食(10 h以上),试验日7:00空腹口服苯磺酸左旋氨氯地平片1片(相当于左旋氨氯地平2.5 mg),用250 ml温开水送服。服药后4、10 h分

别进食统一标准餐。在整个试验过程中由医师对不良反应事件进行监测。于服药前0 h及给药后的1、2、4、6、8、10、14、24、36、48、72、96、120、144 h取上肢静脉血4.0 ml,肝素抗凝,7 000×g离心10 min,分离血浆,于-80℃冰箱中保存待测。采血及保存过程中应注意避光。按血浆样品预处理方法操作,测定血浆中左旋氨氯地平浓度。受试者于服药后需在病房观察15 h,由心内科医师密切监测受试者的血压,观察受试者有无头痛、踝部水肿、面红、心悸、乏力、眩晕、腹痛、恶心、嗜睡等不良反应发生。

2.2.3 S(-)-氨氯地平手性转化考察血药浓度-时间曲线 对于10名健康志愿者单剂量(2.5 mg)口服苯磺酸左旋氨氯地平片后不同时间点的血浆样品,按2.1.3项下方法操作,手性LC-MS/MS法测定人血浆样品中S(-)-氨氯地平 and R-(+)-氨氯地平浓度,S(-)-氨氯地平平均血药浓度-时间曲线见图3;而相应的血浆样品中未检出R-(+)-氨氯地平峰(低于最低定量限0.1031 $\mu\text{g/L}$),代表性的人血浆样品手性LC-MS/MS分析图谱见图4,说明10名健康男性受试者给药左旋氨氯地平片后体内S(-)-氨氯地平未发生手性转化。

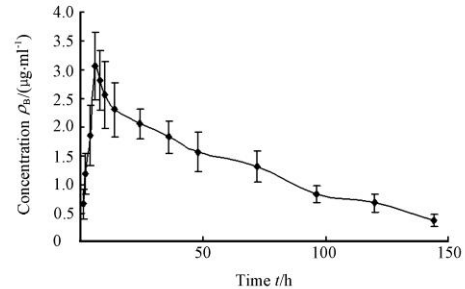


图3 10名健康受试者单剂量口服苯磺酸氨氯地平2.5 mg后体内左旋氨氯地平均血药浓度-时间曲线

Fig 3 Mean plasma concentration-time profile of S(-)-amlodipine in 10 healthy male volunteers after oral administration

$n=10, \bar{x} \pm s$

2.2.4 S(-)-氨氯地平药代动力学参数估算 实验所得各血浆样品S(-)-氨氯地平浓度经时数据采用非房室模型法分析(统计矩法),并计算主要药代动力学参数, C_{max} 为(3.06±0.51) $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, t_{max} 为(6.3±1.0) h, $t_{1/2}$ 为(42.77±8.08) h, MRT为(69.25±8.04) h, AUC_{0-144} 为(176.20±31.89) $\text{h} \cdot \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, $AUC_{0-\infty}$ 为(197.92±37.54) $\text{h} \cdot \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

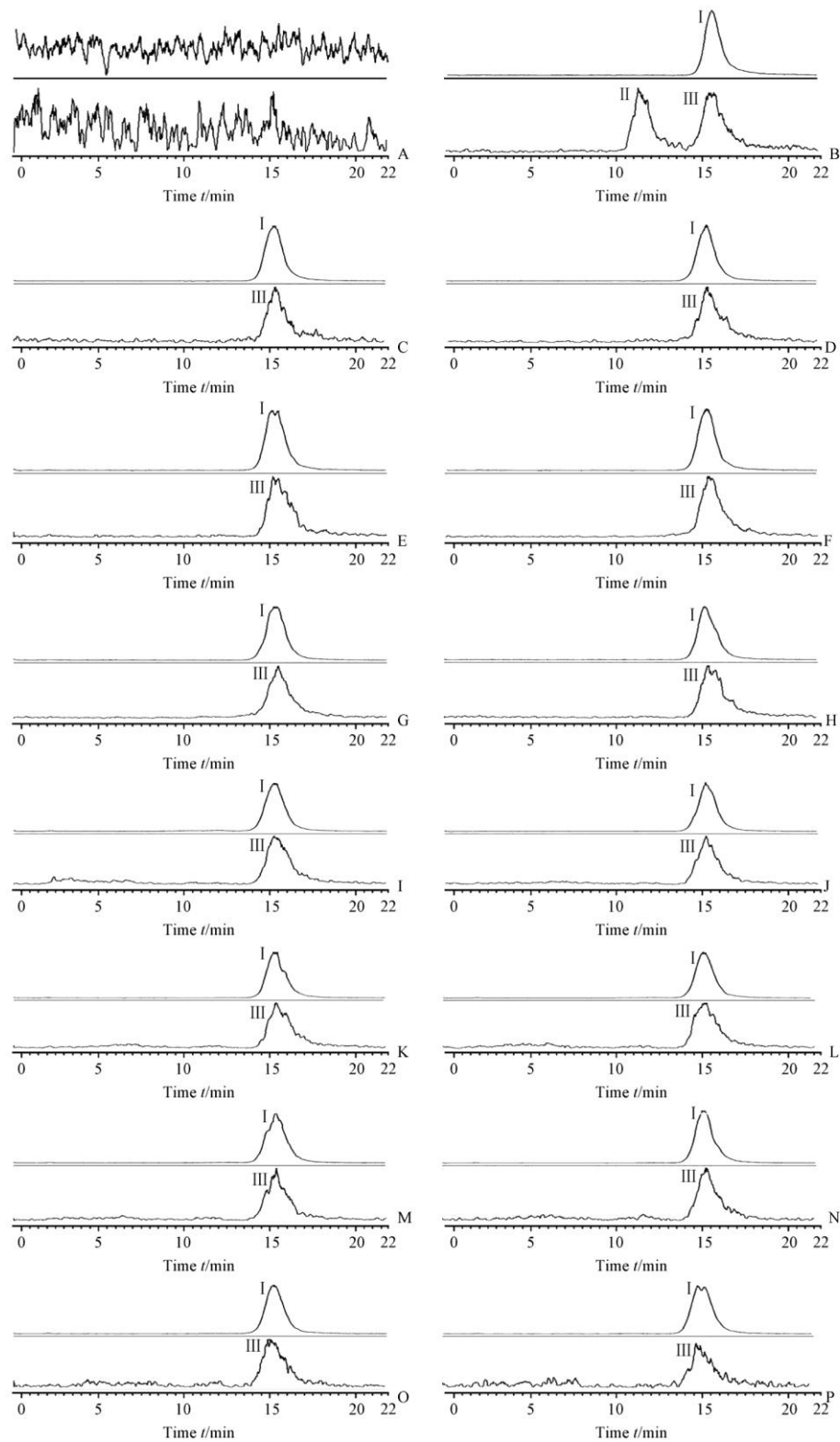


图 4 代表性的人血浆样品手性 LC-MS/MS 图谱

Fig 4 Chromatograms of amlodipine and internal standard in human plasma samples

A: Blank plasma; B: Plasma spiked with amlodipine (0.1031 $\mu\text{g/L}$) and internal standard chlordiazepoxide (20.34 $\mu\text{g/L}$); C-P: Plasma samples of 1, 2, 4, 6, 8, 10, 14, 24, 36, 48, 72, 96, 120, 144 h obtained from healthy volunteer after oral administration; (I) chlordiazepoxide; (II) R-(+)-amlodipine; (III) S-(-)-amlodipine

3 讨论

目前有关人血浆中氨氯地平的测定方法多采用 LC-MS/MS 法,最低检测限为 0.15~0.20 $\mu\text{g/L}$,且文献报道的氨氯地平生物样品预处理方法以液液萃取法^[10-11]居多;但由于苯磺酸左旋氨氯地平的一般服用剂量为 2.5 mg,减少的服药剂量使人体内血药浓度更低,对 S(-)-氨氯地平的检测提出了更高的要求。因此我们采用专一性强、灵敏度高、无杂质干扰的固相萃取-手性 LC-MS/MS 方法,在苯磺酸氨氯地平对映体 CHIRAL-AGP 柱手性拆分的基础上,结合串联质谱高灵敏度检测人血浆中左旋氨氯地平的浓度。经全面的定量分析方法学考查,建立的方法符合人体药代动力学研究的要求。

本文对流动相体系水相组成进行了考察,比较 10 mmol/L 乙酸铵溶液与 10 mmol/L 甲酸铵溶液,结果发现 10 mmol/L 乙酸铵溶液作为水相串联质谱信号较高,且保证了良好的峰型。由于氨氯地平血浆样品日照不稳定,低温放置稳定性良好,因此本实验选择 -80℃ 保存血浆样品,分析过程保证避光操作。

经固相萃取-手性 LC-MS/MS 方法生物样品分析,给予 10 例健康男性受试者苯磺酸左旋氨氯地平片 2.5 mg 后,本试验结果与国内外报道药动学参数基本相同^[12-13],但各个时间点的血浆中均未测到 R-(+)-氨氯地平,表明 S(-)-氨氯地平未发生手性转化。

4 利益冲突

所有作者声明本文不涉及任何利益冲突。

[参考文献]

[1] Nafisur R, Manisha S, Nasrul H. Application of oxidants to the spectrophotometric determination of amlodipine besylate in pharmaceutical formulations [J]. *IL Farmaco*, 2004, 59: 913-

919.

- [2] Liu F, Qiu M, Zhai S D. Tolerability and effectiveness of (S)-amlodipine compared with racemic amlodipine in hypertension: a systematic review and meta-analysis [J]. *Curr Ther Res*, 2010, 71: 1-29.
- [3] 黄仲义. 左旋氨氯地平治疗心血管相关疾病的研究进展[J]. *中国新药与临床杂志*, 2008, 27: 236-238.
- [4] 何成章. 左氨氯地平的临床研究进展[J]. *内科*, 2009, 4: 768-771.
- [5] 谢秋红, 邵大志, 吴慧哲, 魏敏杰. 苯磺酸氨氯地平分散片药代动力学与相对生物利用度[J]. *中国医刊*, 2011, 46: 51-53.
- [6] 李 珍, 计一平, 闻 俊, 康 新, 范国荣, 唐世新, 等. 苯磺酸氨氯地平片人体药代动力学和相对生物利用度研究[J]. *第二军医大学学报*, 2008, 29: 1407-1409.
- Li Z, Ji Y P, Wen J, Kang X, Fan G R, Tang S X, et al. Pharmacokinetics and relative bioavailability of amlodipine besylate tablet in healthy volunteers [J]. *Acad J Sec Mil Med Univ*, 2008, 29: 1407-1409.
- [7] 刘 梅, 张 琰, 文爱东, 杨 林, 李 微, 袁 静, 等. 苯磺酸氨氯地平片的血药浓度测定及其药理学特征[J]. *中国临床药学杂志*, 2007, 16: 211-214.
- [8] 吕 媛, 崔 洪, 康子胜, 张 明, 王 喆, 刘 燕, 等. 苯磺酸氨氯地平在健康人体的生物等效性[J]. *中国临床药理学杂志*, 2009, 25: 34-37.
- [9] 张 琰, 杨 蕾, 刘 梅, 覃 华, 陈笑艳, 张逸凡, 等. 苯磺酸氨氯地平在健康人体的药理学及生物等效性评价[J]. *第四军医大学学报*, 2006, 27: 172-175.
- [10] 陈赛贞, 徐珊珊, 陈 斌, 袁国平, 金乃宝. 健康志愿者口服氨氯地平的药代动力学和生物等效性研究[J]. *药物研究*, 2005, 14: 25-26.
- [11] 杜 光, 刘 东, 刘 宇, 张冬林, 刘喆隆, 刘 异. 国产苯磺酸氨氯地平片的生物等效性[J]. *中国医院药学杂志*, 2007, 27: 185-187.
- [12] Park J Y, Kim K A, Park P W, Lee O J, Ryu J H, Lee G H, et al. Pharmacokinetic and pharmacodynamic characteristics of a new S-amlodipine formulation in healthy korean male subject: a randomized, open-label, two-period comparative, crossover study [J]. *Clin Ther*, 2006, 28: 1837-1847.
- [13] 刘 茜, 李 力, 杨 伦, 宋洪涛, 李 贺, 王 茜. 液质联用法测定左旋氨氯地平的血药浓度及其片剂的相对生物利用度研究[J]. *中国药理学杂志*, 2009, 44: 774-777.

[本文编辑] 尹 茶