

## 盐酸美西律片在大鼠体内的药动学研究

张丹丹<sup>1</sup>, 孙梦杰<sup>1</sup>, 欧阳慧子<sup>2</sup>, 常艳旭<sup>1</sup>, 何俊<sup>1\*</sup>

1. 天津中医药大学 中医药研究院 天津市现代中药重点实验室, 天津 300193

2. 天津中医药大学第一附属医院, 天津 300193

**摘要:** **目的** 建立高效液相色谱-质谱联用 (HPLC-MS/MS) 测定大鼠血浆中美西律的血药浓度的方法, 用于 ig 盐酸美西律片后大鼠体内的药动学研究。**方法** 采用 Waters XBridge™ C<sub>18</sub> 色谱柱 (100 mm×2.1 mm, 3.5 μm); 流动相: 0.1% 甲酸水-乙腈; 梯度洗脱; 体积流量为 0.3 mL/min; 柱温: 30 °C; 进样量: 5 μL。采用电喷雾离子源, 多反应监测模式, 正离子监测, 美西律和地西洋 (内标) 的定量离子分别为 *m/z* 180.2→58.2、285.0→154.1。经 DAS 1.0 软件统计分析, 得到大鼠 ig 盐酸美西律片 62.5 mg/kg 的药动学参数。**结果** 美西律在 5~5 000 ng/mL 线性关系良好。精密度试验 RSD 值和准确度试验 RE 值分别在 1.08%~8.96%和-6.00%~9.45%。提取回收率和基质效应分别为 44.07%~64.35%和 71.07%~84.52%。动力学过程符合一室模型, 给药后 30 min 左右达峰, 半衰期大约为 2 h, 消除速度较快, 24 h 消除完全。**结论** 该方法高效、专属性强、灵敏度高, 可用于美西律药动学的研究。

**关键词:** 盐酸美西律片; 美西律; 药动学; 高效液相色谱-质谱联用

中图分类号: R969.1 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2017)12-2309-04

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2017.12.005

## Pharmacokinetics of Mexiletine Hydrochloride Tablets in rats

ZHANG Dan-Dan<sup>1</sup>, SUN Meng-Jie<sup>1</sup>, OUYANG Hui-zi<sup>2</sup>, CHANG Yan-Xu<sup>1</sup>, HE Jun<sup>1</sup>

1. Tianjin State Key Laboratory of Modern Chinese Medicine, Institute of Traditional Chinese Medicine, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

2. First Teaching Hospital of Tianjin University of TCM, Tianjin 300193, China

**Abstract: Objectives** To establish an HPLC-MS/MS method for determination of mexiletine concentration in rat's plasma, and apply the method to mexiletine pharmacokinetics in rats ig administered with Mexiletine Hydrochloride Tablets. **Methods** Separation of analytes was carried on Waters XBridge™ C<sub>18</sub> column (100 mm × 2.1 mm, 2.5 μm). The mobile phase was consisted of water (0.1% formic acid) and acetonitrile with gradient elution at a flow rate of 0.3 mL/min, and the temperature was 30 °C with injection volume of 5 μL. Electrospray ionization (ESI) source and multiple reactions monitoring (MRM) were applied to measure targeted compound in positive ion mode. The quantitative ions of mexiletine and diazepam (IS) were *m/z* 180.2→58.2 and 285.0→154.1, respectively. The pharmacokinetic parameters of mexiletine in rats ig administered with Mexiletine Hydrochloride Tablets (62.5 mg/kg) were obtained by the statistical analysis of DAS 1 Software. **Results** There were good linear relationships of mexiletine in the concentration ranges of 5 — 5 000 ng/mL. RSD values in precision test were within 1.08% — 8.96%, and RE values in accuracy test were -6.00% — 9.45%. The extraction recovery and matrix effect were 44.07% — 64.35% and 71.07% — 84.52%, respectively. The kinetic process conformed to a one chamber model, which reached a peak at about 30 min after administration, with a half-life of about 2 h, faster elimination and 24 h elimination. **Conclusion** The method has high efficiency, high specificity, and good sensitivity, and can be used to study pharmacokinetics of mexiletine.

**Key words:** Mexiletine Hydrochloride Tablets; mexiletine; pharmacokinetics; HPLC-MS/MS

盐酸美西律化学名称为 1-(2,6-二甲基苯氧基)-2-丙胺盐酸盐, 是一种钠通道阻滞剂, 为 Ib 类抗心律失常药, 可以抑制心肌细胞钠内流, 降低动作电位 0 相除极速度, 缩短浦氏纤维的有效不应期,

收稿日期: 2017-07-14

基金项目: 国家自然科学基金资助项目面上项目 (81673824); 国家自然科学基金资助项目青年科学基金项目 (81503457)

作者简介: 张丹丹 (1989—), 女, 山东济宁人, 硕士研究生, 研究方向为药物分析。Tel: 18322065326 E-mail: 18322065326@163.com

\*通信作者 何俊 (1981—), 男, 吉林通化人, 副研究员, 研究方向: 药物分析。Tel: (022)59596163 E-mail: hejun673@163.com

临床上主要用于慢性室性心律失常, 如室性早搏、室性心动过速<sup>[1]</sup>。由于美西律治疗窗比较窄<sup>[2]</sup>, 有效剂量和最小中毒剂量比较接近, 若服用不当, 易引发不良反应。目前用于美西律的测定方法有 HPLC 法、固定 pH 滴定法、毛细管电泳法、UV 法、GC 法、微流控芯片毛细管电泳激光诱导荧光检测法和荧光法<sup>[3-4]</sup>, 但用于美西律药动学的测定方法主要为 HPLC 法和 GC 法<sup>[5-7]</sup>。HPLC 法检测限较高, 对于药物浓度含量较低的血浆样品往往难以满足测定要求; GC 法则需要对样品进行衍生化前处理, 样品处理过程较为复杂、耗时。此外, 这些方法的灵敏度较低, 专属性较弱, 不能有效地测定大鼠血浆中美西律。针对上述问题, 本实验建立了测定大鼠血浆中美西律的 HPLC-MS/MS 法, 该方法专属性强, 灵敏度高, 分析速度快, 对盐酸美西律片药动学的研究具有一定的借鉴意义。

## 1 仪器与材料

### 1.1 仪器

Agilent 1200 型高效液相色谱仪串联 Agilent 6430 三重四级杆串联质谱仪、Agilent Mass Hunter 分析软件(美国 Agilent 公司); AX 205 型十万分之一天平购自瑞士 Mettler Toledo 公司; Milli-Q 超纯水制备仪购自 Millipore 公司; 3K15 型高速离心机购自美国 Sigma 公司; XW-80A 型旋涡混合器购自上海沪西分析仪器厂。

### 1.2 试剂

盐酸美西律对照品(批号 100218-201203, 质量分数 99.9%) 购自中国食品药品检定研究院; 地西洋(批号 20160701, 质量分数 98%) 购自天津万象恒远科技有限公司; 盐酸美西律片(规格 50 mg/片, 批号 377151201) 购自石药集团欧意药业有限公司; 甲醇、乙腈(色谱纯, Merck 公司); 甲酸(色谱纯, ROE 公司); 超纯水自制。

### 1.3 实验动物

健康雄性 SD 大鼠体质量(250±10 g), SPF 级, 购自北京华阜康实验动物技术有限公司, 合格证编号 11401300055716, 许可证号 SCXK(京)2014-0004。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

Waters XBridge<sup>TM</sup> C<sub>18</sub> 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 3.5 μm); 流动相: 0.1%甲酸水(A) - 乙腈(B); 梯度洗脱: 0~2.0 min, 23%~85% B; 2.0~

3.0 min, 85%~95% B; 3.0~7.0 min, 95%B; 体积流量为 0.3 mL/min; 柱温: 30 °C; 进样量: 5 μL。

### 2.2 质谱条件

采用电喷雾离子源(ESI), 多反应监测(MRM)模式, 正离子监测; Delta EMV(+): 300 V; Gas Temp: 320 °C; Gas Flow: 11 L/min; Nebulizer: 138 kPa; 美西律的定量离子为 180.2 → 58.2, Frag. (V) 为 85, C.E. (V) 为 10; 地西洋(内标)的定量离子为 285.0→154.0, Frag. (V) 为 140, C.E. (V) 为 27。

### 2.3 对照品溶液的制备

精密称取美西律对照品 5 mg, 用甲醇溶解并配制 1 mg/mL 的储备液。另取地西洋对照品 1 mg, 用甲醇溶解并稀释为 1 μg/mL 的工作液。所有储备液均储存于 4 °C 冰箱备用。

### 2.4 血浆样品预处理

精密量取血浆样品 100 μL, 置于 1.5 mL 离心管中, 依次加入 1 μg/mL 内标溶液 20 μL, 甲醇 20 μL, 涡旋混匀, 再加入 1 mL 甲醇涡旋 5 min, 14 000 r/min 离心 10 min 后, 取上清液 1 mL 氮气吹干, 用 100 μL 50%甲醇复溶, 涡旋振荡 5 min, 14 000 r/min 离心 10 min, 取上清液 5 μL 进行分析。

### 2.5 标准曲线及线性范围

取大鼠空白血浆 100 μL, 加入一系列质量浓度的美西律对照品溶液, 配制成含美西律 5、10、50、250、1 250、2 500、5 000 ng/mL 的血浆样品, 再加入 20 μL 内标溶液后, 按照 2.4 项下方法进行处理, 取上清液进样分析, 并记录色谱图。以美西律与内标的峰面积比值为纵坐标, 质量浓度为横坐标, 用加权最小二乘法进行线性回归计算, 权重系数为  $1/X^2$ , 计算得回归方程为  $Y=2.100\ 357 X+0.045\ 939$  ( $r=0.995\ 7$ ), 结果表明美西律在 5~5 000 ng/mL 线性关系良好。以  $S/N \geq 10$  为标准, 测得美西律最低定量限为 1 ng/mL。

### 2.6 专属性试验

精密量取空白血浆 100 μL, 除不加内标溶液外, 按 2.4 项下方法处理后, 取上清液进样分析, 得色谱图; 将一定质量浓度的美西律对照品溶液、内标地西洋溶液加入空白血浆中, 同法处理, 得色谱图; 取大鼠 ig 盐酸美西律片 30 min 后的血浆样品, 同法处理, 得色谱图。结果见图 1。美西律和内标地西洋的保留时间分别是 3.23、5.57 min, 血浆样品中内源性物质不干扰目标性成分的测定。

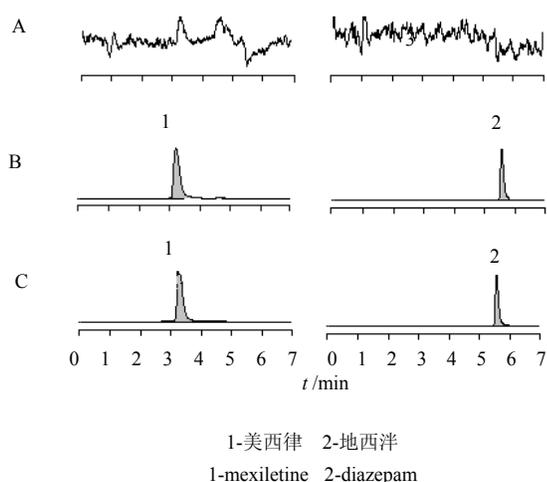


图1 空白血浆(A)、空白血浆加入美西律和地西洋(B)、大鼠 ig 给药盐酸美西律片 30 min 的血浆样品(C)的MRM图谱

Fig. 1 MRM chromatograms of blank plasma (A), blank plasma spiked with mexiletine and diazepam (B), and sample collected at 30 min after ig administered with Mexiletine Hydrochloride Tablets (C)

### 2.7 精密度和准确度试验

取大鼠空白血浆 100 μL, 分别加入一定量的美西律对照品溶液, 配制成 10、250、5 000 ng/mL 的质控样品(QC)各 6 份, 按照 2.4 项下方法进行处理, 连续测定 3 d, 并同时进行美西律标准曲线的测定。记录质控样品中美西律的质量浓度, 并计算得此方法的日内精密度、日间精密度和准确度, 结果见表 1。

表1 美西律在大鼠血浆中的准确度和精密度试验结果 (n = 6)

Table 1 Results of precision and accuracy test of mexiletine in rat plasma (n = 6)

质量浓度/ (ng·mL <sup>-1</sup> )	日内精密度			日间精密度		
	测量值/(ng·mL <sup>-1</sup> )	RSD/%	RE/%	测量值/(ng·mL <sup>-1</sup> )	RSD/%	RE/%
10	10.87 ± 9.74	8.96	8.73	9.71 ± 1.05	1.08	-2.86
250	265.91 ± 14.67	5.52	6.36	273.63 ± 17.62	6.44	9.45
5 000	5 093.23 ± 114.38	2.25	1.86	4 699.91 ± 339.44	7.22	-6.00

表2 美西律在大鼠血浆中的提取回收率和基质效应结果 (n = 6)

Table 2 Results of extraction recovery and matrix effect of mexiletine in rat plasma (n = 6)

质量浓度/(ng·mL <sup>-1</sup> )	回收率/%	RSD/%	基质效应/%	RSD/%
10	58.92 ± 3.79	6.43	71.07 ± 0.78	1.10
250	44.07 ± 1.93	4.37	84.52 ± 5.27	6.24
5 000	64.35 ± 1.13	1.75	83.68 ± 2.03	2.42

### 2.8 回收率试验和基质效应

取大鼠血浆 100 μL, 配制成 10、250、5 000 ng/mL 的质控样品(QC)各 6 份, 按 2.4 项下方法进行处理, 进样分析, 记录下峰面积(A<sub>1</sub>); 另取空白血浆 100 μL, 按 2.4 项下方法处理后, 用相应 3 个质量浓度美西律对照品复溶, 进样分析, 记录下峰面积(A<sub>2</sub>), 则提取回收率为 A<sub>1</sub>/A<sub>2</sub>。同样测定条件下, 相应的 3 个质量浓度对照品溶液各进样 6 次, 记录相应峰面积平均值(A<sub>0</sub>), 则基质效应为 A<sub>2</sub>/A<sub>0</sub>。结果见表 2。

### 2.9 稳定性试验

取大鼠空白血浆 100 μL, 配制 10、250、5 000 ng/mL 的质控样品各 6 份, 按 2.4 项下方法操作, 分别考察在室温下放置 6 h, 血浆样品处理后放置自动进样器 12 h, 反复冻融 3 次, 血浆样品-70 °C 冰箱中冷冻 14 d 的稳定性, 结果见表 3。结果表明样品准确度在-10.48%~9.67%, RSD 值均小于 7.56%。

### 2.10 药动力学研究

健康雄性 SD 大鼠 6 只, 给药前禁食 12 h, 期间可自由饮水。盐酸美西律片剂量为 62.5 mg/kg, 分别在给药前以及给药后 0.08、0.17、0.25、0.5、1、3、5、6、8、10、12、24 h 经大鼠眼眶内眦取血, 置于肝素化离心管中, 6 000 r/min 离心 10 min, 取上清后置于-70 °C 冰箱储存, 直至进样分析。美西律的平均血药浓度-时间曲线见图 2。经 DAS 1.0 软件统计分析, 得到大鼠 ig 盐酸美西律片后的药动学参数, 结果见表 4。

表 3 美西律在大鼠血浆中的稳定性试验结果 (n = 6)

Table 3 Stability of mexiletine in rat plasma (n = 6)

质量浓度/ (ng·mL <sup>-1</sup> )	室温 6 h		自动进样器 12 h		反复冻融 3 次		-70 °C 储存 14 d	
	测量值/ (ng·mL <sup>-1</sup> )	RSD/ %						
10	8.95 ± 0.68	7.56	10.53 ± 0.53	5.05	10.51 ± 0.40	3.82	9.67 ± 0.30	3.11
250	270.29 ± 3.51	1.30	270.45 ± 6.68	2.47	274.18 ± 3.97	1.45	503.13 ± 25.70	5.11
5 000	5 000.86 ± 51.22	1.02	4 935.52 ± 79.04	1.60	5 092.46 ± 247.50	4.86	5 141.0 ± 115.8	2.25

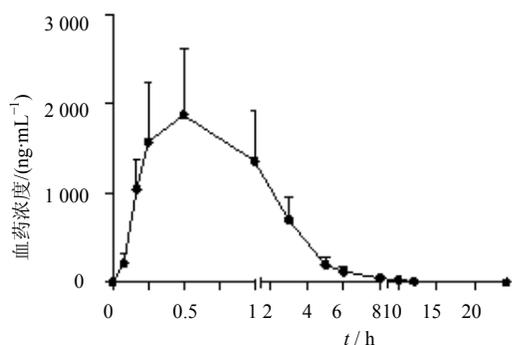


图 2 美西律的血药浓度-时间曲线图 (n = 6)

Fig. 2 Plasma concentration-time curve of mexiletinen (n = 6)

表 4 美西律的主要药动学参数 (n = 6)

Table 4 Pharmacokinetic parameters of mexiletine (n = 6)

参数	单位	数值
$t_{max}$	h	0.42 ± 0.13
$C_{max}$	ng·mL <sup>-1</sup>	1 910.92 ± 702.83
$K_e$	h <sup>-1</sup>	0.31 ± 0.07
$t_{1/2}$	h	2.32 ± 0.44
$AUC_{0-t_n}$	h·ng·mL <sup>-1</sup>	4 950.57 ± 1 813.94
$AUC_{0-\infty}$	h·ng·mL <sup>-1</sup>	4 928.78 ± 1 833.63

### 3 讨论

实验采用多反应监测 (MRM), 正离子模式, 通过对 Gas Temp, Gas Flow, Nebulizer, Frag. 和 C.E. 值进行优化, 获得最佳质谱条件。在此优化的条件下, 检测结果更加准确, 可靠。

实验中考察了不同流动相对于美西律和地西洋的影响, 结果表明, 采用乙腈-水系统梯度洗脱, 分析物的分离度较好, 并且响应较高。另在水相中加入 0.1% 甲酸可使分析物的峰形更好。

对于血浆样品的前处理, 本实验分别考察了采用甲醇、乙腈做蛋白沉淀试剂和用醋酸乙酯做萃取

液处理样品后, 对分析物的影响。结果表明, 用甲醇处理后, 样品提取回收率较高, 并且内源性物质不干扰分析物的测定。

采用 DAS 1.0 软件统计分析后, 得到大鼠给药后的药动学参数。结果表明大鼠给药美西律后的动力学过程符合一室模型, 给药后 30 min 左右达峰, 半衰期大约为 2 h, 消除速度较快, 24 h 消除完全。盐酸美西律临床上的成人用药首剂量较大, 由于其达峰速度较快, 且达峰时血药浓度较高, 所以在临床用药时可以根据病情酌情用药, 以免产生不良反应。美西律作为抗心率失常药, 其治疗窗较窄, 所以其药动学研究对临床用药具有一定的指导作用。

### 参考文献

- [1] Labbé L, Turgeon J. Clinical pharmacokinetics of mexiletine [J]. *Clin Pharmacokinet*, 1999, 37(5): 361-384.
- [2] Yu L, Hong Y, Li L, et al. Enantioselective drug-protein interaction between mexiletine and plasma protein [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2012, 64(6): 792-801.
- [3] 孙悦, 彭怀东, 魏惠燕, 等. 微流控芯片毛细管电泳激光诱导荧光检测法测定片剂中盐酸美西律的含量 [J]. *分析实验室*, 2012, 31(5): 13-17.
- [4] 高先娟, 张平平, 郑琪霞, 等. 荧光法测定盐酸美西律片中盐酸美西律的含量 [J]. *化学研究和应用*, 2017, 29(1): 94-98.
- [5] Kaushik S, Alexander K S. A modified reverse-phase HPLC method for the analysis of mexiletine hydrochloride [J]. *J Liq Chromatogr R T*, 2003, 26(8): 1287-1296.
- [6] 吕俊障, 黄德葆, 颜小峰, 等. 高效液相色谱法测定美西律血清浓度和正常人药代动力学研究 [J]. *中国现代应用药学*, 1988, 5(3): 28-33.
- [7] 李萍, 纪松岗, 孔庆洪, 等. 美西律正常人药代动力学及其血药浓度与疗效关系的研究 [J]. *中国临床药理学杂志*, 1991, 7(1): 37-43.