

单次和多次口服氯乙酰左卡尼汀片在健康人体的药动学研究

向荣凤, 戴青, 熊丽蓉, 唐敏, 喻明洁, 陈勇川* (陆军军医大学第一附属医院药学部, 重庆 400038)

摘要: 目的 采用 LC-MS/MS 测定人血浆中乙酰左卡尼汀的浓度并用于氯乙酰左卡尼汀片在健康受试者体内的药动学研究。方法 健康受试者单次给药 0.5, 1.0, 1.5 g 和多次给予 0.5 g 后, 0~24 h 采集血样。通过测定单次和多次给药后血浆中乙酰左卡尼汀的绝对浓度, 计算其药动学参数。米屈肼为内标, 经甲醇沉淀蛋白后进行 LC-MS/MS 分析。ESI 离子源正离子模式监测, 检测离子 m/z 204.3 \rightarrow 145.2(乙酰左卡尼汀), m/z 147.2 \rightarrow 58.2(米屈肼); 色谱柱为 EC 250/4.6 NUCLEOSIL 100-5CN, 流动相为甲醇-10 mmol·L⁻¹乙酸铵溶液(含 0.1%甲酸)(85:15)。结果 乙酰左卡尼汀在 20~3 000 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 内线性良好($r=0.999$), 最低定量限为 20 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。批内、批间精密度及基质效应 RSD 均 $<15\%$ 。单次给药 3 个剂量组(0.5, 1.0, 1.5 g)的主要药动学参数为: AUC_{0-t} 为(4 181.77 \pm 2 473.24) $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1}$ 、(6 099.54 \pm 1 939.41) $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1}$ 和(8 064.71 \pm 3 575.99) $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1}$, C_{max} 为(611.42 \pm 270.76) $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、(830.92 \pm 233.19) $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 和(1 004.67 \pm 414.95) $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, $t_{1/2\alpha}$ 为(4.50 \pm 2.93)h、(6.25 \pm 3.65)h 和(5.76 \pm 3.94)h; 多次给药后主要的药动学参数: AUC_{0-t} 为(13 728.82 \pm 6 493.04) $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1}$, C_{max} 为(1 129.00 \pm 374.05) $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, $t_{1/2\alpha}$ 为(8.57 \pm 4.42)h。结论 本方法准确、灵敏、专属性强, 适用于人体内乙酰左卡尼汀药动学研究。单次和多次给予氯乙酰左卡尼汀片后药动学参数有明显差异, 性别间无差异, 健康受试者对药物的耐受性良好。

关键词: 乙酰左卡尼汀; 高效液相色谱-质谱联用; 药动学; 血浆

中图分类号: R969.1

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2019)01-0026-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2019.01.006

引用本文: 向荣凤, 戴青, 熊丽蓉, 等. 单次和多次口服氯乙酰左卡尼汀片在健康人体的药动学研究[J]. 中国现代应用药学, 2019, 36(1): 26-30.

Pharmacokinetics Study of A Single and Multiple Oral Chloroacetyl Acetyl-L-carnitine Tablet in Healthy Volunteers

XIANG Rongfeng, DAI Qing, XIONG Lirong, TANG Min, YU Mingjie, CHEN Yongchuan* (Department of Pharmacy, First Affiliated Hospital of the Army Medical University, Chongqing 400038, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To develop a LC-MS/MS method for the content determination of acetyl-L-carnitine in human plasma, and to study the pharmacokinetics of chloroacetyl acetyl-L-carnitine tablet in healthy volunteers. **METHODS** Chloroacetyl acetyl-L-carnitine tablet at the single administration of 0.5, 1.0, 1.5 g and multiple administration of 0.5 g were given to healthy volunteers. Blood samples were collected at 0-24 h. The pharmacokinetic parameters were calculated by measuring the absolute concentration of acetyl-L-carnitine in plasma of healthy volunteers after single and multiple administration. Mildronate was used as the internal standard(IS), the plasma samples were treated with methanol to precipitate protein and analyzed by LC-MS/MS. The detection was accomplished with ESI source operated in positive ionization mode, and ion reaction pairs were selected to be m/z 204.3 \rightarrow 145.2(acetyl-L-carnitine), and m/z 147.2 \rightarrow 58.2(mildronate). Chromatographic separation had been achieved on EC 250/4.6 NUCLEOSIL 100-5CN with methanol-10 mmol·L⁻¹ ammonium acetate(with 0.1% formic acid)(85:15) as the mobile phase. **RESULTS** The linear calibration curves were obtained in the entire range (20~3 000 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) for acetyl-L-carnitine($r=0.999$), inter- and intra-batch RSDs and matrix effect were $<15\%$. The pharmacokinetic parameters of single dose(0.5, 1.0, 1.5 g) were: AUC_{0-t} (4 181.77 \pm 2 473.24) $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1}$, (6 099.54 \pm 1 939.41) $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1}$ and (8 064.71 \pm 3 575.99) $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1}$; C_{max} (611.42 \pm 270.76) $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, (830.92 \pm 233.19) $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ and (1 004.67 \pm 414.95) $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; $t_{1/2\alpha}$ (4.50 \pm 2.93)h, (6.25 \pm 3.65)h and (5.76 \pm 3.94)h. The main pharmacokinetic parameters of multiple doses were: AUC_{0-t} (13 728.82 \pm 6 493.04) $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1}$; C_{max} (1 129.00 \pm 374.05) $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; $t_{1/2\alpha}$ (8.57 \pm 4.42)h. **CONCLUSION** The method is proved to be accurate, sensitive and specific to study on the pharmacokinetics of acetyl-L-carnitine in healthy volunteers. There is a significant difference in the pharmacokinetic parameters after single and multiple doses of chloroacetyl acetyl-L-carnitine tablets, and there is no difference between the sexes, healthy subjects are well tolerated.

KEYWORDS: acetyl-L-carnitine; LC-MS/MS; pharmacokinetics; plasma

左卡尼汀(L-carnitine, LC)是 1905 年由 2 位俄国科学家在肌肉提取物中首次发现的^[1], 化学名为 L- β 羟基- γ -三甲氨基丁酸, 又名 L-肉碱, 是哺乳动物

能量代谢中必须的体内物质, 其主要功能是促进脂类代谢。乙酰 LC(acetyl-L-carnitine, ALC)是三甲基氨基酸酯, 是 LC 的衍生物。LC、ALC 为

基金项目: 重庆市社会事业与民生保障科技创新专项(cstc2017shmsA130043)

作者简介: 向荣凤, 女, 主管药师 Tel: (023)68765495 E-mail: feng-426@163.com

*通信作者: 陈勇川, 男, 硕士, 副主任药师 Tel:

(023)68754462 E-mail: zwmecy@163.com

内源性物质,主要通过肝脏和肾脏合成,也可通过食物摄取^[2]。与 LC 相比,ALC 能够更好地通过血脑屏障,促进能量产生,在阿尔兹海默病、痴呆、神经中毒等方面显现出神经保护作用^[3]。

氯乙酰左卡尼汀是 ALC 的盐酸盐,化学名称为 2-乙酰氧基-3-羧基-*N,N,N*-三甲基-1-丙铵盐酸盐。1993 年 Parke-Davis 公司在意大利获准生产 ALC,其适应证为周围神经系统神经末梢和神经支干的机械损伤和炎症等。因此,测定给药后 ALC 在体内的绝对浓度对于评价外源性给予 ALC 治疗相关疾病具有重要的意义。国外文献^[4]报道了 ALC 单次给药的药动学参数,而国内未见关于氯乙酰左卡尼汀片的药动学报道。本研究在参考文献^[4-11]的基础上建立了人血浆中 ALC 的 LC-MS/MS 测定方法,对氯乙酰左卡尼汀片在健康人体内的药动学特征进行研究,比较了单次给药和多次给药后 ALC 的药动学行为以及性别间体内药物代谢过程的差异,为进一步临床合理用药提供参考依据。

1 仪器与试剂

1.1 试剂与药品

氯乙酰左卡尼汀片(四川某制药有限公司,批号:100603;规格:每片 0.5 g);氯乙酰左卡尼汀对照品(辽宁海思科制药有限公司,批号:070801-dzp;含量:100.2%);米屈肼对照品(长春翔通药业有限公司,批号:20070929;含量 100%)。色谱纯甲醇(美国 Burdick Jackson 公司);色谱纯乙酸铵、甲酸(美国 FLUKA 公司);空白血浆(西南医院血库);水为超纯水。

1.2 仪器

Agilent 1100 Series 液相色谱仪(美国 Agilent 公司),AB QTRAP2000 质谱仪,Analyst1.4.2 数据采集和处理系统;Milli-Q plus 超纯水仪(美国 Millipore 公司);Biofuge primo R 型低温离心机(美国 Thermo 公司);KQ-400KDE 型高功率数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);GENIUS 3 型漩涡混匀器(德国 IKA 公司);994 型超低温冰箱(美国热电公司);BP211D 型赛多利斯电子天平(德国赛多利斯公司)。

2 方法与结果

2.1 受试者的选择

12 名健康志愿者,男女各半,年龄 19~44 岁,身高 152~180 cm,体质量 48~72 kg。试验前进行病史询问和体格检查,血压、心电图、肝功能、肾功能、血常规、尿常规检查均正常。受试者试

验前 2 周末服用过其他药物。受试者了解试验目的、方法、意义及可能发生的不良反应后签署知情同意书,试验方案经陆军军医大学第一附属医院伦理委员会批准。

2.2 实验方案

2.2.1 清洗期准备 12 名受试者在研究前 5 d 入住 I 期病房,从研究前 4 d 开始,每天按规定时间接受标准膳食(低卡尼汀饮食,不含肉类、豆类):早餐在 08:00,午餐在 12:00,晚餐在 18:00。每个研究阶段相对应的每日菜单相同,整个研究期间禁饮含酒精、咖啡因和黄嘌呤的饮料。

2.2.2 单次给药 受试者控制饮食 4 d 后,第 5 天按服药后采血时间点采空白血,然后于第 6 日随机进入 3 个给药阶段,在一阶段治疗结束后,开始 7 d 清洗期。期间,所有受试者在下次给药前 5 d 晚上进入病房,然后每天按规定时间接受标准膳食,经过 4 d 的低卡尼汀饮食控制后,按时间点给药,于服药前(0 h)和服药后 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 5.0, 6.0, 8.0, 10.0, 12.0, 16.0 和 24.0 h 抽取前臂静脉血 4.0 mL,收集于肝素化试管中,离心分离血浆,−30 °C 冷冻贮存至分析。完成后再进行下一个清洗、低卡尼汀饮食控制、给药、采血的周期,直到受试者完成所有的单次给药 0.5, 1.0, 1.5 g 共 3 个研究阶段。

2.2.3 多次给药 受试者单次给药结束后即进入多次给药研究,每次 0.5 g, q8h,连续给药 19 次进行试验。在第 17, 18, 19 次给药前和第 19 次给药后 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 5.0, 6.0, 8.0, 10.0, 12.0, 16.0 和 24 h 抽取前臂静脉血 4.0 mL,收集于肝素化试管中,离心分离血浆,−30 °C 冷冻贮存至分析。

2.3 色谱及质谱条件

2.3.1 色谱条件 色谱柱: EC 250/4.6 NUCLEOSIL 100-5CN(MACHERY-NAGE 公司生产);柱温: 35 °C;流动相: 甲醇-10 mmol·L⁻¹ 乙酸铵溶液(含 0.1%甲酸)(85 : 15);流速: 0.8 mL·min⁻¹分流;进样量: 10 μL。

2.3.2 质谱条件 电喷雾 ESI 源,正离子模式检测,多反应监测(MRM);定量分析离子对: ALC: m/z 204.3→145.2,米屈肼: m/z 147.2→58.2;离子源电压: 5 500 V;离子源温度: 300.0 °C;去簇电压(DP): 36.0/33.0 V;碰撞能(CE): 3.0/40.0 V。

2.4 空白血浆处理

取第三军医大学西南医院血站 6 名健康人血

浆各 100 mL, 送至笔者所在医院透析中心连续透析 24 h 作为空白血浆。由图 1 空白血浆色谱图可见, 连续透析 24 h 可以完全除去血浆中内源性的 ALC 及其他干扰物质, 符合本试验要求, 分装后于 $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

2.5 标准溶液的配制

精密称取氯乙酰左卡尼汀对照品 11.79 mg(相当于 ALC 10.00 mg), 置于 10 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 获得浓度为 $1.0\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的 ALC 储备液。精密称取米屈肼对照品 10.00 mg, 置于 10 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 获得浓度为 $1\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的米屈肼储备液, 再用甲醇稀释成米屈肼浓度为 $2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的内标溶液。

2.6 血浆样品预处理

取待测血浆 0.2 mL, 再加入 10 μL 米屈肼内标溶液($2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)涡旋混匀 0.5 min, 加入 0.6 mL 甲醇, 涡旋混匀 2 min, 离心 5 min($16\ 438\times g$), 10 μL 进样测定。

2.7 方法学考察

2.7.1 特异性 取未透析处理的血浆 200 μL , 除不加 ALC 标准溶液和内标溶液外, 其余按“2.6”项下方法操作, 进行 LC-MS/MS 分析, 获得未透析色谱图; 选用 6 个不同来源血浆经透析处理后取空白血浆 200 μL , 除不加 ALC 标准溶液和内标溶液外, 同法操作得空白血浆样品色谱图; 取受试者空白血浆, 按“2.6”项下方法操作, 获得受试者空白血浆色谱图; 将一定浓度的 ALC、米屈肼内标溶液加入空白血浆中, 同法操作得相应的色谱图; 受试者给药后的血浆样品, 同法操作得相应的色谱图; 典型 MRM 色谱图见图 1。结果表明 ALC、米屈肼保留时间分别为 5.18, 5.56 min, 空白血浆中的内源性物质不干扰 ALC、米屈肼的测定。

2.7.2 标准曲线和定量下限 空白血浆中加入 ALC 标准溶液($1.0\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)适量, 使之浓度为 $3\ 000\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 再依次用空白血浆稀释成浓度为 1 500, 750, 250, 125, 50, $20\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的标准血浆样品, 按“2.6”项下方法处理后进样分析; 以对照品浓度 C 为横坐标, 待测物面积(A_s)与内标峰面积(A_r)之比 $R(R=A_s/A_r)$ 为纵坐标, 用加权最小二乘法($W=1/C^2$)进行回归计算, 求得回归方程, 建立标准曲线。ALC 标准曲线方程为 $R=0.002\ 73C+0.007\ 54(r=0.999\ 1)$, 线性范围为 $20\sim 3\ 000\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

配制成相当于 ALC 血浆浓度为 $20\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的血浆样品, 对该浓度血样进行 5 样本分析, RSD 为 2.48%, 定量下限可达 $20\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

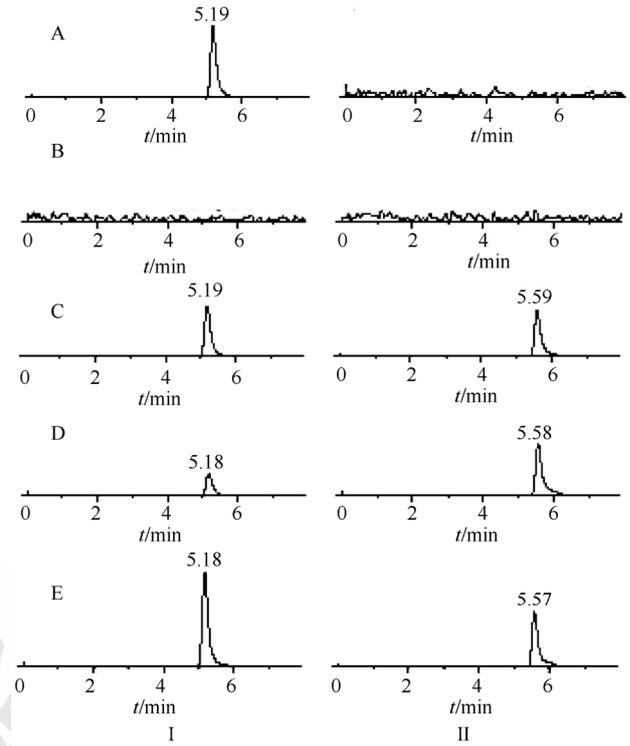


图 1 ALC(I)和米屈肼(II)典型的 MRM 图

A-未透析血浆; B-已透析空白血浆; C-受试者空白血浆图; D-空白血浆+ALC+内标; E-ALC 血样(0.5 g 单次给药后 3.5 h)

Fig. 1 Typical MRM chromatograms of ALC(I) and mildronate(II)

A-plasma samples were not dialyzed; B-plasma samples have been dialysis; C-blank plasma of the subjects; D-blank plasma spiked with ALC and IS; E-plasma sample collected at 3.5 h after a single dose of 0.5 g

2.7.3 基质效应 取 6 个不同来源空白血浆 200 μL , 经甲醇沉淀蛋白处理后取上清液作为溶剂配制与质控样品浓度一致的低、高浓度样品, 进样后所得峰面积为 A_{Matrix} ; 另甲醇作溶剂配制与其相同浓度的低、高浓度对照品进样后所得峰面积为 A_{Standard} , 按公式 $A_{\text{Matrix}}/A_{\text{Standard}}\times 100\%$ 计算所得基质效应因子 (matrix factor, MF)。ALC 基质效应为 81.10%~89.75%, 表明在本试验选择的 LC-MS/MS 条件下可忽略基质效应的影响, 结果见表 1。

2.7.4 精密度与准确度 按“2.7.2”项下方法配制 ALC 低、中、高 3 个浓度 QC 样品, 按“2.6”项下方法处理后每一浓度进行 5 样本分析, 根据当天的标准曲线求得 QC 样品浓度, 并计算本法的

日内精密性；同法连续测定 3 d，根据各自当天的标准曲线求得 QC 样品浓度，并计算本法的日间精密性。ALC 的日内和日间精密性 RSD 均 < 4.69%，RE 在 -13.33%~1.96% 之间，均符合生物样品分析的要求，结果见表 1。

2.7.5 提取回收率 按“2.7.2”项下方法配制 ALC 低、中、高 3 个浓度 QC 样品和水溶液样品，按样品处理方法处理后每一浓度进行 5 样本分析。根据血浆中 ALC 的峰面积与相同浓度水溶液样品测得的 ALC 的峰面积之比计算其提取回收率，符合生物样品分析的要求，结果见表 1。

2.7.6 稳定性考察 按“2.7.5”项下方法配制 ALC 低、中、高 3 个浓度(50, 250 和 2 400 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) 的 QC 样品，每一浓度进行 3 样本分析，考察 ALC 血样室温放置 3 h，经历 3 次冷冻-解冻循环，血样 -30 $^{\circ}\text{C}$ 冷冻放置 28 d 的稳定性，上述保存条件下测得浓度的 RE 在 -9.67%~3.44% 之间，RSD 均 < 6.3%，表明在该条件下血样的稳定性良好；另考察了血浆样品处理后室温放置 6 h 稳定性，试验数据得出处理后室温放置 4 h 时稳定，RE 在

-13.33%~ -6.80% 之间，RSD 均 < 5.48%，处理后室温放置 6 h 时不稳定，RE 在 -25.83%~ -21.67% 之间，因此在样品处理过程中 1 次只处理 1 名受试者的血样，并立即进样分析，保证血样处理后 4 h 内进样结束。

2.8 药动学结果

2.8.1 单次给药后药动学研究 应用本试验建立的方法对 12 名受试者单次给药 3 种剂量氯乙酰左卡尼汀片后体内 ALC 血药浓度进行测定，平均血药浓度-时间曲线见图 2。采用 DAS 3.1.0 程序对单次给药后 ALC 的血药浓度-时间数据进行统计，计算药动学参数，结果见表 2。

2.8.2 多次给药后药动学研究 应用本试验建立的方法对 12 名受试者多次给药氯乙酰左卡尼汀 0.5 g 后体内 ALC 血药浓度进行测定，平均血药浓度-时间曲线见图 2，采用 DAS3.1.0 程序对多次给药后 ALC 的血药浓度-时间数据进行统计，计算药动学参数，结果见表 3。多次给药与单次给药氯乙酰左卡尼汀片后(0.5 g)主要的药动学参数具有显著性差异，蓄积因子(R)为 2.03。

表 1 人血浆中 ALC 的准确度、精密性、回收率及基质效应的试验结果($\bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Accuracy and precision, recovery and matrix effect for determination of ALC in human plasma ($\bar{x} \pm s$)

理论浓度/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	日内精密性($n=5$)		日间精密性($n=15$)		提取回收率($n=5$)		基质效应($n=5$)	
	RSD/%	RE/%	RSD/%	RE/%	均值/%	RSD/%	均值/%	RSD/%
50	2.32	1.96	4.64	1.64	98.13 \pm 2.31	2.35	89.75 \pm 0.73	0.81
250	2.88	0.00	2.64	1.81	94.49 \pm 1.28	1.32	-	-
2 400	2.23	-13.33	4.69	-7.36	88.11 \pm 0.98	1.11	81.10 \pm 0.45	0.55

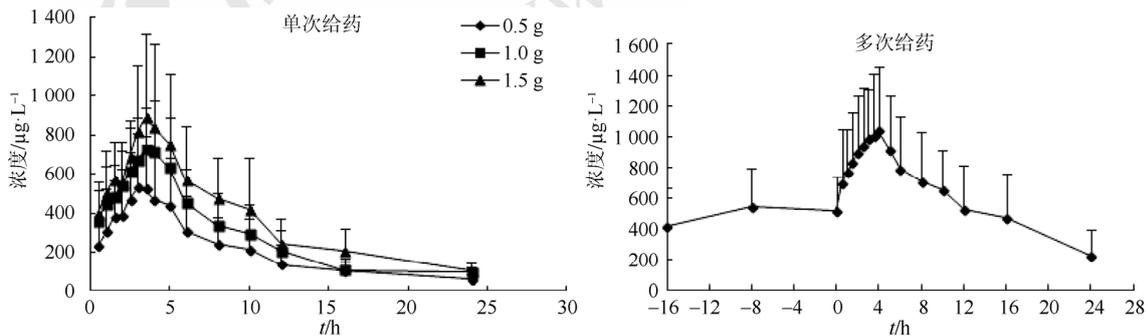


图 2 口服氯乙酰左卡尼汀后平均药-时曲线图($n=12$)

Fig. 2 Mean plasma concentration-time curve of ALC after i.g. administration($n=12$)

表 2 受试者单次给药后主要药动学参数($\bar{x} \pm s$, $n=12$)

Tab. 2 The main pharmacokinetic parameters of ALC in human volunteers after single administrations($\bar{x} \pm s$, $n=12$)

组别	$\text{AUC}_{0-t}/\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1}$	$\text{AUC}_{0-\infty}/\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1}$	$\text{MRT}_{0-t}/\text{h}$	$\text{MRT}_{0-\infty}/\text{h}$	$t_{1/2z}/\text{h}$	T_{max}/h	$\text{Cl}_z/\text{L}\cdot\text{h}^{-1}$	$C_{\text{max}}/\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$
0.5 g	4 181.77 \pm 2 473.24	5 061.20 \pm 3 025.34	5.98 \pm 1.84	8.78 \pm 4.94	4.50 \pm 2.93	3.21 \pm 0.94	175.55 \pm 181.48	611.42 \pm 270.76
1.0 g	6 099.54 \pm 1 939.41	6 951.62 \pm 1 986.44	6.51 \pm 1.28	9.57 \pm 3.81	6.25 \pm 3.65	3.5 \pm 0.80	157.23 \pm 55.30	830.92 \pm 233.19
1.5 g	8 064.71 \pm 3 575.99	8 993.56 \pm 4 074.70	7.02 \pm 1.55	9.31 \pm 3.48	5.76 \pm 3.94	3.00 \pm 1.02	225.18 \pm 158.42	1 004.67 \pm 414.95

表3 受试者多次和单次给药后的主要药动学参数($\bar{x} \pm s$, $n=12$)

Tab. 3 The main pharmacokinetic parameters of ALC in human volunteers after single and multiple administrations($\bar{x} \pm s$, $n=12$)

组别	Cav/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	AUCss/ $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1}$	C _{max} / $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	AUC _{0-t} / $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1}$	MRT _{0-t} /h	t _{1/2z} /h	VRT _{0-t} /h ²	Cl _r /L·h ⁻¹
多次给药	846.35±324.33	6 770.82±2 594.66	1 129.00±374.05	13 728.82±6 493.04	8.62±1.70	8.57±4.42	34.02±10.99	38.26±22.81
单次给药 (0.5 g)	-	-	611.42±270.76	4 181.77±2473.74	5.98±1.84	4.50±2.93	16.82±13.37	175.55±181.48
P值	-	-	0.001	0.002	0.003	0.016	0.016	0.024

3 讨论

本实验建立的 LC-MS/MS 方法测定人血浆中 ALC 的血药浓度, 采用甲醇直接沉淀蛋白对血浆进行处理, 对方法学进行确认, 并将本法用于氯乙酰左卡尼汀片体内药动学研究。试验过程中采用透析后的血浆作为空白血浆, 与样本血浆中的基质有一定的差异, 有可能不能准确地反映在血样测定过程中的真实情况。文献^[9]采用空白血浆未经透析处理, 直接在空白血浆中定量加入对照品。试验过程中亦采用此法进行了预试, 但标准曲线的线性较难控制。本试验采用透析后的血浆进行试验对于给药后体内药物的绝对浓度的测定无影响。而对于内源性物质的体内的浓度测定方法还有待进一步的研究和探讨。

本研究提供的药动学参数均为血药浓度的绝对值进行统计, 计算时均按照每名受试者时点浓度减去各自 0 时基础浓度值后再进行参数计算。给药后 ALC 的血药浓度本底的扣除: 因 ALC 属于内源性物质, 可以内部合成, 也可通过食物中 LC 转化而来。另据文献报道^[10-11]内源性 LC 的血浆浓度保持稳定, 没有时间节律的变化, 故通过控制受试者低卡内汀饮食 4 d 后, 以第 1 次服药前空腹 0 时 ALC 浓度作为本底数据。

受试者单次给药 0.5 g 后的药动学参数与文献报道^[4]一致。单次及多次给药的药动学研究结果表明, 性别间体内药物代谢过程无明显差异; 氯乙酰左卡尼汀片 0.5 g tid, 连续 19 次给药后的 C_{max}、t_{1/2z} 和 AUC 较单次者具有显著性差异, 多次给药后平均积蓄因子(R)>1, 提示该用药方案给药后 ALC 在体内有轻微蓄积。但试验过程中未引起不良事件的明显增多与加重, 提示药物的安全性良好。

REFERENCES

- [1] KERNER J, HOPPE C. Generic disorders of carnitine metabolism and their nutritional management [J]. Annu Rev Nutr, 1998(18): 179-206.
- [2] DONG M R, XIAO F, WU C Y, et al. Pharmacokinetics of propionyl levocarnitine hydro-chloride in healthy human volunteers [J]. Anhui Med Pharm J(安徽医药), 2013, 17(3): 376-380.
- [3] YI Z M, DONG S J, ZHAI S D, et al. Evidence and evaluation of clinical application of L-carnitine and its derivatives [J]. Chin J Drug Appl Monitor(中国药物应用与监测), 2013, 10(2): 71-74.
- [4] KWON O S, CHUNG Y B. HPLC determination and pharmacokinetics of endogenous acetyl-L-carnitine (ALC) in human volunteers orally administered a single dose of ALC [J]. Arch Pharm Res, 2004, 27(6): 676-681.
- [5] SUN Y X, LU C X, TANG Q L, et al. Simultaneous analysis of L-carnitine, acetyl-L-carnitine and propionyl-L-carnitine in human plasma by HPLC [J]. Chin Pharm J(中国药理学杂志), 2007, 42(18): 1425-1428.
- [6] AO Y, LI P, XU Y J, et al. Content of L-carnitine and its acylates in plasma of patients with diabetes and diabetes complications [J]. Chin Pharmacol Bull(中国药理学通报), 2014, 30(7): 952-955.
- [7] CAO Y, MA L, SUN Y X, et al. Study on the method for determination of human plasma and urine L-carnitine by precolumn derivatization HPLC [J]. Chin J Hosp Pharm(中国医院药学杂志), 2008, 28(15): 1265-1268.
- [8] ZHANG W, SU D H, ZHONG H Y, et al. High performance liquid chromatography-mass spectrometry method for determination of pharmacokinetics and bioavailability [J]. J Qiqihar Univ Med(齐齐哈尔医学院学报), 2013, 34(6): 787-789.
- [9] CHENG G, ZHU R H, ZHAO R K, et al. Simultaneous HPLC-MS/ESI determination of mildronate and levocarnitine in human plasma [J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2010, 30(4): 609-614.
- [10] LONGO A, BRUNO G, CURTI S, et al. Determination of L-carnitine, acetyl-L-carnitine and propionyl-L-carnitine in human plasma by high-performance liquid chromatography after pre-column derivatization with L-aminoanthracene [J]. J Chromatogr B, 1996(686): 129-139.
- [11] JING F B, QU H J, ZHU L, et al. Study on plasma concentrations of L-carnitine and its acyl esters in healthy volunteers [J]. China Pharm(中国药房), 2010, 21(42): 3965-3967.

收稿日期: 2018-03-15

(本文责编: 曹粤锋)