

液相串联质谱评价多奈哌齐双层微球的体内释药行为

颜携国, 曾 哲, 刘代春

(深圳善康医药科技股份有限公司, 广东 深圳 518118)

摘 要: 采用液相串联质谱方法开发并验证了一种用于测定大鼠血浆中多奈哌齐的方法, 并将方法应用于多奈哌齐双层微球在大鼠体内的药代动力学评价。使用氯苯那敏作为内标, 用乙腈沉淀蛋白质后, 在 ZORBAX Eclipse Plus C₁₈ 上分离目标分析物, 按体积比 40 : 60, 流动相采用 0.1% 甲酸溶液与乙腈进行等度洗脱。质谱分析采用电喷雾离子源-正离子模式联合多反应监测分析, 分别监测多奈哌齐和氯苯那敏的离子对 m/z 380.0→243.0 和 m/z 275.0→230.0 的转变。多奈哌齐的浓度范围为 3.75 ~ 120.00 ng/mL, r^2 大于 0.999。准确度误差和相对标准偏差均低于 15%。基质效应变异系数分别为 3.15%、2.96% 和 1.36%。不同条件下多奈哌齐稳定变异系数在 0.27% ~ 1.61% 之间。多奈哌齐双层微球在大鼠体内的释药行为, 吸收迅速, 消除过程缓慢, 表现出良好的药物缓释特性。开发了新的液相串联质谱方法, 这种方法具有高特异性和灵敏度, 并且快速可靠。为多奈哌齐双层微球的体内释药行为提供有效的评价工具, 为多奈哌齐双层微球的开发和临床应用提供了重要的科学依据。

关键词: LC-MS/MS; 多奈哌齐; 氯苯那敏; 药代动力学; 双层微球

中图分类号: TQ914.1

文献标志码: A

文章编号: 1001-9677(2024)15-0091-06

Evaluation of Release of Donepezil Bilayer Microspheres in Vivo by LC-MSMS

YAN Xie-guo, ZENG Zhe, LIU Dai-chun

(Shenzhen Sciencare Pharmaceutical Co., Ltd., Guangdong Shenzhen 518118, China)

Abstract: A method for determining donepezil in rat plasma was developed and validated using liquid tandem mass spectrometry, and the process was applied to evaluate the drug release behavior of donepezil bilayer microspheres in rats. Chlorpheniramine was used as the internal standard, and the protein was precipitated with acetonitrile. The target analytes were separated on ZORBAX Eclipse Plus C₁₈, and 0.1% formic acid solution and acetonitrile were used as the mobile phase in a volume ratio of 40 : 60 for isocratic elution. Mass spectrometry analysis used electrospray ion source-positive ion mode and multiple reaction monitoring mode to monitor the transition of ion pairs m/z 380.0→243.0 and m/z 275.0→230.0 for donepezil and chlorpheniramine respectively. The concentration range of donepezil was 3.75 ~ 120.00 ng/mL, and the $r^2 > 0.999$. The accuracy error and relative standard deviation were $< 15\%$. The matrix effect variation coefficients were 3.15%, 2.96% and 1.36%, respectively. The stable coefficient of variation of donepezil under different conditions was between 0.27% and 1.61%. The drug release of donepezil bilayer microspheres in rats, with rapid absorption and elimination process, showed good sustained release characteristics. A new liquid-phase tandem mass spectrometry method was developed, distinguished by its high specificity, sensitivity, rapid detection and reliable results. This method offered an effective means of assessing the drug release behavior of donepezil bilayer microspheres in vivo, serving as a crucial scientific foundation for the development and clinical use of donepezil microspheres.

Key words: LC-MS/MS; donepezil; chlorpheniramine; pharmacokinetics; bilayer microsphere

长期的神经退行性疾病——阿尔茨海默症(AD)的患者普遍存在在认知水平逐步降低, 并伴随行动功能的障碍^[1]。AD 的发病率在全球人口老龄化背景下加剧, 这已经演变为一个严峻的公共健康挑战^[2-3]。尽管医学领域对 AD 的研究已有数十年的历史, 但至今还没有找到彻底治愈它的方法, 所有的治疗策略都旨在延缓病情的发展或提高患者的生活品质。药物治疗是主要手段, 胆碱酯酶抑制剂多奈哌齐是最常被使用的药物, 具有良

好的抗胆碱作用, 所以临床上在各种原因引起的中枢性或外周性神经炎中广泛应用。多奈哌齐改善患者的认知功能是通过提高乙酰胆碱的在酶环境中的活性, 从而增加突触间隙中乙酰胆碱的浓度^[4]。但是, 多奈哌齐药物在口服时的依从性并不理想, 导致患者需要经常服药, 并且经常伴随胃肠道的副作用^[5], 这对治疗的连续性和效果产生了不利影响。因此, 开发安全有效且用药顺应性好的阿尔茨海默症新药显得尤为重要^[6]。

第一作者: 颜携国(1983-), 制药工程师, 主要研究方向为新药研究与产业化。

通讯作者: 颜携国。

本课题以制备具有缓释性和生物相容性的新型多奈哌齐为目的,设计开发了一种新颖且结构可控的多奈哌齐双层微球。利用微球技术实现药物的缓释效果,大大降低给药频次,增强患者的药物依从性。多奈哌齐双层微球独特的结构使其能有效地控制血药浓度,确保了药物在体内稳定地释放,从而减少了不良药物反应的可能性,提高患者的生活品质和减少家庭经济压力上展现出明显的优越性。

1 实验

1.1 材料

聚乳酸(PLA, MW 50000)、聚乳酸(PLA, MW 30000),自制;聚乙烯醇(PVA, MW 80~124 kDa),江西阿尔法高科药业有限公司;二氯甲烷和乙酸乙酯,南京化学试剂股份有限公司;盐酸多奈哌齐对照品,中国食品药品检定研究院;马来酸氯苯那敏对照品,中国食品药品检定研究院;乙腈和甲酸购自Merck;其他化学试剂均为分析级。

1.2 仪器

Agilent Technologies 1290 Infinity 液相色谱仪液质联用色谱、6470 Triple Quad LC/MS, MassHunter V10.0 工作站,美国安捷伦公司;ME105Du 电子天平,德国梅特勒托利多公司;TGL-16 高速冷冻离心机,湖南湘立科学仪器有限公司;DW-25L262 海尔立式超低温保存箱,青岛海尔特种仪器有限公司。

1.3 动物

由广东省医学实验动物中心提供,SPF 级别的 Sprague-Dawley (SD) 大鼠(180±20)g。动物在给药前 3 d,在(25±1)℃和(75%±5%)的相对湿度下,自然光暗循环适应,可自由获得食物和水(动物 SCXK(粤)2022-002)。

1.4 多奈哌齐双层微球的制备

多奈哌齐(无盐物)和聚乳酸(MW 30000)溶于二氯甲烷溶液中(浓度 15%),搅拌使其溶解,得到内油相。将适量纯化水加入内油相,混合 30 s 后脉冲超声乳化 40 s,形成乳白色的 W₂/O₁ 的初乳。将聚乳酸(MW 50000)在二氯甲烷溶解(浓度 25%),得到外油相;将内油相加入外油相中,混合 30 s,在冰冷下超声 20 s,形成乳白色的 W₂/O₁/O₂ 复乳;将复乳置于 4~8℃ 条件下 1 h。配制 0.5% 聚乙烯醇和 5% 氯化钠混合溶液,作为外水相;将 W₂/O₁/O₂ 复乳注入外水相,连续搅拌,24 h 后过滤收集微球,真空干燥,筛分(60~150 μm),得到多奈哌齐复乳微球。

1.5 形状外观

采用日立的 TM 4000 电子显微镜观察显微外观。精密称取适量经过处理的样品,平铺在 0.5 cm×0.5 cm 的双面导电胶带中间,厚度适中。对样品室抽真空,调节 Chg-up Red. (L) 模式,在 15 kV 激发电压下慢速进行观察。

1.6 粒径考察

将多奈哌齐双层微球分散在纯化水中。分散介质折射率设置为 1.330,折射率分别为实部为 1.50 和虚部为 0.1。选择通用粒径模型,球形颗粒形状。样品和背景的测量时间设置为 8 s。光遮蔽范围限制设置为 5%~15%。分散循环速度 1 000 rpm,超声时间 300 s,样本 3 个循环测量周期,延迟时间为零。

1.7 载药量和包封率

精密称取粉末 20 mg,置于 100 mL 量瓶中,加 5 mL 二甲

基亚砷使超声 30 min 使其溶解,再加入缓冲液:乙腈:高氯酸=650:350:1 的流动相(缓冲液:1-萘烷磺酸钠 2.5 g 溶于 650 mL 纯化水)定容,取续滤液进高效液相色谱。十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂(Symmetry C₁₈ 5 μm, 4.6×150 mm);柱温为 30℃,流速:1.3 mL/min,进样体积:10 μL,检测波长:271 nm。

$$\text{载药量} = \frac{\text{样品含药重量}}{\text{样品重量}} \times 100\%$$

$$\text{包封率} = \frac{\text{样品含药重量}}{\text{理论含药重量}} \times 100\%$$

1.8 生物分析方法

1.8.1 质谱系统

Agilent 1290 高效液相色谱仪和电喷雾(ESI)离子源。色谱分离采用 Agilent ZORBAX Eclipse Plus C₁₈ 色谱柱(3.0×50 mm, 1.8 μm),流动相是 0.1% 甲酸溶液:乙腈=40:60,流速为 0.2 mL/min,柱温 40℃,进样量为 4 μL。质谱条件:电喷雾离子源,毛细管电压 4 000 V,干燥气温度 300℃,干燥气流速 5 L/min,鞘气温度 250℃,鞘气流速 12 L/min,雾化器压力 45 psi,采用 MRM 模式,在正离子下分别扫描离子对 m/z 380.0→243.0(多奈哌齐)、m/z 275.0→230.0(氯苯那敏,内标)。

1.8.2 内标溶液配制

取马来酸氯苯那敏约 10 mg,精密称定,置于量瓶中,加入稀释液(乙腈 60 mL 和 0.1% 甲酸水 40 mL)溶解并定容,使氯苯那敏浓度为 1.0 mg/mL,作为内标母液。精密量取内标母液,用稀释液配制含氯苯那敏浓度为 30 ng/mL 的内标溶液。

1.8.3 储备液与标准工作溶液的配制

取盐酸多奈哌齐对照品(相当于多奈哌齐 10 mg),配制浓度为 2 400 ng/mL 的多奈哌齐储备溶液,用稀释液稀释成浓度为 1 200 ng/mL、600 ng/mL、300 ng/mL、150 ng/mL、75 ng/mL、37.5 ng/mL 的标准工作溶液。

1.8.4 质控溶液的配制

采用“1.8.3”的配制方法,得到浓度为 2 400 ng/mL 的多奈哌齐质控储备溶液,再用稀释液配制浓度为 900 ng/mL、300 ng/mL、75 ng/mL 和 37.5 ng/mL 的质控工作溶液。分别精密量取适量空白血浆,加入质控工作溶液,涡旋混合,配制浓度为 90 ng/mL(HOQ)、30 ng/mL(MOQ)、7.5 ng/mL(LOQ)、3.75 ng/mL(LLOQ)的质控溶液。

1.8.5 血浆样品处理

精密移取血浆样品 50 μL 至离心管,加入乙腈 400 μL,涡旋 3 min,4℃ 下以 14 000 g 离心 10 min,取上清液 100 μL,加入马来酸氯苯那敏溶液 20 μL,混匀后进样分析。

1.9 生物分析方法验证^[7-9]

1.9.1 选择性

取 6 份不同批次的空白血浆,按“1.8.5”方法处理后,得到空白样品。分别按“1.8.4”配制 LLOQ 质控溶液,再按血浆样品处理,取上清液进行液质联用分析。

1.9.2 标准曲线

分别精密量取适量空白血浆,加入多奈哌齐标准工作溶液,涡旋混合,配制浓度为 120 ng/mL、60 ng/mL、30 ng/mL、15 ng/mL、7.5 ng/mL、3.75 ng/mL 的标准曲线(S1~S6)溶液。经过“1.8.5”处理后分析。以多奈哌齐的浓度为横坐标,多奈哌齐响应值与氯苯那敏响应值的比值为纵坐标,线性拟合时忽略原点,权重为 1/X²,记录线性方程和线性系数。

1.9.3 最低定量限

配制 6 份标准曲线最低浓度溶液, 按“1.8.5”处理后取上清液即可进行 LC-MS/MS 分析。以变异系数(CV)不大于 20%, 准确度介于 80% ~ 120% 且信噪比 ≥ 10 的作为最低定量限。

1.9.4 精密度

浓度为 HOQ、MOQ、LOQ 的质控溶液各 5 份, 并分别按血浆样品处理方法处理后取上清液即可, 计算日内精密度和准确度。每份样品连续进样 3 d, 计算日间精密度和准确度。要求 CV 不大于 15%。

1.9.5 准确度

准确度(实际值/真实值 $\times 100\%$)要求介于 85% ~ 115% 之间, 最低定量限(LLOQ)要求符合 80% ~ 120% 范围。

1.9.6 基质效应

取“1.8.3”中浓度为 1 200 ng/mL、150 ng/mL、37.5 ng/mL 的标准工作溶液, 分别 3 批空白基质, 配制浓度分别为 120 ng/mL、15 ng/mL、3.75 ng/mL 的标准血浆溶液, 每个浓度以不同批次的基质各配制 3 份。和稀释液配制浓度分别为 120 ng/mL、15 ng/mL、3.75 ng/mL 的纯溶液各 1 份。所有样品按“1.8.5”处理后取上清液进行 LC-MS/MS 分析。内标归一化的基质因子 CV 不大于 15%。

1.9.7 残留

取标准曲线项下的最大浓度溶液进样后, 进样一针空白样品, 记录所有溶液的多奈哌齐与氯苯那敏的响应值。残留应不超过定量下限的 20%, 并且不超过内标的 5%。

1.9.8 稀释可靠性

按质控溶液配置方法, 制备 6 份浓度为 900 ng/mL 溶液, 用空白基质稀释 10 倍, 按“1.8.5”处理后取上清液即可进行 LC-MS/MS 分析。记录样品溶液中多奈哌齐的响应值, 计算精密度和准确度。

1.9.9 稳定性

制备 6 份平行样品, 分别在记录多奈哌齐质控样品在常温放置 4 h, 反复冻融 3 次以及 -20 °C 保存(1、60 天)等条件下的稳定性。

1.10 药代动力学研究

6 周龄的 16 只 SD 大鼠分为两组, 随机分配到笼中, 雌雄各半。将多奈哌齐双层微球分散在助悬剂皮下注射, 在伤口处用 75% 乙醇擦拭。纳曲酮双层微球的给药剂量, 第一组 25 mg/kg、第二组 50 mg/kg。按时间计划从每组大鼠(n=8)颈静脉采血, 收集的血样在 3 000 rpm 下离心 5 min, 取上清液, 以 -80 °C 保存。

1.11 统计分析

将各时间点血药浓度数据输入 PKSolver(V2.0 版本), 选择非房室模型计算动力学参数 $t_{1/2}$ 、 T_{max} 、 C_{max} 、 AUC_{0-t} 、 AUC_{INF} 、 MRT_{last} 、 V_z 和 CI, 药时曲线下面积用梯形法求出^[10-11]。

2 结果与讨论

2.1 选择性

在六批空白血浆样品的色谱图中, 未观察到多奈哌齐和氯苯那敏的保留时间处有干扰峰, 如图 1 ~ 图 3 中空白血浆样品的色谱图所示。六批空白基质样品中多奈哌齐响应值分别是相应的定量下限响应值的 2.16%、1.60%、2.14%、1.30%、1.29%、2.44%, 是马来酸氯苯那敏响应值的 0.09%、

0.02%、0.02%、0.02%、0.02%。

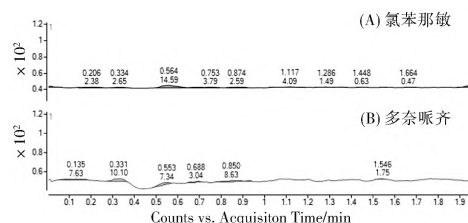


图 1 空白血浆的 LC-MS/MS 分析图

Fig. 1 LC-MS/MS analysis of blank plasma

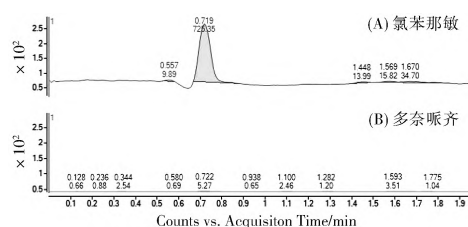


图 2 含内标的 LC-MS/MS 分析图

Fig. 2 LC-MS/MS analysis with internal standard

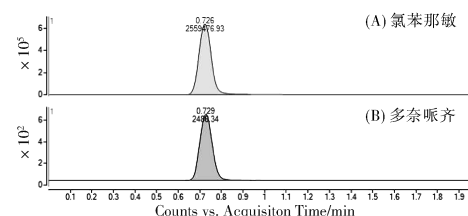


图 3 LLOQ 的相关 LC-MS/MS 分析图

Fig. 3 Correlation LC-MS/MS analysis plot of LLOQ

2.2 标准曲线与定量下限

表 1 标准曲线下不同浓度结果

Table 1 Results of different concentrations under the standard curve

溶液/ (ng/mL)	标示浓度/ (ng/mL)	测得浓度/ (ng/mL)	测得 准确度/%
S1	3.75	3.81	101.64
S2	7.50	7.34	97.82
S3	15.00	14.61	97.40
S4	30.00	29.94	99.80
S5	60.00	60.32	100.53
S6	120.00	123.36	102.80

表 2 最低定量限的准确度和精密度结果

Table 2 Accuracy and precision results for the lowest limit of quantification

加入量/ (ng/mL)	检出量/ (ng/mL)	准确 度/%	平均 值/%	SD	CV/%
3.75	3.31	88.29	89.95	0.03	3.89
	3.58	95.58			
	3.33	88.88			
	3.28	87.53			
	3.25	86.57			
	3.48	92.83			

线性范围在 3.75 ~ 120.00 ng/mL, 定量下限为 3.75 ng/mL, 回归直线 $y = 0.031272x + 2.107000E-004$, 线性系数 (r^2) 为 0.9993。定量下限的平均准确度是 89.95%, 变异系数为 3.89%。其中, 定量下限的回算浓度为标示值的 101.64%, 标准曲线中各点的回算浓度分别为标示值的 97.82%、97.40%、99.80%、100.53%、102.80%。结果见表 1、表 2。

2.3 精密度和准确度

以空白大鼠血浆为基质, 分别制备浓度为 7.50 ng/mL、30.00 ng/mL、90.00 ng/mL 的质控样品, 考察精密度。结果见表 3、4。其中, 多奈哌齐的批内精密度在低中高浓度分别为 1.92% ~ 2.24%、1.41% ~ 3.14%、0.97% ~ 2.05%, 批间精密度在 1.51% ~ 2.06% 之间。多奈哌齐的平均准确度在 88.28% ~ 97.30% 之间。

表 3 分析方法的精密度 (n=5)
Table 3 Precision of analytical methods (n=5)

样品		Day 1	Day 2	Day 3	批间精密度		
					平均值	SD	CV/%
7.50 ng/mL 批内精密度	平均值	6.62	6.66	6.64			
	SD	0.15	0.16	0.13	6.64	0.14	2.06
	CV/%	2.24	2.43	1.92			
30.00 ng/mL 批内精密度	平均值	28.21	28.34	28.29			
	SD	0.40	0.47	0.89	28.22	0.55	1.95
	CV/%	1.41	1.66	3.14			
90.00 ng/mL 批内精密度	平均值	87.57	87.44	88.07			
	SD	1.40	1.79	0.85	87.70	1.33	1.51
	CV/%	1.60	2.05	0.97			

表 4 分析方法的准确度 (n=5)
Table 4 Accuracy of analytical methods (n=5)

序号	准确度/%		
	7.50 ng/mL	30.00 ng/mL	90.00 ng/mL
Run1	89.14	94.27	98.66
Run2	90.13	92.81	99.09
Run3	86.02	94.76	96.52
Run4	86.31	95.74	96.93
Run5	89.79	92.59	95.32
平均值	88.28	94.03	97.30
SD	1.96	1.33	1.56
CV/%	2.22	1.41	1.60

2.4 基质效应

表 5 基质效应结果
Table 5 Matrix effect results

QC/ (ng/mL)	序号	响应归一化		比值	平均值/%	SD	CV/%
		血浆	流动相				
QC- 3.75	1	0.19	0.29	0.66			
	2	0.19	0.29	0.65	0.67	0.02	3.15
	3	0.20	0.29	0.69			
QC- 15.00	1	0.19	0.32	0.60			
	2	0.19	0.32	0.60	0.59	0.02	2.96
	3	0.17	0.30	0.57			
QC- 120.00	1	0.17	0.28	0.60			
	2	0.17	0.28	0.61	0.60	0.01	1.36
	3	0.17	0.28	0.60			

在多奈哌齐的在 3.75 ng/mL、15.00 ng/mL、120.00 ng/mL 三个浓度下, 经内标归一化的基质因子的变异系数分别为 3.15%、2.96%、1.36%。结果也示于表 5 中。

2.5 残留

高浓度样品检测后, 空白样品中多奈哌齐保留时间的平均响应值是 LLOQ 的 2.52%, 平均响应值是氯苯那敏的 0.04%。

2.6 稀释可靠性

多奈哌齐 900 ng/mL 浓度样品经 10 倍体积稀释后, 测定其精密度和平均准确度分别为 1.25% 和 99.60%, 符合法规要求。结果见表 6。

表 6 稀释可靠性的结果
Table 6 Results of dilution reliability

理论浓度/ (ng/mL)	稀释后 浓度/ (ng/mL)	平均浓度/ (ng/mL)	SD	精密度 CV/%	稀释后准 确度/%	平均准 确度/%
		87.40				97.11
		89.81				99.79
900	90.12	89.63	1.12	1.25	100.13	99.60
	90.49				100.54	
	90.10				100.11	
	89.93				99.92	

2.7 稳定性

如表 7 所示, 以大鼠血浆为生物基质的多奈哌齐质控样品常温放置 4 h, 反复冻融 3 次以及 -20 °C 60 d 等条件稳定性良好。

表 7 溶液稳定性结果
Table 7 Solution stability results

条件		浓度/(ng/mL)			准确度/%		
		7.5 ng/mL	30.0 ng/mL	90.0 ng/mL	7.5 ng/mL	30.0 ng/mL	90.0 ng/mL
4 h at 室温	平均值	7.22	29.94	88.78	96.20	99.79	98.64
	SD	0.04	0.13	1.43	0.52	0.43	1.58
	CV/%	0.55	0.43	1.61	0.55	0.43	1.61
1 day at -20 °C	平均值	7.22	29.94	88.80	96.22	99.79	98.66
	SD	0.03	0.13	1.43	0.40	0.44	1.59
	CV/%	0.42	0.44	1.61	0.42	0.44	1.61
60 days at -20 °C	平均值	7.22	29.94	88.67	96.22	99.79	98.52
	SD	0.03	0.13	1.41	0.40	0.44	1.56
	CV/%	0.42	0.44	1.59	0.42	0.44	1.59
冻融循环 3 次	平均值	7.20	29.94	88.25	95.98	99.79	98.06
	SD	0.02	0.13	1.42	0.26	0.44	1.57
	CV/%	0.27	0.44	1.60	0.27	0.44	1.60

2.8 物理性质

实验结果可知, 多奈哌齐双层微球的粒径均匀, 无黏连。图 4B 可见, 微球内部有少量空洞, 外围包裹了一层 (3.40 ± 0.41) μm 的聚乳酸薄膜, 基于该包衣膜实现以“骨架+膜控”的双控体系。多奈哌齐双层微球的载药量为 (30.4% ± 1.2%), 包封率在 (84.2% ± 2.5%), 过筛后的微球粒径范围在 112 μm。

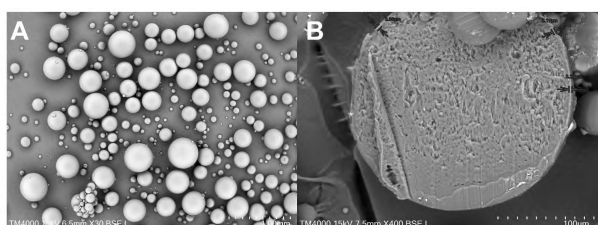


图 4 多奈哌齐双层微球外观

Fig. 4 Appearance of donepezil bilayer microspheres

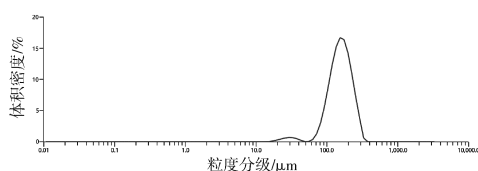


图 5 过筛后微球的粒径分布图

Fig. 5 Particle size distribution of microspheres after sieving

2.9 体内释药行为研究结果

从图 6 可见, 多奈哌齐双层微球给药后, 在大鼠体内的血药浓度小幅度快速爬升, 然后回落, 又在 1 d 内迅速重新释放, 第 10 d 达到峰值, 随后下降进入消退期。多奈哌齐双层微球在体内实现长效释放, 给药前期没有出现释放滞后的现象, 并且能够平稳释放一个月以上。数据经过 PKSolver 软件处理得到(表 8), 药代动力学参数显示微球 1 组 (25 mg/kg) 和微球 2 组 (50 mg/kg) 的 C_{max} 分别为 19.36 ng/mL 和 33.92 ng/mL, AUC_{0-39d} 分别为 224.19 ng/mL · d 和 402.87 ng/mL · d, 剂量呈

线性关系。

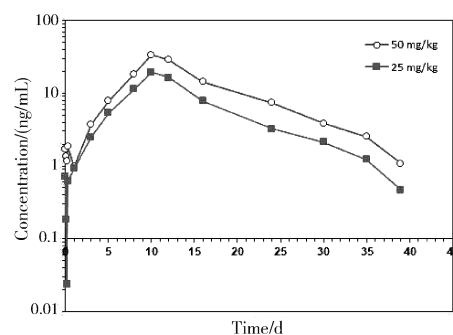


图 6 多奈哌齐药时曲线图

Fig. 6 Donepezil drug-time profile

表 8 多奈哌齐双层微球的药代动力学数据

Table 8 Pharmacokinetic data of donepezil bilayer microspheres

参数	微球 1 组	微球 2 组
$t_{1/2}/d$	5.84	6.23
T_{max}/d	10.00	10.00
$C_{max}/(ng/mL)$	19.36	33.92
$AUC_{0-39d}/(ng/mL \cdot d)$	224.19	402.87
$AUC_{INF}/(ng/mL \cdot d)$	228.15	412.68
$V_d(mg)/(ng/mL)$	0.18	0.22
$CL(mg)/(ng/mL)/d$	0.02	0.02
MRT_{INF}/d	14.71	15.57

3 结论

本研究开发并验证了一种用于测定大鼠血浆中多奈哌齐的特异性、灵敏、快速且可靠的 LC-MS/MS 方法, 经证明具有良好的线性范围、准确性和精密度, 能够准确检验结果。将方法应用于多奈哌齐双层微球的体内释药行为评价, 药代动力学参数表

明其吸收迅速、消除过程缓慢。微球具有快速吸收和缓慢消除的特点,有助于提高药物疗效和减少副作用,对于改善AD患者的治疗具有重要的临床价值。尽管本研究在动物模型中取得了积极的结果,但研究还需要进一步探索。

参考文献

- [1] Collie A, Maruff P. The neuropsychology of preclinical Alzheimer's disease and mild cognitive impairment[J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 2000, 24(3):365-374.
- [2] Livingston G, Sommerlad A, Orgeta V, et al. Dementia prevention, intervention, and care[J]. *Lancet*, 2017, 390(10113):2673-2734.
- [3] Wimo A, Guerchet M, Ali GC, et al. The worldwide costs of dementia 2015 and comparisons with 2010[J]. *Alzheimers Dement*, 2017, 13(1):1-7.
- [4] Ballard C, Waite J. The effectiveness of atypical antipsychotics for the treatment of aggression and psychosis in Alzheimer's disease[J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2006(1):CD003476.
- [5] Branski L K, Al-Mousawi A, Rivero H, et al. Emerging infections in burns[J]. *Surg Infect (Larchmt)*, 2009, 10(5):389-397.
- [6] Gauthier S, Feldman H H, Schneider L S, et al. Efficacy and safety of tau-aggregation inhibitor therapy in patients with mild or moderate Alzheimer's disease: a randomised, controlled, double-blind, parallel-arm, phase 3 trial[J]. *Lancet*, 2016, 388(10062):2873-2884.
- [7] Patil S R, Nerurkar K K, Kalamkar A M, et al. Validated LC-MS/MS method for quantification of agomelatine in human plasma and its application in a pharmacokinetic study[J]. *J Mass Spectrom*, 2012, 47(1):23-28.
- [8] Tong Q, Hou X, Fang J, et al. Determination of dihydromyricetin in rat plasma by LC-MS/MS and its application to a pharmacokinetic study[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2015, 114:455-461.
- [9] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 四部9012[S]. 北京:中国医药科技出版社. 2020:466-471.
- [10] Li C, Lang J, Wang Y, et al. Self-assembly of CXCR4 antagonist peptide-docetaxel conjugates for breast tumor multi-organ metastasis inhibition[J]. *Acta Pharm Sin B*, 2023, 13(9):3849-3861.
- [11] Zhang Y, Huo M, Zhou J, et al. PKSolver: An add-in program for pharmacokinetic and pharmacodynamic data analysis in Microsoft Excel[J]. *Comput Methods Programs Biomed*, 2010, 99(3):306-314.

(上接第84页)

参考文献

- [1] 杨艺鹏,杨一鸣,裴一青,等. 镉污染土壤固化-稳定化修复技术研究进展[J]. *化学通报*, 2023, 86(5):575-581.
- [2] 赵梦婕,魏祥东,吴锦标,等. 铁锰改性海泡石的表征及其对镉污染土壤的修复效果[J]. *湖南农业大学学报(自然科学版)*, 2023, 49(1):86-93.
- [3] 梁颖. 镉污染土壤固化-稳定化的影响因素[J]. *化工环保*, 2021, 41(1):61-65.
- [4] 姚琴,杨爱江,牛阿萍,等. 两种外源有机酸对蜈蚣草修复镉污染土壤的影响[J]. *环境科学学报*, 2022, 42(8):405-414.
- [5] 许瑞,南小龙,蒋国清,等. 镉污染土壤微生物修复机制研究进展[J]. *矿产保护与利用*, 2020, 40(4):23-34.
- [6] Smichowski P. Antimony in the environment as a global pollutant: A review on analytical methodologies for its determination in atmospheric aerosols[J]. *Talanta*, 2007, 75(1):2-14.
- [7] Hockmann K, Lenz M, Tandy, et al. Release of antimony from contaminated soil induced by redox changes[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2014, 275:215-221.
- [8] Li J X, Wang Q, Oremland R S, et al. Microbial antimony biogeochemistry: Enzymes, regulation, and related metabolic pathways[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2016, 82(18):5482-5495.
- [9] 梁青,吴文晖,彭小玉,等. “十三五”期间湖南省资江流域镉污染时空分布及污染治理成效分析[J]. *环境监测与预警*, 2023(3):98-103.
- [10] 生态环境部. HJ 974-2018 土壤和沉积物 11 种元素的测定 碱熔-电感耦合等离子体发射光谱法[S]. 北京:生态环境部, 2018.
- [11] 生态环境部. HJ 832-2017 土壤和沉积物 金属元素总量的消解 微波消解法[S]. 北京:生态环境部, 2017.
- [12] 生态环境部. HJ 803-2016 土壤和沉积物 12 种金属元素的测定 王水提取-电感耦合等离子体质谱法[S]. 北京:生态环境部, 2016.
- [13] 葛少林,雷丽丹,明佳佳. 对比超声-辅助逆王水提取法和王水-微波消解法对 PM_{2.5} 中 24 种金属元素的提取效果[J]. *中国卫生检验杂志*, 2022(7):32.
- [14] 陈小霞. 三重四极杆串联质谱法同时测定福州大气 PM_{2.5} 中 20 种金属元素的研究[J]. *福建分析测试*, 2020, 29(5):15-20.
- [15] 王夏,周亦岸,高小青. 三种不同消解方法对 ICP-MS 测定土壤中 20 种金属元素的影响[J]. *环境与发展*, 2020, 32(3):144-145, 147.