同时测定大鼠血浆中阿托伐他汀及其活性和毒性代谢产物的方法建立与应用Δ

宋玉晨[1*]，杨　琳[2]，孙明谦[1]，任常英[1]，刘建勋[1]，张　颖[1#]（1.中国中医科学院西苑医院基础医学研究所北京市中药药理重点实验室，北京　100091；2.中国中医科学院西苑医院国家中医心血管病临床医学研究中心，北京 100091）

中图分类号　R969.1　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2023）08-0917-06
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2023.08.05

摘　要　目的　建立同时测定大鼠血浆中阿托伐他汀（ATV）及其活性代谢产物2-羟基阿托伐他汀酸（2-HAT）、4-羟基阿托伐他汀酸（4-HAT）和毒性代谢产物阿托伐他汀内酯（ATL）的分析方法并应用于药代动力学研究。**方法**　采用液相色谱-串联质谱（LC-MS/MS）法进行分析。采用一步沉淀法对血浆样品进行处理（血浆样品经酸化调节pH值防止构型转化），采用梯度洗脱分析样品，分析时间为5 min；采用电喷雾离子源，以多反应监测模式进行正离子检测，ATV及其代谢产物2-HAT、4-HAT、ATL及内标匹伐他汀的定量离子对的质荷比（*m/z*）分别为559.3→440.2、575.2→440.3、575.0→440.2、540.9→448.2和422.2→290.0。对分析方法进行全面的方法学考察后测定ATV及其代谢产物2-HAT、4-HAT、ATL的浓度，并采用WinNonlin 6.1的非房室模型计算ATV及其代谢产物的药代动力学参数。**结果**　方法学考察结果表明，空白血浆的内源性物质不干扰待测成分的测定，标准曲线线性关系良好，ATV、2-HAT、4-HAT和ATL的定量下限分别为0.5、0.5、0.25、0.063 nmol/L。精密度、准确度、回收率、基质效应和稳定性考察均符合生物分析要求。药代动力学分析表明，大鼠灌胃给药后，ATV迅速代谢，主要以ATV和2-HAT的形式暴露于血液循环，内酯型代谢物浓度最低。**结论**　建立了针对ATV及其活性和毒性代谢产物的准确、快速、灵敏的血药浓度分析方法，运用该方法可全面解析阿托伐他汀钙在大鼠体内的药代动力学特征。

关键词　阿托伐他汀钙；液相色谱-串联质谱；羟基阿托伐他汀；阿托伐他汀内酯；药代动力学

Establishment and application for simultaneous determination method of atorvastatin and its active/toxic metabolites in rat plasma

SONG Yuchen[1], YANG Lin[2], SUN Mingqian[1], REN Changying[1], LIU Jianxun[1], ZHANG Ying[1]（1. Beijing Key Laboratory of Pharmacology of Chinese Materia Medica, Institute of Basic Medical Sciences of Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100091, China; 2. National Clinical Research Center for Chinese Medicine Cardiology, Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100091, China）

ABSTRACT　OBJECTIVE To establish a method for simultaneous determination of atorvastatin (ATV) and its active metabolites 2-hydroxy atorvastatin acid (2-HAT), 4-hydroxy atorvastatin acid (4-HAT) and toxic metabolite atorvastatin lactone (ALT) in rat plasma and apply it for pharmacokinetic study. **METHODS** LC-MS/MS method was adopted for analysis. The one-step precipitation method was used for processing plasma samples (plasma samples were pretreated by acidification to adjust pH value so as to prevent inversion of configuration), gradient elution was used to analyze the samples, and the analysis time was 5 min. Electrospray positive ionization was adopted, and positive ion scanning was performed in multi-reaction monitoring. The *m/z* of quantified ion pairs of ATV and its metabolites such as 2-HAT, 4-HAT and ATL, and internal standard pitavastatin were 559.3→440.2, 575.2→440.3, 575.0→440.2, 540.9→448.2 and 422.2→290.0, respectively. After conducting a comprehensive methodological investigation of the analytical method, the concentrations of ATV and its metabolites 2-HAT, 4-HAT, and ATL were determined, and the pharmacokinetic parameters of ATV and its metabolites were calculated using the non-compartment model of WinNonlin 6.1. **RESULTS** The results of methodological validation showed that endogenous

Δ**基金项目** 国家自然科学基金资助项目（No.81873179）；中国中医科学院科技创新工程项目（No.CI2021A04906）

＊**第一作者** 硕士研究生。研究方向：药物代谢动力学。E-mail：1980919247@qq.com

＃**通信作者** 研究员，博士生导师，博士。研究方向：药物代谢动力学。电话：010-62835639。E-mail：zhyingde@sina.com

substances in blank plasma did not interfere with the determination of the components to be tested, and the standard curve had a good linear relationship; the lower limits of quantification for ATV, 2-HAT, 4-HAT and ATL were 0.5, 0.5, 0.25 and 0.063 nmol/L, respectively. The precision, accuracy, recovery, matrix effect and stability investigation were all in line with the requirements of biological analysis. Pharmacokinetic analysis showed that after intragastric administration in rats, ATV calcium metabolized rapidly, and was mainly exposed to blood circulation in the form of ATV and 2-HAT, with the lowest concentration of lactone-type metabolites. **CONCLUSIONS** The established method is precise, rapid and accurate for plasma concentration analysis of ATV and its active/toxic metabolites. The application of the method could help to fully elucidate the pharmacokinetic characteristics of atorvastatin calcium in rats.

KEYWORDS atorvastatin calcium; LC-MS/MS; hydroxy atorvastatin; atorvastatin lactone; pharmacokinetics

阿托伐他汀（atorvastatin，ATV）是3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶A（DL-3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A disodium，HMG-CoA）的还原酶抑制剂，属于第3代他汀类药物。ATV能够显著降低胆固醇、低密度脂蛋白及三酰甘油水平，具有降脂作用强、药效维持时间长的优点，同时能够显著降低冠心病和其他心脑血管疾病的发生率及病死率，被广泛用于心血管疾病的预防和治疗，是目前使用最多、销量最大的他汀类药物[1]。但随着ATV的使用占比增加，由其引发的不良反应也逐渐增加，主要表现为转氨酶升高、药物性肝炎、肌痛、关节痛及横纹肌溶解等[1]。

ATV以其活性酸的钙盐口服给药，绝对生物利用度约为14%[2]。生物利用度较低的原因在于进入体循环前肠道和肝脏的首过效应[2]。阿托伐他汀钙口服给药后，主要经由肝脏的细胞色素CYP3A4酶代谢为活性成分2-羟基阿托伐他汀酸（2-hydroxy atorvastatin acid，2-HAT）和4-羟基阿托伐他汀酸（4-hydroxy atorvastatin acid，4-HAT），在尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶的参与下转化为相应的非活性内酯衍生物，主要为阿托伐他汀内酯（atorvastatin lactone，ATL）[3]。活性成分与非活性内酯衍生物在体内可互相转换并保持平衡[4－5]。体外实验中，2-HAT和4-HAT对HMG-CoA还原酶的抑制作用与ATV相当，对HMG-CoA还原酶的循环抑制活性约70%是由活性成分代谢产物产生的[6－7]。与ATV比较，临床及近来的机制研究发现，ATL是ATV服用后发生肌肉毒性的主要因素[6－7]。因此，全面解析口服ATV后体内活性代谢产物和潜在毒性代谢产物ATL的暴露水平对于保障其疗效和安全性具有重要意义，特别是在与ATV的药物相互作用研究中，可更准确地预测合并用药隐患。

尽管ATV已在临床广泛使用，考虑到临床研究成本，在临床前开展基于动物的药物相互作用评价仍是早期筛选及获得预警信息的重要手段。大部分关于ATV的药代动力学研究只针对大鼠血浆中原型及活性代谢产物进行了定量分析[8－9]，Ni等[10]报道了包含毒性代谢产物ATL的大鼠血药浓度，但是分析方法中未采用防止酸型和内酯型间的构型转换措施。因此，本研究旨在建立一种准确、快速、灵敏的液相色谱-串联质谱（LC-MS/MS）检测方法，同时测定大鼠血浆中的ATV及其活性代谢产物2-HAT、4-HAT和毒性代谢产物ATL，并应用于药代动力学分析。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器有API 4000 QTRAP型质谱系统（美国Applied Biosystem公司）、Agilent 1200型高效液相色谱仪（美国Agilent公司）、DW-FL362型超低温冰箱（合肥长虹美菱股份有限公司）、MS205DU型电子天平（瑞士Mettler Toledo公司）等。

1.2 主要药品与试剂

ATV对照品（批号s.2077）购自美国Selleck Chemicals公司；ATL对照品（批号5-JGC-56-5）、2-HAT对照品（批号7-VHP-82）、4-HAT对照品（批号1-TKA-22-2）均购自加拿大Toronto Research Chemicals公司；匹伐他汀（pitavastatin，PIV）对照品（批号H29A7B20167，内标）购自上海源叶生物科技有限公司，上述对照品纯度均不低于98%。阿托伐他汀钙片（批号EP8450，规格20 mg/片）购自辉瑞制药有限公司，质谱分析所用甲酸、甲醇和乙腈均为色谱纯，其余试剂均为分析纯。

1.3 实验动物

SPF级雄性SD大鼠，体质量（200±10）g，购自北京维通利华生物技术有限公司，生产许可证号为SCXK（京）2019-0010，使用许可证号为SYXK（京）2019-0010。所有大鼠均饲养于中国中医科学院西苑医院动物室，温度（22±3）℃，相对湿度40%～70%，12 h明暗交替环境，自由进食、饮水，适应性饲养1周。动物实验经过中国中医科学院西苑医院动物伦理委员会批准，伦理批件号为2022XLC030-2。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与质谱条件

2.1.1 色谱条件 色谱柱为Agilent ZORBAX C_{18}（2.1 mm×50 mm，5 μm），前置粒径为2 μm的在线滤器，柱温为30 ℃；流动相A相为水-甲醇-乙腈[9∶0.5∶0.5，（*V*/*V*/*V*），含0.05%甲酸]，B相为甲醇-乙腈[1∶1（*V*/*V*），含0.05%甲酸]，梯度洗脱（程序为0～0.3 min，48%B～100%B；0.3～1.6 min，100%B；1.6～5.0 min，48%B）；流速为0.35 mL/min；进样盘温度为4 ℃，进样量为4 μL。

2.1.2 质谱条件 离子源为电喷雾离子源（electron spray ionization，ESI），正离子检测模式；气帘气体为20 psi；源内温度为500 ℃；源内气体GS1为40 psi，源内气体GS2为40 psi；离子喷射电压（IS）为5 000 V；碰撞气（CAD）为中（Medium）；扫描方式选择多反应监测（multi-reaction monitoring，MRM）模式，用于定量分析的各待测成分母离子和子离子及对应的去簇电压、碰撞电压和出口电压见表1。

表1 待测成分和内标的定量分析离子对及主要质谱参数

待测成分/内标	母离子*m/z*	子离子*m/z*	去簇电压/V	碰撞电压/V	出口电压/V
ATV	559.3	440.2	106	31	12
2-HAT	575.2	440.3	91	33	14
4-HAT	575.0	440.2	91	33	12
ATL	540.9	448.2	91	25	14
PIV	422.2	290.0	121	39	16

2.2 溶液的制备

2.2.1 标准血浆样品 精密称量ATV、PIV对照品各10 mg，ATL、2-HAT、4-HAT对照品各1 mg，分别加甲醇溶解后定容，制成质量浓度为1 mg/mL储备液。取不同体积的ATV、ATL、2-HAT和4-HAT储备液混匀，加甲醇稀释，得ATV和2-HAT浓度均为5 120 nmol/L、ATL和4-HAT浓度均为640 nmol/L的混合标准溶液。精密吸取空白大鼠血浆450 μL，加入50 μL混合标准溶液混匀作为标准曲线上限血浆样品，再以空白血浆逐级等比稀释2倍获得ATV、2-HAT、4-HAT和ATL的浓度范围分别为0.5～512、0.5～512、0.25～64、0.063～64 nmol/L的标准血浆样品。

2.2.2 质量控制样品 取大鼠空白血浆，外加“2.2.1”项下的混合标准溶液，配制成ATV和2-HAT（浓度均为0.5、1、16、384 nmol/L）、4-HAT（浓度为0.25、0.5、4、48 nmol/L）、ATL（浓度为0.063、0.13、2、48 nmol/L）的质量控制（QC）样品。

2.2.3 内标溶液 取PIV储备液，用甲醇稀释为25 ng/mL的内标溶液。

2.3 大鼠药代动力学实验及样品处理

2.3.1 给药及取材 6只雄性SD大鼠，给药前禁食12 h，自由饮水。阿托伐他汀钙片与含2%二甲基亚砜、35%聚乙二醇400和2%吐温-80的纯净水混合溶解后，以10 mg/kg灌胃给药。于给药前和给药后0.08、0.33、0.67、1、2、4、6、8 h时从大鼠眼后静脉丛取血约0.15 mL，至预加肝素离心管中。大鼠在取血2 h后自由进水，4 h后自由进食。取出全血摇匀后马上放入冰盒中，在4 ℃、3 500 r/min下离心10 min，分离上层血浆，置于－35 ℃冰箱冻存待分析。

2.3.2 样本前处理 冻存血浆样品在37 ℃下解冻，精密分取50 μL样品加入10%甲酸溶液2 μL，再加入内标溶液50 μL和乙腈150 μL，涡旋2 min，在12 000 r/min、4 ℃下离心5 min，分取上清液进样分析。

2.4 方法学考察

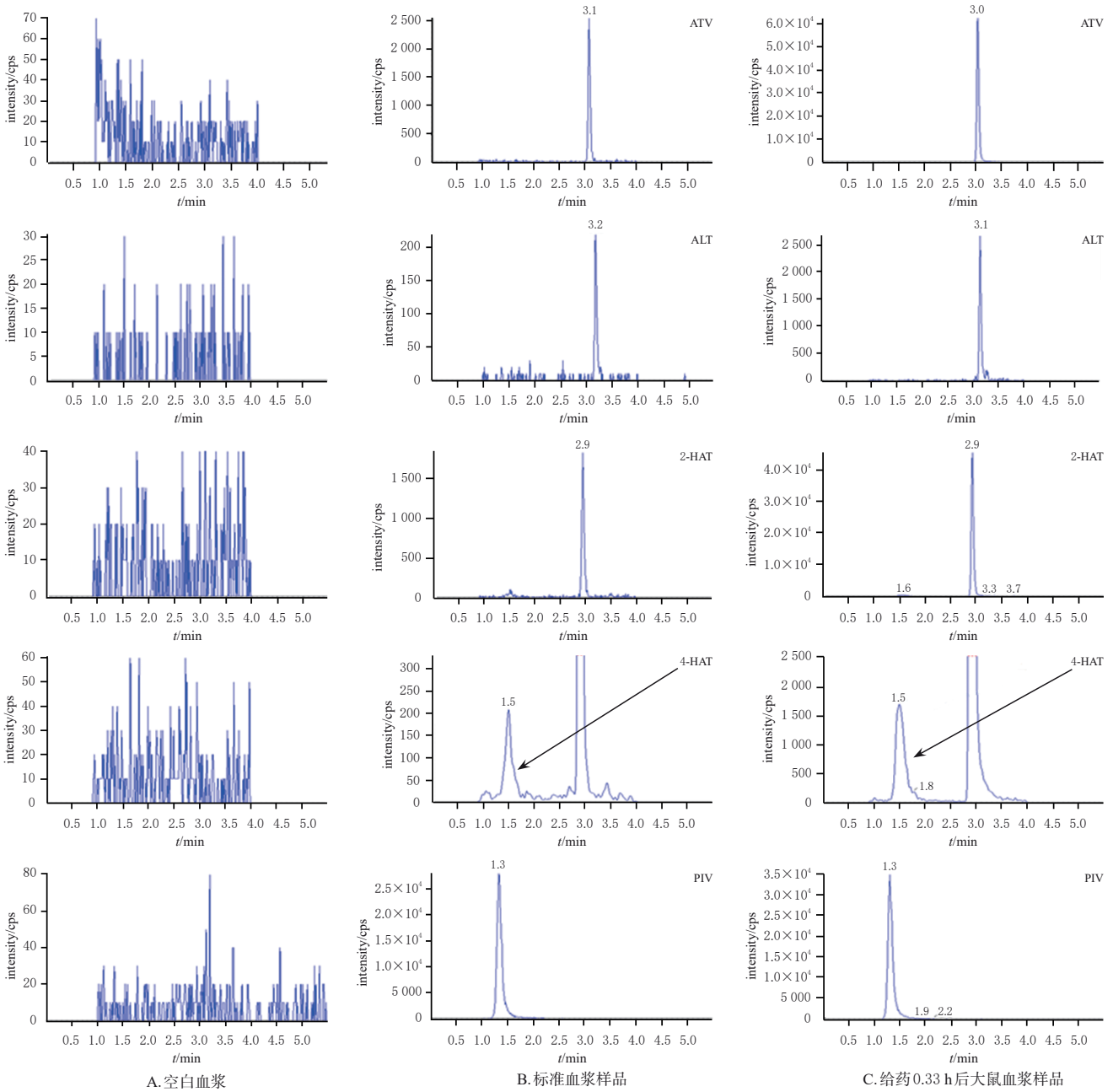
2.4.1 专属性 取空白大鼠血浆50 μL，除用50 μL甲醇代替内标外，其余操作同“2.3.2”项下方法处理后，再按“2.1”项下条件进样分析。按“2.2.1”项下方法操作，配制ATV、ATL、2-HAT、4-HAT浓度分别为0.5、0.5、0.25、0.063 nmol/L的标准血浆样品，再按上述方法处理后进样分析。取“2.3.1”项下给药0.33 h后大鼠血浆样品，再按上述方法处理后进样分析。结果显示，ATV、ATL、2-HAT、4-HAT、PIV的保留时间分别为3.0、3.1、2.9、1.5、1.3 min，表明空白血浆的内源性物质不干扰ATV及代谢产物ATL、2-HAT、4-HAT及内标PIV的测定，且给药后生物样品和标准血浆样品在相同位置出峰，说明该分析方法对待测成分的分析专属性好。结果见图1。

2.4.2 标准曲线、定量下限和检测限 取“2.2.1”项下标准血浆样品按照“2.3.2”项下方法处理，再按“2.1”项下条件进样分析，每种浓度平行制备5份。以待测成分与内标的峰面积的比值为纵坐标（*Y*），待测成分浓度为横坐标（*X*）进行线性回归，权重因子为$1/y^2$。线性回归分析结果显示，各待测成分线性关系良好（$r>0.99$）。各待测成分的标准曲线、定量下限和检测限见表2。

表2 各待测成分的标准曲线、定量下限和检测限

待测成分	标准曲线	*r*	线性范围/（nmol/L）	定量下限/（nmol/L）	检测限（*S*/*N*=3）
ATV	*Y*=0.020 9*X*+0.002 87	0.996	0.5～512	0.5	0.030
2-HAT	*Y*=0.017 2*X*+0.002 36	0.997	0.5～512	0.5	0.041
4-HAT	*Y*=0.011 0*X*+0.000 72	0.998	0.25～32	0.25	0.052
ATL	*Y*=0.016 9*X*+0.000 77	0.994	0.063～16	0.006 3	0.015

2.4.3 精密度和准确度 取“2.2.2”项下的QC样品，按“2.3.2”项下方法平行制备6份样本，测定3 d，根据当日标准曲线，分别计算QC样品的测定浓度。以相对标准误差（RSD）来评价测定方法的批内和批间精密度，以相



A.空白血浆　　B.标准血浆样品　　C.给药0.33 h后大鼠血浆样品

图1　ATV及其3种代谢产物和内标的LC-MS/MS图谱

对误差(RE)来评价测定方法的准确度。ATV及其活性和毒性代谢产物的精密度和准确度见表3。高、中、低浓度的QC样品精密度和准确度RSD/RE均在15%以内，定量下限样品的精密度和准确度RSD/RE均在20%以内，说明所建立方法准确度和精密度良好。

2.4.4　回收率和基质效应　采用6个不同个体来源空白血浆制备低、中、高浓度的QC样品，按照“2.3.2”项下方法分别处理空白血浆、水和QC样品。同时以处理后空白血浆或水配制浓度为1/5的低、中、高浓度的样品分别作为标准基质样品或标准溶液样品。按“2.1”项下方法测定各样品，通过各待测成分在QC样品与标准溶液样品中相应的内标归一化峰面积比值，计算回收率；通过各待测成分在标准基质样品与标准溶液样品中相应的内标归一化峰面积比值，计算基质效应。分析结果显示，所有待测成分的基质效应在86.8%～105.0%之间，个体间的RSD低于15%；回收率在88.0%～115.0%之间，个体间的RSD均低于15%。以上结果表明该分析方法的回收率较高，且基质效应不影响结果准确性。

2.4.5　稳定性　在标准曲线范围内选择定量下限和低、中、高浓度，以大鼠空白血浆配制成相应QC样品，分别进行0时间点(配制后立即处理分析)、在室温下放置1 h、将处理后样品在进样器放置24 h、血浆样品放置于－80 ℃冰箱后反复冻融1次和3次以及－35 ℃冰箱储存1个月后处理分析(－35 ℃冰箱储存1个月稳定性

表3　ATV及其活性和毒性代谢产物的精密度和准确度

待测成分	理论浓度/(nmol/L)	实测浓度($\bar{x}\pm s$)/(nmol/L)	精密度(n=6)		准确度RE(n=6)/%
			批内精密度RSD/%	批间精密度RSD/%	
ATV	0.5	0.51±0.04	4.89	17.49	2.04
	1	1.07±0.10	9.09	8.33	7.37
	16	16.06±0.91	5.22	2.17	5.72
	384	421.72±20.07	4.75	4.82	9.82
2-HAT	0.5	0.51±0.04	3.07	19.01	1.64
	1	1.05±0.12	10.41	13.69	4.92
	16	16.03±0.73	4.17	1.72	4.58
	384	414.50±22.92	5.67	4.29	7.94
4-HAT	0.25	0.25±0.04	16.26	18.34	1.04
	0.5	0.49±0.05	10.05	4.55	−1.70
	4	3.88±0.28	6.61	2.72	−7.00
	48	49.72±2.86	11.58	5.67	2.76
ATL	0.063	0.06±0.01	10.31	18.16	−3.10
	0.13	0.13±0.01	11.58	5.67	2.76
	2	1.95±0.16	6.91	4.85	−7.92
	48	40.83±2.45	5.81	7.36	−14.93

样品中，高浓度样品为128 nmol/L），每一浓度5份样品。以随行标准曲线计算样品浓度，计算RSD及RE考察血浆样品放置稳定性。结果显示，ATV、2-HAT、4-HAT和ATL的不同浓度QC样品在以上条件下各待测成分均稳定，RSD均小于15%；ATV、2-HAT、4-HAT及ATL QC样品在上述各实验条件下的实测浓度的RE范围分别为−12.83%～14.45%、−10.27%～14.63%、−11.96%～14.85%和−14.76%～14.79%（n=5）。

2.5　ATV及其活性和毒性代谢产物在大鼠中的血药浓度及药代动力学分析

采用“2.1”项下方法测定大鼠血浆中的ATV及其3种代谢产物的浓度，绘制血药浓度-时间曲线，见图2。由图2可知，给药后原型ATV迅速吸收入血，代谢产物也同时出现，其中，2-HAT的浓度在40 min后开始高于原型，成为血液循环中的主要形式。代谢产物4-HAT和ATL的暴露水平则远低于ATV和2-HAT。采用WinNonlin 6.1的非房室模型计算ATV及其代谢产物的药代动力学参数，见表4。由表4可知，2-HAT的峰浓度（C_{max}）达ATV的1.6倍左右，而4-HAT和ATL仅约为ATV的1/7和1/150。原型ATV和代谢产物的消除半衰期（$T_{1/2}$）均在1～2 h之间，2种活性代谢产物和原型ATV的消除半衰期接近，其中2-HAT消除略慢，而ATL消除最快。2-HAT的药-时曲线下面积（$AUC_{0-\infty}$）达ATV的3倍以上，而4-HAT和ATL的$AUC_{0-\infty}$约为ATV的1/5和1/160。ATV和ATL的达峰时间（T_{max}）接近，均小于1 h，2种活性代谢产物的T_{max}均在1～2 h之间。

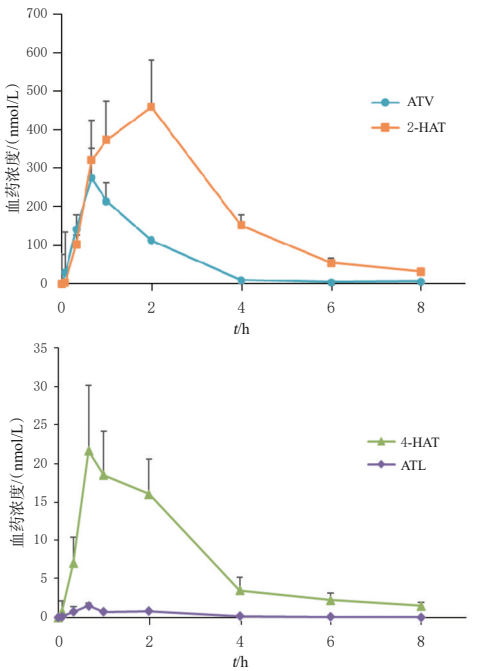


图2　大鼠灌胃阿托伐他汀钙后血浆中ATV及其活性和毒性代谢产物的血药浓度-时间曲线（$\bar{x}\pm s$，n=6）

表4　ATV及其活性和毒性代谢产物的药代动力学参数（$\bar{x}\pm s$，n=6）

药代参数	ATV	2-HAT	4-HAT	ATL
$T_{1/2}$/h	1.69±0.27	1.78±0.23	1.64±0.41	1.32±0.14
T_{max}/h	0.73±0.13	2.00±0.00	1.45±1.36	0.57±0.24
C_{max}/(nmol/L)	278.17±118.59	458.83±121.10	40.45±41.68	1.86±1.11
$AUC_{0-\infty}$/(nmol·h/L)	482.18±132.84	1 599.98±330.37	101.99±98.78	2.99±0.89
(CL/F)/[L/(kg·h)]	18.10±4.07	−	−	−
(V_d/F)/(L/kg)	44.62±13.35	−	−	−

CL/F：清除率；V_d/F：生物利用度校正的表观分布容积；−：无数据

3　讨论

阿托伐他汀钙在体内的活性形式为阿托伐他汀酸，但是在体内酸式结构会在理化因素及酶的共同作用下与内酯型结构发生结构相互转换[11−12]。在方法学开发过程中尽可能避免构型间的转换是保障分析结果可靠性的重要条件。多个研究证明，内酯型结构在偏碱性环境下易转化为酸型结构，而弱酸性环境下转化率会极大降低[12−14]。本课题组在方法学开发过程中也发现，直接采用沉淀血浆蛋白法处理的样品，在样品架上放置，其ATV的内酯型代谢产物ATL的含量会因产生构型转换而下降明显。通过在血浆样品中加入一定量的甲酸溶液调节pH值至5～6之间，可保持提取后的样品在样品架稳定至少24 h。此外还应注意，在采血后立即将血浆样品放入冰盒并尽快离心冻存，以避免采血后各成分发生构型转化。已报道的测定ATV及其代谢产物分析方法多采用液液萃取的前处理方法，本研究采用一步沉淀法对样品进行处理，较液液萃取法极大地缩短了样品处

理时间，同时也满足各待测成分的回收率均在85%～115%之间[8,15]的要求。

采用已建立的方法开展药代动力学分析发现，ATV在大鼠体内迅速代谢，主要以邻位羟基酸型代谢物的形式暴露于体循环，内酯型代谢物浓度远低于其他成分。Gibson等[16]研究发现，健康年轻人体内ATL的暴露量和代谢率均低于高龄患者，可认为内酯型代谢物在人体内的代谢水平可能与年龄相关。本研究结果显示，成年健康大鼠ATV的内酯型代谢转化率较低，在大鼠体内是否存在类似的年龄引起的内酯代谢水平变化有待于进一步研究。与Ni等[10]发表的大鼠血药浓度以剂量归一化后对比，本研究的ATV和酸型代谢物浓度更高，而内酯型代谢物更低，这可能与本研究中的分析方法采取了有效的防止构型转化措施有关。

本研究建立了同时测定大鼠血浆中ATV及其活性和毒性相关的3种代谢产物的LC-MS/MS分析方法。对分析方法的全面验证表明所建立的方法准确、快速和灵敏。通过运用该方法解析了单剂量ATV灌胃后原型药物及其各代谢产物在大鼠体内的药代动力学特征。对体内活性和毒性代谢产物的共同分析可应用于药物相互作用研究，评估合并用药对阿托伐他汀药效和安全性的影响。

参考文献

[1] ATHYROS V G, TZIOMALOS K, KARAGIANNIS A, et al. Atorvastatin: safety and tolerability[J]. Expert Opin Drug Saf, 2010, 9(4): 667-674.

[2] LENNERNÄS H. Clinical pharmacokinetics of atorvastatin[J]. Clin Pharmacokinet, 2003, 42(13): 1141-1160.

[3] ELSBY R, HILGENDORF C, FENNER K. Understanding the critical disposition pathways of statins to assess drug-drug interaction risk during drug development: it's not just about OATP1B1[J]. Clin Pharmacol Ther, 2012, 92(5): 584-598.

[4] KANTOLA T, KIVISTÖ K T, NEUVONEN P J. Effect of itraconazole on the pharmacokinetics of atorvastatin[J]. Clin Pharmacol Ther, 1998, 64(1): 58-65.

[5] ANDO H, TSURUOKA S, YANAGIHARA H, et al. Effects of grapefruit juice on the pharmacokinetics of pitavastatin and atorvastatin[J]. Br J Clin Pharmacol, 2005, 60(5): 494-497.

[6] HERMANN M, BOGSRUD M P, MOLDEN E, et al. Exposure of atorvastatin is unchanged but lactone and acid metabolites are increased several-fold in patients with atorvastatin-induced myopathy[J]. Clin Pharmacol Ther, 2006, 79(6): 532-539.

[7] SCHIRRIS T J, RENKEMA G H, RITSCHEL T, et al. Statin-induced myopathy is associated with mitochondrial complex Ⅲ inhibition[J]. Cell Metab, 2015, 22(3): 399-407.

[8] 罗楠，谭力，张玫，等. LC-MS/MS测定大鼠血浆中阿托伐他汀及其活性代谢产物[J]. 中国现代应用药学，2019，36(9)：1029-1036.

[9] LI W C, XU X L, WANG S M, et al. Development of a UPLC-MS/MS method for the simultaneous determination of atorvastatin, 2-hydroxy atorvastatin, and naringenin in rat plasma and its application to pharmacokinetic interaction studies[J]. Biomed Chromatogr, 2023, 37(1): e5515.

[10] NI J S, OUYANG H, SETO C, et al. Sensitivity and proportionality assessment of metabolites from microdose to high dose in rats using LC-MS/MS[J]. Bioanalysis, 2010, 2(3): 407-419.

[11] JEMAL M, OUYANG Z, CHEN B C, et al. Quantitation of the acid and lactone forms of atorvastatin and its biotransformation products in human serum by high-performance liquid chromatography with electrospray tandem mass spectrometry[J]. Rapid Commun Mass Spectrom, 1999, 13(11): 1003-1015.

[12] JEMAL M, XIA Y Q. Bioanalytical method validation design for the simultaneous quantitation of analytes that may undergo interconversion during analysis[J]. J Pharm Biomed Anal, 2000, 22(5): 813-827.

[13] TAHA D A, DE MOOR C H, BARRETT D A, et al. The role of acid-base imbalance in statin-induced myotoxicity [J]. Transl Res, 2016, 174: 140-160.e14.

[14] JIRÁSKO R, MIKYSEK T, CHAGOVETS V, et al. Structural characterization of electrochemically and *in vitro* biologically generated oxidation products of atorvastatin using UHPLC/MS/MS[J]. Anal Bioanal Chem, 2013, 405(23): 7181-7193.

[15] 陈菡菁，徐红蓉，苑菲，等. LC-MS/MS法同时测定人血浆中阿托伐他汀及其活性代谢物的浓度[J]. 中国临床药理学杂志，2017，33(6)：542-546.

[16] GIBSON D M, BRON N J, RICHENS A, et al. Effect of age and gender on pharmacokinetics of atorvastatin in humans[J]. J Clin Pharmacol, 1996, 36(3): 242-246.

（收稿日期：2022-11-23　修回日期：2023-03-09）

（编辑：曾海蓉）