# 大鼠血浆中美洛加巴林浓度的 UPLC-MS/MS 法测定及其药代动力学

李林朔[1]，王　瑞[1]，王小苏[1]，刘　洋[2]，张　涛[1,2]*

（1. 中国海洋大学医药学院，山东青岛 266003；2. 山东齐都药业有限公司，山东淄博 255400）

**摘要**：建立了 UPLC-MS/MS 法测定大鼠血浆中美洛加巴林的浓度。采用电喷雾离子源、正离子模式和多反应监测，色谱柱为 XBridge $C_{18}$ 柱（4.6 mm×75 mm，3.5 μm），以 0.1%甲酸水溶液和乙腈为流动相，梯度洗脱，流速 0.6 mL/min。血浆样品经乙腈蛋白沉淀法处理，以甲苯磺丁脲为内标。结果表明，美洛加巴林在 0.5 ～ 600.0 ng/mL 线性关系良好，定量下限为 0.5 ng/mL，日内、日间 RSD 均小于 10%，提取回收率、基质效应、稳定性和稀释可靠性均符合生物样品分析要求。该方法操作简便、灵敏度高、重现性好，适用于大鼠血浆中美洛加巴林的浓度测定及药代动力学研究。

**关键词**：美洛加巴林；镇痛；UPLC-MS/MS；药代动力学；生物样品；测定

**中图分类号**：R971　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1001-8255(2026)05-0585-05

**引用**：李林朔, 王　瑞, 王小苏, 等. 大鼠血浆中美洛加巴林浓度的UPLC-MS/MS法测定及其药代动力学[J]. 中国医药工业杂志, 2026, **57**(5): 585-589. DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2026.05.012

# Determination of Mirogabalin in Rat Plasma by UPLC-MS/MS and Pharmacokinetic Study

LI Linshuo[1], WANG Rui[1], WANG Xiaosu[1], LIU Yang[2], ZHANG Tao[1,2]*

(*1. School of Medicine and Pharmacy, Ocean University of China, Qingdao 266003; 2. Shandong Qidu Pharmaceutical Co., Ltd., Zibo 255400*)

**ABSTRACT**: A UPLC-MS/MS method was developed and validated for the determination of mirogabalin in rat plasma. Detection was carried out by electrospray ionization in positive ion mode with multiple reaction monitoring. Chromatographic separation was performed on an XBridge $C_{18}$ column (4.6 mm×75 mm, 3.5 μm) with the mobile phase consisting of 0.1% formic acid aqueous solution and acetonitrile in gradient elution mode at a flow rate of 0.6 mL/min. Plasma samples were pretreated by acetonitrile protein precipitation with tolbutamide as the internal standard. The assay exhibited good linearity over the concentration range of 0.5 − 600.0 ng/mL, with a lower limit of quantitation of 0.5 ng/mL. Intra- and inter-day RSDs were less than 10% . The extraction recovery, matrix effect, stability, and dilution integrity all met the requirements for bioanalytical method validation. This simple, sensitive, and reliable method is suitable for the determination of mirogabalin in rat plasma and can be used for pharmacokinetic studies.

**Key Words**: mirogabalin; analgesia; UPLC-MS/MS; pharmacokinetics; biological sample; determination

美洛加巴林（mirogabalin，**1**）是第三代加巴喷丁类药物[1]，具有亲和性高、解离慢的特点[2]。**1** 可结合并调节电压门控钙通道 $\alpha_2\delta$ 亚基[3]，迅速降低神经元兴奋性，抑制疼痛信号的产生和转导，因而镇痛作用显著[4−5]。**1** 片于 2019 年在日本获批上市，用于治疗周围神经病理性疼痛，包括糖尿病周围神经病理性疼痛和带状疱疹后神经痛[6−7]。

尽管 **1** 已上市并应用于临床，但建立一种操作简便、成本低且灵敏度相当的检测方法，对于后续的药物研发具有实际意义。已有文献[8−9]报道采用固相萃取结合 LC-MS/MS 法测定大鼠血浆中 **1** 的浓度，方法灵敏、可靠，但操作较为烦琐、耗材成本

**收稿日期**：2025-11-26

**作者简介**：李林朔，硕士研究生，专业方向：新型药物制剂。

**通信作者**：张　涛，正高级工程师，从事创新药物研究与原料药和制剂产业化研究。

较高，难以满足大批量样本快速分析的需求[10]。大鼠是临床前药物评价的标准模型动物，因而获取 **1** 在大鼠体内的基础代谢参数，是开展后续毒理学、组织分布或新剂型（如缓释制剂、复方制剂）开发等研究的必要前提。本研究建立了一种乙腈蛋白沉淀结合 UPLC-MS/MS 的方法测定大鼠血浆中的 **1** 浓度，以期在保证高灵敏度前提下，简化样品前处理步骤；并系统研究了 **1** 在大鼠体内的药代动力学特征，为该药物的新剂型开发、机制研究及体内外研究提供方法学参考。

## 1　仪器与试药

Xevo TQ-XS 型三重四极杆液质联用仪（美国 Waters 公司）；TGL-16M 型高速冷冻离心机（湖南湘仪仪器有限公司）。

**1** 对照品（山东默派生物科技有限公司，含量≥ 99.5%，批号 TH240102）；甲苯磺丁脲（**2**，上海阿拉丁生化科技股份有限公司，含量≥ 99.0%，批号 G2417810）；氨基甲酸乙酯、乙腈和甲酸均为色谱纯，其他试剂为分析纯。

SPF 级雄性 SD 大鼠 6 只，6 ～ 8 周龄，试验前饲养 1 周，体质量 240 ～ 280 g，购自济南朋悦实验动物繁育有限公司，动物生产许可证号 SCXK（鲁）2022-0006；大鼠空白血浆由齐都药业研究院药理中心提供（大鼠静脉取血）。本研究中的动物实验经中国海洋大学医药学院伦理委员会批准（伦理审批号 OUC-SMP-2025-07-01）。

## 2　方法与结果

### 2.1　色谱质谱条件

色谱条件：色谱柱 XBridge $C_{18}$ 柱（4.6 mm×75 mm，3.5 μm）；流动相 A 为 0.1%甲酸水溶液，B 为乙腈，梯度洗脱（0—1 min，A 70%；1—5 min，A 70%—10%；5—8 min，A 10%；8—8.1 min，A 10%—70%；8.1—10 min，A 70%）；柱温 35 ℃；流速 0.6 mL/min；进样量 5 μL。

质谱条件：离子源 电喷雾离子源，多反应监测，正离子模式；毛细管电压 3 kV；离子源温度 150 ℃；脱溶剂温度 350 ℃；脱溶剂气体流量 1 000 L/h；锥口气流量 150 L/h；雾化气压力 0.7 MPa；锥孔电压 18 V（**1**），18 V（**2**）；碰撞能 15 V（**1**），28 V（**2**）；定量分析离子对 *m*/*z* 210.10 → *m*/*z* 133.07（**1**），*m*/*z* 271.01 → *m*/*z* 91.04（**2**）。

### 2.2　溶液配制

对照品溶液：精密称取 **1** 对照品 20 mg，用乙腈超声溶解并制成 1 mg/mL 的贮备液。继续用乙腈稀释成 **1** 质量浓度依次为 6 000、2 000、1 000、200、40、20、10、5 ng/mL 的系列对照品溶液。

内标工作溶液：精密称取 **2** 20 mg，加入乙腈超声溶解并制成 1 mg/mL 的 **2** 贮备液，用乙腈稀释为 100 ng/mL 的内标工作溶液。

系列标准血样：取大鼠空白血浆 90 μL，分别加入 **1** 系列对照品溶液 10 μL，制备质量浓度为 600、200、100、20、4、2、1、0.5 ng/mL 的系列标准血样。

质控血样：使用乙腈稀释 **1** 贮备液，制得 **1** 质量浓度为 5、10、1 000、4 000 ng/mL 的定量下限（lower limit of quantitation，LLOQ）及低、中、高质量浓度的质控工作溶液。取大鼠空白血浆 90 μL，分别加入上述质控工作溶液 10 μL，配制 0.5 ng/mL 的 LLOQ 血样和 1、100、400 ng/mL 的质控血样。

### 2.3　给药方案与血样采集

取雄性 SD 大鼠 6 只，灌胃给药前禁食 12 h。用纯净水将 **1** 溶解并稀释，作为灌胃液，按 3 mg/kg[8] 的剂量对大鼠灌胃给药。分别于 0、15、30 min 和 1、2、4、6、8、12 h 时在大鼠尾部静脉采血约 0.5 mL，置肝素离心管中，4 ℃离心（6 125×*g*）6 min，取上清液，于 －80 ℃冷冻保存。

### 2.4　血浆样品前处理

采用乙腈蛋白沉淀法。精密量取大鼠血浆样品 90 μL，置 1.5 mL 干燥离心管中，精密加入内标工作溶液 30 μL 和乙腈 270 μL，涡旋混匀 1 min，4 ℃离心（13 780×*g*）15 min，精密量取上清液 200 μL 置新的离心管中，再精密加入水 200 μL，涡旋混匀，进样分析。

### 2.5　方法学验证

#### 2.5.1　线性试验

取系列标准血样，按“**2.4**”项下方法处理后进样分析，以 **1** 质量浓度（*c*）为横坐标，**1** 与 **2** 的峰面积比值（*y*）为纵坐标，绘制标准曲线，所得标准曲线方程为 $y=4.47\times10^{-2}c-2.61\times10^{-2}$（$r=0.997\ 2$），表明大鼠血浆中的 **1** 在 0.5 ～ 600.0 ng/mL 内线性关系

良好，其中 LLOQ 为 0.5 ng/mL。

**2.5.2** 专属性试验

取大鼠空白血样、LLOQ 质控血样和给药后 1 h 血样，按“**2.4**”项下方法处理后进样分析。结果（图 1）显示，**1** 与 **2** 的保留时间分别为 2.1 和 3.7 min，且不受血浆内源性成分的干扰，表明该方法专属性高。

**2.5.3** 精密度与回收率试验

取 **1** 的质控样品，按“**2.4**”项下方法处理，平行制备 6 份，分别于同一日和连续 3 d 进样测定，记录色谱图，计算日内、日间精密度和准确度（RE）。

取 6 份不同来源的大鼠空白血样，按“**2.2**”项下方法制备 1、100、400 ng/mL 的质控血样①，各水平平行制备 6 份，按“**2.4**”项下方法处理后进样测定，计算 **1** 与内标 **2** 峰面积的比值 *A*。另取 6 份不同来源的大鼠空白血样，按“**2.4**”项下方法处理（其中，以乙腈代替内标工作溶液），取处理后的上清液，按“**2.2**”项下方法配制 1、100、400 ng/mL 的质控血样②，各水平平行制备 6 份，按“**2.4**”项下方法处理后进样测定，计算 **1** 和 **2** 峰面积的比值 *B*。再计算提取回收率（*A*/*B*×100%）。

结果（表 1）显示，**1** 的日内、日间 RSD 均小于 10%；提取回收率均大于 90%、RSD 均小于 15%，符合测定要求，表明本法具有良好的准确度和精密度。

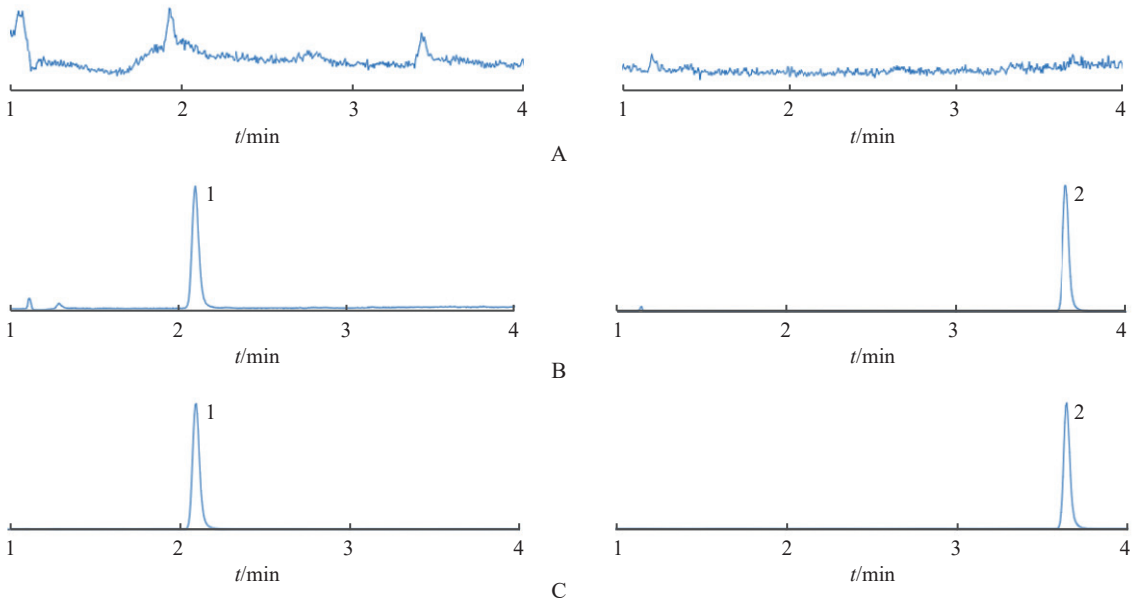
**2.5.4** 基质效应

按“**2.5.3**”项下方法配制 1、100、400 ng/mL 的质控血样②，各水平平行制备 6 份，分别进样测定，计算存在基质时的 **1** 和 **2** 峰面积比值 *B*；取乙腈作为溶剂，配制相应质量浓度的质控样品，进样测定，计算不存在基质时的 **1** 和 **2** 峰面积比值 *C*。计算基质效应（*B*/*C*×100%）。

结果显示，1、100、400 ng/mL 的质控样品基质效应（*n*=6）分别为（104.53±3.82）%、（93.01±4.76）%和（99.79±5.44）%，RSD 为 3.65%、5.12%和 5.45%，表明血浆中的内源性基质不影响 **1** 的检测。

**2.5.5** 稀释可靠性试验

制备超出定量上限（质量浓度为 600.0 ng/mL）的质控血样（质量浓度为 2 000 ng/mL），用空白大鼠血样进行 10 和 20 倍梯度稀释，每个浓度点平行




A—空白血样；B—LLOQ 质控血样；C—给药后 1 h 血样。

1—**1**；2—**2**。

**图 1 典型色谱图**

Fig.1 Typical Chromatograms

**表 1　用 UPLC-MS/MS 法检测大鼠血浆中 1 的精密度与回收率结果**

Tab.1　Precision and Recovery Results of **1** in Rat Plasma by UPLC-MS/MS

| 质量浓度 /(ng·mL$^{-1}$) | 日内（*n*=6） | | | 日间（*n*=18） | | | 提取回收率（*n*=6） | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 质量浓度均值 /(ng·mL$^{-1}$) | RSD/% | RE/% | 质量浓度均值 /(ng·mL$^{-1}$) | RSD/% | RE/% | 均值 /% | RSD/% |
| 0.5 | 0.54±0.02 | 3.70 | 8.00 | 0.48±0.02 | 4.17 | 4.00 | — | — |
| 1 | 0.97±0.05 | 5.15 | 3.00 | 0.98±0.06 | 6.12 | 2.00 | 94.58±6.87 | 7.26 |
| 100 | 98.96±2.73 | 2.76 | 1.04 | 96.26±2.86 | 2.97 | 3.74 | 103.29±2.39 | 2.31 |
| 400 | 394.88±24.69 | 6.25 | 1.28 | 414.67±14.71 | 3.55 | 3.67 | 97.84±4.73 | 4.83 |

制备 6 个样品，分别进样测定。结果表明，**1** 质控样品稀释 10 和 20 倍时测定结果的 RSD 分别为 9.62% 和 10.87%（*n*=6），RE 为 2.72% 和 5.63%（*n*=6），均小于 15%，符合要求。

**2.5.6**　稳定性试验

取 **1** 质量浓度为 1、100、400 ng/mL 的质控样品，各 6 份，分别按如下条件操作：按“**2.4**”项下样品前处理方法操作后在进样器放置 12 h，未处理样品在室温放置 12 h，未处理样品 －80 ℃至室温反复冻融 3 次（冷冻时间每次 12 h），未处理样品 －80 ℃冻存 30 d；随后分别进样测定（未处理样品按“**2.4**”项下方法操作后进样），考察待测物的稳定性。结果表明，3 个质量浓度的已处理样品在进样器放置 12 h 时，所得结果的 RSD 分别为 7.77%、1.84% 和 8.22%；未处理样品在室温放置 12 h 的 RSD 分别为 8.75%、5.57% 和 4.53%；未处理样品冻融 3 次时 RSD 为 5.41%、7.33 和 8.64%；未处理样品 －80 ℃冻存 30 d 时 RSD 为 7.55%、8.21% 和 3.80%。各计算结果均小于 15%，符合检测要求，表明血浆中的 **1** 在上述条件下具有良好的稳定性。

**2.6**　统计学处理

用 Phoenix 8.1.0 软件处理大鼠血浆中 **1** 质量浓度数据，通过非房室模型计算药代动力学参数（表 2）。大鼠体内平均血药浓度 - 时间曲线如图 2 所示。

**表 2　大鼠体内 1 的药代动力学参数（$\bar{x}\pm s$，*n*=6）**

Tab.2　Pharmacokinetic Parameters of **1** in Rats（$\bar{x}\pm s$, *n*=6）

| 药代动力学参数 | 数值 |
|---|---|
| $AUC_{0\to t}$/(ng·mL$^{-1}$·h) | 1 122.63±63.99 |
| $AUC_{0\to\infty}$/(ng·mL$^{-1}$·h) | 1 123.39±64.62 |
| $c_{max}$/(ng·mL$^{-1}$) | 563.50±17.99 |
| $t_{max}$/h | 0.50±0 |
| $t_{1/2}$/h | 0.98±0.27 |
| $\frac{V}{F}$/(L·kg$^{-1}$) | 3.76±0.93 |
| $\frac{cl}{F}$/(L·h$^{-1}$·kg$^{-1}$) | 2.67±0.15 |
| $MRT_{0\to\infty}$/h | 2.01±0.07 |

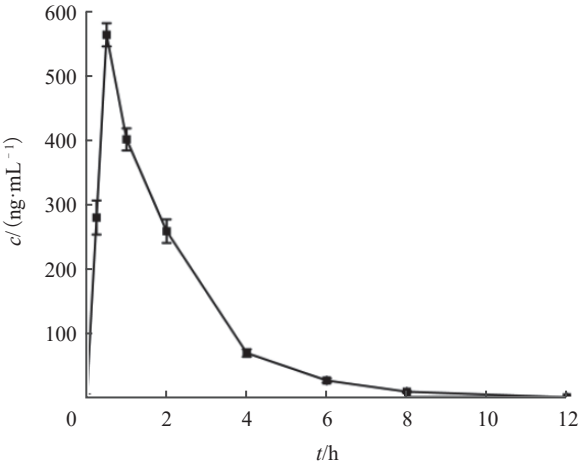



**图 2　1 在大鼠体内的平均血药浓度 - 时间曲线（*n*=6）**

Fig.2　Average Plasma Drug Concentration-time Curve of **1** in Rats（*n*=6）

## 3　讨论

在优化液相色谱分离条件的过程中，分别考察了多种流动相体系（0.1% 甲酸水溶液 - 乙腈、0.1% 甲酸水溶液 - 甲醇、2 mmol/L 乙酸铵溶液 - 乙腈、5 mmol/L 乙酸铵溶液 - 乙腈、2 mmol/L 乙酸铵溶液 - 甲醇、5 mmol/L 乙酸铵溶液 - 甲醇）对 **1** 和 **2** 峰形及保留时间的影响。结果显示，采用 0.1% 甲酸水溶液分别和乙腈、甲醇组成的流动相时，所得待测物的峰形均对称，无拖尾现象，**1** 和 **2** 能实现有效分离。继续尝试增加甲酸水溶液的占比，发现响应值无明显变化；而乙腈的洗脱能力相对甲醇更强，待测物

的响应值更高，因此最终选择 0.1%甲酸水溶液 - 乙腈作为流动相组分。

在血浆样品前处理时，比较了甲醇 / 乙腈蛋白沉淀法和甲基叔丁基醚液液萃取法。结果显示，3 种方法中 **1** 的提取回收率都较高，因此选择操作更便捷、简单的蛋白沉淀法。其中，以乙腈为沉淀剂时，待测物响应值更高，故选用。**1** 同系物合成难度大，不易获得；经方法学验证，**2** 和 **1** 能实现良好分离，又同处于适宜的洗脱窗口内，且 **2** 化学性质稳定、含量高且易获取，符合作为内标物的基本要求，故选用。

药代动力学研究表明，**1** 在大鼠体内吸收迅速，0.5 h 达到血药浓度峰值，且半衰期较短，体内代谢迅速。但因本试验前期采血时间点设置较少，不足以确定精确的达峰浓度和达峰时间。此外，试验样本量较小（$n$=6）。在后续研究中，需优化采血方案，增加血样采集点、扩大样本量；同时开展静脉给药研究以获取绝对生物利用度数据，进一步完善 **1** 在大鼠体内的药代动力学表征。

综上所述，本研究建立的 UPLC-MS/MS 法操作简便、灵敏度高、重现性好，可用于大鼠血浆中 **1** 的药代动力学研究，为后续该药物的新剂型开发、药理研究等提供了可靠的分析手段。

## 参考文献：


[1] 黄　萍, 王若琦, 陈旭青, 等. 苯磺酸美洛加巴林合成工艺改进[J]. 中国医药工业杂志, 2025, **56**(12): 1524-1528.

[2] BROWN K, MENDELL J, OHWADA S, *et al*. Tolerability, pharmacokinetics, and pharmacodynamics of mirogabalin in healthy subjects: results from phase 1 studies [J]. *Pharmacol Res Perspect*, 2018, **6**(5): e00418.

[3] ZAJĄCZKOWSKA R, MIKA J, LEPPERT W, *et al*. Mirogabalin: a novel selective ligand for the $\alpha_2\delta$ calcium channel subunit [J]. *Pharmaceuticals*, 2021, **14**(2): 112.

[4] KOMATSU S, NAKAMURA S, NONAKA T, *et al*. Analgesic characteristics of a newly developed $\alpha_2\delta$ ligand, mirogabalin, on inflammatory pain [J]. *Mol Pain*, 2021, **17**: 17448069211052167.

[5] NAKANISHI K, OTA C, YOMIYA K. Analgesic effects of mirogabalin for cancer pain [J]. *Gan to kagaku ryoho*, 2020, **47**(6): 927-931.

[6] TANG H, LU J, DUAN Y, *et al*. The clinical application and progress of mirogabalin on neuropathic pain as a novel selective gabapentinoids [J]. *Mediators Inflamm*, 2023, **2023**: 4893436.

[7] BURGESS J, JAVED S, FRANK B, *et al*. Mirogabalin besylate in the treatment of neuropathic pain [J]. *Drugs Today*, 2020, **56**(2): 135-149.

[8] KATO M, TAJIMA N, SHIMIZU T, *et al*. Pharmacokinetics and safety of a single oral dose of mirogabalin in japanese subjects with varying degrees of renal impairment [J]. *J Clin Pharmaco*, 2018, **58**(1): 57-63.

[9] YAMAMURA N, UCHIYAMA M, TAKAHASHI M, *et al*. Pharmacokinetics and metabolism of mirogabalin, a novel $\alpha_2\delta$ ligand, in rats and monkeys [J]. *Xenobiotica*, 2022, **52**(1): 54-64.

[10] TOYAMA K, ETO T, SUZUKI K, *et al*. Pharmacokinetics and bioequivalence of mirogabalin orally disintegrating tablets and conventional tablets in healthy japanese participants [J]. *Clin Pharmaco Drug Dev*, 2023, **12**(10): 985-990.