

液质联用法测定联用阿兹夫定前后人尿液中依非韦伦浓度

刘冰洁^a, 李青^a, 张西军^a, 常俊标^b

(河南师范大学 a.化学国家级实验教学示范中心;b.化学化工学院,河南 新乡 453007)

摘要:建立液质联用法(HPLC-MS/MS)测定联用阿兹夫定(FNC)前后健康人尿液中的依非韦伦(EFV)浓度,为个体化治疗提供依据。色谱柱为 Hypersil GOLD C18(2.1 mm×100 mm,3 μm),流动相为 2 mmol/L 乙酸铵水溶液和甲醇,流速为 0.2 mL/min,柱温 30 °C,进样量 10 μL,梯度洗脱,质谱采用电喷雾(ESI)电离正离子模式下的选择反应检测扫描(SRM),测定 12 例志愿者.EFV 保留时间为 7.1 min,线性范围为 1~200 ng/mL,在该线性范围内标准曲线的相关性系数 $r^2 > 0.99$.EFV 连续单用 14 d 和联用 FNC 的 7 d 前后,EFV 尿药浓度和排泄量无明显变化.该方法没有明显基质效应,能满足尿药研究需要,灵敏度高、准确性好.EFV 和 FNC 联用对 EFV 的尿样排泄无显著影响。

关键词:依非韦伦;阿兹夫定;药物相互作用;HPLC-MS/MS

中图分类号:O656.3

文献标志码:A

依非韦伦(Efavirenz, EFV)是抗艾滋病治疗的一线用药,是人免疫缺陷病毒-1 型(HIV-1)的选择性非核苷反转录酶抑制剂,脂溶性好,血脑屏障透过率高,并且经常与核苷类的反转录酶抑制剂联合使用^[1].依非韦伦是 P450 氧化酶 CYP2B6 的作用底物,具有中等强度的诱导作用,进而影响相应的药物代谢^[2-3].由于艾滋病患者经常采用鸡尾酒疗法联合治疗,但 EFV 和多种药物均有明显的相互作用,如禁止联合使用的药物有阿司咪唑、特非那定、咪达唑仑、三唑仑、西沙必利、伏立康唑、麦角碱衍生物和金丝桃草.联合用药可能会影响药物的吸收和代谢,治疗中有必要检测 EFV 单用和联用阿兹夫定(Azvadine, FNC)前后的尿液药物浓度,观察 FNC 对 EFV 代谢的影响,用以指导临床用药^[4].FNC 是一种新型的核苷类反转录酶抑制剂,对 HIV-1 有很好的抑制活性,于 2013 年获得国家食品药品监督管理总局(CFDA)批准进行临床研究(临床批件号 2013L00942)^[5-6].因艾滋病一线治疗方案均包含 3 种抗病毒治疗药物,其中包括两种核苷类反转录酶抑制剂(NRTIs)和一种非核苷类反转录酶抑制剂(NNRTIs)^[7].鉴于本研究药物 II 期临床试验拟合并使用 EFV,故本研究将开展 FNC 与 EFV 的药物相互作用临床试验.EFV 单剂量给药的终点半衰期相对较长,为 52~76 h,而多次给药后的半衰期为 40~55 h^[8].放射性标记 EFV,尿中发现的大约占 14%~34%,以原形排泄至尿中的 EFV 小于 1%.本研究建立了一种精密度高、准确度高的液质联用分析方法,测定了 12 例健康人口服单服 EFV(1 片,600 mg/片)和与 FNC(4 片,1 mg/片)联用前后的尿液中 EFV 药物浓度,分析联合用药对药物代谢的潜在影响,结合其临床疗效,研究 EFV 和 FNC 定联用的可行性^[9-10].

1 试剂和仪器

1.1 药品与试剂

EFV 标准品,纯度 100.0%,由郑州大学提供;齐多夫定(AZT,内标),购自中国药品生物制品检定所,批号 10070009;甲醇为色谱纯,购自 Fisher 公司;空白尿液:健康正常人尿液.依非韦伦片(600 mg/片)、阿兹夫定片(1 mg/片).

收稿日期:2019-04-29;修回日期:2019-06-18.

基金项目:NSFC-河南联合基金(U1804283)

作者简介:刘冰洁(1991-),女,河南信阳人,河南师范大学实验师,主要从事药物化学分析技术研究, E-mail:bingjiwait@163.com.

通信作者:常俊标, E-mail:changjunbiao@zzu.edu.cn.

1.2 仪器与设备

高效液相,型号:戴安 Ultimate 3000 液相色谱系统,美国 Thermo 公司生产;质谱,型号:TSQ QUANTUM ULTRA 质谱系统,美国 Thermo 公司生产;旋涡混合仪,型号:HMS-350,天津恒奥科技发展有限公司生产;高速离心机,型号:Centrifuge 5424,德国 Eppendorf 公司生产。

2 试验方法

2.1 色谱、质谱条件

质谱扫描方式采用 SRM 扫描模式,毛细管温度:350 °C,雾化室温度:室温,鞘气流量:40 Arb,辅气流量:10 Arb,正离子扫描喷雾电压:3 500 V.EFV 的质谱检测条件为正离子检测:母离子 316.0,子离子 244.0,碰撞能为 16 V,采集时间段为 6~8 min.内标 AZT 的质谱检测条件为正离子检测:母离子 268.0,子离子 127.0,碰撞能为 12 V,采集时间段为 2~4 min.

液相色谱柱:Hypersil GOLD C18(100 mm×2.1 mm,3 μm);内标:AZT;流动相为 2 mmol/L 乙酸铵水溶液和甲醇,梯度洗脱条件:0.0~4.0 min,甲醇体积百分数从 35%逐渐上升至 85%;4.1~5.0 min,甲醇体积百分数保持 85%;5.1~8.0 min,甲醇体积百分数为 35%.流速:0.2 mL/min;柱温:30 °C;进样器温度:22 °C;进样量:10 μL;进样针润洗液:甲醇和水混合液(体积比 1:1).

2.2 分析物储备液和工作液的配制

以下溶液配制均为双人分别称量,并分别配制。

EFV 储备液 S-1.00 mg/mL:精密称取 10.00 mg EFV 于 10 mL 的容量瓶中,甲醇溶解定容至刻度,配成 1.00 mg/mL 的 EFV 储备液,配好后于冰箱中 4 °C 保存备用.用于标准曲线工作液的配制。

EFV 储备液 Q-1.00 mg/mL:配备方法同 EFV 储备液 S-1.00 mg/mL.用于质控(QC)工作液的配制。

按照逐级稀释的方法分别配制 EFV 标准曲线工作液(1.00、2.00、5.00、20.00、50.00、100.00、200.00 ng/mL)和 EFV QC 工作液(20.00、200.00、1 000.00 ng/mL)。

2.3 标准曲线样品的配制

精密吸取 50 μL 混合空白人尿液于 1.5 mL 离心管(EP 管),依次加入 50 μL EFV 标准曲线工作液(1.00、2.00、5.00、20.00、50.00、100.00、200.00 ng/mL),50 μL 内标溶液(AZT 100.00 ng/mL)和 100 μL 甲醇,涡旋 30 s,14 000 r·min⁻¹离心 5 min,取上清 200 μL,加入 120 μL 水,涡旋 60 s,过膜,14 000 r·min⁻¹离心 3 min,取上清进样 10 μL.精密吸取 50 μL 混合空白人尿液于 1.5 mL EP 管,加入 200 μL 甲醇,其余按上述操作,作为空白样品。

2.4 QC 样品的配制

精密吸取 45 μL 混合空白人尿液于 1.5 mL EP 管,依次加入 5 μL EFV QC 工作液(20.00,200.00,1 000.00 ng/mL),配制一系列浓度的 EFV QC 样品.方法学确证中涉及长期稳定性考察的 QC 样品经预先配制、分装,冻存在-20 °C、-80 °C 冰箱中,按照不同时间取出进行测定.加 50 μL 内标溶液(AZT 100.00 ng/mL)和 150 μL 甲醇,涡旋 30 s,14 000 r·min⁻¹离心 5 min,取上清 200 μL,加入 120 μL 水,涡旋 60 s,过膜,14 000 r·min⁻¹离心 3 min,取上清进样 10 μL.

2.5 含药尿液样品的配制

精密吸取 50 μL 含药尿液于 1.5 mL EP 管,加入 50 μL 内标溶液(AZT 100.00 ng/mL)和 150 μL 甲醇,涡旋 30 s,14 000 r·min⁻¹离心 5 min,取上清 200 μL,加入 120 μL 水,涡旋 60 s,过膜,14 000 r·min⁻¹离心 3 min,取上清进样 10 μL.

2.6 阿兹夫定与依非韦伦相互作用临床试验

临床试验经过伦理许可在首都医科大学附属北京佑安医院进行,受试者首先单独服用 EFV,1 片/次,1 次/天,连续 14 d(第 1~14 天),再同时服用 EFV+FNC,(1 片 EFV+4 片 FNC)/次,1 次/天,连续 7 d(第 14~21 天).两组受试者均于试验前 1 日(d-1)入住 I 期临床试验病房,晚上统一清淡饮食,此后禁食不禁水 10 h 过夜,第 2 天(d1)早上根据随机分配的组别空腹服药,用 200 mL 温水送服.受试者服药时有医护

人员在场,确认受试者服用所给予的药物、剂量、种类和时间,并进行记录.第7、21天给药前(0 h)和第21天给药后(0,4) h、[4,8) h、[8,12) h、[12,24) h采集尿液样本检测 EFV 尿药浓度.

3 试验结果

3.1 专属性

吸取 50 μL 空白尿液(6个不同来源),按“空白样品的配制”项操作,获得空白尿液色谱图:吸取 50 μL 空白尿液,加 EFV 标准品溶液(LLOQ)和内标液,同法操作,得到标准品色谱图;取给药尿液样品 50 μL ,按“含药尿液样品的配制”项操作,获得给药后尿液样品色谱图.空白尿液中在 EFV 保留时间处的杂峰面积需小于 LLOQ 峰面积的 20%.EFV 和内标 AZT 的出峰时间分别为 7.1 min 和 2.6 min.

典型色谱图见图 1~图 3.结果表明尿液样品中 EFV 和内标均有较强的质谱响应,内源性物质不干扰分析测定,专属性良好.

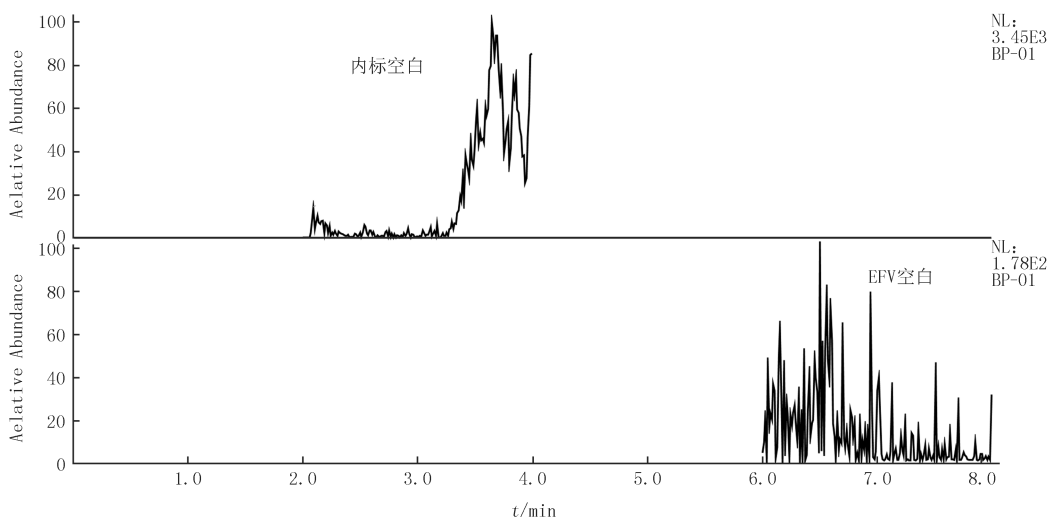


图1 空白尿液色谱图

Fig.1 Representative chromatograms of blank urine

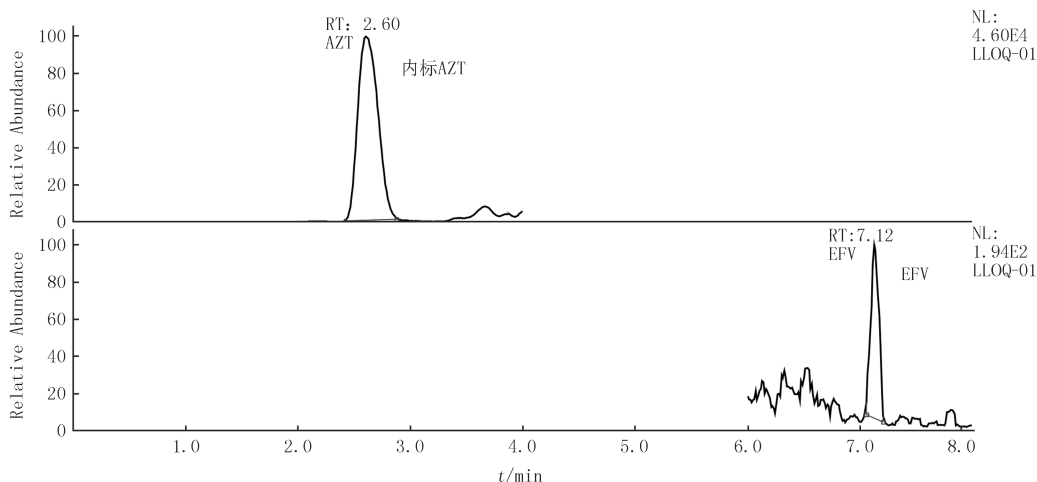


图2 空白尿液加EFV标准品溶液(LLOQ)和内标色谱图

Fig.2 Representative chromatograms of blank urine spiked with EFV and IS

3.2 标准曲线及最低定量下限(LLOQ)

吸取 50 μL 人尿液于 1.5 mL EP 管,依次加入 50 μL EFV 标液(EFV 质量浓度分别为 1,2,5,20,50,

100,200 ng/mL),50 μL 内标溶液(100 ng/mL),100 μL 甲醇,涡旋 30 s,14 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min,取上清200 μL ,加入 120 μL 水,涡旋 60 s,过膜,14 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 3 min,取上清进样 10 μL .每个浓度平行 3 份,建立标准曲线.

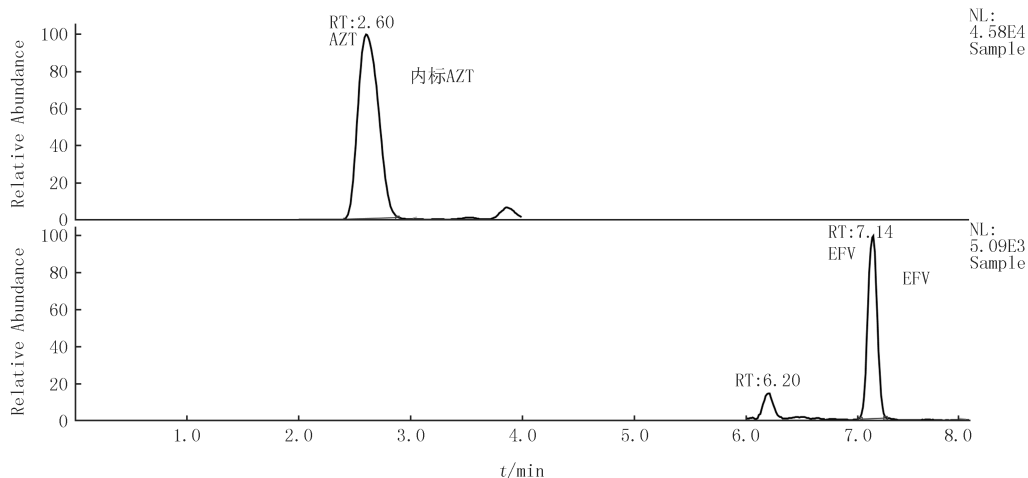


图3 给药后尿液样品色谱图

Fig.3 Representative chromatograms of urine sample after oral EFV

以待测物 EFV 浓度为横坐标,待测物与内标物的峰面积比值为纵坐标,用加权($W = 1/x^2$)最小二乘法进行回归运算,求得直线回归方程,即为标准曲线.标准曲线方程见表 1,标准曲线回归图示例见图 4.在该线性范围内 EFV 的回归系数均在 0.99 以上,标准曲线回算质量浓度与标示值的偏差均在可接受范围内.LLOQ 各浓度点精密度的(%CV)为 7.89%,准确度(%DEV)在(-16.97)%~4.39%之间.

表 1 标准曲线方程

Tab.1 Standard curve equations

线性方程	相关系数(r^2)
$Y = -0.000\ 797\ 417 + 0.002\ 966\ 13 * X$	0.991 4
$Y = -0.000\ 288\ 331 + 0.002\ 805\ 65 * X$	0.993 9
$Y = -5.360\ 95e-005 + 0.001\ 928\ 4 * X$	0.990 7

3.3 精密度和准确度

按“QC 样品的配制”方法用空白尿液制备低、中、高 3 个质量浓度(2、20、100 ng/mL)EFV 样品各 6 个,与随行标准曲线一同进样,考察批内准确度和精密度,连续测定 3 d,考察批间准确度和精密度.准确度要在标示值的 $\pm 15\%$ 以内,在定量下限附近应小于 $\pm 20\%$.精密度要求变异系数不能超过 15%,在定量下限附近应小于 20%.

批内精密度和准确度结果见表 2,低、中、高 3 个质量浓度的 EFV 样品的批内精密度(%CV)在 1.92%~13.51%之间,批内准确度(%DEV)低浓度连续 5 针均值在(-16.50)%~10.00%之间,中、高 2 个浓度在(-7.76)%~7.88%之间,且均在要求的范围内.

批间精密度和准确度结果见表 3,低、中、高 3 个浓度的 EFV 样品 3 个分析批的批间精密度(%CV)在 7.04%~14.91%之间,低、中、高 3 个浓度批间准确度(%DEV)均值分别为 1.50%、1.70%和 1.44%,且均在要求的范围内.

取空白尿液 50 μL ,分别加入 3 个质量浓度 EFV 标准曲线工作溶液 50 μL (2、20、100 ng/mL),内标 50 μL (100 ng/mL),甲醇 100 μL ,涡旋 30 s,14 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min,取上清 200 μL ,加入 120 μL 水,涡旋 60 s,过膜,14 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 3 min,取上清进样 10 μL .每个浓度平行 5 份,测定峰面积,分别以 Rec-L、Rec-M、Rec-H 表示.

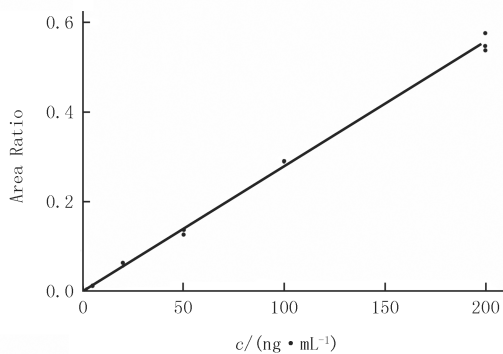


图4 典型标准曲线回归图

Fig.4 Representative chart of curvilinear regression

表2 EFV尿药检测方法学验证结果汇总

Tab.2 Verification results of method for determining the concentration of Efavirenz in urine

参数	计算项	结果/%		
		低质量浓度	中质量浓度	高质量浓度
批间准确度	DEV	-1.50	1.70	1.44
批间精密度	CV	14.91	7.21	7.04
批内准确度	DEV(3 d 测试值从最小到最大)	-16.50~10.00	-6.40~6.15	-7.76~7.88
批内精密度	CV(3 d 测试值从最小到最大)	6.86~13.51	3.47~5.09	1.92~2.30
提取回收率	平均回收率	108.14	113.83	108.91
室温放置 8 h 稳定性	DEV	3.50	8.15	7.65
室温放置 24 h 稳定性	DEV	0.50	9.90	5.61
冻融 1 次稳定性	DEV	-5.50	-1.55	1.71
冻融 3 次稳定性	DEV	-5.50	3.95	2.97
冷冻放 6 个月稳定性	DEV	-10.50	-6.90	-5.45

注:DEV(%)为数据对理论值的相对偏差;CV为数据变异系数计算,以示数据精密度。

取水 50 μL ,分别加入 3 个质量浓度 EFV 标准曲线工作溶液 50 μL (2、20、100 ng/mL),内标 50 μL (100 ng/mL),甲醇 100 μL ,涡旋 30 s,14 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min,取上清 200 μL ,加入 120 μL 水,涡旋 60 s,过膜,14 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 3 min,取上清进样 10 μL .进样测定峰面积,用 Sol-L、Sol-M、Sol-H 表示。

取 540 μL 空白尿液样品处理后的上清液,分别加入 3 个质量浓度 EFV 标准曲线工作溶液 30 μL (5、50、250 ng/mL),内标 30 μL (250 ng/mL),涡旋,离心,取上清液进行测定,所得到的峰面积用 Mat-L、Mat-M、Mat-H 表示.用公式 $(\text{Rec}/\text{Matrix}) \times 100\%$ 分别计算 EFV 和内标的提取回收率.用公式 $(\text{Mat}/\text{Sol}) \times 100\%$ 分别计算 EFV 和内标基质效应。

计算结果得 EFV 平均提取回收率在 $(108.14 \pm 15.43)\%$ ~ $(113.83 \pm 6.73)\%$ 之间;内标的平均提取回收率为 $(113.36 \pm 1.81)\%$.说明提取回收率较高.EFV 平均基质效应在 $(88.32 \pm 2.85)\%$ ~ $(93.95 \pm 2.67)\%$ 之间;内标的平均基质效应为 $(70.46 \pm 1.01)\%$.说明不存在明显基质效应。

3.4 质控(QC)

按“QC样品的配制”方法制备 QC 样品.样品测定当天制备一条标准曲线和大于样本数 5% 的 QC 样品, QC 样品均匀分布于每个分析批,要求偏差一般应小于 15%,低浓度点偏差一般应小于 20%.最多允许 1/3 的 QC 样品结果超限,但不能出现在同一浓度质控样品中。

结果显示,3 个分析批 QC 偏差均符合要求。

3.5 稳定性

配制低、中、高(2、20、100 ng/mL)3 个质量浓度的 EFV 尿液样品各 5 份,于不同保存条件放置,放置后按“含药尿液样品的配制”项操作处理,与随行标准曲线同时测定,考察其稳定性.要求测得浓度变异系数在 15% 以内.考察项目包括:

- 1) 室温放置 8 h 稳定性:将尿液样品在室温放置 8 h 后测定样品质量浓度。
- 2) 处理后放置 24 h 稳定性:将处理后样品放置 24 h 后测定样品质量浓度。
- 3) 冻融稳定性:尿液样品放置 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冻存 12 h,取出室温融化.另取尿液样品按上述操作冻融循环 3 次,测定样品质量浓度。
- 4) 长期稳定性:将尿液样品 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 低温冻存 6 个月后测定样品质量浓度。

结果显示,含药尿液在室温放置 8 h、处理后放置 24 h 后,低、中、高 3 个浓度变异系数(%CV)为 1.26%~8.09%,冻融 1、3 次后变异系数(%CV)在 2.09%~10.84% 之间,尿液样品 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 放置 6 个月后,变异系数(%CV)在 4.01%~9.26% 之间,尿液样品 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 放置 1 年后,变异系数(%CV)在 1.70%~11.35% 之间,准确度结果见汇总表 2,上述结果均在允许的范围内,说明样品在各种保存过程中稳定。

3.6 阿兹夫定与依非韦伦相互作用临床试验

参与试验的 12 位健康志愿者先连续口服单药 EFV 14 d,再合并口服 FNC+EFV 连续 7 d,依据上述 EFV 尿液浓度检测的方法对连续单服 EFV 的最后一天(第 14 天)给药后和合并口服 FNC+EFV 连续 7 d(第 21 天)给药后(0,4) h、[4,8) h、[8,12) h、[12,24) h 采集尿液样本检测 EFV 尿药浓度.各分析批的标准曲线样品和质控样品测定结果均符合分析批接受的要求,受试者 EFV 平均尿药质量浓度见表 3,结果表明,EFV 单用和与 FNC 联用后尿药差异不大,尿液中 EFV 排泄量均小于 1%.

表 3 受试者试验 EFV 尿药质量浓度均值

给药天数	采样时间段/h				
	给药前	(0,4)	[4,8)	[8,12)	[12,24)
14 d	7.23	9.35	7.73	5.86	5.70
21 d	4.67	6.34	9.45	6.02	6.30

4 讨 论

4.1 方法学建立讨论

本研究建立的健康人尿液中 EFV 的 LC-MS/MS 检测方法灵敏度高、准确性好,定量下限为 1 ng/mL,标准曲线范围 1~200 ng/mL.没有明显基质效应,稳定性好,能满足尿药浓度检测的要求.采用内标法定量分析尿液中 EFV 浓度,加入内标齐多夫定能校准和消除由于操作条件和仪器的波动而对分析结果产生的影响,从而提高分析结果的准确度.在液质条件优化过程中发现,流动相从纯水和甲醇更改为乙酸铵溶液和甲醇后,EFV 的质谱响应强度有明显上升,且峰型有所改善,变化乙酸铵溶液的浓度最终采用 2 mmol/L 的乙酸铵溶液和甲醇作为流动相进行梯度洗脱.为了降低尿样中存在的大量无机盐和有机盐对质谱干扰所产生的基质效应,结合 EFV 和内标 AZT 的出峰时间,选择将 0~2 min 的液体切入废液,因为前 2 min 的流出液体中不含需要检测的物质,且含有大量大极性的无机盐和有机盐,这些盐往往是造成质谱基质效应的原因,且不利于质谱的维护保养.

4.2 临床试验结果讨论

目前基于 EFV 联合用药的考察大多仅基于血药浓度的研究,而忽略了尿药浓度的检测,不能全面体现联合用药对药物代谢的影响^[11-13].本研究采用 LC-MS/MS 的方法检测了 EFV 单用和联用 FNC 前后的尿液中的 EFV 浓度,分析联合用药对药物代谢的潜在影响,结合其临床反应,研究 EFV 和 FNC 联用的可行性.结果表明联用 FNC 不影响尿液中 EFV 浓度和排泄量,测定结果结合治疗方案,可为临床抗艾滋病治疗提供药物安全性和有效性依据.

参 考 文 献

- [1] DUARTE H, CRUZ JP, ANICETO N, et al. Population Approach to Efavirenz Therapy[J]. Journal of Pharmaceutical Sciences, 2017, 106(10): 3161-3166.
- [2] 王珍燕, 卢洪州. HIV-1 非核苷类反转录酶抑制剂依非韦伦[J]. 世界临床药物, 2007, 28(11): 680-683.
WANG Z Y, LU H Z. EFV, a non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor of HIV-1[J]. World Clinical Drugs, 2007, 28(11): 680-683.
- [3] LARRU B, EBY J, LOWENTHAL E D. Antiretroviral treatment in HIV-1 infected pediatric patients: focus on efavirenz[J]. Pediatric Health Med Ther, 2014, 5: 29-42.
- [4] 孟现民, 尹康, 董平, 等. 治疗药物监测和基因型为指导的依非韦伦个体化用药研究进展[J]. 世界临床药物, 2014, 35(5): 257-263.
MENG X M, YIN K, DONG P, et al. Research progress of efavirenz individualized medication guided by patient's genotype and therapeutic drug monitoring[J]. World Clinical Drugs, 2014, 35(5): 257-263.
- [5] WANG Q, LIU X B, WANG Q D, et al. FNC, a novel nucleoside analogue inhibits cell proliferation and tumor growth in a variety of human cancer cells in vitro[J]. Biochemical Pharmacology, 2011, 81: 848-855.
- [6] PENG Y M, CHENG T F, DONG L H, et al. Quantification of FNC in rat and dog plasma using liquid chromatography quadrupole time-of-flight and liquid chromatography mass spectrometry Application to bioavailability and pharmacokinetic studies[J]. Journal of Pharmaceutical and Bio-

medical Analysis, 2014, 98: 379-386.

- [7] 张秋月, 张彤. 艾滋病抗病毒治疗现状及其研究进展[J]. 中国病毒病杂志, 2018, 8(2): 103-108.
ZHANG Q Y, ZHANG T. Research progress of AIDS anti-retroviral therapy[J]. Chinese Journal of Viral Diseases, 2018, 8(2): 103-108.
- [8] 陈莉梅, 杨亚楠, 陶春蕾. 超高效液相色谱-质谱联用法测定人血浆中依非韦伦的浓度[J]. 药学与临床研究, 2019, 27(1): 16-20.
CHEN L M, YANG Y N, TAO C L. Quantitative Determination of Efavirenz in Human Plasma by Ultra Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry[J]. Pharmaceutical and Clinical Research, 2019, 27(1): 16-20.
- [9] CURLEY P, SICCARDI M, MOSS D M, et al. Development and validation of an LC-MS/MS assay for the quantification of efavirenz in different biological matrices[J]. Bioanalysis, 2016, 8(20): 2125-2134.
- [10] de MORAES FILHO A V, de JESUS SILVA CARVALHO C, VERCOSA C J J, et al. In vivo genotoxicity evaluation of efavirenz(EFV) and tenofovir disoproxil fumarate(TDF) alone and in their clinical combinations in *Drosophila melanogaster*[J]. Mutation Research-Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, 2017, 820: 31-38.
- [11] 姚亚敏, 刘晓茜, 马芳, 等. 利福布汀与依非韦伦在大鼠体内药动学的相互作用研究[J]. 中国药房, 2012, 23(41): 3869-3871.
YAO Y M, LIU X Q, MA F, et al. Interaction of Rifabutin and Efavirenz on Pharmacokinetics in Rats[J]. China Pharmacy, 2012, 23(41): 3869-3871.
- [12] 周波, 李燕青, 陈谐捷. HPLC法测定联用利福平前后 HIV感染者血浆中依非韦伦浓度[J]. 今日药学, 2016, 8: 541-544.
ZHOU B, LI Y Q, CHEN X J. Determination of Efavirenz in HIV Patients' Plasma before and after Coadministration with Rifampicin by HPLC[J]. Pharmacy Today, 2016, 8: 541-544.
- [13] NDOLO S M, SICHILNGO K, MASSELE A, et al. An Investigation of Liquid Chromatography-Mass Spectral Attributes and Analytical Performance Characteristics of Tenofovir, Emtricitabine and Efavirenz in Human Plasma[J]. Journal of Analytical Toxicology, 2016, 40: 49-57.

Determination of efavirenz in healthy volunteer's urine before and after co-administration with azvudine by HPLC-MS/MS

Liu Bingjie^a, Li Qing^a, Zhang Xijun^a, Chang Junbiao^b

(a. National Demonstration Center for Experimental Chemistry Education;

b. School of Chemistry and Chemical Engineering, Henan Normal University, Xinxiang 453007, China)

Abstract: To establish an HPLC-MS/MS method for determining the concentration of efavirenz in healthy volunteer's urine before and after co-administration with Azvudine(FNC). The HPLC procedure was performed on the Hypersil GOLD C18 (2.1 mm×100 mm, 3 μm), with the mobile phase composed of methanol and ammonium acetate solution (2 mmol/L), at the flow rate of 0.2 mL/min, column temperature was 30 °C, the injection volume was 10 μL, gradient elution method was used for HPLC and SRM scanning in positive ESI ionization mode was used for mass spectrometry in the determination of the 12 volunteers. The EFV's retention time was 7.1 min, with a linearity range of 1–200 ng/mL the standard curve's equation was established, $r^2 > 0.99$. The concentration and excretion of EFV in urine showed no significant change after 14 consecutive days of single-use EFV and 7 consecutive days of EFV combined with FNC. This determination method with small matrix effect is sensitive, accurate, and reliable, could be used to detect the concentration of EFV in urine. The co-administration of EFV and FNC had no significant effect on the excretion of EFV in urine.

Keywords: efavirenz; azvudine; drug interaction; HPLC-MS/MS

[责任编辑 赵晓华 陈留院]