

# HPLC法同时测定人血浆中拉米夫定、齐多夫定和奈韦拉平的浓度<sup>Δ</sup>

邹尚荣<sup>1\*</sup>, 李燕青<sup>1</sup>, 周波<sup>1</sup>, 简凤璧<sup>1</sup>, 陈谐捷<sup>2</sup> (1.广州市第八人民医院药剂科, 广州 510060; 2.广州市第八人民医院感染科, 广州 510060)

中图分类号 R969.1; R512.91 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)18-1665-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.18.11

**摘要** 目的: 建立能同时测定人血浆中拉米夫定(3TC)、齐多夫定(AZT)和奈韦拉平(NVP)浓度的方法。方法: 血浆用乙腈沉淀处理后, 以乙酸乙酯提取后进行高效液相色谱法测定。色谱柱为Agilent XDB-C<sub>18</sub>, 流动相为乙腈-水溶液(梯度洗脱), 流速为0.8 ml/min, 检测波长为268 nm, 柱温为30 ℃, 内标为甲硝唑。结果: 3TC、AZT、NVP血药浓度分别在0.05~10 μg/ml( $r=0.9981$ )、0.05~10 μg/ml( $r=0.9990$ )、0.1~20 μg/ml( $r=0.9993$ )范围内线性关系良好, 定量限分别为0.05、0.05、0.1 μg/ml; 平均方法回收率分别为96.36%~105.84%、98.73%~101.93%、98.78%~108.07%, 日内、日间RSD<8%。结论: 本方法简便、快速、准确、灵敏, 可用于同时使用3TC、AZT和NVP的艾滋病患者的临床治疗药物监测及药动力学研究。

**关键词** 拉米夫定; 齐多夫定; 奈韦拉平; 高效液相色谱法; 治疗药物监测

## Simultaneous Determination of Lamivudine, Zidovudine and Nevirapine in Human Plasma by HPLC

ZOU Shang-rong<sup>1</sup>, LI Yan-qing<sup>1</sup>, ZHOU Bo<sup>1</sup>, JIAN Feng-bi<sup>1</sup>, CHEN Xie-jie<sup>2</sup> (1.Dept. of Pharmacy, Guangzhou Eighth People's Hospital, Guangzhou 510060, China; 2.Dept. of Infectious Disease, Guangzhou Eighth People's Hospital, Guangzhou 510060, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish a sensitive and rapid method for the simultaneous determination of lamivudine (3TC), zidovudine (AZT) and nevirapine (NVP) in human plasma. METHODS: The plasma were extracted with ethyl acetate after precipitated by acetonitrile. The determination was performed on Agilent XDB-C<sub>18</sub> with mobile phase consisted of acetonitrile-water (gradient elution) at the flow rate of 0.8 ml/min. The detection wavelength was 268 nm, and column temperature was 30 ℃. Metronidazole was used as the internal standard. RESULTS: The linear range of 3TC, AZP, NVP were 0.05-10 μg/ml ( $r=0.9981$ ), 0.05-10 μg/ml ( $r=0.9990$ ), 0.1-20 μg/ml ( $r=0.9993$ ), respectively; and the limits of quantitation was 0.05, 0.05, 0.1 μg/ml respectively. the average method recovery were 96.36%-105.84%, 98.73%-101.93%, 98.78%-108.07%, respectively. The intra-day and inter-day RSD were all <8%. CONCLUSIONS: The method is simple and rapid, accurate, sensitive, and can be used for therapy drug monitoring and pharmacokinetic study of AIDS patients receiving 3TC, AZT and NVP simultaneously.

**KEYWORDS** Lamivudine; Zidovudine; Nevirapine; HPLC; Therapy drug monitoring

- =====  
[10] 李芹, 王睿, 郭雅, 等. 中国人群细胞色素 P<sub>450</sub>2D6 基因多态性对曲马多药代动力学的影响[J]. 中国临床药理学, 2009, 25(4): 302.
- [11] Saccomanni G, Carlo SD, Giorgi M, et al. Determination of tramadol and metabolites by HPLC-FL and HPLC-MS/MS in urine of dogs[J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2010, 53(2): 194.
- [12] Leo MD, Giorgi M, Saccomanni G, et al. Evaluation of tramadol and its main metabolites in horse plasma by high-performance liquid chromatography/fluorescence and liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry techniques[J]. *Rapid Communication in Mass Spectrometry*, 2009, 23(3): 228.
- [13] 张丽娟, 余勤, 南峰, 等. HPLC-MS/MS法同时测定人血浆中曲马多和文拉法辛[J]. 中国新药杂志, 2008, 17(6): 498.
- [14] Liu P, Liang S, Wang BJ, et al. Development and validation of a sensitive LC-MS method for the determination of tramadol in human plasma and urine[J]. *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 2009, 34(3/4): 185.
- [15] Vlase L, Leucuta SE, Imre S. Determination of tramadol and O-desmethyltramadol in human plasma by high-performance liquid chromatography with mass spectrometry detection[J]. *Talanta*, 2008, 75(4): 1 104.

(收稿日期: 2014-01-23 修回日期: 2014-02-20)

Δ 基金项目: 广东省医学科研基金立项课题(No.A2013523); 广州市医药卫生科技项目(No.201102A213157)

\* 副主任药师, 硕士。研究方向: 临床药理学及药事管理。电话: 020-83710515。E-mail: 627bgs@163.com

高效抗逆转录病毒治疗(Highly active anti-retroviral therapy, HAART)是目前抗人类免疫缺陷病(HIV)治疗的最有效和最主要的措施。初治 HIV 感染/艾滋病(AIDS)患者治疗推荐方案为 2 种核苷类逆转录酶抑制剂(NRTIs)+1 种非核苷类逆转录酶抑制剂(NNRTIs)或 2 种 NRTIs+1 种加强型蛋白酶抑制剂(PIs) (含利托那韦)<sup>[1]</sup>。拉米夫定(Lamivudine, 3TC)、齐多夫定(Zidovudine, AZT)、奈韦拉平(Nevirapine, NVP)三者合用是我国目前抗 HIV 治疗常用的三联用药方案之一, 前两者属于 NRTIs, 而后者属于 NNRTIs。为便于临床进行血药浓度监测和开展药动学研究, 本试验以甲硝唑(Metronidazole)为内标, 建立了同时测定人血浆中 3TC、AZT 和 NVP 浓度的高效液相色谱(HPLC)法。

## 1 材料

### 1.1 仪器

Agilent 1200 高效液相色谱仪, 包括 G1314B 型紫外检测器、Agilent 色谱化学工作站(美国 Agilent 公司); XW-B 型涡旋混合器(江苏康健医疗用品有限公司); AL204 型电子天平(瑞士 Mettler Toledo 公司); 5417R 型高速冷冻离心机(德国 Eppendorf 公司); B320A 型离心机(北京白洋医用离心机有限责任公司); DZF-6021 型真空干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司)。

### 1.2 药品与试剂

3TC 对照品(中国药品生物制品检定研究院, 批号: 101007-200701, 纯度 >99.7%); AZT 对照品(中国药品生物制品检定研究院, 批号: 100672-200401, 纯度 >99.5%); NVP 对照品(中国药品生物制品检定研究院, 批号: 100641-200401, 纯度 >99.5%); 内标: 甲硝唑(安徽双鹤药业有限责任公司, 批号: 1209205D); 乙腈、乙酸乙酯为色谱纯, 水为双重蒸馏去离子水。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱: Agilent Eclipse XDB-C<sub>18</sub>(150 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-水(梯度洗脱程序: 0~10 min 为 5:95, 10.1~18.8 min 为 25:75); 流速: 0.8 ml/min; 柱温: 30 ℃; 检测波长: 268 nm; 进样量: 30 μl。

### 2.2 对照品贮备液的制备

准确称取 3TC、AZT、NVP 对照品各适量, 分别置于 10 ml 量瓶中, 用甲醇溶解并定容至刻度, 制得质量浓度为 1 mg/ml 的对照品贮备液, 贮存于 4 ℃ 冰箱内避光保存备用。试验前按需用乙腈-水(10:90)混合液稀释至相应浓度并混合成 3TC-AZT-NVP 标准溶液。

### 2.3 内标贮备液、内标溶液的制备

准确称取甲硝唑适量置于 10 ml 量瓶中, 用甲醇定容至刻度, 配制成质量浓度为 1 mg/ml 的内标贮备液, 贮存于 4 ℃ 冰箱内避光保存备用。试验前用乙腈-水(10:90)混合液稀释成浓度为 30 μg/ml 的内标溶液。

### 2.4 供试品溶液的制备

取含药血浆 0.25 ml, 置 2.0 ml 离心管中, 加入内标溶液(30 μg/ml 甲硝唑溶液) 50 μl, 涡旋振荡 3 s, 再加入乙腈 0.75 ml, 密塞, 涡旋振荡 1 min, 以离心半径为 8 cm、转速为 14 000 r/min 离心 10 min。吸取上清液置 5.0 ml 的离心管内, 加入乙酸乙酯 3.0 ml, 密塞, 涡旋振荡 1 min, 以离心半径为 8 cm、转速为 5 000 r/min 离心 10 min。吸取上清液置 5.0 ml 的离心管内,

真空干燥(42 ℃)至干。进样前加入乙腈-水(10:90)200 μl, 涡旋振荡 10 s 溶解残渣, 以离心半径为 8 cm、转速为 5 000 r/min 离心 10 min, 吸取 30 μl 上清液进样分析。

### 2.5 专属性考察

取空白血浆 0.25 ml 置 2.0 ml 锥形离心管中, 除不加内标外, 按“2.4”项方法操作, 按“2.1”项色谱条件测定, 获得空白血浆样品的色谱图, 见图 1A; 将一定浓度的 3TC-AZT-NVP 混合标准溶液和内标溶液加入空白血浆中, 同法操作获得色谱图 1B, 3TC、AZT、NVP 和甲硝唑分别在 6.1、14.4、17.7、11.2 min 出峰; 取 HIV 感染者同时口服 3TC 片(艾息®, 安徽贝克生物制药有限公司)、AZT 片(克度®, 东北制药总厂)及 NVP 片(艾太®, 浙江华海药业股份有限公司)后收集的血浆样品, 同法操作, 得色谱图 1C。由图 1 可见, 3TC、AZT、NVP 及内标的测定不受血浆中内源性物质的干扰, 本方法具有较高的专属性。

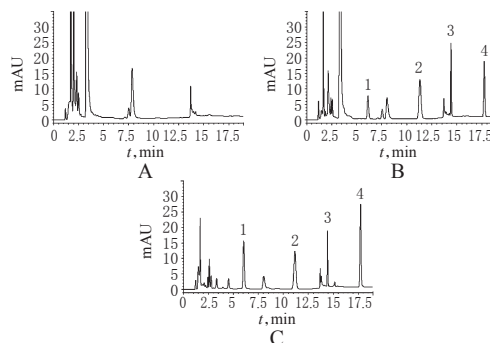


图 1 典型色谱图

A. 空白血浆; B. 空白血浆+3TC(1 μg/ml)+AZT(1 μg/ml)+NVP(2 μg/ml)+甲硝唑(6 μg/ml); C. 受试者口服 3TC 片(300 mg)、AZT 片(600 mg)和 NVP 片(400 mg)后收集的血浆样品; 1. 3TC; 2. 甲硝唑; 3. AZT; 4. NVP

Fig 1 Typical chromatogram

A. blank plasma; B. blank plasma+3TC(1 μg/ml)+AZT(1 μg/ml)+NVP(2 μg/ml)+metronidazole(6 μg/ml); C. plasma after taking 3TC tablet(300 mg), AZT tablets(600 mg) and NVP tablets(400 mg) orally; 1. 3TC; 2. metronidazole; 3. AZT; 4. NVP

### 2.6 标准曲线及定量下限考察

取空白血浆 0.25 ml, 分别加入同时含有质量浓度为 0、0.25、0.5、2.5、5、25、40、50 μg/ml 3TC, 0、0.25、0.5、2.5、5、25、40、50 μg/ml AZT 以及 0、0.5、1、5、10、50、80、100 μg/ml NVP 的 3TC-AZT-NVP 混合标准溶液 50 μl, 振荡 3 s, 使 3TC 血药浓度相当于 0、0.05、0.1、0.5、1、5、8、10 μg/ml, AZT 血药浓度相当于 0、0.05、0.1、0.5、1、5、8、10 μg/ml, NVP 血药浓度相当于 0、0.1、0.2、1、2、10、16、20 μg/ml。其余项按“2.4”项方法处理, 进样测定, 记录色谱。以药物峰面积与内标甲硝唑峰面积之比(y)对药物血浆浓度与内标甲硝唑浓度之比(x)进行线性回归, 分别得 3TC、AZT、NVP 回归方程为:  $y=2.095x+0.0187$  ( $r=0.9981, n=7$ );  $y=2.7668x+0.0218$  ( $r=0.9990, n=7$ );  $y=2.1348x+0.0162$  ( $r=0.9983, n=7$ )。结果表明, 三者血药浓度分别在 0.05~10、0.05~10、0.1~20 μg/ml 范围内线性关系良好; 定量限分别为 0.05、0.05、0.1 μg/ml。

### 2.7 精密度及方法回收率试验

按“2.6”项方法分别配制低(3TC 0.1 μg/ml、AZT 0.1 μg/ml、NVP 0.2 μg/ml)、中(3TC 1 μg/ml、AZT 1 μg/ml、NVP 2 μg/ml)和高(3TC 8 μg/ml、AZT 8 μg/ml、NVP 16 μg/ml)质量浓度

的3TC-AZT-NVP血浆质控样品各15份,分为3批,每批5份,每批随行标准曲线,依“2.4”项方法处理后,按“2.1”项色谱条件进样测定,计算质控样品的浓度。将测得量与配制量对照,考察本法的准确度(方法回收率)和精密度,结果分别见表1、表2及表3。结果表明,本法测定血浆中3TC、AZT与NVP浓度的准确性与精密度高、重现性好。

### 2.8 提取回收率试验

表1 3TC回收率与精密度试验结果

Tab 1 Results of recovery and precision tests of 3TC

配制量, $\mu\text{g/ml}$	日内精密度 ( $n=5$ )		日间精密度 ( $n=5$ )		方法回收率 ( $n=5$ )		提取回收率 ( $n=3$ )	
	测得量 ( $\bar{x} \pm s$ ), $\mu\text{g/ml}$	RSD, %	测得量 ( $\bar{x} \pm s$ ), $\mu\text{g/ml}$	RSD, %	平均值, %	RSD, %	平均值, %	RSD, %
0.1	0.100 $\pm$ 0.006	6.37	0.099 $\pm$ 0.005	4.96	96.36	3.59	63.64	6.77
1	0.95 $\pm$ 0.08	7.99	0.98 $\pm$ 0.06	4.15	98.65	3.48	61.60	4.87
8	8.32 $\pm$ 0.29	3.44	8.29 $\pm$ 0.24	5.00	105.84	1.68	62.16	4.65

表2 AZT回收率与精密度试验结果

Tab 2 Results of recovery and precision tests of AZT

配制量, $\mu\text{g/ml}$	日内精密度 ( $n=5$ )		日间精密度 ( $n=3$ )		方法回收率 ( $n=5$ )		提取回收率 ( $n=3$ )	
	测得量 ( $\bar{x} \pm s$ ), $\mu\text{g/ml}$	RSD, %	测得量 ( $\bar{x} \pm s$ ), $\mu\text{g/ml}$	RSD, %	平均值, %	RSD, %	平均值, %	RSD, %
0.1	0.091 $\pm$ 0.004	4.36	0.100 $\pm$ 0.005	3.48	98.73	2.85	89.21	2.69
1	0.99 $\pm$ 0.03	3.10	0.99 $\pm$ 0.04	7.45	101.93	1.36	84.74	3.23
8	8.23 $\pm$ 0.15	1.84	8.03 $\pm$ 0.28	6.27	100.78	1.61	89.52	2.47

表3 NVP回收率与精密度试验结果

Tab 3 Results of recovery and precision tests of NVP

配制量, $\mu\text{g/ml}$	日内精密度 ( $n=5$ )		日间精密度 ( $n=3$ )		方法回收率 ( $n=5$ )		提取回收率 ( $n=3$ )	
	测得量 ( $\bar{x} \pm s$ ), $\mu\text{g/ml}$	RSD, %	测得量 ( $\bar{x} \pm s$ ), $\mu\text{g/ml}$	RSD, %	平均值, %	RSD, %	平均值, %	RSD, %
0.2	0.203 $\pm$ 0.008	3.81	0.200 $\pm$ 0.008	6.46	98.78	3.43	90.90	5.10
2	2.09 $\pm$ 0.02	1.18	2.09 $\pm$ 0.09	7.92	108.07	1.39	88.67	2.80
16	16.06 $\pm$ 0.28	1.77	16.36 $\pm$ 0.65	3.82	104.26	6.58	87.23	2.00

### 2.9 稳定性试验

按“2.6”项方法分别配制低(3TC 0.1  $\mu\text{g/ml}$ 、AZT 0.1  $\mu\text{g/ml}$ 、NVP 0.2  $\mu\text{g/ml}$ )、中(3TC 1  $\mu\text{g/ml}$ 、AZT 1  $\mu\text{g/ml}$ 、NVP 2  $\mu\text{g/ml}$ )和高(3TC 8  $\mu\text{g/ml}$ 、AZT 8  $\mu\text{g/ml}$ 、NVP 16  $\mu\text{g/ml}$ )质量的3TC-AZT-NVP血浆质控样品,分别考察经室温避光放置1 h和24 h、冻融1次和3次、-20  $^{\circ}\text{C}$ 冻存3 d和7 d的稳定性。结果3种血药浓度3TC、AZT和NVP在上述条件下的RSD值均<15%,符合方法学要求。

### 2.10 临床样本检测

从我院HIV门诊抽取9例HIV/AIDS患者的血浆,这些患者均服用3TC-AZT-NVP治疗方案且达半年以上。血浆样本按“2.4”项方法处理后,按“2.1”项色谱条件进行测定,结果见表4。

表4 HIV/AIDS患者血浆3TC-AZT-NVP浓度测定结果

Tab 4 Determination results of 3TC-AZT-NVP blood concentration of HIV/AIDS patients

编号	性别	年龄, 岁	体质量, kg	服药后至抽血时间间隔, h			血药浓度, $\mu\text{g/ml}$		
				3TC	AZT	NVP	3TC	AZT	NVP
1	男	39	65	14	2	2	0.115	0.199	3.011
2	男	47	85	14	2	2	0.352	0.127	6.297
3	男	32	70	13	1	1	0.054	0.144	6.043
4	女	30	53	14	2	2	0.093	0.140	4.019
5	男	41	75	1.25	1.25	1.25	2.020	0.393	3.909
6	男	65	52	13.5	1.5	1.5	0.174	0.121	5.211
7	男	38	55	13.5	1.5	1.5	0.144	0.151	4.898
8	男	29	53	13	1	1	0.109	0.131	4.063
9	男	43	69	3	3	3	1.097	0.280	4.132

分别配制低(3TC 0.1  $\mu\text{g/ml}$ 、AZT 0.1  $\mu\text{g/ml}$ 、NVP 0.2  $\mu\text{g/ml}$ )、中(3TC 1  $\mu\text{g/ml}$ 、AZT 1  $\mu\text{g/ml}$ 、NVP 2  $\mu\text{g/ml}$ )和高(3TC 8  $\mu\text{g/ml}$ 、AZT 8  $\mu\text{g/ml}$ 、NVP 16  $\mu\text{g/ml}$ )质量的3TC-AZT-NVP血浆质控样品,处理后测定,以所得峰面积与相应浓度对照品溶液直接进样所得峰面积比较,计算提取回收率,结果分别见表1、表2及表3。结果表明,3TC、AZT与NVP低、中、高3个浓度的提取回收率对测定结果影响程度基本一致。

## 3 讨论

HAART是全球公认为现今抗病毒治疗HIV感染/AIDS最主要的有效措施,但所用药物在有效抑制病毒复制的同时,毒副作用较大、耐药及个体差异等问题突出。通过治疗药物监测(TDM)指导临床个体化合理用药,提高抗病毒治疗效果和患者的依从性,尽可能避免过高药量导致的毒副作用和偏低药量诱发耐药等情况则显得尤为重要。

同时检测血浆中3TC、AZT、NVP浓度的方法,有HPLC-紫外(UV)法<sup>[2]</sup>和液-质联用(LC-MS/MS)法<sup>[3-4]</sup>。LC-MS/MS法灵敏度高,但设备较昂贵,难将其常规应用于二、三级医院的TDM。HPLC法稳定性好、成本较低,可满足抗HIV药物临床监测的需要,故本研究意在探寻HPLC-UV法同时测定3种常用抗HIV药物浓度的优选方法,并用于TDM。

根据文献<sup>[5]</sup>,3TC、AZT、NVP的最大吸收波长分别为275、268、282 nm。最大吸收波长处的响应值(AU)从大到小分别为NVP、3TC和AZT。综上,比较三者者在268、273、278 nm波长处的响应值:3TC在268 nm与273 nm波长处AU相近且大于其在278 nm处AU;AZT在268 nm波长处AU为三波长中最高;NVP虽在268 nm波长处AU为中值,但亦为此处3TC及AZT AU的6~7倍。为使三者均有较好响应,故确定268 nm为本研究方法的检测波长。

将法莫替丁、司他夫定、甲硝唑、替硝唑、奥硝唑等作内标考察,发现司他夫定、甲硝唑、替硝唑、奥硝唑在本方法的色谱条件下有较强吸收,但唯有甲硝唑的出峰时间最合适,且介于3TC和AZT之间、分离度好、内源性物质不干扰,故确定甲硝唑为内标。

# RP-HPLC法测定肾移植术后患者血浆中伏立康唑的浓度

王超<sup>1\*</sup>, 张弋<sup>2</sup>(1.天津医科大学一中心临床学院,天津 300070;2.天津市第一中心医院,天津 300192)

中图分类号 R969.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)18-1668-03  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.18.12

**摘要** 目的:建立一种快速检测肾移植术后患者血浆中伏立康唑浓度的方法。方法:血浆样品处理后,采用反相高效液相色谱(RP-HPLC)检测。色谱柱为Agilent HC-C<sub>18</sub>,流动相为0.05 mol/L磷酸二氢钠(pH 6)-乙腈(40:60),流速为1.0 ml/min,柱温为40 ℃,进样量为20 μl,测定波长为254 nm。结果:伏立康唑血药浓度在0.258~25.8 mg/L范围内线性关系良好( $r=0.9998$ ),定量下限为0.258 mg/L;最低检测限为0.085 mg/L;3种浓度样的日内、日间RSD<6%;平均回收率在95%~120.0%之间。并采用此方法测定3例肾移植患者服用伏立康唑10 d血浆中的伏立康唑的浓度分别为4.826、4.045、1.564 mg/L。结论:本方法操作简便、结果准确,适用于人血浆中的伏立康唑药物浓度的检测。

**关键词** 伏立康唑;反相高效液相色谱法;血药浓度;肾移植;药动学

## Determination of Voriconazole Concentration in Patients after Renal Transplantation by RP-HPLC

WANG Chao<sup>1</sup>, ZHANG Yi<sup>2</sup>(1. The First Center Clinical College of Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China; 2. Tianjin First Center Hospital, Tianjin 300192, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish a rapid detective method for concentration determination of voriconazole in human plasma of renal transplantation patients. METHODS: Plasma samples were extracted, then RP-HPLC method was adopted. The determination was performed on Agilent HC-C<sub>18</sub> column with mobile phase composed of 0.05 mol/L sodium dihydrogen phosphate (pH=6)-acetonitrile (60:40) at the flow rate of 1.0 ml/min and column temperature of 40 ℃. The sample size was 20 μl, and the detection wavelength was set at 254 nm. RESULTS: The linear range of voriconazole was 0.258-25.8 mg/L ( $r=0.9998$ ); quantitative limit was 0.258 mg/L, and detection limit was 0.085 mg/L; RSDs of intra-day and inter-day of high, medium and low concentrations were all lower than 6%; average recoveries were 95%-120.0%. Drug concentration of voriconazole in 3 renal transplantation patients was determined by this method 10 days after voriconazole administration, the determination results were 4.826, 4.045, 1.564 mg/L respectively. CONCLUSIONS: The method is easy, accurate, and suitable for the concentration determination of voriconazole in patients.

**KEYWORDS** Voriconazole; RP-HPLC; Plasma concentration; Renal transplant; Pharmacokinetics

3TC极性强,NVP极性弱,AZT极性介于两者之间。单用乙腈、乙酸乙酯或叔丁基甲醚提取,难达到理想提取效果。用乙腈-乙酸乙酯混合体系(2:1、1:1、1:2)作提取溶剂,3种目标药物及内标皆能被提取。但仅采用一步液-液萃取后杂质始终较多,且杂质会随乙腈比例的增加而增加。故采取先用乙腈沉淀后再对上清液用乙酸乙酯进行萃取的方法,结果显示杂质明显减少,提取效果较好。

AIDS患者常因HAART和机会性感染治疗而需同时服用较多药物。本方法对9例门诊临床样本进行检测,3种目标药物及内标皆无干扰(见图1C),证明本法可应用于AIDS患者TDM。由表4可知,患者的3TC-AZT-NVP血药浓度存在较明显个体差异,有必要对HAART进行TDM以确保疗效稳定。

本方法仅需用0.25 ml血浆,低于文献报道的0.50 ml<sup>[2]</sup>,无需固相萃取<sup>[3]</sup>,对检测设备要求不高<sup>[3-4]</sup>,操作简单、快速、灵敏,检测结果准确、重复性好,是临床常规开展3TC、AZT和NVP血药浓度同时监测及药动力学研究的优选方法。

### 参考文献

[1] 中华医学会感染病学分会艾滋病学组.中华医学会第五

次全国艾滋病、病毒性丙型肝炎暨全国热带病学术会议论文汇编[C].2011:44.

[2] Nandi U, Das A, Roy B, *et al.* Development and validation of an HPLC-UV method for simultaneous determination of zidovudine, lamivudine, and nevirapine in human plasma and its application to pharmacokinetic study in human volunteers[J]. *Drug Test Anal*, 2013, 5(6): 485.

[3] Kumar VR, Reddy BR, Sreekanth K, *et al.* High throughput LC-MS/MS method for simultaneous determination of zidovudine, lamivudine and nevirapine in human plasma[J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2013(921/922): 9.

[4] 李周,丁存刚,葛庆华,等.人血浆中拉米夫定、齐多夫定、奈韦拉平的LC-MS/MS法测定[J]. *中国医药工业杂志*, 2010, 41(3): 200.

[5] Herve R, Bernard M, Corinne C, *et al.* Determination of 19 antiretroviral agents in pharmaceuticals or suspected products with two methods using high-performance liquid chromatography[J]. *J Chromatogr B*, 2007, 850: 376.

(收稿日期:2013-12-30 修回日期:2014-01-10)

\* 硕士研究生。研究方向:临床药理学。电话:022-23626463。  
E-mail: moyan19880331@163.com