

LC-MS/MS 法测定人血浆中霉酚酸浓度及其在心脏移植患者药动力学研究中的应用*

赵晓亚¹, 王艺茸^{2,3}, 周红², 蔡杰⁴, 张菁⁴, 向红平², 张敏^{2,3}, 韩勇²

(1. 武汉海关技术中心, 武汉 430021; 2. 华中科技大学同济医学院附属协和医院药剂科, 武汉 430022; 3. 重庆医科大学药学院, 重庆 400016; 4. 华中科技大学同济医学院附属协和医院心血管外科, 武汉 430022)

摘要 目的 建立一种液相色谱-质谱串联 (LC-MS/MS) 法测定人血浆中霉酚酸 (MPA) 浓度, 用于心脏移植患者药动力学研究及治疗药物浓度监测。方法 取血浆样品 200 μL , 加入 MPA- d_3 内标 ($2 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 20 μL 乙腈沉淀, 取上清液进样。Agilent ZORBAX SB-C₁₈ (2.1 mm \times 50 mm, 3.5 μm) 色谱柱进行分离; 5 mmol 乙酸铵 (0.25% 甲酸) 溶液 (A)-乙腈 (B) 为流动相, 梯度洗脱, 流速 0.2 mL \cdot min⁻¹。用多反应监测进行定量, ESI 负离子方式进行检测, 用于定量分析的离子对为 m/z 319.1 \rightarrow 191.0 (MPA) 与 m/z 322.1 \rightarrow 191.1 (内标 MPA- d_3)。6 例心脏移植患者采用他克莫司+吗替麦考酚酯 (MMF)+泼尼松的三联免疫抑制方案, 测定首次服用 MMF 后 0~12 h 的 MPA 浓度并计算药动力学参数。30 例患者服用 MMF 0.5 g q12h, 至少 7 d, 检测达稳态后的谷浓度。结果 MPA 在 0.1~40 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内线性良好 ($R^2>0.99$)。MPA 日内及日间变异均小于 10%。提取回收率为 96.3%~97.9%, 基质效应为 99.7%~106.5%。6 例心脏移植患者单次给予 MMF 1 g 后, MPA 的主要药动力学参数: 峰浓度 (C_{max}) 为 (7.58 ± 5.09) $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 峰时间 (t_{max}) 为 (1.83 ± 1.13) h, AUC_{0-12} 为 (26.58 ± 7.23) $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1} \cdot \text{h}$, $\text{AUC}_{0-\infty}$ 为 (37.41 ± 14.42) $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1} \cdot \text{h}$, $t_{1/2}$ 为 (7.53 ± 8.01) h, CL/F 为 (29.36 ± 7.78) L \cdot h⁻¹, V_d 为 (258.80 ± 177.96) L。30 例患者血浆 MPA 稳态谷浓度为 0.37~3.832 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 个体间变异高达 59.2%。结论 该研究所建立的方法简单、准确、灵敏、专属性强, 适用于心脏移植患者 MPA 药动力学研究及治疗药物浓度监测。

关键词 霉酚酸; 心脏移植; 药动力学; 血药浓度监测; LC-MS/MS 法

中图分类号 R979.5

文献标识码 A

文章编号 1004-0781(2019)10-1326-05

DOI 10.3870/j.issn.1004-0781.2019.10.019

开放科学 (资源服务) 标识码 (OSID)



Determination of Mycophenolic Acid in Plasma Concentration by LC-MS/MS Method and Its Pharmacokinetic in Heart Transplant Patients

ZHAO Xiaoya¹, WANG Yirong^{2,3}, ZHOU Hong², CAI Jie⁴, ZHANG Jing⁴, XIANG Hongping², ZHANG Ming^{2,3}, HAN Yong² (1. Technology Center of Wuhan Customs District, Wuhan 430021, China; 2. Department of Pharmacy, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, China; 3. College of Pharmacy, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China; 4. Department of Cardiovascular Surgery, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, China)

ABSTRACT Objective To establish a LC-MS/MS method for the determination of mycophenolic acid (MPA) and further applied in investigating pharmacokinetic study and therapeutic drug monitoring in heart transplant patients. **Methods** The internal standard MPA- d_3 ($20 \mu\text{L}$, $2 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) was added into 200 μL of plasma, and precipitated with acetonitrile. The supernatant was collected for injection. High-performance liquid chromatographic separation was performed on an Agilent ZORBAX SB-C₁₈ (2.1 mm \times 50 mm, 3.5 μm) column with 5 mmol ammonium acetate in 0.25% formic acid and acetonitrile as the mobile phases in a gradient manner. The flow rate was set at 0.2 mL \cdot min⁻¹. Multiple reactions monitoring mode (MRM) was adopted, and electrospray ionization (ESI) was a negative-ion. The precursor ion \rightarrow product ion transitions m/z was 319.1 \rightarrow 191.0 for MPA and m/z 322.1 \rightarrow 191.1 for MPA- d_3 , respectively. Six heart transplant patients treated with triple immunotherapy including mycophenolate mofetil (MMF) were enrolled in this study. MPA concentrations were determined within 0-12 h after the first dose and pharmacokinetic parameters were calculated. Thirty patients were at the dose of 0.5 g twice daily, concentrations of MPA at steady state were also determined. **Results** MPA was in a good linearity within 0.1-40 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$. Inter- and intra-day imprecision were less than 10%, with recovery from 96.3% to 97.9%, and matrix effect from 99.7% to 106.5%. The main pharmacokinetic parameters of the 6 patients after a dose of 1 g of MMF were as follows: C_{max} was (7.58 ± 5.09) $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, t_{max} was (1.83 ± 1.13) h, AUC_{0-12} was (26.58 ± 7.23) $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1} \cdot \text{h}$, $\text{AUC}_{0-\infty}$ was (37.41 ± 14.42) $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1} \cdot \text{h}$, $t_{1/2}$ was (7.53 ± 8.01) h, CL/F was (29.36 ± 7.78) L \cdot h⁻¹, V_d was (258.80 ± 177.96) L. The trough concentration of MPA at steady state ranged from 0.37 to 3.832 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ in 30 patients, with inter-individual variation up to 59.2%. **Conclusion** The established method is simple, accurate, sensitive and specific, and is proved to be suitable for determination of MPA in human plasma and pharmacokinetic study in heart transplant patients.

KEY WORDS Mycophenolic acid; Heart transplantation; Pharmacokinetics; Monitoring of the plasma concentration; LC-MS/MS method

霉酚酸(mycophenolic acid, MPA)是一种新型的抗代谢免疫抑制药,其通过抑制次黄嘌呤核苷酸脱氢酶(IMPDH)阻断DNA的从头合成,从而抑制T和B淋巴细胞增殖发挥作用^[1-2]。目前,临床常用的MPA制剂包括吗替麦考酚酯(MMF,商品名:骁悉)和麦考酚钠肠溶片(商品名:米芙),它们常与他克莫司和糖皮质激素组成三联免疫抑制治疗方案,对预防器官移植术后急慢性排斥反应具有重要意义。近年来,临床研究表明,MPA药物浓度-时间曲线下面积(AUC)与其临床疗效和不良反应发生密切相关^[3-5],但个体MPA-AUC存在较大差异,可通过治疗药物浓度监测(TDM)进行个体化剂量调整^[6-7]。国内外已有众多有关MPA在肾移植和肝移植患者体内药动学研究及TDM报道^[8-10],但笔者尚未见在心脏移植患者中报道。为此,本文旨在参照生物样本分析方法指导原则^[11-12],建立液相色谱-质谱串联(LC-MS/MS)法检测MPA,并将该方法学用于心脏移植患者术后MPA的药动学研究,为临床个体化用药提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 仪器 LC-20ADXR型高效液相色谱仪(日本岛津公司),API 6500型三重四极杆质谱仪(美国AB SCIEX公司),AB135-S电子分析天平(瑞士梅特勒-托利多仪器公司,感量:0.01 mg),5804R低温高速离心机(德国Eppendorf公司),Milli-Q超纯水系统(美国Millipore公司)。

1.2 试剂 霉酚酸对照品(中国食品药品检定研究院,含量>99%),霉酚酸-d₃内标(加拿大TRC公司,含量98%),色谱级甲醇(美国Sigma公司,含量≥99.9%),色谱级乙腈(美国Sigma公司,含量≥99.9%),色谱级甲酸(德国CNW公司,含量≥98.0%),色谱级乙酸铵(德国CNW公司,含量≥98.0%)。

1.3 色谱条件 色谱柱:Agilent ZORBAX SB-C₁₈柱(2.1 mm×50 mm,3.5 μm);流动相:5 mmol·L⁻¹乙酸铵(含0.25%甲酸)溶液(A)-乙腈(B),采用梯度洗脱:0~1 min,75%A;1~8 min,75%→5%A;>8~9 min,

5%A;>9~9.5 min,5%→75%A;>9.5~15 min,75%A。流速0.2 mL·min⁻¹;进样体积:2 μL;柱温:28℃。

1.4 质谱条件 采用电喷雾离子化电离源(ESI),负离子方式检测;离子喷射电压:-4500 V;干燥温度:350℃;离子源气体1(N₁)压强:344.75 kPa;离子源气体2(N₂)压强:413.70 kPa;气帘气压强:241.32 kPa。定量方式为多重反应监测(MRM);MPA的离子对、解簇电压(DP)、碰撞能量(CE)分别为:*m/z* 319.1→191.0,-100 V和-26 V;MPA-d₃离子对、DP、CE分别为:*m/z* 322.1→191.1,-60 V和-31 V。

1.5 储备液及工作液的配制 精密称取MPA 20 mg、MPA-d₃对照品1 mg分别置于10 mL棕色量瓶中,均以甲醇溶解后定容至刻度,摇匀,即得2 mg·mL⁻¹ MPA储备液,0.1 mg·mL⁻¹ MPA-d₃储备液,置于4℃避光保存。

1.6 标准曲线血浆样品及质控血浆样品的制备 精密量取储备液,加入一定量甲醇,配制一系列含有MPA(1,5,10,50,100,200,400 μg·mL⁻¹)的标准曲线工作液及含有MPA(1.25,75,250 μg·mL⁻¹)的质控工作液。取空白血浆200 μL,分别加入MPA标准曲线系列工作液和质控对照品工作液20 μL,混匀后得到标准曲线血浆样品(0.1,1,5,10,20,40 μg·mL⁻¹)及质控血浆样品(0.125,7.5,25 μg·mL⁻¹)。

1.7 样品前处理 取血浆样品200 μL,置于1.5 mL离心管,加入2 μg·mL⁻¹内标溶液20 μL,加入乙腈800 μL,涡旋混合均匀,于4℃,以12 000×*g*。取上清液200 μL,加入乙腈800 μL后混匀,取200 μL加入2 mL进样瓶。

1.8 药动学研究 将本文建立的MPA检测方法应用于心脏移植患者MMF单次给药后药动学研究(分别于服药前、服药后0.5,1,1.5,2,4,6,8,10,12 h采血),以及维持治疗达稳态后MPA谷浓度测定。本研究经华中科技大学同济医学院附属协和医院伦理委员会批准,采血前告知患者实验目的并签署知情同意书,EDTA抗凝管采集静脉血2 mL,分离血浆后,按本研究的方法进行检测。

采用WinNonlin软件以非房室法计算MPA药动学参数,如清除率(CL/F)、表观分布容积(*V_d*),峰浓度(*C_{max}*)和达峰时间(*t_{max}*)均为实测值;根据末端相3~4点血药浓度-时间数据估算消除速率常数(*K_e*),进而计算消除半衰期(*t_{1/2}*);以梯形法估算AUC₀₋₁₂和AUC_{0-∞}。

2 结果

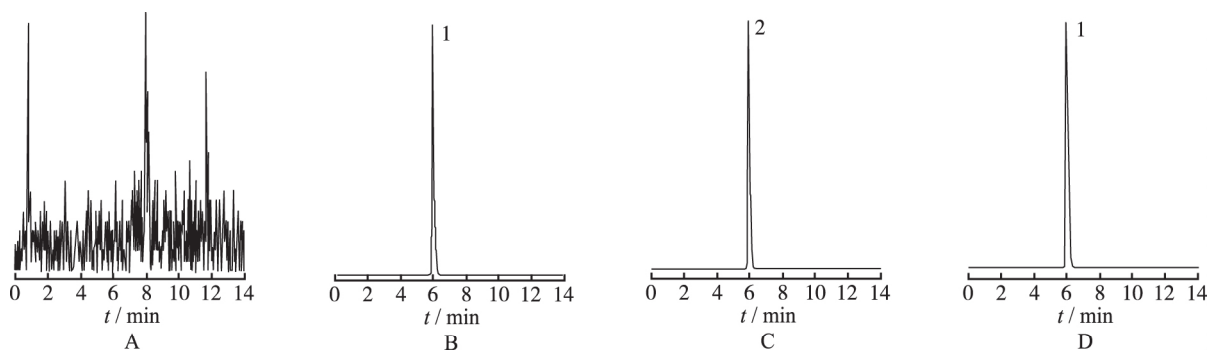
2.1 方法专属性 在本研究测定条件下,MPA、MPA-d₃的保留时间分别为5.94和5.93 min,空白血浆中的内源性物质不干扰MPA和内标的测定。典型色谱图见图1。

收稿日期 2018-11-15 修回日期 2019-02-13

基金项目 * 湖北省自然科学基金资助项目(2018CFB750),华中科技大学自主创新基金重点专项(2015ZHYX014)

作者简介 赵晓亚(1978-),女,河北人,高级工程师,博士,主要从事食品检测技术的研究。ORCID: 0000-0002-3600-3954。电话:027-58906069。E-mail: 550170292@qq.com。

通信作者 韩勇,男,副主任药师,主要从事个体化用药研究。电话:027-85726983。E-mail: xhhyangong@hotmail.com。



A.空白血浆; B.空白血浆+MPA 对照品; C.空白血浆+MPA- d_3 ; D.心脏移植患者血浆样本; 1.MPA; 2.MPA- d_3 。

图1 血浆中霉酚酸及内标典型色谱图

A.blank plasma; B.blank plasma+MPA reference; C.blank plasma+MPA- d_3 ; D.plasma samples from heart transplant patients; 1.MPA; 2.MPA- d_3 。

Fig.1 Representative chromatograms for MPA and MPA- d_3 in plasma

2.2 标准曲线与线性范围 取MPA分别为0.1, 1, 5, 10, 20, 40 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的标准曲线混合血浆样品,按“1.7”项下方法进行操作,记录色谱峰面积,以MPA与内标的峰面积比(Y)分别对血浆中二者的浓度进行加权线性回归,权重系数为 $1/X^{2[13]}$,求得二者标准曲线方程如下: $Y=2.41616X+0.01396$ ($r=0.9996$),共评价4条标准曲线 R^2 值均 >0.995 。4条标准曲线相应的校正标样回算浓度与标示值的百分比均符合指导原则,表明MPA在0.1~40 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 线性良好。

2.3 准确度与精密度 取定量下限(0.1 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)、低(0.125 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)、中(7.5 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)、高(25 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)共4个浓度血浆样品,每一浓度每天平行测定5份,以计算准确度和日内精密度,连续测定3 d,获得日间精密度,结果见表1。

2.4 提取回收率与基质效应 按照“1.7”项下方法处理低、中、高浓度质控血样各6份,记录色谱峰面积为A1。另取18份空白血浆处理后获得上清液,再加入相应的低、中、高浓度质控工作液,记录色谱峰面积为A2。取相同浓度的低、中、高浓度质控工作液直接进样,记录色谱峰面积为A3。提取回收率= $A2/A1$ 。基

质效应= $A3/A2$ 。MPA低、中、高浓度质控的提取回收率分别为96.9%、96.3%、97.9%,RSD分别为3.3%、3.1%、3.2%。MPA低、中、高浓度的基质效应因子分别为100.4%、99.7%、106.5%,RSD分别为2.9%、2.6%、3.9%。表明血浆介质对MPA测定无干扰。

2.5 残留 本实验考察检测高浓度样品(40 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)后在空白血浆中的残留,结果显示,MPA残留为0.07%,符合生物样本分析的要求。

2.6 稳定性实验 据文献报道MPA的全血标本在室温放置2 h^[14],以及25℃放置1 d稳定^[15],因此,本研究不再重复考察MPA在全血标本中的稳定性。本研究考察MPA低、中、高浓度血浆质控品各3份处理后,室温放置1 d、4℃避光放置1、3、7 d的稳定性。同时,考察低、中、高浓度质控品4℃放置7 d、-20℃放置1个月和3个月的稳定性以及-20℃冻融3次的稳定性。结果表明前处理后的样本4℃避光7 d稳定,血浆样本保存于-20℃3个月稳定,反复冻融3次稳定。

2.7 MPA浓度检测在心脏移植患者中的应用 6例心脏移植患者按给予MMF 1 g后,血浆中霉酚酸变化的药时曲线见图2,药动学参数如下: t_{\max} 为(1.83±1.13) h,

表1 LC-MS/MS测定MPA的准确度和精密度

Tab.1 Accuracy and precision of LC-MS/MS assay of MPA

浓度/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	日内($n=6$)				日内($n=6$)			
	均值/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	准确度	RE	RSD	均值/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	准确度	RE	RSD
0.1	0.100	100.0	0	6.2	0.098	98.0	-2.0	7.3
0.125	0.123	98.5	-1.5	4.4	0.119	95.0	-5.0	4.1
7.5	7.373	98.3	-1.7	2.6	7.335	97.8	-2.2	4.2
25	24.300	97.2	-2.8	2.5	23.950	95.8	-4.2	4.0

C_{\max} 为 $(7.58 \pm 5.09) \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, AUC_{0-12} 为 $(26.58 \pm 7.23) \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1} \cdot \text{h}$, $\text{AUC}_{0-\infty}$ 为 $(37.41 \pm 14.42) \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1} \cdot \text{h}$, $t_{1/2}$ 为 $(7.53 \pm 8.01) \text{h}$, CL/F 为 $(29.36 \pm 7.78) \text{L} \cdot \text{h}^{-1}$, V_d 为 $(258.80 \pm 177.96) \text{L}$ 。30 例患者按 $0.5 \text{ g} \cdot \text{q}12\text{h}$ 剂量服用 MMF 至少 7 d 后血浆 MPA 稳态谷浓度的分布见图 3, MPA 稳态谷浓度在 $0.37 \sim 3.83 (1.48 \pm 0.88) \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 之间波动, 个体间变异高达 59.2%, 提示有必要在该人群中开展 MPA 治疗药物浓度监测。

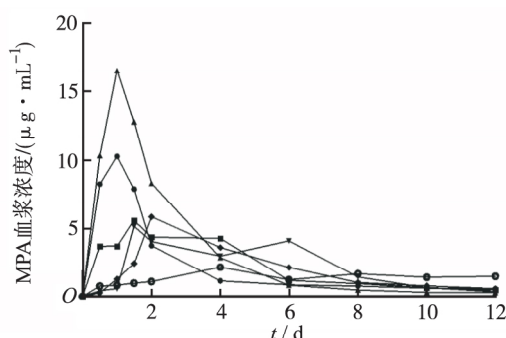


图2 6例心脏移植患者单次给药后MPA药-时曲线

Fig.2 Drug concentration-time curve of MPA after single administration in 6 heart transplant patients

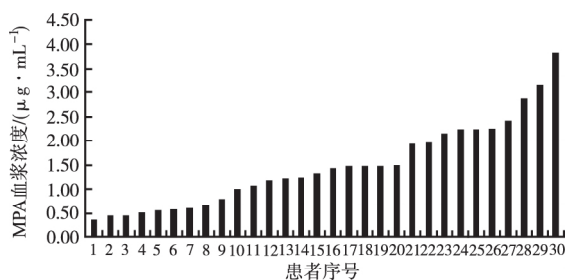


图3 30例心脏移植患者血浆MPA稳态谷浓度分布

Fig.3 Distribution of the trough concentration of MPA at steady state in 30 heart transplantation patients

3 讨论

MMF 是目前器官移植术后常用的免疫抑制药, 常与钙调磷酸酶类抑制剂 (CNI) 和糖皮质激素组成三联免疫抑制治疗方案。MMF 需在体内代谢为活性的 MPA 才能发挥作用, 而体内 MPA 暴露水平与急性排斥反应的发生具有显著的相关性。研究显示, MPA 与环孢素 A 合用时谷浓度应维持在 $1.0 \sim 3.5 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 与他克莫司联用谷浓度应维持在 $1.9 \sim 4.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; 与环孢素或他克莫司联用时 $\text{AUC}_{0-12\text{h}}$ 都应维持在 $30 \sim 60 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1} \cdot \text{h}$ ^[16]。然而, MPA 个体差异大, 受多方面因素 (如患者病情、体内白蛋白水平、饮食、肝功能等) 的影响, 难以保证 MPA 暴露量维持在目标水平内。

因此, 开展 MPA 的 TDM 具有十分重要的临床意义。

目前, 临床常用的 MPA 检测方法主要基于免疫原理, 如酶放大免疫技术 (enzyme multiplied immunoassay technology, EMIT)^[17]。该方法有商品化试剂盒, 样本检测方便快捷, 适用于 MPA 的常规监测。但该方法存在着缺点, 如检测的特异性不高, 存在交叉反应, 检测结果容易受代谢物以及相似物质的干扰, 使得检测结果偏高^[18]。另外, 该方法 MPA 的线性范围在 $0.1 \sim 15 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ^[17], 常常会导致某些患者峰浓度值超出检测限, 适用性差。因此, 采用治疗药物监测 (TDM) 检测的金标准 LC-MS/MS 法建立一种适用于临床 MPA 检测及药动力学研究的方法十分必要。目前, 国内外已有许多关于 LC-MS/MS 法检测 MPA 的报道^[19], 检测方法各具优缺点, 如许多文献采用在线固相萃取技术进行样本前处理, 成本高; 定量范围窄 ($< 20 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 难以满足临床检测需求; 流动相成分复杂等特点。而本文建立的方法最大特点在于样本前处理仅采用乙腈沉淀蛋白, 高速离心后进样分析, 整个操作过程简单方便、样本分析时间短、流动相成分简单、检测范围可满足临床检测需求。

MMF 在健康人、肾移植、肝移植患者体内的药动力学研究已有诸多报道^[8-10, 20], 但在心脏移植患者中药动力学资料还很少。本研究将建立的方法用于心脏移植患者单次服用 MMF 的药动力学研究发现 MPA 药动力学在心脏移植患者中存在较大个体差异, 单次给药后肝肠循环不明显。此外, 笔者还将此方法用于 30 例心脏移植患者 MPA 稳态谷浓度的测定, 发现服用 MMF $0.5 \text{ g} \cdot \text{q}12\text{h}$ 达稳态后 MPA 浓度均在 $1.48 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 此结果高于 DENOFRIO 等^[21]报道联用 $1 \text{ g} \cdot \text{q}12\text{h}$ MMF 和环孢素 A 达稳态后 MPA 谷浓度均值为 $1.2 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。本研究结果偏高的原因可能为合并使用环孢素 A 时, 因为环孢素 A 干扰 MPA 的肝肠循环, 可将 MPA 降低 30%~50%; 合并使用他克莫司时则不干扰 MPA 代谢。目前, 心脏移植患者合并使用 MMF 和他克莫司后, MPA 药动力学以及药动力学参数与临床疗效的关系尚不明确, 期望未来的研究中通过本中心病例积累能得到 MPA 药动力学变化规律并制定出适宜的心脏移植患者 MPA 治疗窗, 为推进该人群个体化治疗做出积极贡献。

参考文献

- [1] ALLISON A C, EUGUI E M. Purine metabolism and immunosuppressive effects of mycophenolate mofetil (MMF) [J]. Clin Transplant, 1996, 10(1 Pt 2): 77-84.
- [2] ALLISON A C, EUGUI E M. Mycophenolate mofetil and its mechanisms of action [J]. Immunopharmacology, 2000, 47

- (2/3): 85-118.
- [3] VAN GELDER T , HILBRANDS L B , VANRENTER-
GHEM Y , et al. A randomized double-blind , multicenter
plasma concentration controlled study of the safety and
efficacy of oral mycophenolate mofetil for the prevention of
acute rejection after kidney transplantation [J].
Transplantation ,1999 ,68(2) : 261-266.
 - [4] LE MEUR Y , BÜCHLER M , THIERRY A , et al. Indivi-
dualized mycophenolate mofetil dosing based on drug
exposure significantly improves patient outcomes after renal
transplantation [J]. Am J Transplant ,2007 ,7(11) : 2496-
2503.
 - [5] KUYPERS D R , DE JONGE H , NAESENS M , et al.
Current target ranges of mycophenolic acid exposure and
drug-related adverse events: a 5-year , open-label ,
prospective , clinical follow-up study in renal allograft
recipients [J]. Clin Ther ,2008 ,30(4) : 673-683.
 - [6] KUYPERS D R , LE MEUR Y , CANTAROVICH M , et al.
Consensus report on therapeutic drug monitoring of
mycophenolic acid in solid organ transplantation [J]. Clin J
Am Soc Nephrol ,2010 ,5(2) : 341-358.
 - [7] TETT SE , SAINT-MARCOUX F , STAATZ C E , et al.
Mycophenolate , clinical pharmacokinetics , formulations ,
and methods for assessing drug exposure [J]. Transplant
Rev (Orlando) ,2011 ,25(2) : 47-57.
 - [8] HONARBAKHS N , ROUINI M R , LESAN- PEZESKI
M , et al. Mycophenolic acid pharmacokinetics early after
kidney transplant [J]. Exp Clin Transplant ,2013 ,11(2) :
112-117.
 - [9] 余自成 , 陈皓 , 张伟霞 , 等. 霉酚酸在肝移植病人体内的
药代动力学研究 [J]. 药学报 , 2006 , 41(12) : 1157-
1160.
 - [10] 陆佳倩 , 陈冰. 霉酚酸的药代动力学与药效学研究进展
[J]. 中国临床药理学杂志 , 2016 , 32(6) : 573-576.
 - [11] 钟大放 , 李高 , 刘昌孝. 生物样品定量分析方法指导原
则: 草案 [J]. 药物评价研究 , 2011 , 34(6) : 409.
 - [12] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(三部) [M]. 北
京: 中国医药科技出版社 , 2015: 3-50.
 - [13] 钟大放. 以加权最小二乘法建立生物分析标准曲线的若
干问题 [J]. 药物分析杂志 , 1996 , 16(5) : 343.
 - [14] KLEPACKI J , KLAWITTER J , BENDRICK-PEART J , et
al. A high-throughput U-HPLC-MS/MS assay for the
quantification of mycophenolic acid and its major
metabolites mycophenolic acid glucuronide and
mycophenolic acid acyl-glucuronide in human plasma and
urine [J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci ,
2012 , 883/884 : 113-119.
 - [15] ZHANG D , CHOW D S , RENBARGER J L. Simultaneous
quantification of mycophenolic acid and its glucuronide
metabolites in human plasma by an UPLC-MS/MS assay
[J]. Biomed Chromatogr , 2016 , 30(10) : 1648-1655.
 - [16] DASGUPTA A. Therapeutic drug monitoring of mycophe-
nolic acid [J]. Adv Clin Chem , 2016 , 76: 165-184.
 - [17] MOURAD M , CHAIB-EDDOUR D , MALAISE J , et al.
Analytical and clinical evaluation of the EMIT mycophenolic
acid immunoassay in kidney transplantation [J]. Transplant
Proc , 2000 , 32(2) : 404-406.
 - [18] KUNICKI PK , PAWINSKI T , BOCZEK A , et al. A compa-
rison of the immunochemical methods , PETINIA and
EMIT , with that of HPLC-UV for the routine monitoring of
mycophenolic acid in heart transplant patients [J]. Ther
Drug Monit , 2015 , 37(3) : 311-318.
 - [19] SYED M , SRINIVAS N R. A comprehensive review of the
published assays for the quantitation of the
immunosuppressant drug mycophenolic acid and its
glucuronidated metabolites in biological fluids [J]. Biomed
Chromatogr , 2016 , 30(5) : 721-748.
 - [20] GUO D , PANG L F , HAN Y , et al. Polymorphisms of
UGT1A9 and UGT2B7 influence the pharmacokinetics of
mycophenolic acid after a single oral dose in healthy
Chinese volunteers [J]. Eur J Clin Pharmacol , 2013 , 69
(4) : 843-849.
 - [21] DENOFRIO D , LOH E , KAO A , et al. Mycophenolic acid
concentrations are associated with cardiac allograft rejection
[J]. J Heart Lung Transplant , 2000 , 19(11) : 1071-1076.