

用超高效液相色谱串联高分辨率质谱法测定去甲泽拉木醛的浓度

Determination of the concentration of demethylzeylasteral in serum by ultra-high performance liquid chromatography tandem high resolution mass spectrometry

党心¹, 王仪², 赵班¹,
毛永辉¹

(1. 北京医院、国家老年医学中心、中国医学科学院老年医学研究院 肾内科, 北京 100730;
2. 中国矿业大学 化学与环境工程学院, 北京 100083)

DANG Xin¹, WANG Yi²,
ZHAO Ban¹, MAO Yong-hui¹

(1. Department of Nephrology, Beijing Hospital, National Center of Gerontology, Institute of Geriatric Medicine, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100730, China; 2. School of Chemical and Environmental Engineering, China University of Mining and Technology, Beijing 100083, China)

基金项目: 国家科技重大专项“重大新药创制”子课题基金资助项目(2017ZX09304026); 国家自然科学基金资助项目(81960752, 81860727); 中央高水平医院临床科研业务基金资助项目(121-2016008); 中央高校基本科研业务费专项基金资助项目(2023ZKPYHH05); 中国医学科学院临床与转化医学研究专项基金资助项目(2023-12M-C&T-B-116); 煤炭资源与安全开采国家重点实验室开放基金资助项目(SKLCRSM21KFA11)

作者简介: 党心(1990-), 女, 硕士研究生, 主要从事糖尿病肾病、慢性肾病的相关研究

通信作者: 毛永辉, 主任医师, 硕士生导师
Tel: (010)85136765

E-mail: maoyonghui0214@bjhmoh.cn

摘要: **目的** 建立一种超高效液相色谱串联高分辨率质谱法用于测定雷公藤多苷片治疗的糖尿病肾病患者血清中去甲泽拉木醛血药浓度的方法, 并用于临床药效标志物的探索研究。 **方法** 以¹⁸O-去甲泽拉木醛为内标, 血清样品经固相萃取处理后进样。色谱柱: BEH C₁₈ 柱(2.1 mm × 50.0 mm, 1.7 μm); 流动相: 0.1% 甲酸水溶液-乙腈和 0.1% 甲酸水溶液; 流速: 0.3 mL · min⁻¹; 柱温: 30 °C; 用电喷雾电离源, 正离子多反应方式监测。考察该方法的专属性、标准曲线与定量下限、精密度与回收率、基质效应和稳定性。选择 15 例接受雷公藤多苷片治疗的糖尿病肾病患者, 检测其血清去甲泽拉木醛的浓度。通过受试者工作特征(ROC)曲线和 ROC 曲线下面积(AUC)进行去甲泽拉木醛血药浓度与糖尿病肾病疗效的相关性分析。 **结果** 去甲泽拉木醛在 1~200 ng · mL⁻¹ 线性关系良好, 定量下限为 1 ng · mL⁻¹, 日内、日间精密度相对标准差分别 < 10% 和 15%, 绝对回收率达到 89% 以上, 不受基质效应的影响, 稳定性符合要求。去甲泽拉木醛血药浓度预测雷公藤多苷片疗效的 AUC 为 0.66 (95% 置信区间为 0.53~0.78), 最佳截断值为 61.73 ng · mL⁻¹, 敏感度为 83.3%, 特异度为 46.7% (P < 0.05)。 **结论** 本方法操作简单, 灵敏度高, 结果准确, 适用于去甲泽拉木醛血药浓度的检测, 可以用于雷公藤多苷片临床药效标志物的探索研究。 **关键词:** 去甲泽拉木醛; 雷公藤多苷片; 超高效液相色谱串联高分辨率质谱法; 血药浓度; 糖尿病肾病

DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2025.05.023

中图分类号: R97 **文献标志码:** A

文章编号: 1001-6821(2025)05-0717-05

Abstract: Objective To establish an ultra-high performance liquid chromatography tandem high resolution mass spectrometry (UHPLC-HRMS) method for the determination of serum demethylzeylasteral concentration in diabetic nephropathy patients, which treated by tripterygium wilfordii polyglycosides tablets (TGTs), and to apply this method in the exploratory study of clinical pharmacodynamic marker.

Methods Serum samples and ¹⁸O-demethylzeylasteral which was used as the internal standard were processed by solid phase extraction method and took the supernatant for the determination. Chromatographic separation of the analytes was accomplished using a BEH C₁₈ column (2.1 mm × 50.0 mm, 1.7 μm) under gradient elution, where the mobile phase consisted of a mixture of 0.1% formic acid aqueous solution and acetonitrile, as well as 0.1% formic acid aqueous solution. The flow rate was set at 0.3 mL · min⁻¹ and the column temperature at 30 °C. The

mass spectrometer was equipped with an electrospray ionization source with positive multiple reaction monitoring mode. The specificity, standard curve and lower limit of quantification, precision and recovery rate, matrix effect and stability were investigated. This method was applied to determine the serum concentration of demethylzeylasteral from 15 patients with oral TGTs. Receiver operating characteristic (ROC) curve and area under the ROC curve (AUC) were utilized to explore the correlation between serum concentration of demethylzeylasteral and efficacy in treating diabetic nephropathy.

Results The calibration curve of demethylzeylasteral was linear over the range of 1 – 200 ng · mL⁻¹, and the lower limit of quantification was 1 ng · mL⁻¹. The precision and accuracy relative standard deviation of intra – day and inter – day was less than 10% and 15%, respectively. The average absolute recovery was more than 89%, no matrix effect has been affected and all stability tests met the acceptance criteria. The AUC of the efficacy of TGTs predicted by serum demethylzeylasteral quantitation was 0.66 (95% confidence interval was 0.53 – 0.78), the cut – off value was 61.73 ng · mL⁻¹, the sensitivity was 83.3% and the specificity was 46.7% ($P < 0.05$). **Conclusion** The UHPLC – HRMS method established in this study has the advantages of simple operation, high sensitivity, accurate and reliable results, which can be suitable for determining serum concentration of demethylzeylasteral and studying clinical drug efficacy markers of TGTs.

Key words: demethylzeylasteral; Tripterygium wilfordii polyglycoside tablet; ultra – high performance liquid chromatography tandem high resolution mass spectrometry; plasma drug concentration; diabetic nephropathy

雷公藤多苷片 (Tripterygium wilfordii polyglycoside tablets, TGTs) 是一种用于治疗糖尿病肾病 (diabetic nephropathy, DN) 的中药, 可以显著降低患者的尿蛋白水平并延缓病情进展^[1]。去甲泽拉木醛 (demethylzeylasteral, DEM) 是 TGTs 主要的活性化合物之一, 其可以独立用于治疗 DN, 且疗效明确^[2]。本研究拟建立一种以¹⁸O – DEM 为内标的超高效液相色谱串联高分辨率质谱法 (ultra – high performance liquid chromatography tandem high resolution mass spectrometry, UHPLC – HRMS) 用于测定 TGTs 治疗的 DN 患者体内 DEM 血药浓度, 通过该方法获得的 DEM 血药浓度将与 TGTs 治疗 DN 患者的临床疗效做相关性分析, 以期 TGTs 临床使用寻找合适的药效标志物提供理论依据。

材料与方法

1 药品、试剂与仪器

DEM 对照品, 规格: 每支 1 g, 纯度: $\geq 99.9\%$, 批号: HD020642, 购自宝鸡市辰光生物科技有限公司; TGTs, 规格: 每片 10 mg, 批号: 1702103B、1804138B、1904132B、1912102B 和 2104112B, 批准文号: 国药准字 Z33020422, 浙江得恩德制药有限公司生产。H₂¹⁸O, 购自美国 Sigma – Aldrich 公司。

SYNAPT G2 – Si 超高效液相色谱串联四级杆飞行时间质谱 (ultra performance liquid chromatography – quadrupole – time of flight – mass, UPLC – Q – TOF – MS),

美国 Waters 公司产品。

2 受试者选择

本研究经北京医院伦理委员会批准 (伦理批号: 2016BJYYEC – 059 – 03, 临床试验备案登记号: ChiCTR – IOR – 17010623)。所有受试者均签署知情同意书。15 例受试者的平均年龄为 (59.40 ± 7.36) 岁, 平均身高为 (169.67 ± 5.38) cm, 平均体质量为 (75.73 ± 13.55) kg, 体质量指数为 (26.25 ± 4.18) kg · m⁻²。

诊断与入选标准 符合《KDOQI 糖尿病和慢性肾脏病临床实践指南 2007 版》中关于 DN 的诊断标准^[3]。① 年龄 40 ~ 70 岁, 男性或女性; ② 符合 Mogensen IV 期 (尿白蛋白排泄率 $> 200 \mu\text{g} \cdot \text{min}^{-1}$ 或蛋白尿 $> 500 \text{mg} \cdot \text{d}^{-1}$); ③ 24 h 尿蛋白定量 $\geq 1 \text{g}$ 且估计的肾小球滤过率 (根据 CKD – EPI 公式计算) $\geq 30 \text{mL} \cdot \text{min}^{-1} \cdot 1.73 \text{m}^{-2}$; ④ 稳定的血管紧张素 II 受体拮抗药 (angiotensin receptor blocker, ARB) 治疗背景。

排除标准 ① 1 型糖尿病或继发性糖尿病者; ② 对本研究药物成分过敏者; ③ 妊娠期或准备妊娠的妇女; ④ 入组前 6 个月内发生严重的心脑血管事件或入组前 1 个月内发生急性感染者; ⑤ 难以控制的严重高血压 (血压 $> 180/100 \text{mmHg}$) 者; ⑥ 既往用 ARB 类药物时出现肌酸酐升高或无法控制的严重高钾血症 (血钾 $> 6.0 \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 者; ⑦ 研究过程中出现肝功能受损 (谷丙转氨酶或谷草转氨酶水平升高超过正常值上限的 2 倍)、白细胞计数减低 ($< 3.0 \times 10^9 \cdot \text{L}^{-1}$) 者; ⑧ 依从性较差无法按时完成随访 (经研究者判断) 者。

3 治疗方法与样品采集

研究开始,所有受试者均接受 TGTs $30\text{ mg} \cdot \text{d}^{-1}$ 的治疗(每次 10 mg , *tid*, 餐后 30 min 送服)。随访期间,根据尿蛋白下降率动态调整 TGTs 剂量。尿蛋白下降率 = (每次随访化验的 24 h 尿蛋白定量 - 基线 24 h 尿蛋白定量) / 基线 24 h 尿蛋白定量 $\times 100\%$ 。如尿蛋白下降率 $\geq 30\%$ 或 24 h 尿蛋白定量 $< 1\text{ g}$, 则维持 $30\text{ mg} \cdot \text{d}^{-1}$ 的剂量,否则增加至 $60\text{ mg} \cdot \text{d}^{-1}$ (每次 20 mg , *tid*, 餐后 30 min 送服);按照上述剂量调整策略,最高增加至 $90\text{ mg} \cdot \text{d}^{-1}$ (每次 30 mg , *tid*, 餐后 30 min 送服)。

采血时间为研究开始后第 4、8、12、24 和 48 周。每次采集全血样品 3 mL 至真空采血管中,在 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下,以 $3\,000\text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min 后,分离上层血清并分装于冻存管中,置于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存,待测。为及时准确调整 TGTs 的剂量,用于 24 h 尿蛋白定量的尿液标本留取时间为基线和研究开始后第 2、4、6、8、10、12、16、20、24、28、32、36、40、44 和 48 周,于留取当日由北京医院检验科生化室用同一台仪器完成检测。

4 测定方法、溶液制备和样品处理

本研究方法学建立和生物样本检测由中国矿业大学完成。

色谱条件 色谱柱: ACQUITY UPLC BEH C_{18} ($2.1\text{ mm} \times 50.0\text{ mm}$, $1.7\text{ }\mu\text{m}$); 流动相: 0.1% 甲酸水溶液(A) - 乙腈和 0.1% 甲酸水溶液(B); 柱温: $30\text{ }^{\circ}\text{C}$; 流速: $0.3\text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; 进样量: $3\text{ }\mu\text{L}$ 。梯度洗脱程序: $0 \sim 0.70\text{ min}$, 5% B; $0.70 \sim 2.00\text{ min}$, 40% B; $2.00 \sim 3.00\text{ min}$, 80% B; $3.00 \sim 4.00\text{ min}$, 100% B; $4.00 \sim 4.01\text{ min}$, 100% B; $4.01 \sim 5.00\text{ min}$, 5% B。

质谱条件 用电喷雾电离源,多反应监测,正离子模式检测。锥孔电压: 40 V ; 离子源温度: $150\text{ }^{\circ}\text{C}$; 脱溶剂气流速: $600\text{ L} \cdot \text{h}^{-1}$; 锥孔气流速: $50\text{ L} \cdot \text{h}^{-1}$; 毛细管电压: $2\,500\text{ V}$; 碰撞电压: 30 V ; 保留时间 2.75 min 。DEM 和 ^{18}O -DEM 用于定量分析的监测离子分别为 $m/z\ 481.26 \rightarrow 231.06$ 和 $m/z\ 483.26 \rightarrow 233.06$ 。

待测溶液的制备 称取 DEM 5 mg , 用甲醇 1 mL 配制成 $5\text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 DEM 储备液,置于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存,备用。用 50% 甲醇配制梯度质量浓度的 DEM 工作液,质量浓度分别为 200 、 100 、 50 、 40 、 20 、 10 、 5 、 $1\text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

内标溶液的制备 取 $1\text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ DEM 溶液 $30\text{ }\mu\text{L}$, 用 H_2^{18}O 稀释至 $100\text{ }\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ (含 1% 甲酸), $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下孵育 15 h , 取出后置于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冷冻保存,备用。

血清样品处理 取血清样品 $100\text{ }\mu\text{L}$, 加入内标溶液 $30\text{ }\mu\text{L}$ ($20\text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$), 涡旋混合; 加入 50% 甲醇

(含 1% 甲酸) $400\text{ }\mu\text{L}$, 涡旋混合 3 min 后, 以 $1.33 \times 10^4\text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min 。取上述上清液 $450\text{ }\mu\text{L}$ 加水稀释(根据溶液中的甲醇含量), 使上清液中水与甲醇体积比达到 $1:1$ 。

固相萃取程序 选择除脂能力较强的 Oasis PRiME HLB 96 孔板(30 mg)。在上样前,依次用甲醇 1 mL 、水 1 mL 对萃取柱进行活化; 取血清样品上样(含 50% 甲醇水溶液), 在真空泵的作用下, 使血清样品以 $3\text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 匀速通过固相萃取小柱。之后, 用 50% 甲醇水溶液 1 mL 洗涤杂质。最后, 将乙腈与 9 倍体积的甲醇混合, 涡旋 5 min , 制备洗脱液进行洗脱。洗脱液经真空旋干后, 用 50% 甲醇水溶液 $50\text{ }\mu\text{L}$ 复溶并进样分析。

5 方法学考察

专属性 分别取 6 份不同受试者的空白血清, 按照“血清样品处理”项下方法进行操作, 并记录色谱峰。

标准曲线与定量下限 取标准曲线样品(200 、 100 、 50 、 20 、 10 、 5 、 $1\text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$), 按照“血清样品处理”项下方法处理, 进样测定。以血清中 DEM 的浓度为横坐标(x), 峰面积为纵坐标(y)进行线性回归, 求得 DEM 的标准曲线方程。以信噪比(signal - noise ratio, S/N) = 3 的浓度为检测下限, 以 $S/N = 10$ 的浓度为定量下限。

精密度与回收率 取空白血清样品 $100\text{ }\mu\text{L}$, 分别加入以 50% 甲醇为溶剂的 DEM 标准溶液, 配制高、中、低 3 个质量浓度的样本(40 、 20 和 $10\text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$), 每种质量浓度 3 份。按“血清样品处理”项下处理并进行色谱分析, 在同一天内测定, 连续测定 3 d , 计算日内和日间精密度(relative standard deviation, RSD)。用高、中、低 3 个质量浓度水平的质控血清样品(40 、 20 和 $10\text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$), 按照“血清样品处理”项下方法处理, 进样分析, 获得加内标溶液的峰面积和内标溶液的峰面积(A)。回收率 = [(加内标溶液 231.26 的峰面积 - 内标溶液 231.26 的峰面积) $\times 20\text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ / (内标溶液中 233.26 的峰面积 $\times$ 内标溶液浓度) $\times 100\%$]。

基质效应 分别取 6 份不同来源的空白血清, 按“血清样品处理”项下处理, 进样分析, 获得相应碎片峰面积(B)。基质效应 = $B/A \times 100\%$ 。

稳定性 取内标溶液 $50\text{ }\mu\text{L}$, 制备低、中、高 3 个质量浓度 ^{18}O 标记 DEM 质控样品, 每种质量浓度各 6 份, 分别考察刚刚完成 ^{18}O 标记、 $6\text{ }^{\circ}\text{C}$ (进样室温度) 环境下放置 24 h 以及 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存 7 d DEM 中 $^{16}\text{O}/^{18}\text{O}$ 交换的稳定性。

6 统计学处理

用 Targetlynx 软件进行峰积分和血药浓度定量,用 SPSS 27.0 和 Graphpad Prism 10.0 软件进行统计分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,用受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC) 曲线及 ROC 曲线下面积(area under the curve, AUC) 分析 DEM 预测 TGTs 疗效的价值。

结 果

1 方法学评价

专属性 在上述条件下,DEM 的保留时间为 2.75 min,基质不干扰 DEM 的测定,且保留时间稳定,见图 1。

标准曲线与定量下限 DEM 在 1 ~ 200 ng · mL⁻¹, 线性关系良好,其标准曲线方程为 $y = 860.95x - 3\ 638.52$ ($r^2 = 0.995\ 2$),最低定量下限 1 ng · mL⁻¹。

精密度与回收率 DEM 的日内、日间精密度 RSD 分别 < 10% 和 < 15%,绝对回收率可达 89% 以上,结果见表 1。待测物高、中、低质量浓度质控样品的日内、日间精密度和回收率均符合生物样品分析要求。

稳定性 DEM 内标溶液在交换完成即时未发生 ¹⁶O/¹⁸O 交换($m/z = 481.26$)、发生 1 次 ¹⁶O/¹⁸O 交换($m/z = 483.26$) 和发生 2 次 ¹⁶O/¹⁸O 交换($m/z = 485.30$) 内标溶液的峰强度百分比依次为 20.61%、66.59% 和 12.80%。在 6 °C (进样室温度) 环境下放置 24 h 以及 -20 °C 保存 7 d 后未发生 ¹⁶O/¹⁸O 交换、发生 1 次 ¹⁶O/¹⁸O 交换和发生 2 次 ¹⁶O/¹⁸O 交换的峰强度百分比均未受到影响,分别为 19.15% 和 19.75%, 68.80% 和 68.08%, 以及 12.04% 和 12.17%。这说明内标化合物稳定性良好,可以满足大样本、多批次检测的需求。

2 方法学应用

将本方法应用于服用 TGTs 的 15 例 DN 患者血清 DEM 浓度监测。由于 TGTs 的剂量是根据尿蛋白的

变化情况进行调整,剂量范围在 30 ~ 90 mg · d⁻¹,因此 DEM 的血药浓度测定范围在 24.99 ~ 172.61 ng · mL⁻¹。单因素方差分析结果表明,DEM 的血药浓度与 TGTs 的剂量相关($F < 3.422, P < 0.05$)。当 TGTs 剂量在 30、60 和 90 mg · d⁻¹ 时,DEM 的血药浓度分别为 (66.17 ± 27.37)、(82.28 ± 34.89) 和 (95.68 ± 40.63) ng · mL⁻¹。

3 分析 DEM 预测疗效的效能

用 ROC 分析 DEM 血药浓度对于 TGTs 降低 DN 患者尿蛋白的效能,将尿蛋白下降率达到或超过 50% 定义为治疗有效,获得曲线下面积、置信区间、敏感度、特异度及最佳截断值。结果显示,DEM 预测 TGTs 疗效的 AUC 为 0.66 [95% 置信区间(confidence interval,

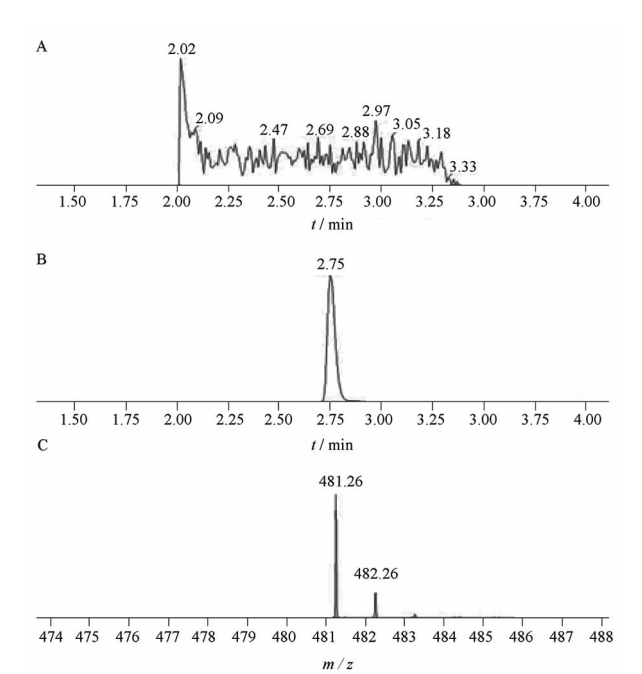


图 1 去甲泽拉木醛的典型色谱图
Figure 1 Typical chromatographs of demethylzeylasteral
A: Extraction ion chromatogram diagram of blank serum; B: Typical chromatographic diagram of demethylzeylasteral extraction; C: Mass spectrogram of demethylzeylasteral.

表 1 用超高效液相色谱串联高分辨率质谱法检测去甲泽拉木醛的精密度、准确度和回收率
Table 1 Precision, accuracy and recovery of demethylzeylasteral by ultra-high performance liquid chromatography tandem high resolution mass spectrometry

Concentration (ng · mL ⁻¹)	Intra-day			Inter-day			Absolute recovery (%)
	Measured	RSD	RE	Measured	RSD	RE	
	(ng · mL ⁻¹ , $\bar{x} \pm s$)	(%)	(%)	(ng · mL ⁻¹ , $\bar{x} \pm s$)	(%)	(%)	
40.00	37.04 ± 2.01	5.40	7.40	35.28 ± 2.74	7.80	11.80	92.60
20.00	18.28 ± 1.14	6.20	8.60	17.08 ± 1.78	10.40	14.60	91.40
10.00	8.97 ± 0.80	8.90	10.30	8.13 ± 1.00	12.30	18.70	89.70

RSD: Relative standard deviation; RE: Relative error; n = 6.

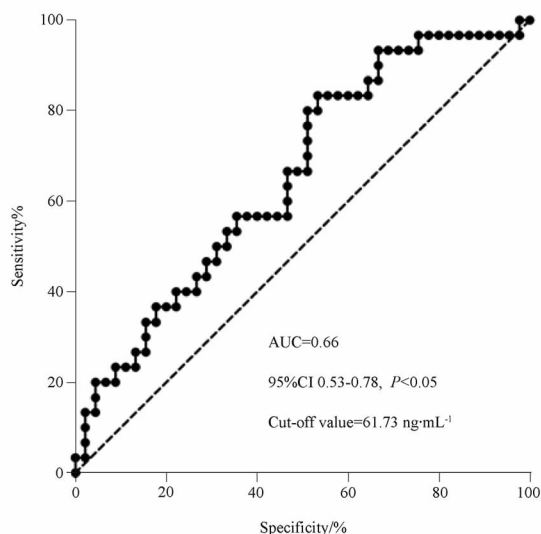


图2 去甲泽拉木醛血药浓度预测雷公藤多苷片疗效的受试者工作特征(ROC)曲线

Figure 2 Receiver operating characteristic (ROC) curve for predicting tripterygium wilfordii polyglycoside tablets' efficacy by demethylzeylasteral concentration

CI):0.53~0.78],最佳截断值为 $61.73 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$,敏感度为83.3%,特异度为46.7%($P<0.05$)。结果见图2。

讨 论

雷公藤多苷可以通过减少炎症因子释放、抑制肾组织氧化应激等途径治疗DN并发挥肾保护作用^[4-5]。然而,TGTs成分复杂,某些活性成分毒性较高,可能导致肝功能损伤、白细胞计数减低等药物不良反应^[6]。对于TGTs体内药效标志物的研究,有望为指导临床用药提供实验数据和参考依据。

缺乏市售的DEM内标化合物是本研究最初遇到的难题。有研究用齐墩果酸作为内标对大鼠血浆进行DEM的定量分析,但其保留时间与待测物差距较大,并且精密度(日内和日间精密度分别为2.50%~11.75%和3.57%~12.91%)和线性关系($r^2=0.9914\sim0.9932$)有待进一步提高^[7]。此外,人体的生理特征与基质效应远比动物模型复杂,因此本研究用 ^{18}O -同位素标记法自制DEM的内标化合物(^{18}O -DEM),因其与待测物的色谱行为最接近,可以最大程度地减少分析误差,有利于提高定量结果的准确性。

血清中复杂的基质效应是本研究遇到的第2大难题。在实验初期,首先尝试将血清样品经蛋白沉淀法处理后取上清液直接进样检测,结果发现,色谱图中几乎没有出现待测化合物的峰,分析可能是DEM吸附在蛋白上被一同沉淀;随后测试了液液萃取法,观察到

尽管内源性物质产生的信号响应相比于蛋白沉淀法大幅度下降,但是回收率低至4%,这可能是由于DEM与被洗脱化合物亲水性近似,从而被一同洗脱。最后,本研究用固相萃取法处理血清样品,从检测结果来看,目标化合物的色谱条件专属性、线性关系良好,日内、日间精密度较高,回收率在可接受范围内,同时内标法校正了基质效应带来的干扰,符合生物样品分析的要求,可以用于TGTs临床药效标志物的研究。

本研究选取了15例DN患者测定血清DEM的血药浓度,定量结果提示,不同患者在使用相同剂量的TGTs时体内DEM的浓度存在较大差异,即使是同一患者在服药的不同时间体内DEM的浓度也不尽相同。造成血药浓度出现如此差异的原因可能与DEM的体内代谢过程有关,也可能与TGTs的服药时间存在一定的相关性,具体原因仍有待后续研究。DEM血药浓度预测TGTs疗效的AUC为0.66,可以为临床提供比较有价值的参考信息,从而指导治疗剂量的调整。

本研究提示:该DEM血清药物浓度检测方法是稳定、可靠的,可以用于DN患者体内DEM浓度监测,在一定程度上指导TGTs在临床上安全有效地应用。

参考文献:

- [1] WANG W. Different doses of tripterygium glycosides in the treatment of diabetic nephropathy: Effects on blood lipids [J]. *Kidney Blood Press Res*, 2018, 43(3): 931—937.
- [2] XU L, ZHAO B, YANG L, et al. Demethylzeylasteral reduces the level of proteinuria in diabetic nephropathy: Screening of network pharmacology and verification by animal experiment [J/OL]. *Pharmacol Res Perspect*, 2022, 10(4): e00976. 2022-06-18 [2024-07-25]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9206407/>.
- [3] KDOQI. KDOQI clinical practice guidelines and clinical practice recommendations for diabetes and chronic kidney disease [J]. *Am J Kidney Dis*, 2007, 49(2 Suppl 2): S12—S154.
- [4] 李宜川,沈永杰,刘国玲,等. 雷公藤多苷对糖尿病大鼠肾脏的保护作用及机制[J]. *中国临床药理学杂志*, 2012, 28(6): 450—452.
- [5] 陈卫东,张继强,张燕,等. 雷公藤多苷对糖尿病肾病大鼠肾基质金属蛋白酶-9和基质金属蛋白酶抑制剂-1表达的影响[J]. *中国临床药理学杂志*, 2015, 31(12): 1157—1161.
- [6] WANG D, ZHAO XH, CUI Y, et al. Efficacy and safety of *Tripterygium wilfordii* Hook F for CKD in Mainland China: A systematic review and meta-analysis [J]. *Phytother Res*, 2018, 32(3): 436—451.
- [7] YANG L, XIA Y, AN L, et al. An LC-MS/MS method for quantification of demethylzeylasteral, a novel immunosuppressive agent in rat plasma and the application to a pharmacokinetic study [J/OL]. *Biomed Chromatogr*, 2018, 32(8): e4247. 2018-04-23 [2024-07-26]. <https://sci.bban.top/pdf/10.1002/bmc.4247.pdf#>. (收稿日期 2024-09-27)