

[文章编号] 1007-7669(2024)01-0057-05

[DOI号] 10.14109/j.cnki.xyylc.2024.01.11

HPLC-MS/MS 法测定人血浆中奈玛特韦和利托那韦浓度

徐宗良^{1,2}, 李盛建², 钱 跣², 段 虎², 周 瑾², 张倩倩², 董 昕¹, 赵 亮^{1,2}

(1. 上海大学医学院, 上海 200444; 2. 上海市宝山区罗店医院 药剂科, 上海 201908)

[关键词] 色谱法, 高压液相; 串联质谱法; 奈玛特韦; 利托那韦; 血药浓度

[摘要] 目的 建立高效液相色谱质谱联用 (HPLC-MS/MS) 法测定人血浆奈玛特韦和利托那韦的血药浓度, 并应用于治疗药物监测。方法 血浆样品经蛋白沉淀后测定, 流动相为 0.1% 甲酸水溶液 (A 相)、乙腈 (B 相), 采用等度洗脱, 流速为 $0.3 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 柱温为 $40 \text{ }^\circ\text{C}$, 使用 EC-C18 色谱柱, 正离子模式下进行多反应监测。结果 用于定量分析的离子通道分别为 m/z 500 \rightarrow 110 (奈玛特韦), m/z 721.2 \rightarrow 296.3 (利托那韦), m/z 614.4 \rightarrow 421 (内标瑞德西韦)。人血浆中奈玛特韦在 $0.01 \sim 10 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、利托那韦在 $0.01 \sim 2.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 浓度范围内线性关系良好, 提取回收率分别为 79.56%~89.91%、82.03%~89.56%, 日间及日内的 RSD 均小于 15%, 并且稳定性良好。采用该方法检测了 34 例新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 患者口服 Paxlovid 后的血药浓度, 血药浓度范围在 $1.04 \sim 18.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 之间。结论 本研究建立的 HPLC-MS/MS 方法检测快速, 灵敏度高, 准确性好, 能应用于 COVID-19 患者服用 Paxlovid 后的血药浓度监测。

[中图分类号] R927.2

[文献标志码] A

Determination of nirmatrelvir and ritonavir in human plasma by HPLC-MS/MS method

XU Zong-liang^{1,2}, LI Cheng-jian², QIAN Xian², DUAN Hu², ZHOU Jin², ZHANG Qian-qian², DONG Xin¹, ZHAO Liang^{1,2}

(1. School of Medicine, Shanghai University, SHANGHAI 200444, China; 2. Department of Pharmacy, Shanghai Baoshan Luodian Hospital, SHANGHAI 201908, China)

[KEY WORDS] chromatography, high pressure liquid mass spectrometry; tandem mass spectrometry; nirmatrelvir; ritonavir; plasma concentration

[ABSTRACT] AIM To establish a high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS) method for the determination of blood drug concentrations of nirmatrelvir and ritonavir in human plasma and apply it to therapeutic drug monitoring (TDM). METHODS Plasma samples were precipitated, and the mobile phase consisted of 0.1% formic acid aqueous solution (phase A) and acetonitrile (phase B). Isocratic elution was used with a flow rate of $0.3 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, a column temperature of $40 \text{ }^\circ\text{C}$, and an EC-C18 chromatographic column. Multiple reaction monitoring was conducted in positive ion mode. RESULTS The ion channels used for quantitative analysis were m/z 500 \rightarrow 110 (nirmatrelvir), m/z 721.2 \rightarrow 296.3 (ritonavir), and m/z 614.4 \rightarrow 421 (internal standard remdesivir). In human plasma, nirmatrelvir showed good linearity

[收稿日期] 2023-04-07

[接受日期] 2023-10-31

[基金项目] 上海市宝山区卫生健康委优青 (育才) 计划 (BSWSYC-2023-14)

[作者简介] 徐宗良, 男, 硕士在读, 主要从事体内药物分析的研究, E-mail: xzl19990113@163.com

[责任作者] 赵 亮, E-mail: zhaoliangphar@163.com

in the range of 0.01 to 10 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, while ritonavir exhibited good linearity in the range of 0.01 to 2.0 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$. The extraction recoveries were 79.56% to 89.91% for nirmatrelvir and 82.03% to 89.56% for ritonavir. The RSD values for intra-day and inter-day precision were all less than 15%, and the stability was satisfactory. The developed method was applied to measure the blood drug concentrations of 34 patients after oral administration of Paxlovid, which ranged from 1.04 to 18.0 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$. CONCLUSION The HPLC-MS/MS method established in this study is rapid, highly sensitive, and accurate, and it can be applied to monitor the therapeutic drug concentration monitoring of COVID-19 patients after taking Paxlovid.

新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 由 SARS-CoV-2 病毒引起, 自爆发以来已经在全球范围内造成了严重的公共卫生问题^[1]。Paxlovid 是由辉瑞公司开发的奈玛特韦 (nirmatrelvir) 片剂 (150 mg) 和利托那韦 (ritonavir) 片剂 (100 mg) 的复合包装药物, 是首批 COVID-19 的口服抗病毒药物之一^[2]。在 Paxlovid 的临床用药患者中, 多为伴有多种慢性疾病的老年人, 肝、肾功能可能改变。奈玛特韦主要通过肾脏清除, 利托那韦则通过肝脏代谢^[3,4], 且奈玛特韦和利托那韦的药动学参数如药物清除率及表观分布容积均具有较大变异性, 用药个体差异大; 此外, 患者大多存在其他药物的长期用药史, 由于奈玛特韦的相关研究较少, 在与其他药物联用时可能出现药物相互作用, 而奈玛特韦浓度过高引起的中毒反应与自身疾病状态难以区别, 因此需要针对此类人群开展治疗药物浓度监测 (TMD) 来调整患者给药剂量并制定个体化给药方案。

目前, 已存在奈玛特韦和利托那韦在健康受试者血浆中的浓度测定方法^[5-8], 然而鲜有 COVID-19 患者体内 TMD 的报道。由于疾病状态与健康状态差异较大, 本研究拟建立人血浆中奈玛特韦与利托那韦的定量方法, 用于 COVID-19 患者奈玛特韦的 TMD。

材料与方 法

药品与试剂 奈玛特韦对照品 (纯度 $\geq 99.9\%$, 上海阿拉丁生化科技公司, 批号: C2215602), 利托那韦对照品 (纯度为 99.8%, 上海阿拉丁生化科技公司, 批号: 101498-202001), 瑞德西韦对照品 (纯度为 98%, 阿达玛斯试剂有限公司, 批号: 011110119)。乙腈 (色谱纯, SIGMA 公司), 甲酸 (分析纯, SIGMA 公司)。

仪器 Agilent 1260 Infinity 液相色谱仪、Agilent 6460K 三重四级杆质谱仪 (Agilent Technologies); LEGEND MICRO 17R 低温高速离心机 (Thermo scientific); VORTEX-5 旋涡混合器 (Kylin-bell); ME55 梅特勒十万分之一电子天平 (梅特勒托利多)。

色谱条件 Agilent InfinityLab Poroshell 120 EC-C18 色谱柱 (150 mm \times 2.1 mm, 2.7 μm), 0.1% 甲酸水 - 乙腈 (40:60) 流动相, 流速 0.3 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 柱温 40 $^{\circ}\text{C}$,

进样量 2 μL , 运行时间 4 min。

质谱条件 采用 AJSESI 正离子化, 离子源参数: 干燥气温度 300 $^{\circ}\text{C}$ 、干燥气流速 12 $\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ 、雾化器压力 45 psi、鞘气温度 325 $^{\circ}\text{C}$ 、鞘气流速 12 $\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ 、毛细管电压 4 000 V、喷嘴电压 500 V。用于定量分析的离子通道分别为 m/z 500 \rightarrow 110 (奈玛特韦), m/z 721.2 \rightarrow 296.3 (利托那韦), m/z 614.4 \rightarrow 421 (内标瑞德西韦)

对照品溶液和内标溶液的制备 精密称取奈玛特韦、利托那韦、瑞德西韦对照品适量, 分别用乙腈配制浓度为 10.00 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的储备液, 于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 储存。用适量乙腈稀释内标储备液, 得到浓度为 8 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的内标工作溶液, 于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 储存。

血浆样品前处理方法 取血浆样品 100 μL 于 1.5 mL 离心管中, 加入内标工作溶液 5 μL 、乙腈溶液 395 μL 作为提取溶剂, 涡旋 60 s, 4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下 13 000 $\times g$ 离心 5 min, 取上清液 100 μL 加入 1.5 mL 离心管中, 再加入 50% 乙腈水溶液 900 μL 混匀, 取 100 μL 于进样瓶, 放入自动进样器中进样分析。

专属性验证 分别取 6 份来自不同健康人的血浆, 从每份空白血浆取 100 μL , 其中 3 份作为空白血浆样品不加入待测样品溶液, 并在前述前处理方法中用乙腈 5 μL 代替内标溶液进行前处理, 前处理完成后进样检测; 另外 3 份加入奈玛特韦、利托那韦对照品工作溶液配成含药血浆样品, 按前述方法前处理后, 进样检测。取临床患者口服 Paxlovid 后的血浆样品, 按前述方法前处理后, 进样分析。

标准曲线与线性范围 稀释储备溶液得到浓度梯度为 0.40、2.00、4.00、20.00、40.00、200.00、400.00 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的奈玛特韦乙腈溶液, 浓度梯度为 0.40、0.80、4.00、8.00、40.00、80.00 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的利托那韦乙腈溶液, 同时取奈玛特韦与利托那韦工作溶液各 25 μL 加入到血浆 1 mL 中, 得到同时含有奈玛特韦与利托那韦的标准曲线溶液。标准曲线溶液中, 奈玛特韦的浓度为 0.010、0.050、0.01、0.50、1.00、5.00、10.00 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 利托那韦的浓度为 0.010、0.020、0.10、0.20、1.00、2.00 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 平行操作 5 份, 血浆样品前处理后进样分析。

精密度与准确度 稀释储备溶液加入到血浆中分别得

到奈玛特韦浓度为 10.010、0.030、0.80、8.00 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 利托那韦浓度为 0.010、0.030、0.16、1.60 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的质控样品, 每个浓度平行制备 5 份, 血浆样品前处理后进样测定, 记录峰面积, 以测得值 / 真实值 $\times 100\%$ 计算日内准确度, 以测量值的相对标准差计算日内精密度, 连续测定 3 d, 考察日间精密度和准确度。

基质效应和提取回收率 分别取 6 份来自不同健康人的血浆, 制备低、中、高三种浓度的质控样品, 将其待测物的峰面积作为 Set1; 取空白人血浆先用乙腈作为沉淀剂处理后, 取上清液按前述前处理方法操作, 使之浓度与 Set1 的待测理论浓度一致, 其待测物峰面积为 Set2; 将利托那韦和奈玛特韦标准溶液用乙腈稀释, 使之与 Set1 待测理论浓度一致, 其待测物峰面积作为 Set3, 内标物同法操作。基质效应的计算为 Set2/Set3, 提取回收率的计算为 Set1/Set2。

稳定性试验 制备低、高两种浓度质控样品, 进行前处理之后进样测定, 分别考察含药血浆样品室温放置 8 h、 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 3 次冻融循环、样品前处理后自动进样器 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 放置 24 h, 以及血浆样品 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 储存 30 d 的稳定性。平行测定 5 份, 计算精密度与准确度。

稀释可靠性 取奈玛特韦和利托那韦的储备液, 配制奈玛特韦浓度为 20.0 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 利托那韦浓度为 6.0 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的血浆样品, 并用空白血浆分别稀释奈玛特韦浓度为 10.0、4.0、2.0 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 利托那韦浓度为 3.0、1.2、0.6 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 即稀释 2、5、10 倍, 每个浓度平行配制 5 份, 血浆样品前处理后进样测定。

结 果

专属性 奈玛特韦、利托那韦保留时间分别为 2.1、

3.3 min 左右, 内标瑞德西韦保留时间为 1.3 min 左右。结果表明, 空白血浆中内源性物质对于奈玛特韦、利托那韦以及内标的测定均无干扰。见图 1。

标准曲线与线性范围 以奈玛特韦与利托那韦的标准曲线浓度为横坐标, 奈玛特韦与利托那韦的峰面积与内标的峰面积比值为纵坐标, 用加权最小二乘法 (权重为 $1/x^2$) 进行回归运算, 绘制标准曲线, 奈玛特韦的线性回归方程为 $Y=0.000\ 457X-0.000\ 561$ ($r=0.995$), 定量限为 10.00 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, 在 10.00~10 000.00 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内线性良好; 利托那韦的线性回归方程为 $Y=0.000\ 787X+0.001\ 46$ ($r=0.991$), 定量限为 10.00 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, 在 10.00~2 000.00 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内线性良好。

精密度与准确度 在四个浓度中, 奈玛特韦、利托那韦质控样品的准确度相对误差 (RE) 分别在 86.89%~101.47%、88.83%~106.53% 范围内, 质控样品的日内、日间相对标准偏差 (RSD) 均小于 15%, 说明精密度与准确度良好, 见表 1。

基质效应和提取回收率 奈玛特韦与利托那韦在低、中、高三浓度下内标归一化的基质效应因子均小于 15%, 说明样品测定不受基质影响。在低、中、高三浓度下, 奈玛特韦的提取回收率为 79.56%~89.91%, 利托那韦的提取回收率为 82.03%~89.56%, 见表 2。

稳定性试验 含药血浆样品室温放置 8 h、 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 3 次冻融循环、样品前处理后自动进样器 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 放置 24 h 以及血浆样品 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 储存 30 d 四种条件下稳定性均良好, 见表 3。

稀释可靠性 奈玛特韦的准确度 RE 在 91.02%~95.68%; 利托那韦准确度 RE 在 97.23%~101.05%, 两者的 RSD 均小于 15%, 符合检测要求。

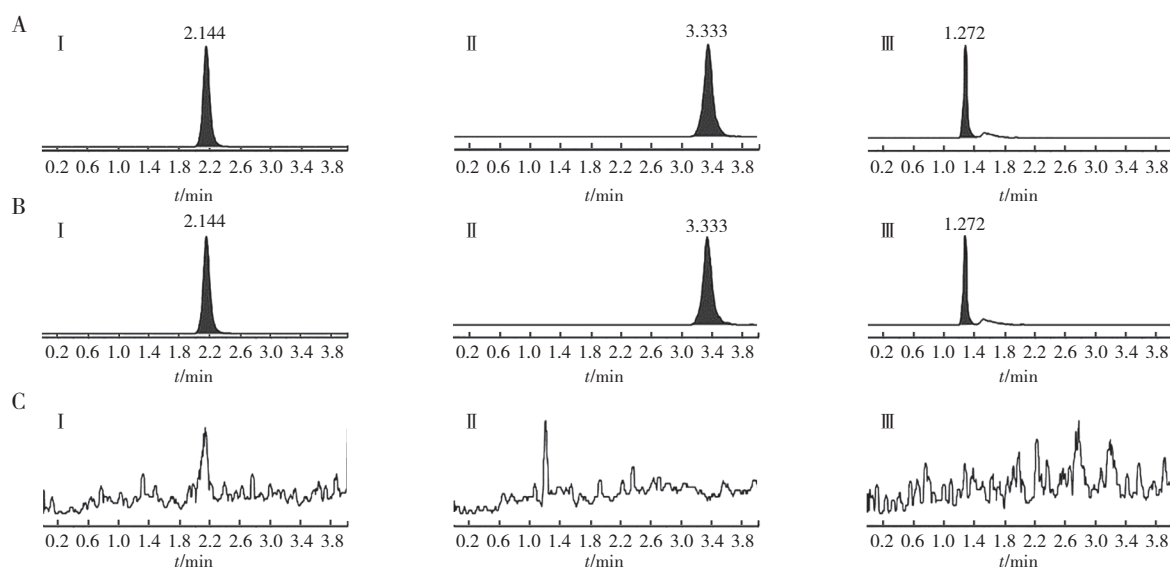


图 1 奈玛特韦和利托那韦的人血浆 HPLC-MS/MS 色谱图

A: 标准品加入空白血浆, B: 患者口服 Paxlovid 后血浆, C: 空白血浆, I:

奈玛特韦, II: 利托那韦, III: 瑞德西韦 (内标)

表 1 奈玛特韦、利托那韦日间与日内精密性与准确度

n=5, $\bar{x} \pm s$

分析物	浓度 / $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	日内			日间		
		测定浓度 / $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	RE/%	RSD/%	测定浓度 / $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	RE/%	RSD/%
奈玛特韦	0.01	0.010 ± 0.002	109.09	3.14	0.010 ± 0.008	104.61	7.21
	0.03	0.030 ± 0.006	101.68	2.35	0.030 ± 0.003	100.23	6.56
	0.80	0.750 ± 0.004	94.64	5.21	0.710 ± 0.002	89.87	3.11
	8.00	7.500 ± 0.091	95.80	1.06	7.600 ± 0.090	96.12	2.57
利托那韦	0.01	0.010 ± 0.001	98.92	10.95	0.010 ± 0.001	98.85	7.68
	0.03	0.030 ± 0.002	102.36	3.37	0.030 ± 0.002	101.53	4.88
	0.16	0.150 ± 0.001	93.73	1.89	0.150 ± 0.007	94.54	4.39
	1.60	1.600 ± 0.009	100.06	0.63	1.600 ± 0.016	99.27	0.94

表 2 奈玛特韦、利托那韦基质效应与提出回收率

n=6

分析物	浓度 / $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	提取回收率		基质效应	
		平均值 /%	RSD/%	平均值 /%	RSD/%
奈玛特韦	0.03	89.92	3.45	92.57	5.01
	0.80	79.56	1.02	94.21	3.49
	8.00	89.91	0.97	101.02	3.01
利托那韦	0.03	89.56	9.01	94.05	8.07
	0.16	87.51	5.47	101.95	5.60
	1.60	82.03	4.63	98.24	2.45

TMD 采用本研究建立的方法检测了 34 例 COVID-19 患者体内奈玛特韦和利托那韦的血药浓度, 患者年龄为 (77 ± 15) 岁 (31~96 岁), 其中 31 例 (91%) 为 60 岁以上的老年患者, 27 例 (79%) 有高血压病史, 24 例 (70%) 有糖尿病史。所有患者每日 2 次口服 Paxlovid, 在第 2 日上午抽血测量血药浓度作为稳态血药浓度, 患者的奈玛特韦浓度为 (5.28 ± 3.79) $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ (1.04~18.0 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$), 利托那韦浓度为 (0.70 ± 0.76) $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ (0.022~2.85 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)。以健康受试者单次给药的奈玛特韦血药浓度峰值 c_{max} (2.62 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)^[9] 作为参考浓度, 有 8 例 (24%) 患者奈玛特韦血药浓度低于 c_{max} ; 26 例 (76%) 患者奈玛特韦血药浓度高于 c_{max} , 其中 20 例 (59%) 患者奈玛特韦血药浓度高于 1.5 倍 c_{max} 。一名肾功能不全同时伴有高血压和 2 型糖尿病的 92 岁老年男性患者的血药浓度监测, 在每日 2 次口服奈玛特韦 300 mg、利托那韦 150 mg 后测得稳态奈玛特韦血药浓度为 18 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 超过 5 倍 c_{max} , 经临床药师建议停药 1 d, 第 2 日改为每日 2 次口服奈玛特韦 150 mg、利托那韦 150 mg, 测得稳态奈玛特韦血药浓度为 2.65 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 在可接受范围内, 避免因药物浓度过高造成的不良事件。

讨 论

在前处理蛋白沉淀剂的选择中, 本课题组前期考察了乙腈、甲醇、50% 乙腈、50% 甲醇四种蛋白沉淀剂, 在使用乙腈作为蛋白沉淀剂时, 待测物质的响应更高, 峰型更好, 因此选择乙腈作为蛋白沉淀剂。在

检测中, 奈玛特韦的保留时间相对较短, 出峰比较快, 生物样本的基质效应对结果测定产生影响, 并且由于临床样本中药物浓度较高, 可能影响质谱离子化, 导致离子化不完全, 因此选择使用 50% 乙腈水溶液对样品进行 10 倍稀释, 降低生物样本的基质效应, 避免高浓度样本影响离子化。

奈玛特韦是 Paxlovid 主要起效成分, 主要对 SARS-CoV-2 的 3CLpro 靶点发挥作用。利托那韦作为细胞色素 P450 (CYP) 3A4 的抑制剂, 可减缓奈玛特韦的代谢并增加其在血清中的含量^[10, 11]。在本方法应用于 COVID-19 患者的 Paxlovid 监测中, 患者的奈玛特韦血药浓度相比于已有的药动学数据^[9] 差距较大, 有 76% 的患者奈玛特韦血药浓度高于健康受试者单次给药的 c_{max} , 这可能与患者多为老年人 (91%) 有关。随着年龄的增加, 人体内脂肪增加, 体内总水分减少, 表观分布容积减少^[12, 13], 可能是导致血药浓度偏高的原因之一。已有多篇文献报道, 在年龄平均为 75 岁的受试者群体中, 肝脏的药物清除率平均下降 20%~25%^[14, 15], CYP3A4 的活性大约下降 44%^[16, 17]。并且老年人群体中多发的高血压和慢性心脏病会导致肾脏功能受损^[18]。Paxlovid 中的奈玛特韦主要通过肝脏中的 CYP3A4 代谢, 经肾脏排泄^[19], 而老年人群体多存在肝肾功能受损, 导致奈玛特韦的代谢排泄过程受到影响, 可能是血药浓度偏高的另一原因。目前针对老年人群体的临床用药指导尚缺乏^[20, 21], 并且老年人群体的个体差异较大^[22], 需要根据实际血药浓度进行给药量的调整。

综上, 本研究所建立的 HPLC-MS/MS 法快速、灵敏、稳定, 可实现同时对奈玛特韦和利托那韦的定量测定, 能应用于 COVID-19 患者服用 Paxlovid 后的血药浓度监测, 及时对临床用药进行调整以避免不良反应的发生。

[参考文献]

- [1] MOHAPATRA KR, SARANGI KA, KANDI V, et al. Omicron (B.1.1.529 variant of SARS-CoV-2); an emerging threat: current

表 3 血浆中奈玛特韦与利托那韦的稳定性

n=6, $\bar{x} \pm s$

分析物	浓度 / $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	室温放置 8 h		3 次冻融循环		4 °C 放置 24 h		-80 °C 储存 30 d	
		测定浓度 / $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	RSD/%	测定浓度 / $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	RSD/%	测定浓度 / $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	RSD/%	测定浓度 / $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	RSD/%
奈玛特韦	0.03	0.030 ± 0.003	9.17	0.030 ± 0.009	4.16	0.030 ± 0.001	2.76	0.030 ± 0.001	4.84
	0.80	0.760 ± 0.012	1.32	0.760 ± 0.061	4.96	0.720 ± 0.064	6.53	0.740 ± 0.056	5.19
	8.00	7.800 ± 0.068	4.08	0.750 ± 0.093	1.44	7.400 ± 0.066	2.19	7.500 ± 0.089	1.96
利托那韦	0.03	0.030 ± 0.002	2.30	0.030 ± 0.002	6.27	0.030 ± 0.001	3.25	0.030 ± 0.002	5.16
	0.16	0.140 ± 0.004	4.17	0.150 ± 0.012	6.60	0.150 ± 0.003	2.72	0.150 ± 0.002	5.05
	1.60	1.600 ± 0.009	3.15	1.600 ± 0.023	2.81	1.600 ± 0.008	1.54	1.600 ± 0.021	3.73

- global scenario [J]. *J Med Virol*, 2022, 94 (5): 1780–1783.
- [2] LAMB YN. Nirmatrelvir plus ritonavir: first approval [J]. *Drugs*, 2022, 82 (5): 585–591.
- [3] ENG H, DANTONIO AL, KADAR EP, *et al.* Disposition of nirmatrelvir, an orally bioavailable inhibitor of SARS-CoV-2 3C-like protease, across animals and humans [J]. *Drug Metab Dispos*, 2022, 50 (5): 576–590.
- [4] 陈洋洋, 陈伟. 抗新型冠状病毒新药奈玛特韦片/利托那韦片的药理作用机制和临床研究分析 [J]. *江苏大学学报: 医学版*, 2022, 32 (6): 537–541. CHEN YY, CHEN W. Pharmacological mechanism and clinical research analysis of the new anti-COVID-19 drugs, nirmatrelvir tablets/ritonavir tablets [J]. *J Jiangsu Univ (Med Edition)*, 2022, 32 (6): 537–541.
- [5] AHMED SF, QUADEER AA, McKAY MR. SARS-CoV-2 T cell responses elicited by COVID-19 vaccines or infection are expected to remain robust against omicron [J]. *Viruses*, 2022, 14 (1): 79.
- [6] 熊歆, 应颖秋, 张现化, 等. 液相色谱-质谱联用同时测定人血浆中奈玛特韦、利托那韦及巴瑞替尼的浓度 [J]. *中国药理学杂志*, 2023, 58 (11): 1015–1019. XIONG X, YING YQ, ZHANG XH, *et al.* Simultaneous determination of nirmatrelvir, ritonavir and baricitinib concentrations in human plasma [J]. *Chin Pharm J*, 2023, 58 (11): 1015–1019.
- [7] OCQUE AJ, HAGLER CE, DIFRANCESCO R, *et al.* Development and validation of a UPLC-MS/MS method for the simultaneous determination of paritaprevir and ritonavir in rat liver [J]. *Bioanalysis*, 2016, 8 (13): 1353–1363.
- [8] MYASEIN F, KIM E, ZHANG J, *et al.* Rapid, simultaneous determination of lopinavir and ritonavir in human plasma by stacking protein precipitations and salting-out assisted liquid/liquid extraction, and ultrafast LC-MS/MS [J]. *Anal Chim Acta*, 2009, 651 (1): 112–116.
- [9] LIU C, ZHU M, CAO L, *et al.* Simultaneous determination of nirmatrelvir and ritonavir in human plasma using LC-MS/MS and its pharmacokinetic application in healthy Chinese volunteers [J]. *Biomed Chromatogr*, 2022, 36 (11): e5456.
- [10] WANG Z, YANG L. In the age of Omicron variant: Paxlovid raises new hopes of COVID-19 recovery [J]. *J Med Virol*, 2022, 94 (5): 1766–1767.
- [11] SINGH RSP, TOUSSI SS, HACKMAN F, *et al.* Innovative randomized phase I study and dosing regimen selection to accelerate and inform pivotal COVID-19 trial of nirmatrelvir [J]. *Clin Pharmacol Ther*, 2022, 112 (1): 101–111.
- [12] CORSONELLO A, ROLLER-WIRNSBERGER R, DI ROSA M, *et al.* Estimated glomerular filtration rate and functional status among older people: a systematic review [J]. *Eur J Intern Med*, 2018, 56: 39–48.
- [13] TAN SJ, COCKCROFT M, PAGE-SHARP M, *et al.* Population pharmacokinetic study of ceftriaxone in elderly patients, using cystatin C-based estimates of renal function to account for frailty [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2020, 64 (10): e00874–20.
- [14] SORACI L, CHERUBINI A, PAOLETTI L, *et al.* Safety and tolerability of antimicrobial agents in the older patient [J]. *Drugs Aging*, 2023, 40 (6): 499–526.
- [15] MILINKOVIC I, POLOVINA M, COATS AJ, *et al.* Medical treatment of heart failure with reduced ejection fraction in the elderly [J]. *Card Fail Rev*, 2022, 8: e17.
- [16] HOCH M, SENGUPTA T, HOURCADE-POTELLERET F. Pharmacokinetic drug interactions of asciminib with the sensitive cytochrome P450 probe substrates midazolam, warfarin, and repaglinide in healthy participants [J]. *Clin Transl Sci*, 2022, 15 (6): 1406–1416.
- [17] CUI C, VALERIE SIA JE, TU S, *et al.* Development of a physiologically based pharmacokinetic (PBPK) population model for Chinese elderly subjects [J]. *Br J Clin Pharmacol*, 2021, 87 (7): 2711–2722.
- [18] DAVIES EA, O' MAHONY MS. Adverse drug reactions in special populations - the elderly [J]. *Br J Clin Pharmacol*, 2015, 80 (4): 796–807.
- [19] REINA J, IGLESIAS C. Nirmatrelvir plus ritonavir (Paxlovid) a potent SARS-CoV-2 3CLpro protease inhibitor combination [J]. *Rev Esp Quimioter*, 2022, 35 (3): 236–240.
- [20] HIREMATH S, McGUINITY M, ARGYROPOULOS C, *et al.* Prescribing nirmatrelvir/ritonavir for COVID-19 in advanced CKD [J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2022, 17 (8): 1247–1250.
- [21] HAMMOND J, LEISTER-TEBBE H, GARDNER A, *et al.* Oral nirmatrelvir for high-risk, nonhospitalized adults with COVID-19 [J]. *N Engl J Med*, 2022, 386 (15): 1397–1408.
- [22] KLOTZ U. Pharmacokinetics and drug metabolism in the elderly [J]. *Drug Metab Rev*, 2009, 41 (2): 67–76.