LC-MS/MS 法测定人血浆中恩曲他滨和替诺福韦及药动学研究

方百欢，周 臻，李 周，康修远，葛庆华 *
（医药先进制造国家工程研究中心，上海 201203）

摘要：建立了 LC-MS/MS 法同时测定人血浆中的恩曲他滨（**1**）和替诺福韦（**3**）。采用电喷雾电离源正离子模式，多反应监测进行定量分析。结果显示，**1** 和 **3** 分别在 20 ～ 4 000、4 ～ 800 ng/mL 内线性关系良好。**1** 的日内、日间精密度小于 4.66%，**3** 的日内、日间精密度小于 8.64%，无明显基质效应。并且，该方法最低定量限分别达到了 20、4 ng/mL，能够满足药动学需求，为类似产品的临床研究提供了参考。

关键词：恩曲他滨；替诺福韦；艾滋病（AIDS）；液相色谱 - 串联质谱；药物动力学
中图分类号：R917；R978.7 **文献标志码**：A **文章编号**：1001-8255(2025)03-0389-07
引用：方百欢，周 臻，李 周，等. LC-MS/MS 法测定人血浆中恩曲他滨和替诺福韦及药动学研究 [J]. 中国医药工业杂志，2025, 56(3): 0389-0395. DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2025.03.013

Determination of Emtricitabine and Tenofovir in Human Plasma by LC-MS/MS and Pharmacokinetic Study

FANG Baihuan, ZHOU Zhen, LI Zhou, KANG Xiuyuan,GE Qinghua*
(*National Advanced Medical Engineering Research Center, Shanghai 201203*)

ABSTRACT: A LC-MS/MS method was established for the simultaneous determination of emtricitabine (**1**) and tenofovir (**3**) in human plasma. A tandem mass spectrometric detection with an electrospray ionization interface was conducted via multiple reaction monitoring under positive ionization mode. The results showed that it was linear for **1** and **3** in the ranges of 20 – 4 000 ng/mL and 4 – 800 ng/mL, respectively. The intra- and inter-day precision of **1** was less than 4.66 % , and the intra- and inter-day precision of **3** was less than 8.64 % , with no significant matrix effect. And the minimum quantification limits of this method reached 20 and 4 ng/mL, respectively, which could meet the pharmacokinetic requirements and provide some references for clinical research of similar products.

Key Words: emtricitabine; tenofovir; acquired immune deficiency syndrome (AIDS); LC-MS/MS; pharmacokinetics

恩曲他滨（emtricitabine，**1**）替诺福韦（tenofovir，**3**）片（舒发泰®）是由 **1** 和富马酸替诺福韦二吡呋酯 2 种药物组合而成，是用于治疗 HIV-1 感染的复方药物[1—4]。2 种主成分都是 HIV 核苷类似物逆转录酶抑制剂[5—6]，后者是 **3** 的前药，可改善 **3** 口服生物利用度，**1**、**3** 在临床上应用广泛。

目前国内尚无文献报道同时测定血浆中 **1** 和 **3** 的方法。本研究建立了一种简单、快速、准确的 LC-MS/MS 法同时测定人血浆中 **1** 和 **3**，并将该方法成功应用于健康受试者单次口服舒发泰® 空腹、餐后的药动学研究样品测定。

收稿日期：2024-05-23
作者简介：方百欢（1991—），男，助理研究员，从事药物分析及药物动力学研究。
通信作者：葛庆华（1963—），女，研究员，从事药物分析及药物动力学研究。
E-mail：geqinghua@sina.com

1 仪器与试药

LCMS-8060 型三重四极杆液质联用仪（日本 Shimadzu 公司），配有 LC-30AD 型泵 2 台；MSA6.6S-0CE-DM 型微量精密分析天平（德国 Sartorius 公司）；数据处理采用 LabSolutions LCMS 5.82 SP1 工作站。

恩曲他滨替诺福韦片（舒发泰®）（每片含 **1** 200 mg、富马酸替诺福韦二吡呋酯 300 mg，加拿大 Patheon 公司，批号 YZKFA）；**1** 对照品（标示含量 100.1%，批号 110A1801）和 **3** 对照品（标示含量 99.6%，批号 160A1701）均来自上海迪

赛诺化学制药有限公司；拉米夫定-$^{13}C_1$,d_2（**2**）对照品（含量96%，批号11-HBN-134-1）和替诺福韦-d_6（**4**）对照品（含量95%，批号12-JLI-109-1）均购于加拿大Toronto Research Chemicals公司；脂肪乳剂（美国Santa Cruz Biotechnology公司，批号H0519）；甲醇、甲酸和乙酸铵为色谱纯，水为饮用纯净水。

6个不同来源空白血浆（批号201901K001、201901K002、201901K003、201901K004、201901K005、201901K006）和空白全血（批号K001-BL-02）来源于上海市第一人民医院；基于空白血浆和健康受试的药动学试验方案已通过上海市第一人民医院人体试验伦理审查委员会审批（批件号：院伦快[2019]259号）。

2 方法与结果

2.1 溶液及血浆样品配制

2.1.1 溶液配制

1、**3**贮备液：精密称取**1**、**3**对照品适量，置不同玻璃瓶中，用20%甲醇溶解、定量稀释，得**1**、**3**质量浓度分别为1 600 μg/mL的**1**、**3**贮备液。

1、**3**标准曲线系列工作液及质控系列工作液：精密吸取**1**、**3**标准曲线贮备液适量，用20%甲醇逐级定量稀释，得1标示质量浓度分别为80、40、20、10、5、1、0.4 μg/mL的**1**标准曲线系列工作溶液[其中80和0.4 μg/mL分别是定量上限（upper limit of quantitation，ULOQ）和定量下限（lower limit of quantitation，LLOQ)]，以及**3**标示质量浓度分别为16、8、4、2、1、0.2、0.08 μg/mL（其中16和0.08 μg/mL分别是ULOQ和LLOQ）的**3**标准曲线系列工作溶液。精密吸取**1**、**3**贮备液适量，用20%甲醇逐级定量稀释，得**1**的标示浓度分别为64、32、16、0.8、0.4 μg/mL[分别记作高质控（high quality control，HQC）、中高质控（middle high quality control，MHQC）、中低质控（middle low quality control，MLQC）、低质控（low quality control，LQC）和LLOQ]的**1**质控系列工作溶液；**3**的标示浓度分别为12.8、6.4、3.2、0.16、0.08 μg/mL（同样分别记作HQC、MHQC、MLQC、LQC和LLOQ）的**3**质控系列工作溶液，以及**1**浓度为320 μg/mL、**3**浓度为64 μg/mL的质控稀释效应加入液。

内标工作液：精密称取**2**、**4**对照品适量，置同一量瓶中，加入20%甲醇溶解并稀释，得**2**质量浓度为15.24 μg/mL、**4**质量浓度为3.70 μg/mL的内标工作液。

HQC对照品溶液：精密吸取MLQC质控工作液100 μL和内标工作液25 μL，混匀，用20%甲醇稀释至2 mL即可。

MLQC对照品溶液：精密吸取LQC质控工作液500 μL和内标工作液25 μL，混匀，用20%甲醇稀释至2 mL即可。

LQC对照品溶液：精密吸取LQC质控工作液25 μL和内标工作液25 μL，混匀，用20%甲醇稀释至2 mL即可。

2.1.2 血浆样品配制

标准曲线血浆样品：取空白血浆200 μL，分别精密加入“**2.1.1**”项下标准曲线工作液10 μL，得血浆标准曲线样品，其中，**1**质量浓度分别为4 000、2 000、1 000、500、250、50、20 ng/mL，**3**质量浓度分别为800、400、200、100、50、10、4 ng/mL。

质控血浆样品：取空白血浆200 μL，分别精密加入“**2.1.1**”项下混合质控标准溶液10 μL得血浆质控样品，其中**1**质量浓度分别为3 200、1 600、800、40、20 ng/mL，**3**质量浓度分别为640、320、160、8、4 ng/mL。临用前配制。

溶血血浆：取K_2EDTA抗凝血浆190 μL，加入全血10 μL。

高脂血浆：取K_2EDTA抗凝血浆196 μL，加入脂肪乳剂4 μL。

2.2 色谱和质谱条件

色谱条件：色谱柱Waters ACQUITY UPLC® HSS T_3柱（2.1 mm×100 mm，1.8 μm）；流动相A为水（含0.1%甲酸，20 mmol/L乙酸铵），B为50%甲醇（含0.1%甲酸，10 mmol/L乙酸铵），梯度洗脱（0—0.50 min，B 8%；0.50—2.40 min，B 8%—50%；2.40—3.60 min，B 50%；3.60—3.70 min，B 50%—8%；3.70—6.00 min，B 8%）；柱后切换阀0.1～1.9 min进入废液，其他时间进入质谱；柱温40 ℃；洗针液20%甲醇；样品室温度4 ℃；流速

0.3 mL/min；进样量 10 μL。

质谱条件：离子源 电喷雾离子源（ESI^+）；检测模式 多反应监测（multiple reaction monitoring，MRM）；雾化气 3 L/min；加热气 10 L/min；干燥气 10 L/min；接口温度 300 ℃；脱溶剂（DL）温度 250 ℃；加热模块温度 400 ℃。其他条件如表 1 所示。

表 1 质谱参数的设定值

Tab.1 Setting Values of Mass Parameters

化合物	离子对	驻留时间 / ms	Q1/V	CE/V	Q3/V	说明
1	248.15→130.20	100	－13	－8.0	－13	分析物
2	232.95→96.15	100	－11	－38	－18	内标
3	288.00→176.15	100	－11	－26	－19	分析物
4	293.90→182.25	100	－12	－27	－19	内标

2.3 血样处理方法

精密吸取空白血浆 200 μL，加入 20％甲醇 10 μL，再加入内标工作液 10 μL，混匀（若配制 1、3 标准曲线血浆样品或质控血浆样品，则将 20％甲醇 10 μL 替换为相应的工作液 10 μL），加入甲醇 600 μL，振荡 5 min，离心（13 400×g）10 min。取上层有机相 200 μL，置另一干净玻璃管，于 60 ℃水浴，氮气流下挥干，取 20％甲醇 200 μL 复溶，于 4 ℃保存至进样。

2.4 选择性与同位素干扰

2.4.1 选择性

取 6 个不同来源的空白 K_2EDTA 抗凝人血浆和 1 个溶血空白血浆，按“**2.3**”项下方法以随行空白样品处理方法处理后进样，记录分析物及内标峰面积；LLOQ 血浆和受试者口服试验制剂后 1 h 后的血浆，均按“**2.3**”项下方法处理后进样；含 **1**、**2**、**3**、**4** 的对照品直接进样。结果如图 1 所示，内源性物质不干扰测定，方法选择性良好。

2.4.2 同位素干扰

分别处理零浓度样品、不加内标的 ULOQ 样品和 LLOQ 样品，进样记录分析物及内标峰面积。仅加入内标的空白血浆样品中没有检测到 **1**、**3** 色谱峰，不加内标的 ULOQ 样品中没有检测到 **2**、**4** 色谱峰，表明 **1**、**3** 和 **2**、**4** 无同位素干扰现象。

2.5 线性试验

取“**2.1.2**”项下标准曲线血浆样品，按“**2.3**”项下方法处理后进样分析。以样品的质量浓度 c 为横坐标，样品峰面积与内标峰面积之比 R 为纵坐标，采用加权最小二乘法（权重因子 $1/c^2$）进行线性回归，得 **1** 的标准曲线方程为 R=0.003 098c+0.005 553，r^2=0.999 4；**3** 的标准曲线方程为 R=0.006 127c+0.000 540 8，r^2=0.999 7。结果表明，**1** 在 20 ～ 4 000 ng/mL，**3** 在 4 ～ 800 ng/mL 内线性关系良好。

2.6 灵敏度、准确度与精密度试验

取“**2.1.2**”项下质控血浆样品各 6 份，按“**2.3**”项下方法处理后进样分析，于不同日测定 3 个分析批。方法准确度及精密度结果如表 2 所示，可见 **1** 的日内、日间精密度小于 4.66％，**3** 的日内、日间精密度小于 8.64％，准确度在 96.68％～ 101.9％。上述结果说明该方法的精密度、准确度较高。

2.7 血浆基质效应和提取回收率

在质控 LQC、MLQC、HQC 水平下考察血浆基质效应和提取回收率。取“**2.1.1**”项下 LQC、MLQC、HQC 对照品溶液直接进样测定，所得的样品和内标峰面积分别记作 $A_{样品}$、$A_{内标}$。

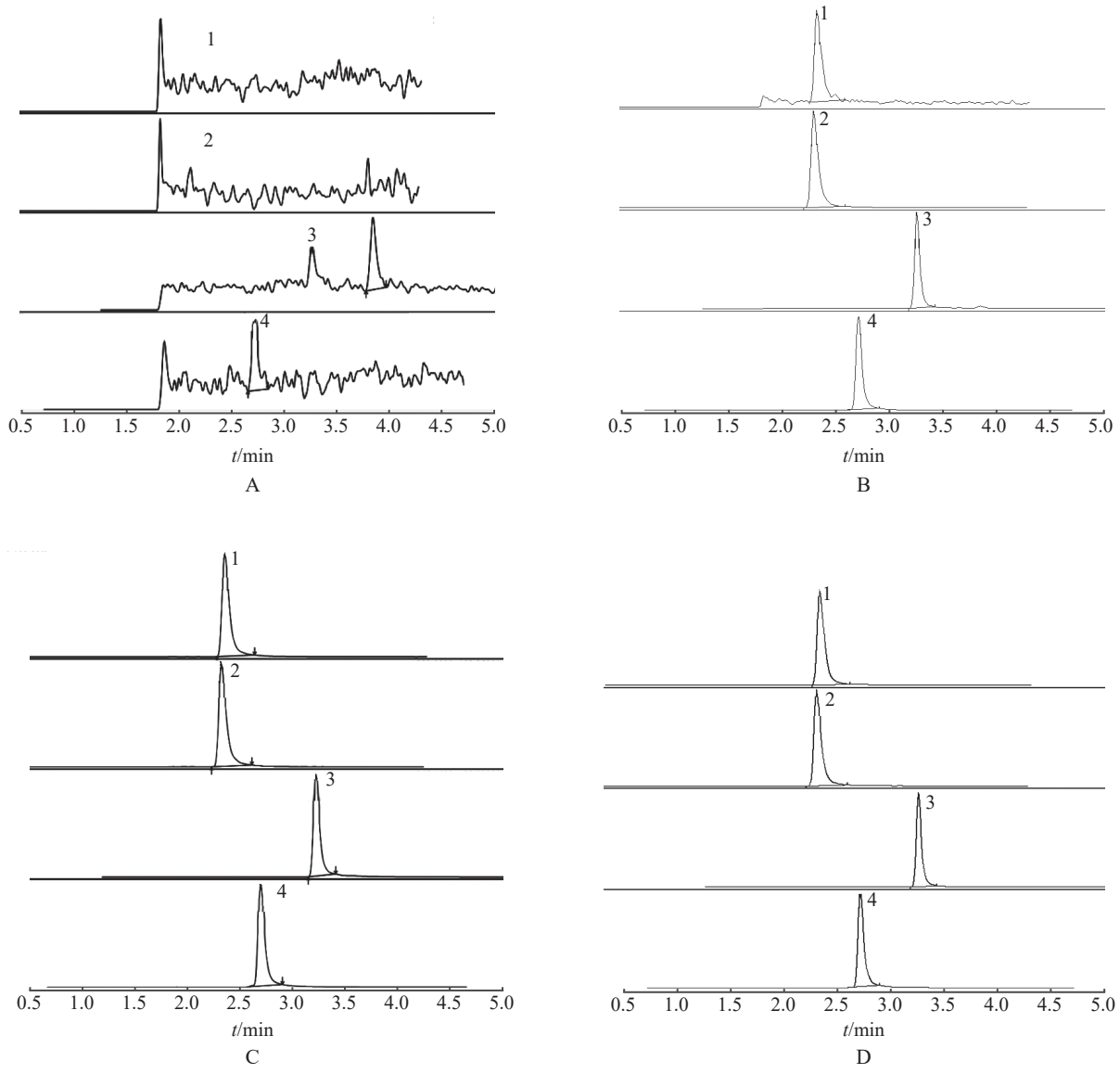
精密吸取不同来源的 K_2EDTA 空白血浆 200 μL，加入空白溶剂 20 μL 和甲醇 600 μL，连续振荡萃取 5 min，离心（13 500×g）10 min。取上层有机相 200 μL，置另一干净玻璃管，于 60 ℃水浴，氮气流下挥干。剩余物用上述对照品溶液 200 μL 复溶，复溶液转移至样品管中，于 4 ℃保存至进样。所得的样品和内标峰面积分别记作 $B_{样品}$、$B_{内标}$。

精密吸取 K_2EDTA 空白血浆 200 μL，加入质控工作液和内标工作液各 10 μL，再加入甲醇 600 μL，连续振荡萃取 5 min，离心（13 500×g）10 min。取上层有机相 200 μL，置另一干净玻璃管，于 60 ℃水浴，氮气流下挥干。剩余物以 20％甲醇 200 μL 复溶，复溶液转移至样品管中，于 4 ℃保存至进样。每个浓度样品各取 6 份，如上操作，测得的样品和内标峰面积分别记作 $C_{样品}$、$C_{内标}$。

按下式计算待测物和内标的基质效应和提取回收率。

$$待测物的基质效应=(B_{样品}/A_{样品})\times 100\% \quad ①$$

$$内标的基质效应=(B_{内标}/A_{内标})\times 100\% \quad ②$$



A—空白血浆；B—LLOQ 血样；C—志愿者口服受试制剂 1 h 后血样；D—对照品溶液。

1—**3**；2—**4**；3—**1**；4—**2**。

图 1　典型 MRM 色谱图

Fig.1　Typical MRM Chromatograms

表 2　精密度与准确度试验结果

Tab.2　Results of Precision and Accuracy

c/(ng·mL^{-1})	日内 RSD/%		日间 RSD/%		准确度 ($\bar{x}$±s，n=6)/%	
	1	**3**	**1**	**3**	**1**	**3**
LLOQ	2.43	8.64	2.66	6.81	99.38±2.65	101.9±6.93
LQC	3.32	7.87	2.63	6.35	99.09±2.60	97.94±6.21
MLQC	2.42	2.74	4.66	4.89	101.2±4.67	98.26±4.79
MHQC	1.35	1.74	2.47	2.71	100.6±2.49	101.3±2.76
HQC	3.45	4.06	3.96	3.68	96.68±3.83	100.4±3.69

经内标校正的待测物基质效应（内标归一化基质因子）=($B_{样品}/A_{样品}$)/($B_{内标}/A_{内标}$)×100% ③

待测物的提取回收率＝($C_{样品}/B_{样品}$)×100% ④

内标的提取回收率＝($C_{内标}/B_{内标}$)×100% ⑤

采用标准曲线法考察溶血与高脂血浆效应，即用 K_2EDTA 抗凝血浆配制标准曲线，用待考察的血浆配制 QC 样品。在 LQC、HQC 水平进行考察。按“**2.3**”项下方法操作，以正常基质配制标准曲线样品的进样结果进行标定，计算溶血、高脂血浆基质效应。结果如表 3 所示，可见本法无明显基质效应。

表 3 血浆基质效应试验结果（$\bar{x}\pm s$，n=6）

Tab.3 Results of Matrix Effects ($\bar{x}\pm s$, n=6)

化合物	c/(ng·mL^{-1})	血浆基质效应/%	高脂血浆基质效应/%	溶血血浆基质效应/%
1	40	103.2±2.0	97.85±9.5	94.16±2.1
	800	113.3±8.9	—	—
	3 200	106.3±6.2	95.71±6.1	97.69±2.4
3	8	104.1±5.0	99.02±4.7	90.44±3.2
	160	103.6±1.4	—	—
	640	103.2±1.6	97.24±1.2	104.8±2.3

注：“—”表示没有检测数据，该浓度下无需测定。

待测物和内标的提取回收率结果如表 4 所示，可见本法提取回收率较高且可重复。

表 4 提取回收率试验结果（$\bar{x}\pm s$，n=6）

Tab.4 Results of Extraction Recoveries ($\bar{x}\pm s$, n=6)

化合物	考察水平		
	LQC	MLQC	HQC
1	95.05±2.9	92.89±3.0	95.02±4.3
2		103.9±5.9	
3	93.51±4.9	93.53±6.3	97.10±2.0
4		101.7±4.0	

2.8 稀释效应

取“**2.1.1**”项下的质控稀释效应加入液 20 μL，加入空白血浆 400 μL，混匀得待稀释血浆。精密吸取 40 μL，加入空白人血浆 160 μL，混匀，平行处理 6 份。按“**2.3**”项下方法处理后按“**2.2**”项下分析条件进样测定。结果显示，**1** 和 **3** 的准确度均值为 (99.37±1.67) % 和 (101.9±2.95) %，稀释因子为 1 ∶ 5 时的稀释可靠性良好。

2.9 稳定性试验

按“**2.6**”项下方法分别配制 HQC、LQC 生物样本，分别于室温放置 20.5 h、冻融 5 次、－20 或 －80 ℃放置 94 d、血样处理后室温放置 63 h 及 4 ℃放置 63 h，考察其稳定性，结果如表 5 所示，可见血样在上述条件下均稳定。

全血稳定性考察采用体外孵化法，具体操作如下：同法配制 HQC、LQC 全血样品，含药全血 37 ℃孵化后，于室温放置 1 或 2 h 后离心 (3 000×g) 5 min，分离出血浆，与 0 h 样品一起测定浓度，考察稳定性。全血样品室温放置 2 h 后，稳定性结果分别是：**1** (LQC) (103.0±0.002) %、(HQC) (102.7±0.39) %；**3** (LQC) (106.6±0.003) %、(99.77±0.13) % (HQC)，表明 **1**、**3** 于全血中室温放置 2 h 稳定。

2.10 最大分析批次考察

为评价一个分析批中不同时间的趋势，将同一批次（一日内）的全部样品反复进样 240 针，以第 1 批标准曲线定量。结果显示，**1** 的合格率为 100.0%，**3** 的合格率为 99.58%，证明进样 240 针的情况下本方法稳定、可靠。

2.11 相对稳定性

一个处理好的分析批样品初次进样后，于 4 ℃放置 4 d 再次进样分析，结果依然符合接受标准。

2.12 人体药动学研究中的应用

健康受试者空腹 (n=29) 或餐后 (n=35) 口服舒发泰®1 片，进行药动学试验。空腹试验分别于给药

表 5 血浆稳定性试验结果/%（$\bar{x}\pm s$，n=3）

Tab.5 Results of Plasma Stability Tests/% ($\bar{x}\pm s$, n=3)

化合物	c/(ng·mL^{-1})	室温放置 20.5 h	冻融 5 次	－20 ℃储存 94 d	－80 ℃储存 94 d	处理后室温放置 63 h	处理后 4 ℃放置 63 h
1	40	100.3±1.09	94.69±1.28	95.46±0.96	97.77±0.83	97.94±1.12	100.3±5.68
	3 200	95.70±0.54	95.75±1.54	89.84±4.26	88.66±2.16	94.62±1.21	95.25±1.69
3	8	101.0±0.64	93.88±0.68	102.3±3.63	101.5±3.84	94.05±5.78	94.05±3.49
	640	99.50±0.66	94.92±2.00	94.82±4.38	93.93±3.89	96.24±1.47	98.68±2.25

前和给药后 0.25、0.5、0.75、1、1.33、1.67、2、2.5、3、4、5、6、8、12、24、48、72 h 时抽取肘静脉血 4.0 mL，高脂餐后试验分别于给药前和给药后 0.5、0.75、1、1.33、1.67、2、2.33、2.67、3、3.5、4、5、6、8、12、24、48、72 h 时抽取肘静脉血 4.0 mL，置 K_2EDTA 抗凝试管内，然后离心（3 000×*g*）5 min，取血浆，转移至 2 mL 冻存管中，于 －80 ℃冻存待测。

按“**2.3**”项下方法处理血样，并按“**2.2**”项下分析条件进样测定。血药浓度数据采用 DAS 2.0 软件处理。受试者单次给予试验制剂的平均药时曲线如图 2 所示，主要药动学参数如表 6 所示。

表 6　主要药动学参数 /%

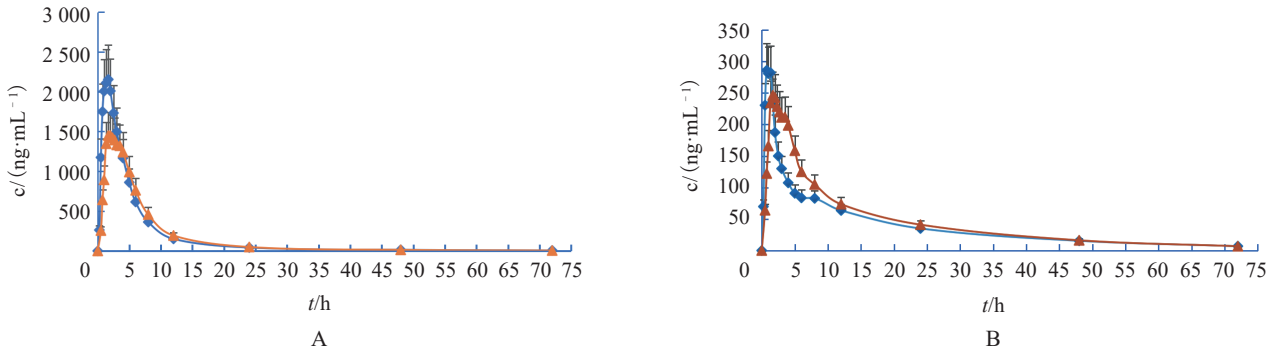
Tab.6　Main Pharmacokinetic Parameters/%

参数	餐后（$\bar{x}\pm s$，n=35）		空腹（$\bar{x}\pm s$，n=29）	
	1	**3**	**1**	**3**
$t_{1/2}$/h	13.37±4.89	18.17±1.81	16.40±6.13	19.45±3.10
c_{max}/(ng·mL^{-1})	1 919.0±330.6	340.6±71.4	2 447.0±495.6	352.70±82.04
t_{max}/h	2.17±0.95	2.02±0.96	1.43±0.50	0.97±0.35
$AUC_{0\to t}$/(μg·mL^{-1}·h^{-1})	11.34±1.79	3.32±0.64	12.60±1.44	2.84±0.67
$AUC_{0\to\infty}$/(μg·mL^{-1}·h^{-1})	11.45±1.82	3.50±0.67	12.24±1.41	3.05±0.73

3　讨论

国内尚无文献报道同时测定血浆中 **1** 和 **3** 的方法，文献[7—8]中报道 **3** 采用固相萃取的方式测定，成本较高、操作烦琐。文献[8]中采用三氯乙酸蛋白沉淀法，但考虑到三氯乙酸对质谱危害比较大，本研究采用甲醇蛋白沉淀。由于 **3** 的极性强，易溶于水，蛋白沉淀后直接进样不出峰，故采用蛋白沉淀取上清液吹干的方式处理样本，可检测到目标分析物色谱峰，操作简便、快速，成本节省，应用前景较好。本法最低定量限分别达到了 20、4 ng/mL，能够满足药动学需求，也能为该类似产品临床研究提供支持。

空腹组与餐后组数据经过方差分析，高脂肪饮食后 **1** 的 t_{max} 和 c_{max} 有显著性差异（P<0.05），t_{max} 延长、c_{max} 降低，$t_{1/2}$ 和 $AUC_{0\to t}$ 无显著性差异（P>0.05）。高脂肪饮食后，**3** 的 t_{max} 和 $AUC_{0\to t}$ 有显著性差异（P<0.05），t_{max} 延长、$AUC_{0\to t}$ 增加，$t_{1/2}$ 和 c_{max} 无显著性差异（P>0.05），说明食物会造成 **3** 吸收延迟，与文献[9—10]报道一致。



◆—空腹（n=29）；▲—餐后（n=35）。

图 2　单次口服试验制剂后 1（A）和 3（B）的平均药 - 时曲线

Fig.2　Mean Plasma Concentration-time Curves of **1** (A) and **3** (B) after a Single Oral Dose

参考文献：

[1] FDA. Guidance for industry bioanalytical method validation (draft guidance) [EB/OL]. [2024-03-01]. https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/bioanalytical-method-validation-guidance-industry.

[2] DELAHUNTY T, BUSHMAN L, ROBBINS B, *et al*. The simultaneous assay of tenofovir and emtricitabine in plasma using LC/MS/MS and isotopically labeled internal standards [J]. *J Chromatogr B*, 2009, **877**(20-21): 1907-1914.

[3] YADAV M, SINGHAL P, GOSWAMI S, *et al*. Selective determination of antiretroviral agents tenofovir, emtricitabine, and lamivudine in human plasma by a LC-MS-MS method for a bioequivalence study in healthy Indian subjects [J]. *J*

Chromatogr Sci, 2010, **48**(9): 704-713.

[4] MATTA M K, BURUGULA L, PILLI N R, *et al*. A novel LC-MS/MS method for simultaneous quantification of tenofovir and lamivudine in human plasma and its application to a pharmacokinetic study [J]. *Biomed Chromatogr*, 2012, **26**(10): 1202-1209.

[5] 董艳飞, 钟 兵, 刘 冰. 富马酸丙酚替诺福韦片治疗慢性乙型肝炎合并脂肪肝的临床疗效及安全性 [J]. 临床合理用药, 2024, **17**(23): 69-73.

[6] 贾 玲, 娄宪芝, 那 妍. 血清前白蛋白总胆红素比值水平评估慢性乙型肝炎恩曲他滨治疗耐药性的价值 [J]. 中国药物经济学, 2020, **15**(3): 59-62.

[7] YADAV M, SINGHAL P, GOSWAMI S, *et al*. Selective determination of antiretroviral agents tenofovir, emtricitabine, and lamivudine in human plasma by a LC-MS-MS method for a bioequivalence study in healthy Indian subjects [J]. *J Chromatogr Sci*, 2010, **48**(9): 704-713.

[8] 张晞倩, 张军东, 赵 萍, 等. 空腹及餐后口服富马酸替诺福韦二吡呋酯片的人体生物等效性 [J]. 中国医药工业杂志, 2015, **46**(2): 180-185.

[9] 龙友琦, 尚京川, 颜 波, 等. 中国西部健康人群口服恩曲他滨胶囊的药动学 [J]. 中国医院药学杂志, 2013, **33**(1): 11-14.

[10] 陈枳漙, 冯仕银, 南 峰, 等. LC-MS/MS 法测定人血浆中替诺福韦质量浓度及其生物等效性研究 [J]. 四川大学学报 (医学版), 2018, **49**(1): 107-112.

(上接第 388 页)

[15] REN D D, XIANG S S, YAN Y W, *et al*. Design and optimization of purification process of sinomenine hydrochloride [J]. *Chin J Chem Eng*, 2023, **55**(3): 63-72.

[16] 石福娟, 杨超杰, 陈秀芬, 等. 产地、树龄、采收期等因素对银杏叶中黄酮和萜内酯含量的影响 [J]. 中国中药杂志, 2022, **47**(15): 4055-4065.

[17] 殷海利, 赵一懿, 郭洪祝, 等. 银杏叶中 6 种有机酸类成分定量分析 [J]. 中国新药杂志, 2019, **28**(12): 1505-1510.

[18] 李今豪. 银杏叶提取物工艺中间体检测方法及制备工艺研究 [D]. 天津: 天津中医药大学硕士学位论文, 2024.

[19] 李今豪, 周雅青, 颉佳乐, 等. 基于分析质量源于设计的银杏叶提取液中有机酸含量分析方法 [J]. 分析测试学报, 2024, **43**(11): 1735-1744.

[20] 邵静媛, 瞿海斌, 龚行楚. 2 种设计空间计算方法的比较研究——达标概率法和多指标叠加法 [J]. 中国中药杂志, 2018, **43**(10): 2074-2080.

[21] SHAO J Y, CAO W, QU H B, *et al*. A novel quality by design approach for developing an HPLC method to analyze herbal extracts: a case study of sugar content analysis [J]. *Plos One*, 2018, **13**(6): 198515.

[22] CHEN T, GONG X C, ZHANG Y, *et al*. Optimization of a chromatographic process for the purification of saponins in *Panax notoginseng* extract using a design space approach [J]. *Sep Purif Technol*, 2015, **154**: 309-319.

[23] GONG X C, CHEN H L, PAN J Y, *et al*. Optimization of *Panax notoginseng* extraction process using a design space approach [J]. *Sep Purif Technol*, 2015, **141**: 197-206.

[24] JIANG C, GONG X C, QU H B. A strategy for adjusting macroporous resin column chromatographic process parameters based on raw material variation [J]. *Sep Purif Technol*, 2013, **116**: 287-293.