

氯吡格雷及其羧酸代谢物高效液相色谱-串联质谱法快速检测*

李鹏飞¹, 吴 诚², 刘洪川¹, 童卫杭², 马 萍², 于伟越¹, 刘丽宏^{1△} (1. 首都医科大学附属北京朝阳医院药事部, 北京 100020; 2. 第二炮兵总医院药学部, 北京 100088)

【摘要】 目的 建立高效液相色谱-串联质谱法快速定量检测人血浆中氯吡格雷及其羧酸代谢物的方法。**方法** 氯吡格雷样本用乙腈沉淀蛋白后, 选用 Eclipse XDB-C₁₈ 柱 (150.0 mm×4.6 mm×5.0 μm), 以乙腈-1 mmol/L 乙酸铵溶液为流动相进行梯度洗脱。氯吡格雷羧酸代谢物样本用乙腈沉淀蛋白后, 选用 Kromasil-C₁₈ 色谱柱 (50.0 mm×4.6 mm×5.0 μm), 以乙腈-1 mmol/L 乙酸铵溶液 (60:40 v/v) 为流动相等度洗脱。选用 3200 QTrap 型液相色谱-串联质谱仪的多重反应监测 (MRM) 扫描方式进行检测。**结果** 氯吡格雷线性范围为: 0.01~5.00 ng/mL, 定量下限为 0.01 ng/mL。氯吡格雷羧酸代谢物线性范围为: 10.0~5 000 ng/mL, 定量下限为 10.0 ng/mL。准确度与精密度结果显示方法日间、日内变异系数均小于 15%, 相对偏差-2.00%~2.65%, 稳定性较好。**结论** 本研究建立了快速、灵敏、专属性强、重复性好的方法, 适用于临床药代动力学和生物等效性研究。

【关键词】 高效液相色谱-串联质谱法; 氯吡格雷; 药代动力学; 生物等效性; 代谢物

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2016.04.001 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2016)04-0433-04

Rapid determination of clopidogrel and its carboxylic acid metabolites by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry* LI Peng-fei¹, WU Cheng², LIU Hong-chuan¹, TONG Wei-hang², MA Ping², YU Wei-yue¹, LIU Li-hong^{1△} (1. Department of Pharmacy, Affiliated Beijing Chaoyang Hospital, Capital Medical University, Beijing 100020, China; 2. Department of Pharmacy, Second Artillery General Hospital, Beijing 100088, China)

【Abstract】 Objective To establish a rapid high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS) method for the quantitative determination of clopidogrel and carboxylic acid metabolites in human plasma. **Methods** The clopidogrel and its carboxylic acid metabolite samples were treated by acetonitrile for precipitating protein. Then the clopidogrel was separated on an Eclipse XDB-C₁₈ column (150.0 mm×4.6 mm×5.0 mm) with a gradient elution by acetonitrile-1 mmol/L ammonium acetate, and the clopidogrel carboxylic acid metabolite was separated on a Kromasil-C₁₈ column (50.0 mm×4.6 mm×5.0 μm) with an isocratic elution by acetonitrile-1 mmol/L ammonium acetate (60:40 v/v). The detection was carried out by multiple reaction monitoring mode by using the 3200 QTrap LC-MS/MS instrument. **Results** The linear ranges of clopidogrel and carboxylic acid metabolites were 0.01-5.00 ng/mL and 10.0-5 000 ng/mL with a lower limit of quantitation of 0.01 and 10.0 ng/mL. Intra- and inter-day precisions were both less than 15%. The relative deviation was in the range of -2.00% - 2.65%. The stability of the method was good. **Conclusion** The established method is rapid, sensitive, strongly specific, better reproducible and suitable for the research of clinical pharmacokinetics and bioequivalence.

【Key words】 LC-MS/MS; clopidogrel; pharmacokinetics; bioequivalence; metabolite

氯吡格雷是血小板聚集抑制剂, 选择性抑制二磷酸腺苷 (ADP) 与血小板受体的结合及继发 ADP 介导的糖蛋白 GPIIb/IIIa 复合物的活化, 还能阻断其他激动剂通过释放 ADP 引起血小板活性增强, 从而抑制血小板聚集。氯吡格雷适用于有过近期发作的中风、心肌梗死和确诊外周动脉疾病的患者, 可减少动脉粥样硬化性事件的发生 (如心肌梗死、中风和血管性死亡)^[1]。口服氯吡格雷后, 吸收迅速, 50~150 mg 的剂量范围内, 血浆浓度与剂量呈正比。氯吡格雷是一种前体药物, 原形药物没有活性, 主要由肝脏代谢, 主要代谢产物是羧酸代谢物, 无抗血小板聚集作用, 占血浆中药物相关化合物的 85%, 此主要代谢产物的最高血中浓度约在服药后 1 h 出现, 氯吡格雷经氧化生成 2-氧基-氯吡格雷, 继之水解形成活性代谢物 (一种硫醇代谢物)^[2]。长期预防性应用氯吡格雷对预防心肌梗

死、脑卒中等血管事件的发生有益, 但不良反应较多, 包括出血、中性粒细胞减少等, 后果较严重, 因此研究体内氯吡格雷及其代谢物浓度与疗效和毒性之间的关系非常必要。国内外有少量报道高效液相色谱法 (HPLC) 和高效液相色谱-串联质谱法 (LC-MS/MS) 检测氯吡格雷及其代谢产物^[3-13]。文献^[3-4]采用 HPLC 法测定氯吡格雷浓度远高于文献^[5-6] LC-MS/MS 法, 实际测试为氯吡格雷和非活性羧酸代谢物之和。本研究对国内外文献方法加以改进, 采用 LC-MS/MS 法建立简单快速的氯吡格雷和羧酸代谢物定量方法, 适用于临床药代动力学和生物等效性研究。

1 资料与方法

1.1 仪器与试剂 3200 QTrap 型液相色谱-串联质谱仪, 配有电喷雾离子化源 (ESI), Analyst 1.5.2 质谱工作站 (美国

* 基金项目: 科技部重大新药创制专项 (2014ZX09303302)。

作者简介: 李鹏飞, 男, 硕士, 主管药师, 主要从事临床药学方面的研究。△ 通讯作者, E-mail: hongllh@126.com。

Applied Biosystems 公司); Agilent1100 高效液相色谱系统, 包括四元梯度泵、自动进样器、柱温箱(美国 Agilent 公司)。硫酸氢氯吡格雷对照品(中国药品生物制品检定所), 批号 100819-200601, 纯度 99.40%。硫酸氢氯吡格雷羧酸代谢物对照品(Simson Pharma 公司), 批号 CLO-IMP-001, 纯度 99.67%。替米沙坦对照品(中国药品生物制品检定所), 批号 100629-200401, 纯度 99.30%。霉酚酸(Sigma 公司), 批号 028K2572, 纯度 98.00%。乙腈和甲醇为色谱纯, 其他试剂均为分析纯。

1.2 标准曲线及内标配制 精密称取 6.56 mg 硫酸氢氯吡格雷对照品(含氯吡格雷 5 mg), 置 5 mL 量瓶中, 加乙腈水溶液(1:1 v/v)溶解, 并稀释至刻度, 配制成 1.0 mg/mL 的氯吡格雷储备液。用空白血浆稀释, 配制成 10.0 ng/mL 氯吡格雷母液。分别取母液适量, 用空白血浆稀释至标准曲线所需浓度, 其中氯吡格雷的浓度为 0.010、0.030、0.100、0.300、1.000、2.000、5.000 ng/mL。配制质控样本氯吡格雷的浓度均为 0.030、0.300、4.000 ng/mL。精密称取 5.61 mg 硫酸氢氯吡格雷羧酸代谢物对照品(含氯吡格雷羧酸代谢物 5 mg), 置 5 mL 量瓶中, 加乙腈水溶液(1:1 v/v)溶解, 并稀释至刻度, 配制成 1.0 mg/mL 的氯吡格雷羧酸代谢物储备液。用空白血浆稀释, 配制成 10.0 μ g/mL 的氯吡格雷羧酸代谢物母液。分别取母液适量, 用空白血浆稀释至标准曲线所需浓度, 其中氯吡格雷羧酸代谢物的浓度为 10、30、100、300、1 000、2 000、5 000 ng/mL。配制质控样本氯吡格雷羧酸代谢物的浓度均为 30、300、4 000 ng/mL。精密称取 10.00 mg 替米沙坦对照品, 置 100 mL 容量瓶中, 加乙腈溶解, 并稀释至刻度, 配制成 0.1 mg/mL 的储备液。取适量替米沙坦储备液用乙腈稀释至浓度为 100.0 ng/mL。精密称取 10.00 mg 霉酚酸对照品, 置 10 mL 容量瓶中, 加乙腈溶解, 并稀释至刻度, 配制成 1.0 mg/mL 的储备液。取适量霉酚酸储备液用乙腈稀释至浓度为 500 ng/mL。

1.3 氯吡格雷定量方法 血浆样本处理: 精密量取血浆样本 100 μ L 置 1.5 mL EP 管中, 加入乙腈溶液 100 μ L, 加入替米沙坦内标溶液 100 μ L, 涡旋 30 s, 离心 5 min(13 200 r/min), 取上清液 100 μ L 进行 LC-MS/MS 分析, 进样量 5 μ L。色谱条件为: 色谱柱: Eclipse XDB-C₁₈ 柱, 150.0 mm $\times$ 4.6 mm $\times$ 5.0 μ m; 流动相: A 为乙腈, B 为 1 mmol/L 乙酸铵溶液, 梯度洗脱: 0 min, A=30%, B=70%; 0.6 min, A=98%, B=2%; 3.2 min, A=100%, B=0%; 3.2~6.0 min, A=30%, B=70%; 流速: 1.0 mL/min(1:1 v/v 分流); 柱温: 25 $^{\circ}$ C; 进样量: 5 μ L。质谱条件为: 离子源: 离子喷雾离子化源, 正离子模式; 离子喷射电压: 5.5 kV; 温度: 550 $^{\circ}$ C; 源内气体 1(GS1, N₂) 压力: 345 kPa; 气体 2(GS2, N₂) 压力: 380 kPa; 气帘气体(N₂) 压力: 138 kPa; 扫描方式为多重反应监测(MRM); 碰撞气(N₂) 压力: 中等; 氯吡格雷、替米沙坦解电电压(DP) 分别为: 30 V、35 V; 碰撞能量(CE) 分别为: 21 eV、50 eV; 氯吡格雷、替米沙坦用于定量分析的离子反应分别为 m/z 322.1 $\rightarrow$ 212.1 和 m/z 515.1 $\rightarrow$ 276.1, 氯吡格雷用于定性考察的离子对分别为 m/z 322.1 $\rightarrow$ 152.1 和 m/z 322.1 $\rightarrow$ 184.1。

1.4 氯吡格雷羧酸代谢物定量方法 血浆样本处理: 精密量取血浆样本 50 μ L 置 1.5 mL EP 管中, 加入乙腈溶液 50 μ L, 加入霉酚酸内标溶液 400 μ L, 涡旋 30 s, 离心 5 min(13 200 r/min), 取上清液 100 μ L 进行 LC-MS/MS 分析, 进样量 5 μ L。色谱条件为: 色谱柱: Kromasil-C₁₈ 柱, 50.0 mm $\times$ 4.6 mm $\times$ 5.0 μ m; 流动相: 甲醇-1 mmol/L 乙酸铵溶液(60:40 v/v); 流速:

1.0 mL/min(1:1 v/v 分流); 柱温: 25 $^{\circ}$ C; 进样量: 5 μ L。质谱条件为: 离子源: 离子喷雾离子化源, 正离子模式; 离子喷射电压: 5.5 kV; 温度: 580 $^{\circ}$ C; 源内气体 1(GS1, N₂) 压力: 345 kPa; 气体 2(GS2, N₂) 压力: 414 kPa; 气帘气体(N₂) 压力: 172 kPa; 扫描方式: 多重反应监测(MRM); 碰撞气(N₂) 压力: 中等; 氯吡格雷羧酸盐衍生物、霉酚酸解电电压(DP) 分别为: 45 V、40 V; 碰撞能量(CE) 分别为: 21 eV、25 eV; 氯吡格雷羧酸代谢物、霉酚酸用于定量分析的离子反应分别为 m/z 308.1 $\rightarrow$ 198.1 和 321.3 $\rightarrow$ 207.2, 氯吡格雷羧酸代谢物用于定性考察的离子对分别为 m/z 308.1 $\rightarrow$ 152.1 和 m/z 308.1 $\rightarrow$ 169.1。

2 结果

2.1 分析方法确证

2.1.1 质谱分析 将氯吡格雷、氯吡格雷羧酸代谢物及对应内标的储备液分别稀释成 10 μ g/mL 的溶液, 用针泵模式进样, 先进行 Q1 全扫描, 得到一级质谱图, 依次将母离子经碰撞后打碎, 对目标化合物的母离子进行子离子扫描, 得二级质谱图, 确定子离子, 相应的二级全扫描质谱图见图 1。

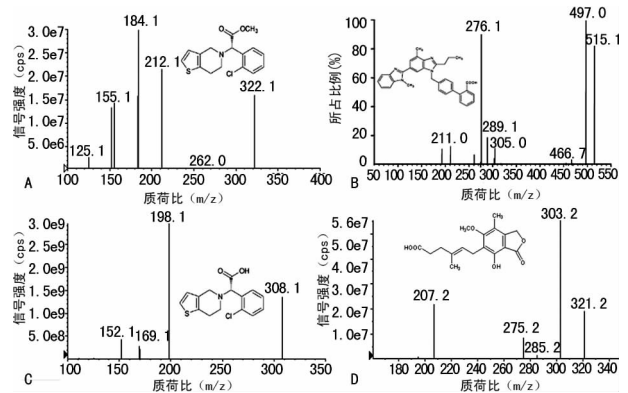
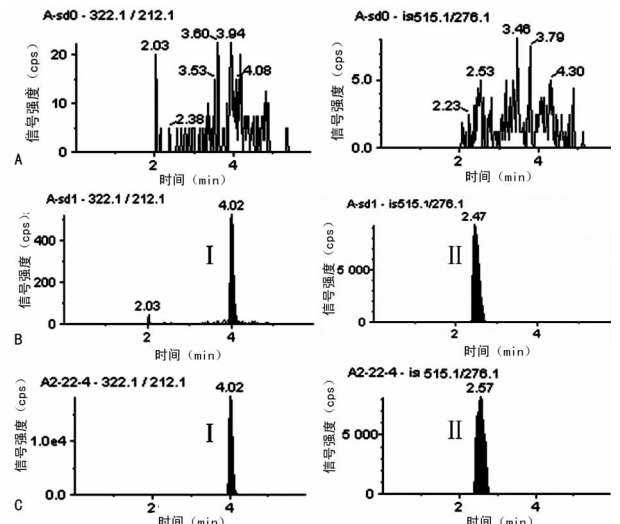


图 1 氯吡格雷(A)和内标替米沙坦(B)、氯吡格雷羧酸代谢物(C)和内标霉酚酸(D)的 [M+H]⁺ 二级全扫描质谱图



注: A 表示空白血浆; B 表示 0.01 ng/mL 氯吡格雷标准曲线样本加入 100 ng/mL 内标; C 表示口服给予硫酸氢氯吡格雷片 150 mg 后 1 h 的血浆样品。

图 2 血浆中氯吡格雷(I)和内标替米沙坦(II)的典型离子流图

2.1.2 方法的专属性 分别取空白血浆、加入氯吡格雷标准溶液和内标替米沙坦溶液的空白血浆、受试者给药后收集的

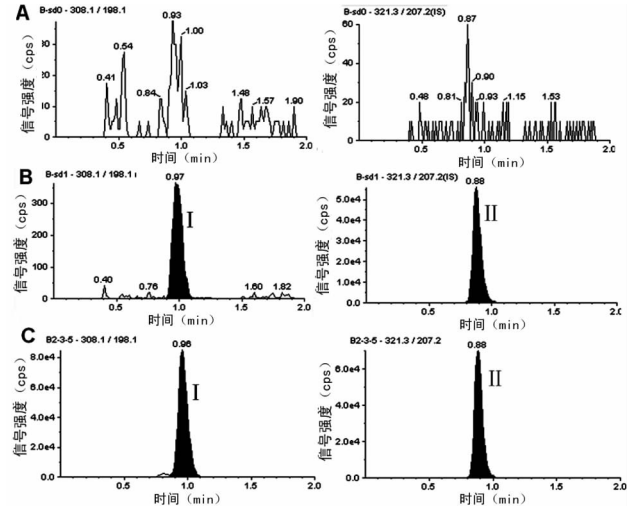
浆样品,按上述“1.3 氯吡格雷定量方法”进行定量分析,得色谱图 2。分别取空白血浆、加入氯吡格雷羧酸代谢物标准溶液和内标霉酚酸溶液的空白血浆、受试者给药后收集的血浆样品,按上述“1.4 氯吡格雷羧酸代谢物定量方法”进行定量分析,得色谱图 3。结果表明:内源性物质不干扰氯吡格雷、氯吡格雷羧酸代谢物和内标替米沙坦、霉酚酸的测定。见图 2、3。

2.1.3 线性关系考察 标准曲线样本经样本前处理后,进行 LC-MS/MS 分析。每浓度 3 样本,连续 3 d,以血浆中待测物浓度(X)为横坐标,待测物与内标物的峰面积比值(Y)为纵坐标,用加权($W=1/\chi^2$)最小二乘法进行回归运算,求得回归方程,即为标准曲线。氯吡格雷典型的回归方程为: $Y=0.32X+0.008\ 53(r=0.997\ 9)$,线性范围为:0.01~5.00 ng/mL,定量下限为 0.01 ng/mL。氯吡格雷羧酸代谢物典型的回归方程为: $Y=0.000\ 772X+0.001\ 06(r=0.998\ 1)$,线性范围为:10.0~5 000.0 ng/mL,定量下限为 10.0 ng/mL。

2.1.4 准确度与精密度 制备低、中、高 3 个浓度的质量控制(QC)样本,每浓度 6 样本,连续测定 3 d。根据当日的标准曲线,计算 QC 样本的测得浓度,根据 QC 样本结果计算本法的准确度与精密度,结果显示,日间、日内相对标准差(RSD)均小于 15%,相对偏差-2.00%~2.65%,表明氯吡格雷和氯吡格雷羧酸代谢物方法的准确度和精密度均较高,重现性较好。见表 1。

2.1.5 提取回收率和基质效应 取空白血浆,同标准曲线和质控样本操作,制备低、中、高 3 个浓度的质控样本,每浓度 3 样本。同时按血浆样本前处理方法,取空白血浆,加入沉淀剂乙腈,涡旋离心后,上清液氮气吹干,加入相应浓度和体积的标准溶液(浓度同质控样本)和内标溶液,平行补加等体积重蒸水,涡旋混匀后进样,进行 LC-MS/MS 分析,获得相应峰面积,以每一浓度两种处理方法的测得峰面积比值计算提取回收率。氯吡格雷低、中、高 3 个浓度提取回收率分别为:(96.46±6.75)%、(98.74±2.30)%、(92.51±2.79)%,氯吡格雷羧酸代谢物低、中、高 3 个浓度提取回收率分别为:(92.95±9.40)%、(86.65±7.66)%、(91.62±8.35)%,内标替米沙坦

提取回收率为:(96.82±9.23)%,霉酚酸提取回收率为:(64.25±3.05)%。以蒸馏水代替空白血浆,进行上述相应操作制做基质效应考察样本。以每一浓度两种处理方法的测得峰面积比值计算基质效应,氯吡格雷和氯吡格雷羧酸代谢物的基质效应分别为:(-0.60±0.58)%和(17.04±1.91)%,内标替米沙坦和霉酚酸基质效应分别为:(0.70±0.88)%和(-48.25±13.96)%。结果表明:血样中氯吡格雷、氯吡格雷羧酸代谢物和内标替米沙坦、霉酚酸提取回收率均较高且稳定,血样中基质对氯吡格雷和内标替米沙坦的基质效应均较小(<1%),氯吡格雷羧酸代谢物、霉酚酸基质效应分别为(17.04±1.91)%和(-48.25±13.96)%,基质效应比较稳定,因此,均不影响准确测定。



注:A 表示空白血浆;B 表示 10 ng/mL 氯吡格雷羧酸代谢物标准曲线样本加入 500 ng/mL 内标;C 表示口服给予硫酸氢氯吡格雷片 150 mg 后 1 h 的血浆样品。

图 3 血浆中氯吡格雷羧酸代谢物(I)和内标霉酚酸(II)的典型离子流图

表 1 血浆中氯吡格雷和氯吡格雷羧酸代谢物 LC-MS/MS 方法的准确度与精密度(n=18)

项目	添加值(ng/mL)	测得值(ng/mL)	标准差(ng/mL)	相对偏差(%)	日内 RSD(%)	日间 RSD(%)
氯吡格雷	0.010	0.010	0.001	0.00	5.23	6.03
	0.030	0.030	0.003	-0.56	8.92	4.93
	0.300	0.305	0.013	1.70	4.19	4.66
	4.000	3.920	0.144	-2.00	2.56	8.14
氯吡格雷羧酸代谢物	10.000	9.930	0.932	-0.75	7.28	9.39
	30.000	30.000	2.140	0.05	6.26	11.68
	300.000	308.000	20.800	2.65	7.08	3.49
	4 000.000	3 966.000	262.000	-0.85	6.97	2.40

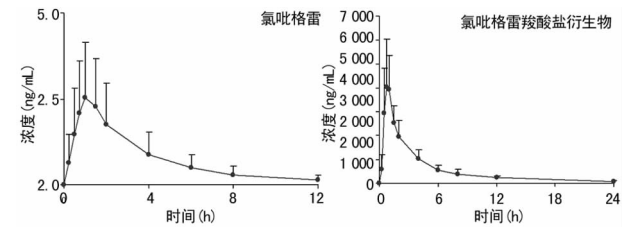


图 4 单次口服硫酸氢氯吡格雷 150 mg 后氯吡格雷和氯吡格雷羧酸代谢物的平均药-时曲线

2.1.6 稳定性考察 试验中分别进行了长期稳定性(冰冻放置 45 d)、3 次冻融和室温放置 18 h 3 种稳定性的考察,将稳定性放置后和冻融后测定结果与理论浓度进行比较,结果显示所有稳定性试验中测定值与添加值的相对偏差(RE)均小于 15%,表明长期冰冻放置血浆样本,血浆样本反复冻融及分析测试过程中氯吡格雷和氯吡格雷羧酸代谢物较为稳定,各种贮存条件不影响本法对样本浓度进行准确测定。

2.2 方法学应用 应用本文所建立的方法测试 24 名健康受试者口服硫酸氢氯吡格雷 150 mg/人(波立维,2 片)后各采血

时间点浓度,根据测得的各受试者的血药浓度-时间数据绘制药-时曲线,采用 DAS2.0 软件进行药代动力学参数的计算,主要药代动力学参数有:达峰时间(T_{max})、达峰浓度(C_{max})、0-t 药

时曲线下面积(AUC_{0-t})、0- ∞ 药时曲线下面积($AUC_{0-\infty}$)、半衰期($t_{1/2}$)。见图 4、表 2。

表 2 单次口服硫酸氢氯吡格雷 150 mg 后氯吡格雷和氯吡格雷羧酸代谢物的主要药代动力学参数($\bar{x}\pm s$)

药代动力学参数	C_{max} (ng·mL)	T_{max} (h)	$t_{1/2}$ (h)	$AUC_{0-\tau}$ (ng·h·mL)	$AUC_{0-\infty}$ (ng·h·mL)
氯吡格雷	3.05±1.63	1.11±0.41	3.22±0.66	9.26±5.36	9.97±5.88
氯吡格雷羧酸代谢物	4 697.00±1 856.00	0.91±0.40	7.25±1.38	13 707.00±4 007.00	14 596.00±4 172.00

3 讨 论

氯吡格雷及其代谢物的体内研究情况比较特殊,研究意义也大不相同,氯吡格雷是前药,定量氯吡格雷原形药物适用于新制剂生物等效性研究,定量氯吡格雷和活性硫醇代谢物适用于药代动力学研究,定量非活性代谢物可以考察体内转化情况。文献[7-8]同时定量血中氯吡格雷和羧酸代谢物、硫醇代谢物,文献[9-10]定量血中氯吡格雷和硫醇代谢物,文献[11-13]直接定量氯吡格雷硫醇代谢物。对于氯吡格雷硫醇代谢物体内定量均采用较为高端的质谱仪,由于氯吡格雷硫醇代谢物市售对照品购买困难,活性代谢产物稳定性和检测限方面均有极大难度。本文在以上文献基础上建立方法,采用实验室常见质谱仪,对氯吡格雷和羧酸代谢物实现快速定量。

单次口服硫酸氢氯吡格雷片后氯吡格雷和氯吡格雷羧酸代谢物体内达峰浓度差异极大,氯吡格雷羧酸代谢物浓度约为氯吡格雷浓度的 1 500 倍。采用 LC-MS/MS 同时定量检测存在如下问题:氯吡格雷羧酸代谢物信号适合 MRM 定量检测,而氯吡格雷信号太低,甚至未检出;氯吡格雷信号适合 MRM 定量检测,而氯吡格雷羧酸代谢物信号太强,可能会达到 MRM 定量上限,出现信号饱和,仪器污染等问题;研究中采用空白添加法 0.01 ng/mL 氯吡格雷和 10.00 ng/mL 羧酸代谢物若采用相同前处理方案和色谱条件并进行质谱检测,信噪比相差约 20 倍,同时检测勉强可行,但对于高浓度的羧酸代谢物有可能要进行非线性定量;通过改变氯吡格雷羧酸代谢物质谱的解簇电压、碰撞能量等可以降低其对应离子对信号,但不能改变离子化或检测器信号饱和而带来的非线性响应变化。因此,本文分别建立氯吡格雷和氯吡格雷羧酸代谢物的 LC-MS/MS 方法,并进行各自的学方法验证和样本测试。

色谱条件优化过程中,分别对色谱柱、流动相、梯度、柱温、进样量进行了考察。氯吡格雷体内浓度较低,为了提高信噪比,选用 150.0 mm×4.6 mm×5.0 μ m 的色谱柱进行梯度分离,较长的柱长可以促进化合物在高水相时进行富集,较大的孔径和粒径可以采用较大的流速,经优化最终氯吡格雷定量下限 0.010 ng/mL,单个样本分析 6 min。氯吡格雷羧酸代谢物体内浓度较高,选用 50.0 mm×4.6 mm×5.0 μ m 的色谱柱进行等度分离,较大的孔径和粒径的短柱,可以采用较高的流速,并减少分离时间,经优化最终氯吡格雷定量下限 10.0 ng/mL,单个样本分析 2 min。上述两个方法流动相,有机相分别考察了甲醇、乙腈,水相分别考察了乙酸铵、0.1%甲酸以及二者的混合溶液,其中乙酸铵分别考察了 1、2、5 mmol/L 的水相,最终选用 1 mmol/L 乙酸铵,可以为质谱离子化提供质子,提高信噪比。同时对于进入质谱的流动相进行分流,既保证了色谱的高效分离,有适用于 ESI 离子源离子化。分别考察了 20、25、30、35、40、45 $^{\circ}$ C 的柱温,最终选用 25 $^{\circ}$ C。实验中两个方法中分别尝试了固相萃取、液-液萃取、蛋白沉淀法 3 种前处理方

法,最终均建立了沉淀蛋白前处理方法,处理过程极为简便,每天可处理样本 200~350 个/8 h。进样量最终确定的是 5 μ L,小的进样本可减少基质污染。

综上所述,本研究建立了快速定量检测血浆中氯吡格雷和氯吡格雷羧酸代谢物的 LC-MS/MS 方法,并对其进行了专属性和精密度与准确性、标准曲线与线性范围、提取回收率及基质效应、稳定性实验的考察,结果符合体内药代动力学研究标准,适用于临床药代动力学和生物等效性研究。

参考文献

[1] 四川美康医药软件研究开发有限公司,国家食品药品监督管理局药品审评中心. MCDEX 药物临床信息参考[M]. 重庆:重庆出版社,2008:866-867.

[2] Pereillo JM, Maftouh M, Andrieu A, et al. Structure and stereochemistry of the active metabolite of clopidogrel[J]. Drug Metab Dispos, 2002, 30(11): 1288-1295.

[3] 王夏芹,唐海沁,陈纭,等. RP-HPLC 法测定人血清中氯吡格雷浓度的方法学研究[J]. 安徽医药, 2008, 12(11): 1034-1035.

[4] 王夏芹,黄晓晖,陈纭,等. RP-HPLC 法同时测定人血清中氯吡格雷和阿司匹林的浓度[J]. 中国药房, 2010, 21(2): 122-124.

[5] 季宏建,周小华,邹建军,等. LC-MS/MS 法测定人血浆中氯吡格雷的浓度及其药动学研究[J]. 中国药房, 2009, 20(8): 584-586.

[6] 樊宏伟,李英斌,张雪萌,等. 高效液相色谱-质谱联用法测定人血浆中氯吡格雷的浓度[J]. 中国医院药学杂志, 2009, 29(9): 731-734.

[7] Karazniewicz-Lada M, Danielak D, Tezyk A, et al. HPLC-MS/MS method for the simultaneous determination of clopidogrel, its carboxylic acid metabolite and derivatized isomers of thiol metabolite in clinical samples[J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2012, 911(23): 105-112.

[8] Silvestro L, Gheorghe M, Iordachescu A, et al. Development and validation of an HPLC-MS/MS method to quantify clopidogrel acyl glucuronide, clopidogrel acid metabolite, and clopidogrel in plasma samples avoiding analyte back-conversion[J]. Anal Bioanal Chem, 2011, 401(3): 1023-1034.

[9] Peer CJ, Spencer SD, Vandenberg DA, et al. A sensitive and rapid ultra HPLC-MS/MS method for the simultaneous detection of clopidogrel and its derivatized active thiol metabolite in human plasma[J]. J Chromatogr B(下转第 439 页)

加大宣传力度,可联合该地区大型医院以义诊形式推进相关知识普及,为高危人群建立健康档案,建立随访机制,加大宣传范围,辐射周边乡、镇、村,利用现在网络等媒体资源,以声形并茂形式介绍高血压相关知识,增强预防意识,要重视高血压的非药物治疗,积极做好生活方式干预。

本组发现有很大一部分高血压患者并未得到良好的相关知识教育,提示健康宣教工作不全面,因此正确、广泛、合理、有效推进高血压相关知识普及非常重要,尽早对社区居民予以合理的生活方式干预及健康教育,能有效预防高血压。全面、广泛开展综合性高血压防治工作,采取切实、有效、可行的防治措施,特别是对高危人群定期监测血压并建立健康档案,对高危人群、老年人群实行首诊测血压以定期监测血压及远程动态血压监测,建立随访机制是目前防治高血压的重要工作,应长期坚持并推广。

参考文献

- [1] 刘力生. 中国高血压防治指南 2010[J]. 中华高血压杂志, 2011,19(8):701-708.
- [2] Kim MJ, Lim NK, Park HY. Relationship between prehypertension and chronic kidney disease in middle-aged people in Korea; the Korean genome and epidemiology study[J]. BMC Public Health, 2012,12(4):960-965.
- [3] Yano Y, Fujimoto S, Sato Y, et al. Association between prehypertension and chronic kidney disease in the Japanese general population[J]. Kidney Int, 2012,81(6):293-299.
- [4] Trenkwalder P, Rncharadt A. Acute stroke in hypertensive patients; treat hypertension slowly and check blood pressure continuously[J]. MMW Fortschr Med, 2011, 153(13):42-43.
- [5] Ezzati M, Hoorn SV, Lopez AD, et al. Comparative quantification of mortality and burden of disease attributable to selected risk factors[M]. New York: Oxford University Press, 2006:134-135.
- [6] Heidenreich PA, Trogon JG, Khavjou OA, et al. Forecasting the future of cardiovascular disease in the United States; a policy statement from the american heart association[J]. Circulation, 2011,23(8):933-944.
- [7] 李镒冲,王丽敏,姜勇,等. 2010 年中国成年人高血压患病

- 情况[J]. 中华预防医学杂志, 2012,46(5):409-413.
- [8] Wang J, Zhang L, Wang F, et al. China national survey of chronic kidney disease working group[J]. Am J Hypertens, 2014,27(11):1355-1361.
- [9] 刘玉连,周海燕,崔美子,等. 吉林省德惠地区高血压病流行病学现状及其相关危险因素分析[J]. 吉林大学学报:医学版, 2012,38(5):1021-1027.
- [10] 吴朝庆,魏占杰,仙占琪. 甘肃陇西县 35 岁及以上人群高血压流行病学现状调查[J]. 中华高血压杂志, 2012,20(8):752-755.
- [11] Kirkutis A, Norkiene S, Gričienė P, et al. Prevalence of hypertension in lithuanian mariners[J]. Proc West Pharmacol Soc, 2004,47(13):71-75.
- [12] 中华人民共和国卫生部. 2010 年我国卫生事业发展统计公报[EB/OL]. 2011-04-29.
- [13] 王宣淇,李宁秀. 我国高血压流行病学及老年高血压防治[J]. 医学综述, 2011,17(11):1674-1677.
- [14] 刘梅林,郭艺芳. 老年高血压的诊断与治疗中国专家共识(2011 版)[S]. 中国老年学学会心脑血管病专业委员会/中国医师协会循证医学专业委员会, 2011.
- [15] 漆莉,丁贤彬,毛德强,等. 重庆市 50 岁及以上城乡居民高血压患病特点及影响因素分析[J]. 中华疾病控制杂志, 2012,16(9):739-742.
- [16] Ogab OS, Madukwe OO, Chukwuonye II, et al. Prevalence and determinants of hypertension in Abia State Nigeria; results from the Abia State Non-Communicable Diseases and Cardiovascular Risk Factors Survey[J]. Ethn Dis, 2012,23(2):161-167.
- [17] 王志宏,张兵,王惠君,等. 我国成年人人体质量指数及动态变化对高血压发病的影响[J]. 中华高血压杂志, 2010,18(12):1173-1176.
- [18] 王薇,赵冬,周美然,等. 社区高血压病控制现状的研究[J]. 心肺血管杂志, 1999,18(2):105-108.
- [19] 戚蓓,王珍,徐春茹,等. 湖州城区中老年高血压患病状况与生活方式干预调查[J]. 中国老年学杂志, 2010,30(19):2813-2814.

(收稿日期:2015-06-25 修回日期:2015-10-15)

(上接第 436 页)

- Analyt Technol Biomed Life Sci, 2012,880(1):132-139.
- [10] Raghunadha RS, Divi KR, Chandiran IS, et al. Development and validation of high-throughput liquid chromatography-tandem mass spectrometric method for simultaneous quantification of Clopidogrel and its metabolite in human plasma[J]. J Chromatogr B, 2010, 878(3/4):502-508.
- [11] Furlong MT, Savant I, Yuan MC, et al. A validated HPLC-MS/MS assay for quantifying unstable pharmacologically active metabolites of clopidogrel in human plasma: application to a clinical pharmacokinetic study[J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci,

- 2013,926(5):36-41.
- [12] Park JB, Bae SH, Jang SM, et al. Direct measurement of active thiol metabolite levels of clopidogrel in human plasma using tris(2-carboxyethyl)phosphine as a reducing agent by LC-MS/MS[J]. J Sep Sci, 2013,36(14):2306-2314.
- [13] Takahashi M, Pang H, Kawabata K, et al. Quantitative determination of clopidogrel active metabolite in human plasma by LC-MS/MS[J]. J Pharm B, 2008,48(4):1219-1224.

(收稿日期:2015-06-20 修回日期:2015-09-12)