

基于 HPLC-MS/MS 法测定利伐沙班及其代谢产物的血药浓度和临床应用研究^Δ

刘振亚^{1,2*}, 张 维³, 唐甜甜¹, 李巧巧¹, 李丽仙¹, 宋海驰¹, 曾 金¹, 陈万一^{1#}, 唐宗伟^{1#2} (1. 重庆大学附属肿瘤医院药学部, 重庆 400030; 2. 重庆理工大学药学与生物工程学院, 重庆 400055; 3. 重庆大学附属肿瘤医院宣教部, 重庆 400030)



中图分类号 R969 文献标志码 A 文章编号 1672-2124(2026)02-0165-05

DOI 10.14009/j.issn.1672-2124.2026.02.007

摘要 目的: 建立高效液相色谱-串联质谱(HPLC-MS/MS)法, 测定人血浆中利伐沙班(RIV)及其主要代谢产物 M1 (RIV-M1) 的浓度。方法: 采用蛋白沉淀法对样品进行前处理。RIV 以 RIV-D4 为内标, 采用电喷雾离子源正离子(ESI+)模式; 色谱柱为 Agela Venusil MP C₁₈ 柱(3 μm, 3 mm×50 mm), 流动相为 0.1% 甲酸-2 mmol/L 乙酸铵水溶液(A)和 0.1% 甲酸-乙腈溶液(B), 流速为 0.5 mL/min。RIV-M1 以 5-氟尿嘧啶为内标, 采用负离子(ESI-)模式; 色谱柱为 Waters XBridge BEH C₁₈ 柱(3.5 μm, 4.6 mm×50 mm), 流动相为 0.1% 氨水(A)和乙腈(B), 流速为 0.8 mL/min。收集重庆大学附属肿瘤医院口服 RIV 的患者血浆样本进行血药浓度检测。结果: RIV 在 1~500 ng/mL 内线性关系良好($r^2=0.999\ 2$), 准确度为 100.30%~108.00%; 批间和批内精密度均 < 6.20%。RIV-M1 在 5~200 ng/mL 内线性关系良好($r^2=0.998\ 6$), 准确度为 88.30%~97.80%; 批间和批内精密度均 < 8.34%。RIV 和 RIV-M1 的提取回收率、基质效应、残留效应和稳定性均满足生物样品定量分析方法的要求。对 6 例不同给药剂量的临床样本进行定量检测, RIV 的浓度为 137.00~612.00 ng/mL, RIV-M1 的浓度为 5.66~43.10 ng/mL。结论: 本研究成功构建了用于 RIV 和 RIV-M1 血药浓度检测的 HPLC-MS/MS 方法, 为 RIV 的药动学研究和个体化给药提供了方法学参考。

关键词 利伐沙班; 代谢产物; 利伐沙班-M1; HPLC-MS/MS; 血药浓度

Determination on Blood Concentration of Rivaroxaban and Its Metabolite Based on HPLC-MS/MS Method and Clinical Application^Δ

LIU Zhenya^{1,2}, ZHANG Wei³, TANG Tiantian¹, LI Qiaqiao¹, LI Lixian¹, SONG Haichi¹, ZENG Jin¹, CHEN Wanyi¹, TANG Zongwei¹ (1. Dept. of Pharmacy, Chongqing University Cancer Hospital, Chongqing 400030, China; 2. School of Pharmacy and Bioengineering, Chongqing University of Technology, Chongqing 400055, China; 3. Dept. of Publicity and Health Education, Chongqing University Cancer Hospital, Chongqing 400030, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To establish the high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS) method for the determination of rivaroxaban (RIV) and its major metabolite M1 (RIV-M1) in human plasma. **METHODS:** Protein precipitation method was adopted for sample pretreatment. RIV was analyzed by using RIV-D4 as the internal standard in electrospray ionization positive mode (ESI+), the chromatographic column was Agela Venusil MP C₁₈ column (3 μm, 3 mm×50 mm), the mobile phase was 0.1% formic acid-2 mmol/L ammonium acetate aqueous solution (A) and 0.1% formic acid-acetonitrile solution (B), with a flow rate of 0.5 mL/min. RIV-M1 was analyzed by using 5-fluorouracil as the internal standard in electrospray ionization negative mode (ESI-), the chromatographic column was Waters XBridge BEH C₁₈ column (3.5 μm, 4.6 mm×50 mm), the mobile phase was 0.1% ammonia solution (A) and acetonitrile (B), with a flow rate of 0.8 mL/min. Plasma samples from patients received oral RIV in Chongqing University Cancer Hospital were collected for blood concentration analysis. **RESULTS:** RIV exhibited good linearity ($r^2=0.999\ 2$) within the range of 1 ng/mL to 500 ng/mL, with accuracy ranging from 100.30% to 108.00%, both inter-batch and intra-batch precision were < 6.20%. RIV-M1 exhibited good linearity ($r^2=0.998\ 6$) within the range of 5 ng/mL to 200 ng/mL, with accuracy ranging from 88.30% to 97.80%, both inter-batch and intra-batch precision were < 8.34%. The extraction recovery rates, matrix effects, residual effects and stabilities of RIV and RIV-M1 all met the requirements of quantitative analysis methods for

Δ 基金项目: 2026 年重庆市卫生健康委医学科科研项目 (No. 2026WSJK080); 中华医学会临床药学分会 2023 年度临床药学科科研项目 (No. Z-2021-46-2101-2023); 中央高校基本科研业务费项目 (No. 2021CDJYGRH-014)

* 硕士研究生。研究方向: 药物分析。E-mail: zhenyal18423460733@163.com

通信作者 1: 主任药师, 硕士生导师。研究方向: 医院药学、药事管理。E-mail: chenwanyi@cqu.edu.cn

通信作者 2: 主管药师。研究方向: 临床药学、药物警戒。E-mail: zongwei.tang@cqu.edu.cn

biological samples. Quantitative detection for clinical samples from 6 subjects at different dosages showed that the concentration of RIV ranged from 137.00 ng/mL to 612.00 ng/mL and the concentration of RIV-M1 ranged from 5.66 ng/mL to 43.10 ng/mL. CONCLUSIONS: This study successfully established the HPLC-MS/MS method for detection of blood concentration of RIV and RIV-M1, which provides methodological reference for pharmacokinetic study and individualized dosage of RIV.

KEYWORDS Rivaroxaban; Metabolite; Rivaroxaban-M1; HPLC-MS/MS; Blood concentration

利伐沙班(rivaroxaban, RIV)为高选择性、直接抑制凝血因子Xa的新型口服抗凝血药,通过抑制凝血酶原转化为凝血酶,有效阻断凝血瀑布的放大效应^[1]。RIV主要通过细胞色素P450酶(CYP)3A4和CYP2J2代谢,经过吗啉环的氧化降解和酰胺键的水解等过程,最终生成以利伐沙班-M1(RIV-M1)为代表的一系列代谢产物^[2]。因RIV具有疗效确切、出血风险小和无需常规监测凝血指标等优势,已被广泛用于非瓣膜性心房颤动相关卒中、深静脉血栓和肺栓塞的预防和治疗^[3-5]。然而,RIV和RIV-M1的体内暴露量存在显著的个体差异,谷浓度(C_{\min})变异系数为81.9%,体内暴露量差异可高达15倍^[6-8]。药时曲线下面积(AUC)易受肾功能、体重、年龄和药物相互作用等多种因素影响^[9-10]。与CYP3A4强抑制剂地尔硫草联合应用,RIV的AUC增加了40%,显著增加了心房颤动患者严重出血的风险^[11-12]。相关指南推荐心房颤动患者使用RIV抗凝治疗时的血药浓度为12~343 ng/mL^[13-15]。因此,对于特殊人群,尤其是存在突破性血栓和出血的患者,根据RIV和RIV-M1血药浓度检测结果制定个体化药物治疗方案具有重要的临床意义^[16]。

目前,已有多种分析方法用于RIV的血药浓度检测,包括凝固法、发光法和抗Xa因子活性法等^[17-20]。然而,上述方法均存在特异性差等问题,容易受凝血因子缺乏和其他抗凝血药的影响,且不适用于RIV-M1的血药浓度检测^[21]。高效液相色谱-串联质谱(HPLC-MS/MS)技术凭借其极高的灵敏度、特异性和高通量能力,是复杂生物基质中药物及其代谢产物定量分析的“首选方法”^[22]。既往文献报道了采用放射性示踪法检测¹⁴C标记的RIV代谢产物,因涉及放射性暴露,操作复杂且成本高昂,并不适用于临床血药浓度检测^[23]。因此,本研究旨在构建一种高度灵敏、特异、稳健的HPLC-MS/MS方法,用于定量检测患者RIV及其代谢产物RIV-M1的血药浓度。

1 材料

1.1 仪器

AB SCIEX Triple Quad™ 4500MD液相色谱串联质谱检测系统,由高效液相色谱仪(Jasper™)、三重四级杆质谱仪(4500MD)和分析软件Analyst® MD(版本号1.6)组成(美国AB SCIEX公司);H1-16KR型医用离心机(湖南可成仪器设备有限公司);SB-5200D型超声波清洗机(宁波新芝生物科技股份有限公司);KB3型涡旋混合仪(南京迪乐嘉生物科技股份有限公司);Milli-Q纯水系统(美国Millipore公司);Quintix125D-1CN万分之一分析天平(SQP型,德国Sartorius公司);移液器(德国Eppendorf公司)。

1.2 药品与试剂

RIV(批号为C5688521,纯度≥99%)、RIV-D4(批号为C6594264,纯度≥98%),购自上海麦克林生化科技有限公司;RIV-M1(批号为U56K514,纯度≥94%)、5-氟尿嘧啶(5-FU,批

号为M17GB148678,纯度≥98%),购自上海源叶生物科技有限公司;利伐沙班片(批号为5A0044DH6,国药准字H20213380),购自齐鲁制药有限公司;甲醇(批号为YCCG1H,色谱纯)、乙腈(批号为Z1GA1H,色谱纯),购自美国TEDIA公司;甲酸(批号为202674,色谱纯),购自赛默飞世尔科技(中国)有限公司;乙酸铵(批号为2019042801),购自成都市科隆化学有限公司;氨水(批号为20100310),购自重庆川东化工(集团)有限公司;水为Milli-Q高纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

2.1.1 RIV与RIV-D4:色谱柱为Agela Venusil MP C₁₈色谱柱(3 μm, 3 mm×50 mm);柱温为40℃;进样量为10 μL;流动相A相为0.1%甲酸-2 mmol/L乙酸铵水溶液,B相为0.1%甲酸-乙腈溶液,梯度洗脱(0~1.0 min,30%B;1.0~1.5 min,30%~90%B;1.5~2.5 min,90%B;2.5~3.0 min,90%~30%B;3.0~3.5 min,30%B);流速为0.5 mL/min。

2.1.2 RIV-M1与5-FU:色谱柱为Waters XBridge BEH C₁₈色谱柱(3.5 μm, 4.6 mm×50 mm);柱温为40℃;进样量为5 μL;流动相A相为0.1%氨水,B相为乙腈,梯度洗脱(0~1.5 min,10%B;1.5~2.0 min,10%~70%B;2.0~2.5 min,70%B;2.5~3.0 min,70%~10%B;3.0~4.0 min,10%B);流速为0.8 mL/min。

2.2 质谱条件

离子源为电喷雾离子源(ESI),RIV为正离子模式,RIV-M1为负离子模式,多重反应监测方式采集信号,质谱参数见表1。

表1 RIV和RIV-M1质谱检测参数

化合物	母离子/ (m/Z)	子离子/ (m/Z)	去簇电压/ V	碰撞能 量/V	喷雾电 压/V	离子源 温度/℃
RIV	436.2	145.0	123	37	5 500	550
RIV-D4	440.0	145.0	126	38		
RIV-M1	466.0	394.0	-32	-12	-4 500	550
5-FU	129.0	42.0	-48	-25		

2.3 储备溶液的配制

精密称取RIV和RIV-D4标准品,分别用二甲基亚砜溶解后获得浓度为1 mg/mL的储备溶液,置于-80℃冰箱冷冻保存。精密称取RIV-M1和5-FU标准品,分别用纯水溶解后获得浓度为1 mg/mL的储备溶液,置于-80℃冰箱冷冻保存。

2.4 工作溶液、质控溶液和内标的制备

将RIV储备溶液用甲醇稀释为10、50、100、500、1 000、2 500和5 000 ng/mL的工作溶液,另将RIV储备溶液配制为30、750和3 750 ng/mL的质控溶液。RIV-D4储备溶液用甲醇-乙腈(V:V=4:1)溶液稀释至20 ng/mL,于4℃下保存备用。将RIV-M1储备溶液用乙腈稀释为50、100、200、400、800、1 600和2 000 ng/mL的工作溶液,另将RIV-M1储备溶液配制

为 150、750 和 1 500 ng/mL 的质控溶液。5-FU 储备溶液用乙腈稀释为 100 ng/mL,于 4 °C 下保存备用。

2.5 样本的制备

2.5.1 标准样本和质控样本的制备:(1)取人空白血浆 90 μ L,分别加入“2.4”项下不同浓度的 RIV 工作溶液和质控溶液各 10 μ L,得到终浓度为 1、5、10、50、100、250 和 500 ng/mL 的系列标准样本,以及终浓度为 3、75 和 375 ng/mL 的质控样本。(2)取人空白血浆 90 μ L,分别加入“2.4”项下不同浓度的 RIV-M1 工作溶液和质控溶液各 10 μ L,得到终浓度为 5、10、20、40、80、160 和 200 ng/mL 的系列标准样本,以及终浓度为 15、75 和 150 ng/mL 的质控样本。

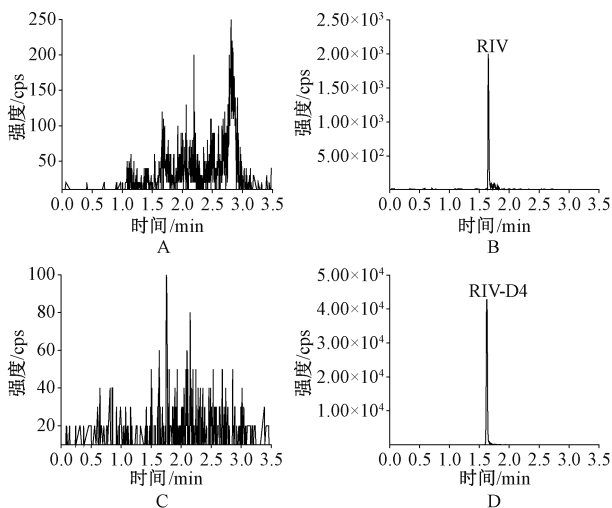
2.5.2 样本前处理:采用蛋白沉淀法对样本溶液进行前处理。取血浆样品 100 μ L 置于 1.5 mL 离心管中,加入沉淀剂(含内标)300 μ L,涡旋混合 5 min,随后在 4 °C、14 000 r/min(离心半径为 86 mm)条件下离心 10 min,取上清液 200 μ L 至棕色进样瓶中,待 HPLC-MS/MS 检测。

2.6 临床样本收集

收集 2025 年 9 月重庆大学附属肿瘤医院 6 例接受 RIV 治疗的患者全血样本,患者连续服用 RIV 3 d 后,在下次给药前 0.5~1 h(谷浓度)或服药后 2~3 h(峰浓度)抽取静脉血,分别测量 RIV 和 RIV-M1 的稳态浓度(C_{ss})。

2.7 方法学验证

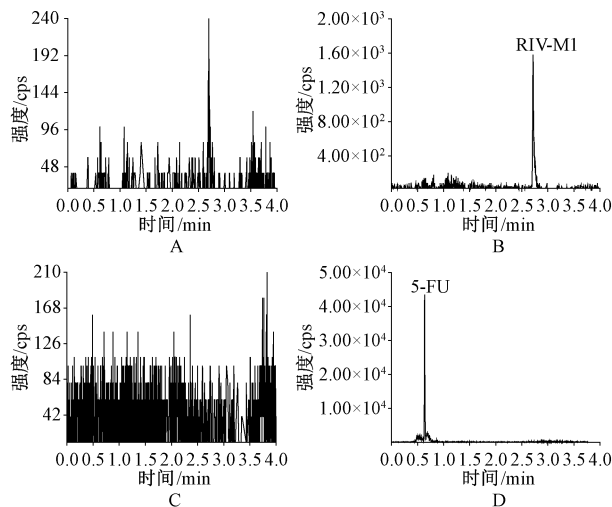
2.7.1 选择性:分别取 6 名不同来源的人空白血浆,按“2.5.2”项下方法处理,并进行样本分析。RIV 和 RIV-D4 的保留时间均为 1.67 min,见图 1;RIV-M1 和 5-FU 的保留时间分别为 2.68 和 0.63 min,见图 2。血浆中内源性物质的响应值均低于待测物定量下限(LLOQ)的 20%,且不高于内标响应的 5%。



A. RIV 空白血浆样本;B. RIV 的 LLOQ 血浆样本;C. RIV-D4 空白血浆样本;D. RIV-D4 的 LLOQ 血浆样本。

图 1 RIV 和 RIV-D4 的选择性色谱图

2.7.2 标准曲线和定量下限:以“2.5.1”项下的 7 个梯度浓度标准样本作为标准曲线的校正浓度水平,按“2.5.2”项下方法处理,并进样分析。以待测物与内标物的峰面积比值为纵坐标(Y),待测物浓度(ng/mL)为横坐标(X),采用加权($\omega = 1/X^2$)最小二乘法构建线性回归方程,并计算 r^2 值。结果显



A. RIV-M1 空白血浆样本;B. RIV-M1 的 LLOQ 血浆样本; C. 5-FU 空白血浆样本;D. 5-FU 的 LLOQ 血浆样本。

图 2 RIV-M1 和 5-FU 的选择性色谱图

示,RIV 在 1~500 ng/mL 内具有良好的线性关系,线性回归方程为 $Y = 0.0283X + 0.0052$, $r^2 = 0.9992$,LLOQ 为 1 ng/mL;RIV-M1 在 5~200 ng/mL 内具有良好的线性关系,线性回归方程为 $Y = 0.0193X + 0.015$, $r^2 = 0.9986$,LLOQ 为 5 ng/mL。

2.7.3 准确度和精密度:取 LLOQ 工作溶液和低、中、高 3 个浓度的质控溶液各 6 份,连续测定 3 d,评估分析方法的批内($n=6$)和批间($n=3$)准确度和精密度。结果显示,准确度均不超过质控样品标示浓度的 $\pm 15\%$,精密度 RSD 不超过 15%,见表 2。

表 2 RIV 和 RIV-M1 的准确度和精密度结果

化合物	标示浓度/ (ng/mL)	准确度/%		精密度 RSD /%	
		批内	批间	批内	批间
RIV	1	106.50	108.00	4.59	0.93
	3	106.33	103.67	3.17	6.20
	75	100.03	102.27	4.71	2.43
	375	104.09	107.36	2.09	3.32
RIV-M1	5	88.30	97.80	7.47	8.34
	15	91.33	97.07	7.03	6.12
	75	93.44	95.87	5.36	5.46
	150	95.44	96.31	4.79	4.37

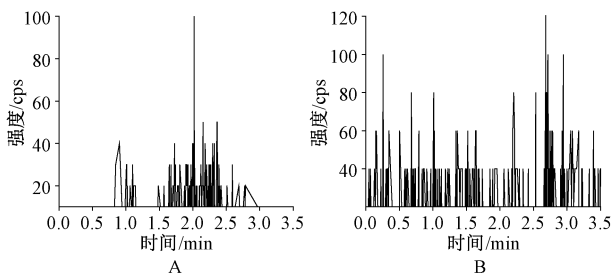
2.7.4 提取回收率和基质效应:取 6 批不同来源的人空白血浆和低、中、高 3 个浓度水平的质控溶液,按“2.5”项下方法处理并进样分析,得到待测物的峰面积 A_1 ;另取人空白血浆,按“2.5.2”项下方法处理后,取上清液 90 μ L,加入质控溶液 10 μ L 及内标工作液 300 μ L,配制成低、中、高 3 个浓度水平的质控样本各 6 份,得到待测物峰面积 A_2 。以 A_1 与 A_2 的比值计算提取回收率, RSD 均 $\leq 15\%$,见表 3。取纯水 90 μ L 代替人空白血浆,加入质控溶液 10 μ L 及内标工作液 300 μ L,配制成低、中、高 3 个浓度水平的质控样本各 6 份,得到待测物峰面积 A_3 。以 A_2 与 A_3 的比值计算经内标归一化的基质因子, RSD 均 $\leq 15\%$,见表 3。结果表明,样品前处理方法适用于待测物的提取分析,且基质对样品分析没有影响。

2.7.5 残留效应:在进样定量上限(ULOQ)样本后,立即进样一针不含分析物和内标的处理过的空白血浆样品溶液。通过比较空白血浆样品中目标分析物的响应与 LLOQ 的响应,来

表 3 RIV 和 RIV-M1 的提取回收率和基质效应结果

化合物	标示浓度/ (ng/mL)	提取回收率		基质效应	
		回收率/%	RSD/%	基质因子	RSD/%
RIV	3	65.00	3.89	0.87	2.27
	75	63.00	3.21	0.86	3.78
	375	61.00	3.17	1.09	3.24
RIV-M1	15	101.02	11.71	1.97	10.98
	75	101.64	9.99	1.87	13.22
	150	97.88	7.63	2.06	13.05

确认残留效应。结果显示,RIV 和 RIV-M1 均无残留,见图 3。



A. RIV 的残留效应;B. RIV-M1 的残留效应。

图 3 RIV 和 RIV-M1 的残留效应

2.7.6 稳定性:取 LLOQ 工作溶液和低、中、高 3 个浓度的质控溶液各 3 份,经室温(25 °C)放置 8 h、进样器(15 °C)放置 12 h、-80 °C 放置 7 d 或反复冻融 3 次后测定,以评估样本的稳定性。结果显示,在上述条件下,RIV 和 RIV-M1 的平均浓度和标示浓度的偏差均<15%,表明本方法在检测所需的环境下保持稳定,见表 4。

表 4 RIV 和 RIV-M1 的稳定性结果

化合物	标示浓度/ (ng/mL)	偏差/%			
		25 °C, 8 h	15 °C, 12 h	-20 °C, 12 h, 3 个循环	-80 °C, 7 d
RIV	1	9.33	5.00	5.73	2.87
	3	7.78	-7.00	0.22	-3.00
	75	5.07	-1.16	-2.40	-1.42
	375	8.00	5.24	-2.67	4.89
RIV-M1	5	6.87	-1.93	13.47	9.87
	15	4.00	0.44	-4.44	7.33
	75	2.98	-2.44	-3.11	-2.04
	150	-2.67	3.78	-5.78	3.11

2.8 临床样本检测结果

共收集 6 例患者的临床样本,血药浓度检测结果显示,RIV 的 C_{ss} 为 137.00~612.00 ng/mL,RIV-M1 的 C_{ss} 为 5.66~43.10 ng/mL,4 号患者 RIV 的 $C_{ss,max}$ 超出线性范围的 ULOQ,其余均在所建方法的线性范围内,见表 5。

表 5 RIV 和 RIV-M1 的临床样本检测结果

患者编号	给药剂量	浓度类型	RIV 浓度/(ng/mL)	RIV-M1 浓度/(ng/mL)
1	10 mg,1 日 1 次	$C_{ss,max}$	329.00	21.00
2	10 mg,1 日 1 次	$C_{ss,max}$	233.00	43.10
3	20 mg,1 日 1 次	$C_{ss,max}$	294.00	41.70
4	20 mg,1 日 1 次	$C_{ss,max}$	612.00	33.90
5	15 mg,1 日 2 次	$C_{ss,min}$	137.00	5.66
6	15 mg,1 日 2 次	$C_{ss,max}$	351.00	39.00

注: $C_{ss,max}$ 为稳态峰浓度, $C_{ss,min}$ 为稳态谷浓度。

3 讨论

本研究在系统优化色谱-质谱条件与样本前处理流程的基础上,成功建立了快速简便的 HPLC-MS/MS 方法,以定量检测 RIV 及其代谢产物 RIV-M1 的血药浓度。一方面,相比于凝固

法、发光法和抗 Xa 因子活性法,具有更高的准确性、特异性和灵敏度,其结果直接反应 RIV 和 RIV-M1 的体内真实药物浓度,不受肝肾功能不全,联合应用肝素、直接凝血酶抑制剂和其他 Xa 因子抑制剂的影响^[17-20];另一方面,相较于成本高且操作繁琐的固相萃取法,蛋白沉淀法不仅操作简便、回收率高,且灵敏度完全满足检测要求^[24]。

结合化合物的理化性质和相关文献^[25-27],本研究对色谱和质谱条件进行了系统性优化。离子抑制通常源于流动相与目标物质的竞争电离,优化流动相组成和梯度洗脱条件,可以改变目标物质与干扰物的色谱保留行为,实现更有效的分离。RIV 初始采用水(A)-乙腈(B)进行梯度洗脱,分析物的响应值不稳定且重现性差,提示可能存在离子化效率波动问题^[28-29]。为提高稳定性和离子化效率,本研究系统性考察了添加挥发性酸(0.1%甲酸,V/V)和缓冲盐(乙酸铵,2 mmol/L)的效果,最终确定 A 相为 0.1%甲酸-2 mmol/L 乙酸铵水溶液,B 相为 0.1%的甲酸-乙腈溶液。RIV-M1 采取电喷雾离子源负离子模式,在 0.1%甲酸-水溶液(A)和 0.1%甲酸-乙腈(B)条件下进行等度洗脱和梯度洗脱,响应值低且无法定量分析。使用碱性流动相通常可以提高分析物的响应信号,经过系统性考察添加挥发性碱(0.05%氨水,V/V;0.1%氨水,V/V)的效果,最终确定流动相 A 为 0.1%氨水、B 为乙腈。另外,选择 Waters XBridge BEH C_{18} 色谱柱(pH=1~12),可以更好地耐受碱性流动相,结果更加稳定。最后,通过优化梯度洗脱条件,实现了 RIV、RIV-M1 与内源性杂质的有效分离,显著降低了离子抑制效应和基质干扰。经验证,本方法同时满足美国食品药品监督管理局《Bioanalytical Method Validation Guidance for Industry》和《中华人民共和国药典(四部)》9012 生物样品定量分析方法验证指导原则中所有生物样品分析的要求。

虽然目前尚无 RIV 准确的血药浓度范围,药动力学研究结果推荐 RIV 10 mg/d 的谷浓度为 4~51 ng/mL,峰浓度为 7~273 ng/mL,20 mg/d 的谷浓度为 12~137 ng/mL,峰浓度为 184~343 ng/mL,本方法的线性范围可以满足临床检测需求^[14]。4 号患者的 RIV 的 $C_{ss,max}$ 为 612 ng/mL,超出了本方法的 ULOQ,考虑为个体间差异所致。为了满足异常值的检测,进一步验证本方法的稀释效应,将 800 ng/mL 标准样本溶液稀释至 80 ng/mL 后,检测结果的准确性为 104.15%,精密密度 RSD 为 5.44%,提示样品稀释不影响检测结果的准确度和精密密度,进一步扩大了本方法的临床适用范围。

综上所述,本研究构建的 HPLC-MS/MS 法具有良好的科学性、规范性与实用价值,为 RIV 及其代谢产物的药动力学研究和个体化给药策略制定提供了可靠的分析工具。而 RIV 在不同给药剂量下的血药浓度范围需要在更大范围的样本中进一步研究。

参考文献

- [1] KVASNICKA T, MALIKOVA I, ZENAHLIKOVA Z, et al. Rivaroxaban-metabolism, pharmacologic properties and drug interactions[J]. *Curr Drug Metab*, 2017, 18(7): 636-642.
- [2] LANG D, FREUDENBERGER C, WEINZ C. *In vitro* metabolism of rivaroxaban, an oral, direct factor Xa inhibitor, in liver microsomes and hepatocytes of rats, dogs, and humans[J]. *Drug Metab Dispos*, 2009, 37(5): 1046-1055.

- [3] HINDRICKS G, POTPARA T, DAGRES N, et al. 2020 ESC guidelines for the diagnosis and management of atrial fibrillation developed in collaboration with the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS): the task force for the diagnosis and management of atrial fibrillation of the European Society of Cardiology (ESC) developed with the special contribution of the European Heart Rhythm Association (EHRA) of the ESC[J]. *Eur Heart J*, 2021, 42(5): 373-498.
- [4] MAZZOLAI L, AGENO W, ALATRI A, et al. Second consensus document on diagnosis and management of acute deep vein thrombosis: updated document elaborated by the ESC Working Group on aorta and peripheral vascular diseases and the ESC Working Group on pulmonary circulation and right ventricular function[J]. *Eur J Prev Cardiol*, 2022, 29(8): 1248-1263.
- [5] ZHU G, SHI Q, CAI T, et al. CACA guidelines for holistic integrative management of anticancer treatment-induced cutaneous adverse events[J]. *Holistic Integrative Oncology*, 2024, 3(1): 33.
- [6] LIU X Q, ZHANG Y F, DING H Y, et al. Population pharmacokinetic and pharmacodynamic analysis of rivaroxaban in Chinese patients with non-valvular atrial fibrillation [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2022, 43(10): 2723-2734.
- [7] NAKAGAWA J, KINJO T, IIZUKA M, et al. Impact of gene polymorphisms in drug-metabolizing enzymes and transporters on trough concentrations of rivaroxaban in patients with atrial fibrillation [J]. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2021, 128(2): 297-304.
- [8] KANURI S H, KREUTZ R P. Pharmacogenomics of novel direct oral anticoagulants: newly identified genes and genetic variants [J]. *J Pers Med*, 2019, 9(1): 7.
- [9] SCHOLZ I, LIAKONI E, HAMMANN F, et al. Effects of hypericum perforatum (St John's wort) on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of rivaroxaban in humans [J]. *Br J Clin Pharmacol*, 2021, 87(3): 1466-1474.
- [10] ZHAO T T, LI X N, CHEN Y W, et al. Risk assessment and molecular mechanism study of drug-drug interactions between rivaroxaban and tyrosine kinase inhibitors mediated by CYP2J2/3A4 and BCRP/P-gp[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 914842.
- [11] WU J Y, WU J R, TANG B Y, et al. Suspected adverse drug reactions of rivaroxaban reported in the United States food and drug administration adverse event reporting system database: a pharmacovigilance study[J]. *Front Pharmacol*, 2024, 15: 1399172.
- [12] RAY W A, CHUNG C P, STEIN C M, et al. Serious bleeding in patients with atrial fibrillation using diltiazem with apixaban or rivaroxaban[J]. *JAMA*, 2024, 331(18): 1565-1575.
- [13] STEFFEL J, COLLINS R, ANTZ M, et al. 2021 European heart rhythm association practical guide on the use of non-vitamin K antagonist oral anticoagulants in patients with atrial fibrillation[J]. *Europace*, 2021, 23(10): 1612-1676.
- [14] DOUXFILS J, ADCOCK D M, BATES S M, et al. 2021 update of the international council for standardization in haematology recommendations for laboratory measurement of direct oral anticoagulants [J]. *Thromb Haemost*, 2021, 121(8): 1008-1020.
- [15] GOSELIN R C, ADCOCK D M, BATES S M, et al. International council for standardization in haematology (ICSH) recommendations for laboratory measurement of direct oral anticoagulants [J]. *Thromb Haemost*, 2018, 118(3): 437-450.
- [16] NGUYEN S N, RUEGGER M C, SALAZAR E, et al. Evaluation of Anti-Xa apixaban and rivaroxaban levels with respect to known doses in relation to major bleeding events [J]. *J Pharm Pract*, 2022, 35(6): 836-845.
- [17] REÇBER T, HAZNEDARO ĞLU İ C, ÇELEBIER M. Review on characteristics and analytical methods of rivaroxaban[J]. *Crit Rev Anal Chem*, 2022, 52(4): 865-877.
- [18] DOUXFILS J, TAMIGNIAU A, CHATELAIN B, et al. Comparison of calibrated chromogenic anti-Xa assay and PT tests with LC-MS/MS for the therapeutic monitoring of patients treated with rivaroxaban[J]. *Thromb Haemost*, 2013, 110(4): 723-731.
- [19] DEROGIS P B, SANCHES L R, DE ARANDA V F, et al. Determination of rivaroxaban in patient's plasma samples by anti-Xa chromogenic test associated to high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS) [J]. *PLoS One*, 2017, 12(2): e0171272.
- [20] ZHENG X, CHEN C, GAO H T, et al. Developing LC-MS/MS methods to quantify rivaroxaban in human plasma and urine: application to therapeutic drug monitoring[J]. *Biomed Chromatogr*, 2022, 36(5): e5306.
- [21] DE OLIVEIRA A C, DAVANÇO M G, DE CAMPOS D R, et al. Sensitive LC-MS/MS method for quantification of rivaroxaban in plasma; application to pharmacokinetic studies [J]. *Biomed Chromatogr*, 2021, 35(9): e5147.
- [22] RAKESH V, T D, JAYAVARAPU KR. BIO-Analytical Method Development and Validation By LC/MS/MS Technique [J]. *J Neonatal Surg*, 2025, 14(32S): 7621-7625.
- [23] WEINZ C, SCHWARZ T, KUBITZA D, et al. Metabolism and excretion of rivaroxaban, an oral, direct factor Xa inhibitor, in rats, dogs, and humans[J]. *Drug Metab Dispos*, 2009, 37(5): 1056-1064.
- [24] ZHANG M, MOORE GA, CHIN P K L. Simultaneous Determination of Dabigatran, Rivaroxaban, and Apixaban in Human Plasma by Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry[J]. *Ther Drug Monit*, 2020, 42(3): 473-480.
- [25] GAI S C, HUANG A L, FENG T, et al. LC-MS/MS method for simultaneous determination of rivaroxaban and metformin in rat plasma; application to pharmacokinetic interaction study [J]. *Bioanalysis*, 2019, 11(24): 2269-2281.
- [26] WANG L B, GAI S C, ZHANG X R, et al. Simultaneous determination of rivaroxaban and TAK-438 in rat plasma by LC-MS/MS; application to pharmacokinetic interaction study[J]. *Bioanalysis*, 2020, 12(1): 11-22.
- [27] ZHENG S, LUO S B, MEI Y B, et al. Simultaneous determination of rivaroxaban and enalapril in rat plasma by UPLC-MS/MS and its application to a pharmacokinetic interaction study[J]. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*, 2019, 44(2): 229-236.
- [28] WAGEED M, MAHDY H M, KALABA M H, et al. Development of LC-MS/MS analytical method for the rapid determination of diquat in water and beverages[J]. *Food Chem*, 2024, 438: 137869.
- [29] LIU W, LIU F, CHE A Y, et al. Investigation of low-temperature partitioning with dispersive solid-phase extraction for quantification of pesticides in apples followed by electrospray-ionization mobility spectrometry: comparison with conventional procedure [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2024, 1234: 124014.

(收稿日期:2025-09-19 修回日期:2025-11-06)