小分子抑制剂SYHA1809在比格犬体内的药动学研究Δ

刘晓琳[1,2*]，杨汉煜[2#]，王小彦[2]，康　凯[1,2]，梁　敏[2][1.河北医科大学药学院，石家庄　050011；2.石药中奇制药（石家庄）有限公司，石家庄　050035]

中图分类号　R969.1　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2023）17-2085-05
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2023.17.07

摘　要　目的　研究小分子抑制剂SYHA1809在比格犬体内的药动学。**方法**　采用液相色谱-串联质谱（LC-MS/MS）法进行测定。将比格犬随机分为单次静脉给药组（3.75 mg/kg）、单次低剂量灌胃组（3.75 mg/kg）、单次中剂量灌胃组（7.5 mg/kg）、单次高剂量灌胃组（15 mg/kg）和多次灌胃组（7.5 mg/kg，每天1次，连续7 d），每组6只，雌雄各半。各组比格犬按照设定的时间点收集血浆样品，经预处理后进行LC-MS/MS定量分析，获得的数据采用Phoenix WinNonlin 8.0软件计算药动学参数。**结果**　SYHA1809静脉注射给药后，在比格犬体内的CL为（2.70±0.48）mL/（min·kg），稳态分布体积为0.757 L/kg，$t_{1/2}$为（3.35±1.36）h；单次灌胃给予低、中、高剂量的SYHA1809后，其在比格犬体内的平均t_{max}为（0.53±0.02）h，血药浓度随给药剂量的增加而升高；单次灌胃给予3.75 mg/kg的SYHA1809后，绝对生物利用度为83.5%；在3.75～15 mg/kg剂量范围内，SYHA1809的c_{max}和AUC增加与剂量呈正相关；SYHA1809连续以7.5 mg/kg灌胃7 d后，与同剂量单次灌胃给药后的药动学参数相当，差异无统计学意义（$P>0.05$）。**结论**　SYHA1809在比格犬体内吸收迅速，血药浓度呈剂量依赖性，生物利用度高，多次灌胃给药后无明显蓄积，药动学行为良好。

关键词　小分子抑制剂；SYHA1809；液相色谱-串联质谱法；药动学

Pharmacokinetic study of small molecule inhibitor SYHA1809 in Beagle dogs

LIU Xiaolin[1,2], YANG Hanyu[2], WANG Xiaoyan[2], KANG Kai[1,2], LIANG Min[2][1. College of Pharmacy, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, China; 2. CSPC Zhongqi Pharmaceutical (Shijiazhuang) Co., Ltd., Shijiazhuang 050035, China]

ABSTRACT　OBJECTIVE To study the pharmacokinetics of small molecule inhibitor SYHA1809 in Beagle dogs. **METHODS** LC-MS/MS method was adopted. Beagle dogs were randomly divided into single intravenous administration group (3.75 mg/kg), single low-dose intragastric administration group (3.75 mg/kg), single medium-dose intragastric administration group (7.5 mg/kg), single high-dose intragastric administration group (15 mg/kg) and multiple intragastric administration group (7.5 mg/kg, once a day, for 7 consecutive days), with 6 dogs in each group, half male and half female. The plasma samples of Beagle dogs were collected in each group according to the set time point, and underwent LC-MS/MS quantitative analysis after preprocessing. The pharmacokinetic parameters were calculated by using Phoenix WinNonlin 8.0 software using obtained data. **RESULTS** After intravenous injection, CL of SYHA1809 in Beagle dogs was (2.70±0.48) mL/(min·kg), steady-state distribution volume was 0.757 L/kg, and $t_{1/2}$ was (3.35±1.36) h; after single intragastric administration of low-dose, medium-dose and high-dose of SYHA1809, average t_{max} was (0.53±0.02) h, and the blood drug concentration increased with the increase of dose; after single intragastric administration of 3.75 mg/kg SYHA1809, the absolute bioavailability was 83.5%; within the dose range of 3.75-15 mg/kg, the increase in c_{max} and AUC of SYHA1809 was positively correlated with the dose; after intragastric administration of 7.5 mg/kg SYHA1809 for 7 consecutive days, the pharmacokinetic parameters of SYHA1809 were comparable to those of a single intragastric administration of the same dose, with no statistically significant difference ($P>0.05$). **CONCLUSIONS** SYHA1809 is absorbed rapidly in Beagle dogs, shows the dose-dependent blood concentration, high bioavailability, no obvious accumulation after multiple intragastric administration, and good pharmacokinetic behavior.

KEYWORDS　small molecule inhibitor; SYHA1809; LC-MS/MS; pharmacokinetics

贫血是慢性肾病（chronic kidney disease，CKD）的一种常见并发症，可降低患者的免疫力，影响患者的生活质量，甚至会增加血管疾病和死亡的风险[1]。美国心脏协会表示贫血是CKD患者的非传统心血管危险因素[2]。由于红细胞生成刺激剂（erythropoiesis-stimulating

Δ**基金项目**　河北省科技研发平台建设专项（No.199676133H）

＊**第一作者**　硕士。研究方向：体内药物代谢动力学。E-mail：liuxiaolin6101998@163.com

＃**通信作者**　正高级工程师，硕士。研究方向：体内药物代谢动力学。E-mail：yanghanyu@cspc.cn

agents，ESAs）的低反应性和铁剂治疗的诸多不良反应，目前仍有许多肾性贫血患者未得到有效治疗，很大比例的CKD合并贫血患者仍然不能达到正常血红蛋白的水平[3]。低氧诱导因子（hypoxia-inducible factor，HIF）是细胞适应低氧环境的关键性转录因子，目前已证实约有100多个基因受其调控，在红细胞生长、肿瘤生长和血管生长等方面发挥着重要作用[4－5]。脯氨酰羟化酶（prolyl hydroxylase domain，PHD）作为HIF依赖性红细胞生成调节剂的发现，推动了肾性贫血新治疗药物的开发[6]。靶向PHD的小分子抑制剂研究已经成为当前治疗贫血/缺血及炎症等疾病的策略之一。目前全球上市的HIF-PHD抑制剂包括Roxadustat、Molidustat、Daprodustat、Vadadustat、Enarodustat 5个产品，其中Roxadustat作为国内唯一上市的HIF-PHD抑制剂受到许多质疑，最终未能获得美国FDA批准上市[7]。因此，开发结构新颖、药效更好、安全性更佳的小分子HIF-PHD抑制剂仍然迫切。

SYHA1809是经石药集团初筛后获得的一类创新型HIF-PHD抑制剂，拟用于肾性贫血患者。本研究团队前期药效学实验结果显示，SYHA1809对PHD 1～3均有很强的抑制作用，并能升高人Hep3B细胞中HIF-1α、HIF-2α的表达，还可上调正常小鼠和双肾摘除小鼠（贫血动物模型）血浆红细胞生成素（erythropoietin，EPO）浓度，上调顺铂诱导的贫血小鼠的红细胞和血红蛋白浓度。基于此，本研究拟以比格犬为研究对象，采用液相色谱-串联质谱（LC-MS/MS）法考察SYHA1809的药动学行为，以期为该新药的临床应用提供参考。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器有TSQ Quantum Vantage型三重四极杆串联质谱仪（日本Shimadzu公司）、5804R型高速离心机（德国Eppendorf公司）、H-101型多功能漩涡混合器（上海康禾光电仪器有限公司）、CPA225D型分析天平[赛多利斯科学仪器（北京）有限公司]。

1.2 主要药品与试剂

SYHA1809、罗沙司他（内标）对照品（批号分别为20190412、H20190301，纯度均大于99.0%）均由石药集团中奇制药技术（石家庄）有限公司提供；二甲基亚砜（DMSO）为分析纯，购自天津市科密欧化学试剂有限公司；甲酸、乙酸铵均为色谱级，购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司；水为娃哈哈纯净水。

1.3 动物

本研究所用动物为健康比格犬，体重为6～12 kg，共30只，雌雄各半，购自北京玛斯生物技术有限公司，动物生产许可证号为SCXK（京）2021-0002，合格证号为110318210100027738，使用许可证号为SYXK（冀）2021-007。比格犬给药前禁食不少于12 h，自由饮水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱为ACQUITY UPLC BEH C_{18}（2.1 mm×50 mm，1.7 μm），以2 mmol/L醋酸铵溶液（含0.1%甲酸）（A）-乙腈（B）为流动相进行梯度洗脱（0～0.5 min，45%B；0.5～1.0 min，45%B→75%B；1.0～1.8 min，75%B；1.8～2.0 min，75%B→95%B；2.0～2.5 min，95%B；2.5～2.6 min，95%B→45%B；2.6～3.0 min，45%B）；柱温为40 ℃；流速为0.4 mL/min；进样量为1 μL。

2.2 质谱条件

离子源为加热电喷雾电离源，采用负离子选择反应监测（selected reaction monitoring，SRM）模式扫描；SYHA1809、内标的离子监测通道分别为 *m/z* 418→374.1、351.1→173.1；碰撞能量分别为19、37 V；S-Lens电压分别为85、89 V；加热毛细管温度为320 ℃；碰撞气压力为1.5 mTorr。

2.3 溶液的配制

2.3.1 储备液的配制

取SYHA1809对照品适量，精密称定，加DMSO溶解后，用甲醇稀释，即得质量浓度为2 mg/mL的储备液。取内标对照品适量，精密称定，加DMSO溶解后，用甲醇稀释，即得质量浓度为1 mg/mL的内标储备液。上述储备液均置于－20 ℃保存备用。

2.3.2 系列标准溶液和质控溶液的配制

精密吸取SYHA1809储备液适量，以50%甲醇倍比稀释，得到质量浓度分别为400、200、80.0、40.0、10.0、2.00、0.800、0.400 μg/mL的系列标准溶液。另精密吸取SYHA1809储备液适量，以50%甲醇稀释，得到质量浓度分别为320、160、1.20、0.400 μg/mL的质控（QC）溶液。

2.3.3 内标溶液的配制

精密吸取内标储备液，以50%甲醇稀释，即得质量浓度为1 000 ng/mL的内标溶液。

2.4 生物样品预处理

取30 μL比格犬血浆，加入30 μL内标溶液和300 μL乙腈，振摇15 min，以3 700 r/min离心15 min，取1 μL，按“2.1”“2.2”项下条件进样分析。

2.5 方法学验证

按照《药物非临床药代动力学研究技术指导原则》[8]和生物样品分析国际规范的有关要求[9－10]，对比格犬血浆中SYHA1809的LC-MS/MS测定方法进行方法学验证，包括方法的专属性、准确度与精密度、残留效应、提取回收率、基质效应、稀释效应以及稳定性考察。

2.5.1 专属性考察

采集6只比格犬给药前的血浆并混合，得到空白血浆。取空白血浆适量，除不加内标外，其余按“2.4”项下方法处理，然后进样分析，得空白血浆样品色谱图（见图1A）；取空白血浆适量，加内标同法处理，得空白血浆+内

标样品色谱图（见图1B）；取空白血浆适量，加入定量下限质量浓度（20 ng/mL）的SYHA1809溶液，按“2.4”项下方法处理，然后进样分析，得定量下限血浆样品色谱图（见图1C）；取空白血浆适量，加入定量上限质量浓度（20 000 ng/mL）的SYHA1809溶液，除不加内标外，其余同法处理，得不含内标的定量上限血浆样品色谱图（见图1D）；取比格犬灌胃给药8 h后的血浆样品，同法处理，得灌胃给药8 h后血浆样品色谱图（见图1E）。结果显示，SYHA1809与内标的保留时间分别为1.38、1.40 min，空白血浆样品中内源性物质和内标均不干扰待测物的测定。

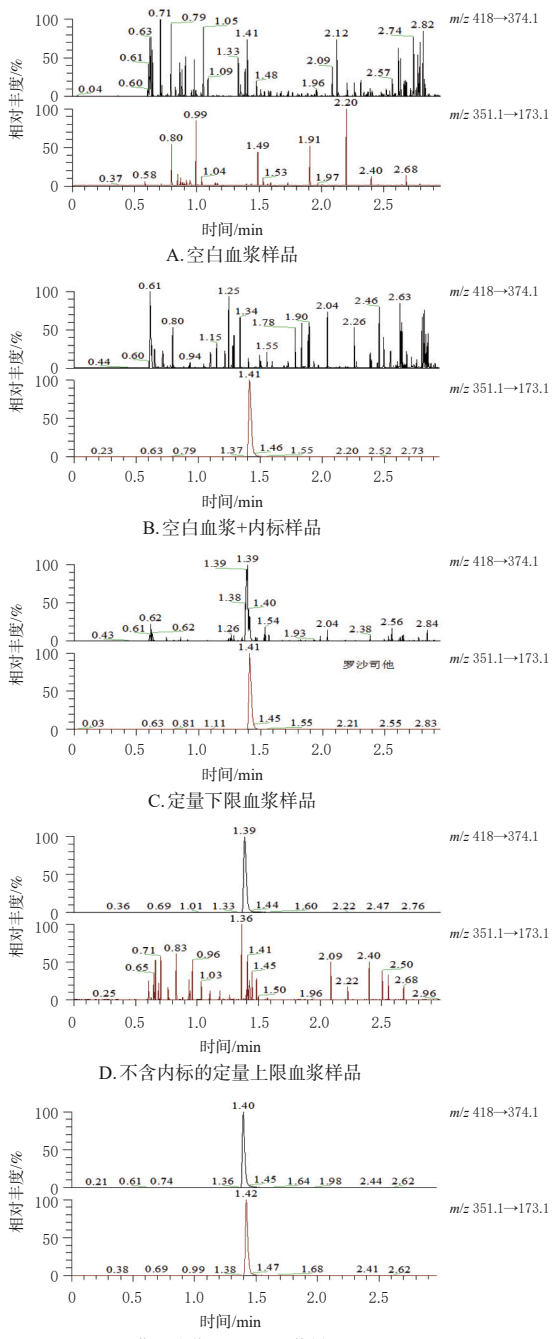


图1　专属性考察的LC-MS/MS图

2.5.2　标准曲线考察

取一定量的系列标准溶液，用空白血浆稀释20倍后，得到质量浓度为20 000、10 000、4 000、2 000、500、100、40、20 ng/mL的系列标准样品溶液，按“2.4”项下方法操作后，进样分析。以血浆样品溶液中SYHA1809的质量浓度为横坐标（X）、SYHA1809与内标的峰面积比值为纵坐标（Y），采用加权最小二乘法进行线性回归，得回归方程为 Y=0.000 921X−0.00 140（r^2=0.995 8），SYHA1809的线性范围为20～20 000 ng/mL。

2.5.3　准确度与精密度考察

取质量浓度分别为0.400、1.20、160、320 μg/mL的QC溶液，用空白血浆稀释20倍后，得到质量浓度分别为20.0、60.0、8 000、16 000 ng/mL的QC样品溶液。取上述溶液各30 μL，按“2.4”项下方法处理，每一质量浓度平行6个样本，连续测定3个分析批，根据当日的标准曲线，计算QC样品溶液的测得浓度，考察本方法的准确度与精密度。结果显示，各质量浓度QC样品溶液的准确度为90.1%～107.2%，批内精密度的RSD为0.9%～8.2%（n=6），批间精密度的RSD为2.3%～7.4%（n=18）。SYHA1809在定量下限质量浓度下的准确度为86.5%～112.3%，日内RSD为4.2%～8.2%（n=6），日间RSD为7.4%（n=18）。上述结果表明批内与批间的准确度和精密度均符合生物样品分析方法验证的要求。

2.5.4　残留效应考察

将空白血浆样品按“2.4”项下方法处理，在方法验证每一个分析批的定量上限样品分析结束后，立即进行空白血浆样品分析，考察高浓度样品残留对测定的影响。结果显示，空白血浆中待测物响应低于定量下限的20%，内标响应低于定量下限的5%，表明该方法条件下，待测物和内标均无残留效应。

2.5.5　提取回收率考察

配制SYHA1809低、中、高质量浓度（60.0、8 000、16 000 ng/mL）的QC溶液，按“2.4”项下方法处理，每一质量浓度平行6个样本，记录峰面积（A）；另将空白血浆进行样品预处理后，取上清液加入上述不同质量浓度的SYHA1809 QC溶液和内标溶液，每一质量浓度平行6个样本，记录峰面积（B）；以A/B计算提取回收率。结果显示，低、中、高质量浓度SYHA1809的提取回收率为（82.8±7.37）%～（84.9±1.30）%，RSD<15%（n=6），具体见表1。

2.5.6　基质效应考察

将6份来源于不同比格犬的空白血浆经样品预处理后，制备低、高质量浓度（60.0、16 000 ng/mL）的QC样品，按“2.1”“2.2”项下条件进样分析后，计算SYHA1809与内标的峰面积比值（C）；以水代替空白血浆，同法操作后进样分析，计算SYHA1809与内标的峰面积比值（D）；

表1　SYHA1809的基质效应和提取回收率测定结果

待测物	理论浓度/(ng/mL)	提取回收率/%		基质效应/%	
		$\bar{x}\pm s$	RSD	$\bar{x}\pm s$	RSD
SYHA1809	60	82.8±7.37	8.90	90.2±5.90	5.39
	8 000	84.9±1.30	1.54	NA	NA
	16 000	84.2±2.18	2.59	90.2±0.90	0.79
内标	1 000	99.1±4.61	4.66	NA	NA

NA：不适用。

以*C/D*计算得经内标归一化的基质因子。结果显示，低、高质量浓度SYHA1809的基质效应分别为(90.2±5.90)%、(90.2±0.90)%，RSD＜15%(n=6)。

2.5.7　稀释效应考察

取SYHA1809储备液适量，用50%甲醇稀释成质量浓度为1 600 μg/mL的溶液，用比格犬空白血浆稀释20倍后得到质量浓度为80 000 ng/mL的QC样品。取上述QC样品，再用比格犬空白血浆稀释5倍，平行稀释6个样本；按“2.4”项下方法处理，再根据当日标准曲线进行计算。结果显示，SYHA1809的准确度为99.9%，RSD为2.2%(n=6)，表明SYHA1809的QC样品经空白血浆稀释5倍后不影响测定结果的准确性。

2.5.8　稳定性考察

取低、高质量浓度(60.0、16 000 ng/mL)的QC样品溶液，考察其室温放置24 h、蛋白沉淀后室温放置24 h、自动进样器(4 ℃)放置24 h、−70 ℃～室温反复冻融5次、−70 ℃冻存58 d的稳定性，按“2.4”项下方法处理，每一质量浓度平行6个样本。结果显示，考察样品在上述条件下稳定性良好，准确度偏差均在±15%以内，具体见表2。

表2　SYHA1809在血浆中的稳定性

储存条件	理论质量浓度/(ng/mL)	实测质量浓度/(ng/mL)	RSD/%	偏差/%
室温放置24 h	60.0	57.7±4.92	8.5	−3.8
	16 000	15 828±458	2.9	−1.1
蛋白沉淀后室温放置24 h	60.0	54.1±3.96	7.4	−9.9
	16 000	15 281±532	3.5	−4.5
自动进样器(4 ℃)放置24 h	60.0	54.3±3.14	5.8	−9.6
	16 000	15 349±295	1.9	−4.7
−70 ℃～室温反复冻融5次	60.0	62.6±3.40	5.4	4.3
	16 000	16 398±438	2.7	2.5
−70 ℃冻存58 d	60.0	60.7±3.01	5.0	1.2
	16 000	16 252±570	3.5	1.6

2.6　药动学研究

将比格犬随机分为单次静脉给药组(3.75 mg/kg)、单次低剂量灌胃组(3.75 mg/kg)、单次中剂量灌胃组(7.5 mg/kg)、单次高剂量灌胃组(15 mg/kg)和多次灌胃组(7.5 mg/kg，每天1次，连续7 d)，每组6只，雌雄各半。给药前各组比格犬禁食不少于12 h，自由饮水；给药后4 h统一进食(包括多次给药在内的所有组别，均在给药前禁食)。各单次灌胃组和多次灌胃组分别在给药第1天和第7天的给药前和给药后0.25、0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、6.0、8.0、12、24 h时经四肢静脉取血0.6 mL，单次静脉给药组于给药前和给药后5 min和0.25、0.5、1.0、2.0、4.0、6.0、8.0、12、24 h时经四肢静脉取血0.6 mL，置于EDTA-K_2抗凝试管中，以3 500 r/min离心10 min，取上清液，按“2.4”项下方法处理，再按“2.1”“2.2”项下条件进样分析，记录峰面积。采用Phoenix WinNonlin 8.0软件的非房室模型计算各组比格犬给药后的药动学参数，再用GraphPad Prism 8.0软件绘制各组比格犬给予SYHA1809后的平均血药浓度-时间曲线。结果见图2、图3、表3。

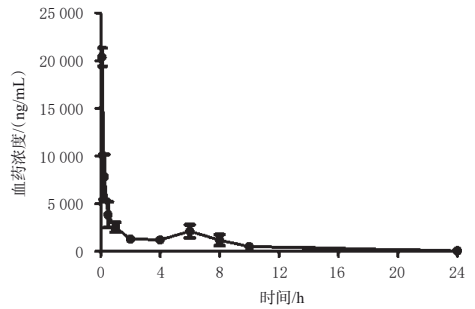


图2　比格犬静脉给药后血浆中SYHA1809的平均血药浓度-时间曲线(n=6)

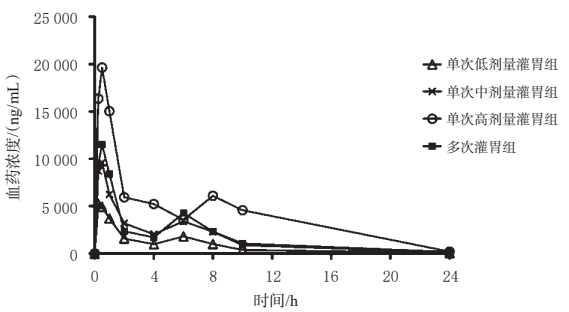


图3　比格犬单次及多次灌胃给药后血浆中SYHA1809的平均血药浓度-时间曲线(n=6)

表3　各组比格犬给予SYHA1809后的药动学参数比较($\bar{x}\pm s$，n=6)

药动学参数	单次静脉给药组	单次低剂量灌胃组	单次中剂量灌胃组	单次高剂量灌胃组	多次灌胃组
t_{max}/h	NA	0.54±0.37	0.50±0.27	0.54±0.25	0.63±0.31
c_{max}/(μg/mL)	NA	6.68±2.56	10.51±1.06	21.04±3.88	12.80±4.23
$AUC_{0\text{-}t}$/(μg·h/mL)	22.53±5.69	19.05±5.41	38.75±12.75	101.30±25.50	43.08±4.90
$AUC_{0\text{-}\infty}$/(μg·h/mL)	23.90±4.89	19.97±6.55	39.61±12.89	101.83±25.53	44.72±4.97
$MRT_{0\text{-}\infty}$/h	4.77±1.09	5.49±2.20	5.53±1.46	6.46±1.26	6.39±2.19
$t_{1/2}$/h	3.35±1.36	3.65±2.73	4.04±1.37	3.28±1.21	4.28±2.19
CL[mL/(min·kg)]	2.70±0.48	NA	NA	NA	NA

NA：无相应数据。

由表3可知，静脉注射给药后，SYHA1809在比格犬体内的CL为(2.70±0.48) mL/(min·kg)，相当于比格犬肝脏血流量[约31 mL/(min·kg)[11]]的8.7%；稳态分布体积(steady-state distribution volume，V_{ss})为0.757 L/kg，高于比格犬体液总量(0.6 L/kg[11])；$t_{1/2}$为(3.35±1.36) h，表明SYHA1809在比格犬体内清除率低，广泛分布于比格犬体内。单次灌胃给药后，低、中、高剂量的SYHA1809在比格犬体内的平均t_{max}为(0.53±0.02) h，血药浓度随给药剂量的增加而升高，3个剂量的c_{max}分别为(6.68±2.56)、(10.51±1.06)、(21.04±3.88)μg/mL，给药24 h后

均降至峰浓度的1/20以下。单次灌胃给予3.75 mg/kg的SYHA1809后，以$AUC_{0-\infty}$计算SYHA1809的绝对生物利用度为83.5%，表明SYHA1809灌胃给药的生物利用度高。另外，在3.75～15 mg/kg剂量范围内，SYHA1809的c_{max}和AUC增加与剂量呈正相关，c_{max}增加比例略低于剂量增加比例，AUC增加比例略高于剂量增加比例（回归方程斜率为0.90～1.10时，判断为正相关[12]）。SYHA1809连续以7.5 mg/kg灌胃7 d后，与同剂量单次灌胃给药后的药动学参数相当，差异无统计学意义（$P>0.05$），其中c_{max}、AUC_{0-t}分别为同剂量单次灌胃给药后的1.22、1.11倍，表明SYHA1809在比格犬体内无明显蓄积。

3 讨论

本研究建立了测定比格犬血浆中SYHA1809含量的LC-MS/MS法，血浆样品经沉淀蛋白处理后，采用加热电喷雾电离源，以SRM扫描方式进行定量分析。结果显示，血浆样品中的内源性物质不干扰SYHA1809的测定，SYHA1809的检测线性范围为20～20 000 ng/mL，表明本方法具有快速、准确、灵敏度高的特点，可用于SYHA1809在比格犬体内的药动学研究。

HIF-PHD抑制剂是目前极具潜力的贫血治疗药物。在临床前药动学研究中，Roxadustat在动物体内吸收速度快、半衰期较短、分布容积小[13—14]。SYHA1809的药动学行为与Roxadustat相似，静脉给药后，SYHA1809在比格犬体内为低清除药物，CL约为比格犬肝脏血流量的8.7%，且V_{ss}较高，体内分布广泛；灌胃给药后，SYHA1809在比格犬体内的吸收速度很快，1 h内即可达峰，$t_{1/2}$约为3～5 h；当灌胃3.75 mg/kg的SYHA1809后，其绝对生物利用度为83.5%。3.75～15 mg/kg的SYHA1809单次灌胃给药后在比格犬体内为非线性动力学过程。7.5 mg/kg的SYHA1809连续灌胃7 d后与同剂量单次灌胃给药后相比，其在比格犬体内无明显蓄积。

综上所述，小分子抑制剂SYHA1809在比格犬体内吸收迅速，血药浓度呈剂量依赖性，生物利用度高，多次灌胃给药后无明显蓄积，药动学行为良好。

（利益声明：本文作者无利益冲突）

参考文献

[1] SMITH R E. The clinical and economic burden of anemia [J]. Am J Manag Care，2010，16(Suppl Issues)：S59-S66.

[2] SARNAK M J，LEVEY A S，SCHOOLWERTH A C，et al. Kidney disease as a risk factor for development of cardiovascular disease：a statement from the American Heart Association Councils on Kidney in Cardiovascular Disease，High Blood Pressure Research，Clinical Cardiology，and Epidemiology and Prevention[J]. Circulation，2003，108(17)：2154-2169.

[3] LI Y，SHI H，WANG W M，et al. Prevalence，awareness，and treatment of anemia in Chinese patients with nondialysis chronic kidney disease：first multicenter，cross-sectional study[J]. Medicine，2016，95(24)：e3872.

[4] SHIH H M，WU C J，LIN S L. Physiology and pathophysiology of renal erythropoietin-producing cells[J]. J Formos Med Assoc，2018，117(11)：955-963.

[5] LI S Y，WEN L，HU X，et al. HIF in nephrotoxicity during cisplatin chemotherapy：regulation，function and therapeutic potential[J]. Cancers（Basel），2021，13(2)：E180.

[6] GILREATH J A，STENEHJEM D D，RODGERS G M. Diagnosis and treatment of cancer-related anemia[J]. Am J Hematol，2014，89(2)：203-212.

[7] 珐博进. 珐博进收到FDA关于罗沙司他治疗肾性贫血的完整回复函[EB/OL].(2021-08-11)[2022-12-22]. https://fibrogen.gcs-web.com/news-releases/news-release-details/fibrogen-receives-complete-response-letter-fda-roxadusta-tanemia.

[8] 国家药品监督管理局. 药物非临床药代动力学研究技术指导原则[EB/OL].(2014-05-13)[2022-12-22]. https://www.cde.org.cn/zdyz/domesticinfopage?zdyzIdCODE=3e1a118fa1599529d3406fe6ee5821a5.

[9] SHAH V P，MIDHA K K，FINDLAY J W，et al. Bioanalytical method validation：a revisit with a decade of progress[J]. Pharm Res，2000，17(12)：1551-1557.

[10] VISWANATHAN C T，BANSAL S，BOOTH B，et al. Quantitative bioanalytical methods validation and implementation：best practices for chromatographic and ligand binding assays[J]. Pharm Res，2007，24(10)：1962-1973.

[11] DAVIES B，MORRIS T. Physiological parameters in laboratory animals and humans[J]. Pharm Res，1993，10(7)：1093-1095.

[12] SMITH B P，VANDENHENDE F R，DESANTE K A，et al. Confidence interval criteria for assessment of dose proportionality[J]. Pharm Res，2000，17(10)：1278-1283.

[13] 张璇，郑兆浠，郑剑斌，等. 高效液相色谱-质谱联用测定小鼠血浆中FG-4592浓度及其药动学研究[J]. 中国医药导报，2016，13(9)：14-17，42.

[14] 郑晓敏. 肾性贫血治疗药物-口服低氧诱导因子-脯氨酰羟化酶（HIF-PHD）抑制剂的筛选及候选化合物DS015的药效验证[D]. 广州：华南理工大学，2020.

（收稿日期：2023-02-13　修回日期：2023-07-25）

（编辑：唐晓莲）