7种抗肿瘤药物血药浓度测定方法建立及临床应用Δ

吕锦绣*，颜　楠，徐文俊，赵　静，朱　华，杭鹏洲#（苏北人民医院药学部，江苏 扬州　225001）

中图分类号　R917　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2025）04-0475-07
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2025.04.15

摘　要　目的　建立同时测定人血浆中7种抗肿瘤药物（伊立替康、卡培他滨、紫杉醇、多西他赛、他莫昔芬、来曲唑和甲氨蝶呤）血药浓度的方法并应用于临床。**方法**　血浆样品以含0.1%甲酸的甲醇-乙腈混合液（1∶1，*V/V*）沉淀蛋白后，以各待测成分的氘代同位素为内标，采用液相色谱-串联质谱（LC-MS/MS）技术检测。以Agilent Eclipse Plus C_{18}为色谱柱，以水（含0.1%甲酸和0.04% 5 mmol/L甲酸铵）为流动相A相、乙腈（含0.1%甲酸）为流动相B相进行梯度洗脱，流速为0.6 mL/min，柱温为40 ℃，进样量为10 μL，分析时间为5.5 min；采用电喷雾离子源在正、负离子模式下以多反应监测模式进行测定，用于定量分析的离子对分别为*m/z* 587.1→167.1（伊立替康）、*m/z* 360.1→244.1（卡培他滨）、*m/z* 876.4→308.0（紫杉醇）、*m/z* 830.3→304.2（多西他赛）、*m/z* 372.1→129.1（他莫昔芬）、*m/z* 284.1→242.1（来曲唑）、*m/z* 455.0→308.0（甲氨蝶呤）。选择我院97例恶性肿瘤患者，采用上述方法测定其血浆中7种抗肿瘤药物的血药浓度。**结果**　伊立替康、卡培他滨、紫杉醇、多西他赛、他莫昔芬、来曲唑和甲氨蝶呤的线性范围分别为2～1 000 ng/mL（r=0.994 3）、20～10 000 ng/mL（r=0.997 5）、2～1 000 ng/mL（r=0.997 9）、1～500 ng/mL（r=0.995 8）、1～500 ng/mL（r=0.995 2）、1～500 ng/mL（r=0.996 4）、10～5 000（r=0.997 7）；定量下限分别为2、20、2、1、1、1、10 ng/mL；批内精密度的RSD为0.08%～14.86%（n=6），批间精密度的RSD为1.51%～11.55%（n=3），准确度为89.17%～114.93%（n=6）；基质效应为89.89%～119.74%（n=6）；稳定性试验的RSD为1.98%～14.88%（n=6）。临床应用结果显示，伊立替康、卡培他滨、紫杉醇、多西他赛的平均血药浓度分别为704.09、909.40、36.45、150.43 ng/mL，变异系数分别为25.24%、62.65%、122.69%、92.27%。**结论**　所建LC-MS/MS法操作简单、分析时间短，可用于恶性肿瘤患者体内7种常用抗肿瘤药物血药浓度的测定。

关键词　抗肿瘤药物；治疗药物监测；血药浓度；液相色谱-串联质谱技术

Determination method of plasma concentrations of 7 anti-tumor drugs and its application

LYU Jinxiu, YAN Nan, XU Wenjun, ZHAO Jing, ZHU Hua, HANG Pengzhou (Dept. of Pharmacy, Northern Jiangsu People's Hospital, Jiangsu Yangzhou 225001, China)

ABSTRACT　OBJECTIVE To establish a method for simultaneous determination of 7 anti-tumor drugs (irinotecan, capecitabine, paclitaxel, docetaxel, tamoxifen, letrozole and methotrexate) in human plasma and apply it to the clinic. **METHODS** After precipitating with a methanol-acetonitrile mixture (1∶1, *V/V*) containing 0.1% formic acid, liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) was used to determine the plasma concentration, using deuterium isotopes of each analyte as internal standards. The chromatography was performed on the Agilent Eclipse Plus C_{18} column with a gradient elution of water (containing 0.1% formic acid+0.04% 5 mmol/L ammonium formate) as mobile phase A and acetonitrile (containing 0.1% formic acid) as mobile phase B. The flow rate was 0.6 mL/min, and the column temperature was set at 40 ℃. The sample size was 10 μL, and the analysis lasted for 5.5 min. Electrospray ionization was used in positive and negative ion mode, and multiple reaction monitoring mode was used. The ion pairs used for quantitative analysis were *m/z* 587.1→167.1 (irinotecan), *m/z* 360.1→244.1 (capecitabine), *m/z* 876.4→308.0 (paclitaxel), *m/z* 830.3→304.2 (docetaxel), *m/z* 372.1→129.1 (tamoxifen), *m/z* 284.1→242.1 (letrozole), and *m/z* 455.0→ 308.0 (methotrexate). A total of 97 patients with malignant tumors in our hospital were selected to measure the plasma concentrations of 7 anti-tumor drugs using the above method. **RESULTS** The linear ranges of irinotecan, capecitabine, paclitaxel, docetaxel, tamoxifen, letrozole and methotrexate were 2-1 000 ng/mL (r=0.994 3), 20-10 000 ng/mL (r=0.997 5), 2-1 000 ng/mL (r=0.997 9), 1-500 ng/mL (r=0.995 8), 1-500 ng/mL (r=0.995 2), 1-500 ng/mL (r=0.996 4), 10-5 000 (r=0.997 7), respectively. The quantitative lower limits were 2, 20, 2, 1, 1, 1 and 10 ng/mL; RSDs of intra-assay precision were 0.08%-14.86% (n=6). RSDs of inter-batch precision were 1.51%-11.55% (n=3), and the accuracies were 89.17%-114.93% (n=6). The matrix effects ranged from 89.89%-119.74% (n=6). RSDs of the stability tests were 1.98%-14.88% (n=6). The results of clinical application showed, the average plasma concentrations of

Δ **基金项目**　苏北人民医院青年托举专项青年基金（No. SBQN22012）；苏北人民医院院级扶持技术项目（No.FCJS202313）

＊**第一作者**　药师，硕士。研究方向：治疗药物监测。E-mail：jinxiulv2022@163.com

＃**通信作者**　研究员，博士。研究方向：心血管药理学与临床药学。E-mail：hangpengzhou@163.com

irinotecan, capecitabine, paclitaxel and docetaxel were 704.09, 909.40, 36.45, 150.43 ng/mL, respectively. The values of the coefficient of variation were 25.24%, 62.65%, 122.69%, and 92.27%. **CONCLUSIONS** The established LC-MS/MS method is simple and rapid, and can be used for the simultaneous determination of 7 commonly used anti-tumor drugs in the plasma of patients with malignancy.

KEYWORDS anti-tumor drugs; therapeutic drug monitoring; plasma concentration; liquid chromatography-tandem mass spectrometry

尽管恶性肿瘤综合治疗新策略不断涌现，但抗肿瘤药物仍然是临床常用的手段之一[1]。抗肿瘤药物具有抑制肿瘤细胞增殖、诱导肿瘤细胞死亡的作用，存在治疗指数低，安全范围窄，血药浓度与药效、毒性相关性强等特点[2]；同时，恶性肿瘤患者的生理病理状态（如肥胖、肝肾疾病、心力衰竭、低蛋白血症等）会影响抗肿瘤药物的药代动力学过程，从而影响其生物利用度，降低治疗效果或增加中毒风险[3]。研究指出，约4%恶性肿瘤患者的死亡与药物相互作用所致不良反应相关[4]。可见，临床在为恶性肿瘤患者制订给药方案时，应充分考虑患者个体和药物因素，以提高药物的疗效、减少毒副作用。

治疗药物监测（therapeutic drug monitoring，TDM）是一种用于患者个体化药物治疗的临床方法，可通过定量分析生物样品中药物及其代谢产物的浓度，借助药代动力学手段，设计科学、合理的给药方案[5]。TDM的常用检测方法主要包括免疫分析法和色谱法，其中液相色谱-串联质谱（liquid chromatography-tandem mass spectrometry，LC-MS/MS）技术因具有灵敏度高、特异性强、可同时检测多种化合物、节省人力和物力成本等特点，而被广泛应用于TDM、生物标记物检测、食品安全管理、环境监测等领域[6]。

由于处于不同周期时相的肿瘤细胞对药物的敏感性各有不同，单一药物难以完全抑制肿瘤细胞的增殖，因此抗肿瘤药物联用方案得以在临床广泛应用。临床实践显示，西妥昔单抗联合伊立替康和卡培他滨治疗转移性结直肠癌的疗效较好[7]；多西他赛联合卡培他滨治疗晚期乳腺癌更为经济、有效[8]；长春瑞滨与其他化疗药物（如铂类、蒽环类药物）联合使用，可在提高抗肿瘤疗效的同时降低不良反应的发生率[9]。但联用方案药物的暴露量与个体因素（如基因型、疾病状态及耐药水平）息息相关，以TDM为依据制订个体化化疗剂量，有助于改善恶性肿瘤患者的预后和生存期[10－11]。因此，本课题组结合我院临床可能联用的7种一线抗肿瘤药物（伊立替康、卡培他滨、紫杉醇、多西他赛、他莫昔芬、来曲唑和甲氨蝶呤），采用LC-MS/MS技术建立同时测定血浆中这7种抗肿瘤药物浓度的方法，并将其应用于临床，旨在为抗肿瘤药物的合理使用提供依据。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用仪器主要包括AB SCIEX Triple Quad™ 4500型LC-MS/MS仪（美国SCIEX公司）、Milli-Q IQ型7000纯水机（德国Merck公司）、KQ 3200V型超声波清洗器（昆山市超声仪器有限公司）、SQP型十万分之一天平[赛多利斯科学仪器（北京）有限公司]等。

1.2 药品与试剂

伊立替康对照品（批号FEW600，纯度98%）、卡培他滨对照品（批号SSE100，纯度99.73%）、紫杉醇对照品（批号SSE200，纯度99.96%）、多西他赛对照品（批号SST500，纯度99.96%）、他莫昔芬对照品（批号FEW900，纯度99.92%）、甲氨蝶呤对照品（批号TGH500，纯度99.5%）均购自上海普飞生物技术有限公司；来曲唑对照品（批号101045-201902，纯度99.9%）购自中国食品药品检定研究院；多西他赛-*d*9对照品（内标，批号F0033500，纯度95.3%）、卡培他滨-*d*11对照品（内标，批号4-GHZ-132-1，纯度98.7%）、伊立替康-*d*10对照品（内标，批号F0034468，纯度98.0%）、紫杉醇-*d*5对照品（内标，批号E0028186，纯度96.5%）、来曲唑-*d*4对照品（内标，批号F0034393，纯度99.8%）、甲氨蝶呤-*d*3对照品（内标，批号F0033926，纯度99.9%）、他莫昔芬-*d*5对照品（内标，批号F0034394，纯度99.6%）均购自北京曼哈格生物科技有限公司；甲醇、乙腈、甲酸均为色谱纯，其余试剂均为分析纯或实验室常用规格，水为超纯水。

1.3 空白血浆

空白血浆由健康者提供。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

2.1.1 对照品储备液

精密称取伊立替康、卡培他滨、紫杉醇、多西他赛、他莫昔芬、来曲唑和甲氨蝶呤对照品，用二甲基亚砜（DMSO）溶解，制成上述各成分质量浓度分别为7.19、14.29、3.58、5.63、8.24、10.00、8.18 mg/mL的单一对照品储备液，于－80 ℃冷藏，备用。

2.1.2 标准曲线工作溶液及质控工作溶液

精密量取上述各单一对照品储备液，用甲醇稀释，制成系列浓度的标准曲线工作溶液（伊立替康质量浓度分别为100、250、500、1 000、5 000、20 000、50 000 ng/mL，

卡培他滨分别为1 000、2 500、5 000、10 000、50 000、200 000、500 000 ng/mL，紫杉醇分别为100、250、500、1 000、5 000、20 000、50 000 ng/mL，多西他赛分别为50、125、250、500、2 500、10 000、25 000 ng/mL，他莫昔芬分别为50、125、250、500、2 500、10 000、25 000 ng/mL，来曲唑分别为50、125、250、500、2 500、10 000、25 000 ng/mL，甲氨蝶呤分别为500、1 250、2 500、5 000、25 000、100 000、250 000 ng/mL）和质控工作溶液（伊立替康质量浓度分别为300、3 000、40 000 ng/mL，卡培他滨分别为3 000、30 000、400 000 ng/mL，紫杉醇分别为300、3 000、40 000 ng/mL，多西他赛分别为150、1 500、20 000 ng/mL，他莫昔芬分别为150、1 500、20 000 ng/mL，来曲唑分别为150、1 500、20 000 ng/mL，甲氨蝶呤分别为1 500、150 000、200 000 ng/mL）。

2.1.3　标准血浆样品溶液和质控血浆样品溶液

精密量取“2.1.2”项下标准曲线工作溶液10 μL，加入空白血浆490 μL，制成伊立替康质量浓度分别为2、5、10、20、100、400、1 000 ng/mL，卡培他滨分别为20、50、100、200、1 000、4 000、10 000 ng/mL，紫杉醇分别为2、5、10、20、100、400、1 000 ng/mL，多西他赛分别为1、2.5、5、10、50、200、500 ng/mL，他莫昔芬分别为1、2.5、5、10、50、200、500 ng/mL，来曲唑分别为1、2.5、5、10、50、200、500 ng/mL，甲氨蝶呤分别为10、25、50、100、500、2 000、5 000 ng/mL的标准血浆样品溶液。精密量取“2.1.2”项下质控工作溶液，同法制成伊立替康质量浓度分别为6、60、800 ng/mL，卡培他滨分别为60、600、8 000 ng/mL，紫杉醇分别为6、60、800 ng/mL，多西他赛分别为3、30、400 ng/mL，他莫昔芬分别为3、30、400 ng/mL，来曲唑分别为3、30、400 ng/mL，甲氨蝶呤分别为30、300、4 000 ng/mL的质控血浆样品溶液。以上血浆样本溶液均于−80 ℃冷藏，备用。

2.1.4　混合内标溶液

分别取伊立替康-*d*10、卡培他滨-*d*11、紫杉醇-*d*5、多西他赛-*d*9、他莫昔芬-*d*5、来曲唑-*d*4、甲氨蝶呤-*d*3对照品，用DMSO溶解，制成上述各成分质量浓度均为1 mg/mL的内标储备液。取上述各内标储备液，用萃取剂[含0.1%甲酸的甲醇-乙腈混合液（1∶1，*V*/*V*）]稀释，制成各成分质量浓度均为10 ng/mL的混合内标溶液，于−20 ℃冷藏，备用。

2.2　血浆样本的前处理

取患者血样，置于乙二胺四乙酸二钾抗凝管中，以4 000 r/min离心5 min，取血浆，备用。精密量取血浆样本100 μL，置于1.5 mL离心管中，加入“2.1.4”项下混合内标溶液300 μL，混合，以2 500 r/min振荡混匀5 min后，于4 ℃下以14 000 r/min离心5 min；取上清液100 μL，加水100 μL稀释，于15 ℃下混匀10 min，再以4 000 r/min离心5 min，取上清液，进样测定。

2.3　色谱与质谱条件

2.3.1　色谱条件

以Agilent Eclipse Plus C_{18}（100 mm×3.0 mm，3.5 μm）为色谱柱，以水（含0.1%甲酸和0.04% 5 mmol/L甲酸铵）为流动相A相、乙腈（含0.1%甲酸）为流动相B相，进行洗脱梯度（0～0.1 min，20%B；0.1～1.5 min，20%B→40%B；1.5～2.8 min，40%B→98%B；2.8～3.8 min，98%B；3.8～3.81 min，98%B→20%B；3.81～5.5 min，20%B）；流速为0.6 mL/min；柱温为40 ℃；进样量为10 μL；分析时间为5.5 min。

2.3.2　质谱条件

采用电喷雾离子源（electrospray ionization，ESI）在正、负离子模式下以多反应监测模式（multiple reaction monitoring，MRM）进行扫描；毛细管电压为4 500～5 500 V；离子源温度为550 ℃；雾化气压力为70 psi；辅助气压力为70 psi；气帘气压力为20 psi；碰撞气压力为6 psi。7种抗肿瘤药物的质谱参数见表1（内标略）。

表1　7种抗肿瘤药物的质谱参数

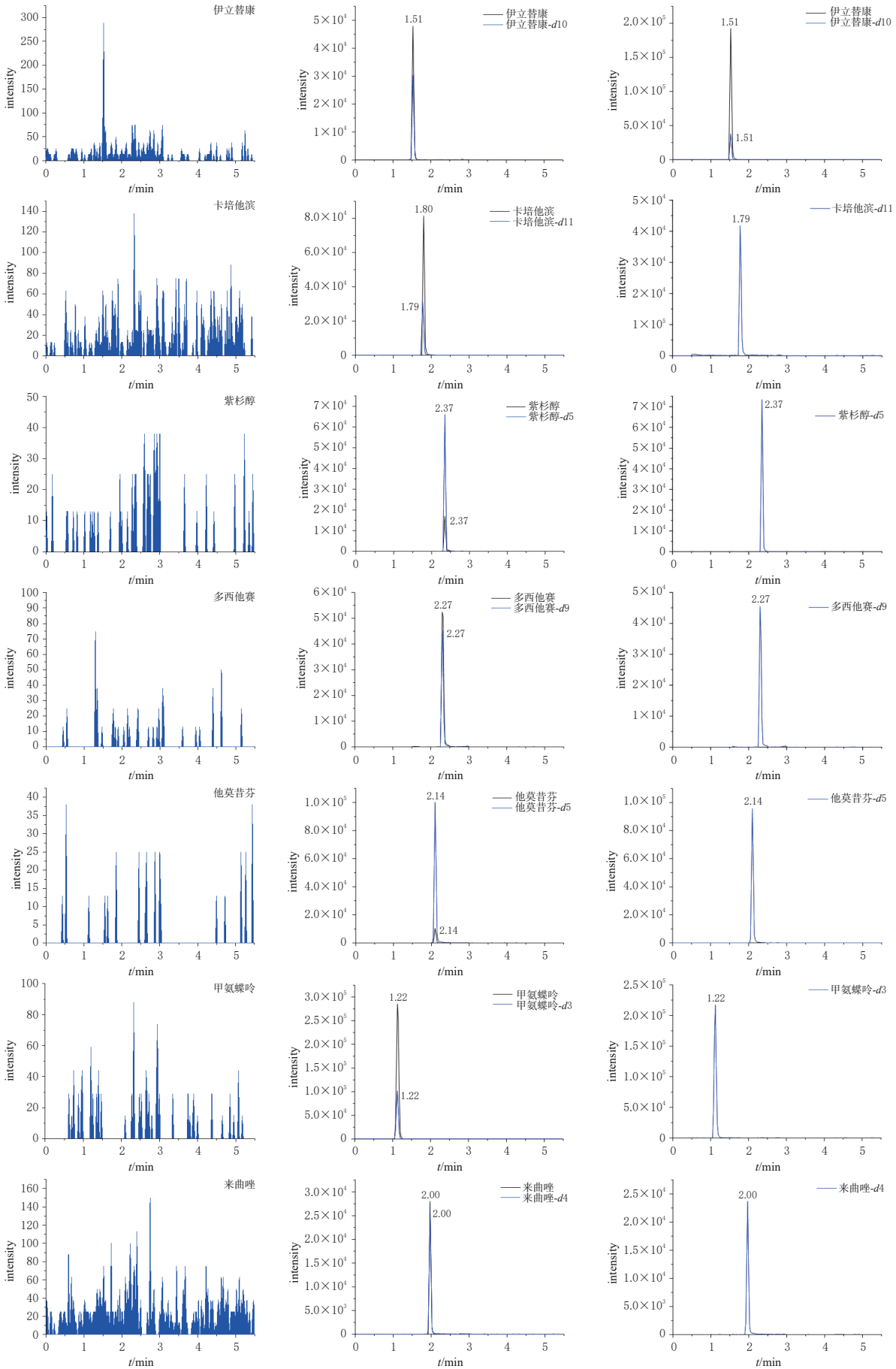
药物名称	入口电压/V	碰撞能/V	去簇电压/V	出口电压/V	母离子*m/z*	子离子*m/z*	驻留时间/ms
伊立替康	8	38	44	13	587.1	167.1	25
卡培他滨	11	38	43	12	360.1	244.1	20
紫杉醇	8	40	88	16	876.4	308.0	25
多西他赛	11	30	80	14	830.3	304.2	25
他莫昔芬	10	34	80	10	372.1	129.1	20
来曲唑	−10	−25	−70	−8	284.1	242.1	20
甲氨蝶呤	10	10	80	12	455.0	308.0	20

2.4　方法学考察

根据2020年版《中国药典》（四部）“9012生物样品定量分析方法验证指导原则”进行方法学考察。

2.4.1　专属性

分别取6个不同来源的空白血浆，混匀后，取100 μL，除不加内标外，其余按“2.2”项下方法处理，再按“2.3”项下条件进样测定，记录色谱图（图1A）。取“2.1.2”项下标准曲线工作溶液（伊立替康、卡培他滨、紫杉醇、多西他赛、他莫昔芬、来曲唑、甲氨蝶呤的质量浓度分别为500、5 000、500、250、250、250、2 500 ng/mL）10 μL，加入上述混匀空白血浆90 μL，按“2.2”项下方法处理后，再按“2.3”项下条件进样测定，记录色谱图（图1B）。取某患者服用伊立替康后的血样，按“2.2”项下方法处理后，再按“2.3”项下条件进样测定，记录色谱图（图1C）。结果显示，在正离子模式下，伊立替康、卡培他滨、紫杉醇、多西他赛、他莫昔芬和甲氨蝶呤的保留时间分别约为1.5、1.8、2.4、2.3、2.1、1.2 min，负离子模式下来曲唑的保留时间约为2 min；血浆内源性物质对各药物的测定不产生干扰，专属性良好。



A. 空白血浆　　B. 标准血浆样品　　C. 患者血浆样品

图1　7种抗肿瘤药物及其内标的MRM色谱图

2.4.2　线性关系及定量下限考察

精密量取“2.1.3”项下标准血浆样品溶液100 μL，按“2.2”项下方法处理后，再按“2.3”项下条件进样测定，记录峰面积。以待测物的质量浓度为横坐标（x）、待测物与内标的峰面积比值（y）为纵坐标，采用加权最小二乘法（权重为$1/x^2$）进行回归分析，结果见表2。以线性范围的最低点为定量下限，该质量浓度下，伊立替康、卡培他滨、紫杉醇、多西他赛、他莫昔芬、来曲唑和甲氨蝶呤精密度试验的RSD均小于10%，准确度分别为98.5%、105.00%、100.95%、98.35%、103.56%、101.39%、96.84%（n=6），符合2020年版《中国药典》（四部）的相关要求。

表2　7种抗肿瘤药物的线性范围及定量下限结果

药物名称	回归方程	r	线性范围/(ng/mL)	定量下限/(ng/mL)
伊立替康	y=0.050 18x+0.035 21	0.994 3	2～1 000	2
卡培他滨	y=0.005 58x+0.018 02	0.997 5	20～10 000	20
紫杉醇	y=0.008 61x+0.011 93	0.997 9	2～1 000	2
多西他赛	y=0.003 53x+0.000 21	0.995 8	1～500	1
他莫昔芬	y=0.005 91x+0.000 57	0.995 2	1～500	1
来曲唑	y=0.062 78x+0.009 43	0.996 4	1～500	1
甲氨蝶呤	y=0.008 83x+0.020 57	0.997 7	10～5 000	10

2.4.3　准确度和精密度试验

精密量取“2.1.3”项下低、中、高质量浓度的质控血浆样品溶液100 μL，每个质量浓度平行6份，按“2.2”项下方法处理后，再按“2.3”项下条件进样测定，考察批内精密度；连续测定3 d，考察批间精密度。准确度以回收率（测得值/真实值×100%）表示。结果显示，批内精密度的RSD为0.08%～14.86%（n=6）；批间精密度的RSD为1.51%～11.55%（n=3），准确度为89.17%～114.93%（n=6）。结果见表3。

表3　7种抗肿瘤药物的准确度和精密度试验结果

待测成分	理论质量浓度/(ng/mL)	精密度RSD/%		准确度(n=6)/%
		批内(n=6)	批间(n=3)	
伊立替康	6	14.86	11.55	89.17
	60	8.24	9.05	96.01
	800	5.88	4.19	109.27
卡培他滨	60	1.79	4.68	104.38
	600	5.08	4.39	101.62
	8 000	5.86	4.32	112.36
紫杉醇	6	7.33	11.02	97.78
	60	6.35	6.20	104.22
	800	3.03	3.49	111.44
他莫昔芬	3	7.32	7.72	104.84
	30	4.18	3.93	104.29
	400	2.18	3.98	114.05
多西他赛	3	8.18	10.55	110.02
	30	4.47	5.25	109.28
	400	2.95	4.55	112.70
来曲唑	3	4.39	3.43	101.92
	30	2.41	2.26	104.69
	400	1.53	1.51	114.93
甲氨蝶呤	30	5.50	8.72	91.79
	300	4.69	5.13	98.45
	4 000	0.08	4.23	114.40

2.4.4　基质效应

取6份不同来源的空白血浆，按“2.2”项下方法处理后，分别加入“2.1.2”项下低、高质量浓度的质控工作溶液和“2.1.4”项下混合内标溶液，每个质量浓度平行6份，按“2.3”项下条件进样测定，记录待测物与内标的峰面积比值（A）。以甲醇-乙腈混合液（1∶1，V/V）为溶剂，分别加入“2.1.2”项下低、高质量浓度的质控工作溶液和“2.1.4”项下混合内标溶液，每个质量浓度平行6份，用水稀释使终质量浓度与前者对应，按“2.2”项下方法处理后，再按“2.3”项下条件进样测定，记录待测物与内标的峰面积比值（B）。按下式计算基质效应：基质效应（%）=A/B×100%。结果显示，低、高质量浓度质控样品的基质效应为89.89%～119.74%（RSD≤14.89%，n=6）。

2.4.5　稳定性试验

精密量取“2.1.3”项下低、高质量浓度的质控血浆样品溶液100 μL，每个质量浓度平行6份，分别于25 ℃放置4 h、反复冻融（－20 ℃～室温）3次、4 ℃下放置24 h以及自动进样器内15 ℃下放置24 h，按“2.2”项下方法处理后，再按“2.3”项下条件进样测定，考察样品在上述条件下的稳定性。结果显示，在上述条件下，7种药物稳定性试验的RSD为1.98%～14.88%（n=6）。

2.5　临床应用

2.5.1　纳入与排除标准

患者的纳入标准为：（1）年龄＞18岁；（2）诊断为恶性肿瘤；（3）自愿进行伊立替康、卡培他滨、紫杉醇、多西他赛、他莫昔芬、来曲唑和甲氨蝶呤血药浓度监测者。

患者的排除标准为：（1）入院时间＜3 d者；（2）对伊立替康、卡培他滨、紫杉醇、多西他赛、他莫昔芬、来曲唑和甲氨蝶呤过敏者；（3）妊娠期或哺乳期妇女。

2.5.2　研究对象

选择我院2023年12月－2024年4月使用7种一线抗肿瘤药物的恶性肿瘤患者97例（因使用他莫昔芬、来曲唑和甲氨蝶呤的患者中无患者自愿检测血药浓度，故未纳入）。其中，男性62例，女性35例；使用伊立替康17例，卡培他滨13例，紫杉醇64例，多西他赛3例；年龄为47～82岁；22例患者的年龄＜60岁，35例患者的年龄60～70岁，40例患者的年龄＞70岁。本研究方案经医院伦理委员会批准，受理号为2023js012、2024ky052。所有患者均签署了知情同意书。

2.5.3　用药方法

盐酸伊立替康注射液[国药准字HJ20160578，规格为15 mL∶0.3 g（按$C_{33}H_{38}N_4O_6$·HCl·3H_2O计），印度Pfizer Australia Pty Ltd]0.3 g，静脉滴注30～90 min，每2周重复1次；卡培他滨片（国药准字H20133361，规格为0.5 g，齐鲁制药有限公司）0.5 g，每天2次，口服，连用2周后停药1周；注射用紫杉醇（白蛋白结合型）（国药准字H20183378，规格100 mg，江苏恒瑞医药股份有限公司）

0.3 g，静脉滴注30 min，每3周1次；多西他赛注射液（国药准字H20020543，规格为0.5 mL∶20 mg，江苏恒瑞医药股份有限公司）60 mg，静脉滴注，每3周1次。

2.5.4　采样及血药浓度检测结果

服用伊立替康的患者于静脉滴注后1.5 h采集外周静脉血，服用卡培他滨的患者于给药后2 h采集外周静脉血，服用紫杉醇的患者于静脉滴注后18～30 h内任一时间点采集外周静脉血，服用多西他赛的患者于静脉滴注结束后30～60 min内采集外周静脉血。取上述血样，按“2.2”项下方法处理后，再按“2.3”项下条件进样测定，记录峰面积，按内标法计算血药浓度。结果显示，伊立替康的平均血药浓度为704.09 ng/mL，卡培他滨为909.40 ng/mL，紫杉醇为36.45 ng/mL，多西他赛为150.43 ng/mL，且患者个体间差异较大，变异系数（coefficient of variation，CV）分别为25.24%、62.65%、122.69%、92.27%。结果见图2。

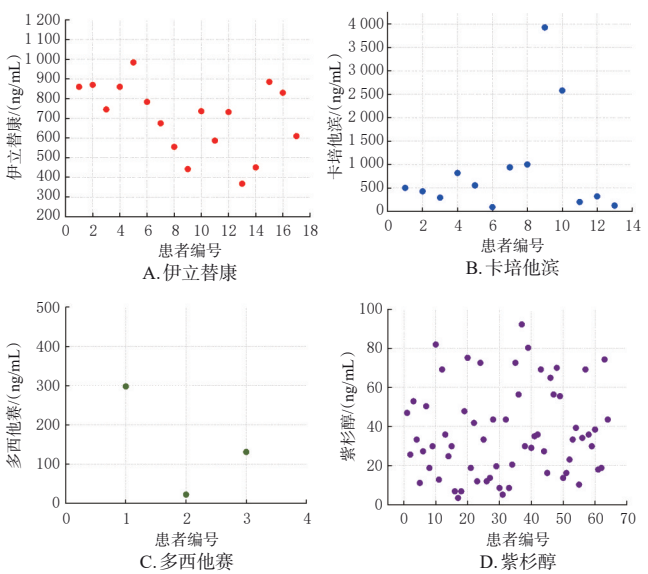


图2　4种抗肿瘤药物的血药浓度检测结果

3　讨论

3.1　检测方法的选择

本研究建立了同时测定伊立替康、卡培他滨、紫杉醇、多西他赛、他莫昔芬、甲氨蝶呤和来曲唑7种抗肿瘤药物血药浓度的LC-MS/MS检测方法。尽管目前酶联免疫法在TDM中的应用更为广泛，但受试剂盒品种和检测成本的限制，无法实现上述7种药物血药浓度的同时检测。而LC-MS/MS可同时检测多种药物浓度，具有高灵敏度、高选择性、高通量等优势[12-14]。本研究所建方法操作简单，能在5.5 min内完成对7种药物的同时定量，极大地提高了检测效率，降低了检测成本，且方法学考察结果显示，该法线性、准确度、精密度、稳定性等均能满足2020年版《中国药典》（四部）的相关要求。

3.2　方法学优化

本研究选择了7种抗肿瘤药物对应的氘代同位素作为内标，7种待测物与内标的理化性质相似，一方面可消除仪器检测的误差，另一方面可最大程度地消除基质效应[15]。常用的生物样本前处理方法包括固相萃取法、液液萃取法和直接蛋白沉淀法，本研究采用了有机溶剂直接沉淀蛋白的方式，通过预试验发现，以含0.1%甲酸的甲醇-乙腈混合液（1∶1，*V*/*V*）为沉淀剂，不仅可以有效沉淀蛋白，而且能保证色谱峰分离度良好，从而有助于提高检测灵敏度。此外，通过在流动相中添加甲酸铵和甲酸，可增强待测物的离子化效率；采用梯度洗脱程序可提高待测物的分离度，改善色谱峰峰形，缩短分析时间。

3.3　临床样本分析

本研究结果显示，使用伊立替康、紫杉醇、卡培他滨、多西他赛患者的血药浓度个体间差异较大。临床药师可结合患者的用药情况，对患者进行药物相互作用分析，个体化调整患者用药方案，保障临床合理用药。

综上所述，本研究所建LC-MS/MS法操作简单、分析时间短，可用于恶性肿瘤患者体内多种抗肿瘤药物血药浓度的测定。本研究的局限性包括：（1）样本量较小；（2）使用他莫昔芬、来曲唑和甲氨蝶呤的患者未自愿检测血药浓度。后续本研究将通过多中心合作扩大样本量，强化患者随访，实现患者用药方案的动态监测；同时构建药物浓度与疗效、毒性之间的药代动力学及药效学模型，预测最佳治疗剂量，实现个体化药物剂量调整。

参考文献

[1] LI G F, ZHAO M M, ZHAO L M. Ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry for simultaneous determination of 12 anti-tumor drugs in human plasma and its application in therapeutic drug monitoring[J]. J Pharm Biomed Anal, 2021, 206: 114380.

[2] 王春晖，吴薇，李晓宇，等. 肿瘤药学门诊及抗肿瘤治疗药物监测的进展[J]. 上海医药，2022，43（Suppl. 2）：136-139.
WANG C H, WU W, LI X Y, et al. Advances in oncology pharmacy outpatient service and therapeutic drug monitoring of anti-tumor drugs[J]. Shanghai Med Pharm J, 2022, 43(Suppl. 2): 136-139.

[3] 刘晓璐，陆军，李雪娇，等. 肥胖患者体内药代动力学变化及给药方案制定[J]. 实用药物与临床，2015，18（12）：1508-1512.
LIU X L, LU J, LI X J, et al. Formulation of dosage regimen based on pharmacokinetics in obese patients[J]. Pract Pharm Clin Remedies, 2015, 18(12): 1508-1512.

[4] SONG Y K, OH J M. Nationwide prevalence of potential drug-drug interactions associated with non-anticancer agents in patients on oral anticancer agents in South Korea [J]. Support Care Cancer, 2020, 28(8): 3711-3720.

[5] 中国药理学会治疗药物监测研究专业委员会. 治疗药物监测工作规范专家共识：2019版[J]. 中国医院用药评价与分析, 2019, 19(8): 897-898, 902.
Division of Therapeutic Drug Monitoring, Chinese Pharmacological Society. The expert consensus on the standards of therapeutic drug monitoring: 2019 edition[J]. Eval Anal Drug Use Hosp China, 2019, 19(8): 897-898, 902.

[6] 中国药理学会治疗药物监测研究专业委员会, 中国药学会医药生物分析专业委员会, 中国科学院大连化学物理研究所. 色谱技术用于治疗药物监测质量保证的专家共识：2021版[J]. 中国药学杂志, 2021, 56(17): 1443-1448.
Division of Therapeutic Drug Monitoring, Chinese Pharmacological Society, Committee of Pharmaceutical Bioanalysis, Chinese Pharmaceutical Association, Dalian Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences. Expert consensus on quality assurance of chromatographic technology for therapeutic drug monitoring: 2021 edition [J]. Chin Pharm J, 2021, 56(17): 1443-1448.

[7] 朱智云, 孙海峰, 杨榕. 西妥昔单抗联合化疗药物治疗结直肠癌的疗效及安全性[J]. 临床合理用药, 2024, 17(3): 89-92.
ZHU Z Y, SUN H F, YANG R. Efficacy and safety of cetuximab combined with chemotherapy in the treatment of colorectal cancer[J]. Chin J Clin Ration Drug Use, 2024, 17(3): 89-92.

[8] 曲玉莉. 多西他赛联合卡培他滨治疗晚期乳腺癌疗效观察[J]. 中国实用医药, 2018, 13(9): 110-112.
QU Y L. Clinical observation of docetaxel combined with capecitabine in the treatment of advanced breast cancer[J]. China Pract Med, 2018, 13(9): 110-112.

[9] 刘花, 陈延绅, 尤慧柠, 等. 长春瑞滨药动学及毒副作用研究进展[J]. 中国药房, 2022, 33(11): 1403-1408.
LIU H, CHEN Y S, YOU H N, et al. Research progress on pharmacokinetics and toxicity of vinorelbine[J]. China Pharm, 2022, 33(11): 1403-1408.

[10] 中国药理学会, 中日友好医院.《抗肿瘤生物类似药治疗药物监测药学专家共识(2020版)》解读[J]. 中国医院用药评价与分析, 2020, 20(5): 513-517, 520.
Chinese Pharmacological Society, China-Japan Friendship Hospital. Interpretation of "*Pharmacy Expert Consensus on the Therapeutic Drug Monitoring of Antitumor Biosimilars* (2020 edition)" [J]. Eval Anal Drug Use Hosp China, 2020, 20(5): 513-517, 520.

[11] DE JONGE M E, HUITEMA A D, SCHELLENS J H, et al. Individualised cancer chemotherapy: strategies and performance of prospective studies on therapeutic drug monitoring with dose adaptation: a review[J]. Clin Pharmacokinet, 2005, 44(2): 147-173.

[12] WANG X Y, BAO H Y, BAU T. Investigation of the possible mechanism of polysaccharides extracted from *Leucocalocybe mongolica* in exerting antitumor effects in H22 tumor-bearing mice[J]. J Food Biochem, 2021, 45(4): e13514.

[13] HEFNAWY M M, ALANAZI M M, AL-HOSSAINI A M, et al. A rapid and sensitive liquid chromatography-tandem mass spectrometry bioanalytical method for the quantification of encorafenib and binimetinib as a first-line treatment for advanced (unresectable or metastatic) melanoma-application to a pharmacokinetic study[J]. Molecules, 2022, 28(1): 79.

[14] 李正富, 秦霞. 临床常用药物的治疗药物监测研究进展[J]. 中国合理用药探索, 2018, 15(10): 73-76.
LI Z F, QIN X. Advances in researches on therapeutic drug monitoring of clinically commonly used drugs[J]. Chin J Ration Drug Use, 2018, 15(10): 73-76.

[15] 秦怡, 张瑞霞, 吕雅瑶, 等. 3种常用碳青霉烯类抗生素血药浓度UPLC-MS/MS检测方法的建立[J]. 中国药房, 2024, 35(3): 343-347.
QIN Y, ZHANG R X, LYU Y Y, et al. Establishment of UPLC-MS/MS method for the determination of plasma concentration of three common carbapenem antibiotics[J]. China Pharm, 2024, 35(3): 343-347.

（收稿日期：2024-07-31　修回日期：2024-12-25）
（编辑：李　劲）