

新型靶向抗肿瘤药物呋喹替尼的治疗药物监测方法构建及其临床应用

陈明, 王晨佳, 唐原君, 汪硕闻, 范国荣

Therapeutic drug monitoring and clinical application of novel targeted antitumor drug fruquintinib

CHEN Ming, WANG Chenjia, TANG Yuanjun, WANG Shuowen, FAN Guorong

在线阅读 View online: <http://yxsj.smmu.edu.cn/cn/article/doi/10.12206/j.issn.2097-2024.202412043>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

机器学习在肾病综合征患者他克莫司个体化用药中的应用

Application of machine learning in individualized medication of tacrolimus in patients with nephrotic syndrome

药学实践与服务. 2024, 42(6): 227-230, 243 DOI: [10.12206/j.issn.2097-2024.202310007](https://doi.org/10.12206/j.issn.2097-2024.202310007)

二氢吡啶类钙离子拮抗药物手性分析及其立体选择性药动力学研究进展

Advances in chiral analysis and stereoselective pharmacokinetics of dihydropyridine calcium antagonists

药学实践与服务. 2024, 42(8): 319-324 DOI: [10.12206/j.issn.2097-2024.202308062](https://doi.org/10.12206/j.issn.2097-2024.202308062)

临床药师参与吉瑞替尼致QTc间期延长的病例分析

Participation of clinical pharmacists in QTc interval prolongation induced by gilteritinib

药学实践与服务. 2024, 42(6): 263-266 DOI: [10.12206/j.issn.2097-2024.202309050](https://doi.org/10.12206/j.issn.2097-2024.202309050)

应用HPLC指纹图谱结合化学计量学对姜桂颗粒质量的评价研究

Quality evaluation of Jianggui granules by HPLC fingerprint combined with chemometrics

药学实践与服务. 2025, 43(10): 509-513 DOI: [10.12206/j.issn.2097-2024.202312040](https://doi.org/10.12206/j.issn.2097-2024.202312040)

星点设计-效应面法优化仑伐替尼混合胶束的制备工艺

Optimization of the preparation process for lenvatinib mixed micelles by central composite design-response surface methodology

药学实践与服务. 2024, 42(11): 495-502 DOI: [10.12206/j.issn.2097-2024.202403019](https://doi.org/10.12206/j.issn.2097-2024.202403019)

滴眼液中抑菌剂硫柳汞的HPLC含量测定方法研究

Determine antimicrobial preservatives thimerosal in eye drops by HPLC

药学实践与服务. 2025, 43(6): 293-297 DOI: [10.12206/j.issn.2097-2024.202404059](https://doi.org/10.12206/j.issn.2097-2024.202404059)



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

· 药物与临床 ·

新型靶向抗肿瘤药物呋喹替尼的治疗药物监测方法构建及其临床应用

陈 明, 王晨佳, 唐原君, 汪硕闻, 范国荣 (上海交通大学医学院附属第一人民医院临床药学科, 上海 200081)

[摘要] 目的 基于高效液相色谱法(HPLC)建立呋喹替尼治疗药物监测的色谱分析方法。方法 采用 Welch Ultimate XB-C₁₈ (4.6 mm×150 mm, 5 μm)色谱柱, 检测波长 240 nm, 柱温 35℃, 流动相为乙腈: 10 mmol/L 磷酸二氢钾 (pH 3.15)=40 : 60 (V/V), 流速为 1.0 ml/min, 内标为阿帕替尼, 血浆样品经乙酸乙酯液液萃取后进样测定。结果 方法学考察结果显示呋喹替尼在浓度 15.63 ~ 500.00 ng/ml 范围内线性良好($r=0.999\ 9$), 方法的回收率为 95% ~ 110%, RSD 均小于 10%, 方法的提取回收率均高于 97%, 所有稳定性考察均符合要求。结论 本研究所建立的 HPLC 法具有专属性高、检测简便和推广性强等优点, 可广泛用于临床上肿瘤患者的呋喹替尼血药浓度的监测。

[关键词] 呋喹替尼; 治疗药物监测; 高效液相色谱法; 个体化用药

[文章编号] 2097-2024(2025)12-0001-04 **[DOI]** 10.12206/j.issn.2097-2024.202412043

Therapeutic drug monitoring and clinical application of novel targeted antitumor drug fruquintinib

CHEN Ming, WANG Chenjia, TANG Yuanjun, WANG Shuowen, FAN Guorong (Department of Clinical Pharmacy, Shanghai General Hospital, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200081, China)

[Abstract] **Objective** Establishing a chromatographic analysis method for therapeutic drug monitoring of Fruquintinib by high-performance liquid chromatography. **Methods** The analysis was conducted using a Welch Ultimate XB-C₁₈ (4.6 nm×150 mm, 5 μm) column with the column temperature at 35℃. The flow rate was 1.0 ml/min and the detection wavelength was at 240 nm. The mobile phase consisted of acetonitrile and 10 mmol/L potassium dihydrogen phosphate (pH 3.15)=40 : 60 (V : V). The internal standard substance was Apatinib. All plasma samples were extracted with ethyl acetate solution. **Results** The linearity of Fruquintinib in plasma was good within the range of 15.63-500.00 ng/ml ($r=0.999\ 9$). The recoveries of the method were between 95%-110% with the RSD less than 10%. The extraction rates of the method were all higher than 97%. The stability tests met the relative requirements. **Conclusion** A high performance liquid chromatography method for the determination of Fruquintinib in human plasma was established. The method has good specialty, and could be used to detect the blood concentrations of Fruquintinib in clinical practice to improve the individualized medication.

[Key words] fruquintinib; therapeutic drug monitoring; HPLC; individualized medication

结直肠癌(CRC)是全球第三大常见的恶性肿瘤,也是导致死亡最常见恶性肿瘤之一^[1]。酪氨酸激酶抑制剂(TKI)的临床应用,有效地改善了结直肠癌患者的预后^[2]。呋喹替尼是我国自主研发的一种高选择性肿瘤血管生成抑制剂。已有研究证实^[3-5],其在 mCRC 三线及后线治疗中有总生存期获益。但由于个体对药物敏感性的差异,以及对相同药物的整体吸收、代谢、排泄反应速率的不同,导致相

同的给药方案对不同人群产生的治疗效果不同^[6]。此外,在进行联合用药时,也可能因为药物的相互作用,影响临床治疗效果,并增加发生毒副反应的机会。为保障患者使用呋喹替尼的安全性和有效性,预防和减少不良反应发生率,有必要对呋喹替尼进行血药浓度监测。本文建立了检测呋喹替尼血药浓度的高效液相色谱法,该方法简便、快速、准确、专属性强,与液质联用方法相比,可操作性强、检测成本低,易于推广应用,可用于临床肠癌患者呋喹替尼血药浓度的常规监测,为临床实施个体化给药提供支持。

[基金项目] 国家自然科学基金项目(82003844);上海市“医苑新星”青年医学人才培养资助计划-临床药师项目 [SHWSRS(2020)_087])

[作者简介] 陈 明,主管药师,研究方向:治疗药物监测,Email: 646493108@qq.com

[通信作者] 汪硕闻,副主任药师,研究方向:肿瘤临床药学,Email: wangshuowensy@163.com

1 材料与方法

1.1 仪器、药品与试剂

Agilent1260 高效液相色谱系统;电子分析天

平(型号: CPA2250, 德国赛多利斯科学仪器有限公司); 冷冻离心机(型号: Centrifuge 5804R, 德国艾本德有限公司); 超声仪(型号: SK7200H, 上海科导超声仪器有限公司); 浓缩仪(型号: Auto Vap S60, 美国 ART); Hitech-Kflow 水纯化系统(型号: 18.2M Ω , Hitech-Kflow, 上海和泰仪器有限公司)。

吠喹替尼对照品(批号: 420065-201901, 纯度>99.9%)、阿帕替尼对照品(批号: 101253-201101, 纯度>96.2%)(中国食品药品检定研究院); 色谱纯乙腈(批号: JA110130, 默克股份两合公司); 磷酸二氢钾(批号: 20210309, 分析纯)、磷酸(批号: 20160217, 分析纯)(上海凌峰化学试剂有限公司); 乙酸乙酯(分析纯, 美国天地有限公司)等。

1.2 高效液相色谱条件

色谱柱采用 Welch Ultimate XB-C18(4.6 mm \times 150 mm, 5 μ m), 检测波长为 240 nm, 柱温为 35 $^{\circ}$ C, 流速设定为 1.0 ml/min; 流动相为乙腈: 10 mmol/L 磷酸二氢钾(磷酸调 pH 3.15)=40 : 60(V/V), 进样量为 20 μ l。

1.3 储备液配制

吠喹替尼储备液 1 的配制: 精密称取吠喹替尼对照品 10.00 mg, 置于 10.00 ml 容量瓶中, 用 40% 乙腈溶解定容成浓度为 1.00 mg/ml 的吠喹替尼溶液, 密封保存于-20 $^{\circ}$ C 冰箱备用。

吠喹替尼储备液 2 的配制: 精密称取吠喹替尼对照品 20.00 mg, 置于 10.00 ml 容量瓶中, 用 40% 乙腈溶解定容成浓度为 2.00 mg/ml 的吠喹替尼溶液, 密封保存于-20 $^{\circ}$ C 冰箱, 作为吠喹替尼质控样品备用。

内标阿帕替尼储备液的配制: 精密称取阿帕替尼对照品 10.00 mg, 置于 10.00 ml 容量瓶中, 加入 40% 乙腈溶解并定容, 制成浓度为 1.00 mg/ml 的阿帕替尼溶液, 密封保存于-20 $^{\circ}$ C 冰箱, 使用时用乙腈稀释成浓度为 1 000 ng/ml 的工作溶液。

1.4 血浆样品预处理

精密吸取 200 μ l 血浆生物样品, 加入 1 000 ng/ml 内标阿帕替尼溶液 20 μ l, 涡旋 30 s 使血浆溶液充分混匀。混匀后, 加入乙酸乙酯 1 000 μ l, 涡旋 3 min, 于冷冻离心机内离心 10 min, 转速为: 13 000 r/min; 精密吸取上清液 850 μ l, 氮气吹干后, 加入 200 μ l 流动相使复溶, 涡旋 1 min, 13 000 r/min 离心 5 min 后, 精密吸取上层清液进样 20 μ l。

1.5 工作溶液制备

吠喹替尼标准曲线制备: 将吠喹替尼储备液(1.00 mg/ml)用乙腈逐级稀释后, 加入空白血浆制

成含吠喹替尼 15.63、31.25、62.50、125.00、250.00、500.00 ng/ml 的血浆溶液, 作为标准曲线; 依上述前处理方法处理后, 计算标准曲线。

质控血浆样品的制备: 将吠喹替尼储备液(2.00 mg/ml)用乙腈逐级稀释后, 加入空白血浆制成含吠喹替尼 31.25、125.00、400.00 ng/ml 的质控血浆样品, 并依上述预处理方法进行处理后进样。

2 结果

2.1 专属性实验

按照前述色谱条件及预处理方法, 选取空白血浆、空白血浆+阿帕替尼(内标, 浓度为 1 000 ng/ml)、空白血浆+吠喹替尼(40.00 ng/ml)、空白血浆+吠喹替尼(80.00 ng/ml)及阿帕替尼(内标, 浓度为 1 000 ng/ml)、患者血浆(49.37 ng/ml)加阿帕替尼(内标, 浓度为 1 000 ng/ml)进行专属性的考察, 见图 1。在此实验条件下, 吠喹替尼和内标物阿帕替尼的出峰时间分别为 5.13 和 6.83 min, 受血浆内源性物质及其他杂质的影响较小。

2.2 标准曲线及定量下限

选取新配置的吠喹替尼标准曲线用工作液, 稀释后直接配置含吠喹替尼浓度为 15.63、31.25、62.50、125.00、250.00、500.00 ng/ml 的血浆浓度溶液, 按“1.4 血浆样品预处理”项所述方法进行前处理及测定; 横坐标(X)为吠喹替尼对照品标准浓度(ng/ml)、纵坐标(Y)为本品对照品峰面积与内标物峰面积的比值, 拟合标准曲线方程为 $Y=0.015\ 4X+0.032\ 2(r=0.999\ 9)$ 。结果显示, 吠喹替尼在 15.63 ~ 500.00 ng/ml 的浓度范围内线性变化关系良好, 定量下限为 15.63 ng/ml。

取工作溶液配制成含有 15.63 ng/ml 吠喹替尼对照品的血浆溶液, 平行配制 5 份并分别加入内标阿帕替尼溶液, 按照前述方法进行预处理并测定。计算测定值与理论值的偏差。结果显示吠喹替尼定量下限的 RE 值($n=5$)为 111.1%, RSD 值($n=5$)为 2.63%; 符合定量分析下限的要求。

2.3 日内与日间精密度和准确度

取相应工作液配置成 3 种含有吠喹替尼浓度(31.25、125.00、400.00 ng/ml)的血浆样品, 平行制备低、中、高浓度水平各 5 份, 分别加入内标阿帕替尼溶液, 进行血浆样品前处理及测定, 连续测定 3 d, 考察日间精密度和准确度。结果见表 1。

2.4 提取回收率

配制含有吠喹替尼低、中、高 3 种浓度的质控样品各 5 份, 分别加入内标阿帕替尼溶液, 进行血浆样品前处理并测定。另取吠喹替尼标准工作液,

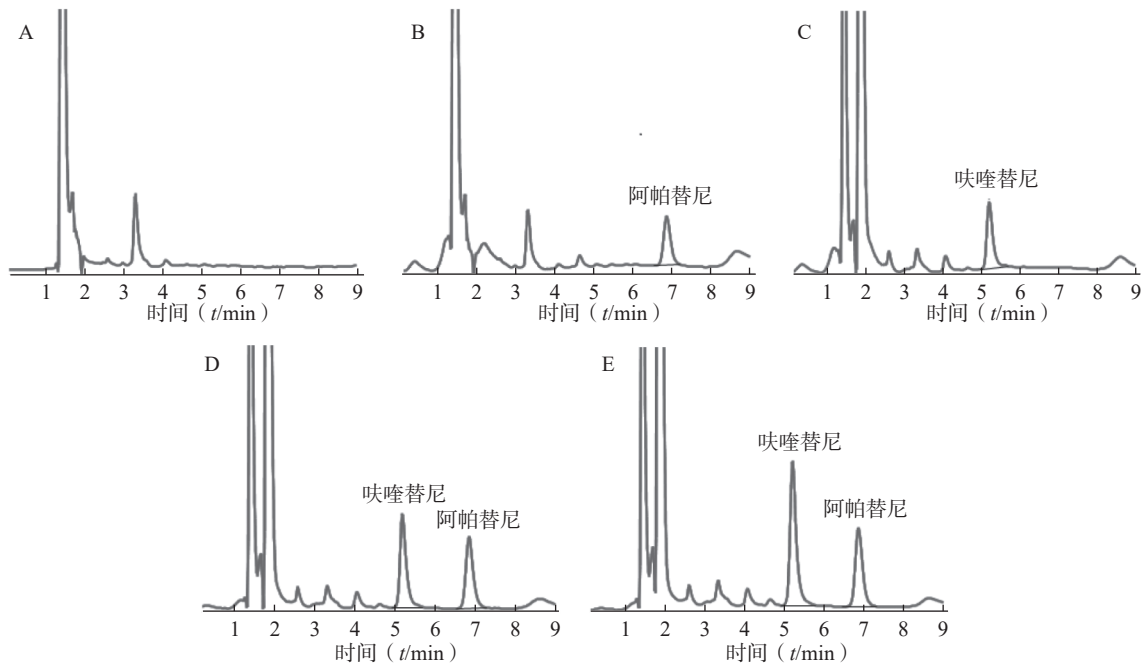


图 1 血浆样品的 HPLC 色谱

A. 空白血浆; B. 空白血浆+阿帕替尼; C. 空白血浆+呋嗪替尼; D. 空白血浆+阿帕替尼+呋嗪替尼; E. 患者血浆+内标

表 1 人血浆中呋嗪替尼的精密度与准确度

浓度 (ng/ml)	日内		日间	
	RSD(%)	回收(%)	RSD(%)	回收率(%)
31.25	1.83	101.20	6.30	105.1
125.00	2.29	96.12	3.48	106.2
400.00	4.79	95.23	4.75	107.9

加入乙腈稀释制成相应的低、中、高 3 个浓度水平的呋嗪替尼溶液, 分别加入内标阿帕替尼溶液后进行测定分析。将上述两种低、中、高 3 种不同浓度溶液所得峰面积进行比较, 计算提取回收率。结果见表 2。

表 2 人血浆中呋嗪替尼提取回收率

浓度(ng/ml)	提取回收率(%)	RSD(%)
31.25	97.29	1.70
125.00	102.10	3.53
400.00	99.95	0.68

2.5 样品稳定性

2.5.1 冻融稳定性

制备低、中、高 3 种不同浓度的呋嗪替尼质控样品各 5 份, 在-40℃ 条件下反复冻融 3 次后, 按“1.4”项下方法处理并测定。用未经冻融处理配制的血浆样品制作标准曲线并计算呋嗪替尼的血药浓度、RE 值及 RSD 值。结果显示呋嗪替尼低浓度、中浓度、高浓度的 RSD 值分别为 7.19%、6.87%、3.06%, 低浓度、中浓度、高浓度的实测值与未经冻融的低浓度、中浓度、高浓度的实测值的偏差分别为 107.4%、106.2%、109.3%。

2.5.2 室温放置稳定性

制备低、中、高 3 种相应浓度的呋嗪替尼质控样品各 5 份, 在室温(25℃)下放置 6 h, 按“1.4”项下方法处理并测定。用新制备的血浆样品配制标曲并计算样品浓度、RE 值和 RSD 值。结果呋嗪替尼低浓度、中浓度、高浓度样品室温放置 6 h 后 RSD 值分别为 1.80%、3.11%、3.37%, 与未经室温放置的低浓度、中浓度、高浓度的实测值的偏差分别为 111.3%、112.1%、111.7%。

2.5.3 进样器放置稳定性

制备低、中、高 3 种相应浓度的呋嗪替尼质控样品各 5 份, 分别加入内标阿帕替尼溶液, 按“1.4”项下方法进行前处理后在进样器中放置 24 h 后进行分析。随后利用新建立的血浆样品制作的质量标准浓度曲线进行计算血浆浓度、RE 值和 RSD 值的计算。结果为呋嗪替尼低浓度、中浓度、高浓度 RSD 值分别为 4.57%、6.33%、3.14%, 低浓度、中浓度、高浓度的测定值与未经进样器放置前的低浓度、中浓度、高浓度的实测值的偏差分别为 97.88%、95.73% 和 99.40%。

2.6 治疗药物监测的临床应用

在临床中收集使用呋嗪替尼进行药物治疗的患者病例及血样。患者按每天一次, 每次 4 mg 剂量, 服用 3 周, 停药 1 周的用药方案。服药一段时间后, 采集患者用药前 0.5 h 血样(血样采集使用 EDTA 抗凝管)。采血后管内全血经离心机

6 000 r/min 离心 5 min 分离血浆。吸取 200 μ l 血浆, 加入内标阿帕替尼溶液(1 000 ng/ml)20 μ l 后, 涡旋 30 s。按“1.4 血浆样品预处理”项下方法进行前处理。根据当天标准曲线定量计算, 3 例患者血药浓度结果见表 3。

表 3 患者血药浓度(谷浓度)检测结果(n=2)

患者	呋喹替尼(ng/ml)
患者1	41.77
患者2	39.39
患者3	30.96

3 讨论与结论

近年来, 有研究^[7-8]利用质谱方法检测呋喹替尼血药浓度。质谱法的高特异性、高分离和高效分析的优势, 使其在科学研究中备受青睐。但在实际工作中, 质谱维护成本及使用成本较高, 不易于推广。

本实验首次建立了 HPLC 测定人血浆中呋喹替尼药物浓度的方法。实验利用乙酸乙酯液液萃取法对血浆样本中呋喹替尼进行萃取, 后利用氮吹复溶的方法, 提高待测样品纯度的同时对样品进行浓缩, 从而提高检测限。在内标选择的过程中, 考虑到与目标理化性质相似、不与目标物发生反应、稳定等因素。首先选取了与呋喹替尼理化结构相近的 TKI 类药物, 如: 瑞戈非尼、阿帕替尼、舒尼替尼等进行内标物的筛选测定。后经预实验发现, 在呋喹替尼相应液相条件下, 备选内标中的阿帕替尼响应最好、峰型最佳、保留时间最短, 且与呋喹替尼及血浆内源性物质无相互干扰, 故选择阿帕替尼作为本实验的内标。最终, 呋喹替尼的线性范围

为 15.63 ~ 500.00 ng/ml, 线性良好。呋喹替尼日内、日间的 RSD 值均小于 6.79%; 呋喹替尼的提取回收率为 97.29% ~ 102.1%; 冻融稳定性、室温稳定性、进样器稳定性考察均符合要求。该方法简便、快速、准确、专属性强、检测成本低, 易于推广, 可用于临床肠癌患者呋喹替尼血药浓度的常规监测, 为临床实施个体化给药提供支持。

【参考文献】

[1] SIEGEL R L, WAGLE N S, CERCEK A, et al. Colorectal cancer statistics, 2023[J]. *CA A Cancer J Clinicians*, 2023, 73(3): 233-254.

[2] 张宜利, 李巍. 结直肠癌肝转移转化治疗进展 [J]. *腹部外科*, 2021, 34(4): 322-326.

[3] LI J, QIN S K, XU R H, et al. Effect of fruquintinib vs placebo on overall survival in patients with previously treated metastatic colorectal cancer: the FRESCO randomized clinical trial[J]. *JA-MA*, 2018, 319(24): 2486-2496.

[4] 郭芬, 时建明, 张璐瑶, 等. 呋喹替尼治疗转移性结直肠癌的真实世界观察 [J]. *实用肿瘤杂志*, 2024, 39(1): 40-45.

[5] 胡浪, 林小玲, 唐文军. 呋喹替尼单药及联合 PD-1 抑制剂用于晚期转移性结肠癌后线治疗的疗效及安全性 [J]. *实用医学杂志*, 2023, 39(15): 1966-1973.

[6] XU R H, LI J, BAI Y X, et al. Safety and efficacy of fruquintinib in patients with previously treated metastatic colorectal cancer: a phase Ib study and a randomized double-blind phase II study[J]. *J Hematol Oncol*, 2017, 10(1): 22.

[7] ZHAO J, YAN D M, LI Y, et al. Simultaneous determination of 11 oral targeted antineoplastic drugs and 2 active metabolites by LC-MS/MS in human plasma and its application to therapeutic drug monitoring in cancer patients[J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2024, 1237: 124100.

[8] 温州医科大学附属第一医院. 一种快速检测大鼠血浆中呋喹替尼的 UPLC-MS/MS 方法 [P]. 中国, 201910539488.8 . 2019-08-27.

[收稿日期] 2024-12-20 [修回日期] 2025-03-05
[本文编辑] 崔俐俊