

HPLC – MS/MS 法测定晚期乳腺癌患者血浆中 FCN – 437c 浓度及临床应用

姜丹凤, 黄京秋, 吴奇珍, 王漪璇, 方雅玲, 吴维怡, 吴文英, 孙艳*

(复旦大学附属肿瘤医院 I 期临床实验室, 复旦大学上海医学院肿瘤学系, 上海 200032)

摘要 目的: 建立测定人血浆中 FCN – 437c 药物浓度的 HPLC – MS/MS 方法, 并用于 FCN – 437c 的 I 期临床研究。**方法:** 血浆经蛋白沉淀处理后, 采用 HPLC – MS/MS 法进样测定。色谱柱为 YMC Triart PFP 柱 (50 mm × 2.1 mm, 5 μm), 以 0.5% 甲酸水溶液 (含 5 mmol · L⁻¹ 乙酸铵, A) – 乙腈 (B) 为流动相, 梯度洗脱, 流速为 0.5 mL · min⁻¹, 柱温为 35 °C, 进样量为 2 μL, 进样器温度为 10 °C。质谱采用 ESI⁺, MRM 模式。检测离子反应对为 *m/z* 549.4 → 449.5 (FCN – 437c) 和 *m/z* 552.5 → 449.0 (FCN – 437 – D3, 氘代内标), 雾化气压力 276 kPa, 辅助气压力 207 kPa, 去簇电压 100 V, 碰撞室出口电压 25 V。**结果:** 人血浆中 FCN – 437c 的线性范围为 5 ~ 1 000 ng · mL⁻¹ (*r* = 0.999 0), 定量限为 5 ng · mL⁻¹, 批内、批间精密度分别小于 2.0% 和 4.1%, 平均回收率为 104.0% (FCN – 437c)、78.6% (FCN – 437 – D3), 内标归一化基质因子为 100% ~ 102%。FCN – 437c 储备液 4 °C 放置 202 d, FCN – 437c 及 FCN – 437 – D3 工作液室温放置 24 h, 血浆样品室温放置 20 h、冻融四循环、-20 °C 放置 134 d、-80 °C 放置 662 d, 样品处理后自动进样器放置 24 h, 全血样品室温放置 4 h 均稳定。应用此方法检测了受试者口服 FCN – 437c 后血浆药物浓度, ISR 样品测试结果为 97.0% 与初测值的偏差在 ±20% 以内。血浆样本稀释 10 倍后准确度为 102.0% ~ 108.0%。FCN – 437c 连续给药与单次给药相比, *R*_{AUC₀₋₂₄} 和 *R*_{C_{max}} 的累积比为 1.33 倍与 1.59 倍。**结论:** 本方法简便、准确、耐用、专属性强, 可满足人血浆中 FCN – 437c 的定量分析的要求。

关键词: 高效液相色谱 – 串联质谱法; 血药浓度; FCN – 437c; 方法学验证; 药代动力学

中图分类号: R 917 文献标识码: A 文章编号: 0254 – 1793 (2024) 06 – 0972 – 07

doi: 10.16155/j.0254 – 1793.2024.06.07

Determination of FCN – 437c in human plasma for patients with advanced breast cancer by HPLC – MS/MS and its clinical application

JIANG Dan – feng, HUANG Jing – qiu, WU Qi – zhen, WANG Yi – xuan,
FANG Ya – ling, WU Wei – yi, WU Wen – ying, SUN Yan*

(Laboratory of Phase I Clinical Trials, Department of Oncology, Fudan University Shanghai Cancer Center; Department of Oncology, Shanghai Medical College, Fudan University, Shanghai 200032, China)

Abstract Objective: To establish an HPLC – MS/MS method for the determination of FCN – 437c in human plasma and its application to the phase I clinical study of FCN – 437c. **Methods:** Following protein precipitation, plasma was injected and measured using HPLC – MS/MS method. The analytes were separated on a YMC Triart

* 通信作者 Tel: (021) 38197021; E – mail: yansun@fudan.edu.cn

第一作者 Tel: (021) 38197021; E – mail: jdf – 123@139.com

PFPE column (50 mm × 2.1 mm, 5 μm) using 0.5% formic acid (containing 5 mmol · L⁻¹ of ammonium acetate, A) and acetonitrile (B) as the mobile phase with gradient elution at the flow rate of 0.5 mL · min⁻¹, the column temperature was set at 35 °C, the injection amount was 2 μL, and the injector temperature was 10 °C. MS detection was performed with multiple reaction monitoring (MRM) mode using positive electrospray ionization. The ion transitions were *m/z* 549.4 → 449.4 for FCN-437c and *m/z* 552.3 → 449.3 for FCN-437-D3, respectively. Other mass spectrometry parameters were TEM, 500 °C, GS1, 276 kPa, GS2, 207 kPa, DP, 100 V, CXP, 25 V.

Results: The linear range of FCN-437c in human plasma was 5 – 1 000 ng · mL⁻¹ (*r* = 0.999 0). The lower limit of quantification was 5 ng · mL⁻¹. The intra-batch and inter-batch precisions were less than 2.0% and 4.1%, respectively. The average recovery was 104.0% (FCN-437c), 78.6% (FCN-437-D3), and the internal standard normalized matrix factor was 100%–102%. The stock solution of FCN-437c was stable at 4 °C for 202 d, the working solution of FCN-437c and internal standard were stable at room temperature for 24 h. FCN-437c in human plasma was investigated to be stable at room temperature for 20 h, four cycles of freeze-thaw, -20 °C for 134 d, -80 °C for 662 d, as well as for 24 h in the autosampler after treatment. The whole blood samples were stable at room temperature for 4 h. This method was applied to the determination FCN-437c in human plasma, and the deviation between the test results and the initial values of 97.0% ISR samples was within ±20%. The accuracy was 102.0%–108.0% after 10-fold dilution of plasma samples. The cumulative ratio of *R*_{AUC0-24} and *R*_{C_{max}} was 1.33 times and 1.59 times when FCN-437c was administered continuously compared with single administration. **Conclusion:** This method is simple, accurate, robust and specific, which can meet the requirements of quantitative analysis of FCN-437c in human plasma and also can be used to determine FCN-437c in human plasma of the phase I clinical study.

Keywords: HPLC-MS/MS; plasma concentration; FCN-437c; method validation; pharmacokinetics

FCN-437c 是一种具有我国自主知识产权的口服 CDK4/6 抑制剂类抗肿瘤新药,其作用机制在于通过选择性抑制 CDK4/6-Cyclin D 二聚体激酶活性,阻碍 Rb 的磷酸化,阻断细胞从 G1 期进入 S 期,使细胞周期停滞于 G1 期,从而抑制肿瘤细胞的增殖,临床用于激素受体 (HR) 阳性,表皮生长因子受体 2 (HER2) 阴性的晚期或转移性乳腺癌的女性患者的治疗。CDK4/6 是细胞周期调控通路中的关键蛋白^[1-2],靶向 CDK4/6 被认为是抗癌方法的 1 个范式转变^[3],CDK4/6 抑制剂在多项临床试验中被证实对 HR+/HER2- 乳腺癌患者具有良好的疗效^[4]。目前,全球已经有 3 个 CDK4/6 抑制剂 (palbociclib、riboiciclib、abemaciclib) 上市^[5-8],3 个抑制剂均包含 ATP-竞争性抑制以及 CDK4/6 选择性的关键分子结构的 2-氨基吡啶和哌嗪环^[9]。FCN-437c 与其药物结构类似,作为单药治疗具有抗肿瘤活性和良好的安全性^[10-11]。

迄今为止,已发表的检测 CDK4/6 抑制剂的 LC-MS/MS 检测方法主要使用 C₈ 柱、C₁₈ 柱、苯基

柱^[12-16]。FCN-437c 在初步方法开发中尝试用 C₈ 柱、C₁₈ 柱、苯基柱等多种色谱柱,采用不同 pH 调节剂的超纯水为水相,乙腈或甲醇为有机相,发现在上述色谱柱上均不易保留,无法形成特征性色谱峰。为了增强 FCN-437c 的保留情况,更换为 YMC Triart PFP 色谱柱。经探索发现,FCN-437c 的洗脱相为水相,为获得最佳的色谱保留效果,采用水相逐步增加的梯度洗脱方法。经过方法学优化,最终建立了一种简便、专属性强的 HPLC-MS/MS 测定人血浆中 FCN-437c 浓度的方法,用于 FCN-437c 的人体临床研究,评价 FCN-437c 在 ER+、HER2- 的晚期乳腺癌绝经后女性受试者中的药代动力学特征,为临床用药的有效性及安全性提供依据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 ACQUITY UPLC H-Class 超高效液相色谱 (Waters 公司), API 6500 Qtrap 线性离子阱串联四级杆杂交质谱联用仪 (SCIEX 公司), 5424 R 高速离心机 (Eppendorf 公司), AB135-S 精密电子天平 (Mettler Toledo 公司), Vortex-Genie 2 涡旋混合仪

(Scientific Industries 公司), Pall Cascada 纯水仪 (Pall 公司) 等。

1.2 试剂 甲醇、乙腈、甲酸、乙酸铵均为色谱纯, 甲醇、乙腈 (Merck 公司), 甲酸 (ACS 公司), 乙酸铵 (CNW 公司), 实验用超纯水 (Pall 公司, Cascada™ 纯水仪制备 (电阻率 $\geq 18.2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$)。

FCN-437c (待测物) 对照品色谱纯度 99.96%, FCN-437-D3 (内标) 对照品色谱纯度 98.8%。空白血浆、空白全血由复旦大学附属肿瘤医院组织库提供。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 采用 YMC Triart PFP 色谱柱 (50 mm \times 2.1 mm, 5 μm); 流动相 A 为 0.5% 甲酸水溶液 (含 5 mmol \cdot L⁻¹ 乙酸铵), 流动相 B 为乙腈, 梯度洗脱 (见表 1), 流速 0.5 mL \cdot min⁻¹, 柱温 35 $^{\circ}\text{C}$, 进样量 2 μL , 进样器温度 10 $^{\circ}\text{C}$ 。

表 1 梯度洗脱
Tab. 1 Gradient elution

时间 (time)/%	流动相比例 (ratio of mobile phase)/%	
	A	B
0	20	80
1.5	20	80
2.0	60	40
3.7	60	40
3.8	20	80
6.0	20	80

2.2 质谱条件 选用电喷雾离子源 (ESI), 正离子电离模式, 采用多反应监测 (MRM) 的质谱扫描方式进行检测, 在 45 V 的碰撞能量下, 检测 FCN-437c 离子对通道 m/z 为 549.4 \rightarrow 449.5, FCN-437-D3 离子对通道 m/z 552.5 \rightarrow 449.0。其他质谱参数: 雾化气压力为 276 kPa, 辅助气压力为 207 kPa, 去簇电压为 100 V, 碰撞室出口电压为 25 V, 运行时间为 6 min。

2.3 对照品储备液和内标溶液的制备 精密称取 FCN-437c 对照品约 10 mg, 置 10 mL 量瓶中, 二甲基亚砜 (DMSO) 充分溶解后用甲醇定容, 配制 FCN-437c 储备液 (S1), 同法配制 FCN-437c 储备液 (S2), S1 和 S2 分别用于配制标准曲线和质控样品。称取 FCN-437-D3 对照品 10 mg, 置 10 mL 量瓶中, 用二甲基亚砜 (DMSO) 充分溶解后用甲醇定

容, 配制 FCN-437-D3 储备液。继续以甲醇进行稀释, 配制成质量浓度为 100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 FCN-437-D3 标准工作液。精密吸取 FCN-437-D3 标准工作液 10 μL , 加入乙腈-水 (90:10) 100 mL, 即得 10 ng \cdot mL⁻¹ FCN-437-D3 溶液。上述溶液均使用经校准的移液器和容量瓶进行配制, 并保存于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱待用。

2.4 样品预处理 采用蛋白沉淀法进行血浆样本前处理。取血浆样本 50 μL , 加入含 FCN-437-D3 (浓度为 10 ng \cdot mL⁻¹) 的乙腈-水 (90:10) 200 μL , 振荡 5 min, 离心 (14 000 r \cdot min⁻¹, 10 min, 室温), 取上清液 50 μL 加入 0.5% 甲酸水溶液 (含 5 mmol \cdot L⁻¹ 乙酸铵) 50 μL , 涡旋混匀后用于进样分析, 进样量为 2 μL 。

2.5 临床应用 临床试验通过医院伦理委员会的批准后进行, 遵循 GCP 原则。所有受试者需经医生体检、实验室检查、心电图等证实符合入选标准后入选, 所有受试者均知情且签署知情同意书。

筛选 12 例晚期乳腺癌绝经后女性受试者, 进行 FCN-437c 200 mg 剂量组的临床研究。单次给药采血时间点: 给药前、给药后 0.5、1、2、3、4、6、8、12、24、48、72、120 h; 连续给药采血时间点: 连续给药第 21 天给药前、给药后 0.5、1、2、3、4、6、8、12、24、48、72 h。采患者全血 2 mL, 室温 1 400 r \cdot min⁻¹ 离心 5 min 后分离血浆, 贴上唯一标签后放入超低温 (-60 ~ -90 $^{\circ}\text{C}$) 冰箱保存。数据采集和积分软件为 Analyst 1.5, 药代参数计算软件为 Phoenix WinNonlin® 6.3.0。

3 结果

3.1 质谱分析 分别将 1 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ FCN-437c 和 FCN-437-D3 溶液, 以恒定流速泵入 MS/MS 系统, 进行母离子及碎片离子分析, FCN-437c 和 FCN-437-D3 的二级全扫描质谱图见图 1。

3.2 特异性 在本实验采用的检测条件下, FCN-437c 和 FCN-437-D3 的保留时间均为 2.97 min, 峰形良好。与空白血浆样品色谱图比较, 内源性物质不干扰 FCN-437c 及 FCN-437-D3 的测定, FCN-437-D3 对 FCN-437c 检测通道亦无干扰。结果表明, 该方法特异性良好。此外, 在标准曲线的定量上限样品之后进样分析的双空白血浆样品中, FCN-437c 峰面积均为 0, 且 FCN-437-D3 峰面积均为 0, 表明本方法无明显系统残留。结果见图 2。

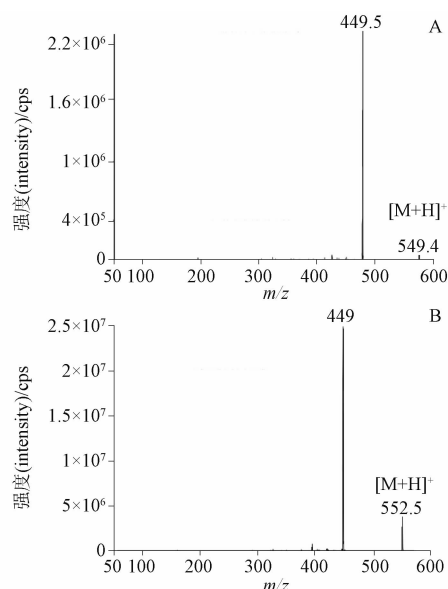


图1 FCN-437c(A)和FCN-437-D3(B)二级碎片全扫描质谱图
Fig. 1 Full scan production spectra of the secondary fragments of FCN-437c(A) and FCN-437-D3(B)

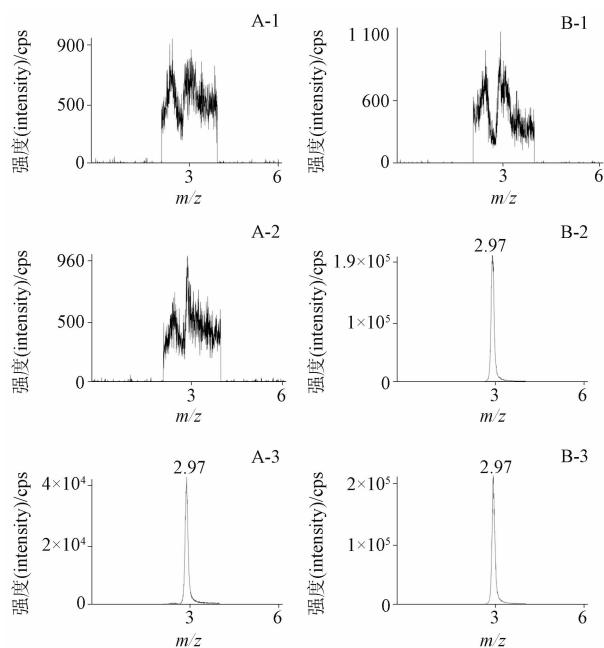


图2 HPLC-MS/MS 色谱图
A. FCN-437c 通道 (FCN-437c channel): A-1. 空白人血浆样品 (blank human plasma sample) A-2. 空白人血浆加 FCN-437-D3 样品 (blank human plasma plus FCN-437-D3 sample) A-3. 人血浆 LLOQ 样品 (human plasma LLOQ sample) B. FCN-437-D3 通道 (FCN-437-D3 channel): B-1. 空白人血浆样品 (blank human plasma sample) B-2. 空白人血浆加 FCN-437-D3 样品 (blank human plasma plus FCN-437-D3 sample) B-3. 人血浆 LLOQ 样品 (human plasma LLOQ sample)

图2 HPLC-MS/MS 色谱图
Fig. 2 HPLC-MS/MS chromatograms

3.3 标准曲线、定量限和检测限 用甲醇-水(50:50)稀释 FCN-437c 储备液(S1), 配制成质量浓度分别为 100、200、800、2 000、8 000、10 000、16 000、20 000 ng · mL⁻¹ (C1 ~ C8) 的 FCN-437c 工作液。取上述 8 个浓度的工作液 20 μL, 置于 1.5 mL 塑料离心管中, 分别加入空白人血浆 380 μL, 涡旋 1 min, 制成 FCN-437c 质量浓度分别为 5、10、40、100、400、500、800、1 000 ng · mL⁻¹ 的血浆标准溶液, 按“2.4”项下方法处理后, 再按“2.1”项下测定条件进样分析。以 FCN-437c 峰面积与 FCN-437-D3 峰面积之比 Y 为纵坐标, 以 FCN-437c 质量浓度 X 为横坐标, 用加权 ($W = 1/X^2$) 最小二乘法进行回归计算, 拟合成标准曲线, 得 FCN-437c 的回归方程:
 $Y = 0.0206X + 0.0194$ $r = 0.9995$

结果显示, FCN-437c 质量浓度在 5 ~ 1 000 ng · mL⁻¹ 线性良好, 批间、批内准确度和精密度偏差 < 20%, 定量限 (信噪比 ≥ 10) 为 5 ng · mL⁻¹, 检测限 (信噪比 ≥ 3) 为 1 ng · mL⁻¹。

3.4 精密度与准确度 用 FCN-437c 储备液(S2), 配制成浓度为 100、300、1 500、15 000 ng · mL⁻¹ (LLOQ、QC1 ~ QC3) 的工作液, 取上述 4 个浓度的工作液 20 μL 置于 1.5 mL 塑料离心管中, 分别加入空白血浆 380 μL, 涡旋 1 min, 制成 FCN-437c 浓度分别为 5、15、75、750 ng · mL⁻¹ 的血浆质控样品, 按“2.4”项下方法处理后, 再按“2.1”项下测定条件进样分析, 每个质量浓度平行测定 6 份, 根据同步操作制备的标准曲线计算样品中 FCN-437c 的实测浓度, 同法连续测定 3 批, 计算批内和批间准确度 (RE) 和精密度 (RSD)。结果显示批内及批间准确度和精密度良好, 满足生物样本定量分析的要求。结果见表 2。

3.5 基质效应 取 15 份来源不同的空白血浆 (包含 9 份正常血浆、3 份溶血血浆、3 份高脂血浆), 按“2.4”项下方法处理 (不加入 FCN-437-D3) 得到空白基质, 加入低、中、高质量浓度的 FCN-437c 工作液及 FCN-437-D3 溶液, 配制成浓度为 15、75、750 ng · mL⁻¹ 的血浆样品, 每个浓度平行制备 15 个样品, 按“2.1”项下测定条件进样分析, 记录 FCN-437c 与 FCN-437-D3 峰面积。取等量的相同 3 个浓度的 FCN-437c 工作液及 FCN-437-D3 溶液, 用溶剂稀释至同浓度, 每个浓度平行制备 6 个样品, 同法分析测定, 记录 FCN-437c 与 FCN-437-D3

表 2 人血浆 FCN-437c 精密度与准确度的结果

Tab. 2 Results of precision and accuracy for FCN-437c in human plasma

加入量 (added)/(ng · mL ⁻¹)	批内(intra-batch)			批间(inter-batch)		
	实测值(found)/(ng · mL ⁻¹)	RSD/%	RE/%	实测值(found)/(ng · mL ⁻¹)	RSD/%	RE/%
5	5.25 ± 0.10	5.0	1.9	5.17 ± 0.18	3.4	3.5
15	15.1 ± 0.20	0.67	1.3	14.4 ± 3.77	-3.9	3.8
75	75.5 ± 1.51	0.69	2.0	73.1 ± 2.84	-2.5	2.8
750	759 ± 15.5	1.2	2.0	759 ± 2.51	1.3	2.5

峰面积。按下列公式计算基质效应, 基质因子 = 含基质溶液样品峰面积/不含基质(纯溶液)样品峰面积 × 100%; 内标归一化基质因子 = 化合物基质因子/内标基质因子 × 100%。结果显示无明显基质效应(表 3), 生物基质对 FCN-437c 定量分析的影响有限。

3.6 提取回收率 按“2.4”项下方法配制 FCN-437c 低、中、高浓度(15、75、750 ng · mL⁻¹)的血浆质控样品, 每个浓度平行制备 6 个样品, 按“2.1”项下测定条件进样分析, 记录 FCN-437c 与 FCN-437-D3 峰面积。按“2.4”项下方法处理空白血浆(不加

入 FCN-437-D3) 得到空白基质, 加入 FCN-437c 工作液及 FCN-437-D3 溶液, 配制 FCN-437c 低、中、高浓度(15、75、750 ng · mL⁻¹)的血浆样品, 每个浓度平行测定 6 份, 按“2.1”项下测定条件进样分析, 记录 FCN-437c 与 FCN-437-D3 峰面积。计算提取回收率 = 血浆质控样品经处理后所测得峰面积平均值/空白基质处理后加等量药物所测得峰面积平均值 × 100%。结果显示 FCN-437c 和 FCN-437-D3 的提取回收率稳定, 满足生物样本定量分析的要求。结果见表 3。

表 3 基质效应及回收率结果

Tab. 3 Results of matrix effect and recovery

成分 (component)	加入量 (added)/ (ng · mL ⁻¹)	基质效应(matrix effect)		回收率(recovery)	
		内标归一化基质因子 (Internal standard normalized matrix factor)/%	RSD/ %	平均回收率 (average recovery)/%	RSD/ %
FCN-437c	15	102.0	2.7	103.0	0.65
	75	100.0	1.3	102.0	5.8
	750	100.0	0.94	105.0	5.1
FCN-437-D3	8	/	/	78.6	1.7

3.7 稀释可靠性 按“2.4”项下方法配制高浓度的 FCN-437c 血浆质控样品(500、1 500、7 500 ng · mL⁻¹), 并用空白血浆基质稀释该样品 10 倍, 按“2.1”项下测定条件进样分析, 每个浓度平行测定 6 份。测得准确度为 108.0%、103.0%、102.0%, 精密度的 2.5%、4.5%、2.4%。结果表明 10 倍稀释后不影响准确度和精密度。

3.8 稳定性考察 按“2.3”项下方法配制 FCN-437c 的储备液, 在 4 °C 下存 202 d; 按“3.3”项下方法配制 FCN-437c 工作液(5、1 000 ng · mL⁻¹), 在室温下存放 24 h; 按“3.4”项下方法配制 FCN-437c 低、中、高质量浓度(15、75、750 ng · mL⁻¹)的血浆样品, 分别于处理前在室温放置 20 h、-20 °C 放置

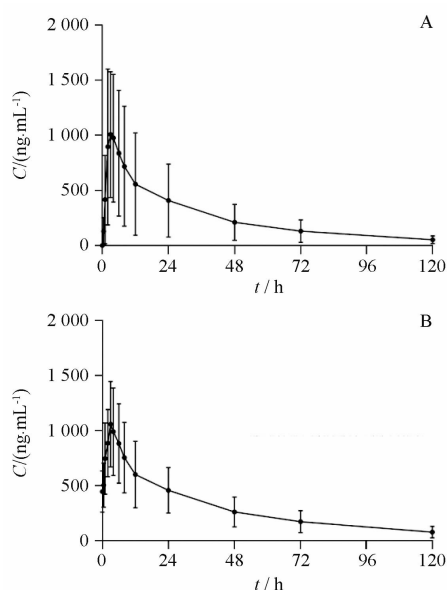
134 d、-80 °C 放置 662 d、-80 °C ~ 室温循环冻融 3 次、自动进样器(10 °C)中放置 24 h; 全血中加入 FCN-437c 工作液, 在室温下放置 4 h 后离心获得血浆, 按“2.4”项下方法处理后进样分析, 每个浓度平行测定不少于 4 份, 考察稳定性, RSD 均小于 7%。结果表明, 在上述条件下 FCN-437c 稳定性好。

3.9 同位素交换考察 分析批使用的内标为待测物的稳定同位素内标, 且保留时间与待测物相同。需确保 FCN-437-D3 具有足够高的同位素纯度, 并且不发生同位素交换反应, 以避免检测的干扰, 导致结果的偏差。配制高浓度的 FCN-437c 样品(不加 FCN-437-D3)进样分析, 内标通道产生的干扰峰的峰面积与内标平均峰面积比小于 5%, 结果显

示 FCN-437c 对 FCN-437-D3 检测无影响。在每批次检测中,均随行进样 QC₀ 样品(空白血浆加 FCN-437-D3),FCN-437c 通道峰面积均为 0。结果显示,FCN-437-D3 对 FCN-437c 检测无影响,FCN-437-D3 溶液 4 °C 放置 127 d 内未发生同位素交换,FCN-437-D3 溶液稳定。

3.10 血浆样品再分析(ISR) 研究样本进行重复分析,ISR 样品量为总样品量的 11.8%,且样品的选择覆盖药动学曲线,计算初始浓度和再分析浓度的偏差。结果显示,97.0% 的 ISR 样品测试结果与初测值的偏差在 ±20% 以内,表明本分析方法重现性好。

3.11 检测方法的临床应用 采用上述检测方法,应用于 FCN-437c 首次临床研究。其中 12 例受试者口服 FCN-437c 200 mg 后体内 FCN-437c 血药浓度-时间曲线线性图见图 3,主要药代参数见表 4。与单次给药相比,第 21 天时, $R_{AUC_{0-24}}$ 和 $R_{C_{max}}$ 的累积比几何平均值为 1.33 倍与 1.59 倍。与结构类似物 Ribociclib 比较,FCN-437c 200 mg 剂量组暴露水平高于 Ribociclib 400 mg 剂量组,接近于 Ribociclib 600 mg 剂量组的暴露水平^[17]。



A. 单次口服 200 mg FCN-437c (均值 ± SD, $n = 12$) (single oral administration of 200 mg FCN-437c) B. 连续口服 200 mg FCN-437c 第 21 天 (均值 ± SD, $n = 8$) (multiple oral administration of 200 mg FCN-437c at the 21st day)

图 3 12 例受试者血浆中 FCN-437c 平均血药浓度-时间曲线图
Fig. 3 Mean plasma concentration-time profile of FCN-437c in 12 patients

表 4 主要药代参数

Tab. 4 Main pharmacokinetic parameters

参数 (parameter)	单次给药 (single administration)	连续给药 (continuous administration)
$C_{max}/(\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1})$	1 087 ± 655	1 313 ± 691
T_{max}/h	3.00 ± 0.739	3.25 ± 0.707
$AUC_{0-24 \text{ h}}/(\text{ng} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{mL}^{-1})$	14 491 ± 10 753	20 180 ± 12 188
$t_{1/2}/\text{h}$	36.6 ± 6.42	41.7 ± 10.1
$R_{AUC_{0-24 \text{ h}}}$		1.33 ± 0.507
$R_{C_{max}}$		1.59 ± 0.656

5 讨论

FCN-437c 是一种口服、强效、高选择性、全新结构的 CDK4/6 抑制剂类抗肿瘤新药,本研究建立了一种灵敏可靠的定量分析人血浆中 FCN-437c 浓度的 HPLC-MS/MS 方法,并应用于晚期乳腺癌绝经后女性患者中的临床研究。FCN-437c 虽然与其他 CDK4/6 抑制剂(诸如 palbociclib、ribociclib、abemaciclib)结构类似,但色谱行为表现有较大差异。本研究在方法开发前期参考其他 CDK4/6 抑制剂的检测方法选择的条件,均无法形成特征性的色谱峰。最后根据 FCN-437c 自身性质,比较在不同填料的色谱柱上的保留行为后,采用了最佳的 YMC Triart PFP 色谱柱,通过其疏水性、 $\pi-\pi$ 相互作用、偶极-偶极、立体选择性等多个保留机制,提高了待测物色谱保留。同时,根据流动相中有机相比比例增加,待测物色谱保留增强的特点,采用了水相逐渐增加的梯度洗脱方法,获得最佳的色谱峰。检测前考察单独 FCN-437c 样品与 FCN-437-D3 样品,确保 FCN-437c 与 FCN-437-D3 之间不产生干扰。血浆样品采用蛋白沉淀法,血浆用量小,制备方法简便。对上述方法的选择性、线性、精密度和准确度、基质效应、提取回收率、稳定性等进行了验证,结果表明:该方法简单、可靠、灵敏、耐用。符合现行的中国药典 2020 年版附录 9012 关于生物分析方法验证的要求^[18]。

致谢:中国科学院上海药物研究所姜金方博士对 FCN-437c 分析方法的开发提供的支持与帮助。

参考文献

- [1] BINOJ CN, RATNA KV. Regulation of hormonal therapy resistance by cell cycle machinery[J]. Gene Ther Mol Biol, 2008, 12: 395

- [2] DU Q, GUO X, WANG M, *et al.* The application and prospect of CDK4/6 inhibitors in malignant solid tumors[J]. *Hematol Oncol*, 2020, 13:41
- [3] ADON T, SHANMUGARAJAN D, KUMAR HY. CDK4/6 inhibitors: a brief overview and prospective research directions [J]. *RSC Adv*, 2021, 47: 29227
- [4] 常春, 王静莹. CDK4/6 抑制剂治疗乳腺癌的研究进展[J]. *现代肿瘤医学*, 2021, 29(17): 3120
CHANG C, WANG JX. Research progress of CDK4/6 inhibitors in the treatment of breast cancer [J]. *J Mod Oncol*, 2021, 29(17): 3120
- [5] GROENLAND SL, MARTÍNEZ - CHÁVEZ A, VAN DONGEN MGJ, *et al.* Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of the cyclin - dependent kinase 4 and 6 inhibitors palbociclib, ribociclib, and abemaciclib [J]. *Clin Pharmacok*, 2020, 59: 1501
- [6] FINN RS, MARTIN M, RUGO HS, *et al.* Palbociclib and letrozole in advanced breast cancer [J]. *N Engl J Med*, 2016, 375(20): 1925
- [7] ORTOBAGYI GN, STEMMER SM, BURRIS HA, *et al.* Ribociclib as first - line therapy for HR - positive, advanced breast cancer [J]. *N Engl J Med*, 2016, 375(18): 1738
- [8] GOETZ MP, TOI M, CAMPONE M, *et al.* Abemaciclib as initial therapy for advanced breast cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2017, 35(32): 3638
- [9] STEFANO F, MARZIA DR, GIUSEPPE C, *et al.* Drug - drug interactions in breast cancer patients treated with CDK4/6 inhibitors [J]. *Cancer Treat Rev*, 2019, 74: 21
- [10] ZHANG J, WANG XJ, WANG X, *et al.* Phase 1a study of the CDK4/6 inhibitor, FCN437c, in Chinese patients with HR + /HER2 advanced breast cancer [J]. *Invest New Drugs*, 2021, 39: 1549
- [11] AMITA P, ERIKA H, YAN X, *et al.* A phase I dose - escalation and dose - expansion study of FCN - 437c, a novel CDK4/6 inhibitor, in patients with advanced solid tumors [J]. *Cancers*, 2022, 14, 4996
- [12] POETTO AS, POSOCCO B, GAGNO S, *et al.* A new dried blood spot LC - MS/MS method for therapeutic drug monitoring of palbociclib, ribociclib, and letrozole in patients with cancer [J]. *J Chromatogr B*, 2021, 1185: 122985
- [13] PAUL D, CHANDRAKALA P, SURENDRAN S, *et al.* Pharmacokinetic interaction study of novel combination of palbociclib and sorafenib for hepatocellular carcinoma in SD rats [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biochem Life Sci*, 2019, 1108:25
- [14] ASHISH K, PATEL YT, DAVIS A, *et al.* Development and validation of LC - MS/MS methods for the measurement of ribociclib, a CDK4/6 inhibitor, in mouse plasma and Ringer's solution and its application to a cerebral microdialysis study [J]. *J Chromatogr B*, 2017, 1057: 110
- [15] TURKOVIĆ L, BOČKOR L, EKPENYONG O, *et al.* Development and validation of a novel LC - MS/MS method for the simultaneous determination of abemaciclib palbociclib ribociclib anastrozole letrozole and fulvestrant in plasma samples: a prerequisite for personalized breast cancer treatment [J]. *Pharmaceuticals*, 2022, 15:614
- [16] WICKREMSINHE ER, LEE LB. Quantification of abemaciclib and metabolites: evolution of bioanalytical methods supporting a novel oncolytic agent[J]. *Bioanalysis*, 2021, 13(9):711
- [17] Novartis Pharmaceuticals Corporation. 209092Orig1s000 - Food and Drug Administration; NDA/BLA Multi - disciplinary Review and Evaluation NDA 209092 KISQALI (ribociclib) [DB/OL]. Center for Drug Evaluation and Research (2016 - 08 - 29) [2017 - 03 - 15]. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2017/209092Orig1s000MultidisciplineR.pdf
- [18] 中华人民共和国药典 2020 年版. 四部[S]. 2020: 466
ChP 2020. Vol IV[S]. 2020: 466

(本文于 2023 年 11 月 10 日收到)