

LC-MS/MS法测定定量干血斑中仑伐替尼的浓度

Quantification of lenvatinib in quantitative dried blood spots using LC-MS/MS

侯脩然^{1,2}, 焦守峰³, 彭洪薇³,
毕重文¹, 苏 岚², 张涵煦¹,
袁晶华², 陈 启², 袁恒杰¹

(1. 天津医科大学 总医院, 天津 300052; 2. 浙江树人学院 树兰国际医学院 全省人工器官与计算医学重点实验室, 浙江 杭州 310000; 3. 南昌大学 第一附属医院 药学部, 江西 南昌 330006)

HOU Xiao-ran^{1,2},
JIAO Shou-feng³,
PENG Hong-wei³, BI Chong-wen¹,
SU Lan², ZHANG Han-xu¹,
YUAN Jing-hua², CHEN Qi²,
YUAN Heng-jie¹

(1. General Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300052, China; 2. Key Laboratory of Artificial Organs and Computational Medicine, Shulan International Medical College, Zhejiang Shuren University, Hangzhou 310000, Zhejiang Province, China; 3. Department of Pharmacy, The First Affiliated Hospital, Jiangxi Medical College, Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China)

基金项目: 天津市科技局重大专项与工程基金资助项目(21ZXJBSY00050); 中华医学会临床药学科科研基金资助项目(Z-2021-46-2101)

作者简介: 侯脩然(2000-), 女, 主要从事药理学相关的研究及工作

通信作者: 袁恒杰, 主任药师, 硕士生导师
Tel: (022)60362090
E-mail: hengjiyuan@163.com
陈启, 高级工程师, 硕士生导师
MP: 13588162603
E-mail: chenqi@zjsru.edu.cn

摘要:目的 建立一种检测定量干血斑中仑伐替尼浓度的液相色谱-串联质谱方法。方法 以仑伐替尼-[d₄]为内标, 用乙腈/水(70/30)对干血斑样本进行萃取, 用ProChrom C₁₈反相色谱柱(2.1 mm×100.0 mm, 3.0 μm)进行分离, 流动相为10 mmol·L⁻¹乙酸铵水溶液和甲醇, 梯度洗脱, 流速为0.3 mL·min⁻¹。在电喷雾离子源正离子模式下, 用多反应监测模式检测仑伐替尼 m/z 427.1→370.0、338.0 和仑伐替尼-[d₄] m/z 431.1→370.0 通道。对方法的选择性、标准曲线、残留、精密度与准确度、回收率、基质效应和稳定性进行了考察。结果 空白人全血干血斑基质中的内源性组分不会对检测产生影响。经优化后的预处理方法用乙腈/水(70/30)进行一步法提取, 干血斑中仑伐替尼在10~250 ng·mL⁻¹浓度内线性关系良好, 干血斑中仑伐替尼在10~250 ng·mL⁻¹浓度内线性关系良好, 3个分析批的标准曲线方程分别为 $y = 3.81 \times 10^{-2}x + 2.76 \times 10^{-2}$ ($r = 0.9997$)、 $y = 2.0 \times 10^{-2}x - 4.87 \times 10^{-3}$ ($r = 0.9999$)、 $y = 2.01 \times 10^{-2}x - 3.68 \times 10^{-3}$ ($r = 0.9997$), 定量下限为10 ng·mL⁻¹, 批内、批间准确度相对误差在±15%范围内、精密度相对标准差(RSD)小于15%, 无明显基质效, 在高温45℃环境中可保持稳定至少7天。结论 本方法便捷、高效、准确, 符合国际人用药品注册技术协调会M10《生物分析方法验证及样品分析》指导原则的要求, 可用于干血斑样本中仑伐替尼浓度测定。

关键词: 仑伐替尼; 治疗药物监测; 定量干血斑; 液相色谱-串联质谱法

DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2025.21.018

中图分类号: R917 文献标志码: A

文章编号: 1001-6821(2025)21-3110-06

Abstract: Objective To develop a liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for the detection of lenvatinib in quantitative dried blood spots. **Methods** Lenvatinom-[d₄] was used as the internal standard. The dried blood spot samples were extracted with acetonitrile/water (70/30) and separated on a ProChrom C₁₈ reversed-phase column (2.1 mm×100.0 mm, 3.0 μm). The mobile phase consisted of 10 mmol·L⁻¹ ammonium acetate solution and methanol with gradient elution. The flow rate was 0.3 mL·min⁻¹. The ionization was carried out under the electrospray ionization positive mode. Multiple reaction monitoring was used to detect the transitions of lenvatinib at m/z 427.1→370.0 and 338.0, as well as lenvatinib-[d₄] at m/z 431.1→370.0. The specificity, standard curve, carryover, precision and accuracy, extraction recovery, matrix effect and stability of the method were investigated. **Results** Endogenous components in the dried blood spot matrix of blank human whole blood did not affect the determination. The optimized pretreatment employs a one-step extraction with acetonitrile/water (70/30). Lenvatinib in dried blood spots demonstrated good

linearity in the range of $10 - 250 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$. The standard curve equations from three analytical batches were $y = 3.81 \times 10^{-2}x + 2.76 \times 10^{-2}$ ($r = 0.9997$), $y = 2.0 \times 10^{-2}x - 4.87 \times 10^{-3}$ ($r = 0.9999$), $y = 2.01 \times 10^{-2}x - 3.68 \times 10^{-3}$ ($r = 0.9997$), respectively. The lower limit of quantification (LLOQ) was $10 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$. The intra- and inter-batch relative errors were within $\pm 15\%$, and relative standard deviation (RSD) were below 15% . There was no significant matrix effect, and lenvatinib dried blood spots sample remained stable for at least 7 days at a high temperature of 45°C . **Conclusion** The method is convenient, efficient and accurate and it is suitable for the requirements of The International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use M10 guideline "Bioanalytical Method Validation and Study Sample Analysis". It can be used for the determination of lenvatinib concentrations in dried blood spot samples.

Key words: lenvatinib; therapeutic drug monitoring; quantitative dried blood spot; liquid chromatography – tandem mass spectrometry

仑伐替尼是新型口服酪氨酸激酶抑制剂^[1-2],通过抑制肿瘤细胞的血管生成和生长信号通路,发挥抗肿瘤作用,被权威指南推荐为多种恶性肿瘤的一线治疗药物^[2]。因肿瘤治疗的长期性^[3],且仑伐替尼个体差异大,在不同患者中的疗效和药物不良反应表现不同^[4]。治疗药物监测(therapeutic drug monitoring, TDM)有助于优化治疗方案、实现精准用药^[5]。

现有 TDM 方法多采用血清或血浆样本,不适用于患者自采样。定量干血斑(quantitative dried blood spots, qDBS)作为新兴采样技术继承了干血斑便捷、稳定和低风险等优点,还提高了采样体积准确^[6],为居家采样提供了可靠的技术支持。对比国内外报道的类似研究,本文建立和验证的基于液相色谱-串联质谱法(liquid chromatography – tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)检测技术的 qDBS 样本中仑伐替尼检测方法在样本采集和预处理方面更具优势^[7]。不仅方便患者自采样,还能实现一步提取,简化操作步骤,提高了检测效率。

材料与方法

1 药品与仪器

血液样本 采集南昌大学第一附属医院健康体检者送检后剩余的血液样本,作为空白人全血样本。本研究经南昌大学第一附属医院医学伦理委员会批准(伦理批号: IIT[2023]临伦审第 137 号)。

药品 仑伐替尼(对照品),批号: H3001660,纯度: 99.3%; 仑伐替尼- $[\text{d}_4]$ (内标),批号: F0061049,纯度: 98.8%,同位素丰度: 99.9%,均购自上海自曼哈格生物科技有限公司。

仪器与耗材 Xevo TQ-S cronos 超高效液相色谱-串联质谱联用仪,美国 Waters 公司产品; BSA124s 电子天平,德国 Sartorius 公司产品; 定量干血斑采集卡,中国杭州谱胜检测科技有限责任公司产品。

2 测定方法

色谱条件 色谱柱: ProChrom C_{18} 反相色谱柱($2.1 \text{ mm} \times 100.0 \text{ mm}, 3.0 \mu\text{m}$),流动相: $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 乙酸铵水溶液(A) – 甲醇(B),梯度洗脱: $0 \sim 1 \text{ min}$, $70\% \rightarrow 100\% \text{ B}$; $1 \sim 1.4 \text{ min}$, $100\% \rightarrow 100\% \text{ B}$; $1.4 \sim 1.5 \text{ min}$, $100\% \rightarrow 70\% \text{ B}$; $1.5 \sim 3.5 \text{ min}$, $70\% \text{ B}$; 流速: $0.3 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; 柱温: 40°C ; 进样体积: $10 \mu\text{L}$ 。

质谱条件 电喷雾离子源正离子检测模式,多离子反应监测扫描方式定量,锥孔电压 25 V ,仑伐替尼的定量和定性离子对分别为 m/z $427.1 \rightarrow 370.0$ 和 338.0 ,碰撞能量分别为 25 eV 和 40 eV ,内标仑伐替尼- $[\text{d}_4]$ 的定量离子对为 m/z $431.1 \rightarrow 370.0$,碰撞能量 25 eV 。毛细管电压 3.5 kV ,脱溶剂温度 550°C ,脱溶剂气流量 $1000 \text{ L} \cdot \text{h}^{-1}$,锥孔反吹气流量 $30 \text{ L} \cdot \text{h}^{-1}$ 。

3 溶液配制与血浆样本处理

仑伐替尼溶液配制 精密称取仑伐替尼,用适量二甲基亚砜溶解,得到仑伐替尼储备液($2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$),并用甲醇/水(70/30)进一步稀释成梯度浓度的工作液。

内标仑伐替尼- $[\text{d}_4]$ 溶液及样本提取液配制用二甲基亚砜溶解仑伐替尼- $[\text{d}_4]$ 得到内标储备液($1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)。随后用乙腈/水(70/30)将内标储备液($1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)逐级稀释,制备含仑伐替尼- $[\text{d}_4]$ $2.5 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的样本提取液。

干血斑样本制备 取牛全血 $900 \mu\text{L}$ 于 EP 管中,加入不同浓度的仑伐替尼工作液 $100 \mu\text{L}$,涡旋混匀,得到质量浓度为 $10, 20, 40, 80, 160$ 和 $250 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的加标样本,分别作为 C1 ~ C6 系列浓度等级的校准品,以及质量浓度为 $10, 20, 60, 150 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的加标样本,分别作为定量下限(lower limit of quantification, LLOQ)、低浓度质控样品(lower quality control, LQC)、中浓度质控样品(middle quality control, MQC)、高浓

度质控样品(high quality control, HQC)浓度等级的质控品。用定量干血斑采集卡自带的毛细管吸取加标全血(10.0 ± 0.5) μL 后,闭合采集卡使毛细管中的全血样本自动转移至滤纸上,于阴凉通风处干燥2 h以上,即得到干血斑样本。

样本预处理 用直径8 mm的打孔器将干燥后的干血斑取下放入2 mL EP管中,加入含内标的样本提取液200 μL ,涡旋5 s,静置5 min,再次涡旋5 s。随后取上清液100 μL ,再加入甲醇/水(70/30)400 μL 稀释,涡旋混匀,待进样。

样本提取液优化 以浓度等级为MQC的干血斑为研究对象,分别加入水、10%~100%的甲醇/水或乙腈/水溶液200 μL 作为样本提取液,平行3份,作为样品组。涡旋5 s,静置5 min,再次涡旋5 s。取上清液100 μL ,加乙腈入200 μL ,涡旋5 s,静置5 min,再次涡旋5 s,在10 $^{\circ}\text{C}$ 下以 $1.2 \times 10^4 \times g$ 离心10 min沉淀蛋白质,取上清液200 μL ,加入内标($10 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 乙腈)20 μL 和甲醇/水(70/30)280 μL ,涡旋混匀。另外制备质量浓度相当于MQC浓度等级($60 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$)的溶剂加标样本,平行3份,作为对照品组。取样本10 μL 加入甲醇/水(70/30)190 μL 涡旋混匀,从中取溶液100 μL ,剩余操作与样品组相同。按“色谱条件”“质谱条件”项下操作进样。以对照品组的仑伐替尼和仑伐替尼- $[\text{d}_4]$ 峰面积比值为100%,计算经不同种类样本提取液处理后样本的绝对回收率及相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)。

4 方法学考察

本研究参考国际人用药品注册技术协调会(The International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use, ICH) M10《生物分析方法验证及样品分析》指导原则^[8]进行方法学考察。

选择性 取6份不同来源的空白人全血,按“干血斑样本制备”项下操作制备空白干血斑,并按照“样本预处理”项下操作进行预处理,但使用不含内标的样本提取液;另取浓度等级为LLOQ的干血斑,按照“样本预处理”项下操作进行预处理。上述处理后按“色谱条件”“质谱条件”项下操作进样,获得色谱图并计算空白基质中干扰组分响应占比,要求空白基质中干扰组分的响应低于LLOQ浓度等级下的定量离子通道响应的20%,并低于内标离子通道响应的5%。

标准曲线 取浓度等级为C1~C6的干血斑进行预处理后,按“色谱条件”“质谱条件”项下操作进样。以样品加标浓度为横坐标,仑伐替尼与仑伐替尼- $[\text{d}_4]$

峰面积比值为纵坐标,用 $1/x$ 权重进行线性拟合。标准曲线共测定3个批次,计算相关系数、各校正标样的回算浓度和相对误差。要求标准曲线相关系数 >0.99 ,C2~C6的回算浓度应在标示值的 $\pm 15\%$ 以内,C1处应在 $\pm 20\%$ 以内。

残留效应 取浓度等级为LLOQ、C6的干血斑进行预处理。根据“色谱条件”“质谱条件”项下操作,并按照C6、甲醇/水(70/30,空白溶剂样品)、LLOQ的顺序进样,要求空白溶剂样品中残留的响应,不应超过LLOQ浓度等级下的定量离子通道响应的20%和内标离子通道响应的5%。

精密度与准确度 取浓度等级为LLOQ、LQC、MQC、HQC的干血斑进行预处理后,按“色谱条件”“质谱条件”项下操作进样。共3个批次,每个批次平行5份,计算批间和批内RSD和相对误差,LLOQ的RSD应 $<20\%$,相对误差应在 $\pm 20\%$ 范围内,LQC、MQC和HQC的RSD应 $<15\%$,相对误差应在 $\pm 15\%$ 范围内。

基质效应 取6份不同来源的空白人全血,按“干血斑样本制备”项下操作制备空白干血斑,并按“样本预处理”项下操作,但使用不含内标的样本提取液进行预处理。取上清液100 μL ,加入仑伐替尼和仑伐替尼- $[\text{d}_4]$,使其分别达到LQC和HQC样本经预处理后进样溶液中的浓度水平,作为样品组,按“色谱条件”“质谱条件”项下操作进样,记录峰面积为A;另取乙腈/水(70/30,空白溶剂基质)配制与样品组溶液相同浓度的样本,作为对照组,与样品组同法操作进样,记录峰面积为B。计算基质因子(%)= $A/B \times 100\%$,内标归一化的基质因子(%)=分析物基质因子/内标基质因子 $\times 100\%$,经内标归一化基质因子的RSD应 $<15\%$ 。

稳定性 取浓度等级为LQC、MQC、HQC的干血斑,分别在常温避光、冷藏2~8 $^{\circ}\text{C}$ 以及高温45 $^{\circ}\text{C}$ 的条件下储存1~7天后,统一进行预处理,各质量浓度样本平行3份,按“色谱条件”“质谱条件”项下操作进样。计算各浓度等级样本测定浓度均值,其与标示值的相对误差应在 $\pm 15\%$ 范围内。

结 果

1 样本提取液优化

对水、10%~100%甲醇/水或乙腈/水溶液作为样本提取液的提取效率进行考察,结果显示,随着甲醇浓度的增加,回收率也在升高,在甲醇浓度为30%~90%时达到平台期,当浓度 $>90\%$ 时,回收率有所下降。用系列浓度乙腈/水溶液预处理的回收率变化与甲醇相

似,但当浓度>90%时,回收率会急剧下降至25.16%。
本文用乙腈/水(70/30)作为样本提取液。

2 方法学评价

专属性 待测物仑伐替尼及其内标的保留时间均为1.03 min,空白基质中干扰组分的响应占LLOQ浓度等级下定量离子通道响应的2.07%~7.23%,占内标离子通道响应的0%~0.34%,满足指导原则的要求,见图1A和1B。

标准曲线 干血斑中仑伐替尼质量浓度在10~250 ng·mL⁻¹内线性关系良好,3个分析批的标准曲线回归方程和相关系数分别为 $y = 3.81 \times 10^{-2}x + 2.76 \times 10^{-2}$ ($r = 0.999\ 7$)、 $y = 2.0 \times 10^{-2}x - 4.87 \times 10^{-3}$ ($r = 0.999\ 9$)、 $y = 2.01 \times 10^{-2}x - 3.68 \times 10^{-3}$ ($r = 0.999\ 7$),各校正标样回算浓度在标示值的-3.25%~6.00%之间,符合指导原则的要求。

残留效应 高浓度样品(C6)进样后空白溶剂中的残留占LLOQ浓度等级下的定量离子通道响应的

0.30%,占内标离子通道响应的0%,符合指导原则的要求,结果见图1C。

精密度与准确度 仑伐替尼LLOQ、LQC、MQC和HQC样本的批内、批间RSD在1.13%~4.86%之间,相对误差在-3.45%~7.36%之间,符合指导原则要求,见表1。

基质效应 仑伐替尼的低、高质量浓度样本经内标归一化的基质因子分别为100.54%和98.96%,RSD分别为0.95%、1.57%,满足指导原则要求,表明基质对干血斑中仑伐替尼的离子化效率影响可通过内标得以有效校正。

稳定性 仑伐替尼LQC、MQC、HQC浓度等级样本,在室温、冷藏2~8℃以及高温45℃储存1~7天测定浓度与标示值的相对误差在-10.23%~7.22%之间,符合指导原则要求。表明在上述条件下,干血斑中仑伐替尼稳定性良好,能满足样本在特殊环境下储存及运输的需求。

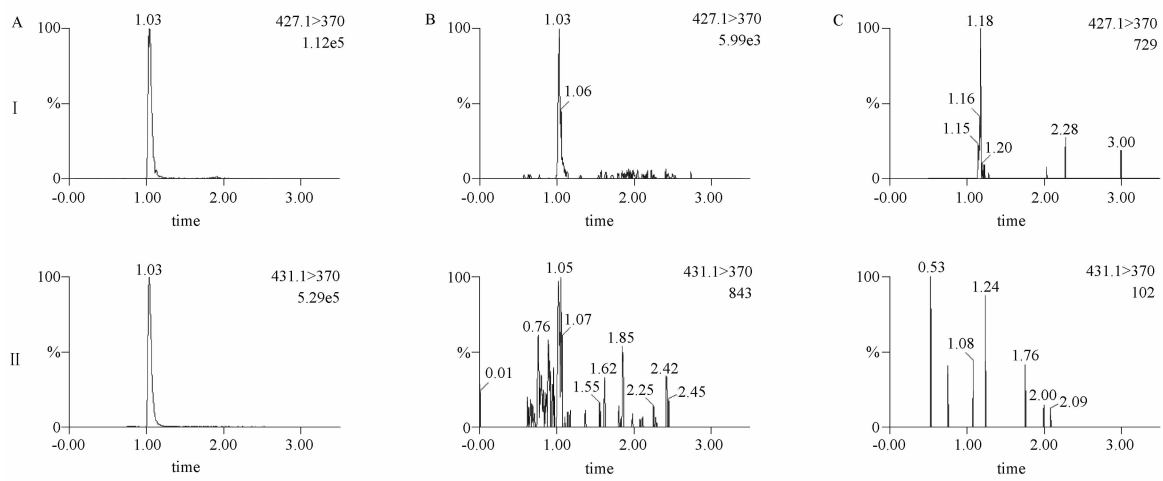


图1 定量下限(LLOQ)浓度水平干血斑样本(A)、空白样本(B)和空白溶剂样本(C)在仑伐替尼定量离子通道(I)和内标(IS)仑伐替尼-[d₄]通道(II)的典型色谱图

Figure 1 Typical chromatogram of levetinib (I) and internal standard (IS) levetinib-[d₄] (II) channels for dried blood spot of lower limit of quantification (LLOQ) (A), blank sample (B) and blank solvent (C)

表1 用液相色谱串联质谱法测定定量干血斑中仑伐替尼质量浓度的精密度和回收率

Table 1 The precision and recovery of the determination of levetinib mass concentrations in quantitative dried blood spots by liquid chromatography-tandem mass spectrometry

Level	Spiked concentration (ng·mL ⁻¹)	Intra-assay			Inter-assay		
		Measured	RSD (%)	RE (%)	Measured	RSD (%)	RE (%)
		(ng·mL ⁻¹ , $\bar{x} \pm s$)			(ng·mL ⁻¹ , $\bar{x} \pm s$)		
LLOQ	10	10.74 ± 0.27	2.56	7.36	10.21 ± 0.47	4.65	2.09
LQC	20	20.12 ± 0.45	2.25	0.58	20.56 ± 1.00	4.86	2.78
MQC	60	57.93 ± 0.74	1.28	-3.45	59.77 ± 1.94	3.25	-0.39
HQC	150	148.16 ± 1.68	1.13	-1.23	148.66 ± 2.22	1.49	-0.89

RSD: Relative standard deviation; RE: Relative error; LLOQ: Lower limit of quantification; LQC: Lower quality control; MQC: Middle quality control; HQC: High quality control.

讨 论

随着精准医疗理念的普及^[9],长期居家的慢病患者对基于TDM的精准用药策略的需求日益凸显。传统的TDM方法使用的血浆、血清样本是以采集静脉血为前提,需要患者频繁往返医院,增加时间、经济成本负担的同时^[10-12],也降低了依从性。DBS样本具有微创采样、血液需求量少、样本稳定性好、便于储存运输等优势,是居家采样的理想选择,而qDBS样本则在此基础上,进一步降低了患者自采样的操作难度。

样本提取是干血斑检测的重要环节。因干血斑样本体积小,提取过程中需要处理的内源性蛋白质相对于血浆、血清样本更少,产生基质效应及堵塞色谱柱的风险也更低。为进一步提高药物的绝对回收率并避免繁琐的溶剂置换操作,本项目选择色谱流动相常用的甲醇、乙腈作为提取试剂,并对有机相的比例进行了优化。在实验过程中发现,当有机相比比例低于30%时,回收率较低且提取液呈红色,这是高比例水相导致的干血斑中血红蛋白等内源性物质溶解^[13],因此在优化过程中使用乙腈进行沉淀。然而,用上述两步法,会增加检测的时间和试剂成本。当有机相比比例在30%~90%时,回收率达到峰值。进一步提高有机相比比例可能导致蛋白质变性并与滤纸纤维素形成致密结构,导致提取效率下降。鉴于乙腈沉淀蛋白质的效果优于甲醇,推测其具有更低的基质效应^[14]。综合考量后,本研究使用乙腈/水(70/30)作为样本提取液,无需额外蛋白沉淀步骤,一步提取即可获得高回收率,使方法更加简便、快捷。

采样规范性与专业医疗冷链物流价格昂贵是限制TDM居家采样推广的2大瓶颈^[15-16],qDBS技术有效解决了患者自采样的规范性问题,但运输环节的稳定性仍是挑战。本项目考察了2种普通快递运输模式,即冰排制冷和非温控条件下的运输环境。其中,非温控条件下的运输环境不仅模拟了常规室温,也模拟了极端高温的运输条件。结果证实,仑伐替尼qDBS样本在45℃条件下仍可以稳定储存至少7天。与传统的液态血相比,被测物在干燥的环境中化学反应速率下降,且难以腐败,可有效提高样本稳定性。此外,高温干燥环境可促进病原微生物失活,降低生物安全风险^[17]。因此,qDBS样本突破了传统专业医学冷链运输的限制,理论上可以通过常规物流运输,大幅降低样本流转成本。

目前,国内尚未建立仑伐替尼干血斑样本浓度检

测方法,国外虽有采用类似qDBS原理的体积吸收微量采样结合LC-MS/MS检测的报道^[7],但其样本预处理需经过长时间的蛋白质沉淀相较于本研究预处理步骤更为繁琐,耗时较长,限制了实际应用。

本文建立的基于LC-MS/MS技术的qDBS样本中仑伐替尼浓度检测方法选择性强,线性范围符合临床需求,精密度、准确度满足指导原则要求,样本稳定性好,采样、预处理操作简便高效,填补了国内qDBS样本中仑伐替尼浓度检测的空缺,极大程度地降低了TDM居家采样、运输、检测的难度和成本。不仅为其他小分子类药物精准用药方案的实施提供了理论依据和技术支持,更为需采用微量采血或以儿科患者为研究对象的临床研究奠定了基础,具有潜在的临床应用价值。

参考文献:

- [1] MOTOMURA K, KUWANO A, TANAKA K, *et al.* Potential predictive biomarkers of systemic drug therapy for hepatocellular carcinoma: Anticipated usefulness in clinical practice [J]. *Cancers (Basel)*, 2023, 15(17):4345.
- [2] 杨欣荣, 孙惠川, 谢青, 等. 仑伐替尼肝癌全程应用中国专家指导意见 [J]. *中华肝脏病杂志*, 2023, 31(10): 1018—1029.
- [3] PORCELLI T, LUONGO C, SESSA F, *et al.* Long-term management of lenvatinib-treated thyroid cancer patients: A real-life experience at a single institution [J]. *Endocrine*, 2021, 73(2):358—366.
- [4] NODA S, MORITA S Y, TERADA T. Dose individualization of oral multi-kinase inhibitors for the implementation of therapeutic drug monitoring [J]. *Biol Pharm Bull*, 2022, 45(7):814—823.
- [5] FANG Z, ZHANG H, GUO J, *et al.* Overview of therapeutic drug monitoring and clinical practice [J]. *Talanta*, 2024, 266(Pt 1): 124996.
- [6] MEIKOPOULOS T, GIKA H, THEODORIDIS G, *et al.* Detection of 26 drugs of abuse and metabolites in quantitative dried blood spots by liquid chromatography-mass spectrometry [J]. *Molecules*, 2024, 29(5):975.
- [7] ZIMMERMANN S, AGHAI F, SCHILLING B, *et al.* Volumetric absorptive microsampling (VAMS) for the quantification of ten kinase inhibitors and determination of their *in vitro* VAMS-to-plasma ratio [J/OL]. *J Pharm Biomed Anal*, 2022, 211: 114623. 2022-05-20 [2025-03-15]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35121279/>.
- [8] The International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use, Multidisciplinary Guidelines [EB/OL]. 2022-05-24 [2025-03-15]. <https://www.ich.org/page/multidisciplinary-guidelines#10-1>.
- [9] 王艺凝, 高宁, 刘国强. 治疗药物监测的经济学价值评估 [J]. *中国医院用药评价与分析*, 2025, 25(3):257—260.
- [10] MARTIAL L C, AARNOUTSE R E, SCHREUDER M F, *et al.*

- Cost evaluation of dried blood spot home sampling as compared to conventional sampling for therapeutic drug monitoring in children [J/OL]. *PLoS One*, 2016, 11 (12): e0167433. 2016 - 11 - 12 [2025 - 03 - 15]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27941974/>.
- [11] BRUNKHORST L, TERHARDT M, BULITTA B, *et al*. Dried blood spot sampling for monitoring children with immune - mediated glomerulopathies and after kidney transplantation [J]. *Kidney Int Rep*, 2024, 9 (11): 3236—3249.
- [12] VEROUĞSTRAETE N, STOVE V, VERSTRAETE A G, *et al*. Therapeutic drug monitoring of tyrosine kinase inhibitors using dried blood microsamples [J/OL]. *Front Oncol*, 2022, 12: 821807. 2022 - 05 - 22 [2025 - 03 - 15]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35392223/>.
- [13] WONG P, JAMES C A. Punching and extraction techniques for dried blood spot sample analysis [J/OL]. *In Dried Blood Spots*, 2014, 13: 160—167. 2014 - 06 - 13 [2025 - 02 - 06]. <https://doi.org/10.1002/9781118890837.ch13>.
- [14] KAAREDDY S, DHAKNE P, PILLAI M, *et al*. Dried blood spot sampling in protein and peptide bioanalysis: Optimism, experience, and the path forward [J/OL]. *Int J Pept Res Ther*, 2023, 29: 97. 2023 - 10 - 04 [2025 - 02 - 06]. <https://doi.org/10.1007/s10989-023-10570-x>.
- [15] BOONS C C L M, TIMMERS L, JANSSEN J J W M, *et al*. Feasibility of and patients' perspective on nilotinib dried blood spot self - sampling [J]. *Eur J Clin Pharmacol*, 2019, 75 (6): 825—829.
- [16] 刘妍希. 基于需求可拆分的医联体取送一体化路径优化研究 [D]. 北京: 北京交通大学, 2023.
- [17] SHARMA A, JAISWAL S, SHUKLA M, *et al*. Dried blood spots: Concepts, present status, and future perspectives in bioanalysis [J]. *Drug Test Anal*, 2014, 6 (5): 399—414.
- (收稿日期 2025 - 07 - 17)

· 科学文摘 ·

一项阿扎林替尼联合阿替利珠单抗与瑞格非尼治疗难治性结直肠癌的随机、开放标签 3 期试验

引自: HECHT J R, PARK Y S, TABERNERO J, *et al*. Zanzalitinib plus atezolizumab versus regorafenib in refractory colorectal cancer (STELLAR - 303): A randomised, open - label, phase 3 trial [J]. *Lancet*, 2025, 406 (10517): 2360—2370.

阿扎林替尼是一种多靶点酪氨酸激酶抑制剂,与阿替利珠单抗联合使用时,在 1 期研究中显示出有前景的抗肿瘤活性和可控的毒性。本研究目的是比较阿扎林替尼 - 阿替利珠单抗与瑞格非尼在既往治疗转移性结直肠癌患者中的疗效和安全性。本研究是一项全球性、随机、开放标签的 3 期试验,在 16 个国家的 121 个中心(包括医院、学术医疗中心和癌症专业研究机构)进行。本研究使用交互式反应技术系统,将 18 岁及以上确诊为结肠或直肠转移性腺癌同时接受过标准护理治疗,且无微卫星不稳定性高(MSI - H)或错配修复缺陷(dMMR)肿瘤的患者随机分为 2 组(1:1),阿扎林替尼 - 阿替利珠单抗组口服阿扎林替尼(每日 100 mg)联合静脉注射阿替利珠单抗(每 3 周 1 200 mg),瑞格非尼组口服瑞格非尼(每 28 天周期的第 1 ~ 21 天每日 160 mg)。双重主要终点是意向治疗(ITT)人群和无肝转移患者亚群的总体生存率。2022 年 9 月 7 日至 2024 年 7 月 15 日,共筛选 1 325 例患者,其中 901 例患者被随机分配到阿扎林替尼 - 阿替利珠单抗组($n = 451$)或瑞格非尼组($n = 450$)。528 例(59%)为男性,373 例(41%)为女性;485 例(54%)为白人,338 例(38%)为亚洲人,18 例(2%)为黑人,24 例(3%)为其他种族,36 例(4%)没有种族报告。中位随访时间为 18.0 个月(IQR 14.6 ~ 21.5),在 ITT 人群中,与瑞格非尼相比,阿扎林替尼 - 阿替利珠单抗组显示出显著的总体生存益处[分层风险比(HR) 0.80, 95% 置信区间(CI) 0.69 ~ 0.93], $P = 0.0045$,中位总体生存期为 10.9 个月,95% CI 9.9 ~ 12.1,而瑞格非尼则为 9.4 个月。在无肝转移患者亚组总生存期的中期分析中,阿扎林替尼 - 阿替利珠单抗组与瑞格非尼的分层 HR 为 0.79(95% CI 0.61 ~ 1.03), $P = 0.087$ [中位总生存期 15.9 个月(95% CI 13.5 ~ 17.6) *vs.* 12.7 个月(95% CI 10.9 ~ 15.5)]。446 例接受阿扎林替尼 - 阿替利珠单抗治疗的患者中有 268 例(60%)发生了 3 级或更严重的治疗相关不良事件,434 例接受瑞格非尼治疗的患者有 161 例(37%)发生了此类不良事件。阿扎林替尼 - 阿替利珠单抗组有 5 例(1%)与治疗相关的死亡,瑞格非尼组有 1 例(<1%)。在非 MSI - H 或 dMMR 的复发性或难治性转移性癌症患者中,使用基于免疫治疗的方案阿扎林替尼 - 阿替利珠单抗可以显著提高总体生存率。