

高效液相色谱 – 串联质谱法测定人血浆中 甲氨蝶呤和 7 – 羟基甲氨蝶呤浓度

High performance liquid chromatography tandem mass spectrometry for the determination of methotrexate and 7 – hydroxymethotrexate concentrations in human plasma

高帅帅¹, 李浩然¹, 李颖¹,
李芳婷¹, 李德强¹, 刘政阳²,
董维冲¹

(1. 河北医科大学第二医院 药学部, 河北 石家庄 050051; 2. 河北医科大学 药学院, 河北 石家庄 050017)

GAO Shuai – shuai¹, LI Hao – ran¹,
LI Ying¹, LI Fang – ting¹,
LI De – qiang¹, LIU Zheng – yang²,
DONG Wei – chong¹

(1. Department of pharmacy, The Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050051, Hebei Province, China; 2. Department of pharmacy, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, Hebei Province, China)

基金项目: 河北省自然科学基金项目 (H2024206081); 河北省医学适用技术跟踪项目 (GZ2024040); 2025 年大学生创业性实验计划项目 (USIP2025298); 中国青年创业就业基金会中国青年医学创新研究科研课题资助课题 (P250529109192)

作者简介: 高帅帅 (2002 –), 女, 硕士研究生, 主要从事临床药学研究

通信作者: 董维冲, 副主任药师, 硕士生导师

Tel: (0311) 66003762

E – mail: dongweichong@hebmu.

edu. cn

摘要:目的 建立高效液相色谱串联质谱法 (HPLC – MS/MS) 分析人血浆中甲氨蝶呤 (MTX) 及其代谢物 7 – 羟基甲氨蝶呤 (7 – OH – MTX) 的浓度, 并用于临床治疗药物监测, 以探讨其浓度与肝肾毒性的关系。**方法** 采用乙腈沉淀蛋白的方法预处理样本, 结合 HPLC – MS/MS 检测, 收集临床采用大剂量甲氨蝶呤 (HDMTX) 化疗的儿童和成人患者血样 369 份用于方法学验证, 并用统计学软件 SPSS 27 进行浓度与肝毒性和肾毒性的 Spearman 相关性分析。**结果** 人血浆中 MTX 在 $0.005 \sim 2 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度范围内线性关系良好 ($r = 0.9988$), 7 – OH – MTX 在 $0.05 \sim 20 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度范围内线性关系良好 ($r = 0.9974$), 批内批间精密性均 $< 10\%$, 提取回收率达到 $87.0\% \sim 106.1\%$, 基质效应变异系数 (CV) $< 7\%$ 。在 HDMTX 输注后 42 h、72 h 及以后的血样浓度测定结果显示, 浓度比 7 – OH – MTX/MTX 与肝功能指标丙氨酸氨基转移酶 (ALT) 和天冬氨酸氨基转移酶 (AST) 均呈显著负相关 ($P < 0.01$), 而与肾功能指标肌酐 (CR) 和肌酐清除率 (CCR) 则无明显相关性 ($P > 0.05$)。**结论** 所建方法简便、准确、灵敏, 适用于临床药物治疗监测, 通过监测 7 – OH – MTX/MTX, 可以有效预测肝毒性的发生, 以便及时进行临床药物解救。

关键词: 甲氨蝶呤; 7 – 羟基甲氨蝶呤; 治疗药物监测; 不良反应; 高效液相色谱串联质谱法

DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2026.02.014

中图分类号: R917; R969.1 **文献标志码:** A

文章编号: 1001-6821(2026)02-0237-06

Abstract: Objective To establish a high – performance liquid chromatography tandem mass spectrometry (HPLC – MS/MS) method for analyzing the concentrations of methotrexate (MTX) and its metabolite 7 – hydroxymethotrexate (7 – OH – MTX) in human plasma, and to use it for clinical drug monitoring, in order to explore the relationship between their concentrations and liver and kidney toxicity. **Methods** Acetonitrile precipitation protein method was used to preprocess the samples, combined with HPLC – MS/MS detection. 369 blood samples from pediatric and adult patients who received high – dose methotrexate (HDMTX) chemotherapy were collected for methodological validation, and Spearman correlation analysis between concentration and hepatotoxicity and nephrotoxicity was performed using statistical software SPSS 27. **Results** The linear relationship of MTX in human plasma was good within the concentration range of $0.005 \sim 2 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$

($r=0.998\ 8$), and the linear relationship of 7-OH-MTX was good within the concentration range of $0.05-20\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ($r=0.997\ 4$). The intra batch and inter batch precision were all less than 10%, the extraction recovery rate reached 87.0-106.1%, and the coefficient of variation of matrix effect was less than 7%. The analysis of blood concentration measurements at 42 hours, 72 hours, and after HDMTX infusion showed that the concentration ratio of 7-OH-MTX/MTX was significantly negatively correlated with liver function indicators alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) ($P<0.01$), while there was no significant correlation with renal function indicators creatinine (CR) and creatinine clearance rate (CCR) ($P>0.05$). **Conclusion** The established method is simple, accurate, and sensitive, and is suitable for clinical drug therapy monitoring. By monitoring 7-OH-MTX/MTX, the occurrence of liver toxicity can be effectively predicted for timely clinical drug rescue.

Key words: methotrexate; 7-hydroxymethotrexate; therapeutic drug monitoring; adverse reactions; high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry

甲氨蝶呤(methotrexate, MTX)是一种氨基蝶呤类似物,通过阻碍DNA合成来抑制肿瘤细胞的增殖^[1-2],是治疗急性淋巴细胞白血病(acute lymphoblastic leukemia, ALL)、骨肉瘤等恶性肿瘤的标准药物之一^[3],临床上把大剂量甲氨蝶呤(high dose methotrexate, HDMTX)作为常用治疗方案,但HDMTX会产生显著的不良反应,如急性肾损伤、骨髓抑制、肝毒性及胃肠道反应等。MTX主要经过肾脏排泄,部分经肝脏代谢为7-羟基甲氨蝶呤(7-hydroxymethotrexate, 7-OH-MTX),MTX的治疗指数低,个体差异大,血药浓度变异性大,仅依据MTX血药浓度单一监测指标进行药物解救从而预防毒性存在局限性,不能完全满足临床需要^[4-6],且有文献^[1,5,7]建议同时监测7-OH-MTX以达到更精准的治疗效果。唐晶晶等^[8]分析出在28例骨肉瘤患者HDMTX治疗后48 h 7-OH-MTX/MTX比值预测MTX毒副作用比单纯测定MTX浓度更敏感、准确,但该文献样本量少,且没有研究儿童ALL及其他血液肿瘤患者。

本研究建立了一种HPLC-MS/MS法同时检测人血浆中MTX及其代谢物7-OH-MTX的浓度,验证了临床HDMTX化疗的儿童和成人患者血样369份,并计算浓度比7-OH-MTX/MTX。结合患者临床肝肾毒性等不良反应探讨MTX浓度、7-OH-MTX浓度和浓度比7-OH-MTX/MTX与肝肾毒性的关系,为MTX不良反应预判提供更准确的监测指标。

材料、对象与方法

1 药品、试剂与仪器

药品与试剂 人空白血浆(EDTA抗凝)及临床

受试者血样均由河北医科大学第二医院提供。甲氨蝶呤标准品(纯度:98%, No. 100138-201606)均购自于中国食品药品检定研究院;7-羟基甲氨蝶呤(7-OH-MTX)标准品(纯度:98%, No. JS258662)和内标氘代甲氨蝶呤(MTX-D₃, No. N251B233480)购自于中国上海源叶生物科技有限公司。乙腈、甲醇(色谱纯)均购自于美国Fisher公司;异丙醇(色谱纯)购自于中国天津永大化学试剂有限公司;甲酸(色谱纯)购自于中国上海阿拉丁生化科技有限公司;水为屈臣氏蒸馏水。

仪器 LC-20A高效液相色谱仪,日本岛津公司产品;API4000⁺质谱仪,美国AB SCIEX公司产品。

2 受试者选择

本研究经河北医科大学第二医院医学伦理委员会审查批准(2024-R095),选取2023年1月~2024年7月期间儿科与血液内科收治的大剂量甲氨蝶呤(HD-MTX)化疗患者血样共369例,其中儿童ALL 273例,成人淋巴瘤37例,成人白血病59例,年龄2~68岁。

3 治疗方法与血样采集

于化疗后42 h及72 h以后进行抽取静脉血2 mL于含有EDTA抗凝剂的采血管中,在 $6.0\times 10^3\text{ g}$ 下离心5 min,取上层血浆样本直接处理分析或-40℃储存待测。

4 测定方法

色谱条件 色谱柱为Waters System C₁₈柱(150 mm×4.6 mm, 3.5 μm),流动相:A为水相(0.1%甲酸),B相为乙腈(10%异丙醇),梯度洗脱程序:0~0.5 min, 5% B;0.5~2 min, 5%~20% B;2~5 min, 20%~100% B;5~6.5 min, 100% B;6.5~6.6 min, 100%~5% B;6.6~10 min, 5% B。进样量:10 μL,柱温设定为40℃,流速为0.8 mL·min⁻¹。

质谱条件 采用电喷雾离子源正离子扫描模式进行质谱检测,电喷雾电离温度设定在 600 ℃,离子喷雾电压为 5 500 V。气帘气、离子源气体 1 和离子源气体 2 分别设定在 30、55 和 60 psi。碰撞气体为 8 psi。质谱采集采用多反应监测(MRM)模式,MTX 定量离子对: m/z 455.3 $\rightarrow$ 308.2,7-OH-MTX 定量离子对: m/z 471.1 $\rightarrow$ 324.3,内标物 MTX-D₃ 定量离子对: m/z 458.4 $\rightarrow$ 311.3,毛细管电压均为 110 V,MTX、7-OH-MTX 和 MTX-D₃ 的碰撞能量分别为 27 V、15 V 和 27 V。

溶液制备 用甲醇溶液分别溶解并制备 MTX (0.5 mmol·L⁻¹) 和 MTX-D₃ (1 mmol·L⁻¹) 储备溶液,用 10 mM NaOH 的蒸馏水溶解并制备 1 mmol·L⁻¹ 的 7-OH-MTX 的储备溶液,均于 -40 ℃ 下储存。通过混合适当体积的上述单个储备溶液并用甲醇稀释制备含有 50 μmol·L⁻¹ 的 MTX 和 500 μmol·L⁻¹ 7-OH-MTX 的混合工作溶液,并储存在 4 ℃。将上述混合工作液用蒸馏水逐级稀释,制备系列混合工作液:MTX 浓度为 20, 10, 5, 2, 1, 0.5, 0.2, 0.1, 0.05 μmol·L⁻¹;7-OH-MTX 浓度为 200, 100, 50, 20, 10, 5, 2, 1, 0.5 μmol·L⁻¹。用蒸馏水稀释 MTX-D₃ 储备液,制备 2 μg·mL⁻¹ MTX-D₃ 的内标工作液。

在 90 μL 空白人血浆中加入 10 μL 上述系列混合工作溶液,制备系列浓度为 2, 1, 0.5, 0.2, 0.1, 0.05, 0.02, 0.01 和 0.005 μmol·L⁻¹ 的 MTX 和 20, 10, 5, 2, 1, 0.5, 0.2, 0.1 和 0.05 μmol·L⁻¹ 的 7-OH-MTX 的线性血浆样本溶液。采用相同方法分别配制 MTX 低(0.01 μmol·L⁻¹)、中(0.16 μmol·L⁻¹)、高(1.6 μmol·L⁻¹)及 7-OH-MTX 低(0.1 μmol·L⁻¹)、中(1.6 μmol·L⁻¹)、高(16 μmol·L⁻¹)三个浓度的质控样本。

样品处理 血浆样本 100 μL 置于 1.5 mL 离心管中,精密加入 10 μL 的 MTX-D₃ 内标工作液(2 μg·mL⁻¹),充分涡旋混匀,加入乙腈 300 μL 进行蛋白质沉淀,涡旋 2 min 后,在 1.0 × 10⁴ g 的离心力下离心 5 min。取上清液 40 μL 转移到 1.5 mL 离心管中,加入蒸馏水 160 μL,涡旋混匀后进样分析。

5 方法学验证

选择性 对比临床样本与空白血浆样本中 MTX、7-OH-MTX 和内标物 MTX-D₃ 的色谱峰的分离效果。

线性关系,检测限,定量限 取“溶液制备”项下配制的线性血浆样本溶液(MTX:0.005 ~ 2 μmol·L⁻¹;

7-OH-MTX:0.05 ~ 20 μmol·L⁻¹),经过“样品预处理”操作后进行 HPLC-MS/MS 分析,以样品峰面积与内标峰面积比(Y)对血浆样品浓度(X)进行线性回归。以信噪比(S/N)3 和 10,分别计算 MTX 和 7-OH-MTX 浓度分析的检测限(LOD)和定量限(LOQ)。

准确度与精密度 采用“溶液制备”方法制备的低、中、高浓度 MTX 和 7-OH-MTX 质控血浆样本,经过“样本预处理”步骤处理后,进行 HPLC-MS/MS 分析。连续进样 5 次,以峰面积比值代入标准曲线计算实际浓度,通过与理论浓度的比值计算相对回收率。

基于同一分析批次中实际浓度的数据,计算相对标准偏差(RSD),评估批内精密度;在三个独立分析批次中,计算 RSD 来评估批间精密度。

回收率和基质效应 按照“溶液制备”方法分别配置低、中、高三个浓度梯度的 MTX 和 7-OH-MTX 质控血浆样本,每个浓度平行制备 6 份,经“样本预处理”操作后,通过色谱分析获得峰面积为 A,用蒸馏水溶解标准品配制等浓度溶液直接进样,测得峰面积为 B,另取空白基质配制以上相同浓度的溶液响应峰面积为 C。按回收率 = A/C × 100%,计算提取回收率。用 IS 归一化的基质因子比值评价基质效应,基质效应 = (C_样/B_样)/(C_{内标}/B_{内标}) × 100%。

稳定性 基于“溶液制备”项下方法制备 3 个低、中、高浓度的质控样本,分别考察在室温(26 ℃)下放置 24 h、进样器(15 ℃)放置 12 h、反复冻融 3 次以及 -40 ℃ 保存 30 d 后的 MTX 和 7-OH-MTX 的稳定性,每个浓度平行测定 5 份。

稀释完整性 当血浆中分析物的浓度超过定量上限时应考察稀释效应。在本研究中配制高于最高定量限 4、16、32 倍的血浆样本,分别用空白血浆稀释 5 倍、20 倍和 40 倍(n=5),经过“样本预处理”后,进行 HPLC-MS/MS 分析以评估稀释稳定性,准确度和精密度都应在 ±15% 以内。

6 统计学处理

按本实验所建方法分析 MTX 及 7-OH-MTX 的浓度,并计算浓度比 7-OH-MTX/MTX,同时结合临床记录患者的肝功能指标丙氨酸氨基转移酶(ALT)和天冬氨酸氨基转移酶(AST)及肾功能指标肌酐(CR)和肌酐清除率(CCR),采用 SPSS 27 分析 MTX、7-OH-MTX 以及浓度比 7-OH-MTX/MTX 与肝肾功能指标的相关性(若数据服从正态分布,选用 Pearson 相关性,若数据为非正态分布,则选用

Spearman 相关性)。本实验数据为非正态分布,故选择 Spearman 相关性。

结 果

1 方法学验证结果

选择性 MTX、7-OH-MTX 和内标物 MTX-D₃ 的色谱峰形良好,其保留时间分别为 4.53 min、4.83 min 和 4.52 min,而空白血浆中未发现有内源性物质干扰待测物和内标的测定,表明该方法选择性良好。见图 1

线性关系,检测限,定量限 经“ $1/X^2$ ”权重得 MTX 和 7-OH-MTX 的回归方程;分别为: $Y_1 = 5.97X + 0.00799$ ($r = 0.9988$), $Y_2 = 0.178X + 0.0000895$ ($r = 0.9974$)。结果表明,MTX 在 $0.005 \sim 2 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度范围内线性关系均良好,7-OH-MTX 在 $0.05 \sim 20 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 线性关系良好。MTX 和 7-OH-MTX 的检测限分别为 0.0025 和 $0.025 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$;MTX 和 7-OH-MTX 的定量限分别为 0.005 和 $0.05 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

准确度与精密度 MTX 和 7-OH-MTX 浓度分析准确度和精密度均良好,批内和批间精密度 RSD 均 $< 10\%$,结果见表 1。

回收率和基质效应 采用 IS 归一化的基质因子比值评价基质效应。IS 归一化基质因子的变异系数 (CV) $< 7\%$ 。回收率和基质效应稳定,结果见表 2。

稳定性 低、中、高浓度的血浆质控样本中,MTX 和 7-OH-MTX 在室温下放置 24 h、进样器放置 12 h、反复冻融 3 次以及 -40°C 保存 30 d 的稳定性良好, RSD $< 15\%$ 。

稀释完整性 稀释样品的准确度和精密度均在 $\pm 10\%$,表明稀释 5 倍、20 倍和 40 倍不会影响分析结果。

2 方法学应用结果

本实验所建方法成功用于我院 369 例采用 HDMTX 化疗的患者血浆中 MTX 和 7-OH-MTX 的浓度测定。测定结果显示,MTX 的浓度范围为 $0.00505 \sim 31.2 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$,7-OH-MTX 的浓度范围为 $0.05 \sim 9.18 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。其中,6 例样本中 MTX 浓度低于 LOQ,46 例样本中 7-OH-MTX 浓度低于 LOQ。低于 LOQ 的数值用 $\text{LOD}/\sqrt{2}$ 表示。

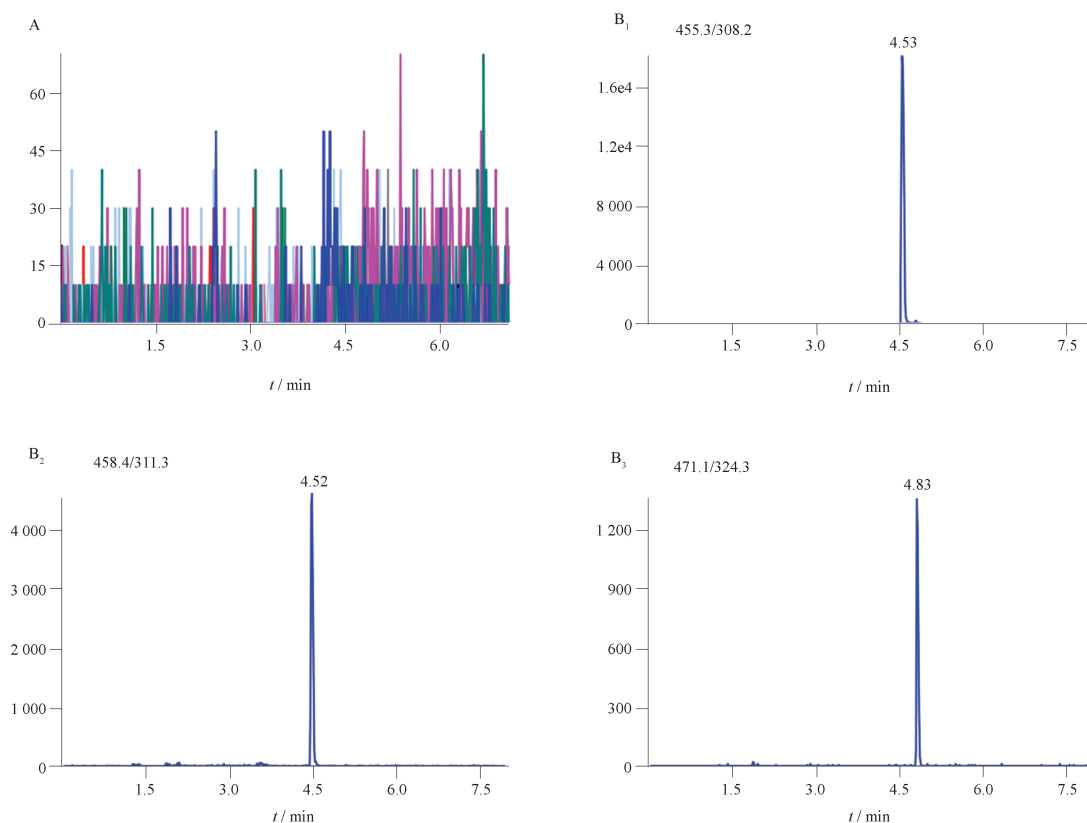


图1 空白血浆样本(A)和临床血浆样本(B)的代表性 HPLC-MS/MS 色谱图;B₁: MTX, B₂: MTX-D₃, B₃: 7-OH-MTX。

Figure 1 Representative HPLC-MS/MS chromatograms of blank plasma sample (A) and clinical plasma sample (B); B₁: MTX, B₂: MTX-D₃, B₃: 7-OH-MTX.

MTX、7-OH-MTX 以及 7-OH-MTX/MTX 浓度与肝肾功能的 Spearman 相关性结果见表 3, 发现 42 h 的 MTX 浓度只与 CR 相关($P < 0.05$), 72 h 及以后的 MTX 浓度与 CR、AST 都有相关性, 尤其是与肾功能 CR 的正相关性显著($P < 0.01$)。42 h、72 h 及以后的 7-OH-MTX 虽然都与 AST 相关($P < 0.05$), 但是与 ALT 均无明显的相关性($P > 0.05$)。72 h 及以后的 7-OH-MTX 浓度与 CR 显著相关($P < 0.01$), 而 42 h、72 h 及以后的浓度比 7-OH-MTX/MTX 与肝功能 AST、ALT 均呈显著负相关($P < 0.01$), 与肾功能 CR、CCR 无明显相关性。

表 1 MTX 和 7-OH-MTX 质控血浆样本的相对回收率和精密度结果 ($n = 5$)

Table 1 Relative recovery and precision results of MTX and 7-OH-MTX quality control plasma samples ($n = 5$)

Drug	Added concentration ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	Found concentration ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, $\bar{x} \pm s$)	Relative Recovery (%, $\bar{x} \pm s$)	Intra-RSD (%)	Inter-RSD (%)
MTX	0.005	0.0053 $\pm$ 0.00	106.28 $\pm$ 8.97	8.44	8.25
	0.01	0.01 $\pm$ 0.00	102.66 $\pm$ 6.07	5.92	6.68
	0.16	0.16 $\pm$ 0.00	100.00 $\pm$ 3.59	2.25	2.55
	1.6	1.55 $\pm$ 0.03	96.88 $\pm$ 1.77	1.82	3.15
7-OH-MTX	0.05	0.05 $\pm$ 0.00	96.80 $\pm$ 3.27	3.38	7.45
	0.1	0.11 $\pm$ 0.00	107.00 $\pm$ 3.60	3.37	8.62
	1.6	1.59 $\pm$ 0.06	99.13 $\pm$ 3.50	3.53	4.81
	16	16.04 $\pm$ 0.18	100.25 $\pm$ 1.14	1.13	4.77

表 3 7-OH-MTX/MTX 与肝功能 Spearman 相关性结果

Table 3 Spearman correlation between 7-OH-MTX/MTX and liver and kidney function

Drug	Time/h	Data	ALT	AST	CR	CCR
MTX	42	r	0.071	0.047	0.143 *	-0.093
		P	0.323	0.519	0.048	0.197
	≥ 72	r	0.112	0.168 *	0.224 **	-0.107
		P	0.139	0.026	0.003	0.157
7-OH-MTX	42	r	-0.122	-0.295 **	0.018	-0.037
		P	0.090	3.1×10^{-5}	0.803	0.606
	≥ 72	r	-0.102	-0.161 *	0.306 **	-0.127
		P	0.177	0.033	3.6×10^{-5}	0.093
7-OH-MTX/MTX	42	r	-0.269 **	-0.425 **	-0.065	-0.065
		P	1.6×10^{-4}	7.4×10^{-10}	0.371	0.368
	≥ 72	r	-0.345 **	-0.472 **	0.040	0.007
		P	3.0×10^{-6}	3.8×10^{-11}	0.596	0.924

Note: *, at the 0.05 level (double tailed), the correlation is significant; **, at the 0.01 level (double tailed), the correlation is significant; r represents the correlation coefficient, P represents the significance coefficient.

讨 论

目前,临床上测量 MTX 血药浓度最常用的有荧

表 2 MTX 和 7-OH-MTX 质控血浆样本的提取回收率和基质效应结果 ($n = 6$)

Table 2 Extraction recovery and matrix effects of MTX and 7-OH-MTX quality control plasma samples ($n = 6$)

Drug	Concentration ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	Extraction Recovery (%)	Matrix Effects (%)	CV (%)
MTX	0.01	106.11	100.53	6.84
	0.16	95.41	104.45	5.59
	1.6	86.96	109.19	4.72
7-OH-MTX	0.1	101.89	101.21	5.55
	1.6	100.54	104.17	5.21
	16	92.36	101.63	6.56

光偏振免疫分析(FPIA)法、高效液相色谱(HPLC)法等,其中,针对 FPIA 法而言,在实际操作时,往往需选用专用试剂盒,检测结果易受血液中内源性物质干扰,而且成本高^[9]。HPLC 法虽然准确度高,特异性

好,但存在灵敏度低、分析时间较长、临床样本易受杂质峰干扰等缺点^[10],难以满足临床时效性和大样本的快速检测。相比而言,本实验采用的 HPLC-MS/MS 法,具有操作简便,选择性高,灵敏度高,检测速度快等优势,且可同时测定代谢物 7-OH-MTX。除此之外,本实验利用氘代甲氨蝶呤(MTX-D₃)作为内标,可降低基质效应,降低分析误差,提高了分析方法的准确性和可靠性。

在 HDMTX 化疗后,根据 MTX 的血药浓度,适时、适量地给予 CF 解救,既能确保 HDMTX 的治疗效果,又能有效预防严重不良反应的发生。文献^[7]发现在给药后 14 h、38 h 和 62 h,肾功能损害组的 MTX 和 7-OH-MTX 血浆浓度显著高于肾功能正常组($P < 0.003$),肝功能受损患者的 7-OH-MTX 血浆水平明显高于肝功能正常者($P \leq 0.001$)。有文献^[11]报道 24 h 的 MTX 和 7-OH-MTX 血浆浓度与总不良反应发生率($P < 0.05$)和肾功能损伤发生率($P < 0.05$)均具有相关性,但是这些研究都没有探讨其浓度比 7-OH-MTX/MTX 与肝肾毒性的关系。

治疗药物监测中建议同时测定 7-OH-MTX 浓度,7-OH-MTX 虽可以反映代谢产物水平,但容易受个体清除差异影响。因此我们假设浓度比 7-OH-MTX/MTX 可排除个体药代动力学差异,更敏感地提示代谢异常,更有效地预测毒性反应。本研究结果证实,使用 HDMTX 治疗后肝功能指标 ALT 和 AST 均与 7-OH-MTX/MTX 呈明显负相关($P < 0.01$),7-OH-MTX/MTX 可以成为肝毒性不良反应的发生的预测因子。

有研究^[12]表明,7-OH-MTX 可能是肾毒性的主要原因,本研究中,42 h、72 h 及以后的 MTX 浓度与 CR 相关($P < 0.05$),72 h 及以后的 7-OH-MTX 浓度与 CR 显著正相关($P < 0.01$),MTX 和 7-OH-MTX 浓度均与 CCR 无明显相关性。浓度比 7-OH-MTX/MTX 与 CR、CCR 没有相关性,可能原因是本研究中收集的 369 例血浆样本中儿童样本居多,且肾功能正常的患者偏多,正如文献报道^[8]临床采用水化和碱化等措施来增加 MTX 和 7-OH-MTX 在尿中的溶解度,促进 MTX 和 7-OH-MTX 的排泄,所以 HDMTX

化疗导致的肾功能损伤在临床少见。因此有关 MTX 浓度、7-OH-MTX 浓度和浓度比 7-OH-MTX/MTX 与肾毒性的相关性研究还有待后续扩大样本量后进行深入研究。

参考文献:

- [1] 胡楠,钱卿,恽琴素,等. LC-MS/MS 法检测血液恶性肿瘤患者血清中甲氨蝶呤及其代谢物 7-羟基甲氨蝶呤的浓度[J]. 中国药师,2020,23(05):910—913.
- [2] BING H, MA Y, XU J, et al. Impact of Methotrexate and 7-Hydroxymethotrexate Exposure on Renal Toxicity in Pediatric Non-Hodgkin Lymphoma [J]. *Cancer Med*, 2025, 14(02):e70516.
- [3] 马毅,宋再伟,赵立波,等. 7-羟基甲氨蝶呤体内浓度与甲氨蝶呤临床结局相关性的系统评价[J]. 中国临床药理学杂志, 2022, 38(23):2893—2897.
- [4] 熊仲波,蒋明明,卢培,等. 142 例骨肉瘤患者甲氨蝶呤血药浓度与肝损伤的关系分析[J]. 国际检验医学杂志, 2025, 46(04):502—505.
- [5] 方焱,方策,孟祥晖,等. 基于 7-羟基甲氨蝶呤血药浓度监测的大剂量化疗骨肉瘤患者肝功能损伤预测模型构建[J]. 中国医院药学杂志, 2022, 42(19):2040—2045.
- [6] 赵晨,兰云意,杨柱梅,等. 34 例骨肉瘤患者大剂量甲氨蝶呤化疗后血药浓度与不良反应分析[J]. 肿瘤药学, 2022, 12(01):77—81.
- [7] MEI S, SHI X, DU Y, et al. Simultaneous determination of plasma methotrexate and 7-hydroxy methotrexate by UHPLC-MS/MS in patients receiving high-dose methotrexate therapy [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2018, 158:300—306.
- [8] 唐晶晶,汪硕闻,朱蓓琳,等. 大剂量甲氨蝶呤治疗骨肉瘤患者时甲氨蝶呤及其代谢产物血药浓度与不良反应相关性研究[J]. 中南药学, 2019, 17(03):450—454.
- [9] 谢亦娴,蔡秀莺. HPLC 监测甲氨蝶呤血药浓度方法的改进与优化[J]. 北方药学, 2023, 20(04):1—4, 9.
- [10] 周青,张晏洁,薛源,等. LC-MS/MS 法测定骨肉瘤患者血清中甲氨蝶呤及其代谢产物 7-羟基甲氨蝶呤的浓度[J]. 药学与临床研究, 2021, 29(04):267—270.
- [11] LUO GJ, WANG L, HU GF, et al. Clinical application of the simultaneous detection of methotrexate and 7-hydroxymethotrexate in the delayed elimination for pediatric acute lymphoblastic leukemia [J]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*, 2020, 100(25):1973—1978.
- [12] SONG Y, LIU L, LIU B, et al. Interaction of nobiletin with methotrexate ameliorates 7-OH methotrexate-induced nephrotoxicity through endoplasmic reticulum stress-dependent PERK/CHOP signaling pathway [J]. *Pharmacol Res*, 2021, 165:105371.

(本文编辑:冀希炜 收稿日期 2025-03-25)