

用 UPLC 法测定人血清中帕唑帕尼浓度

Determination of pazopanib concentration in human serum by UPLC

李发双, 黎林波, 李惠英,
余绍春, 雷 嫣, 卢红敏,
茹 毅, 张力麟, 鲁 萍,
孔 洁, 周 瑾

(昆明市儿童医院/昆明医科大学 附属儿童医院
药剂科, 云南 昆明 650228)

LI Fa - shuang, LI Lin - bo,
LI Hui - ying, YU Shao - chun,
LEI Yan, LU Hong - min,
RU Yi, ZHANG Li - lin,
LU Ping, KONG Jie,
ZHOU Jin

(Department of Pharmacy, Kunming
Children's Hospital (Children's Hospital
Affiliated to Kunming Medical
University), Kunming 650228, Yunnan
Province, China)

基金项目: 云南省科技厅科技计划基金资助项目
(202301AY070001 - 280); 云南省
卫生科技成果转化基金资助项目
(YX - 2023 - 02)

作者简介: 李发双(1990 -), 男, 主管药师, 主
要从事治疗药物监测的工作和研究

通信作者: 李惠英, 主任药师, 硕士生导师
Tel: (0871) 63309256
E - mail: 2064790166@qq.com

摘要:目的 建立超高效液相色谱法(UPLC)测定人血清中帕唑帕尼浓度。方法

以卡马西平为内标(IS), 乙腈为蛋白沉淀剂。采用 Agilent InfinityLab Poroshell 120 EC - C₁₈ (2.1 x 50 mm, 1.9 μm) 色谱柱进行分离, 流动相为 0.1% 甲酸水溶液 - 乙腈溶液, 梯度洗脱方式, 流速为 0.25 mL · min⁻¹, 波长为 268 nm, 柱温为 40 °C, 进样量为 25 μL。考察该方法的专属性、标准曲线、定量下限、精密度、回收率和稳定性。**结果** 在该色谱条件下, 待测物及内标可良好分离, 无其他内源性物质峰干扰。帕唑帕尼在 0.25 ~ 100 μg · mL⁻¹ 线性关系良好, 标准曲线为 $y = 63.37 \times 10^{-2}x - 0.49 \times 10^{-2}$ ($r^2 = 0.9999$)。定量下限为 0.25 μg · mL⁻¹。日内、日间精密度的相对标准偏差(RSD)均小于 12.02%, 提取回收率高于 86.44%。稳定性良好, RSD 均小于 8.80%。**结论** 本研究所建立的 UPLC 法操作简洁, 选择性强, 灵敏度高, 结果准确可靠, 适用于人血清中帕唑帕尼的测定。

关键词: 超高效液相色谱法; 帕唑帕尼; 血清浓度; 治疗药物监测

DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2026.04.012

中图分类号: R969 **文献标志码:** A

文章编号: 1001 - 6821 (2026) 04 - 0530 - 05

Abstract: Objective To establish an ultra performance liquid chromatography (UPLC) method for determining the concentration of pazopanib in human serum. **Methods** Carbamazepine was used as an internal standard (IS), and acetonitrile as a protein precipitant. Separation was performed on an Agilent InfinityLab Poroshell 120 EC - C₁₈ column (2.1 x 50 mm, 1.9 μm) with a mobile phase of 0.1% aqueous formic acid - acetonitrile solution in gradient elution mode. The flow rate was 0.25 mL · min⁻¹, detection wavelength was 268 nm, column temperature was 40 °C, and injection volume was 25 μL. The specificity of the method, the standard curve and the lower limit of quantification, the accuracy and precision and the stability of the sample were investigated. **Results** Under the established chromatographic conditions, the analyte and internal standard exhibited satisfactory separation without interference from endogenous substances. Pazopanib demonstrated good linearity within the concentration range of 0.5 - 100 μg · mL⁻¹. The standard curve was $y = 63.37 \times 10^{-2}x - 0.49 \times 10^{-2}$ ($r^2 = 0.9999$) and the lower limit of quantification can reach 0.25 μg · mL⁻¹. The relative standard deviations (RSD) for both intra - day and inter - day precision were less than 12.02%, with extraction recovery rates exceeding 86.44%. Stability was good, with RSD below 8.80%. **Conclusion** The established UPLC method is simple,

selective, sensitive, accurate, and reliable for determining pazopanib in human serum.

Key words: ultra performance liquid chromatography; pazopanib; serum concentration; therapeutic drug monitoring

帕唑帕尼(pazopanib, PAZ)是一种血管内皮生长因子受体的小分子酪氨酸激酶抑制剂,也是抗血管生成药物中的一种^[1-2]。该药于2009年和2012年分别被美国食品药品监督管理局(FDA)批准用于晚期肾癌及接受化疗的晚期软组织肉瘤等恶性疾病的治疗^[3-4]。帕唑帕尼药代动力学研究表明,其特征复杂:溶解度依赖pH值、个体差异大、生物利用度低且呈非线性时间依赖性^[5-6]。同时有报道部分患者存在呕吐、腹泻、高血压、手足皮肤红斑综合征及肝功能障碍等严重副作用^[7-9],因此,需要根据血药浓度进行个体化剂量调整。本研究建立了一种简单、快速、稳定的超高效液相色谱(ultra performance liquid chromatography, UPLC)法测定人血清中帕唑帕尼的浓度,为临床个体化治疗提供参考。

材料与方法

1 材料

样本 本研究使用的空白血清样本来自昆明市儿童医院儿保科健康体检志愿者。为确保样本质量和检测准确性,制定了严格的筛选标准。纳入标准:①体检前一周内未服用任何药物,②近一周内未接受过疫苗接种,以减少免疫相关因素的潜在影响。排除标准:不符合上述条件者不予采用。经严格筛选后,这些样本在完成体检相关检测后,收集了符合要求的剩余血清样本,经过规范处理保存,作为后续研究提供的基础材料。本研究经昆明医科大学附属儿童医院伦理委员会批准(伦理批号:2026-05-012-K01)。

药品 帕唑帕尼对照品,规格:每瓶10 mg,纯度:98.0%,批号:TMC778-A1347,购自上海谱芬生物科技有限公司;卡马西平(内标, internal standard, IS),规格:每瓶100 mg,纯度:98.0%,批号:MB1296-S,购自辽宁大连美伦生物技术有限公司。

仪器 Agilent 1290 超高效液相色谱仪(包括四元泵、自动进样器、紫外检测器等),美国安捷伦公司产品;MGS氮气浓缩装置和XH-B型旋涡混合器,云南昆明倍捷科技有限公司产品;D1524R台式高速冷冻离心机,美国安捷伦公司产品;SC-3616低速离心机,安徽中科中佳科学仪器有限公司产品。

2 测定条件与溶液配制

色谱条件 色谱柱:采用 Agilent InfinityLab Poro-

shell 120 EC-C₁₈(2.1 x 50 mm, 1.9 μm);流动相为0.1% 甲酸水溶液(A)-乙腈(B)溶液,流速为0.25 mL·min⁻¹,波长为268 nm,柱温为40℃,进样量为25 μL。梯度洗脱程序:0~1 min, 95% A;1~1.5 min, 95%~65% A;1.5~4.5 min, 65%~70% A;4.5~5 min, 70%~95% A。

储备液配制 取帕唑帕尼适量,精密称定,用甲醇溶解,配制质量浓度为1 mg·mL⁻¹的储备液。取卡马西平适量,精密称定,用甲醇配制成质量浓度为1 mg·mL⁻¹的储备液;临用前,取适量储备液,用甲醇稀释质量浓度为50 μg·mL⁻¹的内标工作液。

标准曲线样品与质控样品配制 取帕唑帕尼适量储备液,用甲醇依次稀释成质量浓度为2.50、5.00、7.50、10.00、50.00、100.00、250.00、500.00、750.00和1000.00 μg·mL⁻¹的系列工作液,取上述系列工作液20 μL于1.5 mL离心管中,加入空白血清180 μL,涡旋20 s,得到0.25、0.50、0.75、1.00、5.00、10.00、25.00、50.00、75.00和100.00 μg·mL⁻¹的标准曲线样品。用上述方法配制帕唑帕尼质量浓度为0.25、0.50、25和85 μg·mL⁻¹的血清质控样品。

血样样品处理 取血清180 μL,置于1.5 mL离心管中,加内标溶液20 μL,涡旋震荡10 s,加入7%高氯酸200 μL,涡旋震荡1 min,4000 r·min⁻¹离心10 min,取上清液200 μL转移至含有内插管的液相进样小瓶中,进样25 μL。

3 方法学考察

专属性 分别取空白血清、空白血清+对照品、空白血清+内标,空白血清+对照品+内标,按“血样样品处理”进行操作,进样进行色谱分析,记录色谱图。

准曲线与定量下限 按照“标准曲线样品与质控样品配制”及“血样样品处理”项下制备得到帕唑帕尼标准曲线样本,进样检测。以待测物质的浓度为横坐标(x),待测物质与内标峰面积之比为纵坐标(y),用加权($W=1/x^2$)最小二乘法进行回归,得到线性回归方程,并确定定量下线。

精密度与准确度 按照“标准曲线样品与质控样品配制”及“血样样品处理”项下制备定量下限及低、中、高质量浓度为0.25、0.50、25和85 μg·mL⁻¹的帕唑帕尼血清质控样品,每个质量浓度平行操作5份,计算日内准确度和精密度;连续5 d测样,计

算日间准确度和精密度。将测得峰面积比值代入标准曲线计算帕唑帕尼浓度,并与真实浓度值对比,即为准确度。

提取回收率 按照“标准曲线样品与质控样品配制”项下制备定量下限及低、中、高质量浓度为 0.25、0.50、25 和 85 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的帕唑帕尼血清质控样品,每个质量浓度平行操作 5 份,并按“血样样品处理”项下方法进行操作,进样检测,记录峰面积为 A1;同时另取空白血浆,按“血样样品处理”项下方法进行操作,不加内标,向获得的上清液中加入内标及帕唑帕尼质量浓度为 0.25、0.50、25 和 85 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的质控样品,每个质量浓度平行操作 5 份,记录峰面积为 A2;提取回收率为 $A1/A2 \times 100\%$ 。

稳定性 按照“标准曲线样品与质控样品配制”项下定量下限及低、中、高质量浓度为 0.25、0.50、25 和 85 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的帕唑帕尼血清质控样品,每个质量浓度平行操作 5 份,分别考察待测样品置于室温下放置 24 h、4 $^{\circ}\text{C}$ 放置 48 h、-20 $^{\circ}\text{C}$ 放置 1 周及 -80 $^{\circ}\text{C}$ 反复冻融 3 次条件下血清质控样品的稳定性。

结 果

1 方法学评价

专属性 在本实验条件下,帕唑帕尼保留时间为 4.63 min,内标保留时间为 6.22 min,基线平稳,帕唑帕尼和内标峰之间完全分离,且不受血浆中内源性物质干扰,见图 1。

标准曲线与定量下限 帕唑帕尼血药浓度在

0.25 ~ 100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 内线性关系良好,标准曲线为 $y = 63.37 \times 10^{-2}x - 0.49 \times 10^{-2}$ ($r^2 = 0.9999$)。定量下限为 0.25 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

精密度、准确度与回收率 计算帕唑帕尼定量下限及 0.50、25 和 85 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 质量浓度质控样品的日内、日间精密度与准确度。日内、日间精密度相对标准偏差 (relative standard deviation, RSD) 均小于 12.02%,准确度相对误差 (relative error, RE) 均小于 12.00%,提示该方法的重现性好,血清中帕唑帕尼的提取回收率均高于 86.44%,满足检测需求,见表 1。

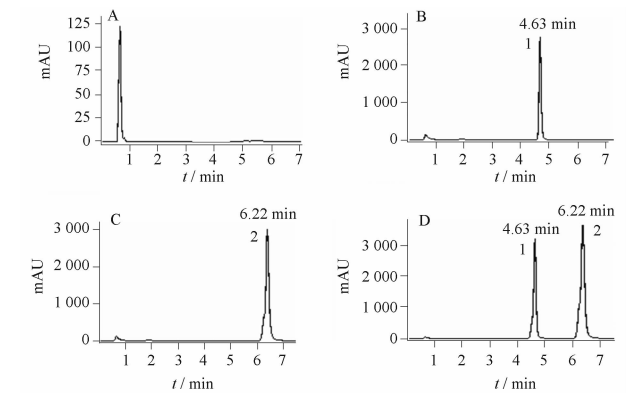


图 1 血清样本中帕唑帕尼和内标的超高效液相色谱图
Figure 1 Ultra performance liquid chromatography (UPLC) chromatogram of pazopanib and the internal standard in serum samples
A: Blank serum sample; B: Blank serum spiked with pazopanib sample; C: Blank serum spiked with internal standard sample; D: Blank serum spiked with pazopanib and internal standard sample. 1: Pazopanib; 2: Carbamazepine (IS)

表 1 用超高效液相色谱(UPLC)测定帕唑帕尼在血清中的精密度、准确度、回收率

Concentration ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	Intra - day (n = 5)			Inter - day (n = 5)			Extraction recovery (%, $\bar{x} \pm s$)
	Measured	RSD (%)	RE	Measured	RSD (%)	RE	
	($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}, \bar{x} \pm s$)		(%)	($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}, \bar{x} \pm s$)		(%)	
0.25	0.23 $\pm$ 0.02	8.70	-8.00	0.26 $\pm$ 0.03	11.54	4.00	92.31 $\pm$ 5.87
0.50	0.56 $\pm$ 0.04	7.14	12.00	0.55 $\pm$ 0.03	5.45	10.00	96.18 $\pm$ 8.33
25.00	26.73 $\pm$ 2.53	9.47	6.92	27.31 $\pm$ 3.31	12.02	9.24	95.79 $\pm$ 9.11
85.00	80.97 $\pm$ 7.31	9.03	-4.74	89.33 $\pm$ 8.59	9.62	5.09	103.21 $\pm$ 8.59

RSD: Relative standard deviation; RE: Relative error.

稳定性 质控样品置于室温下放置 24 h、4 $^{\circ}\text{C}$ 放置 48 h、-20 $^{\circ}\text{C}$ 放置 1 周及 -80 $^{\circ}\text{C}$ 反复冻融 3 次条件下均稳定, RSD 均小于 8.80%, 表明帕唑帕尼在上述条件下稳定性良好。

讨 论

目前,人体血清中帕唑帕尼血药浓度监测方法

的研究较少,主要是集中于研究测定原料药和制剂中帕唑帕尼浓度的方法^[10-11]。国外有研究^[12-13]采用高效液相色谱法监测人体血清中帕唑帕尼血药浓度,但该方法从样本前处理到分析需耗时超过1 h,时间较长;而液相色谱-质谱联用技术^[14-17]虽具备优异检测性能,但由于设备与运行成本高昂且操作技术要求较高,限制其在临床上的应用。本研究首次开发一种超高效液相色谱方法,用于测定帕唑帕尼在人血清样本中的含量,并对方法进行了系统性的验证,验证结果符合生物样本分析验证标准^[18-19]。

对于蛋白沉淀剂的使用,MINOCHA等^[15]采用液相色谱-串联质谱法测定小鼠血浆中的帕唑帕尼时,使用乙酸乙酯作为萃取剂,该方法操作复杂,需进行氮气吹干并溶解残渣。CARDOSO等^[20]同样采用液相色谱-串联质谱法测定人血浆中的帕唑帕尼,但选用甲醇作为蛋白沉淀剂,操作过程仍需氮气干燥1 h,最后用150 μL 甲醇/水(1:1)复溶提取物。本研究采用蛋白沉淀法作为样品前处理方法,取血清200 μL ,加入7%高氯酸沉淀蛋白,结果发现血清样品经蛋白沉淀处理后,色谱图中无内源性物质峰的干扰,待测样品及内标响应值较高,稳定性较好,提取回收率高,且操作简单,成本低廉。预实验还研究了甲醇、乙腈作为蛋白沉淀剂。结果显示,甲醇、乙腈作为蛋白沉淀剂,基线漂移,峰形较差。VAN VEELEN等^[21]以帕唑帕尼为内标,采用HPLC-MS/MS法建立了人血浆中奥希替尼的定量分析方法。该方法与本研究类似,均采用蛋白沉淀法进行样品前处理:加入蛋白沉淀剂后离心取上清。但该研究需配制专用蛋白沉淀剂,且需将上清液转移至玻璃样品瓶后加入400 μL 水,以确保与色谱分析梯度条件兼容。总体来说,本实验前处理方法简单直接,可避免复杂操作过程中引入杂质污染样品,适用于监测患者血清中唑尼沙胺的血药浓度。

对于流动相的选择,赵玲等^[12]人开发并验证了一种基于紫外检测的高效液相色谱法,用于测定片剂中的帕唑帕尼浓度。该方法采用乙腈:0.02 mol·L⁻¹ 醋酸铵缓冲液=35:65(v/v)的等度洗脱模式,但实验发现醋酸铵会导致色谱柱堵塞。PALUDETTO等^[16]人采用UPLC-MS/MS同时监测帕唑帕尼及其代谢物浓度,流动相为5 mM 甲酸铵和含0.1%(v/v)甲酸的乙腈,采用梯度洗脱程序。该方法同样存在甲酸铵堵塞色谱柱的问题,且流速较高(0.4 mL·min⁻¹)。CARDOSO和VAN VEELEN等^[20-21]人均采用液相色

谱-串联质谱法测定人血浆中的帕唑帕尼。他们的流动相均由含0.1%甲酸的2 mM 醋酸铵水溶液和含0.1%甲酸的乙腈组成,但醋酸铵也会导致色谱柱堵塞。此外,CARDOSO等^[20]方法的线性范围为500-1 000 ng·mL⁻¹,而VAN VEELEN等^[21]方法的线性范围仅为25-500 ng·mL⁻¹。本实验对流动相的种类(甲醇-水,乙腈-水,乙腈-乙酸钠、乙酸铵,0.3%磷酸-乙腈,0.1%甲酸-乙腈),以及有机相和水相的配比(15:85、35:65、50:50、75:25和90:10),波长(288 nm、268 nm、238 nm)分别进行了考察,结果显示,使用0.1%甲酸-乙腈作为流动相进行梯度洗脱(65:35→70:30),波长为268 nm时待测物及内标峰形较好,基线平稳,无内源性杂质峰的干扰,具有良好的重现性,在此条件下,线性范围为0.5~100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。TOH等^[22]采用HPLC-MS/MS法测定人血浆中游离帕唑帕尼浓度,同样使用0.1%甲酸-乙腈作为流动相进行梯度洗脱。该方法色谱总运行时间为10.0 min,而本实验方法运行时间为6.5 min。因此,本实验方法适用于检测人血清中帕唑帕尼的浓度,进而指导临床用药。

本研究存在一定局限性。目前帕唑帕尼在儿童人群中的安全性和有效性尚未得到充分验证,因此尚未获批用于儿科患者。由于我们目前处于该科研项目研究阶段,缺乏儿科患者的临床应用数据。后续研究将通过精心设计的临床试验,收集帕唑帕尼在儿童人群中使用的全面数据,从而进一步补充其在儿科临床实践中的方法学应用,并为该患者群体合理使用帕唑帕尼提供科学依据。

本研究提示:本实验方法在蛋白沉淀剂选择、流动相组成、分析时间、成本效益及线性范围等方面,较其他高效液相色谱或液相色谱-串联质谱技术具有一定优势。因此,本实验所建立的超高效液相色谱方法对于缺乏质谱仪等精密仪器的资源有限的偏远地区具有特殊价值。所建立的方案在测定患者血清帕唑帕尼浓度时表现出强特异性和优异稳定性,完全满足帕唑帕尼治疗药物监测的检测限要求。该方法为临床医师提供了一种准确、可靠且易于实施的色谱技术,适用于常规临床应用。

参考文献:

- [1] HENRIKSEN J N, ANDERSEN C U, DONSKOV F, et al. Therapeutic drug monitoring (TDM) of tyrosine kinase inhibitors (TKI) for optimized outcome in patients with metastatic renal cell carcinoma. The TKI-TDM Trial. Study protocol [J/OL]. *Acta Oncol*, 2025, 64: 729-733. 2025-06-02 [2025-12-09].

- <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/40457584/>.
- [2] BOURNAKIS E, XANTHAKIS I, VASLAMATZIS M, *et al.* Efficacy and treatment outcomes of first – line pazopanib therapy in advanced renal cell carcinoma in greece [J]. *Anticancer Res*, 2025, 45(6): 2527—2534.
- [3] LANG J M, HARRISON M R. Pazopanib for the treatment of patients with advanced renal cell carcinoma [J/OL]. *Clin Med Insights Oncol*, 2010, 4: 95—105. 2010 – 10 – 01 [2025 – 12 – 09]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20981133/>.
- [4] CLARK P E. Rationale for targeted therapies and potential role of pazopanib in advanced renal cell carcinoma [J/OL]. *Biol – Targets Ther*, 2010, 4: 187—97. 2010 – 08 – 09 [2025 – 12 – 09]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20714356/>.
- [5] TARDY C, PUSZKIEL A, BOUDOU – ROUQUETTE P, *et al.* Pazopanib pharmacokinetically guided dose optimization in three cancer patients with gastrointestinal resection [J]. *Cancer Chemoth Pharm*, 2024, 93(2): 169—175.
- [6] RIEBORN A, GIRAUD E L, VAN GELDER T, *et al.* Exploring the association between intra – patient variability in trough concentration of pazopanib and clinical outcomes in renal cell carcinoma and soft tissue sarcoma patients [J]. *Clin Pharmacol Ther*, 2025, 118(2): 489—496.
- [7] KUNITAKE M, GOTO A, SAKAI Y, *et al.* Exploring predictors of hypertension development with pazopanib and examining predictive performance over time [J]. *In Vivo*, 2024, 38(4): 1882—1890.
- [8] WESTERDIJK K, KRENS S D, STEEGHS N, *et al.* Real – world data on the management of pazopanib – induced liver toxicity in routine care of renal cell cancer and soft tissue sarcoma patients [J]. *Cancer Chemoth Pharm*, 2024, 93(4): 353—364.
- [9] TAN Z Y, VOLLER S, YIN A Y, *et al.* Model – informed dose optimization of pazopanib in real – world patients with cancer [J]. *Clin Pharmacokinet*, 2025, 64(5): 715—728.
- [10] KUMAR N N, SHARMA S. Stability indicating UPLC method development and validation for the quantitative estimation of pazopanib in pure form and marketed pharmaceutical dosage form [J/OL]. *J Appl Physiol*, 2024, 40: e20240018. 2024 – 08 – 06 [2025 – 12 – 09]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39103242/>.
- [11] 刘元芬, 王纠. 盐酸帕唑帕尼片的制备及体外溶出度评价[J]. 广东药科大学学报, 2023, 39(1): 1—6.
- [12] 赵玲, 赵春才, 杨博, 等. HPLC 法测定盐酸帕唑帕尼片含量和有关物质[J]. 中国药房, 2012, 23(33): 3138—3139.
- [13] ESCUDERO – ORTIZ V, PEREZ – RUIXO J J, VALENZUELA B, *et al.* Development and validation of an HPLC – UV method for pazopanib quantification in human plasma and application to patients with cancer in routine clinical practice [J]. *Ther Drug Monit*, 2015, 37(2): 172—9.
- [14] TOH Y L, PANG Y Y, SHWE M, *et al.* HPLC – MS/MS coupled with equilibrium dialysis method for quantification of free drug concentration of pazopanib in plasma [J/OL]. *Heliyon*, 2020, 6(4): e03813. 2020 – 04 – 01 [2025 – 12 – 09]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32373731/>.
- [15] MINOCHA M, KHURANA V, MITRA A K, *et al.* Determination of pazopanib (GW – 786034) in mouse plasma and brain tissue by liquid chromatography – tandem mass spectrometry (LC/MS – MS) [J/OL]. *J Chromatogr B*, 2012, 901: 85—92. 2012 – 07 – 15 [2025 – 12 – 09]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22749591/>.
- [16] PALUDETTO M N, PUISSET F, LE LOUEDEC F, *et al.* Simultaneous monitoring of pazopanib and its metabolites by UPLC – MS/MS [J/OL]. *J Pharmaceut Biomed*, 2018, 154: 373—383. 2018 – 05 – 30 [2025 – 12 – 09]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29571135/>.
- [17] KATO M, MARUYAMA S, WATANABE N, *et al.* Preliminary investigation of a rapid and feasible therapeutic drug monitoring method for the real – time estimation of blood pazopanib concentrations [J]. *Aaps J*, 2024, 26(3): 48.
- [18] 国家药典委员会, 中华人民共和国药典 2020 版(四部) [S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 501—506.
- [19] FDA. Bioanalytical method validation and study sample analysis [EB/OL]. 2022 – 05 – 24 [2025 – 12 – 09]. <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/m10-bioanalytical-method-validation-and-study-sample-analysis>.
- [20] CARDOSO E, MERCIER T, WAGNER A D, *et al.* Quantification of the next – generation oral anti – tumor drugs dabrafenib, trametinib, vemurafenib, cobimetinib, pazopanib, regorafenib and two metabolites in human plasma by liquid chromatography – tandem mass spectrometry [J/OL]. *J Chromatogr B*, 2018, 1083: 124—136. 2018 – 04 – 15 [2025 – 12 – 09]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29544202/>.
- [21] VAN VEELEN A, VAN GEEL R, DE BEER Y, *et al.* Validation of an analytical method using HPLC – MS/MS to quantify osimertinib in human plasma and supplementary stability results [J/OL]. *Biomed Chromatogr*, 2020, 34(4): e4771. 2020 – 04 – 01 [2025 – 12 – 09]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31808583/>.
- [22] TOH Y L, PANG Y Y, SHWE M, *et al.* HPLC – MS/MS coupled with equilibrium dialysis method for quantification of free drug concentration of pazopanib in plasma [J/OL]. *Heliyon*, 2020, 6(4): e03813. 2020 [2025 – 12 – 09]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32373731/>.

(本文编辑: 崔兰卿 收稿日期 2026 – 01 – 29)