

用 HPLC – MS/MS 法测定大鼠血浆中卡非佐米浓度及药代动力学研究

Determination of carfilzomib concentration in rat plasma by HPLC – MS/MS and pharmacokinetic study

梁 博, 解伟伟, 张玉倩,
张志清, 靳怡然

(河北医科大学 第二医院 药学部, 河北 石家庄
050000)

LIANG Bo, XIE Wei – wei,
ZHANG Yu – qian,
ZHANG Zhi – qing, JIN Yi – ran

(Department of Pharmacy, The Second
Hospital of Hebei Medical University,
Shijiazhuang 050000, Hebei Province,
China)

作者简介: 梁博(1990 –), 女, 主管药师, 主要从事
临床药学方面的工作

通信作者: 靳怡然, 主任药师, 硕士生导师
Tel: (0311) 66003456
E – mail: jinyiran@sohu.com

摘要:目的 建立一种通过高效液相色谱 – 串联质谱(HPLC – MS/MS)法测定大鼠血浆中卡非佐米的方法, 并研究大鼠血浆中卡非佐米的药代动力学特征。

方法 用甲醇 – 乙腈(1:1, v/v)蛋白沉淀法处理大鼠血浆样品。色谱柱: Thermo Scientific™ Hypersil GOLD™ C₁₈ Column (2.1 mm × 50.0 mm, 3 μm); 流动相: 2 mmol · L⁻¹ 乙酸铵 – 0.02% 甲酸水(A) – 甲醇(B); 梯度洗脱; 流速: 0.45 mL · min⁻¹; 进样量: 5 μL。电喷雾离子源, 正离子模式, 多反应离子监测。考察该方法的专属性、标准曲线和定量下限、残留效应、精密性与回收率、稀释效应、基质效应、稳定性。将6只健康雄性SD大鼠单次尾静脉注射4 mg · kg⁻¹卡非佐米后, 眼内眦取血, 检测大鼠血浆中卡非佐米浓度, 用DAS 3.0计算药代动力学参数。**结果** 卡非佐米在0.5 ~ 1 250.0 ng · mL⁻¹内, 专属性及线性关系良好, 标准曲线为 $y = 2.40 \times 10^{-2}x + 6.81 \times 10^{-2}$ ($r = 0.9964$), 定量下限为0.5 ng · mL⁻¹, 样品残留分别为定量下限和内标的7.64%和1.00%, 批内及批间精密性分别为≤7.51%、≤8.16%, 批内及批间准确度分别为-4.54% ~ 5.14%、-4.41% ~ 8.26%, 提取回收率为92.49% ~ 108.33%, 样品稀释效应、基质效应和稳定性的方法学考察结果均符合生物样品分析方法验证的要求。卡非佐米的主要药代动力学参数: C_{max} 为 $(1.10 \times 10^6 \pm 5.45 \times 10^5)$ ng · L⁻¹, $t_{1/2}$ 为 (23.10 ± 7.38) min, AUC_{0-1} 为 $(1.85 \times 10^7 \pm 9.85 \times 10^6)$ ng · L⁻¹ · min。**结论** 本研究所建立的方法操作简单, 选择性强, 灵敏度高, 准确可靠, 适用于大鼠血浆样品中卡非佐米的测定分析。

关键词: 卡非佐米; 高效液相色谱 – 串联质谱法; 药代动力学

DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2025.06.020

中图分类号: R979.1 文献标志码: A

文章编号: 1001-6821(2025)06-0857-05

Abstract: Objective To establish a method for the determination of carfilzomib in rat plasma by high performance liquid chromatography – tandem mass spectrometry (HPLC – MS/MS), and to investigate the pharmacokinetic characteristics of carfilzomib in rat plasma. **Methods** The rat plasma samples were processed by a protein precipitation approach using methanol: acetonitrile (1:1, v/v). Chromatographic column: Thermo Scientific™ Hypersil GOLD™ C₁₈ Column (2.1 mm × 50.0 mm, 3 μm); mobile phase: 2 mmol · L⁻¹ ammonium acetate – 0.02% formic acid water (A) – methanol (B) in gradient elution mode; flow rate: 0.45 mL · min⁻¹; injection volume: 5 μL. Electrospray ionization source in positive ion mode and multiple reaction monitoring were adopted. The specificity, standard curve and lower limit of

quantification, residue effect, precision and extraction recovery rate, dilution reliability, matrix effect and stability of this method were examined. After a single intravenous injection of $4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ carfilzomib into 6 healthy male SD rats, blood was collected from the inner corner of the eye, and the concentration of carfilzomib in the plasma was detected. The pharmacokinetic parameters were calculated using DAS 3.0. **Results** Carfilzomib exhibited good specificity and linearity within the range of 0.5 to 1 250.0 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, with a standard curve of $y = 2.40 \times 10^{-2}x + 6.81 \times 10^{-2}$ ($r = 0.9964$), the quantitative limit of detection was 0.5 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, the sample residues were 7.64% and 1.00% of the quantitative limit of detection and the internal standard, respectively, the intra-day and inter-day precision were $\leq 7.51\%$ and $\leq 8.16\%$, respectively, the intra-day and inter-day accuracy were -4.54% to 5.14% and -4.41% to 8.26% , respectively, the extraction recovery were 92.49% to 108.33%, and the methodological evaluation results of sample dilution effect, matrix effect and stability were all in accordance with the requirements for the validation of biological sample analysis methods. The main pharmacokinetic parameters of carfilzomib were: $C_{\max}$ was $(1.10 \times 10^6 \pm 5.45 \times 10^5) \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$, $t_{1/2}$ was $(23.10 \pm 7.38) \text{ min}$, AUC_{0-t} was $(1.85 \times 10^7 \pm 9.85 \times 10^6) \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min}$. **Conclusion** The approach formulated in this study is operationally facile, highly discriminatory, sensitive, precise, dependable, and is appropriate for the determination and analysis of carfilzomib in rat plasma specimens.

Key words: carfilzomib; high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; pharmacokinetics

卡非佐米(carfilzomib)具有四肽环氧化物结构,是继可逆性蛋白依赖性激酶抑制剂硼替佐米(bortezomib)后的第2代选择性蛋白酶体抑制剂(proteasome inhibitor, PI)^[1-2]。卡非佐米于2012年获得美国食品药品监督管理局(U. S. Food and Drug Administration, FDA)批准上市,适用于单药治疗或与地塞米松联合治疗复发或难治性多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)患者^[3],现已广泛应用于临床患者的治疗中,并取得良好疗效。本研究旨在建立高效液相色谱-串联质谱(high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, HPLC-MS/MS)法测定大鼠血浆中卡非佐米浓度,并对该方法在大鼠药代动力学研究中的可行性进行验证,以期为卡非佐米的进一步临床研究奠定基础。

材料与方法

1 材料

动物 雄性 SPF 级成年 Sprague-Dawley 大鼠,体质量:220~250 g,鼠龄:8周,购自斯贝福(北京)生物技术有限公司。动物生产许可证号:SCXK(京)2024-0001,动物使用许可证号:SYXK(冀)2021-003。本实验经河北医科大学第二医院实验动物伦理委员会批准(伦理批号:2024-AE235)。

药品 注射用卡非佐米,规格:每瓶 60 mg,批号:1142787,批准文号:国药准字 HJ20210054,购自美国 Onyx Pharmaceuticals 公司;卡非佐米标准品,纯度: $\geq 98\%$,规格:每瓶 10 mg,批号:S571091783;氯磺丙脲

标准品,纯度: $\geq 98\%$,规格:每瓶 100 mg,批号:S603112307,均购自上海士丰生物制品有限公司。

仪器 Jasper™ HPLC 20ADxr 液相色谱仪,日本岛津公司产品;Triple Quad™ 4500MD 三重四级杆质谱仪,美国 AB SCIEX 公司产品。

2 测定条件、溶液配制与血浆样本处理

色谱条件 色谱柱:Thermo Scientific™ Hypersil GOLD™ C₁₈ Column(2.1 mm×50.0 mm, 3 μm);柱温:50 $^{\circ}\text{C}$;流动相:2 mmol·L⁻¹ 乙酸铵-0.02% 甲酸水(A)-甲醇(B);梯度洗脱:0~0.50 min, 45% A;0.50~1.40 min, 45%→2% A;1.40~1.90 min, 2% A;1.90~1.91 min, 2%→45% A;1.91~2.50 min, 45% A;流速:0.45 mL·min⁻¹;进样量:5 μL 。

质谱条件 电喷雾离子源,正离子模式,多反应离子监测。离子源温度:300 $^{\circ}\text{C}$,电压:5 500 V,雾化气:310.26 kPa,加热气:275.79 kPa,气帘气:137.90 kPa,碰撞气:48.26 kPa;扫描时间:100 ms。卡非佐米和氯磺丙脲(内标,internal standard, IS)的定量离子对分别为 m/z 720.5→289.2 和 m/z 277.2→174.9,去簇电压分别为:85 和 55 V,碰撞能分别为:40 和 20 V。

储备液配制 分别称取卡非佐米、氯磺丙脲标准品适量,精密称定 10 mg,置于 10 mL 量瓶中,用甲醇充分溶解并定容,混合均匀,配制成质量浓度为 1 mg·mL⁻¹ 卡非佐米、氯磺丙脲储备液。

标曲工作液配制 取卡非佐米储备液适量,用甲醇稀释,配制成质量浓度为 1.25×10^4 、6 250.00、1 250.00、250.00、50.00、10.00、5.00 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 卡非佐米工作液和 1.00×10^4 、1 000.00、100.00、10.00

$\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的质量控制 (quality control, QC) 工作液。

内标工作液配制 取氯磺丙脲储备液适量,用甲醇:乙腈(1:1, v/v)的蛋白沉淀剂稀释,配制成质量浓度为 $25 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的氯磺丙脲工作液。

血浆样品处理 取空白血浆样品 $45 \mu\text{L}$,加卡非佐米工作液 $5 \mu\text{L}$,加含内标氯磺丙脲($25 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$)的甲醇:乙腈(1:1, v/v)蛋白沉淀剂 $450 \mu\text{L}$,涡旋混合3 min,以 $10\,900 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min,取上清进样分析。

3 方法学考察

专属性 考察大鼠空白血浆(不加内标)、空白血浆加卡非佐米工作液、大鼠给药后实际血浆样品经处理后进样的色谱图。考察卡非佐米和内标与血浆的内源性组分、样品中的其他成分是否彻底分离,血浆内源性杂质是否干扰分析物的测定。

标准曲线与定量下限 (lower limit of quantification, LLOQ) 取空白血浆 $45 \mu\text{L}$,分别加入系列卡非佐米工作液 $5 \mu\text{L}$,配制成质量浓度为 $1\,250.0$ 、 625.0 、 125.0 、 25.0 、 5.0 、 1.0 、 $0.5 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的血浆样品。按“血浆样品处理”操作,以分析物卡非佐米和氯磺丙脲峰面积的比值为纵坐标 y ,以分析物卡非佐米浓度为横坐标 x ,用加权最小二乘法进行标准曲线参数拟合,以 $1/x^2$ 为权重系数,回算校正标准样品浓度,绘制标准曲线。标准曲线的最低点为 LLOQ。

残留效应 连续 3 次测定定量上限 (upper limit of quantification, ULOQ) 样品,随即测定空白血浆样品,计算空白样品与 LLOQ 样品峰面积比值,从而考察残留大小^[4]。

精密度与回收率 取空白血浆 $45 \mu\text{L}$,分别加入一定浓度卡非佐米工作液 $5 \mu\text{L}$ 配制成质量浓度为 $1\,000$ 、 100 、 10 、 $1 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的卡非佐米高浓度 (high quality control, HQC)、次高浓度 (subhigh quality control, SHQC)、中浓度 (medium quality control, MQC)、低浓度 (low quality control, LQC) 样品和 $0.5 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 LLOQ 样品,每个质量浓度样品各 15 份,分为 3 批,每批样品数为 5。按“血浆样品处理”操作,每批次于 1 d 内处理并测定,连续处理并测定 3 d,计算偏差 (relative error, RE) 和相对标准差 (relative standard deviation, RSD),分别考察批内和批间准确度和精密度。另取 5 份不同来源的空白血浆各 $45 \mu\text{L}$,加入卡非佐米 QC 工作液 $5 \mu\text{L}$,每个浓度的 QC 工作液各 5 份,按“血浆样品处理”操作,进样得峰面积 C 。取 5 份不同来源的空白血浆各 $45 \mu\text{L}$,按“血浆样品处理”操作后,取上清液,加入卡非佐米 QC 工作液 $5 \mu\text{L}$,每个浓度的 QC 工作液各 5 份,涡旋混合后进样得峰面积 A ;

提取回收率 $= C/A \times 100\%$ ^[5]。

稀释效应 配制超出线性范围的高浓度样品,用空白血浆稀释,分别得到稀释因子为 10 倍、20 倍的血浆样品,分别考察 6 份不同稀释因子的稀释效应。

基质效应 取 6 份不同来源的空白血浆各 $45 \mu\text{L}$,按“血浆样品处理”操作后,取上清液,加入卡非佐米 QC 工作液 $5 \mu\text{L}$,每个质量浓度的 QC 工作液各 6 份,涡旋混合后进样得峰面积 A ;取 6 份纯水 $45 \mu\text{L}$,其余同上,进样得峰面积 B 。基质因子 $= A/B \times 100\%$ 。内标归一化基质因子 $= \text{分析物基质因子} / \text{内标基质因子} \times 100\%$ ^[4]。

稳定性 取空白血浆 $45 \mu\text{L}$,分别加入卡非佐米 QC 工作液 $5 \mu\text{L}$,配制成质量浓度为 $1\,000$ 、 100 、 10 、 $1 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的卡非佐米血浆样品各 5 份,分别考察样品未处理时在室温放置 4 h、样品冷冻-解冻 3 次冻融循环、 -40°C 冰箱长期冷冻;样品处理后在 4°C 自动进样器放置 10 h 的稳定性。

4 方法学应用

取健康雄性 SD 大鼠 6 只,适应性饲养 7 d 后,于给药前 12 h 禁食不禁水,尾静脉注射 $4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 卡非佐米,大鼠分别于给药前及给药后 5、10、15、20、30、60、120、240、480、720、1 440 min 各时间点从眼内眦取血 0.5 mL ,置于肝素化抗凝离心管中,以 $10\,900 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min,取上层血浆,置于 -40°C 冰箱保存待测。

5 统计学处理

大鼠血浆卡非佐米浓度用 DAS 3.0 软件处理,模拟平均血药浓度-时间曲线,计算主要药代动力学参数。

结 果

1 方法学评价

专属性 卡非佐米和氯磺丙脲的保留时间分别为 1.85 和 0.67 min,结果表明,本实验所建方法选择性高,干扰组分的响应低于卡非佐米 LLOQ 响应的 20%,并低于内标响应的 5%,血浆内源性杂质不干扰分析物的测定,见图 1。

标准曲线与 LLOQ 卡非佐米在 $0.5 \sim 1\,250.0 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 线性关系良好, LLOQ 为 $0.5 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$,信噪比 (signal-to-noise ratio, S/N) 大于 10,标准曲线方程为 $y = 2.40 \times 10^{-2}x + 6.81 \times 10^{-2}$ ($r = 0.9964$),其准确度和精密度均符合生物样品定量分析方法验证指导原则的要求。

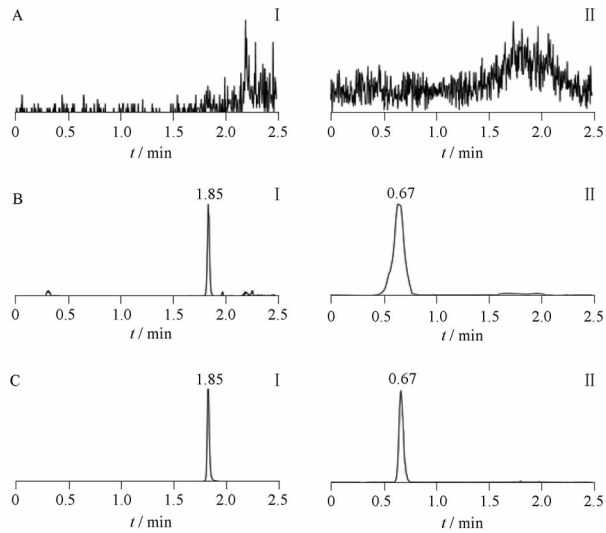


图1 卡非佐米 (I) 及氯磺丙脲 (II) 的高效液相色谱特征图谱

Figure 1 Characteristic chromatograms of carfilzomib (I) and chlorpropamide (II) by high - performance liquid chromatography A: Blank plasma chromatogram; B: Chromatogram of blank plasma with carfilzomib (0.5 ng · mL⁻¹) and chlorpropamide (25 ng · mL⁻¹); C: Rat plasma chromatogram at 15 minutes after administration.

表1 用高效液相色谱 - 串联质谱法检测卡非佐米在大鼠血浆中的日内、日间精密度和准确度及回收率

Table 1 Intraday and diurnal precision, accuracy and recovery of carfilzomib in rat plasma by high performance liquid chromatography - tandem mass spectrometry

Concentration (ng · mL ⁻¹)	Intra - day (n = 5)			Inter - day (n = 15)			Recovery (% , $\bar{x} \pm s$)
	Measured concentration	RSD	RE	Measured concentration	RSD	RE	
	(ng · mL ⁻¹ , $\bar{x} \pm s$)	(%)	(%)	(ng · mL ⁻¹ , $\bar{x} \pm s$)	(%)	(%)	
0.50	0.48 ± 0.04	7.51	-3.21	0.51 ± 0.04	8.16	2.00	-
1.00	0.95 ± 0.07	7.37	-4.54	0.97 ± 0.06	6.19	-2.62	92.49 ± 4.14
10.00	10.20 ± 0.44	4.35	2.02	9.75 ± 0.53	5.46	-2.53	96.13 ± 5.04
100.00	105.14 ± 5.08	4.83	5.14	108.26 ± 4.17	3.85	8.26	95.03 ± 7.67
1 000.00	983.74 ± 35.84	3.64	-1.63	955.85 ± 31.71	3.32	-4.41	108.33 ± 3.41

RE: Relative error; RSD: Relative standard deviation.

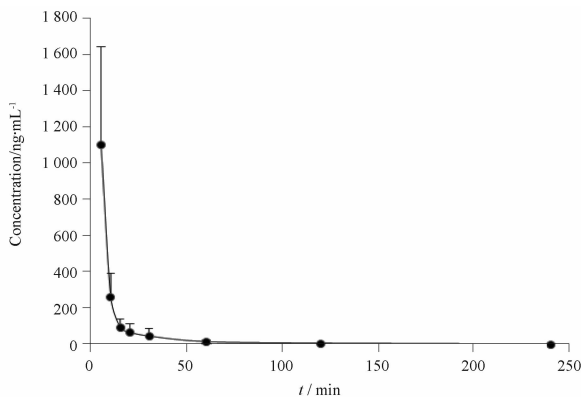


图2 卡非佐米在大鼠体内的平均血药浓度 - 时间曲线图

Figure 2 The average plasma drug concentration - time curve of carfilzomib in rats

残留效应 卡非佐米的残留峰面积为 LLOQ 峰面积的 7.64% , 为内标峰面积的 1.00% , 样品残留符合要求。

精密度与回收率 卡非佐米样品的批内、批间准确度和精密度及提取回收率结果均符合要求, 见表 1。

稀释效应 卡非佐米样品稀释 10 倍和 20 倍的 RSD 分别为 3.80%、4.73% , RE 分别为 2.91%、1.65%。样品测定结果的精密度和准确度均在 ±15% , 符合要求。

基质效应 经内标归一化的基质效应的 RSD ≤ 4.57% , 结果符合相关要求。

稳定性 结果表明样品未处理时在室温放置 4 h 的 RSD ≤ 5.01% , 样品冷冻 - 解冻 3 次冻融循环的 RSD ≤ 4.38% , - 40 ℃ 冰箱长期冷冻的 RSD ≤ 7.41% , 样品处理后在 4 ℃ 自动进样器放置 10 h 的条件下的 RSD ≤ 6.94% , 结果均符合要求。

2 方法学应用

6 只大鼠的平均血药浓度 - 时间曲线见图 2。卡非佐米的主要药代动力学参数: $C_{\max}$ 为 $(1.10 \times 10^6 \pm 5.45 \times 10^5)$ ng · L⁻¹ ; $t_{1/2}$ 为 (23.10 ± 7.38) min ;

$MRT_{0-\infty}$ 为 (8.62 ± 2.70) min ; 表观分布容积 V 为 (9.23 ± 5.60) L · kg⁻¹ ; 清除率 CL 为 (0.29 ± 0.18) L · min⁻¹ · kg⁻¹ ; 血药浓度 - 时间曲线下面积 AUC_{0-t} 为 $(1.85 \times 10^7 \pm 9.85 \times 10^6)$ ng · L⁻¹ · min , $AUC_{0-\infty}$ 为 $(1.87 \times 10^7 \pm 1.00 \times 10^7)$ ng · L⁻¹ · min。

讨 论

本研究基于 HPLC - MS/MS 法建立了大鼠血浆中卡非佐米的含量测定方法, 该方法快速、灵敏、特异性强。实验用 2 mmol · L⁻¹ 乙酸铵 - 0.02% 甲酸水 - 甲醇作为流动相改善了加入基质后样品测定的峰型,

且 LLOQ 灵敏度更高。更换色谱柱后,有效避免峰型的拖尾现象。血浆样品前处理时,比较了液液萃取法和蛋白沉淀法,在提取回收率方面无太大差异且蛋白沉淀法操作简单、快速,同时比较了纯甲醇、纯乙腈以及甲醇-乙腈(1:1, *v/v*) 3 种蛋白沉淀剂,当使用甲醇-乙腈(1:1, *v/v*) 作为蛋白沉淀剂时,峰型较好、基质效应较低^[6-8]。

本研究实验中生物样品分析方法的验证遵循《中华人民共和国药典 2020 年版》^[4],本法结果准确,系统稳定。但由于关于卡非佐米的相关文献及研究资料欠缺,本研究中取血点的设置较不完善,本实验在给予大鼠单次静脉注射卡非佐米后,其血药浓度-时间曲线在初始阶段呈现出极为陡峭的态势,具有迅速的代谢过程和较短的半衰期^[9-10]。取血点设计到给药后 1 440 min,但测得给药后 240 min 的血药浓度均已低于 LLOQ,由于个体差异较大,样本量较少,还需要进一步完善实验研究。卡非佐米代谢较迅速、半衰期较短的特点在其后期基础试验研究及涉及给药周期的临床实验中应重点考虑。

卡非佐米通过不可逆地对蛋白酶体的糜蛋白酶样活性进行抑制而发挥作用,导致比第 1 代 PI (硼替佐米) 更持久的抑制效果和更强的靶特异性^[2]。卡非佐米自上市以来,临床应用广泛,但基础研究较少,本研究建立并验证了大鼠血浆中卡非佐米 HPLC-MS/MS 含量测定方法,所建立的方法选择性强,灵敏度高,操作简单,测定时间较短。适用于大鼠血浆样品中卡非佐米的测定分析,为卡非佐米的进一步研究提供依据。对卡非佐米的相关研究可能为含硼替佐米方案未获成功的患者带来

额外的临床益处。

参考文献:

- [1] 梁永超, 朱莹, 赵志霞, 等. 硼替佐米治疗多发性骨髓瘤的研究现状 [J]. 中国临床药理学杂志, 2021, 37 (15): 2096—2099.
- [2] REDIC K. Carfilzomib: A novel agent for multiple myeloma [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2013, 65(8): 1095—1106.
- [3] 霍秀颖, 封宇飞. 蛋白酶体抑制剂卡非佐米的药理作用与临床评价 [J]. 中国新药杂志, 2013, 22(13): 1479—1482.
- [4] Ch. P(2020) Vol IV, 中华人民共和国药典 2020 版[S] 四部, 2020: 466—471.
- [5] 黄乙明, 林奕泓, 潘文合, 等. UHPLC-MS/MS 法检测大鼠血浆中阿帕替尼血浓度及药代动力学研究 [J]. 中国临床药理学杂志, 2020, 36(11): 1567—1570.
- [6] 曹正, 李水军, 沈敏, 等. 液相色谱串联质谱临床检测方法的开发与验证 [J]. 检验医学, 2019, 34(3): 189—196.
- [7] 中国医疗保健国际交流促进会基层检验技术标准化分会, 中国医院协会临床检验专业委员会. 液相色谱-串联质谱法临床样品前处理专家共识 [J]. 中华预防医学杂志, 2023, 57(12): 2073—2085.
- [8] YE Z, TSAO H, GAO H, *et al.* Minimizing matrix effects while preserving throughput in LC-MS/MS bioanalysis [J]. *Bioanalysis*, 2011, 3(14): 1587—1601.
- [9] YANG J, WANG Z, FANG Y, *et al.* Pharmacokinetics, pharmacodynamics, metabolism, distribution, and excretion of carfilzomib in rats [J]. *Drug Metab Dispos*, 2011, 39(10): 1873—1882.
- [10] FOGLI S, GALIMBERTI S, GORI V, *et al.* Pharmacology differences among proteasome inhibitors: Implications for their use in clinical practice [J/OL]. *Pharmacol Res*, 2021, 167: 105537. 2021-05-30 [2024-08-01]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33684510/>.

(收稿日期 2024-10-10)