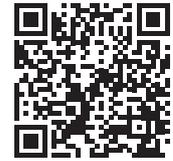


HPLC-MS/MS法测定白血病患者血浆奥雷巴替尼的方法学研究及临床应用



郭进艳, 孙文利, 刘 瑞, 卢光泽, 刘红星, 王 磊

河北燕达陆道培医院检验医学科(河北廊坊 065201)

【摘要】目的 建立测定白血病患者血浆奥雷巴替尼浓度的高效液相色谱串联质谱法,并应用于临床治疗药物监测,为临床合理用药提供可靠依据。**方法** 以帕纳替尼-d₈为内标,用甲醇沉淀血浆蛋白和萃取奥雷巴替尼。色谱柱为 Welch Ultimate XB-C₁₈柱(50 mm×4.6 mm, 5 μm),柱温为 60 °C,流动相为水溶液(含 0.1% 甲酸+2 mmol/L 乙酸铵)-甲醇溶液(含 0.1% 甲酸),流速为 0.8 mL/min,梯度洗脱;采用电喷雾正离子模式,多反应监测扫描,奥雷巴替尼定量离子对 m/z 533.3 → 260.1 和定性离子对 m/z 533.3 → 433.3,内标离子对 m/z 541.1 → 260.2。对 40 例服用奥雷巴替尼的白血病患者血浆样本进行浓度监测,运用 IBM SPSS Statistics 27.0 和 OriginPro 2021 软件对结果数据进行统计分析。**结果** 奥雷巴替尼线性范围为 1~250 ng/mL ($r=0.998 0$),定量下限为 1 ng/mL,提取回收率为 100.28%~101.27%,日内精密度 RSD 为 1.15%~3.87%,日间精密度 RSD 为 2.32%~3.68%。**结论** 该方法操作简便、特异性强、灵敏度高,可用于测定白血病患者奥雷巴替尼血药浓度。

【关键词】 奥雷巴替尼; 高效液相色谱串联质谱法; 治疗药物监测; 白血病; 方法学研究; 临床应用

【中图分类号】 R969 **【文献标识码】** A

Methodological study and clinical application of HPLC-MS/MS for the determination of olverembatinib in the plasma of leukemia patients

GUO Jinyan, SUN Wenli, LIU Rui, LU Guangze, LIU Hongxing, WANG Lei

Department of Laboratory Medicine, Hebei Yanda Ludaopei Hospital, Langfang 065201, Hebei Province, China

Corresponding author: WANG Lei, Email: rosie1982@163.com

【Abstract】Objective To establish a high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS) method for determining the plasma concentration of olverembatinib in leukemia patients, apply it to clinical drug monitoring, and provide reliable basis for rational drug use in clinical practice. **Methods** Ponatinib-d₈ was used as an internal standard, and methanol was used to precipitate plasma proteins and extract olverembatinib. The chromatographic column was Welch Ultimate XB-C₁₈ cloumn (50 mm×4.6 mm, 5 μm), with a column temperature of 60 °C. The mobile phase consisted of an aqueous solution (containing 0.1% formic acid+2 mmol/L ammonium acetate)-methanol solution (containing 0.1% formic acid), with a flow rate of 0.8 mL/min and gradient elution. Electrospray positive ion mode was

DOI: 10.12173/j.issn.2097-4922.202405061

基金项目: 河北省卫生健康委医学科学研究课题项目(20210319)

通信作者: 王磊, 硕士, 主管药师, Email: rosie1982@163.com

used, with multiple reaction monitoring scanning. The quantitative ion pair of olverembatinib was m/z 533.3 \rightarrow 260.1, the qualitative ion pair was m/z 533.3 \rightarrow 433.3, and the internal standard ion pair was m/z 541.1 \rightarrow 260.2. The plasma samples of 40 leukemia patients taking olverembatinib were monitored and analyzed for concentration, and IBM SPSS Statistics 27.0 and OriginPro 2021 softwares were used for statistical analysis of the results. **Results** The linear range of olverembatinib was 1-250 ng/mL ($r=0.998$), the lower limit of quantification was 1 ng/mL, the extraction recovery rate was 100.28%~101.27%, the intra-day precision *RSD* was 1.15%~3.87%, and the inter-day precision *RSD* was 2.32%~3.68%. **Conclusion** This method is easy to operate, highly specific and sensitive, and can be used to determine the blood concentration of olverembatinib in leukemia patients.

【Keywords】 Olverembatinib; High-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry; Therapeutic drug monitoring; Leukemia; Methodological study; Chinal application

奥雷巴替尼 (olverembatinib) 作为三代小分子蛋白酪氨酸激酶抑制剂 (tyrosine kinase inhibitors, TKIs), 主要用于对一代及二代 TKIs 耐药或不能耐受且携带 T315I 突变的慢性髓系白血病成人患者^[1-4]。奥雷巴替尼主要经细胞色素 P450 3A4 酶 (CYP3A4) 代谢, 与 CYP3A4 抑制剂或诱导剂联用时易产生药物相互作用, 导致奥雷巴替尼血药浓度波动, 进而影响疗效与安全性^[5]。据以往研究可知, TKIs 药动学参数易受饮食、吸烟及性别等因素影响, 且临床应用时个体差异较大; 同时 TKIs 体内暴露量与疗效和毒性间存在相关性, 可通过监测血药浓度预测和评估疗效与毒性^[6-7]。欧洲白血病网 (European Leukemia Net)^[8] 建议对于接受 TKIs 治疗 3 个月内未获得满意疗效患者, 需要考虑治疗期间的 TKIs 血药浓度是否达到有效治疗浓度。而奥雷巴替尼血药浓度临床研究较少, 尚无合适和统一的临床可参考浓度, 故建立一种可测定奥雷巴替尼血药浓度方法, 并根据浓度监测结果适时调整奥雷巴替尼剂量, 对提高奥雷巴替尼疗效和减小毒性具有重要意义。目前国内尚无有关奥雷巴替尼血药浓度检测方法的文献报道, 根据《治疗药物监测工作规范专家共识 (2019 版)》^[9], 采用高效液相色谱-串联质谱 (high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, HPLC-MS/MS) 技术对 40 例白血病患者血浆进行奥雷巴替尼浓度监测, 初步探讨奥雷巴替尼浓度与临床血常规和生化指标关系, 为后期奥雷巴替尼临床药动学和药效学研究以及临床精准用药提供依据。

1 材料

1.1 主要仪器

高效液相色谱-三重四级杆串联质谱联用仪, 包括 Jasper™ 高效液相色谱仪和 AB SCIEX TRIPLE QUAD™ 4500 MD 质谱仪均购自美国 AB SCIEX 公司, 配有 Analyst® MD 1.6.0 工作站; VORTEX-GENIE2 涡旋振荡器 (美国 Scientific Industries 公司); Sorvall Legend Micro17 小型台式离心机 [赛默飞世尔科技 (中国) 有限公司]; TDZ5-WS 大型台式离心机 (湖南湘仪实验室仪器开发有限公司)。

1.2 主要药品与试剂

奥雷巴替尼对照品 (Selleckchem, 批号: S719401, 纯度 >99%); 帕纳替尼-d₈ (内标, 上海甄准生物科技有限公司, 批号: ZZS18101205, 纯度 >98%); 奥雷巴替尼片 (亚盛医药, 批准文号: 国药准字 H20210048, 规格: 10 mg/片); 甲酸和甲醇为色谱纯, 其余试剂均为分析纯, 水为屈臣氏蒸馏水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Welch Ultimate XB-C₁₈ 柱 (50 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 水溶液 (含 2 mmol/L 乙酸铵 + 0.1% 甲酸) (A) - 甲醇溶液 (含 0.1% 甲酸) (B), 梯度洗脱 (0.01~0.5 min, 70%~40% B; 0.5~1.0 min, 40%~0% B; 1.0~1.5 min, 0% B; 1.5~2.0 min, 0%~40% B; 2.0~2.5 min, 40%~70% B; 2.5~3.0 min, 70% B); 流速: 0.8 mL/min; 柱温: 60 °C; 进样量为: 1 μL。

2.2 质谱条件

采用电喷雾正离子模式，多反应监测扫描；
离子喷射电压：5 500 V；离子源温度：550 ℃；

离子源气体 1 (N_2)：55 psi；离子源气体 2 (N_2)：
55 psi；气帘气：25 psi。奥雷巴替尼和帕纳替尼- d_8
质谱参数和碎片离子质谱图分别见表 1 和图 1。

表1 奥雷巴替尼和帕纳替尼- d_8 质谱参数

Table 1. Mass spectrometry parameters of olverembatinib and ponatinib- d_8

药物	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	驻留时间 (ms)	去簇电压 (V)	碰撞电压 (V)	出口电压 (V)	射入电压 (V)
奥雷巴替尼 (定量)	533.3	260.1	150	110	30	11	10
奥雷巴替尼 (定性)	533.3	433.1	150	110	30	11	10
帕纳替尼- d_8 (内标)	541.1	260.2	150	110	32	11	10

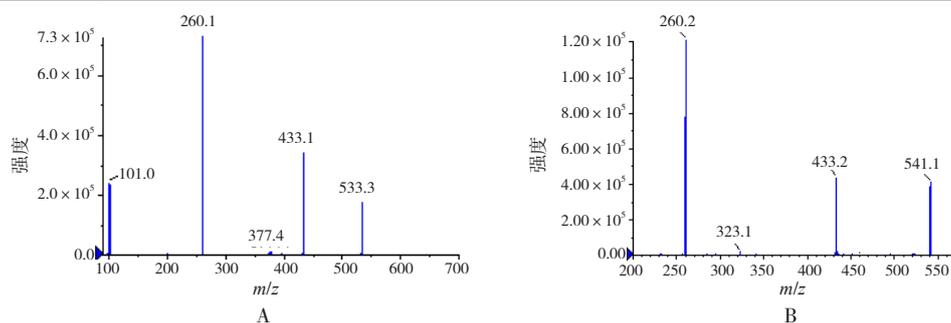


图1 奥雷巴替尼 (A) 和帕纳替尼- d_8 (B) 的二级质谱图

Figure 1. Secondary mass spectrum of olverembatinib (A) and ponatinib- d_8 (B)

2.3 溶液配制

2.3.1 校准溶液与质控溶液

精密称定奥雷巴替尼 5.00 mg，采用 DMSO-甲醇 (7:3) 充分溶解并配成质量浓度为 500 $\mu\text{g/mL}$ 奥雷巴替尼储备液，然后用乙腈-DMSO-水 (5:2:3) 将奥雷巴替尼储备液依次稀释成质量浓度为 2 500、1 000、500、250、100、50、10 ng/mL 的校准溶液和质量浓度为 2 000、750、75 ng/mL 的质控溶液，超声混匀，置于 $-20\text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱保存，备用。

2.3.2 内标工作液

精密称定帕纳替尼- d_8 1.00 mg，用甲醇-水 (50:50) 充分溶解并配成质量浓度为 100 $\mu\text{g/mL}$ 的储备液，然后取适量储备液，用甲醇稀释成质量浓度为 20 ng/mL 的内标工作液，超声混匀，置于 $-20\text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱保存，备用。

2.4 含药血浆制备与处理方法

2.4.1 含药血浆的制备

精密吸取 10 μL 校准溶液或质控溶液，加入 6 份混合空白血浆 90 μL ，置于 1.5 mL 离心管中，涡旋混匀，即得浓度为 250、100、50、25、10、5、1 ng/mL 的奥雷巴替尼系列校准曲线血浆样品和浓度为 200、75、7.5 ng/mL 的奥雷巴替尼系列质控血浆样品。

2.4.2 血清样品处理方法

精密吸取 100 μL 奥雷巴替尼血浆样品置于 1.5 mL 离心管中，加入样本萃取液 (含 0.1% 甲酸和 2 mmol/L 乙酸铵的水溶液) 100 μL ，再加入 300 μL 内标工作液，涡旋振荡 1 min， $18\ 759\times g$ 离心 8 min；吸取 170 μL 上清液于进样瓶中进行分析。

2.5 临床应用

回顾性收集 2022 年 9 月—2024 年 1 月就诊于河北燕达陆道培医院且服用奥雷巴替尼的血液病患者血浆样本 40 例及相应临床资料，运用 HPLC-MS/MS 法进行奥雷巴替尼血药浓度检测并结合临床相关资料进行分析。本研究经河北燕达陆道培医院医学伦理委员会批准 [批件号：道培伦理审批 (2020) 第 39 号]。

2.6 统计学分析

采用 SPSS 27.0 和 Origin Pro 2021 统计软件进行数据分析。定量试验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示，定性试验数据结果采用率 (%) 表示。Kolmogorov-Smirnov 检验判断数据正态性，非正态分布数据采用非参数 Mann-Whitney U 检验；使用 Pearson's 或 Spearman's 系数检验评估变量相关性， $P < 0.05$ 为差异有统计学意义，其中，相关性分析时需 P 值结合相关系数进行整体评价。

2.7 方法学验证

2.7.1 专属性试验

取空白血浆、空白血浆 + 内标、服用奥雷巴替尼患者血浆样品各适量，按照“2.4.2”项下方法处理，测定奥雷巴替尼浓度^[10-14]。图 2 结果显

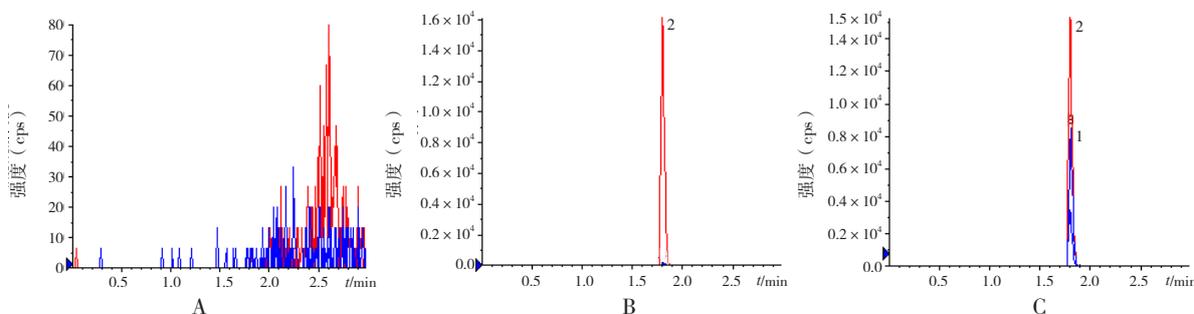


图2 奥雷巴替尼与帕纳替尼-d₈色谱图

Figure 2. Chromatogram of olverembatinib and ponatinib-d₈

注：A.空白血浆；B.空白血浆+帕纳替尼-d₈；C.患者血浆+帕纳替尼-d₈；1.奥雷巴替尼；2.帕纳替尼-d₈。

2.7.2 校准曲线与定量下限

取奥雷巴替尼系列校准溶液和质控溶液，按“2.4.1”和“2.4.2”项下方法处理并进样分析。以奥雷巴替尼和内标峰面积比值为纵坐标（Y）、奥雷巴替尼浓度为横坐标（X，ng/mL），采用加权（ $W=1/X^2$ ）最小二乘法进行回归和线性拟合，连续测 3 d，每日拟合 1 条校准曲线，进而评价 3 条曲线，得线性回归方程： $Y=0.0178X+0.0108$ （ $r=0.9980$ ），校准曲线各浓度值与理论值的偏差均在 $\pm 15\%$ 内，表明奥雷巴替尼在 1~250 ng/mL 范围内线性关系良好；精密度和准

示，奥雷巴替尼和内标保留时间均为 1.81 min，色谱峰峰形良好，无内源性物质和其他物质干扰，表明该方法专属性良好，灵敏度高，内标选择适宜，可准确测定血浆奥雷巴替尼浓度。

确度符合《中国药典（2020年版）》^[13]要求。

2.7.3 精密度与准确度试验

取奥雷巴替尼系列质控溶液各 6 份，按“2.4.2”项下方法处理并进样分析，分别对奥雷巴替尼系列质控溶液连续测定 3 d，以日内和日间相对标准偏差（RSD）为精密度，以相对回收率（实测浓度与真实浓度的比值）（relative error, RE）为准确度，奥雷巴替尼批内和批间精密度的为 1.15%~3.87%，相对回收率 $>99\%$ ^[10-14]，表明方法准确度和精密度良好，具体结果见表 2。

表2 血浆奥雷巴替尼精密度与准确度试验结果

Table 2. Results of precision and accuracy tests of plasma olverembatinib

理论值 (ng/mL)	日内精密度 (n=6)			日间精密度 (n=3)		
	测量值 (ng/mL)	RSD (%)	RE (%)	测量值 (ng/mL)	RSD (%)	RE (%)
7.5	7.51 ± 0.29	3.87	0.09	7.47 ± 0.28	3.68	-0.38
75	75.15 ± 0.86	1.15	0.20	74.66 ± 1.99	2.66	-0.45
200	198.17 ± 2.99	1.51	-0.92	201.72 ± 4.68	2.32	0.86

2.7.4 提取回收率试验

取 6 份不同来源空白血浆制备的奥雷巴替尼系列质控溶液，每个浓度各 6 份，按“2.4.2”项下方法处理并进样分析，得峰面积比值 A_1 （奥雷巴替尼峰面积 / 内标峰面积）；另取空白血浆加入甲醇沉淀蛋白，高速离心得血浆上清液，用血浆上清液制备奥雷巴替尼系列质控溶液，每个浓度各 6 份，按“2.4.2”项下方法处理并进样分析，得峰面积比值 A_2 （奥雷巴替尼峰面积 / 内标峰面积）；通过 A_1/A_2 比值计算提取回收率，回收率

均在 85%~115% 范围内^[10-14]，表明准确度较高，具体结果见表 3。

2.7.5 基质效应试验

采用奥雷巴替尼和内标在血浆基质和无血浆基质中的信号值来评价基质效应。取 6 份不同来源空白血浆制备的奥雷巴替尼系列质控溶液，每个浓度各 6 份，按“2.4.2”项下方法处理并进样分析，得相应药物峰面积 B；另取 50% 甲醇溶液制备奥雷巴替尼系列质控溶液，每个浓度各 6 份，按“2.4.2”项下方法处理并进样分析，得相应药物峰面积 C；

基质效应为 B/C；通过血浆奥雷巴替尼或内标的信号强度与纯溶剂奥雷巴替尼或内标的信号强度来计算内标归一化基质因子，进而评价基质效应，计算

公式参照《中国药典（2020年版）》^[13]。结果见表4，奥雷巴替尼内标归一化基质因子及其RSD均符合《中国药典（2020年版）》^[13]要求。

表3 奥雷巴替尼回收率测定结果 (n=6)

Table 3. Recovery rate results of olverembatinib (n=6)

理论质量浓度 (ng/mL)	样品	A_1/A_2	RSD (%)	回收率 (%)
7.5	血浆加标样品	0.090 ± 0.003	3.48	100.41
	处理后的上清液加标样品	0.090 ± 0.003	3.39	
75	血浆加标样品	0.770 ± 0.020	2.64	101.27
	处理后的上清液加标样品	0.760 ± 0.012	1.59	
200	血浆加标样品	2.050 ± 0.029	1.40	100.28
	处理后的上清液加标样品	2.040 ± 0.440	2.17	

表4 血浆奥雷巴替尼基质效应试验结果 (% , n=6)

Table 4. Matrix effect results of plasma olverembatinib (% , n=6)

理论质量浓度 (ng/mL)	基质效应	RSD	基质效应的内标归一化因子	RSD
7.5	97.16 ± 0.08	8.63	100.30	6.85
75	104.62 ± 0.02	2.18	98.25	2.36
200	97.88 ± 0.04	3.43	97.88	4.06

2.7.6 残留效应试验

取奥雷巴替尼校准血浆样品 (250 ng/mL) 和空白血浆样品 (2份)，按“2.4.2”项下方法处理并进样分析，依次检测奥雷巴替尼校准血浆样品和空白血浆样品，结果见表5，奥雷巴替尼校准血浆样品残留均小于分析物定量下限 20%；内标残留均低于内标峰面积 5%，均符合《中国药典（2020年版）》^[13]要求。

2.7.7 稳定性试验

取 6 份奥雷巴替尼系列质控溶液，分别考察奥雷巴替尼质控血浆样品反复冻融 (-20 °C 至室温) 3 次的稳定性和按“2.4.2”项下处理后的奥雷巴替尼质控血浆样品上清液分别在室温及 4~8 °C 温度下放置 24 h 的稳定性。结果见表6，RSD 均 < 15%，符合《中国药典（2020年版）》^[13]要求，表明奥雷巴替尼样品在处理前及处理后均较为稳定，可进行常规血药浓度检测。

表5 奥雷巴替尼残留试验结果

Table 5. Residual test results of olverembatinib

样品类型	奥雷巴替尼			内标		
	峰面积	最低点峰面积	残留 (%)	峰面积	最低点峰面积	残留 (%)
校准血浆样品	107 000	2 310	-	39 800	38 100	-
空白样品1	272		11.77	167		0.44
空白样品2	65		2.82	93		0.24

表6 血浆奥雷巴替尼稳定性试验结果 (n=6)

Table 6. Stability test results of olverembatinib in plasma (n=6)

理论浓度 (ng/mL)	室温放置24 h		4~8 °C 放置24 h		反复冻融3次	
	测得浓度 (ng/mL)	RSD (%)	测得浓度 (ng/mL)	RSD (%)	测得浓度 (ng/mL)	RSD (%)
7.5	8.02 ± 0.20	2.49	7.33 ± 0.08	1.13	8.11 ± 0.16	1.96
75	76.40 ± 0.75	0.99	72.03 ± 3.23	4.49	74.23 ± 0.97	1.31
200	201.67 ± 3.79	1.88	193.67 ± 2.08	1.07	199.33 ± 1.15	0.58

2.8 临床应用结果

2.8.1 患者特征与奥雷巴替尼浓度

奥雷巴替尼血浆消除半衰期平均约为 25 h，血药浓度在连续给药 7 d 可达稳态，患者服药 7 d

后，服药前进行采血，采血量 2~3 mL。40 例患者奥雷巴替尼给药剂量为 10~40 mg，隔日给药 1 次，平均浓度为 (7.40 ± 6.90) ng/mL，中位浓度为 4.70 (0.60~29.20) ng/mL；奥雷巴替尼浓度在

性别之间差异无统计学意义 (Mann-Whitney U 检验, $P=0.948$); 采用 Spearman 相关分析, 奥雷巴替尼浓度与年龄 ($P=0.823$, $r=0.038$) 不存在相

关关系, 浓度与体重存在正相关关系 ($P=0.018$, $r=0.383$), 与体质量指数存在正相关关系 ($P=0.040$, $r=0.335$), 具体资料信息见表 7。

表7 患者人口学资料及临床特征 ($n=40$)

Table 7. Demographic data and clinical characteristics of patients ($n=40$)

基本特征	均值 ($\bar{x} \pm s$)	中位数 (范围)
年龄 (岁)	30.45 \pm 11.56	27.50 (11~65)
身高 (cm)	165.08 \pm 9.51	165.50 (140.00~180.00)
体重 (kg)	53.90 \pm 8.75	55.00 (33.80~76.40)
性别 (男/女)	21/19	
白细胞 ($\times 10^9/L$)	5.93 \pm 11.67	3.85 (0.03~75.34)
红细胞 ($\times 10^{12}/L$)	3.28 \pm 1.13	3.24 (1.48~5.40)
血小板 ($\times 10^9/L$)	134.15 \pm 91.68	121.35 (11.30~313.90)
总蛋白 (g/L)	63.88 \pm 9.85	66.70 (43.30~80.20)
白蛋白 (g/L)	39.69 \pm 6.08	40.80 (26.90~49.00)
球蛋白 (g/L)	24.19 \pm 5.38	24.90 (15.10~37.00)
丙氨酸氨基转移酶 (U/L)	45.93 \pm 52.23	23.00 (10.00~228.00)
天门冬氨酸氨基转移酶 (U/L)	23.93 \pm 23.45	19.00 (8.00~133.00)
碱性磷酸酶 (U/L)	132.80 \pm 84.09	110.50 (39.00~503.00)
γ -谷氨酰基转移酶 (U/L)	138.08 \pm 191.00	56.00 (11.00~684.00)
尿素 (mmol/L)	5.35 \pm 2.33	4.81 (2.27~11.81)
尿酸 ($\mu\text{mol/L}$)	301.75 \pm 138.02	309.00 (3.00~713.00)
肌酐 ($\mu\text{mol/L}$)	58.15 \pm 20.93	54.50 (20.00~110.00)
奥雷巴替尼浓度 (ng/mL)	7.40 \pm 6.90	4.70 (0.60~29.20)

2.8.2 奥雷巴替尼浓度与各临床特征相关性分析

采用 Spearman 相关分析, 奥雷巴替尼浓度与白细胞 ($P=0.498$, $r=-0.113$)、红细胞 ($P=0.137$, $r=-0.246$)、丙氨酸氨基转移酶 ($P=0.09$, $r=0.279$)、天门冬氨酸氨基转移酶 ($P=0.446$, $r=0.127$)、碱性磷酸酶 ($P=0.287$, $r=0.177$)、尿素氮 ($P=0.391$, $r=0.143$)、肌酐 ($P=0.812$, $r=0.040$) 不存在相关关系 ($P>0.05$, $r<0.3$); 与血小板 ($P=0.001$, $r=-0.520$)、总蛋白 ($P=0.007$, $r=-0.430$)、白蛋白 ($P=0.017$, $r=-0.386$)、球蛋白 ($P=0.012$, $r=-0.404$) 之间存在显著负相关关系 ($P<0.05$, $r>0.3$)。此外, 对 Olverembatinib 与各指标进行相关热图分析, 结果与以上分析一致, 具体见图 3。

2.8.3 受试者工作特征曲线分析

绘制受试者工作特征曲线 (receiver operating characteristic curve, ROC), 将曲线上约登指数最大一点对应的值设为最佳诊断阈值,

探索奥雷巴替尼浓度对血小板、总蛋白、白蛋白、球蛋白等临床指标影响。敏感度为各指标是否发生异常, 特异性为奥雷巴替尼浓度, 得 ROC 曲线 (图 4)。计算结果显示, 奥雷巴替尼浓度 >10.95 ng/mL 时, ROC 曲线下面积 (area under curve, AUC) 为 0.740 [95%CI (0.588, 0.892)], $P=0.009<0.05$, 提示血小板异常的灵敏度为 40.0%, 特异度为 100%; 奥雷巴替尼浓度 >7.35 ng/mL 时, AUC 为 0.711 [95%CI (0.549, 0.873)], $P=0.023<0.05$, 提示总蛋白异常的灵敏度为 61.1%, 特异度为 77.3%; 奥雷巴替尼浓度 >3.90 ng/mL 时, AUC 为 0.709 [95%CI (0.544, 0.873)], $P=0.032<0.05$, 提示白蛋白异常的灵敏度为 80.0%, 特异度为 48.0%; 奥雷巴替尼浓度不能用于提示球蛋白是否异常 ($P=0.094>0.05$), 可能需要更大样本量进一步研究。上述结果说明, 奥雷巴替尼浓度 >10.95 ng/mL 时需要在关注血小板变化的同时关注患者总蛋白和白蛋白变化, 并及时采取措施进行干预。

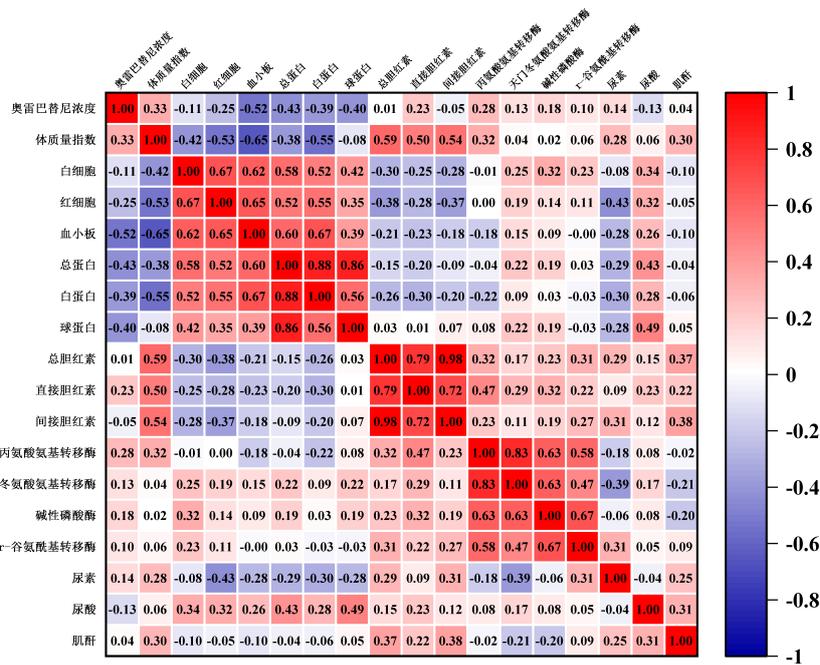


图3 临床变量与奥雷巴替尼浓度相关性

Figure 3. The association between clinical variables and olverembatinib concentration

注：蓝色表示负相关，红色表示正相关。

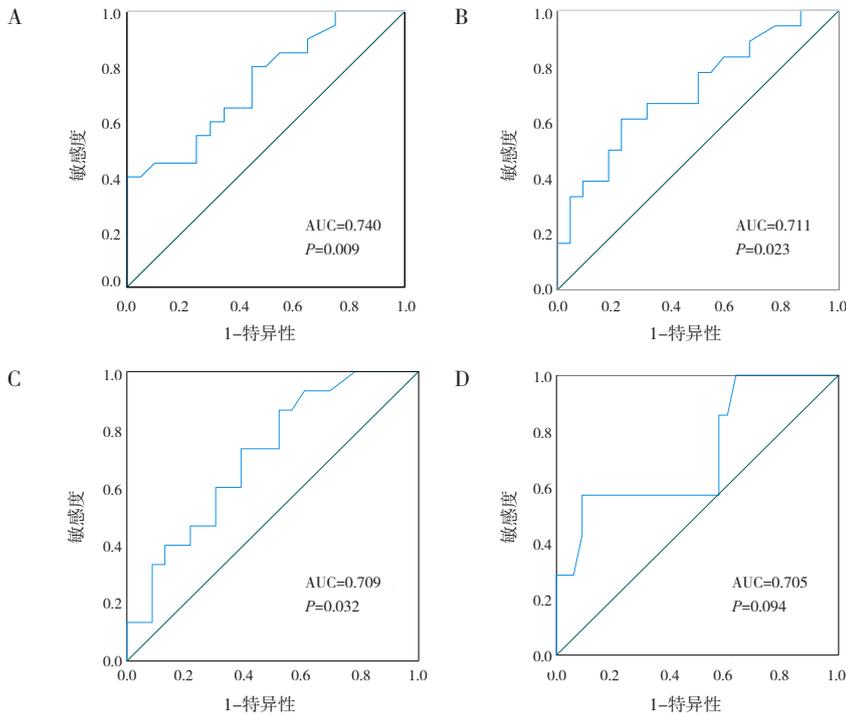


图4 奥雷巴替尼浓度与血小板及蛋白异常的ROC曲线

Figure 4. ROC curve analysis of olverembatinib concentration and abnormality of platelet and protein

注：A.血小板；B.总蛋白；C.白蛋白；D.球蛋白。

3 讨论

目前国内外尚无奥雷巴替尼同位素，而帕纳替尼是奥雷巴替尼的同分异构体，故本文选择帕

纳替尼-d₈ 作为 HPLC-MS/MS 法检测血浆奥雷巴替尼浓度的内标，由结果可知，其色谱行为一致，可最大程度减小基质效应和仪器等的影响；同时本方法检测时间短，前处理简单，稳定性及准确

度高,可用于临床患者奥雷巴替尼血药浓度监测。

抗肿瘤药物监测研究指出一代伊马替尼、二代达沙替尼和尼洛替尼及三代帕纳替尼可通过谷浓度监测预测疗效和不良反应^[15-17]。本研究结果显示奥雷巴替尼谷浓度与剂量(10~40 mg)呈现正相关关系($P<0.01$, $r=0.582$),但与剂量增加不成正比,且无线性相关性;Jiang 等^[3]研究结果指出,患者服用剂量 1~60 mg 奥雷巴替尼后,体内血浆奥雷巴替尼暴露量和最大浓度与剂量增加近似正比,呈现线性动力学特征,这与本研究结果不一致,原因可能为本研究样本量较少,后会继续加大样本量进一步验证。Jiang 等^[3]研究指出不同服药患者服药第 27 天后 0 h 奥雷巴替尼浓度均 <10 ng/mL,本研究奥雷巴替尼平均谷浓度为 7.40 ng/mL,中位浓度为 4.70 ng/mL,与 Jiang^[3]和 Yu 等^[5]研究结果一致。

40 例患者发生血小板异常的比率为 50% (20/40),与以往 TKIs 对白血病患者血小板的影响一致。奥雷巴替尼谷浓度用于预测血小板异常的最佳警戒值为 10.95 ng/mL,且特异性较高,可能与奥雷巴替尼导致白血病克隆抑制和造血抑制等骨髓抑制有关^[18]。本文亦发现奥雷巴替尼浓度与总蛋白、白蛋白及球蛋白存在负相关,且对总蛋白和白蛋白异常具有预测价值($AUC>0.7$, $P<0.05$),奥雷巴替尼蛋白结合率 $>99%$,而本研究检测的奥雷巴替尼浓度包括结合态和游离态的奥雷巴替尼,故奥雷巴替尼浓度的高低不能用血中蛋白含量解释,可能与患者呕吐、腹泻及肝脏功能等白血病疾病状态有关。

奥雷巴替尼最常见的血液学不良反应为血小板减少、贫血、白细胞减少、中性粒细胞减少;最常见的治疗相关非血液学不良反应为皮肤色素沉着、肌酸激酶、丙氨酸氨基转移酶、天门冬氨酸氨基转移酶水平升高^[2-3]。本研究发现未发生血小板减少患者奥雷巴替尼血药浓度明显低于血小板减少患者的浓度(5.9 ng/mL vs. 10.2 ng/mL, $P<0.05$),而其他指标异常与否的奥雷巴替尼浓度结果较为接近。结合受试者工作特征曲线分析,进一步提示监测血药浓度结果可以在一定程度上预防血小板减少不良反应的发生。

综上,本文建立的 HPLC-MS/MS 法可用于白血病患者奥雷巴替尼血药浓度监测,同时结合血小板、总蛋白及白蛋白等指标,根据患者疾病状态调整奥雷巴替尼剂量,使患者获得更为满意的

治疗效果,同时减少不良反应,减轻患者经济负担。白血病患者奥雷巴替尼谷浓度监测对奥雷巴替尼疗效和安全性研究尚需临床大样本数据分析验证,以便提高奥雷巴替尼临床疗效和减少毒性反应,进而实现个体化精准用药。

参考文献

- 1 Senapati J, Sasaki K, Issa GC, et al. Management of chronic myeloid leukemia in 2023- common ground and common sense[J]. *Blood Cancer J*, 2023, 13(1): 58. DOI: 10.1038/s41408-023-00823-9.
- 2 Dhillon S. Olverembatinib: first approval[J]. *Drugs*, 2022, 82(4): 469-475. DOI: 10.1002/ajh.26642.
- 3 Jiang Q, Li ZR, Qin YZ, et al. Olverembatinib (HQP1351), a well-tolerated and effective tyrosine kinase inhibitor for patients with T3151-mutated chronic myeloid leukemia: results of an open-label, multicenter phase 1/2 trial[J]. *J Hematol Oncol*, 2022, 15(1): 113-117. DOI: 10.1186/s13045-022-01334-z.
- 4 Qian HL, Gang DX, He XY, et al. A review of the therapeutic role of the new third-generation TKI olverembatinib in chronic myeloid leukemia[J]. *Front Oncol*, 2022, 12: 1036437. DOI: 10.3389/fonc.2022.1036437.
- 5 Yu ZH, Lei ZH, Yao XT, et al. Potential drug-drug interaction of olverembatinib (HQP1351) using physiologically based pharmacokinetic models[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 1065130. DOI: 10.3389/fphar.2022.1065130.
- 6 张晓旭,郭志辉,缴万里,等.酪氨酸激酶抑制剂相关治疗药物监测的研究进展[J].*中国药房*, 2021, 32(1): 121-128. [Zhang XX, Guo ZH, Jiao WL, et al. Research progress of tyrosine kinase inhibitor related therapeutic drug monitoring[J]. *China Pharmacy*, 2021, 32(1): 121-128.] DOI: 10.6039/j.issn.1001-0408.2021.01.22.
- 7 Mita A, Abumiya M, Miura M, et al. Correlation of plasma concentration and adverse effects of bosutinib: standard dose or dose-escalation regimens of bosutinib treatment for patients with chronic myeloid leukemia[J]. *Exp Hematol Oncol*, 2018, 7: 9. DOI: 10.1186/s40164-018-0101-1.
- 8 Cross NCP, Ernst T, Branford S, et al. European Leukemia Net laboratory recommendations for the diagnosis and management of chronic myeloid leukemia[J]. *Leukemia*, 2023, 37(11): 2150-2167. DOI: 10.1038/s41375-023-

- 02048-y.
- 9 张相林, 廖丽燕, 陈文倩, 等. 治疗药物监测工作规范专家共识(2019版)[J]. 中国医院用药评价与分析, 2019, 19(8): 897-989, 902. [Zhang XL, Liao LY, Chen WQ, et al. The expert consensus on the standards of therapeutic drug monitoring (2019 edition)[J]. Evaluation and Analysis of Drug-Use in Hospitals of China, 2019, 19(8): 897-989, 902.] DOI: [10.14009/j.issn.1672-2124.2019.08.001](https://doi.org/10.14009/j.issn.1672-2124.2019.08.001).
 - 10 孙文利, 刘红星, 王欣俞, 等. HPLC-MS/MS法检测白血病患者尿液及血浆中维生素C浓度[J]. 中国药师, 2021, 24(5): 863-867. [Sun WL, Liu HX, Wang XY, et al. Determination of vitamin C in urine and plasma of leukemia patients by HPLC-MS/MS[J]. China Pharmacist, 2021, 24(5): 863-867.] DOI: [10.3969/j.issn.1008-049X.2021.05.014](https://doi.org/10.3969/j.issn.1008-049X.2021.05.014).
 - 11 位宁, 郭进艳, 孙文利, 等. HPLC-MS/MS法测定血液病患者血浆中伊布替尼血药浓度的方法学研究及临床应用[J]. 中国合理用药探索, 2021, 18(10): 89-95. [Wei N, Guo JY, Sun WL, et al. Methodological study and clinical application on the determination of the plasma concentration of ibrutinib in plasma of patients with hematological diseases by HPLC-MS/MS[J]. Chinese Journal of Rational, 2021, 18(10): 89-95.] DOI: [10.3969/j.issn.2096-3327.2021.10.019](https://doi.org/10.3969/j.issn.2096-3327.2021.10.019).
 - 12 中国医师协会检验医师分会临床质谱检验医学专业委员会. 液相色谱串联质谱临床检验方法的开发与验证[J]. 检验医学, 2019, 34(3): 189-196. DOI: [10.3969/j.issn.1673-8640.2019.03.001](https://doi.org/10.3969/j.issn.1673-8640.2019.03.001).
 - 13 中国药典 2020年版. 四部[S]. 2020: 501-506.
 - 14 郑相宜, 吴建华, 张柳, 等. HPLC-MS/MS法测定人血清中达托霉素的方法研究及临床应用[J]. 中国药师, 2022, 25(12): 2259-2264. [Zheng XY, Wu JH, Zhang L, et al. Validation of HPLC-MS/MS for the determination of daptomycin in human serum and its clinical application[J]. China Pharmacist, 2022, 25(12): 2259-2264. DOI: [10.19962/j.cnki.issn1008-049X.2022.12.036](https://doi.org/10.19962/j.cnki.issn1008-049X.2022.12.036).
 - 15 Yu H, Steeghs N, Nijenhuis C M, et al. Practical guidelines for therapeutic drug monitoring of anticancer tyrosine kinase inhibitors: focus on the pharmacokinetic targets[J]. Clin Pharmacokinet, 2014, 53(4): 305-325. DOI: [10.1007/s40262-014-0137-2](https://doi.org/10.1007/s40262-014-0137-2).
 - 16 Miura M. Therapeutic drug monitoring of imatinib, nilotinib, and dasatinib for patients with chronic myeloid leukemia[J]. Biol Pharm Bull, 2015, 38(5): 645-654. DOI: [10.1248/bpb.b15-00103](https://doi.org/10.1248/bpb.b15-00103).
 - 17 Verheijen RB, Yu H, Schellens JHM, et al. Practical recommendations for therapeutic drug monitoring of kinase inhibitors in oncology[J]. Clin Pharmacol Ther, 2017, 102(5): 765-776. DOI: [10.1002/cpt.787](https://doi.org/10.1002/cpt.787).
 - 18 Kronick O, Chen X, Mehra N, et al. Hematological adverse events with tyrosine kinase inhibitors for chronic myeloid leukemia: a systematic review with meta-analysis[J]. Cancers (Basel), 2023, 15(17): 4354. DOI: [10.3390/cancers15174354](https://doi.org/10.3390/cancers15174354).

收稿日期: 2024年05月13日 修回日期: 2024年07月15日
本文编辑: 钟巧妮 李阳