

## UPLC-MS/MS系统搭配采用Maxpeak™高性能表面(HPS)技术的CORTECS™ Premier C18色谱柱对舒尼替尼和相关代谢物进行高速灵敏的分析

---

Brianna R Clements, Margaret Maziarz, Paul D. Rainville

Waters Corporation

---

### 摘要

酪氨酸激酶抑制剂(TKI)是一类通过改变细胞生长途径来治疗癌症的小分子药物。具体来讲,市面上使用的TKI舒尼替尼可治疗多种癌症,包括胰腺癌。在本研究中,我们建立了一种能够对舒尼替尼及其活性代谢物进行治疗药物监测的方法。该方法在Waters™ Xevo™ TQ Absolute系统上使用了采用MaxPeak™ (HPS)技术的新型CORTECS Premier C<sub>18</sub>色谱柱并结合MS检测来实现这一目标。在舒尼替尼及其活性代谢物的分析中,该方法提供了出色的灵敏度、线性和重现性。

### 优势

- 与传统不锈钢系统和色谱柱相比,采用MaxPeak技术的CORTECS Premier C<sub>18</sub>色谱柱可提供5倍的峰高和峰面积信号
  - 色谱分离在两分钟内完成
  - 在整个治疗剂量范围内实现了动态、灵敏的线性
-

---

## 简介

酪氨酸激酶抑制剂(TKI)是一类通过改变生物信号通路来调节细胞生长的小分子药物。TKI可用于癌症治疗，帮助防止肿瘤的生长和扩散。舒尼替尼是市面上用于癌症治疗的众多TKI之一<sup>1</sup>。它被批准用于多种癌症的治疗，例如在胰腺癌中，它提高了患者的总生存率<sup>2</sup>。药物被身体吸收后可能会形成母药的代谢物。舒尼替尼的主要活性代谢物是*N*-去乙基-舒尼替尼，据称在较高浓度下会引起毒性<sup>3</sup>。因此，用于舒尼替尼及其代谢物的治疗药物监测(TDM)的方法必须可靠且灵敏，以确保安全有效的癌症治疗。

鉴于舒尼替尼的TDM所需的灵敏度，我们应用了采用全新MaxPeak HPS技术的新型CORTECS Premier C<sub>18</sub>色谱柱。MaxPeak HPS技术已被证明可以减少一些不需要的金属和分析物相互作用，以避免色谱响应降低<sup>4,5</sup>。此外，MaxPeak HPS技术已经在TKI上进行了测试，并为这些化合物的分析带来了积极变化<sup>6</sup>。

在本研究中，我们开发了一种能够在两分钟内分离和定量舒尼替尼及其主要活性代谢物的方法。该方法涵盖了文献中记录的治疗范围，因此适用于舒尼替尼分析的临床领域。此外，我们还展示了采用MaxPeak HPS技术的CORTECS Premier C<sub>18</sub>色谱柱对该方法的色谱分析带来的好处。

---

## 实验

储备液和标准样的制备是基于为TKI的生物分析方法进行的元分析设计的<sup>7</sup>。

### 制备单标储备液

舒尼替尼购自Selleckchem（美国得克萨斯州休斯顿）。*N*-去乙基-舒尼替尼盐酸盐购自Sigma Aldrich（威斯康辛州密尔沃基）。舒尼替尼-d<sub>10</sub>和*N*-去乙基-舒尼替尼-d<sub>5</sub>购自Toronto Research Chemicals（安大略省多伦多）。几种标准品分别在4 mL棕色样品瓶中用100%二甲基亚砜(DMSO)稀释，制备单标储备液，浓度为10 μg/mL。制备过程中考虑了任何盐因素。储备液储存于2 °C–8 °C下。鉴于DMSO的物理特性，储备液在冷藏环境下为凝固状态。用箔纸包裹样品瓶，并在设定为35 °C的培养箱中缓慢解冻约1小时。使用箔纸建立黑暗的制备条件是因为观察到舒尼替尼具有光敏性<sup>8</sup>。制备标样之前，将解冻的储备液平衡至环境室温。

### 制备系统适应性标样

使用含有50%甲醇的去离子水（稀释剂）稀释储备液。将两种氘代标准品以总体积的1%分别加入血浆中，浓度为

1 ng/mL。使用氘代标准品作为内标(IS)是为了定量各分析物。使用浓缩的中间储备液制备含有等浓度舒尼替尼和 *N*-去乙酰基-舒尼替尼的混标，然后以总体积的4%加入含有IS的血浆中。对加标血浆校正标样进行蛋白沉淀：使用100%乙腈以3倍血浆体积在1.5 mL离心管中发生反应。将沉淀反应涡旋大约5秒。然后以15,000 rpm和4 °C离心5分钟。最后在一个小体积棕色HPLC样品瓶中混合100 μL上清液与100 μL稀释剂。

## 制备线性和定量限标样

使用含有50%甲醇的去离子水（稀释剂）稀释储备液。将两种氘代标准品以总体积的1%分别加入血浆中，浓度为1 ng/mL。使用氘代标准品作为内标(IS)是为了定量各分析物。使用浓缩的中间储备液制备校正曲线中的各个浓度点，然后以总体积的4%加入含有IS的血浆中。对加标血浆校正标样进行上述相同的蛋白沉淀。

---

## 结果与讨论

### 分离方法的结果

使用该方法进样10次后，舒尼替尼、*N*-去乙酰基-舒尼替尼和相关氘代标准品的保留和分离获得可重现的结果。IS校正分析物的峰面积和保留时间%RSD均≤5%（表2和表3）。下面的10次进样的叠加色谱图清楚地展示了方法性能（图1a和1b）。

(峰面积/内标峰面积) 响应重现性	SUN	NDSUN
平均值	402.6	495.5
标准偏差	19.4	20.1
%RSD	4.8	4.1

表2. TKI混标的响应表（含%RSD）

保留时间	SUN	NDSUN
平均值	1.7	1.6
标准偏差	0.0	0.0
%RSD	0.3	0.0

表3.TKI混标的保留时间表 (含%RSD)

在不锈钢系统上比较该方法的性能，来展示采用MaxPeak HPS技术的CORTECS Premier C<sub>18</sub>色谱柱对TKI分析的改进。在每种仪器配置中各进样10次系统适应性标准品。下面比较了两种系统的结果（表4和5，图2a和2b）。

与传统不锈钢系统设置相比，MaxPeak Premier HPS系统设置提供了5倍的峰高和峰面积响应。这将为TKI测试提供优势，因为这些增加将带来更灵敏的分析物检测。

## 线性结果

对SUN和NDSUN进行线性分析以证明该方法的定量适用性，线性范围是通过参考对舒尼替尼进行的TDM研究确定的。《英国临床药理学杂志》(British Journal of Clinical Pharmacology)建议舒尼替尼的治疗性血药浓度范围为“连续给药37.5–60 ng/mL，间歇给药50–80 ng/mL”<sup>9</sup>。因此，我们将SUN和NDSUN的血药浓度范围设置为0.1 ng/mL~100 ng/mL。与文献中以前的SUN TDM方法相比，这些范围实现了更低的定量限<sup>10,11</sup>。SUN和NDSUN的曲线如下（图3a和3b）。

## 定量限结果

将SUN和NDSUN曲线的最低点浓度进样6次，以确定定量下限(LLOQ)的重现性。根据美国食品药品监督管理局现行生物分析方法验证指南的建议，LLOQ的准确度和精密度应在±20% RSD以内<sup>12</sup>。表6和7以及图4a和4b清楚地展示了该方法的LLOQ结果。

计算浓度(pg/mL)	SUN	NDSUN
平均值	12.43	12.23
标准偏差	0.55	0.76
进样的%RSD	4.42	6.22
平均回收率百分比 理论浓度 12.5 pg/mL	99.43	97.87

表6.SUN和NDSUN的准确度结果。平均响应根据标准样的理论浓度定量和测定。此LLOQ代表在进行蛋白沉淀和稀释以供分析之前，血浆中的0.01 ng/mL SUN 或 NDSUN。经过沉淀和稀释后，注入色谱柱的最终SUN或NDSUN样品的理论浓度为12.5 pg/mL。

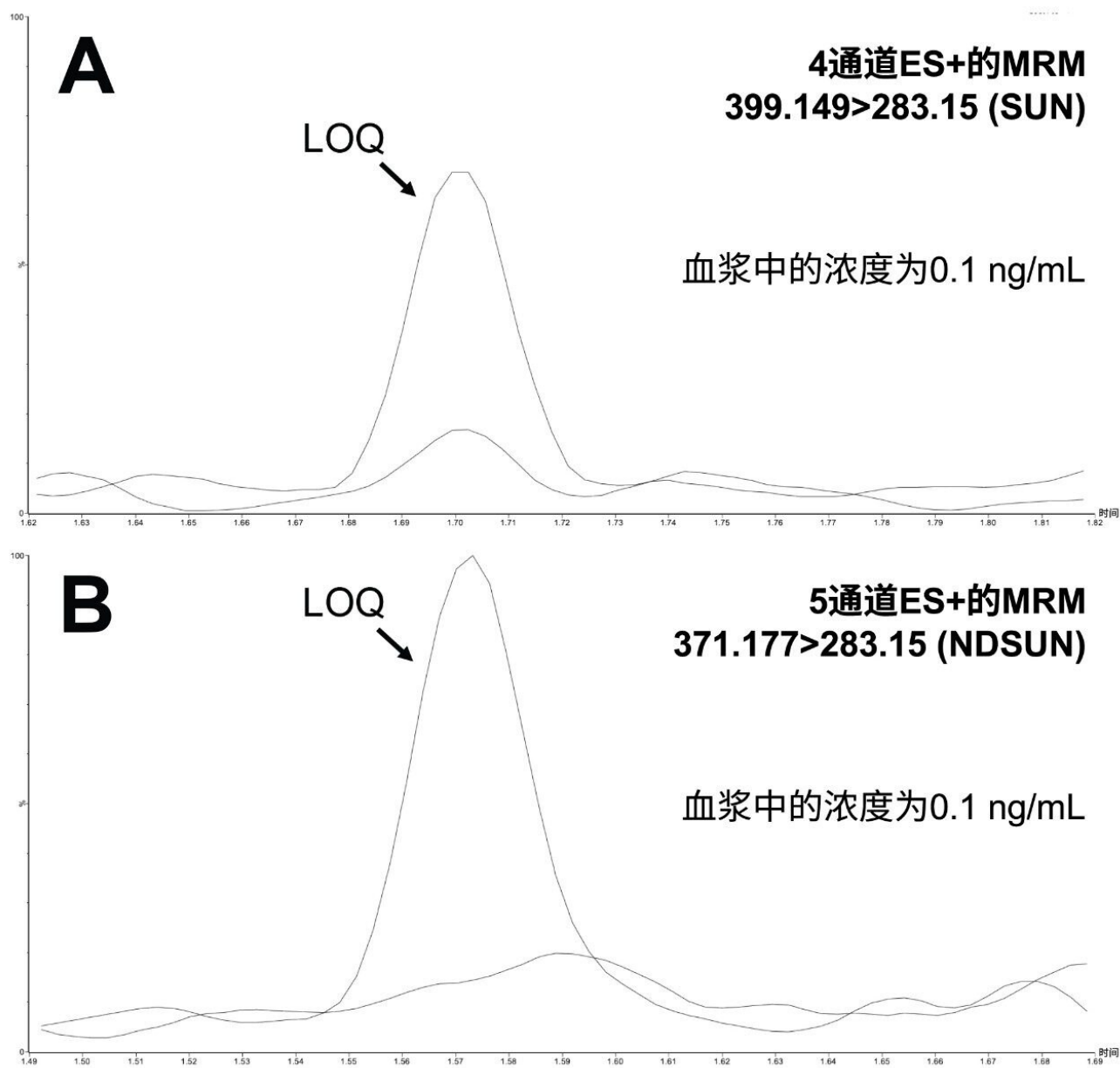


图4a.与空白血浆进样相比, SUN LOQ MRM通道的叠加色谱图示例

图4b.与空白血浆进样相比, NDSUN LOQ MRM通道的叠加色谱图示例

---

## 结论

本研究表明，与传统不锈钢色谱设置相比，借助采用MaxPeak HPS技术的CORTECS Premier C<sub>18</sub>色谱柱和系统改进了TKI的分析。使用MaxPeak HPS技术，SUN和NDSUN的峰高和峰面积增加到5倍。此外，该方法支持在动态线性范围进行TDM，在2分钟内即可提供可重现的结果。

---

## 参考资料

1. Kim A, Balis FM, Widemann BC. Sorafenib and Sunitinib. *The Oncologist* [Internet]. 2009 Aug 1 [2022年10月24日引用];14(8):800–5. 参考网站: <https://academic.oup.com/oncolo/article/14/8/800/6398036>.
2. Faivre S, Niccoli P, Castellano D, Valle JW, Hammel P, Raoul J-L., *et al.* Sunitinib in Pancreatic Neuroendocrine Tumors: Updated Progression-Free Survival and Final Overall Survival From a Phase Iii Randomized Study. *Annals of Oncology* [Internet]. 2017 Feb 1 [2020年4月28日引用];28(2):339–43. 参考网站: [https://www.annalsofoncology.org/article/S0923-7534\(19\)32208-2/fulltext](https://www.annalsofoncology.org/article/S0923-7534(19)32208-2/fulltext).
3. Takasaki S, Kikuchi M, Kawasaki Y, Ito A, Arai Y, Yamaguchi H, *et al.* Severe Toxicity Induced by Accumulation of Active Sunitinib Metabolite in a Japanese Patient With Renal Cell Carcinoma: A Case Report. *Journal of Medical Case Reports*. 2017 Feb 1;11(1).
4. Shah D, Smith K, Yang J, Hancock P. 使用ACQUITY UPLC H-Class PLUS和ACQUITY QDa质谱检测器分析各种饮料中的14种有机酸. 沃特世应用纪要: [720007289ZH](#), 2021.
5. 沃特世公司. CORTECS色谱柱应用文集, [720004739ZH](#) <  
<https://www.waters.com/webassets/cms/library/docs/720004739en.pdf>>, 2014.
6. Layton C, Rainville P. 使用MaxPeak™ HPS™技术分析靶向癌症生长抑制剂治疗药物的优势. 沃特世应用纪要, [720007565ZH](#), 2022.
7. Retmana IA, Beijnen JH, Sparidans RW. Chromatographic Bioanalytical Assays for Targeted Covalent Kinase Inhibitors and Their Metabolites. *Journal of Chromatography B* [Internet]. 2021 Jan 1 [2022年10月24日引用];1162:122466. 参考网站:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1570023220313428?via%3Dihub>.

8. Jolibois J, Schmitt A, Royer B. A Simple and Fast LC-MS/MS Method for the Routine Measurement of Cabozantinib, Olaparib, Palbociclib, Pazopanib, Sorafenib, Sunitinib and Its Main Active Metabolite in Human Plasma. *Journal of Chromatography B*. 2019 Nov;1132:121844.
9. Westerdijk K, Krens SD, Graaf WTA, Mulder SF, Herpen CML, Smilde T, *et al*. The Relationship Between Sunitinib Exposure and Both Efficacy and Toxicity in Real - World Patients With Renal Cell Carcinoma and Gastrointestinal Stromal Tumour. *British Journal of Clinical Pharmacology*. 2020 May 26;87(2):326–35.
10. Zhang M, Liu X, Chen Z, Jiang S, Wang L, Tao M, *et al*. Method Development and Validation for Simultaneous Determination of Six Tyrosine Kinase Inhibitors and Two Active Metabolites in Human Plasma/Serum Using UPLC–MS/MS for Therapeutic Drug Monitoring. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2022 Mar;211:114562.
11. de Bruijn P, Sleijfer S, Lam M-H, Mathijssen RHJ, Wiemer EAC, Loos WJ. Bioanalytical Method for the Quantification of Sunitinib and Its N-Desethyl Metabolite SU12662 in Human Plasma by Ultra Performance Liquid Chromatography/Tandem Triple-Quadrupole Mass Spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2010 Mar;51(4):934–41.
12. Bioanalytical Method Validation Guidance for Industry [Internet]. FDA. U.S. Food and Drug Administration; 2018 May [2022年12月23日引用]. 参考网站: <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/bioanalytical-method-validation-guidance-industry>.

---

## 特色产品

ACQUITY UPLC I-Class PLUS系统 <<https://www.waters.com/134613317>>

ACQUITY Premier系统 <<https://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=135077739>>

Xevo TQ Absolute三重四极杆质谱仪 <<https://www.waters.com/nextgen/global/products/mass-spectrometry-systems/xevo-tq-absolute.html>>



720007845ZH, 2023年1月

© 2023 Waters Corporation. All Rights Reserved.

[使用条款](#) [隐私](#) [商标](#) [网站地图](#) [招聘](#) [Cookie](#) [Cookie设置](#)

[沪ICP备06003546号-2](#) [京公网安备 31011502007476号](#)