

• 论 著 • DOI:10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2021. 02. 016

# HPLC-MS/MS 检测血液病患者体内鲁索替尼血药浓度

王 磊<sup>1</sup>, 代玉超<sup>2</sup>, 王红春<sup>3</sup>, 刘红星<sup>1,3,4△</sup>

1. 河北燕达陆道培医院病理和医学检验科, 河北廊坊 065201; 2. 山东省日照市东港区妇幼保健院麻醉科, 山东日照 276800; 3. 北京陆道培医院病理和医学检验科, 北京 100176; 4. 北京陆道培血液病研究院, 北京 100176

**摘 要:**目的 建立测定血液病患者鲁索替尼血药浓度的高效液相色谱-串联质谱法(HPLC-MS/MS), 并用于血液病患者鲁索替尼的个体化给药。方法 采用同位素内标法, 通过含内标(鲁索替尼-d9)的甲醇沉淀蛋白, 萃取鲁索替尼, 用 HPLC-MS/MS 分离和测定鲁索替尼和鲁索替尼-d9。以鲁索替尼和鲁索替尼-d9 峰面积比为定量依据, 计算血浆鲁索替尼浓度, 并考察其性能。结果 鲁索替尼在 2.5~250.0 ng/mL 内线性关系良好, 3 个回归方程相关系数  $r$  均 $\geq 0.995 0$ , 携带污染率、重复性、实验室内精密度、回收率、基质效应和稳定性均符合性能验证要求。结论 HPLC-MS/MS 可快速、特异和准确地检测血液病患者血浆鲁索替尼浓度, 能为临床合理使用鲁索替尼提供用药参考。

**关键词:**鲁索替尼; 高效液相色谱-串联质谱法; 血药浓度  
**中图法分类号:**R446.9 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-9455(2021)02-0202-05

## Value of HPLC-MS/MS in detecting plasma Ruxolitinib concentration in patients with hematopathy

WANG Lei<sup>1</sup>, DAI Yuchao<sup>2</sup>, WANG Hongchun<sup>3</sup>, LIU Hongxing<sup>1,3,4△</sup>

1. Department of Pathology & Laboratory Medicine, Hebei Yanda Lu Daopei Hospital, Langfang, Hebei 065201, China; 2. Department of Anesthesiology, Women and Children's Health Care Hospital of Donggang District, Rizhao, Shandong 276800, China; 3. Department of Pathology & Laboratory Medicine, Beijing Lu Daopei Hospital, Beijing 100176, China; 4. Beijing Lu Daopei Institute of Hematology, Beijing 100176, China

**Abstract:** **Objective** To establish HPLC-MS/MS for determination of blood drug concentration of Ruxolitinib in patients with hematologic diseases and to be used for individualized administration of Ruxolitinib. **Methods** Using isotopic internal standard method, the Ruxolitinib-d9 and Ruxolitinib were released and extracted by protein precipitation method. Ruxolitinib and Ruxolitinib-d9 were separated and determined by HPLC-MS/MS. Ruxolitinib and Ruxolitinib-d9 peak area ratio were used to calculate the plasma Ruxolitinib concentration and the performance verification were also investigated. **Results** Ruxolitinib had good linearity in the range of 2.5—250.0 ng/mL, and the correlation coefficients of the three regression equations were all higher than 0.995 0. Pollution, reproducibility, laboratory precision, recovery, matrix effect and stability all met the requirements of performance verification. **Conclusion** HPLC-MS/MS could quickly, specifically and accurately detect the concentration of Ruxolitinib, which could provide a reference for the rational use of Ruxolitinib in clinical practice.

**Key words:** Ruxolitinib; HPLC-MS/MS; blood concentration of medicine

鲁索替尼是一种选择性酪氨酸激酶-Janus 激酶(JAK)抑制剂<sup>[1-3]</sup>, 可以结合到 JAK1 和 JAK2 激酶上, 抑制 JAK1 和 JAK2 信号, 进而下调 JAK1 介导的促炎性细胞因子, 调节 JAK2 相关促红细胞生成及免疫细胞活化功能, 还可抑制 Janus 激酶/信号转导与转录激活子(JAK-STAT)通路, 从而调整下游细胞的增殖作用, 用于骨髓纤维化患者的治疗。鲁索替尼亦可以抑制 T 细胞分泌炎症因子、增加受者体内调节性 T 细胞的数量, 进而介导免疫耐受, 还可以减少 T 细胞

表面相关趋化因子或趋化因子受体进而改变 T 细胞迁移, 是治疗移植物抗宿主病(GVHD)的二线用药, 具有显著的疗效, 同时保留移植物抗白血病效应<sup>[1-6]</sup>。鲁索替尼是一种高效、选择性强的小分子药物, 其口服后吸收快, 1~2 h 达血药浓度峰值, 在 5~200 mg 内, 血药浓度和曲线下面积(AUC)随剂量增加而升高, 呈线性关系, 达稳态后, 其血浆蛋白结合率约为 97%<sup>[7-8]</sup>; 主要经肝脏 CYP3A4 酶代谢, 代谢物大部分从尿液排出, 其消除半衰期约为 3 h<sup>[4-6]</sup>; 起始剂量是

作者简介:王磊,男,助理研究员,主要从事医院药学方面的研究。△ 通信作者,E-mail:starliu@pku.edu.cn。  
本文引用格式:王磊,代玉超,王红春,等. HPLC-MS/MS 检测血液病患者体内鲁索替尼血药浓度[J]. 检验医学与临床, 2021, 18(2):202-206.

根据患者的血小板计数来确定的,并通常根据血小板计数来调整剂量。但鲁索替尼药动学个体差异大,且该药与强 CYP3A4 酶抑制剂或强 CYP3A4 酶诱导剂合用,其暴露量会明显增加(AUC 增加 91%)或减少(AUC 减少 71%)<sup>[4-5]</sup>,剂量增加会伴随骨髓抑制增加,包括白细胞减少、贫血和血小板计数减低,且亦可发生急性耐药<sup>[1-6]</sup>,且仍有一部分患者出现疗效不佳或治疗失败,除考虑依从性、药物间相互作用等可能的原因之外,还应考虑标准剂量是否为该部分患者的最佳治疗剂量,是否实现了鲁索替尼治疗效益最大化,则需要通过检测药物浓度来判断患者体内真实的鲁索替尼浓度。目前,基于高效液相色谱-串联质谱法(HPLC-MS/MS)定量检测鲁索替尼在血浆中浓度的研究较少,且大多采用固相萃取法同时检测多个药物的浓度<sup>[4-9]</sup>,前处理复杂,且耗时较长,不适合于本实验室鲁索替尼单药的临床检测。由于 HPLC-MS/MS 具有专属性好、灵敏度高、试剂成本低等优点,故本实验室采用 HPLC-MS/MS 检测血液病患者鲁索替尼血药浓度,为临床合理用药提供依据。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取 4 例血液病患者的血液标本进行检测。患者均为男性,年龄分别为 17、33、37、65 岁,检测患者血浆标本中的鲁索替尼浓度。

**1.2 仪器与试剂** Nexera Xp 型高效液相色谱仪(日本岛津公司),带自动进样器和加热器的色谱仪;API 3200 MD 串联四极杆质谱仪(美国 AB Sciex 公司),自带 AB 质谱工作站 Analyst MD Version1.6.2(美国 AB Sciex 公司)。蒸馏水(广州屈臣氏);甲醇购自 Fisher 公司(HPLC-Grade);甲酸和乙酸铵购自 MREDA TECHNOLOGY INC(HPLC-Grade);鲁索替尼购自北京百灵威科技有限公司(LOT:LF70 P20);鲁索替尼-d9 购自 TRC 公司(LOT:10-MMH-128-2)。

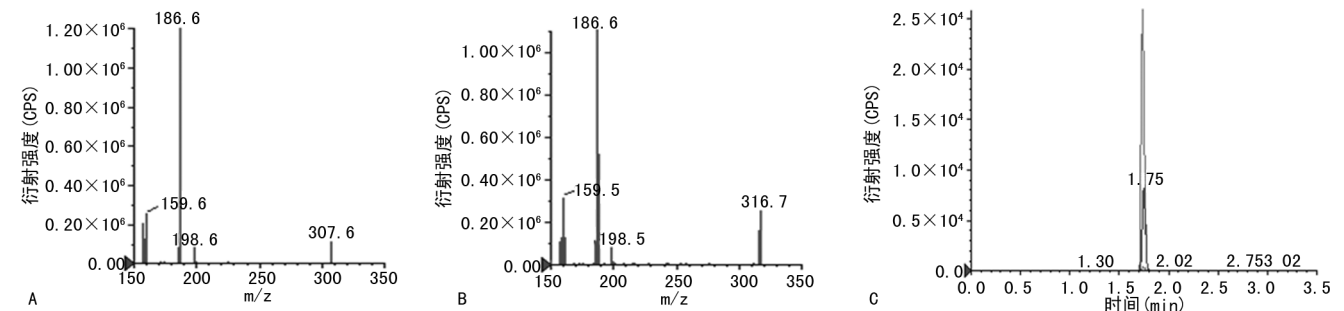
## 1.3 方法

**1.3.1 储备液制备** 精密称取标准品鲁索替尼 1.0 mg,置于小烧杯中,用适量甲醇溶解,转移至 10.0 mL 容量瓶中,用甲醇定容,混匀,得到 100 μg/mL 鲁索替尼母液,作为储备液,-80 ℃ 冰箱保存备用。然后用甲醇依次稀释储备液,得到鲁索替尼浓度为 25、50、100、250、500、1 000 和 2 500 ng/mL 各标准系列工作液和 7.5、25.0、200.0 ng/mL 的各系列质控工作液。鲁索替尼-d9 亦依次经过称量、溶解、稀释等操作,最终配置成浓度为 25 ng/mL 内标溶液,作为含有内标的沉淀剂使用。

**1.3.2 样品制备** 将待测 EDTA-K<sub>2</sub> 抗凝血 3 500 r/min 离心 10 min 后,取上层血浆 100 μL,加入 100 μL 缓冲液(2 mmol/L 乙酸铵+0.1%甲酸水溶液)混匀,再加入 300 μL 鲁索替尼-d9 内标液,涡旋震荡混匀 1 min,13 000 r/min 离心 10 min。移取上清液 170 μL 置于进样小瓶,自动进样 3 μL。

**1.3.3 高效液相色谱条件的设置** 采用 Ultimate XB-C18 色谱柱(4.6 mm×50 mm,5 μm),柱温 65 ℃;流速:0.7 mL/min;流动相:2 mmol/L 乙酸铵+0.1%甲酸水溶液(B)+0.1%甲酸甲醇溶液(A),进样量 3 μL;洗脱方式:梯度洗脱,其中 0.01~0.80 min,A 相浓度从 60%降低至 5%,保持 1.6 min;0.8~2.6 min,A 相浓度从 5%升高至 60%,保持 0.9 min。

**1.4 质谱条件** 采用电喷雾离子源(ESI+);离子喷射电压:5 500 V;离子源温度:500 ℃;源内气体 1 压力:50 psi;气体 2 压力:50 psi;帘气:20 psi;碰撞气(N<sub>2</sub>)压力:Medium;扫描方式为多重反应监测(MRM)。用于定量分析的各种质谱条件参数见表 1。同时对分析物的选择性反应监测进行了交叉讨论,并对 IS 的校准曲线和工作溶液进行了最高标准的检验。采用二次、1/X<sup>2</sup>、最小二乘回归算法绘制了选择性反应监测与浓度的峰面积比(鲁索替尼/鲁索替尼-d9)<sup>[10]</sup>。鲁索替尼和鲁索替尼-d9 的碎片离子质谱图分别见图 1A、1B,鲁索替尼的色谱图见图 1C。



注:A 为鲁索替尼的质谱图;B 为鲁索替尼-d9 的质谱图;C 为鲁索替尼的色谱图。

图 1 质谱分析图

## 1.5 性能确证

**1.5.1 选择性** 选择不含分析物和内标的双空白血浆标本来反映系统的整体背景噪音,要求在预期的保

留时间处背景噪音峰的峰面积低于分析物定量检测下限(LLMI)峰面积的 20%,并低于内标峰面积的 5%<sup>[11-13]</sup>。

**1.5.2 携带污染率** 选取高、低浓度样本,按照“1.4”的处理方法进行处理,对不同的组合进样,高-低值转换样本均值与低-低值转换样本均值的差小于低-低值转

换样本的  $3SD^{[13]}$ 。在分析高浓度的样本之后立刻进样 1 份空白样本,以评估残留情况<sup>[10]</sup>。要求分析空白样本时的检测信号响应值应低于 LLMI 的 25%<sup>[14-18]</sup>。

表 1 质谱条件

| 分析物     | 前体离子(m/z) | 产物离子(m/z) | 停留时间(ms) | DP(V) | CE(V) | CXP(V) | EP(V) |
|---------|-----------|-----------|----------|-------|-------|--------|-------|
| 鲁索替尼    | 307.6     | 186.6     | 100      | 40    | 20    | 4      | 10    |
| 鲁索替尼-d9 | 316.7     | 186.6     | 100      | 60    | 20    | 4      | 10    |

注:DP 为去簇电压;CE 为碰撞能量;CXP 为细胞出口电位;EP 为排除电位。

**1.5.3 基质效应** 制备低、中、高(7.5、25.0、200.0 ng/mL)3 个浓度的质控品,测定基质效应。通过将所提取的 3 个浓度的分析物和内标峰面积比与从纯溶液制备获得的分析物和内标峰面积比进行比较来确定基质效应。按照“1.4”的处理方法对样本进行处理,在相同浓度下,低浓度质控品下的峰面积比变异系数(CV)应小于 20%,中、高浓度质控品下的峰面积比 CV 应小于 15%<sup>[13]</sup>。

**1.5.4 线性、分析测量范围(AMR)、定量下限(LLOQ)** 选取空白血浆 90  $\mu$ L 7 份,分别加入浓度为 25、50、100、250、500、1 000、2 500 ng/mL 的鲁索替尼标准品溶液 10  $\mu$ L,加入 100 mmol/L 缓冲盐溶液 100  $\mu$ L,加入 100 ng/mL 鲁索替尼-d9 溶液 300  $\mu$ L,涡旋振荡 60 s,10 000 r/min 离心 10 min。吸取上清液于样品管中,自动进样 3  $\mu$ L。经 HPLC-MS/MS 分析,以鲁索替尼与内标鲁索替尼-d9 峰面积比(Y)作纵坐标,以血浆鲁索替尼浓度(X)为横坐标,得到直线方程,采用线性方程组计算所有样品在分析范围内的预测浓度。采用加权最小二乘法进行线性拟合,做 3 批标准曲线,每天做 1 批,连续检测 3 d,记录线性方程和相关系数(*r*),权重为  $1/X^2$ ,要求  $r \geq 0.990$ ,LLMI 处的偏差在  $\pm 20\%$  以内,其余浓度点的偏差在  $\pm 15\%$  以内,CV $<20\%$ ,以平均信噪比(S/N)=10 时的浓度方法确定 LLOQ。

**1.5.5 精密度和正确度** 取低、中、高 3 个浓度的质控品,按照“1.4”的处理方法对样本进行处理,分别于不同分析批、批内多次进样(*n*=5),连续检测 3 d,计算其批内和批间精密度和正确度。

**1.5.6 回收率** 利用低、中、高 3 个浓度的质控品测定血浆回收率。将含有质控浓度的所有分析物质的血浆样本也加入了各自的内标。按照“1.4”的处理方法对样本进行处理,将萃取后空白血浆标本的峰值响应与被甲醇:水(50:50,v/v)稀释后的空白血浆制备的低、中、高质控标准样本的峰值响应进行比较,要求各浓度回收率在 85%~115%,低浓度点在 80%~120%,CV $<15\%$ 。

**1.5.7 稳定性试验** 稳定性采取评估临床样本的短期稳定性、长期稳定性、进样器稳定性、冻融稳定性。短期稳定性考察质控工作液样本放置于室温 24 h 的

稳定性,长期稳定性考察样本储存于-80  $^{\circ}$ C 冰箱 30 d,进样器稳定性是将样本经过前处理后加入进样小瓶内储存 24 h,冻融稳定性是将样本反复冻融 3 次进行考察,通过测量稳定样本相对于新制备的相同浓度样本相应面积比响应(鲁索替尼/鲁索替尼-d9)来评价血浆中的稳定性结果。选取低、中、高 3 个浓度的质控样本,本实验室进行了室温 6 h、4  $^{\circ}$ C 保存 24 h、进样器 24 h、-20  $^{\circ}$ C 保存 48 h 和-80  $^{\circ}$ C 反复冻融 3 次 5 个重复试验。如果重复性测定的 CV 不超过 15%,平均准确度的 CV 在  $\pm 15\%$  以内,则稳定性可以接受。

**1.6 统计学处理** 采用 Excel 对数据进行整理。

2 结 果

**2.1 选择性** 不含分析物和内标的双空白血浆标本在保留时间处背景噪音峰的峰面积远低于分析物 LLMI 峰面积的 20%。

**2.2 携带污染率** 鲁索替尼在最低点和最高点的峰面积分别为 1 500.00、147 000.00;鲁索替尼-d9 在最低点和最高点的峰面积分别为 39 100.00、53 100.00。在进样线性最高点样本后,立即进样空白样本的峰面积远远小于 LLMI 峰面积的 20%,结果为 0,无携带污染。

**2.3 基质效应** 在相同的浓度下,低、中、高质控品下的峰面积比的内标校正因子分别为 1.02%、0.90%、0.95%,CV 为 2%~10%,小于 15%,符合最终的准确定量分析。见表 2。

**2.4 线性、AMR、LLOQ** 结果显示,鲁索替尼血药浓度在 2.5~250.0 ng/mL 内线性关系良好( $r=0.996\ 7$ )。当 S/N=10 时,LLOQ 为 0.06 ng/mL。线性方程为  $Y=0.012X+0.009\ 49$ 、 $Y=0.012X+0.004\ 58$ 、 $Y=0.011\ 7X+0.001\ 66$ ,相关系数 *r* 均  $\geq 0.995\ 0$ 。

**2.5 精密度和正确度** 对低、中、高 3 个浓度质控品的标本进行精密度和正确度评估,批内精密度分别为 6.37%、3.81%和 3.31%,批间精密度分别为 4.25%、4.47%、2.68%,正确度均大于 100%,见表 3。

**2.6 回收率** 在低、中、高 3 个浓度质控品的平均提取回收率分别为 96.55%、110.32%和 106.24%,回收率分别为 84.2%~108.2%、97.5%~114.1%和

99.2%~113.5%。见表 4。

**2.7 稳定性试验** 重复性测定的 CV 小于 15%，平均准确度的 CV 在±15%以内，稳定性可以接受，符合要求。见表 5。

**2.8 临床应用** 4 例患者检测结果见表 6。可知，鲁索替尼在不同疾病和不同患者中的血药浓度与剂量不呈线性，差别较大。

表 2 测定基质效应过程中低、中、高浓度质控品下的峰面积比

| 序号  | 7.5 ng/mL |      | 25.0 ng/mL |      | 200.0 ng/mL |      |
|-----|-----------|------|------------|------|-------------|------|
|     | 血浆上清液加标   | 溶液加标 | 血浆上清液加标    | 溶液加标 | 血浆上清液加标     | 溶液加标 |
| 1   | 0.12      | 0.12 | 0.34       | 0.36 | 2.48        | 2.41 |
| 2   | 0.10      | 0.11 | 0.30       | 0.35 | 2.47        | 2.58 |
| 3   | 0.13      | 0.11 | 0.24       | 0.34 | 2.44        | 2.47 |
| 4   | 0.12      | 0.11 | 0.33       | 0.34 | 2.16        | 2.47 |
| 5   | 0.11      | 0.12 | 0.34       | 0.34 | 2.30        | 2.59 |
| 平均值 | 0.12      | 0.11 | 0.31       | 0.35 | 2.37        | 2.50 |

表 3 精密度和正确度

| 分析物  | 浓度<br>(ng/mL) | 批内(n=5)                      |        |       | 批间(n=5)                      |        |       |
|------|---------------|------------------------------|--------|-------|------------------------------|--------|-------|
|      |               | 测量浓度(ng/mL, $\bar{x}\pm s$ ) | 正确度(%) | CV(%) | 测量浓度(ng/mL, $\bar{x}\pm s$ ) | 正确度(%) | CV(%) |
| 鲁索替尼 | 7.5           | 8.25±0.53                    | 110    | 6.37  | 8.42±0.36                    | 112    | 4.25  |
|      | 25.0          | 25.68±0.98                   | 103    | 3.81  | 26.66±1.19                   | 106    | 4.47  |
|      | 200.0         | 206.20±6.83                  | 103    | 3.31  | 206.47±5.53                  | 103    | 2.68  |

表 4 测定回收率过程中低、中、高 3 个浓度质控品下的峰面积比(n=5)

| 序号  | 7.5 ng/mL |         | 25.0 ng/mL |         | 200.0 ng/mL |         |
|-----|-----------|---------|------------|---------|-------------|---------|
|     | 血浆加标      | 血浆上清液加标 | 血浆加标       | 血浆上清液加标 | 血浆加标        | 血浆上清液加标 |
| 1   | 0.12      | 0.12    | 0.35       | 0.34    | 2.58        | 2.48    |
| 2   | 0.11      | 0.10    | 0.35       | 0.30    | 2.45        | 2.47    |
| 3   | 0.11      | 0.13    | 0.33       | 0.24    | 2.51        | 2.44    |
| 4   | 0.11      | 0.12    | 0.32       | 0.33    | 2.36        | 2.16    |
| 5   | 0.11      | 0.11    | 0.36       | 0.34    | 2.69        | 2.30    |
| 平均值 | 0.11      | 0.12    | 0.34       | 0.31    | 2.52        | 2.37    |

表 5 稳定性试验(% ,n=3)

| 浓度(ng/mL) | 室温 6 h |      | 4 ℃保存 24 h |      | 进样器 24 h |      | -20 ℃保存 48 h |      | -80 ℃反复冻融 3 次 |       |
|-----------|--------|------|------------|------|----------|------|--------------|------|---------------|-------|
|           | 准确度    | CV   | 准确度        | CV   | 准确度      | CV   | 准确度          | CV   | 准确度           | CV    |
| 7.5       | 114    | 3.17 | 112        | 3.18 | 109      | 3.11 | 111          | 7.08 | 114           | 14.78 |
| 25.0      | 110    | 7.29 | 106        | 2.93 | 110      | 1.66 | 105          | 1.66 | 101           | 0.46  |
| 200.0     | 109    | 2.32 | 104        | 2.17 | 107      | 5.57 | 106          | 2.85 | 102           | 1.42  |

表 6 4 例患者检测结果

| 患者<br>编号 | 性别 | 年龄<br>(岁) | 诊断         | 鲁索替尼剂量      | 鲁索替尼浓度<br>(ng/mL) |
|----------|----|-----------|------------|-------------|-------------------|
| 1        | 男  | 17        | 骨髓增生异常综合征  | 5 mg,2 次/天  | 20.1              |
| 2        | 男  | 33        | 慢性粒单核细胞白血病 | 10 mg,2 次/天 | 1.0               |
| 3        | 男  | 37        | 骨髓纤维化      | 10 mg,2 次/天 | 77.4              |
| 4        | 男  | 65        | 慢性骨髓增殖性肿瘤  | 15 mg,2 次/天 | 18.0              |

3 讨 论

鲁索替尼作为骨髓增殖性疾病的一线用药和白血病患者移植后 GVHD 的治疗用药,其同一用药剂量下不同患者血药浓度结果不同,治疗效果亦不同,且易受 CYP450 酶的诱导剂和抑制剂影响,对鲁索替尼进行血药浓度监测就显得尤为重要。本文采用 HPLC-MS/MS 测定血浆鲁索替尼浓度,通过对

HPLC-MS/MS 条件的优化,使得各项性能指标符合行业相关标准<sup>[19-21]</sup>,达到专属性较好且无残留(结果为 0);基质效应为 2%~10%,小于 15%,满足临床试验的基本要求;线性较好( $r=0.996\ 7>0.99$ );批内和批间精密度均较小,其重复性好(精密度 2.0%~8.1%),说明该方法较稳定;低、中、高 3 个浓度质控品的平均提取回收率分别为 96.55%、110.32% 和 106.24%,说明试剂萃取效率高、完全,检测结果正确度高,受相应基质干扰较小;对鲁索替尼的稳定性进行验证,除了低浓度质控品(7.5 ng/mL)在-80℃反复冻融 3 次条件下的 CV 为 14.78%(<15%)外,可能与人为操作有关,其余均<10%,说明鲁索替尼受前处理方式和温度及时间的影响较小;且鲁索替尼物理化学性质较稳定,满足临床常规项目开展的要求。文献[4-5]中建立的 HPLC-MS/MS 法,需要通过微柱或者针头滤膜进行过滤,且有时需要氮吹进行富集,达到多种物质响应都较好的目的;且由于检测多种物质,其总分析时间较长,并且每种待测物质不同时间都有自身的同位素内标。而本文前处理采用含有同位素内标的甲醇直接沉淀蛋白,操作简单,并且总分析时间为每针 3.5 min,提高了工作效率,符合本院患者进行鲁索替尼血药浓度测定的需要。由此可见,本实验室建立的用于鲁索替尼浓度测定的 HPLC-MS/MS 法具有较高的灵敏度,适用于对临床标本进行定量检测,能为临床个体化用药和药物代谢动力学研究提供参考。

参考文献

[1] 桑妍蕾,羊红玉,张幸国.骨髓纤维化新药卢索替尼药理及临床评价[J].药品评价,2014,11(2):25-27.

[2] 吕娟丽,刘洋,沈丹,等. Ruxolitinib 磷酸盐用于治疗骨髓纤维化[J].中国临床药理学杂志,2012,28(11):866-868.

[3] 魏春华,杨彦彪,张志叶.首个骨髓纤维化的口服治疗药 Ruxolitinib[J].甘肃科技,2012,28(24):129-131.

[4] MERIENNE C, ROUSSET M, DUCINT D, et al. High throughput routine determination of 17 tyrosine kinase inhibitors by LC-MS/MS [J]. J Pharm Biomed Anal, 2017,150:112-120.

[5] SRIDHAR V, SATHEESHMANIKANDAN T, SRIKANT V, et al. Simultaneous quantification of ruxolitinib and nilotinib in rat plasma by LC-MS/MS: application to a pharmacokinetic study[J]. J Pharm Biomed Anal, 2014,94:125-131.

[6] SHI J G, CHEN X, EMM T, et al. The effect of CYP3A4 inhibition or induction on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of orally administered ruxolitinib (INCB018424 phosphate) in healthy volunteers [J]. J Clin Pharmacol, 2012,52(6):809-818.

[7] 孙搏,高君伟,李晓宇,等.鲁索利替尼的药理与临床研究[J].中国新药杂志,2013,22(11):1233-1235.

[8] CHEN M, ZHOU S Y, FABRIAGA E, et al. Food-drug

interactions precipitated by fruit juices other than grapefruit juice: an update review[J]. J Food Drug Anal, 2018, 26(2S):S61-S71.

[9] SHILLING A D, NEDZA F M, EMM T, et al. Metabolism, excretion, and pharmacokinetics of [<sup>14</sup>C] INCB018424, a selective Janus tyrosine kinase 1/2 inhibitor, in humans[J]. Drug Metab Dispos, 2010, 38(11): 2023-2031.

[10] Food and Drug Administration. Center for Drug Evaluation and Research, APPLICATION NUMBER: 202192Orig1s000, Clinical Pharmacology and Biopharmaceutics Review[EB/OL]. (2011-11-16)[2020-03-25]. [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/nda/2011/202192Orig1s000TOC.cfm](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2011/202192Orig1s000TOC.cfm).

[11] KADIAN N, RAJU K S R, RASHID M, et al. Comparative assessment of bioanalytical method validation guidelines for pharmaceutical industry[J]. J Pharm Biomed Anal, 2016, 126: 83-97.

[12] Clinical and Laboratory Standards Institute. Liquid chromatography-mass spectrometry methods: C62-A [S]. Wane, PA, USA: CLSI, 2014.

[13] 中华医学会检验医学分会, 卫生计生委临床检验中心. 液相色谱-质谱临床应用建议[J]. 中华检验医学杂志, 2017, 40(10): 770-779.

[14] 张相林, 缪丽燕, 陈文倩. 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): 897-898.

[15] 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.

[16] AGENCY E M. Guideline on bioanalytical method validation[J]. 药物评价研究, 2012, 35(5): 396-398.

[17] BOOTH B, ARNOLD M E, DESILVA B, et al. Workshop report: Crystal City V—quantitative bioanalytical method validation and implementation; the 2013 revised FDA guidance[J]. AAPS J, 2015, 17(2): 277-288.

[18] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(2015 年版)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015.

[19] LYNCH K L. CLSI C62-A: A New Standard for Clinical Mass Spectrometry[J]. Clin Chem, 2016, 62(1): 24-29.

[20] AMSTERDAM P V, COMPANJEN A, BRUDNY-KLOEPPEL M, et al. The European Bioanalysis Forum community's evaluation, interpretation and implementation of the European Medicines Agency guideline on Bioanalytical Method Validation[J]. Bioanalysis, 2013, 5(6): 645-659.

[21] CHEN X, WILLIAMS W V, SANDOR V, et al. Population pharmacokinetic analysis of orally-administered ruxolitinib (INCB018424 Phosphate) in patients with primary myelofibrosis (PMF), post-polycythemia vera myelofibrosis (PPV-MF) or post-essential thrombocythemia myelofibrosis (PET MF)[J]. J Clin Pharmacol, 2013, 53(7): 721-730.