

薄层纸喷雾离子化-小型便携式质谱法 即时检验血液中免疫抑制剂

谢以清^{1,2}, 郭项雨¹, 张文鹏³, 欧阳证³, 马强¹

(1. 中国检验检疫科学研究院, 北京 100176; 2. 北京中医药大学中药学院, 北京 102488;

3. 清华大学精密仪器系, 北京 100084)

摘要:以铝基硅胶薄层板作为纸喷雾离子源基底材料, 结合小型便携式质谱建立了血液样品中他克莫司、西罗莫司、依维莫司、环孢素 A 和霉酚酸等 5 种免疫抑制剂的即时检验方法。将铝基硅胶薄层板剪成三角形, 滴加 10 μL 血液样品, 以 20 μL 甲醇作为洗脱/喷雾溶剂, 薄层板尖端距离小型便携式质谱进样口 1.0 cm, 施加喷雾电压, 样品在薄层板上洗脱后形成电喷雾, 进入小型便携式质谱进行分析。结果表明, 5 种免疫抑制剂在各自的线性范围内呈现良好的线性关系, 相关系数(r)为 0.993 9~0.996 8, 检出限和定量限分别为 0.5~5、1~10 mg/L。在低、中、高 3 个加标浓度水平下, 平均回收率在 91.0%~114.3% 之间, 相对标准偏差(RSD)小于 8.4%, 检测周期小于 1 min。该方法简单快速、准确高效, 适用于血液中免疫抑制剂的即时床旁分析。

关键词:薄层板; 纸喷雾离子化; 小型便携式质谱; 免疫抑制剂; 即时检验

中图分类号: O657.63

文献标志码: A

文章编号: 1004-2997(2023)06-0762-08

doi: 10.7538/zpxb.2023.0063

Point-of-Care Testing of Immunosuppressants in Blood Using Thin-layer Paper Spray Ionization and a Miniature Mass Spectrometer

XIE Yi-qing^{1,2}, GUO Xiang-yu¹, ZHANG Wen-peng³, OUYANG Zheng³, MA Qiang¹

(1. Chinese Academy of Inspection and Quarantine, Beijing 100176, China;

2. School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102488, China;

3. Department of Precision Instrument, Tsinghua University, Beijing 100084, China)

Abstract: A new method was proposed for point-of-care testing (POCT) of immunosuppressants in blood using thin-layer paper spray ionization and a miniature mass spectrometer. The aluminum thin-layer plate was used as paper spray substrate, and cut into an equilateral triangle. Aliquots of 10 μL blood sample were loaded on the aluminum thin-layer plate, and then 20 μL methanol was dropped as elution/spray solvent. The tip of the triangular plate was placed 1.0 cm in front of the discontinuous atmospheric pressure interface (DAPI) of the miniature mass spectrometer. When the spray voltage was applied, the sample was eluted from the triangular plate and formed paper

spray ionization at the tip. Coupled with the miniature mass spectrometer, five immunosuppressants were detected under negative ion mode. The precursor ions $[M-H]^-$ of tacrolimus, sirolimus, everolimus, ciclosporin A, and mycophenolic acid are m/z 802.6, 912.6, 957.1, 1 200.8, 319.1, and product ions are m/z 560.2 and 604.3, m/z 590.3 and 321.2, m/z 590.3 and 365.2, m/z 1 088.8, m/z 287.4 and 275.1, respectively. Based on the observed signal-to-noise ratio (S/N) of the most intense tandem mass spectrometry (MS/MS) fragment peaks and using the $S/N=3$ and 10 as the criteria, the limits of detection (LODs) and quantitation (LOQs) are estimated to be 0.5-5 mg/L and 1-10 mg/L, respectively. The internal standard method was used for quantitative analysis, and indapamide was used as the internal standard compound. Sufficient linearity for each analyte is obtained with the correlation coefficients (r) greater than 0.99. The proposed method displays good recoveries in the range of 91.0%-114.3% with the relative standard deviations (RSDs) less than 8.4%. Moreover, the developed method was used for the analysis of blood samples, which spiked with tacrolimus, sirolimus, everolimus, cyclosporine A and mycophenolic acid at the concentration of 100 mg/L. The analytical results demonstrated the consistency between the proposed method and the traditional liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) method. The entire analysis procedure can be completed within 1 min. The proposed method is simple, fast, accurate, efficient, and suitable for POCT of immunosuppressants in blood.

Key words: thin-layer plate; paper spray ionization; miniature mass spectrometry; immunosuppressant; point-of-care testing (POCT)

即时检验(point-of-care testing, POCT)也称床旁检测,是指在采样现场进行的,利用便携式分析仪器及配套试剂快速得到检测结果的一种检测方式^[1-2]。该技术可以提高工作效率、改善工作流程、节省资源成本、提升工作质量^[3-5],现已广泛应用于临床检验、健康管理、体育赛事、娱乐盛会、现场执法、灾难救援等众多领域^[6-7]。

随着器官移植技术的成熟,免疫抑制剂的临床使用越来越普及,其临床检测对于用药指导具有重要意义。常见的免疫抑制剂包括环孢素、他克莫司、依维莫司、雷帕霉素和霉酚酸等^[8-10],其中,他克莫司因药效强于环孢素而成为临床上普遍采用的免疫抑制药物。但在使用过程中发现,他克莫司存在不良反应大、个体差异大、治疗窗口窄等问题,患者服药后需要测量血药浓度来指导个体化给药。因此在药物的药代动力学、生物等效性研究中亟需开发血液中免疫抑制剂药物的床旁快速检测方法,从而改善用药的安全性,降低他克莫司等免疫抑制剂的肝肾毒性、神经

毒性和胃肠毒性等^[11-13]。

目前,血液中免疫抑制剂的检测方法主要有免疫反应分析法和色谱-质谱联用法。免疫反应分析法的缺点是可靠性与特异性差;而色谱-质谱联用法通常需要复杂的样品前处理和色谱分离过程,存在检测周期长、无法现场快速检测、无法及时给出用药指导等弊端。因此,开发即时快速检测方法尤为重要^[14]。质谱技术具有选择性好、灵敏度高和分析速度快等优点,在众多领域发挥着越来越重要的作用^[15-16]。相较于传统实验室的大型质谱仪,小型便携式质谱仪具有体积小、质量轻、功耗低、易携带等优点,是实现样品现场快速检测的核心设备^[17]。此外,纸喷雾离子化技术具有离子源制备和操作简单、成本低廉等优点,通过与小型便携式质谱仪联用,可在生命科学、环境监测、毒品检测、消费品安全等领域实现样品的现场快速检测^[15]。

本研究以铝基硅胶薄层板制备纸喷雾离子源,利用硅胶的吸附作用,在线完成样品的净化除杂过程,通过耦联小型便携式质谱仪,建立血

液中他克莫司(TAC)、依维莫司(EVE)、西罗莫司(SIR)、环孢素 A(CSA)、霉酚酸(MPA)等 5 种免疫抑制剂的即时检验方法,以期为免疫抑制剂的临床检测和用药指导提供技术支撑。

1 实验部分

1.1 仪器与装置

Mini β 小型便携式质谱分析系统(55 cm $\times$ 24 cm $\times$ 31 cm,质量 20 kg,功率 $\leq$ 100 W)、Spec-MS 仪器操控和数据处理软件:北京清谱科技有限公司产品;F254 铝基硅胶薄层板:西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司产品。

1.2 材料与试剂

他克莫司、依维莫司、西罗莫司、环孢素 A、霉酚酸和吡达帕胺标准品:纯度均为 98%,德国 Dr. Ehrenstorfer 公司产品;甲醇(色谱纯):美国 Thermo Fisher Scientific 公司产品;乙腈、氯仿、二氯甲烷:北京北化精细化学品有限公司产品;兔全血(ACD 抗凝剂):生工生物工程(上海)股份有限公司产品。

1.3 实验步骤

将铝基硅胶薄层板剪成边长为 1.0 cm 的

等边三角形,滴加 10 μ L 血液样品,静置 30 s,在样品后端滴加 20 μ L 甲醇溶剂。三角形铝基硅胶薄层板底部通过金属夹与小型便携式质谱仪高压源连接,置于质谱仪进样口前端 1.0 cm 处,施加喷雾电压。在高压驱动下,甲醇向三角形铝基硅胶薄层板前端迁移,完成目标物质的萃取和洗脱过程,并在尖端形成电喷雾,采用小型便携式质谱仪即时检验。血液样品中免疫抑制剂的即时检验流程示于图 1。

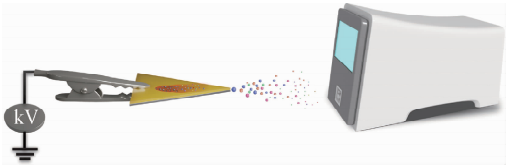


图 1 免疫抑制剂的即时检验流程图
Fig.1 POCT workflow of immunosuppressant

1.4 质谱条件

负离子模式,进样时间 20 ms,碰撞气为空气,碰撞时间 150 ms。5 种免疫抑制剂和内标物(吡达帕胺)的喷雾电压、母离子、子离子和碰撞能量列于表 1,二级质谱图示于图 2。

表 1 5 种免疫抑制剂及内标物的参数
Table 1 Parameters of five immunosuppressants and internal standard

化合物 Compound	喷雾电压 Spray voltage/V	母离子 Precursor ion (<i>m/z</i>)	子离子 Product ion (<i>m/z</i>)	碰撞能量 CID/V
他克莫司	2.8	802.6[M-H] ⁻	560.2*, 604.3	1.9
西罗莫司	2.8	912.6[M-H] ⁻	590.3*, 321.2	1.8
依维莫司	2.8	957.1[M-H] ⁻	590.3*, 365.2	1.9
环孢素 A	2.7	1200.8[M-H] ⁻	1088.8*	2.0
霉酚酸	2.7	319.1[M-H] ⁻	287.4*, 275.1	1.9
吡达帕胺(内标)	2.5	364.1[M-H] ⁻	215.1*, 167.5	2.1

注: * 为定量离子

2 结果与讨论

2.1 薄层板的选择

薄层板因涂层不同而具有不同的吸附分离能力,进而影响目标物质的分离效果及质谱响应。血液样品基质复杂,为了提高目标物质的分离效率,提升质谱响应,本研究考察了硅胶薄

层板、氧化铝薄层板和纤维素薄层板等 3 种铝基薄层板。结果表明,当选择铝基硅胶薄层板进行样品洗脱分离时,目标物质的质谱响应最强。这可能是因为铝基硅胶薄层板上的硅胶涂层能够较好地吸附血液中的强极性杂质分子,达到了良好的分离效果,并且该薄层板以金

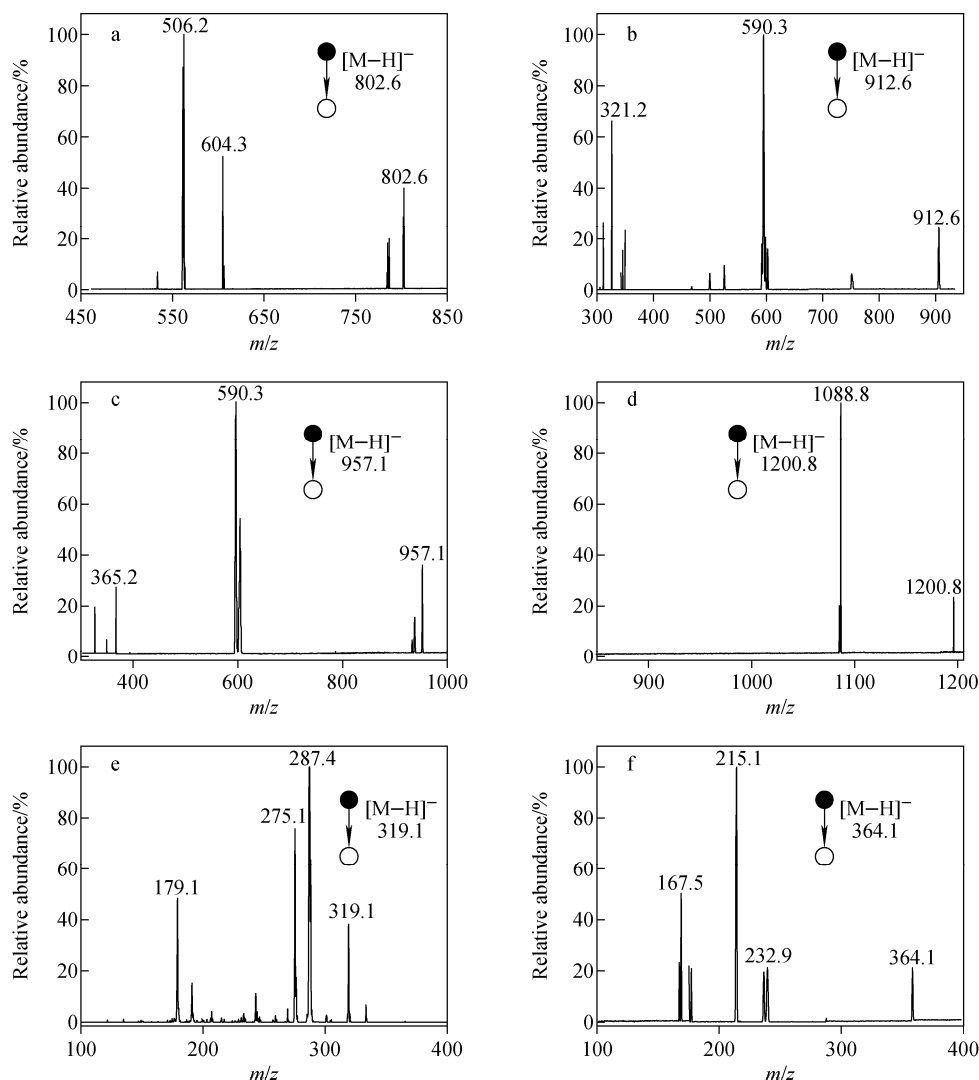


图2 他克莫司(a)、西罗莫司(b)、依维莫司(c)、环孢素A(d)、霉酚酸(e)和吲达帕胺(f)的二级质谱图

Fig. 2 MS/MS spectra of tacrolimus (a), sirolimus (b), everolimus (c), ciclosporin A (d), mycophenolic acid (e), and indapamide (f)

属铝为基材,具有良好的导电性,从而提高了离子化效果。因此,选择铝基硅胶薄层板作为纸喷雾离子源的基底材料。

2.2 离子化条件的优化

合适的离子化模式对目标物质的分析非常重要。本实验首先在正离子模式下对目标物质进行分析,发现除形成较弱的 $[M+H]^+$ 峰外,还会形成 $[M+Na]^+$ 、 $[M+K]^+$ 峰;而在负离子模式下,各物质形成的 $[M-H]^-$ 峰响应强度明显高于正离子模式下生成的 $[M+H]^+$ 峰。因此,选择在负离子模式下对各物质进行分析。

纸喷雾离子化过程中,纸基顶角的角度对离子化效率有着重要影响。本研究考察了5种

角度(15° 、 30° 、 45° 、 60° 、 75°)对质谱信号强度的影响,结果示于图3a。当角度较小时,靶标物质的信号强度较弱;随着角度增加,信号逐渐增强;当角度达到 60° 时,响应信号强度达到最大;再继续增大顶角角度,信号强度下降,这可能是由于角度过大,目标物质的离子化效率降低所致。因此,选择薄层纸喷雾的顶角为 60° 。

洗脱/喷雾溶剂的选择不仅影响目标化合物从硅胶板表面洗脱的效率,还影响电喷雾电离效果,从而影响目标物质的质谱响应。本研究考察了乙腈、甲醇、氯仿以及二氯甲烷等4种不同极性溶剂对目标物质的检测效果,结果示

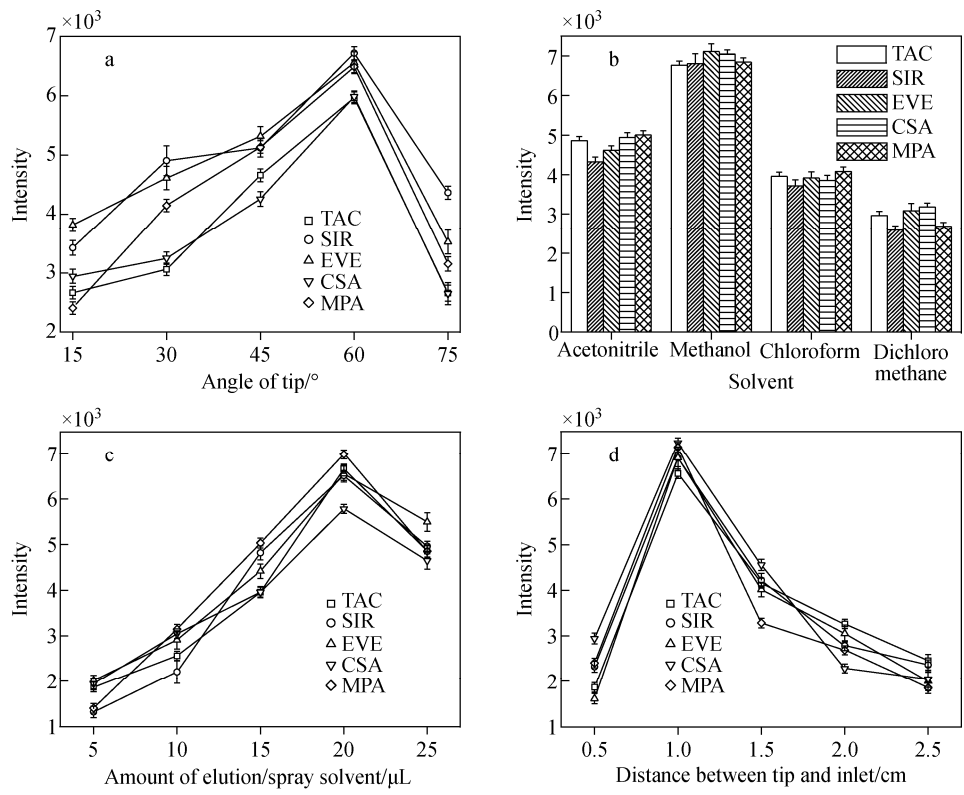


图3 薄层板顶角角度(a)、洗脱/喷雾溶剂种类(b)、溶剂用量(c)和离子源与进样口距离(d)的优化
Fig.3 Optimization of angle of tip (a), elution/spray solvent (b), amount of solvent (c), and distance between tip and inlet (d)

于图 3b。以乙腈作为洗脱/喷雾溶剂时,目标物质的质谱响应信号较弱;以甲醇作为洗脱/喷雾溶剂时,目标物质的响应值最强;以二氯甲烷和氯仿作为洗脱/喷雾溶剂时,目标物质会形成较强的 $[M+Cl]^-$ 峰,但其二级质谱信号较弱,不利于定量分析。因此,选择甲醇作为洗脱/喷雾溶剂。

洗脱/喷雾溶剂的用量是影响分析结果的重要因素。用量过少,会导致洗脱和离子化效率较低,信号减弱;用量过多,液滴之间可能会相互作用,形成较大的液滴,影响离子化效率和信号强度。本研究分别考察了 5、10、15、20、25 μL 甲醇作为洗脱/喷雾溶剂对质谱响应强度的影响,结果示于图 3c。随着甲醇体积增加,目标物质的响应值逐渐增大,当体积为 20 μL 时,响应信号最强,随后呈下降趋势。因此,选择 20 μL 洗脱/喷雾溶剂。

离子源是质谱的重要组成部分,离子源与进样口之间的距离对离子化效果和信号强度有着重要影响。距离太近,样品液滴去溶剂化效

率低,影响检测信号强度,同时容易击穿空气,产生放电现象;距离太远,雾滴运动受阻,进入离子传输管以及质量分析器的待测离子减少,同样会造成质谱信号响应强度较弱。本实验考察了离子源与进样口之间距离为 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 cm 时的信号强度,结果示于图 3d。当距离为 0.5 cm 时,信号强度较低;当距离大于 1.0 cm 时,随着距离的增加,信号强度逐渐下降。因此,设定离子源与进样口的距离为 1.0 cm。

2.3 方法学考察

采用小型便携式质谱检测分析一系列不同浓度的 5 种免疫抑制剂进行方法学考察,结果列于表 2。以 3 倍和 10 倍信噪比作为方法的检出限和定量限,分别为 0.5~5 mg/L 和 1~10 mg/L。以 5 种免疫抑制剂的浓度为横坐标(x),免疫抑制剂与内标物吡达帕胺的峰面积比值为纵坐标(y),绘制标准曲线,其在各自的线性范围内呈现良好的线性关系,相关系数(r)大于 0.99。以经测定不含 5 种免疫抑制剂的

表 2 方法的检出限、定量限、线性范围、线性方程、相关系数和加标回收率

Table 2 Results of LOD, LOQ, linear range, linear equation, correlation coefficient and recovery

化合物 Compound	检出限	定量限	线性范围	线性方程	相关系数	平均回收率和精密度		
	LOD/ (mg/L)	LOQ/ (mg/L)	Linear range/(mg/L)	Linear equation	Correlation coefficient (r)	Recovery (%, RSD, n=6)		
						LOQ	10×LOQ	50×LOQ
他克莫司	5	10	10~1000	$y=2.8902\times10^{-4}x+0.0624$	0.9946	106.1(5.6)	96.9(6.7)	114.3(7.1)
西罗莫司	5	10	10~1000	$y=4.9538\times10^{-4}x+0.0456$	0.9947	101.1(3.2)	99.7(2.9)	111.7(4.7)
依维莫司	5	10	10~1000	$y=7.1057\times10^{-4}x+0.0671$	0.9965	110.0(8.2)	100.7(5.3)	109.6(4.9)
环孢素 A	5	10	10~1000	$y=3.5573\times10^{-4}x+0.0786$	0.9968	94.8(2.7)	105.7(8.6)	109.6(4.2)
霉酚酸	0.5	1	1~500	$y=0.0902\times10^{-4}x+0.1682$	0.9939	91.0(7.3)	104.1(6.8)	110.3(8.4)

血液样品作为空白基质,分别制备低、中、高 3 个添加浓度水平的免疫抑制剂基质加标样品进行加标回收实验,每个水平平行测定 6 次,他克莫司、西罗莫司、依维莫司、环孢素 A、霉酚酸的回收率分别为 96.9%~114.3%、99.7%~111.7%、100.7%~110.0%、94.8%~109.6%、91.0%~110.3%,相对标准偏差分别小于 7.1%、4.7%、8.2%、8.6%、8.4%。在此基础上进一步考察方法的稳定性,将加标样品分别置于 4℃冰箱和室温下,12 h 后测定,每个水平平行测定 6 次。在不同的测定时间、各水平的测定浓度值与真实值较接近,相对标准偏差小于 8.1%,表明不同温度下的样品测定稳定性良好。由此可见,该方法准确稳定,可用于血液中免疫抑制剂的即时检验。

2.4 样品检测

以免全血模拟实际血样,制备得到含 100 mg/L 他克莫司、西罗莫司、依维莫司、环孢素

A 和霉酚酸的样品,采用薄层纸喷雾离子化-小型便携式质谱法进行即时检测,测得其浓度分别为 98.9、101.3、100.9、98.1、99.2 mg/L。同时,采用液相色谱-串联质谱法^[18]进行分析,测得他克莫司、西罗莫司、依维莫司、环孢素 A、霉酚酸的浓度分别为 98.7、99.3、101.5、100.6、98.4 mg/L。本方法的检测结果与传统方法接近。

总体而言,本方法的检出限略高于传统的大型色谱-质谱联用法,一方面是由于小型便携式质谱仪以线性离子阱作为质量分析器,而传统的大型质谱仪通常以三重四极杆作为质量分析器;另一方面,本研究采用薄层纸喷雾作为原位电离源,省去了传统的色谱分离过程,而在一定程度上损失了灵敏度。但本方法可以提高检测速度、缩短检测周期,更适合临床用药监测及快检的需求。本方法与传统方法的检测周期对比情况列于表 3。

表 3 本方法与文献报道方法的比较

Table 3 Comparison of the current method and other literature approaches for the analysis of immunosuppressants in blood samples

样品 类型 Sample	免疫抑制剂 Immunosuppressant	技术方法 Method	检测周期 Detection period/min	参考文献 Reference
血液	他克莫司、西罗莫司、依维莫司、环孢素 A 和霉酚酸	薄层纸喷雾离子化-小型便携式质谱法	1	本研究
血液	他克莫司、西罗莫司、依维莫司、环孢素 A	液相色谱-串联质谱法	15	[18]
血液	他克莫司、西罗莫司、依维莫司	液相色谱-串联质谱法	30	[19]
血液	西罗莫司	液相色谱法	60	[20]
血液	依维莫司	液相色谱法	50	[21]
血液	他克莫司、西罗莫司、依维莫司、环孢素 A	液相色谱-串联质谱法	60	[22]

3 结论

本研究以铝基硅胶薄层板为基材制备纸喷雾离子源,结合小型便携式质谱,建立了血液中他克莫司、西罗莫司、依维莫司、环孢素 A 和霉酚酸等 5 种免疫抑制剂的即时检验方法。该方法简便快速、准确可靠,可在 1 min 内完成样品的检测分析,为免疫抑制剂的临床快速检测提供了解决方案,具有良好的应用前景。

参考文献:

- [1] 王树志. 一种 POCT 分析系统的设计与实现 [D]. 秦皇岛:燕山大学,2019.
- [2] JUNG W, HAN J, CHOI J W, AHN C H. Point-of-care testing (POCT) diagnostic systems using microfluidic lab-on-a-chip technologies[J]. *Microelectronic Engineering*, 2015, 132: 46-57.
- [3] 周睿,王清涛. POCT 在临床应用中的机遇和挑战[J]. *中华检验医学杂志*, 2019, 42(5): 323-327.
ZHOU Rui, WANG Qingtao. Opportunities and challenges of point-of-care testing in clinical application[J]. *Chinese Journal of Laboratory Medicine*, 2019, 42(5): 323-327 (in Chinese).
- [4] KELLER M E, KELLIING S E, BRIGHT D R. Pharmacy technicians and point of care testing [J]. *Journal of Pharmacy Technology*, 2015, 31(4): 143-148.
- [5] LUPPA P B, MULLER C, SCHILCHTIGER A, SCHLEBUSH H. Point-of-care testing (POCT): current techniques and future perspectives[J]. *Trends in Analytical Chemistry*, 2011, 30(6): 887-898.
- [6] NICHOLS J H. Utilizing point-of-care testing to optimize patient care[J]. *Electronic Journal of the International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 2021, 32(2): 140-144.
- [7] SHRIVASTAVA S, TRUNG T Q, LEE N E. Recent progress, challenges, and prospects of fully integrated mobile and wearable point-of-care testing systems for self-testing [J]. *Chemical Society Reviews*, 2020, 49(6): 1 812-1 866.
- [8] 尹航,耿芳,李哲,王政,沈素,余俊先,王汝龙. 新型免疫抑制剂在人血中定量方法研究进展[J]. *中国新药杂志*, 2017, 26(22): 2 681-2 687.
YIN Hang, GENG Fang, LI Zhe, WANG

Zheng, SHEN Su, YU Junxian, WANG Rulong. Research progress in quantitative analysis methods of new immunosuppressants in human blood [J]. *Chinese Journal of New Drugs*, 2017, 26(22): 2 681-2 687(in Chinese).

- [9] 付更艳,贾号,赵庆孟,沙宇. 蛋白激酶 C 与免疫系统的关系及其抑制剂的研究进展[J]. *沈阳药科大学学报(自然科学版)*, 2016, 33(12): 1 001-1 010.
FU Gengyan, JIA Hao, ZHAO Qingmeng, SHA Yu. Progress in the relationship between protein kinase C and immune system and its inhibitors [J]. *Journal of Shenyang Pharmaceutical University (Natural Science Edition)*, 2016, 33(12): 1 001-1 010(in Chinese).
- [10] 陈规划,姜楠. 肝移植免疫耐受的研究热点和思考[J]. *器官移植(自然科学版)*, 2017, 8(1): 1-4.
CHEN Guihua, JIANG Nan. Research hotspots and reflections on immune tolerance in liver transplantation[J]. *Organ Transplantation (Natural Science Edition)*, 2017, 8(1): 1-4(in Chinese).
- [11] BOGUSZ M J, ENAZI E A, HASSAN H, JAWAAD J A, RUWAILY A J, MOHAMMED A T. Simultaneous LC-MS-MS determination of cyclosporine A, tacrolimus, and sirolimus in whole blood as well as mycophenolic acid in plasma using common pretreatment procedure[J]. *Journal of Chromatography B-Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 2007, 850(1/2): 471-480.
- [12] BODNAR B M, PAWINSKI T, KUNICKI P K. Isotope-labeled versus analog internal standard in LC-MS/MS method for tacrolimus determination in human whole blood samples-a compensation of matrix effects[J]. *Journal of Chromatography B*, 2019, 1 104: 220-227.
- [13] CHEN Q, JIANG S, XIA R, SHUAI L, ZHANG H, BAI L. Research progress on immunosuppressants and new drugs for liver transplantation[J]. *Organ Transplantation*, 2020, 11(6): 663-670.
- [14] ZHANG Y, ZHANG R. Recent advances in analytical methods for the therapeutic drug monitoring of immunosuppressive drugs[J]. *Drug Testing and Analysis*, 2018, 10(1): 81-94.
- [15] 武杨柳,李栋,康露,韩丽君,潘灿平. 质谱技术在

- 农药残留分析中的研究进展[J]. 质谱学报, 2021, 42(5): 691-708.
- WU Yangliu, LI Dong, KANG Lu, HAN Lijun, PAN Canping. Research progress of mass spectrometry in pesticide residue analysis[J]. Journal of Chinese Mass Spectrometry Society, 2021, 42(5): 691-708(in Chinese).
- [16] OUYANG Z, NOLL R J, COOKS R G. Hand-held miniature ion trap mass spectrometers[J]. Analytical Chemistry, 2009, 81(7): 2 421-2 425.
- [17] 华韵晨,倪章,郭项雨,陈萌,白桦,马潇潇,李晓旭,马强. 注射器内空气辅助萃取-小型便携式质谱法现场快速检测纺织品中的 12 种有害染料[J]. 分析化学, 2022, 50(5): 757-763.
- HUA Yunchen, NI Zhang, GUO Xiangyu, CHEN Meng, BAI Hua, MA Xiaoxiao, LI Xiaoxu, MA Qiang. Rapid on-site analysis of 12 kinds of hazardous colorants in textiles using in-syringe air-assisted extraction coupled with a miniature mass spectrometer[J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2022, 50(5): 757-763 (in Chinese).
- [18] JI M, KIM S, CHUNG H J, LEE W, CHUN S, MIN W K. Evaluation of the MassTrak immunosuppressant XE kit for the determination of everolimus and cyclosporin A in human whole blood employing isotopically labeled internal standards[J]. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, 2011, 49(12): 2 021-2 027.
- [19] SALLUSTIO B C, NOLL B D, MORRIS R G. Comparison of blood sirolimus, tacrolimus and everolimus concentrations measured by LC-MS/MS, HPLC-UV and immunoassay methods[J]. Clinical Biochemistry, 2011, 44(2/3): 231-236.
- [20] FRENCH D C, SALTZGUEBER M, HICKS D R, COWPER A L, HOLT D W. HPLC assay with ultraviolet detection for therapeutic drug monitoring of sirolimus[J]. Clinical Chemistry, 2001, 47(7): 1 316-1 319.
- [21] BALDELLI S, MURGIA S, MERLINI S, ZENONI S, PERICO N, REMUZZI G, CATTANEO D. High-performance liquid chromatography with ultraviolet detection for therapeutic drug monitoring of everolimus[J]. Journal of Chromatography B, 2005, 816(1/2): 99-105.
- [22] BECKER A, BACKMAN J T, ITKONEN O. Comparison of LC-MS/MS and chemiluminescent immunoassays for immunosuppressive drugs reveals organ dependent variation in blood cyclosporine a concentrations[J]. Clinica Chimica Acta, 2020, 508: 22-27.
- (收稿日期:2023-05-30;修回日期:2023-06-16)