

5-FU在全血中的稳定性及其TDM临床采样转运流程研究^Δ

温永青*,王文娟,白羽,刘汝峰,马旭[#](北京大学肿瘤医院暨北京市肿瘤防治研究所药剂科/恶性肿瘤发病机制及转化研究教育部重点实验室,北京 100142)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2025)23-2963-06
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2025.23.14



摘要 目的 考察5-氟尿嘧啶(5-FU)在人全血中的稳定性,并以此为依据建立标准化的5-FU治疗药物监测(TDM)临床采样转运流程。**方法** 以EDTA抗凝全血样本为基质制备低(200 ng/mL)、高(5 000 ng/mL)浓度的5-FU全血稳定性考察样品(分别设置无稳定剂组与添加1%体积比的稳定剂组)。将全血稳定性考察样品分别置于室温[(25±2)℃]及冷藏(2~8℃)条件下,于0、0.5、1、2、4、7、24 h时间点取样处理,样品经涡旋、离心后取上层血浆,采用甲醇沉淀蛋白后,通过高效液相色谱-串联质谱法测定血浆中5-FU的浓度。基于全血稳定性考察结果制定临床采样转运流程。**结果** 未添加稳定剂的空白全血样品中5-FU的浓度显著低于添加了稳定剂的样品($P<0.05$),而不同体积(10、25、50 μL)稳定剂对低、高浓度全血稳定性考察样品中5-FU的浓度测定结果均无显著影响($P>0.05$)。未添加稳定剂时,低、高浓度的5-FU全血样品在室温下分别可稳定保存0.5 h与1 h,冷藏条件下分别可稳定保存2 h与7 h;添加1%体积比的稳定剂后,全血样品在室温与冷藏条件下均可稳定保存24 h。所建5-FU TDM临床采样转运流程为:采样后将全血样本在室温(≤0.5 h)或4℃(≤2 h)条件下暂存,并于2~8℃冷藏转运;送达实验室后立即添加1%体积比的稳定剂,并于24 h内完成离心,所得血浆于-20℃保存。**结论** 全血中的5-FU在室温条件下稳定性较差,2~8℃冷藏时稳定性略有提升但仍会快速降解;添加1%体积比的稳定剂可显著延长其冷藏保存时间。本研究所建5-FU TDM临床采样转运流程,创新性地将稳定剂添加节点设置于样品接收环节(而非采血后立即添加),在保证样品分析质量的前提下,更贴合临床采血的实际操作条件,显著提升了临床实际操作的可行性。

关键词 5-氟尿嘧啶;全血;稳定性;治疗药物监测;临床采样转运流程

Stability of 5-FU in whole blood and a clinical sampling and delivery procedures for TDM

WEN Yongqing, WANG Wenjuan, BAI Yu, LIU Rufeng, MA Xu[Dept. of Pharmacy, Peking University Cancer Hospital & Institute/Key Laboratory of Carcinogenesis and Translational Research (Ministry of Education), Beijing 100142, China]

ABSTRACT **OBJECTIVE** To investigate the stability of 5-fluorouracil (5-FU) in human blood and to establish a standardized clinical sampling and delivery procedure for therapeutic drug monitoring (TDM) of 5-FU. **METHODS** The EDTA-anticoagulated whole blood was used as the matrix to prepare stability assessment samples of 5-FU at both low (200 ng/mL) and high (5 000 ng/mL) concentrations (with groups without stabilizer and with 1% volume ratio of stabilizer). The stability assessment samples were placed under room temperature [(25±2)℃] and refrigerated (2-8℃) conditions, with sampling at 0, 0.5, 1, 2, 4, 7, and 24 h. After vortexing and centrifugation, the upper plasma layer was collected; proteins were precipitated using methanol, and the concentration of 5-FU in plasma was determined by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Based on the whole blood stability results, clinical sampling and delivery procedures were established. **RESULTS** The concentration of 5-FU in blank whole blood samples without stabilizers was significantly lower than that in samples with stabilizers ($P<0.05$). However, varying volumes (10, 25, 50 μL) of stabilizers had no significant effect on the measured concentrations of 5-FU in stability assessment samples with low and high concentrations ($P>0.05$). Without the addition of a stabilizer, low- and high-concentration 5-FU whole blood samples remained stable at room temperature for 0.5 h and 1 h, respectively, and under refrigeration for 2 h and 7 h, respectively. After the addition of a 1% stabilizer, the whole blood samples remained stable for up to 24 h under both room temperature and refrigerated conditions. Based on these findings, the following procedure was established: after collection, whole blood samples could be temporarily stored at room temperature (≤0.5 h) or at 4℃ (≤2 h), and transported at 2-8℃. Upon delivery to the laboratory, a 1% volume ratio of stabilizer must be added immediately, followed by centrifugation within 24 h. The resulting plasma should be stored at -20℃. **CONCLUSIONS** 5-FU in whole blood exhibits poor stability at room temperature. Refrigeration at 2-8℃ slightly improves stability, but degradation still occurs rapidly. Adding a stabilizer at a 1% volume ratio significantly prolongs the refrigerated storage time. The established sampling and transport procedure for 5-FU TDM innovatively introduces the stabilizer addition step at the laboratory sample reception stage (rather than immediately

^Δ 基金项目 北京大学肿瘤医院科学研究基金项目(No.JC202409)
* 第一作者 药师,硕士。研究方向:治疗药物监测、药物分析。
E-mail: wenyongqing@vip.163.com
[#] 通信作者 副主任药师,博士。研究方向:临床药学、肿瘤精准药
学。E-mail: maxu1985@bjmu.edu.cn

after blood draw). This approach ensures analytical quality while offering greater adaptability to real-world clinical sampling conditions, significantly improving practical feasibility.

KEYWORDS 5-fluorouracil; whole blood; stability; therapeutic drug monitoring; clinical sampling and delivery procedures

5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU)是经典的抗代谢类化疗药物,广泛应用于结直肠癌、头颈部癌及其他实体肿瘤的联合化疗方案中。目前,5-FU在临床常规给药时主要基于患者体表面积进行剂量计算,但有研究表明,基于体表面积给药的患者群体中,5-FU在个体间的暴露水平差异可达100倍左右,多数患者未能达到理想的药物暴露量^[1-2]。国内外权威指南强烈推荐对接受5-FU治疗的结直肠癌、头颈部癌等癌症患者实施治疗药物监测(therapeutic drug monitoring, TDM),以实现精准化、个体化的抗肿瘤药物治疗^[3]。

目前,5-FU的血药浓度检测在技术上存在显著挑战,这主要归因于其药代动力学特性——约80%的5-FU可在体内经二氢嘧啶脱氢酶(dihydropyrimidine dehydrogenase, DPD)作用分解代谢为非活性产物^[3]。全血是进行5-FU TDM的理想样品类型,但在外周静脉血中仍存在具有活性的DPD,在体外条件下该酶会持续催化5-FU的降解反应,导致5-FU在全血中不稳定。笔者通过文献调研发现,既往关于5-FU方法学稳定性的研究多聚焦于血浆样品,关于其在全血状态下的稳定性,即从采样到离心获得血浆这一预处理阶段的研究,尚未见充分报道^[4-6];此外,目前市售试剂盒产品的分析流程及质控标准虽然涵盖了离心后血清/血浆样品的稳定性验证,但普遍缺乏对血液样品在送达实验室进行前处理(离心)前的转运条件要求的相关研究。全血样品的稳定性是TDM分析前阶段的关键环节,对后续血浆药物浓度测定结果的准确性具有决定性影响。研究显示,血液样品在室温下放置1 h即可引起某些分析物浓度发生超过20%的变化^[7];此外,样品运输中的温度波动及标准化操作程序的缺失,亦是导致分析前误差的重要来源^[8-9]。由于TDM需在特定药代动力学时间点(如达峰浓度或谷浓度时)对采集的单次样品进行评估,若因分析前变量失控导致结果失真,临床将难以通过重复采样进行补救。因此,严格控制从采血至离心的时间间隔、规范运输与储存温度等分析前变量,是保证5-FU血药浓度测定结果可靠性的必要措施。

本研究模拟了临床实际采样转运条件,采用高效液相色谱-串联质谱(HPLC-MS/MS)法系统考察了在分析前阶段不同储存温度和时间下5-FU在全血样品中的稳定性,旨在为建立标准化的5-FU TDM临床采样转运流程提供科学依据。

1 材料

1.1 仪器

本研究所用的主要仪器有AB SCIEX 4500^{MD}型液相

色谱质谱联用仪(美国AB公司)、MIX-30S型涡旋混合仪(杭州米欧仪器公司)、移液器(德国Eppendorf公司)、Fresco 21型高速冷冻离心机(美国Thermo Fisher Scientific公司)、HYCD-282C型医用冷藏冷冻箱(青岛海尔股份有限公司)。

1.2 试剂

抗肿瘤药物样品萃取液(包括沉淀剂、稀释剂,批号K2402022),5-FU稳定剂(成分为吉美嘧啶,浓度为2 mg/mL),5-FU血浆校准品(共6份,编号S1~S6,浓度分别为50、100、500、1 000、2 500、10 000 ng/mL),5-FU低、中、高浓度(202、1 024、5 038 ng/mL)血浆质控品试剂盒和内标5-FU-¹³C, ¹⁵N₂工作液均购自浙江迪赛思诊断技术有限公司(批号均为RM2404050);氟尿嘧啶注射液(批号FA241002,规格为10 mL:0.25 g)购自上海旭东海普药业有限公司;甲醇(色谱纯,批号11351607426)购自美国Merck公司;甲酸(质谱纯,批号214911)购自美国Thermo Fisher Scientific公司;水为超纯水。

1.3 全血样品

本研究已获北京大学肿瘤医院(以下简称“本院”)医学伦理委员会审批(批件号为2024KT84),实验所用全血样品均来源于本院,所有入组患者均知情同意并签署知情同意书。使用EDTA抗凝采血管采集血样,每位患者静脉全血不少于2 mL。采血后立即将采血管轻柔颠倒混匀8~10次,避免剧烈振荡,于2~8 °C保存备用。

2 方法与结果

2.1 色谱与质谱条件

2.1.1 色谱条件

采用C₁₈(2.1 mm×50 mm, 2.6 μm)色谱柱,以0.1%甲酸-2 mmol/L乙酸铵水溶液为流动相A、0.1%甲酸-甲醇溶液为流动相B进行梯度洗脱(0~0.8 min, 80%A; 0.8~1.3 min, 80%A→10%A; 1.3~2.5 min, 10%A; 2.5~2.6 min, 10%A→80%A; 2.6~3.0 min, 80%A);流速为0.6 mL/min;柱温为45 °C;进样量为2 μL。

2.1.2 质谱条件

离子源类型为电喷雾离子源,采用负离子扫描方式;离子源电压为-4 500 V;离子源温度为550 °C;气帘气压强为30 psi(1 psi=6.895 kPa);喷雾气压强为60 psi;辅助加热气压强为55 psi;采用多反应监测模式。质谱参数见表1。

表1 5-FU和内标的质谱参数

待测物	母离子(<i>m/z</i>)	子离子(<i>m/z</i>)	去簇电压/V	碰撞能/V	扫描时间/ms	用途
5-FU	122.884	41.900	-55.00	-28.00	100	定量
5-FU	129.100	42.100	-55.00	-26.00	50	定性
5-FU- ¹³ C, ¹⁵ N ₂	131.906	43.900	-20.00	-28.00	100	内标

2.2 血浆样品的处理

取冷藏保存的全血样品,以2 500 r/min离心5 min,得到上层血浆样品。精密吸取血浆样品50 μL,置于1.5 mL离心管中,加入200 μL甲醇沉淀剂[含内标工作液,其中内标:甲醇=1:100(V/V),血浆:甲醇=1:4(V/V)],以2 500 r/min涡旋振荡5 min,再以12 000 r/min离心5 min后,取上清液20 μL至1.5 mL离心管中,加水100 μL稀释,涡旋1 min混匀后用于进样分析。

2.3 专属性考察

分别取空白血浆、5-FU血浆校准品S1、5-FU血浆校准品S6和待测血浆样品,按“2.2”项下方法处理后,再按“2.1”项下色谱与质谱条件进样分析。结果(图1)显示,5-FU的保留时间约为0.49 min,空白血浆中的内源性物质不影响5-FU的测定,表明该方法专属性良好。

2.4 线性关系考察

取5-FU血浆校准品(S1~S6),分别按“2.2”项下方法处理后,按“2.1”项下色谱和质谱条件进行分析。以5-FU浓度为横坐标(X),以5-FU峰面积与内标峰面积的比值为纵坐标(Y),采用加权最小二乘法进行线性回归分析。结果显示,5-FU的线性回归方程为 $Y=0.001\ 45X+0.005\ 49$ ($r=0.997\ 7$),其在50~10 000 ng/mL范围内线性关系良好。

2.5 准确度和精密度考察

取5-FU血浆校准品S1(浓度为50 ng/mL)和低、中、高浓度血浆质控品(浓度分别为202、1 024、5 038 ng/mL)考

察方法的准确度与精密度。每个浓度水平平行取3个样品,在2 d内完成。各血浆样品按“2.2”项下方法处理后,按“2.1”项下色谱和质谱条件进行分析。准确度通过相对误差(relative error, RE)表示,精密度则以变异系数(coefficient of variation, CV)来体现。结果显示,各浓度血浆样品批内和批间精密度考察的CV均不高于8.76%,准确度考察的RE为-6.46%~5.49%,详见表2。

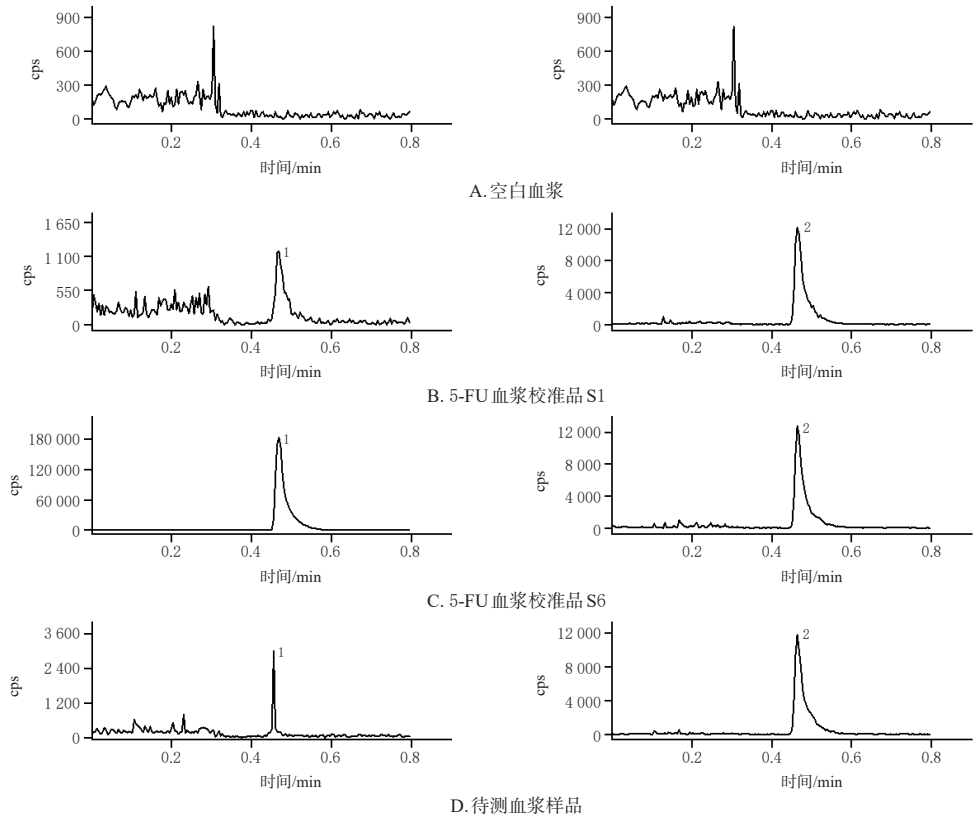
2.6 血浆稳定性考察

取5-FU低、中、高浓度血浆质控品(浓度分别为202、1 024、5 038 ng/mL),每个浓度水平平行取3个样品,按“2.2”项下方法处理后,按“2.1”项下色谱和质谱条件进行分析,考察血浆样品在室温放置8 h、4℃冰箱放置7 d、-20℃冰箱冻存30 d、-80℃反复冻融3次及10℃自动进样器放置24 h的稳定性。结果显示,5-FU低、中、高浓度血浆质控品稳定性考察的CV均不高于13.94%,RE为-7.69%~7.09%,表明各血浆样品在上述各条件下的稳定性均良好,详见表3。

2.7 全血稳定性考察

2.7.1 不同体积稳定剂对全血样品中5-FU稳定性的影响

取“1.3”项下不同患者全血样品,混合后于4℃冷藏保存。使用前,将全血样品置于37℃恒温环境中孵育20 min。精密量取氟尿嘧啶注射液适量,用0.9%氯化钠注射液稀释并定容,得到低(4 μg/mL)、高(100 μg/mL)浓度的氟尿嘧啶工作溶液。精密量取1 mL全血样品,



1:5-FU;2:5-FU-¹³C, ¹⁵N₂。

图1 5-FU和内标的典型色谱图

表2 人血浆样品中5-FU测定方法的准确度和精密度考察结果

理论浓度/ (ng/mL)	批内(n=3)			批间(n=9)		
	检测浓度 ($\bar{x} \pm s$, ng/mL)	CV/%	RE/%	检测浓度 ($\bar{x} \pm s$, ng/mL)	CV/%	RE/%
50	50.11 ± 4.39	8.76	0.21	50.10 ± 4.23	8.45	0.20
202	213.10 ± 9.70	4.55	5.49	201.30 ± 14.40	7.15	-0.33
1 024	988.70 ± 21.49	2.17	-3.44	957.90 ± 37.56	3.92	-6.46
5 038	4 896.00 ± 49.10	1.00	-2.82	4 762.00 ± 151.00	3.18	-5.48

表3 人血浆中5-FU稳定性考察结果($\bar{x} \pm s$, n=3)										
理论浓度/ (ng/mL)	室温8 h		4℃冰箱7 d		-20℃冻存30 d		-80℃冻融3次		10℃自动进样器 24 h	
	CV/%	RE/%	CV/%	RE/%	CV/%	RE/%	CV/%	RE/%	CV/%	RE/%
202	5.96	-3.71	13.94	7.09	6.15	2.77	5.25	-6.33	11.01	1.67
1 024	3.59	-3.49	8.75	0.73	6.29	2.42	4.68	-7.69	7.23	1.53
5 038	4.51	5.70	5.71	-3.56	3.21	0	1.96	-7.17	6.14	-1.36

分别加入50 μL低、高浓度的氟尿嘧啶工作溶液,制备5-FU低(200 ng/mL)、高(5 000 ng/mL)浓度全血稳定性考察样品。取1 mL全血稳定性考察样品,分别添加10、25、50 μL的5-FU稳定剂,并设置不添加稳定剂的空白全血样品。将上述样品以2 500 r/min离心5 min后,按“2.2”项下方法处理,并按“2.1”项下色谱和质谱条件进行分析。结果显示,未添加稳定剂的空白全血样品中5-FU的浓度显著低于添加了稳定剂的样品($P<0.05$),而不同体积稳定剂对低、高浓度全血稳定性考察样品中5-FU的浓度测定结果均无显著影响($P>0.05$),说明稳定剂添加体积在10~50 μL范围内不影响全血样品中5-FU检测的准确性。结果见表4。基于上述研究结果,建议在全血样品采集过程中按1%体积比(10 μL稳定剂:1 mL全血)添加5-FU稳定剂,以有效抑制5-FU降解,保证样品稳定性。

表4 不同体积稳定剂下5-FU全血样品检测结果					
理论浓度/(ng/mL)	不同稳定剂体积(μL)下的实测浓度/(ng/mL)				
	0	10	25	50	
200	214.86	231.24 ^a	239.32 ^a	250.22 ^a	
	224.68	239.66 ^a	254.82 ^a	239.31 ^a	
	215.21	244.45 ^a	232.25 ^a	230.28 ^a	
5 000	5 447.75	5 893.10 ^a	5 772.29 ^a	5 830.51 ^a	
	5 360.68	5 786.02 ^a	5 688.19 ^a	5 863.45 ^a	
	5 416.18	5 741.61 ^a	5 699.02 ^a	5 823.13 ^a	

a: 与同浓度组中未添加稳定剂的空白全血样品比较, $P<0.05$ 。
2.7.2 不同储存温度和时间对全血样品中5-FU稳定性的影响

为真实模拟临床采血至送检的实际转运条件,本研究考察了不同储存温度和时间对全血样品中5-FU稳定性的影响。以全血样品为基质,按“2.7.1”项下方法制备5-FU低(200 ng/mL)、高(5 000 ng/mL)浓度全血稳定性考察样品,分别设置无稳定剂组与添加1%稳定剂组,每组平行3份。将两组样品分别置于室温[(25±2)℃]和冷藏(2~8℃)条件下储存,于储存后0、0.5、1、2、4、7、24 h时分别测定样品中5-FU浓度。所有全血稳定性考

察样品在达到预设储存时间后,均立即离心并分离血浆,按“2.2”项下方法处理,并按“2.1”项下色谱和质谱条件进行分析,计算各储存时间点样品的平均浓度值与零时刻(0 h)平均浓度值的比值,若该比值在85%~115%范围内,且 $CV \leq 15\%$,则判定样品稳定。

研究结果表明,无稳定剂的全血样品中5-FU的稳定性受储存温度和时间的影响显著:低浓度(200 ng/mL)5-FU全血样品在室温[(25±2)℃]条件下0.5 h内保持稳定($RE=-7.70\%$),1 h后降解率为24.88%,24 h后降解率达92.10%,与文献报道^[10]一致;在冷藏(2~8℃)条件下2 h内保持稳定($RE=-12.64\%$),24 h后降解率为36.49%,稳定性显著优于室温条件。添加1%稳定剂的低浓度全血样品中的5-FU在上述两种储存条件下24 h内均能保持稳定(降解率<8.30%)。

无稳定剂的高浓度(5 000 ng/mL)5-FU全血样品在室温[(25±2)℃]条件下能够维持1 h的相对稳定($RE=-10.85\%$),但24 h后的降解率已达69.32%;而在冷藏(2~8℃)环境中,其可保持7 h的相对稳态($RE=-12.29\%$),并且24 h内仅有17.76%的降解。添加1%稳定剂的高浓度全血样品中的5-FU在上述两种储存条件下24 h内均能保持稳定(降解率<5.43%)。

综上所述,未添加稳定剂的5-FU全血样品稳定性较差,其中低浓度全血样品仅能在室温下维持约0.5 h的稳态,而冷藏环境可以有效延长其稳定性。此外,通过添加适当的稳定剂也能够进一步提高5-FU全血样品的整体稳定性。不同实验条件下5-FU全血稳定性的比较结果见图2。

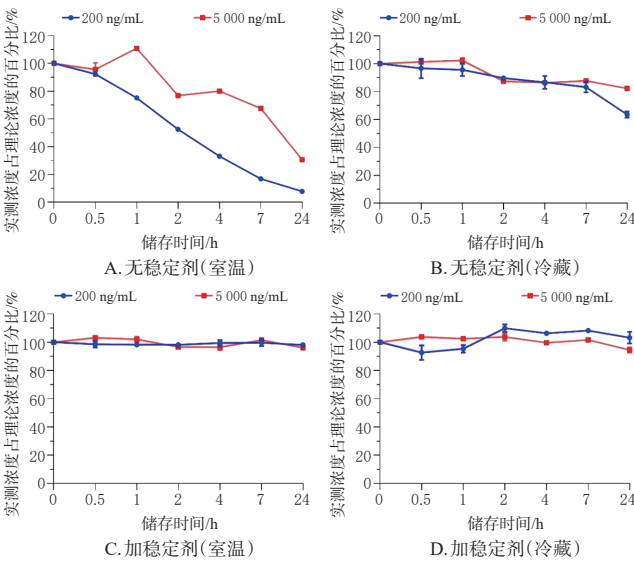


图2 各组5-FU全血样品稳定性比较结果($\bar{x} \pm s$, n=3)

2.8 5-FU TDM临床采样转运标准化流程的建立

本研究结果表明,低浓度(200 ng/mL)5-FU全血样品在室温[(25±2)℃]条件下可稳定保存0.5 h,在冷藏(2~8℃)条件下可稳定保存2 h;高浓度(5 000 ng/mL)

5-FU全血样品在室温 $[(25\pm 2)^{\circ}\text{C}]$ 条件下可稳定保存1 h,在冷藏 $(2\sim 8^{\circ}\text{C})$ 条件下可稳定保存7 h。低、高浓度5-FU全血样品添加稳定剂后,在上述两种条件下24 h内均能保持稳定,无显著降解。因此,建议临床对5-FU全血样品优先采用冷藏 $(2\sim 8^{\circ}\text{C})$ 条件存放,以延长其稳定时效。对于院外采集的5-FU全血样品,需先离心分离血浆,再按1%比例添加稳定剂,随后以冷藏方式送检,且送检时间需控制在24 h内,以确保检测结果的准确性。基于5-FU的临床给药方案、体内药代动力学特征,以及上述全血稳定性实验结果,本研究进一步制定了5-FU TDM临床采样转运标准化流程(图3)。该流程重点纳入以下关键因素:(1)5-FU在人体内的快速代谢特性——避免因样品处理延迟导致浓度偏差;(2)不同储存条件下样品稳定性的时效差异——明确冷藏与室温环境下的质控标准边界;(3)临床实际操作的可操作性——将稳定剂添加节点设置于样品接收环节,相较于文献报道^[11]中采集后立即添加稳定剂的方案,更贴合临床采血实际操作条件,可降低一线医护人员采血操作的复杂性。

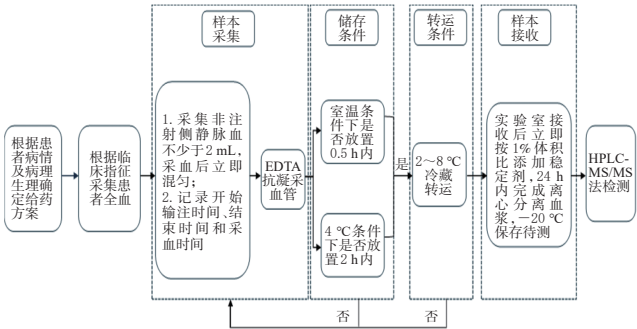


图3 5-FU TDM临床采样转运标准化流程

3 讨论

5-FU作为细胞周期特异性抗肿瘤药,具有较窄的治疗窗和非线性药动力学消除特征,且其血药浓度与临床疗效及治疗毒性之间存在明确的量效关系^[12-13],鉴于上述特征,5-FU被认为是开展TDM以实现个体化给药的理想候选药物。5-FU的代谢主要依赖于DPD的催化作用。DPD活性受 $DPYD$ 基因多态性调控,表现出显著的个体差异。临床观察发现, $DPYD$ 基因变异可导致DPD活性降低或完全缺失,进而引发5-FU代谢障碍;这种代谢异常会造成5-FU在体内蓄积,显著增加患者发生严重毒性反应(如骨髓抑制、神经毒性等)的风险,甚至可能导致死亡^[14]。值得注意的是,全血样品中富含具有生物活性的DPD,可在体外持续催化5-FU的代谢,所以5-FU在室温条件下表现出极不稳定的特性。有研究表明,在室温条件下,全血样品中5-FU在0.5 h内会降解17.00%,24 h内的降解率高达94.00%,而血浆样品在相同条件下24 h内的降解率为52.00%;冰浴条件下,全血样品中5-FU在24 h内的降解率为30%,而血浆样品的降解率为10%,可见血浆样品的稳定性普遍优于全血样

品^[10,15]。温度是影响5-FU在全血样品中稳定性的关键环境因素。已有研究表明,5-FU在 28°C 条件下的降解速率常数显著高于 18°C ,表明其降解速率与温度呈正相关且受温度调控^[15]。相较于室温,低温环境下5-FU的降解行为更具复杂性:短期保存时,低温能够在一定程度上维持药物稳定性。例如有研究指出,5-FU全血样品在冰浴和 4°C 条件下均可稳定保存2 h^[16]。然而,本研究发现,当保存时间延长至24 h后,即使处于 $2\sim 8^{\circ}\text{C}$ 低温环境,5-FU仍然发生了显著降解,低浓度 (200 ng/mL) 5-FU全血样品的降解率可达36.49%,该结果与既往研究^[10]趋势一致。这一现象提示,低温无法完全抑制5-FU的降解过程。因此,为保证不同保存条件下5-FU的稳定性,建议即使在低温环境中也需向全血样品中添加适宜的稳定剂。

为抑制DPD活性以减少5-FU降解,多数研究提出两种关键干预策略:一是采血后立即将全血样品置于冰浴环境,并在1 h内完成血浆分离^[17-18];二是在采血后10 min内于采血管中添加DPD抑制剂^[11]。吉美嘧啶作为DPD的可逆竞争性抑制剂,能特异性地抑制DPD活性,进而显著减缓5-FU的降解速率,延长其在血浆和肿瘤组织中的有效浓度维持时间^[19]。基于上述特性,本研究选择吉美嘧啶作为5-FU定量分析中的稳定剂,进一步评估了不同体积吉美嘧啶对5-FU全血样品稳定性的影响效果,发现其添加体积在 $10\sim 50\text{ }\mu\text{L}$ 范围内不会影响全血样品中5-FU检测的准确性。

现有5-FU稳定性研究多聚焦于血浆样品及室温、冰浴条件下保存的全血样品,而针对在冷藏条件 $(2\sim 8^{\circ}\text{C})$ 下全血样品的研究仍较缺乏;同时,是否添加稳定剂的策略亦尚未形成统一标准,导致临床样品处理方法不一。临床实践中,样品从采集到检测需经历暂存、转运等多个环节,温度与时间极易影响5-FU的检测准确性,因此明确这两项因素对全血中5-FU稳定性的影响,并建立其临床采样转运标准化流程,对确保5-FU TDM结果的准确性至关重要。鉴于本院实际临床条件有限——无法实现样品采血后的即时冰浴保存及DPD抑制剂的立即添加,亟须探索更具临床操作性的替代方案。为此,本研究通过系统实验设计,一方面评估了5-FU全血样品在室温 $[(25\pm 2)^{\circ}\text{C}]$ 与冷藏 $(2\sim 8^{\circ}\text{C})$ 两种典型储存条件下的稳定性特征,另一方面进一步明确了5-FU稳定剂的作用时效和添加量,旨在为临床5-FU全血样品的标准化处理提供科学且兼具可行性的实验依据。本研究还基于上述全血稳定性考察结果制定了临床采样转运流程,即采样后将全血样本在室温 $(\leq 0.5\text{ h})$ 或 4°C $(\leq 2\text{ h})$ 条件下暂存,并于 $2\sim 8^{\circ}\text{C}$ 冷藏转运;送达实验室后立即添加1%体积比的稳定剂,并于24 h内完成离心,所得血浆于 -20°C 保存。

本研究仍存在一定的局限性:临床样品量有限,未

系统评估不同抗凝剂(如肝素钠)的影响,也缺乏-20℃冻存或高温应激等极端温度条件下的稳定性验证数据。后续研究会进一步扩大样品量,系统考察更多温度梯度与抗凝条件的影响,并探索构建基于物联网技术的智能化温度实时监控系统。这些改进有望推动形成更具普适性的标准操作规范,为相关领域专业人员提供兼具科学性与实践指导意义的参考依据。

综上,全血中的5-FU在室温条件下稳定性较差,2~8℃冷藏时稳定性略有提升但仍会快速降解;添加1%体积比的稳定剂可显著延长其冷藏保存时间。本研究制定了5-FU TDM临床采样转运标准化流程,创新性地稳定剂添加节点设置于样品接收环节(而非采血后立即添加),在保证样品分析质量的前提下,更贴合临床采血的实际操作条件,显著提升了临床实际操作的可行性。

致谢:感谢浙江迪赛思诊断技术有限公司提供的血浆稳定性数据支持。

利益冲突声明:本文作者与该公司无任何经济利益关联或潜在利益冲突。

参考文献

- [1] GLEWIS S, MICHAEL M, GURNEY H, et al. Feasibility and population exposure of 5-fluorouracil using therapeutic drug monitoring (PREDICT-5FU): a multicentre clinical trial[J]. Br J Clin Pharmacol, 2025, 91(7): 1965-1974.
- [2] KALDATE R R, HAREGEWOIN A, GRIER C E, et al. Modeling the 5-fluorouracil area under the curve versus dose relationship to develop a pharmacokinetic dosing algorithm for colorectal cancer patients receiving FOLFOX6[J]. Oncologist, 2012, 17(3): 296-302.
- [3] BEUMER J H, CHU E, ALLEGRA C, et al. Therapeutic drug monitoring in oncology: international association of therapeutic drug monitoring and clinical toxicology recommendations for 5-fluorouracil therapy[J]. Clin Pharmacol Ther, 2019, 105(3): 598-613.
- [4] 佟志强, 吴东媛, 张娟, 等. UPLC-MS/MS法同时测定人血浆中5-FU及其代谢产物5-FUH₂的浓度及应用[J]. 中国药房, 2021, 32(4): 480-484.
- [5] 涂碎萍, 李获, 陈岷, 等. LC-MS测定结直肠癌患者血浆中5-氟尿嘧啶浓度[J]. 实用药物与临床, 2018, 21(9): 1047-1051.
- [6] 封敬颖, 边静, 崔毅轩, 等. 中空纤维离心超滤结合高效液相色谱法测定5-氟尿嘧啶的血药浓度[J]. 中国医院药学杂志, 2021, 41(13): 1305-1308.
- [7] PLEBANI M, SCOTT S, SIMUNDIC A M, et al. New insights in preanalytical quality[J]. Clin Chem Lab Med, 2025, 63(9): 1682-1692.
- [8] NYBO M, CADAMURO J, CORNES M P, et al. Sample transportation: an overview[J]. Diagnosis (Berl), 2019, 6(1): 39-43.
- [9] LIPPI G, VON MEYER A, CADAMURO J, et al. PREDICT: a checklist for preventing preanalytical diagnostic errors in clinical trials[J]. Clin Chem Lab Med, 2020, 58(4): 518-526.
- [10] MURPHY R F, BALIS F M, POPLACK D G. Stability of 5-fluorouracil in whole blood and plasma[J]. Clin Chem, 1987, 33(12): 2299-2300.
- [11] LEE J J, BEUMER J H, CHU E. Therapeutic drug monitoring of 5-fluorouracil[J]. Cancer Chemother Pharmacol, 2016, 78(3): 447-464.
- [12] LI M, MINDT S, LÜCK A, et al. Drug monitoring detects under- and overdosing in patients receiving 5-fluorouracil-containing chemotherapy-results of a prospective, multicenter German observational study[J]. ESMO Open, 2023, 8(2): 101201.
- [13] 张娟, 吴东媛, 刘铎, 等. 5-FU治疗药物监测现状及其与结直肠癌化疗毒性相关性的研究进展[J]. 中国药房, 2018, 29(12): 1724-1728.
- [14] 李然, 焦园园, 刘颖, 等. 1例卡培他滨致严重不良反应患者的治疗药物监测[J]. 中国药物应用与监测, 2015, 12(6): 354-356.
- [15] QIN W, WANG X X, CHEN W Q, et al. An *in vitro* approach to simulate the process of 5-fluorouracil degradation with dihydropyrimidine dehydrogenase: the process in accordance to the first-order kinetic reaction[J]. Xenobiotica, 2021, 51(1): 24-30.
- [16] RADOVANOVIC M, SCHNEIDER J J, MARTIN J H, et al. Comparison between a single- and a multi-point calibration method using LC-MS/MS for measurement of 5-fluorouracil in human plasma[J]. J Mass Spectrom Adv Clin Lab, 2024, 33: 31-37.
- [17] GURJAR M, PRIYAN K A, ASIA P, et al. Optimizing cancer patient care with a robust assay for 5-fluorouracil quantification and *in vitro* stability in human blood for therapeutic drug monitoring[J]. Pract Lab Med, 2024, 40: e00415.
- [18] 范先煜, 汪硕闻, 范国荣. LC-MS/MS法同时检测人血浆中氟尿嘧啶、尿嘧啶和二氢尿嘧啶的浓度及其临床应用[J]. 药学服务与研究, 2021, 21(1): 12-18.
- [19] ANDO M, WATANABE N, SEIKE R, et al. Quantification of gimeracil, tegafur, and 5-FU in human plasma via LC-MS/MS with a simplified pretreatment using flow-through extraction[J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2025, 1251: 124424.

(收稿日期:2025-08-05 修回日期:2025-11-21)

(编辑:胡晓霖)