

血浆中美罗培南、他唑巴坦、哌拉西林和地塞米松的全自动定量检测

D. Toinon, E. Imoto

用户获益

- ◆ 对一种皮质类固醇和三种抗生素进行同时定量检测
- ◆ 5 分钟内快速分析和全自动样品制备
- ◆ 足够的重复性和稳健性



引言

本应用描述了一种皮质类激素地塞米松和 3 种抗生素他唑巴坦、美罗培南和哌拉西林的分析。地塞米松是一种合成的糖皮质激素。它具有抗炎和免疫抑制作用。广泛用于减轻肿瘤相关的肿胀、治疗眼部炎症。地塞米松有助于治疗过敏反应，并可用于癌症治疗¹。

最近的研究表明，地塞米松可有效治疗 COVID-19，其主要用于急性呼吸窘迫综合征（ARDS）患者。糖皮质激素治疗降低了全因死亡的风险（风险比 0.75；95% CI，0.59–0.95）²。

细菌过度生长在皮质激素类治疗中更为常见，为了避免这类风险，皮质激素类治疗通常与抗生素治疗联合使用²。

由于使用了 CLAM 系统，以下方法可以通过全自动样品制备实现生物样品中皮质激素和抗生素的同时定量检测。

通过简化打开采血管（或样本杯）、将预处理瓶放入系统并请求分析，系统可自动执行从预处理到 LCMS 分析的所有其他过程步骤。

这种快速分析方法（=5 min）及其自动重叠样品制备可以在最短时间内处理大量样品。LCMS-8060 的灵敏度可以扫描分析动态范围在 1 至 100 ng/mL 之间的样品。

方法

本应用描述了一种皮质类激素地塞米松和 3 种抗生素的分析（图 1）。他唑巴坦、美罗培南和哌拉西林的动态定量范围在 1 至 100 ng/mL 之间。每种化合物及内标物 [²H₄]-地塞米松的标准粉末购自 Alsachim（法国斯特拉斯堡）。所用溶剂由富士胶片和光纯药株式会社提供，氟化铵由西格玛奥德里奇公司提供。分析系统由岛津 Nexera™ X2 以及前端带有 CLAM-2030 的 LCMS-8060 组成（图 2）。使用流动注射（FIA）法，对所有化合物进行了多反应监测条件（MRM）的优化。对源参数进行了优化，以提高这些化合物的电离程度和去溶剂化程度，从而提高它们的灵敏度。该方法是基于血浆基质开发的。

液相色谱法和质谱法使用的的最优化分析条件分别见表 1 和表 2。

样品制备通过 CLAM-2030 进行。血浆、所有溶剂和酸均购自和光纯药株式会社。内标溶液浓度为 10 ng/mL。图 3 描述了不同的步骤。

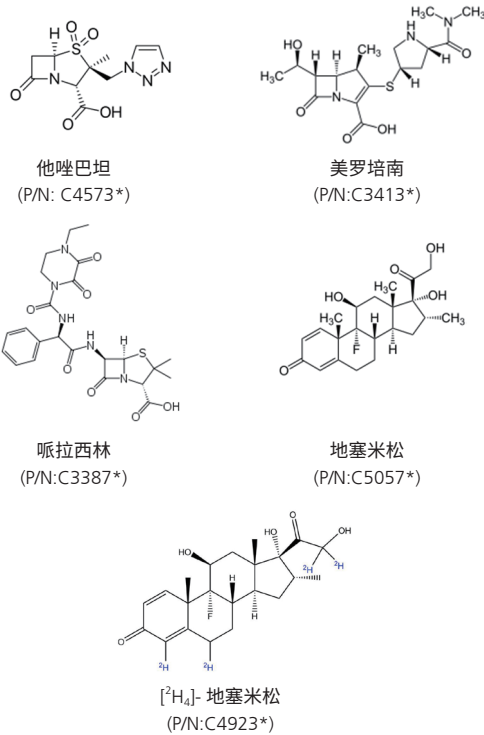


图 1 每种化合物的结构

*Alsachim 产品编号



图 2 全自动 LC/MS/MS 系统

表 1 液相色谱条件

液相色谱	
系统	: Nexera X2
色谱柱	: Shim-pack Scepter™ C18-120 (50 mm×2.1 mm I.D., 1.9 μm)
柱温	: 30 °C
进样量	: 25 μL
流动相	: 0.1 mM 氟化铵水溶液 0.1 mM 氟化铵甲醇溶液
流速	: 600 μL/min
分析时间	: 5 min

表 2 质谱条件

质谱	
系统	: LCMS-8060
雾化气	: 3 L/min
干燥气	: 10 L/min
加热气	: 10 L/min
DL 温度	: 150 °C
加热模块温度	: 500 °C
接口温度	: 400 °C
CID 气	: 270 kPa

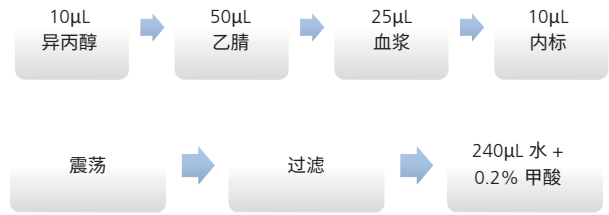


图 3 样品制备

结果

校准数据和定量限

获得的校准曲线的动态范围在 0.4 ng/mL 至 100 ng/mL 之间。用 0.4、1、2、5、10、25、50 和 100 ng/mL 的标准溶液在血浆中制备校准点。所得曲线呈线性，决定系数大于 0.995。所有化合物的定量限均为 1 ng/mL。获得的准确度在 85-115% 之间。用水稀释的校准样品如图 4 所示。

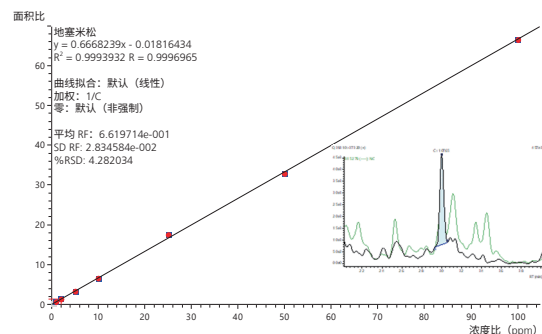
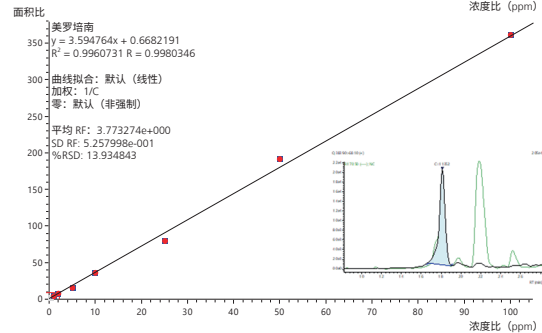
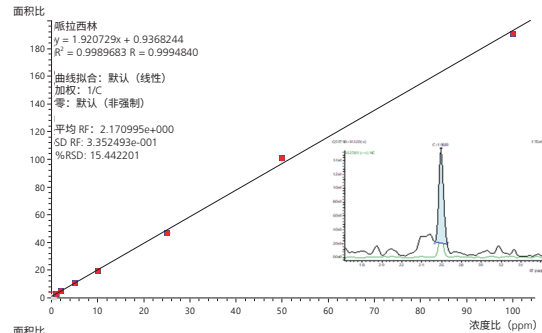
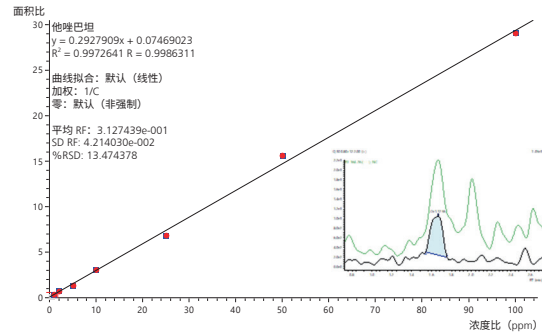


图 4 他唑巴坦、哌拉西林、美罗培南和地塞米松在定量限为 1 ng/mL 时的校准曲线和色谱图

表 3 每种药物的日间重现性和准确度

化合物	QC 样品	加标浓度 (ng/mL)	第 1 天 (n=6)			第 2 天 (n=3)			第 3 天 (n=3)		
			平均浓度 (ng/mL)	精密度 %RSD	准确度 %	平均浓度 (ng/mL)	精密度 %RSD	准确度 %	平均浓度 (ng/mL)	精密度 %RSD	准确度 %
他唑巴坦	低	2	2.22	11.8	111	2.14	7.44	107	1.74	12.5	87
	中	20	22.6	6.12	113	18.9	9.60	94	18.5	3.04	92
	高	80	86.4	7.56	108	73.4	8.28	92	71.3	3.82	89
哌拉西林	低	2	2.05	7.53	103	2.13	14.2	107	1.81	6.38	91
	中	20	20.9	11.9	104	20.1	14.5	101	21.5	5.41	107
	高	80	76.8	10.8	96	77.4	5.86	97	81.4	3.82	102
美罗培南	低	2	2.00	5.86	100	2.12	12.0	106	1.788	2.59	89
	中	20	22.1	8.29	111	18.6	11.4	93	18.4	3.44	92
	高	80	80.2	9.01	100	73.3	2.61	92	72.6	3.45	91
地塞米松	低	2	1.98	11.5	99	1.98	14.9	99	1.82	8.01	91
	中	20	20.8	9.57	104	22.6	14.1	113	20.4	6.88	102
	高	80	82.6	12.0	103	79.6	7.86	99	83.7	4.90	105

准确度和重复性

为了评估方法的重复性和准确性，在第 1 天准备了 6 个对照组，在第 2 天和第 3 天分别准备了 3 个对照组。使用 3 个对照标准：低浓度为 2ng/mL，中浓度为 20ng/mL，高浓度为 80ng/mL。对照组通过在血浆中加入标准溶液制备而得。至少等待 1 小时后，使用 CLAM-2030 制备对照组。表 3 给出了每个标准上各对照序列的重复性和准确度。他唑巴坦的精密度 (%RSD) 在 12.5% 及以下，准确度在 87% ~ 113% 之间。哌拉西林的精密度 (%RSD) 在 14.5% 及以下，准确度在 91% ~ 107% 之间。美罗培南的精密度 (%RSD) 在 12.0% 及以下，准确度在 89% ~ 111% 之间。地塞米松的精密度 (%RSD) 在 14.9% 及以下，准确度在 91% ~ 113% 之间。所有的重现性均低于 15%，准确度在 85-115% 之间。

总结与结论

岛津 LCMS-8060 和 CLAM-2030 联合使用，可以同时定量皮质类激素地塞米松和 3 种抗生素他唑巴坦、美罗培南和哌拉西林。此方法可以通过 5 分钟运行和全自动样品制备实现快速分析。LCMS-8060 的灵敏度可以扫描定量动态范围在 1 至 100 ng/mL 之间的样品。每个对照样品的重复性均低于 15%，准确度在 85-115% 之间，这些结果验证了该方法的鲁棒性和有效性。

参考文献

- 1) <https://www.antibioticresearch.org.uk/dexamethasoneevidence-based-treatment-for-hospitalised-covid-19-patients/>
- 2) <https://www.covid19treatmentguidelines.nih.gov/immune-based-therapy/immunomodulators/corticosteroids/>

岛津应用云



LCMS、CLAM、Nexera 和 Shim-pack 是岛津制作所在日本和 / 或其他国家的商标。



岛津企业管理（中国）有限公司
岛津（香港）有限公司

<http://www.shimadzu.com.cn>

用户服务热线电话： 800-810-0439
400-650-0439

免责声明：

* 本资料未经许可不得擅自修改、转载、销售；
* 本资料中的所有信息仅供参考，不予任何保证。
如有变动，恕不另行通知。

第一版发行日：2021 年 3 月