

LCMS 检测血浆中多黏菌素 B 浓度

LCMS-039

摘要：使用岛津小型单四极杆质谱仪建立了血浆中多黏菌素 B 测定方法。使用校准品及质控品进行了方法的线性、准确度及精密度的考察。结果显示该方法线性良好，校准曲线相关系数大于 0.999，质控品测定准确度结果与理论值接近，多黏菌素 B1 及多黏菌素 B2 回收率分别在在 98.7%~102.8% 之间及 99.6%~101.3% 之间，RSD 分别在 0.9%~1.0% 之间及 0.9%~2.2% 之间，该方法前处理简便，分析速度快，灵敏度高，专属性强，可用于多黏菌素 B 治疗药物监测。

关键词：小型单四极杆质谱仪 血浆 多黏菌素 B 治疗药物监测

技术特点：

- ❖ 方法快速高效，分析时间仅需 6 min。
- ❖ 方法前处理简单，仅需简单蛋白沉淀即可上样分析。

多黏菌素 B (polymyxin B, PMB) 是一种由 N-端脂肪酰基链、线性三肽、环状七肽构成的超过 30 多种多肽混合物，由于其化学结构式上的氨基酸种类、构型及 N-端脂肪酰基链取代基的不同造成 PMB 中同系物、异构体较多，临床上多用多黏菌素 B1 (PMB1) 和多黏菌素 B2 (PMB2) 表征其体内药动学特征。多黏菌素 B 对大多数革兰氏阴性菌有抑制作用，其主要应用于绿脓杆菌及其他假单胞菌引起的创面、尿路以及眼、耳、气管等部位感染，也可用于败血症、腹膜炎。但多粘菌素的不合理使用，可能会造成肾毒性、引起头晕等副作用。多粘菌素导致的肾毒性，可导致患者肾功能下降，并可引起蛋白尿、肾小管尿、氮质血症和

肌酐水平升高，这是对肾功能的主要损害。并且多粘菌素在使用过程中可能导致患者头晕、共济失调、嗜睡和外周感觉异常。因此，为避免不良反应、提高临床疗效，应尽可能通过治疗药物监测 (TDM) 控制来指导 PMB 的临床应用。目前常用的 PMB 血药浓度监测方法包括高效液相色谱法、毛细管电泳法、高效液相色谱 - 串联质谱法等，而使用 LCMS 法测定多黏菌素 B 的报道较少。

使用岛津小型单四极杆质谱仪 LCMS-2050，建立了血浆中多黏菌素 B 测定方法，该方法前处理简便，分析速度快，灵敏度高，专属性强，可用于多黏菌素 B 治疗药物监测。

■ 实验部分

1.1 仪器

本实验使用单四极杆质谱 LCMS-2050 系统。具体配置为：

系统控制器：	CBM-40	在线脱气机：	DGU-405
输液泵：	LC-40D XS×2	柱温箱：	CTO-40C
自动进样器：	SIL-40C XS	质谱仪：	LCMS-2050
色谱工作站：	Labsolutions Ver.5.114		

1.2 分析条件

液相色谱条件

色谱柱：	Shim-pack GIST 100 mm×2.1 mm I.D., 3 μm; P/N: 227-30008-05; 岛津 (上海) 实验器材有限公司		
流动相：	A 相为 0.1% 甲酸水溶液; B 相为 0.1% 甲酸乙腈溶液		
进样体积：	5 μL	柱温：	45°C
流速：	0.4 mL/min	洗针液：	甲醇 / 水 =1:1 (v:v)
洗脱方式：	梯度洗脱，B 相起始浓度为 5%，时间程序如表 1 所示。		

表 1 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
0.5	泵	B.Conc	5
3.00	泵	B.Conc	40
3.50	泵	B.Conc	95
4.00	泵	B.Conc	95
4.10	泵	B.Conc	5
6.00	控制器	Stop	

质谱条件

离子化模式：ESI+	雾化气流速：2.0 L/min
接口电压：3 kV	干燥气流速：5.0 L/min
脱溶剂温度：450°C	加热气流速：7.0 L/min
DL 温度：150°C	扫描模式：选择离子监测 (SIM)
MRM 参数：见表 2	

表 2 SIM 参数

编号	中文名	英文名	分子式	分子量	CAS 号	SIM 离子	电荷数
1	多黏菌素 B1	PMB1	C ₅₆ H ₉₈ N ₁₆ O ₁₃	1203.5	4135-11-9	401.8	3
2	多黏菌素 B2	PMB2	C ₅₅ H ₉₆ N ₁₆ O ₁₃	1189.5	34503-87-2	397.2	3

1.3 校准品及样品制备

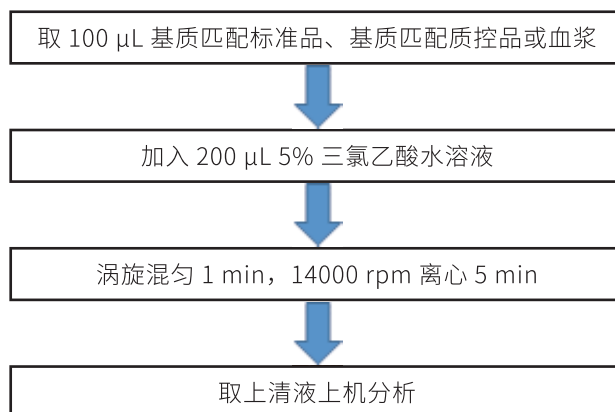
基质匹配校准曲线制备：取 PMB1 及多黏菌素 PMB2 校准样品 L1~L6 各 10 μL，加入 90 μL 空白血浆，涡旋混匀 1 min，得基质校准溶液，基质校准曲线浓度见表 3。

基质匹配质控品溶液制备：取低中高浓度质控品 LQC，MQC，HQC 各 10 μL，加入 90 μL 空白血浆，涡旋混匀 1 min，得基质匹配质控品溶液，浓度分别为 0.75 μg/mL，2.5 μg/mL，10.0 μg/mL。

表 3 校准曲线浓度表 (μg/mL)

名称	L1	L2	L3	L4	L5	L6
PMB1	0.5	1.0	2.0	5.0	15.0	20.0
PMB2	0.5	1.0	2.0	5.0	15.0	20.0

校准品、质控品及样品前处理：



■ 结果讨论

2.1 SIM 色谱图

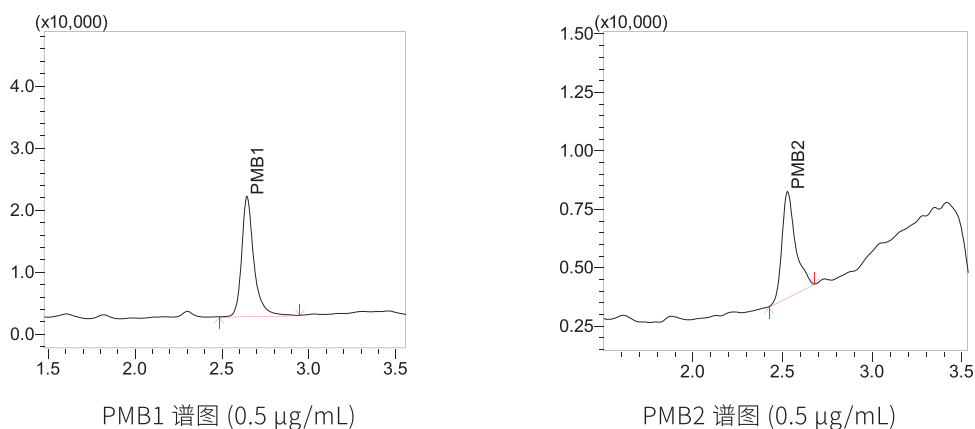


图 1 PMB1 及 PMB2 谱图

2.2 线性测定结果

对校准品按 1.2 中的分析条件进行分析，外标法制作校准曲线。校准曲线结果见表 4，PMB1 及 PMB2 在校准曲线浓度范围内线性相关系数大于 0.999，准确度分别在 98.6%~102.0% 及 95.0~106.0% 之间，满足测定需求。

表 4 校准曲线结果

名称	线性范围 (μg/mL)	相关系数	准确度 (%)
PMB1	0.5~20.0	0.9999	98.6%~102.0%
PMB2	0.5~20.0	0.9990	95.0%~106.0%

2.3 准确度及精密度测定结果

按 1.3 中的前处理方法对低中高浓度质控品进行前处理，每个浓度质控品重复制备 6 份，按 1.2 中的分析条件对质控品进行分析。质控品的准确度结果如表 5 所示，结果显示质控品测定准确度结果与理论值接近，PMB1 及 PMB2 回收率分别在 98.7%~102.8% 及 99.6%~101.3% 之间，RSD 分别在 0.9%~1.0% 及 0.9%~2.2% 之间，满足临床测定需求。

表 5 质控准确度考察结果 (n=6, 浓度单位 μg/mL)

质控	项目	PMB1	PMB2
LQC	理论浓度	0.75	0.75
	测定浓度	0.74	0.76
	质控准确度 %	98.7	101.3
	RSD%	0.9	2.2
MQC	理论浓度	2.5	2.5
	测定浓度	2.51	2.49
	质控准确度 %	100.4	99.6
	RSD%	0.9	0.9
HQC	理论浓度	10.0	10.0
	测定浓度	10.28	10.09
	质控准确度 %	102.8	100.9
	RSD%	1.0	1.2

■ 结论

使用岛津小型单四极杆质谱仪 LCMS-2050，建立了血浆中多黏菌素 B1 及多黏菌素 B2 测定方法。使用校准品及质控品进行了方法的线性、准确度及精密度的考察。结果显示该方法线性良好，校准曲线相关系数均大于 0.999，质控品测定准确度结果与理论值接近，PMB1 及 PMB2 回收率分别在在 98.7%~102.8% 之间及 99.6%~101.3% 之间，RSD 分别在 0.9%~1.0% 之间及 0.9%~2.2% 之间，该方法前处理简便，分析速度快，灵敏度高，专属性强，可用于多粘菌素 B 治疗药物监测。

岛津应用云

