

# LC-MS/MS 法测定人血浆中阿米卡星的浓度

## LCMSMS-1017

**摘要：**使用岛津三重四极杆液质联用仪，建立了血浆中阿米卡星的测定方法。使用内标、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 0.9996，质控品测定结果与理论值接近，回收率在 94.85%~109.53% 之间，精密度 RSD 在 0.88%~2.98% 之间。该方法前处理简便，分析速度快，灵敏度高，可用于血浆中阿米卡星浓度监测。

**关键词：**三重四极杆液质联用仪 浓度监测 阿米卡星

### 技术特点：

❖ 阿米卡星选择同类物质卡那霉素作为内标物，降低检测成本。

氨基糖苷类药物 (aminoglycosides, AGs) 是一类由两个或多个氨基糖和氨基环醇通过糖苷键连接而成的化合物，对革兰氏阳性和阴性细菌具有显著的抑制作用，通过干扰细菌蛋白质的合成来发挥抗菌效果。阿米卡星是一种氨基糖苷类抗生素，临床上常用于呼吸道感染、骨关节感染、败血症（包括新生儿脓毒症）、中枢神经系统感染、手术后感染（包括血管外科手术后感染）及复发性尿路感染。

阿米卡星属于浓度依赖性抗生素，国内外相关报道多推荐每日一次给药治疗，其抗菌疗效和患者血药峰浓度与最小抑菌浓度比值 ( $\rho_{\max}/MIC$ )、药时

曲线下面积与最小抑菌浓度比值 ( $AUC_{0-24h}/MIC$ ) 之间呈正相关。由于该药存在明显的肾毒性风险，所以临床给药剂量普遍偏低，然而剂量偏低将导致  $\rho_{\max}$  过低从而达不到治疗目的。因此对接受阿米卡星治疗的患者进行治疗药物浓度监测 (Therapeutic Drug Monitoring, TDM)，并且根据实际情况调整给药方案，是十分有必要的。

本文使用液相色谱串联质谱仪 LCMS-8050 RX，建立了血浆中阿米卡星的测定方法，该方法前处理简便，分析速度快，专属性强，可用于血浆中药物浓度的精准测定，为相关研究提供参考。

## 实验部分

### 1.1 仪器

本实验使用串联质谱 LCMS-8050 RX 联用系统。具体配置为：

系统控制器：	CBM-20Ailte	在线脱气机：	DGU-20A <sub>5R</sub>
输液泵：	LC-30AD×2	柱温箱：	CTO-20AC
自动进样器：	SIL-30AC	质谱仪：	LCMS-8050 RX
色谱工作站：	LabSolutions Ver.5.128		

### 1.2 分析条件

液相色谱条件

色谱柱：	Supelguard Discovery HS F5 (150 mm x 2.1 mm I.D., 3 μm)		
流动相：	A-0.1% 甲酸水溶液；B-0.1% 甲酸乙腈		
进样体积：	2 μL	柱温：	40°C
流速：	0.5 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
5.00	泵	B.Conc	5
5.50	泵	B.Conc	95
7.00	泵	B.Conc	95
7.01	泵	B.Conc	5
10.00	控制器	Stop	

质谱条件

离子化模式：	CoreSpray +	雾化气流速：	6 L/min
接口电压：	4 kV	干燥气流速：	10.0 L/min
接口温度：	400°C	加热气流速：	10.0 L/min
D L 温度：	250°C	碰撞气：	氦气
加热模块温度：	400°C	扫描模式：	多反应监测 (MRM)
MRM 参数：	见表 2		

表 2 MRM 参数

No.	名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
1	阿米卡星	586.30	163.05*	-30	-34	-27
			425.25	-28	-19	-23
2	卡那霉素 (IS)	485.25	163.05	-14	-25	-11

注：\* 为定量离子

### 1.3 校准品及样品制备

基质匹配校准曲线制备：精密称取阿米卡星 10 mg，加纯水稀释并定容至 10 mL，得 1 mg/mL 校准品母液。将校准品母液用含 0.1% 甲酸的水溶液逐级稀释并定容，得系列校准品溶液。取系列校准品溶液 20  $\mu$ L，加入 180  $\mu$ L 空白血浆，涡旋混匀 5 min，得基质校准溶液，其浓度分别为：0.5、1、2、5、10、20、50 以及 100  $\mu$ g/mL。

基质匹配质控品溶液制备：取低中高浓度质控品溶液 LQC, MQC, HQC 各 20  $\mu$ L，加入 180  $\mu$ L 空白血浆，涡旋混匀 5 min，得基质匹配质控品溶液，浓度分别为 1  $\mu$ g/mL、5  $\mu$ g/mL、20  $\mu$ g/mL。

内标工作液配制：精密称取卡那霉素 10 mg，加纯水稀释并定容至 10 mL，得 1 mg/mL 内标准品母液。使用含 0.1% 甲酸的水溶液将内标准品母液稀释至 100  $\mu$ g/mL，即得内标工作液。

校准品、质控品及样品溶液制备：取 200  $\mu$ L 基质匹配校准品、基质匹配质控品或临床血浆样品，加 20  $\mu$ L 内标工作液，加入 20  $\mu$ L 含 1% 甲酸的 50% 甲醇水溶液，加入 600  $\mu$ L 含 0.1% 甲酸的甲醇溶液，涡旋混匀 5 min，12000 rpm 离心 10 min。取上清液用 0.1% 甲酸水溶液稀释 5 倍后上机分析。

## ■ 结果讨论

### 2.1 MRM 色谱图

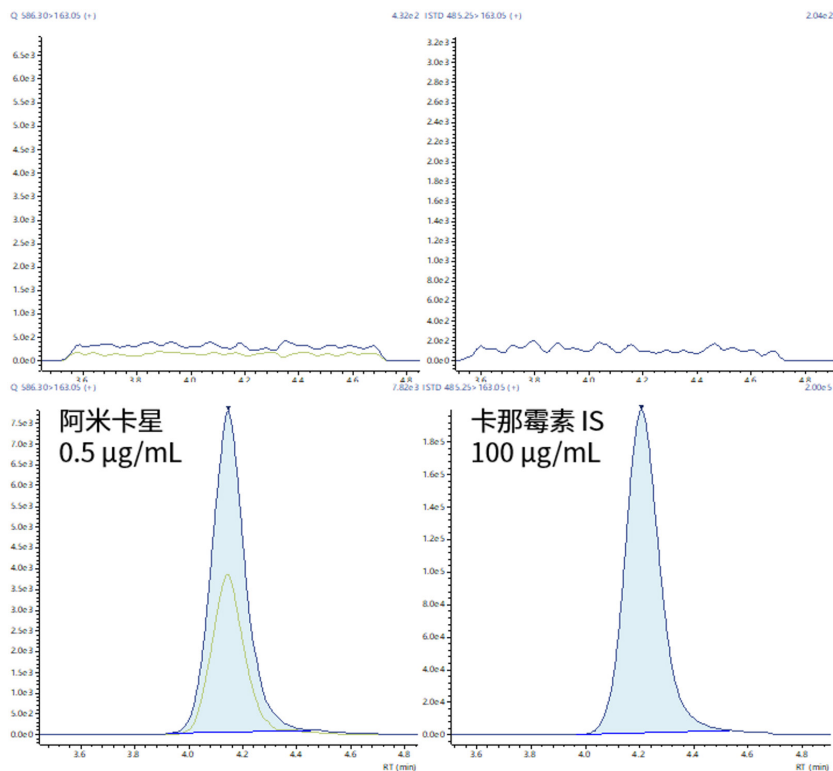


图 1 空白血浆（上）及校准曲线最低点（下）MRM 色谱图

## 2.2 内标适用性验证

使用空白血浆，按照 1.3 中的前处理方法处理后，加入低、中、高三个浓度水平的目标物及内标溶液；同时使用 0.1% 甲酸的水溶液为稀释剂，配制成相同的三个浓度水平的纯标溶液。分别进行分析，算出每个浓度水平目标物与内标物的面积比，计算基质效应 (ME)。三个浓度水平基质效应  $|ME| < 20\%$ ，说明基质干扰可控。

表 3 基质效应结果

浓度	1 µg/mL		5 µg/mL		20 µg/mL	
	纯溶液	血浆基质	纯溶液	血浆基质	纯溶液	血浆基质
1	0.2975	0.2724	1.6594	1.5067	6.3542	5.9717
2	0.2992	0.2711	1.6958	1.5030	6.2439	5.9862
3	0.2995	0.2733	1.6935	1.5051	6.3366	5.9870
均值	0.2987	0.2723	1.6829	1.5049	6.3116	5.9816
ME (%)	-8.85		-10.58		-5.23	

## 2.2 线性测定结果

按上述前处理方法和分析条件对校准品进行分析，用内标法制作校准曲线。在浓度范围为 0.5 ~ 100 µg/mL 间，其相关系数为 0.9996，精密度的 95.47 ~ 103.12%；校准曲线见图 2。

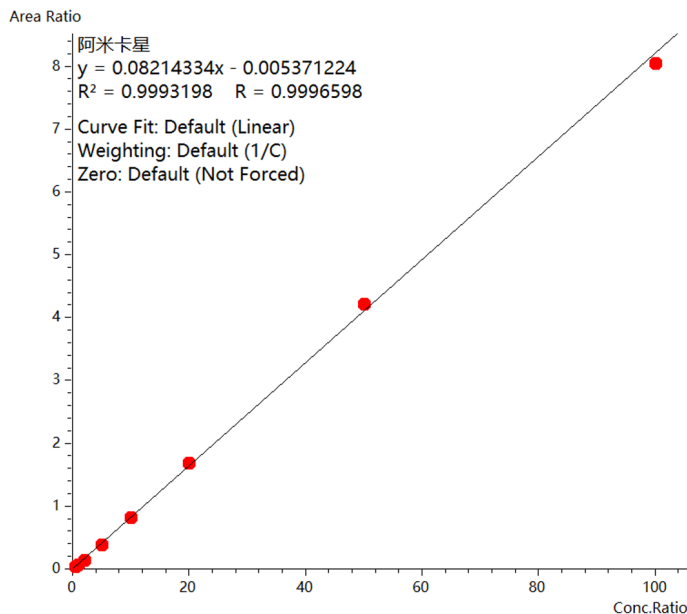


图 2 标准曲线结果

2.3 准确度测定结果

按 1.3 中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 3 份，按 1.2 中的分析条件对质控品进行分析，质控品的准确度如表 4 所示。

表 4 质控品分析结果

	理论值 (µg/mL)	测定值 (µg/mL)	准确度 (%)
LQC	1	1.031	103.09
		1.012	101.24
		0.992	99.16
MQC	5	5.016	100.31
		4.743	94.85
		4.963	99.26
HQC	20	21.905	109.53
		20.486	102.43
		20.685	103.42

2.4 精密度测定结果

分别取低中高浓度点样品，连续进样 6 针考察精密度，结果如表 5 所示。

表 5 精密度测定结果

浓度	1 µg/mL	5 µg/mL	20 µg/mL
1	1.02	4.99	18.98
2	1.04	5.04	19.34
3	1.04	5.01	20.36

4	1.04	4.97	20.35
5	1.02	4.96	20.07
6	1.04	5.07	20.13
平均值	1.03	5.00	19.87
CV(%)	0.90	0.88	2.89

## ■ 结论

使用液相色谱串联质谱仪 LCMS-8050 RX，建立了血浆中阿米卡星的测定方法。选择同类物质卡那霉素作为内标物，在三个浓度水平考察了血浆中的基质效应，均小于 20%，说明选择卡那霉素作为内标是合适的；采用内标法定量，阿米卡星在 0.5 ~ 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  线性浓度范围内线性良好，相关系数大于 0.9996；考察了低中高浓度质控品的准确度，质控品的准确度在 94.85%~109.53% 之间；考察了仪器的精密度，分别取低中高浓度点样品，连续进样 6 针，精密度 RSD 在 0.88%~2.98%。该方法前处理简便，分析速度快，可用于血浆中阿米卡星的浓度监测和相关药动力学研究。

岛津应用云

