

高效液相色谱法用于替考拉宁血药浓度监测

LC-420

摘要：使用岛津高效液相色谱仪，建立了血浆中替考拉宁的测定方法。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 0.998，质控品测定结果与理论值接近，回收率在 93.3%~103.6% 之间，精密度 RSD 在 1.7%~2.7% 之间。该方法前处理简便，灵敏度高，专属性强，可用于替考拉宁血药浓度监测，供相关从业人员参考。

关键词：高效液相色谱仪 血浆 替考拉宁 血药浓度监测

技术特点：

- ❖ 灵敏度高，线性范围宽，适用性好。
- ❖ HPLC 法监测替考拉宁血药浓度，操作简单，成本低，易于临床应用。

替考拉宁 (teicoplanin, TEC) 是一种糖肽类抗菌药物，临床上可用于治疗各种严重的革兰阳性菌感染，包括不能用青霉素类及头孢菌素类抗生素治疗或用上述抗生素治疗失败的严重葡萄球菌感染，或对其他抗生素耐药的葡萄球菌感染。与现有的其他糖肽类药物相比，组织穿透力改善，肾毒性低，可用于万古霉素替代治疗，安全有效。

糖肽类抗菌药物的杀菌效应与其血药浓度超过最低抑菌浓度的时间及抗菌药物后效应有关，这种药动学特点使其成为治疗药物监测中应用最广泛的抗菌药物之一。对于大多数感染来说，替考拉宁的谷浓度应在 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上。目前报导的文献中方法

定量下限均在 3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 左右。

替考拉宁主要是由结构相近的 5 个化合物 (TA₂₋₁, TA₂₋₂, TA₂₋₃, TA₂₋₄, TA₂₋₅) 组成，其中 TA₂₋₂ 占总成分的 80% 以上。由于成分的复杂性，目前主要通过测定 TA₂₋₂ 的浓度来监测替考拉宁的浓度。检测方法主要有高效液相色谱法和液相色谱-质谱法，与后者相比，前者操作简便、成本低廉，是临床上应用最广泛的方法。

本文使用高效液相色谱仪，建立了血浆中替考拉宁的测定方法，该方法前处理简便，灵敏度高，线性范围宽，专属性强，可用于替考拉宁血药浓度监测。

■ 实验部分

1.1 仪器

岛津高效液相色谱仪 LC-40。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	检测器：	SPD-M40
色谱工作站：	Labsolutions Ver.5.118		

1.2 分析条件

色谱柱：	Shim-pack GIS C18 (150 mm x 2.1 mm I.D., 5 μm); 岛津 (上海) 实验器材有限公司, P/N: 227-30103-07;		
流动相：	A-10 mM NaH ₂ PO ₄ 水溶液 (使用磷酸调 pH 至 3.2); B- 乙腈		
进样体积：	10 μL	柱温：	35°C
流速：	0.5 mL/min	波长：	240 nm
洗脱方式：	梯度洗脱，B 相起始浓度为 20%，时间程序如表 1 所示。		

表 1 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
1.00	泵	B.Conc	20
10.00	泵	B.Conc	30
10.10	泵	B.Conc	95
11.00	泵	B.Conc	95
11.01	泵	B.Conc	20
15.00	控制器	Stop	

1.3 校准品及样品制备

基质匹配校准曲线制备：精密称取替考拉宁 10 mg，加水溶解并定容至 10 mL，得 1 mg/mL 校准品母液。将校准品母液用水逐级稀释并定容得系列校准品溶液。取系列校准品溶液 10 μ L，加入 90 μ L 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 2。

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 10 μ L，加入 90 μ L 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 1.25 μ g/mL，40 μ g/mL，80 μ g/mL。

内标工作液配制：精密称取对羟基苯甲酸甲酯钠 6.6 mg（含对羟基苯甲酸甲酯 5 mg），加乙腈溶解并定容至 10 mL，得 0.5 mg/mL 内标准品母液。使用乙腈将内标准品母液稀释至 50 μ g/mL，即得内标工作液。

校准品、质控品及样品溶液制备：取 100 μ L 基质匹配校准品、基质匹配质控品或临床血浆样品，加 10 μ L 内标工作液，并加入 200 μ L 乙腈。涡旋混匀 5 min，12000 rpm 离心 10 min。取上清液上机分析。

表 2 校准曲线浓度表 (μ g/mL)

名称	STD1	STD2	STD3	STD4	STD5	STD6	STD7	STD8
替考拉宁	0.78	1.56	3.13	6.25	12.50	25.00	50.00	100.00

■ 结果与讨论

2.1 色谱图

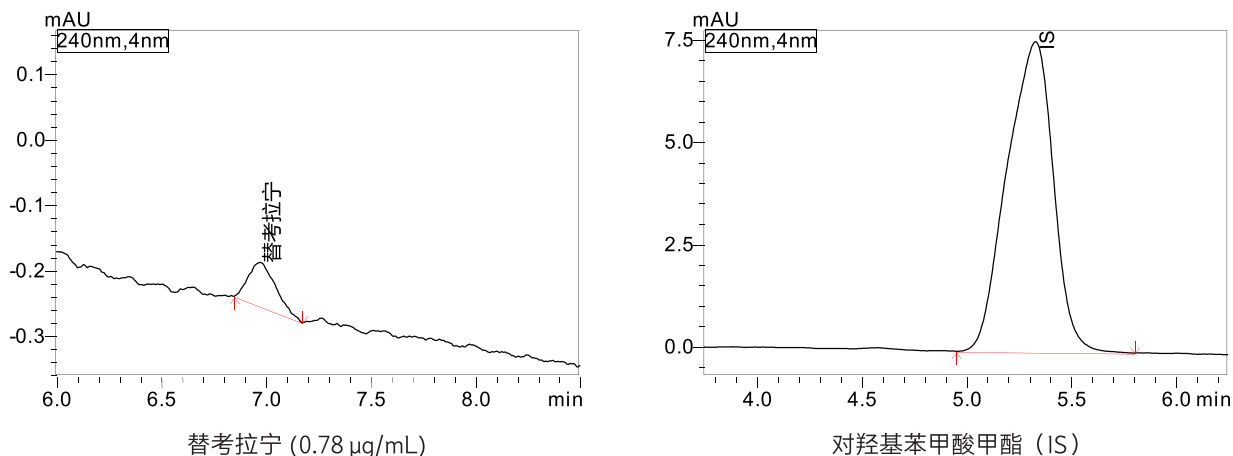


图 1 校准曲线最低点色谱图

2.2 校准曲线及定量限、检测限

按上述前处理方法和分析条件对校准品进行分析，内标法制作校准曲线。校准曲线见图 2，结果见表 3。

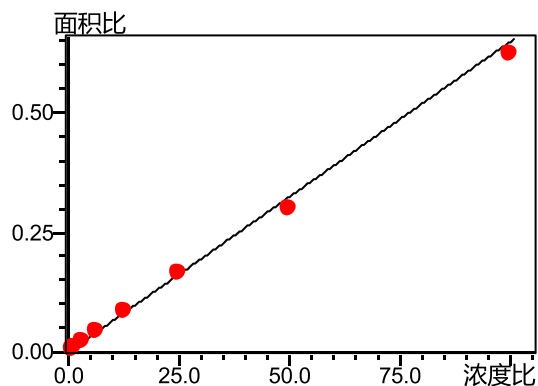


图 2 替考拉宁校准曲线

表 3 校准曲线结果及定量限、检测限

名称	线性范围 (µg/mL)	相关系数	准确度 (%)	定量限 (µg/mL)	检测限 (µg/mL)
替考拉宁	0.78~100	0.9981	92.1%~109.6%	0.43	0.14

2.3 准确度及精密度

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 5 份，按 1.2 中的分析条件对质控品进行分析，质控品的准确度及精密度结果如表 4 所示。

表 4 质控准确度考察结果 (n=5, 浓度单位 µg/mL)

质控	理论浓度	测定浓度	准确度 %	RSD%
LQC	1.25	1.17	93.3	2.7
MQC	40	41.44	103.6	2.5
HQC	80	82.33	102.9	1.7

2.4 样品测定

使用六批次临床血浆样品，按 1.3 中前处理条件进行处理，按 1.2 中的分析条件进行分析。结果如图 3 和表 5 所示。

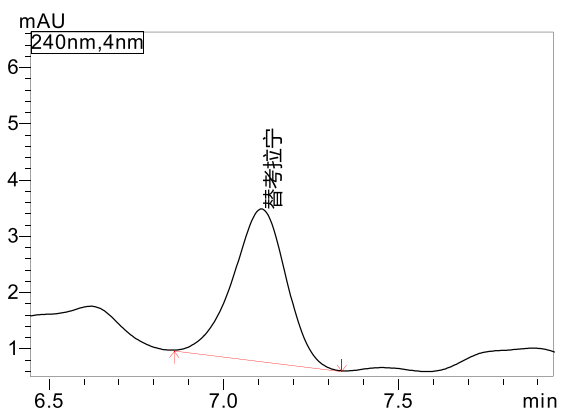


图 3 临床样品谱图

表 5 临床样品检测结果 (µg/mL)

样品	替考拉宁浓度
Sample-01	31.79
Sample-02	35.35
Sample-03	63.84
Sample-04	86.11
Sample-05	49.35
Sample-06	70.29

■ 结论

使用高效液相色谱仪 LC-40, 建立了血浆中替考拉宁的检测方法。使用内标、校准品进行了线性的考察, 结果显示该方法线性良好; 使用质控品进行了方法的准确度及精密度考察, 结果显示准确度及精密度均符合临床检测要求。临床样品检测结果显示, 方法适用性较好。该方法操作简便, 性能可靠, 可用于血浆中替考拉宁浓度的评估和相关药动力学研究。

岛津应用云

