

# SCIEX液相色谱串联质谱系统检测血浆中氟康唑和利奈唑胺的浓度

## Determination of Linezolid and Fluconazole in Plasma by SCIEX Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry

黄超, 李国庆

Huang Chao, Li Guoqing

SCIEX中国, 临床事业部

SCIEX China, Clinical Business Unit

**Keywords:** plasma, linezolid, fluconazole

### 引言

氟康唑 (Fluconazole) 和利奈唑胺 (Linezolid) 是临床上常用的抗菌药物, 分别属于氟代三唑类和唑烷酮类。氟康唑通过高度选择性干扰真菌的细胞色素P-450酶的活性, 以抑制真菌的生长。利奈唑胺通过抑制蛋白起始复合物的形成以抑制细菌蛋白质的合成, 其在体内外对多种革兰氏阳性菌引起的感染有好的抑制效果。在临床上, 常将两者结合使用以应对细菌和真菌的合并感染。

本方法采用蛋白沉淀法提取, 结合SCIEX液相色谱串联质谱系统, 以待测目标物的同位素标记物为内标, 检测血浆中氟康唑和利奈唑胺的浓度。

### 实验部分

**样品处理:** 取50  $\mu\text{L}$  空白血浆加入50  $\mu\text{L}$  甲醇乙腈溶液 (1:1, V/V, 下同) 和200  $\mu\text{L}$  含内标 (0.625  $\mu\text{g}/\text{mL}$  利奈唑胺-d3, 2.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  氟康唑-d4) 的甲醇乙腈溶液, 1000 rpm涡旋5 min后, 15,000转离心5 min。取50  $\mu\text{L}$  上清液加入450  $\mu\text{L}$  纯水混合均匀, 进行LC-MS/MS分析。

**色谱条件:** 色谱柱使用Phenomenex kinetex C18 column (100  $\times$  3.0 mm, 2.6  $\mu\text{m}$ ) 进行分离, 流动相选用水 (含0.1% 甲酸) 作为A相, 甲醇作为B相。柱温设为40  $^{\circ}\text{C}$ , 进样量为1  $\mu\text{L}$ 。梯度洗脱见表1。

表1. 液相梯度洗脱条件。

Time /min	流速 mL/min	A %	B %
0.00	0.6	90	10
0.30	0.6	90	10
0.80	0.6	55	45
2.80	0.6	5	95
4.00	0.6	5	95
4.10	0.6	90	10
5.00	0.6	90	10

质谱条件: 使用SCIEX Triple Quad质谱系统。采用采用电喷雾离子源 (electrospray ionization, ESI) 和多反应监测 (multiple reaction monitoring, MRM) 模式进行质谱扫描。离子源参数: 加热气 (Gas1) 为50 psi, 辅助加热气 (Gas2) 为50 psi, 脱溶剂气温度为500 $^{\circ}\text{C}$ , 气帘气 (curtain gas, CUR) 为30 psi, 碰撞气 (collision gas, CAD) 为8 psi。为了获取较好的稳定性和灵敏度, 各化合物监测离子对的去簇电压 (declustering potential, DP) 和碰撞电压 (collision energy, CE), 目标物定量离子对、定性离子对以及内标物监测离子对等参数均经过系统优化, 其中部分化合物的CE值做了调整, 离子对信息见表2。

表 2. 氟康唑、利奈唑胺及内标物MRM离子通道参数。

化合物ID	Q1	Q3	驻留时间 (msec)	去簇电压 DP (V)	碰撞电压 CE (V)
Fluconazole	307.4	238.1 <sup>a</sup>	25	70	12
	307.4	220.0 <sup>b</sup>	25	70	15
Linezolid	338.4	235.0 <sup>a</sup>	25	70	31
	338.4	296.0 <sup>b</sup>	25	70	27
Fluconazole-D4	311.2	242.0 <sup>a</sup>	25	84	25
	311.2	223.2 <sup>b</sup>	25	84	27
Linezolid-D3	341.2	297.3 <sup>a</sup>	25	113	27
	341.2	235.1 <sup>b</sup>	25	113	30

注: a为定量离子对, b为定性离子对

## 结果与讨论

对空白血浆样本中氟康唑和利奈唑胺提取离子流图的考察表明, 氟康唑和利奈唑胺的出峰位置无干扰, 专属性良好, 具体见图1。

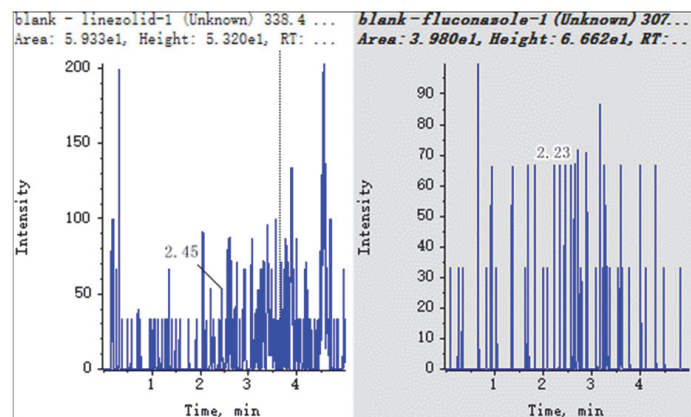


图1. 空白血浆样本提取离子流图。

以空白血浆为基质, 考察了氟康唑和利奈唑胺在定量下限1和0.25 µg/mL 的出峰和响应情况, 结果表明化合物峰型良好, 响应高。具体见图2。

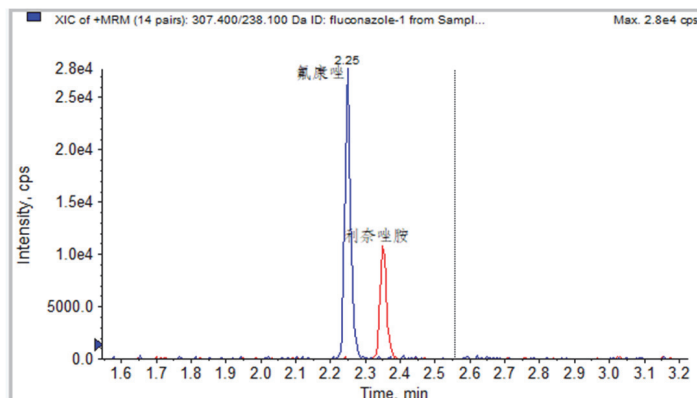


图2. 氟康唑和利奈唑胺LLOQ提取离子流图。

对氟康唑和利奈唑胺的线性考察表明: 两者在相应的浓度范围内线性良好, r均大于0.995。回归方程和线性范围见表3。

表 3. 两种抗菌药物线性回归方程。

化合物名称	回归方程	相关系数 (r)	线性范围
氟康唑	$Y=0.01293x+0.00520$	0.99889	1~100 µg/mL
利奈唑胺	$y=0.39875x+0.00245$	0.99881	0.25~25 µg/mL

为了考察方法的重现性及准确性, 分别进行氟康唑和利奈唑胺的精密度和准确度方法验证。从表4可以看出, 氟康唑和利奈唑胺的低、中、高浓度的精密度在2.47~9.10 %以内, 准确度均在99.19~107.80 %之内。

表 4. 氟康唑和利奈唑胺的准确度及精密度结果。

化合物名称	实际浓度 (µg/mL)	检测浓度 (µg/mL)	RSD %	Accuracy %
氟康唑	2.00	2.07	9.10	103.31
	8.00	8.20	7.62	102.45
	36.0	37.84	5.24	105.12
利奈唑胺	0.50	0.54	6.81	107.80
	2.00	1.98	6.29	99.19
	9.00	9.21	2.47	102.36

## 总结

本方法使用SCIEX 高灵敏度和高稳定性的三重四极杆质谱系统，实现了同时检测人血浆中氟康唑和利奈唑胺的浓度。各化合物通道出峰位置无干扰，专属性良好；线性良好（ $r>0.995$ ）；准确度（99.19 ~107.80 %）和精密度（2.47~9.10 %）满足方法学要求。

仅限专业展会等使用、仅向专业人士提供的内部资料

SCIEX临床诊断产品线仅用于体外诊断。仅凭处方销售。这些产品并非在所有国家地区都提供销售。获取有关具体可用信息，请联系当地销售代表或查阅<https://sciex.com.cn/diagnostics>。所有其他产品仅用于研究。不用于临床诊断。本文提及的商标和/或注册商标，也包括相关的标识、标志的所有权，归属于AB Sciex Pte. Ltd. 或在美国和/或某些其他国家地区的各权利所有人。© 2020 DH Tech. Dev. Pte. Ltd.

RUO-MKT-02-12062-ZH-A



### SCIEX中国

北京分公司  
北京市朝阳区酒仙桥中路24号院  
1号楼5层  
电话：010-5808-1388  
传真：010-5808-1390  
全国咨询电话：800-820-3488, 400-821-3897

上海公司及中国区应用支持中心  
上海市长宁区福泉北路518号  
1座502室  
电话：021-2419-7200  
传真：021-2419-7333  
官网：[sciex.com.cn](http://sciex.com.cn)

广州分公司  
广州市天河区珠江西路15号  
珠江城1907室  
电话：020-8510-0200  
传真：020-3876-0835  
官方微信：[ABSciex-China](https://www.absciex.com.cn)