

# SCIEX 液相色谱串联质谱系统同时检测人血清中阿维巴坦和头孢他啶

## Simultaneous Determination of Avibactam and Ceftazidime in Human Serum by SCIEX LC-MS/MS

胡凤梅, 黄超, 赵祥龙, 郭立海

Hu Fengmei, Huang Chao, Zhao Xianglong, Guo Lihai

### 引言

头孢他啶是第三代头孢菌素, 通过与细菌细胞中的青霉素结合蛋白相结合抑制细胞壁合成, 从而杀灭细菌; 阿维巴坦是一种新型  $\beta$ -内酰胺酶抑制剂, 通过酰胺键与亲核进攻的  $\beta$ -内酰胺酶丝氨酸开环形成共价结合物, 得到稳定的酶-抑制剂复合体, 能有效阻止头孢他啶被  $\beta$ -内酰胺酶水解失活, 保护头孢他啶对多种产碳青霉烯酶肠杆菌科菌株的抗菌活性。头孢他啶/阿维巴坦是 FDA 批准的第一个用于治疗碳青霉烯类耐药肠杆菌目所引起感染的新型  $\beta$ -内酰胺合剂。

为了确保临床用药的安全与合理, 有必要建立一种快速特异灵敏的方法测定血清中这两种药物浓度。本试验针对 SCIEX 液质系统, 建立一种 LC-MS/MS 同时测定头孢他啶和阿维巴坦的浓度, 该法操作简单, 专一性强, 灵敏度高, 可以满足临床治疗药物监测的需要。检测化合物相关信息见表 1。

### 实验部分

#### 样品前处理

样品前处理: 向 1.5 mL 离心管里依次加入 50  $\mu$ L 血清、10  $\mu$ L 内标和 150  $\mu$ L 甲醇, 涡旋 1 min 后, 15000 r/min 离心 5 min。取上清液 40  $\mu$ L 加入 160  $\mu$ L 超纯水稀释, 涡流混匀后, 进行 LC-MS/MS 分析。

表 1. 待测化合物信息列表

中文名	英文名	缩写	CAS 编号	分子式
头孢他啶	Ceftazidime	TBTD	72558-82-8	$C_{22}H_{22}N_6O_7S_2$
阿维巴坦	Avibactam	AWBT	1192491-61-4	$C_7H_{11}N_3O_6S$
头孢他啶-d6 (内标)	Ceftazidime-d6	TBTD-d6	72558-82-8	$C_{22}H_{16}D_6N_6O_7S_2$

### 色谱条件

色谱柱: Luna Omega Ploar C18, 100  $\times$  2.1 mm I.D, 3.0  $\mu$ m

流动相: A相: 含 0.1% 甲酸的 10mM 甲酸铵的水溶液

B相: 含 0.1% 甲酸的 10mM 甲酸铵的 95% 乙腈-水溶液

流速: 0.3 mL/min

柱温: 40 C

进样体积: 5.0  $\mu$ L

洗脱方式: 梯度洗脱, 见表 2

表 2. 液相梯度洗脱条件

时间 (min)	A(%)	B(%)
0.0	90	10
1.0	90	10
3.0	20	80
4.0	20	80
4.1	90	10
5.0	90	10

## 质谱条件

采用同时正负切换电喷雾离子源 (Electrospray Ionization, ESI) 和多反应监测 (Multiple Reaction Monitoring, MRM) 模式进行质谱检测。离子源参数: 喷雾针 (IonSpray Voltage, IS) 正模式电压为+ 5500V/-4500V, 雾化气 (GS1) 和辅助加热气 (GS2) 分别为50 psi和50 psi, 离子源温度为550 °C; 气帘气 (Curtain Gas, CUR) 为30 psi, 碰撞气 (Collision Gas, CAD) 为8。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), 目标物离子对以及内标物监测离子对等参数均经过系统优化, 离子对信息见表3。

表3. 头孢他啶和阿维巴坦及其内标物的MRM离子通道参数

Name	ID	Q1	Q3	DP	CE
头孢他啶	TBTD-1 *	547.2	468.1	90	21
	TBTD-2	547.2	396.1	90	25
阿维巴坦	AWBT-1 *	264.2	80.1	-60	-43
	AWBT-2	264.2	96.1	-60	-43
头孢他啶-d6	TBTD-d6	553.2	474.2	90	21

注: a代表定量离子对

## 结果与讨论

本实验使用正负切换的检测模式同时对头孢他啶和阿维巴坦进行定量, 典型的色谱图如图1。

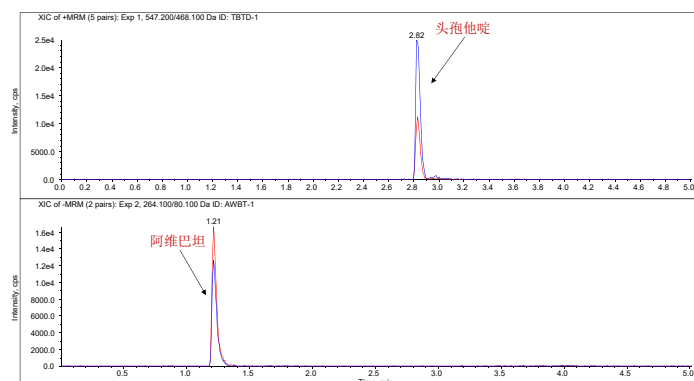


图1. 头孢他啶和阿维巴坦的典型离子流色谱图

对空白血清样本中头孢他啶和阿维巴坦的提取离子流色谱图的考察表明, 在空白血清样本中, 各待测物在对应出峰时间下的峰面积小于定量下限峰面积的20%, 符合相关指导原则要求, 可准确检测, 见图2。

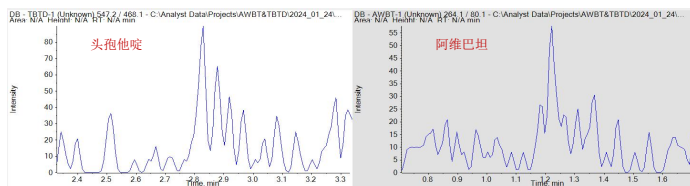


图2. 头孢他啶和阿维巴坦的空白血清样本提取离子流色谱图

以空白血清为基质, 考察了头孢他啶和阿维巴坦在定量下限的出峰和响应情况, 结果表明化合物峰型良好, 仪器响应值高, 见图3。

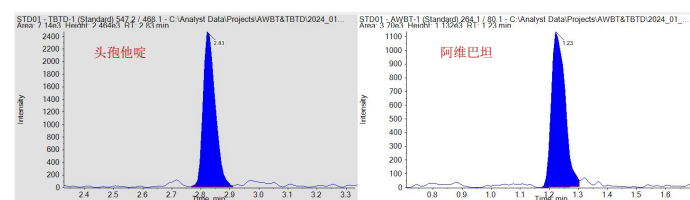


图3. 血清基质中头孢他啶和阿维巴坦在定量下限浓度下的提取离子流色谱图

头孢他啶和阿维巴坦的回归方程和线性范围见表4, r均大于0.995, 头孢他啶和阿维巴坦在相应的浓度范围内线性良好。

表4. 头孢他啶和阿维巴坦回归方程和线性范围

化合物	线性范围 (µg/mL)	回归方程 (相关系数r)
头孢他啶	0.05-100	$Y=1.13874 X + 0.01174$ (r=0.99889)
阿维巴坦	0.1-200	$Y=16850 X + 451.9$ (r=0.99908)

以混合实际人群血清添加标液的形式制备质控样本, 对头孢他啶和阿维巴坦定量的准确度进行验证。从表5可以看出, 不同浓度质控样本的准确度均在96.3~112.4%之内, 满足FDA和CLSI相关法规要求。

表5. 血清中头孢他啶和阿维巴坦的准确度

化合物名称	实际浓度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	检测浓度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	准确度%	平均准确度%
头孢他啶	0.500	0.568	113.6	112.4
		0.570	114.0	
		0.549	109.7	
	5.00	5.38	107.5	106.4
		5.16	103.3	
		5.43	108.5	
	50.0	48.3	96.6	96.3
		47.7	95.5	
		48.3	96.7	
		1.11	110.7	
阿维巴坦	1.00	1.10	110.0	110.5
		1.11	110.7	
		10.2	102.0	
	10.0	11.0	109.7	107.2
		11.0	109.9	
		99.2	99.2	
	100	98.6	98.6	100.0
102.4		102.4		

## 总结

本方法采用同时正负ESI电喷雾离子源和MRM多反应监测模式，可对血清中头孢他啶和阿维巴坦进行快速的定量分析。该方法具有特异性高、线性好、准确度高等优点，可以满足临床治疗药物监测的需要。

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。

© 2024 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. RUO-MKT-02-31039-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: 021-2419-7201  
传真: 021-2419-7333  
官网: [sciex.com.cn](http://sciex.com.cn)

广州办公室  
广州国际生物岛星岛环北路1号  
B2栋501、502单元  
电话: 020-8842-4017

官方微信: [SCIEX-China](https://www.sciex.com.cn)