

液相色谱-串联质谱法测定人血浆中克拉霉素的浓度

权伍英, 于晓英, 王 璟, 栾 燕

(沈阳市疾病预防控制中心, 辽宁 沈阳 110031)

Determination of Clarithromycin in Human Plasma by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry

QUAN Wu-ying, YU Xiao-ying, WANG Jing, LUAN Yan

(Shenyang Center for Disease Control & Prevention, Shenyang 110031, China)

Abstract: A liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) method was developed to determine clarithromycin in human plasma. The linearity was obtained in the range of 10~5 000 ng/mL in plasma and the limit of quantification was 10 ng/mL. The intra and inter-day precision (RSD) were less than 2.9% and 9.2%, respectively. Accuracy (relative error) was within 3.2%. The method was proved to be convenient, rapid and accurate enough to be applied to the pharmacokinetic studies of clarithromycin in human plasma.

Key words: clarithromycin; LC-MS/MS; plasma concentration

中图分类号: O657.63 文献标识码: A 文章编号: 1004-2997(2006)增刊-109-02

克拉霉素是大环内酯类抗生素, 适用于革兰阳性菌、部分革兰阴性菌、厌氧菌及支原体、衣原体等非典型病原体所引起的感染。目前克拉霉素血药浓度的测定主要采用微生物法^[1]及液相色谱法^[1-3], 微生物法测定结果不够精确, 而 HPLC 法样品处理繁琐, 血浆中内源性杂质常干扰测定, 定量检测限较高。为此本工作拟建立灵敏、简便、准确的液-液萃取, 液相色谱-串联质谱法 (LC-MS/MS) 测定人血浆中克拉霉素的浓度。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

液相色谱-串联四极杆质谱仪: TSQ Quantum Discovery (美国 Thermo Finnigan 公司), 配

有电喷雾离子化源 (ESI 源) 以及 Xcalibur 1.2 系统软件, LC quan 2.0 定量处理软件, Surveyor 液相色谱系统。克拉霉素及内标罗红霉素由沈阳药科大学提供, 乙腈为色谱纯, 其它为分析纯。

1.2 色谱条件

色谱柱: Diamonsil C₁₈ 柱, 150 mm × 4.6 mm, 5 μm; 流动相: 乙腈-水-甲酸 (体积比为 85 : 15 : 0.2); 流速: 0.5 mL · min⁻¹; 进样量: 20 μL。

1.3 质谱条件

离子源为电喷雾离子化源 ESI 源 (+); 电喷雾电压 4 000 V; 加热毛细管温度 380 °C; 鞘气 (N₂) 压力 25 Arb; 辅助气 (N₂) 压力 5 Arb; 碰撞气 (Ar) 压力 1.2 mTorr; 碰撞及诱导解离 (CID) 电压均为 35 V; 扫描方式为选择反应监测

(SRM);扫描时间为 0.3 s;定量离子反应分别为 m/z 748 \rightarrow 158(克拉霉素)、 m/z 837 \rightarrow 158(罗红霉素)。

1.4 血浆样品处理

取 200 μL 血浆,分别加入 100 μL 乙腈-水(体积比为 50 : 50),100 μL 内标溶液(罗红霉素,浓度为 4 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$),200 μL 0.5 mol/L Na_2CO_3 溶液,混匀,加 3 mL 提取溶剂正己烷-二氯甲烷-异丙醇(体积比为 300 : 150 : 15),涡流混合 1 min,往复振荡 15 min,离心 5 min (3 500 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$),分取上层有机相于另一试管中,于 40 $^{\circ}\text{C}$ 氮气流下吹干,残留物加入 200 μL 流动相溶解,涡流混合,取 20 μL 进行 LC-MS/MS 分析。

2 结果与讨论

本文采用液相色谱-串联质谱法检测人血浆中克拉霉素的浓度,克拉霉素的线性范围为 10 \sim 5 000 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$,定量下限为 10 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。以质量控制(QC)样品计算,克拉霉素的日内和日间相对标准偏差(RSD)分别小于 2.9% 和

9.2%,日间相对偏差(RE)在 3.2% 之内。克拉霉素在 3 种浓度(20、500、4 000 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$)下样品的提取回收率分别为 71.7%,64.1% 和 69.5%,内标的提取回收率为 64.2%。提取后的克拉霉素样品溶液在室温放置 24 h 内稳定(RE 在 $\pm 4.5\%$ 之内)。

该法建立的 LC-MS/MS 法测定人血浆中克拉霉素,每个样品的测定时间仅为 2.7 min,具有选择性强、灵敏、高效的特点,适合于大批量生物样品的测定。

参考文献:

- [1] 高科攀,史振祺,蒋新国. 克拉霉素片剂人体生物利用度研究[J]. 中国现代应用药学杂志,2004,21(1).
- [2] 张红,李华,李艳艳,等. 克拉霉素血药浓度 HPLC 测定方法和生物等效性研究[J]. 中国临床药理学与治疗学,2004,9(7): 792-794.
- [3] 李军,张晓坚,刘广炼. 克拉霉素药代动力学的研究[J]. 数理医药学杂志,2000,13:244-245.