

# HPLC-MS/MS 测定新生儿血浆中氟氯西林的浓度及其与氨溴索相互作用的研究

陈灵<sup>1a</sup>, 郭婷<sup>2\*</sup>, 邵钰<sup>3</sup>, 边俊梅<sup>1b</sup>, 吴金虎<sup>1a</sup> [1.武汉市第三医院(武汉大学附属同仁医院), a.药学部, b.儿科, 武汉 430060; 2.重庆医科大学附属璧山医院(重庆市璧山区人民医院)药学部, 重庆 402760; 3.北京市昌平区中医医院药学部, 北京 102200]

**摘要:** 目的 建立一种高效、简便的 HPLC-MS/MS 方法检测新生儿血浆中氟氯西林的浓度, 研究新生儿体内氨溴索与氟氯西林是否存在相互作用。方法 生物样本采用 API4000 HPLC-MS/MS 进行分析, 色谱柱为 Ultimate XB-C<sub>18</sub>(2.1 mm×100 mm, 5 μm), 流动相 A 相为水-0.1%甲酸, B 相为乙腈-0.1%甲酸。氟氯西林和内标利福平定量分析离子对分别为  $m/z$  452.6→284.2 和  $m/z$  821.4→397.3。结果 在该分析方法下氟氯西林的线性范围为 0.20~80 ng·mL<sup>-1</sup>, 定量下限为 0.20 ng·mL<sup>-1</sup>; 氟氯西林的日内精密度和日间精密度均<8.23%; 提取回收率为 85.3%~89.2%, 基质效应为 89.3%~92.3%; 新生儿血浆样品在室温条件下放置 12 h, 处理后室温条件下放置 4 h, 反复冻融 3 次及-20℃冷冻 30 d 的稳定性均良好。临床样本检测结果表明氨溴索合用可以显著提高氟氯西林血药浓度。结论 本研究所建立的 HPLC-MS/MS 分析方法准确度高, 灵敏度好, 可用于新生儿血浆中氟氯西林浓度的测定。临床研究结果表明氨溴索能显著提升氟氯西林的血药浓度, 两者存在药物相互作用。

**关键词:** 氟氯西林; 氨溴索; 药物-药物相互作用; HPLC-MS/MS

中图分类号: R917.101 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2023)22-3158-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.20231774

引用本文: 陈灵, 郭婷, 邵钰等. HPLC-MS/MS 测定新生儿血浆中氟氯西林的浓度及其与氨溴索相互作用的研究[J]. 中国现代应用药学, 2023, 40(22): 3158-3163.

## Determination of Flucloxacillin Concentration in Newborn Plasma by HPLC-MS/MS and the Study on the Interaction with Ambroxol

CHEN Ling<sup>1a</sup>, GUO Ting<sup>2\*</sup>, SHAO Yu<sup>3</sup>, BIAN Junmei<sup>1b</sup>, WU Jinhu<sup>1a</sup> [1.Wuhan Third Hospital(Tongren Hospital of Wuhan University), a.Department of Pharmacy, b.Department of Paediatrics, Wuhan 430060, China; 2.Department of Pharmacy, Bishan Hospital of Chongqing Medical University(Bishan Hospital of Chongqing), Chongqing 402760, China; 3.Department of Pharmacy, Changping Hospital of Traditional Chinese Medicine, Beijing 102200, China]

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To establish an efficient and simple HPLC-MS/MS method for determination of flucloxacillin in newborn plasma, and to investigate the interaction between ambroxol and flucloxacillin in newborns. **METHODS** The samples were analyzed by API4000 HPLC-MS/MS. Ultimate XB-C<sub>18</sub> column(2.1 mm×100 mm, 5 μm) were carried out. The mobile phase was composed of water-0.1% formic acid(A) and acetonitrile-0.1% formic acid(B). The quantitative analysis of the ion transitions were monitored at  $m/z$  452.6→284.2 for flucloxacillin and  $m/z$  821.4→397.3 for rifampicin(internal standard). **RESULTS** The linear range of flucloxacillin under this analysis method was 0.20~80 ng·mL<sup>-1</sup>, and the lower limit of quantification was 0.20 ng·mL<sup>-1</sup>; The intra-day and inter-day precision of flucloxacillin were both less than 8.23%; The extraction recovery was in the range of 85.3%~89.2%, and the matrix effect was between 89.3%~92.3%; The stability of plasma samples was good under conditions of 12 h at room temperature, 4 h at room temperature after treatment, repeated freeze-thaw for 3 times, and -20℃ freezing for 30 d. The results of clinical samples indicated that the combination of ambroxol could significantly increase the blood concentration of flucloxacillin. **CONCLUSION** The established HPLC-MS/MS method is accurate, sensitive and can be used for the determination of flucloxacillin concentration in neonatal plasma. The results of clinical samples indicate that ambroxol can significantly increase the blood concentration of flucloxacillin. There are drug interactions between ambroxol and flucloxacillin.

**KEYWORDS:** flucloxacillin; ambroxol; drug-drug interaction; HPLC-MS/MS

新生儿肺炎是临床新生儿常见肺部疾病, 往往发病急, 病情较重<sup>[1-2]</sup>。氟氯西林和氨溴索是新生儿肺炎常见联合用药<sup>[3]</sup>。其中, 氟氯西林属耐青

霉素酶的半合成青霉素, 其主要作用机制是干扰细菌细胞壁形成的能力, 使细菌的细胞壁形成孔洞, 造成菌体内容物的泄漏和某些物质的内流而

基金项目: 湖北省中央引导地方科技发展专项(2020ZYD026); 湖北省卫生健康委员会科研项目(WJ2021M011)

作者简介: 陈灵, 女, 硕士, 副主任药师 E-mail: 57776228@qq.com \*通信作者: 郭婷, 女, 硕士, 主管药师 E-mail: 404050217@qq.com

使细菌裂解死亡。临床上主要用于治疗耐青霉素的金黄色葡萄球菌以及其他敏感致病菌引起的感染<sup>[4]</sup>。氨溴索为黏液溶解药,通过促进排痰,达到显著提升呼吸状况的作用<sup>[5]</sup>。

目前关于新生儿细菌感染性疾病抗菌药物预防性与治疗性使用,2021年英国国家卫生与临床优化研究所(National Institute for Health and Care Excellence, NICE)已经发布了相关临床指南。2019年,中国中华医学会儿科学分会新生儿学组制定了《新生儿败血症诊断及治疗专家共识》(2019年版),该指南指出患儿有围生期风险因素或异常临床表现则应立即使用抗菌药物;而NICE指南建议更强调根据风险因素或临床指征,由临床医师决定是否用药<sup>[6]</sup>。但在临床应用中,不同患儿应用固定的给药方案往往会带来差异的疗效和不良反应,尤其是新生儿个体差异较大,过大的给药量会导致严重的不良反应,而药量过低,不能达到有效治疗剂量会导致治疗失败甚至导致耐药<sup>[7-8]</sup>。因此,加强新生儿血药浓度检测从而制定个体化给药方案,可以有效提高临床疗效,减少不良反应。

有关氟氯西林在成人的体内过程含量测定方法已有报道<sup>[9]</sup>,但尚未见新生儿血浆中氟氯西林的测定方法。因此本研究建立了测定新生儿血浆中氟氯西林的HPLC-MS/MS方法并采用此方法考察了该药在新生儿体内的药物浓度,同时检测新生儿联用氨溴索前后氟氯西林的浓度变化,考察其潜在的药物相互作用,以期为其临床治疗的有效

性和安全性提供参考。

## 1 仪器与试剂

1200型高效液相色谱仪(美国Agilent);API4000型质谱仪(美国AB公司);月旭通用液相色谱柱Ultimate XB-C<sub>18</sub>(2.1 mm×100 mm, 5 μm);5804R高速离心机(德国Eppendorf公司);XW-80A混合仪(上海泸西分析仪器厂);Milli-Q超纯水系统(美国Millipore公司);AB-265S分析天平(日本Shimadzu公司)。

氟氯西林(批号:130529;纯度≥98%)、利福平(批号:130496;纯度>98%)均购自中国药品生物制品鉴定所;甲酸(色谱纯,上海aladdin公司,批号:11218040);甲醇、乙腈(均为色谱纯,美国TEDIA公司);超纯水由实验室Milli-Q超纯水系统自制。

## 2 方法

### 2.1 色谱与质谱条件

色谱条件:色谱柱采用Ultimate XB-C<sub>18</sub>(2.1 mm×100 mm, 5 μm);流动相为水(A)-乙腈(B),均含有0.1%甲酸;采用梯度洗脱(0~3 min, 20%→90%A, 80%→10%B);流速为0.3 mL·min<sup>-1</sup>;柱温为40℃,进样量为5 μL。

质谱条件:离子检测方式ESI-MRM;负离子模式;辅助气1压力(GS1)25 kPa,辅助气2压力(GS2)20 kPa;定量分析的离子反应分别为 $m/z$  452.6→284.2(氟氯西林)和 $m/z$  821.4→397.3(利福平),扫描时间为200 ms,分析物其他质谱参数见表1,氟氯西林和利福平的二级质谱图见图1。

表1 氟氯西林及内标利福平的质谱参数

Tab. 1 Mass spectrum parameters of flucloxacillin and internal standard rifampicin

| 样品名称    | 监控离子        | DP  | EP | CE | CXP | CAD | CUR | TEM | IS    |
|---------|-------------|-----|----|----|-----|-----|-----|-----|-------|
| 氟氯西林    | 452.1→311.1 | 121 | 9  | 35 | 15  | 8   | 15  | 450 | 4 500 |
| 利福平(IS) | 484.1→255.2 | 72  | 5  | 25 | 9   | 8   | 15  | 450 | 4 500 |

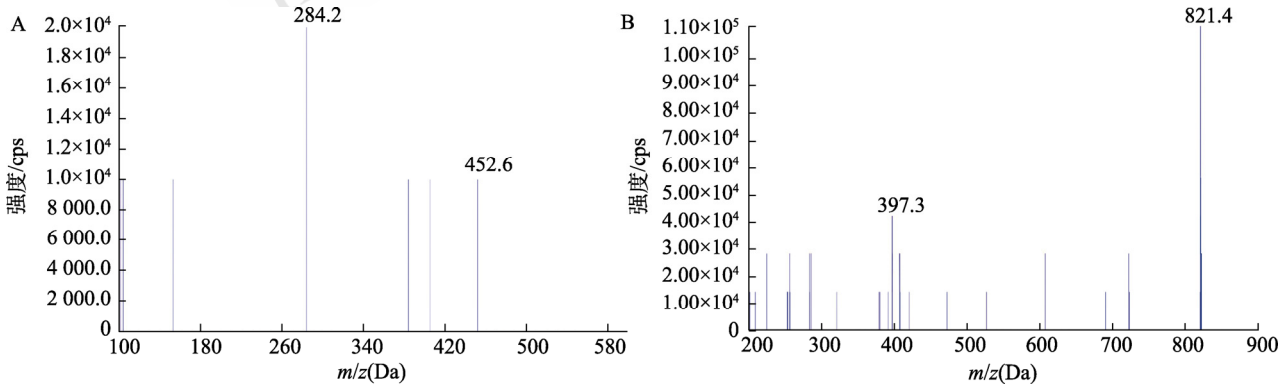


图1 氟氯西林(A)和利福平(B)的二级质谱图

Fig. 1 Secondary mass spectra of flucloxacillin(A) and rifampicin(B)

## 2.2 溶液的制备

**2.2.1 储备液** 氟氯西林储备液：精密称定氟氯西林对照品 9.82 mg，用 9.82 mL 甲醇溶解摇匀，配置为最终浓度为  $1.00 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  的氟氯西林储备液，于  $4^\circ\text{C}$  冰箱内避光保存备用。

利福平储备液：精密称定利福平对照品 4.38 mg，用 4.38 mL 甲醇溶解摇匀于棕色量瓶中，配制为  $1.00 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  的利福平储备液，避光保存于  $4^\circ\text{C}$  冰箱内备用。

**2.2.2 分析工作溶液、内标溶液的配制** 分析工作溶液的配制：用甲醇将氟氯西林储备液依次线性稀释为 16 000, 1 600, 1 440, 800, 200, 80.0, 20.0, 8.00,  $4.00 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$  的氟氯西林标准系列溶液，保存于  $4^\circ\text{C}$  冰箱内备用，用于标准曲线的制备以及定量下限的验证，见表 2。

表 2 分析工作溶液的配制

Tab. 2 Preparation of analytical working fluid

| 工作溶液代码 | 原溶液浓度/<br>$\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ | 量取源溶液<br>体积/ $\mu\text{L}$ | 稀释溶液<br>体积/ $\mu\text{L}$ | 工作溶液最终<br>体积/mL | 工作溶液最终浓度/<br>$\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ |
|--------|----------------------------------------------|----------------------------|---------------------------|-----------------|-----------------------------------------------|
| C01    | 1 000                                        | 80.0                       | 4 920                     | 5.00            | 16 000                                        |
| C02    | 16                                           | 500                        | 4 500                     | 5.00            | 1 600                                         |
| C03    | 16                                           | 450                        | 4 550                     | 5.00            | 1 440                                         |
| C04    | 16                                           | 250                        | 4 750                     | 5.00            | 800                                           |
| C05    | 1.60                                         | 625                        | 4 375                     | 5.00            | 200                                           |
| C06    | 0.80                                         | 500                        | 4 500                     | 5.00            | 80                                            |
| C07    | 0.20                                         | 500                        | 4 500                     | 5.00            | 20                                            |
| C08    | 0.08                                         | 500                        | 4 500                     | 5.00            | 8                                             |
| C09    | 0.08                                         | 250                        | 4 750                     | 5.00            | 4                                             |

质控标准溶液的配制：将  $1.00 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  的氟氯西林储备液用甲醇分别稀释成 1 200, 120,  $12 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  高、中、低浓度质控标准溶液，于  $4^\circ\text{C}$  冰箱内保存备用，用于质控样本的制备。

内标溶液的配制：将  $1.00 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  的利福平储备液用甲醇稀释至  $20 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的内标工作液备用。

## 2.3 临床样本收集

以 17 例新生儿为试验对象，所有病例符合以下条件：①日龄 $<28 \text{ d}$ ；②入院后接受氟氯西林和氨溴索联合治疗后转为氟氯西林单独治疗；③无心、肝、肾、消化道、神经系统等病史；④无影响药物代谢的其他因素。

收集 17 例新生儿血气针中剩余血浆，分析其血浆中氟氯西林含量。本研究方案已通过武汉市第三医院医学伦理委员会审批，伦理批件号[2021 伦审字(02)一年 2]。

## 2.4 临床样品前处理

采集的血液样品立即离心( $4^\circ\text{C}$ ,  $1\,500 \times g$ , 10 min)，分离血浆，于 $-80^\circ\text{C}$ 保存，之后采用 HPLC-MS/MS 进行浓度检测，并进行统计学分析。

## 2.5 血浆样本处理

取新生儿血浆  $200 \mu\text{L}$ ，加入内标溶液( $20 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  利福平溶液)  $10 \mu\text{L}$ ，涡旋混合 1 min 后再加入  $400 \mu\text{L}$  乙腈，涡旋混合 5 min 沉淀蛋白。于  $4^\circ\text{C}$ ,  $1\,700 \times g$  离心 10 min，离心完毕后取上清液氮气吹干，用  $200 \mu\text{L}$  乙腈复溶后进样分析。

## 3 结果

### 3.1 方法专属性

取空白新生儿血浆  $200 \mu\text{L}$ ，按“2.5”项下方法操作，进样分析，获得空白血浆样品的色谱图见图 2A；取空白新生儿血浆  $190 \mu\text{L}$ ，依次加入氟氯西林和利福平标准液各  $10 \mu\text{L}$ ，涡旋 1 min，按“2.5”项下方法操作进行样品处理，进样分析，色谱图见图 2B；取给药后患儿的血浆样品  $200 \mu\text{L}$ ，按“2.5”项下方法操作，进样分析，色谱图见图 2C。

由图 2 可知，空白新生儿血浆中杂质对分析物氟氯西林及内部利福平的测定没有干扰，氟氯西林及内标利福平的保留时间分别为 1.45 min 和 1.57 min。此方法的专属性良好。

### 3.2 标准曲线与线性范围

取空白血浆  $190 \mu\text{L}$ ，分别加入不同浓度氟氯西林的标准溶液各  $10 \mu\text{L}$ ，使生物样品中氟氯西林的浓度分别为 80, 72, 40, 10, 4, 1,  $0.40, 0.20 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ，见表 3，按“2.5”项下方法进行生物样品预处理，按“2.1”项下条件进行测定。标准曲线制备：以分析物氟氯西林的浓度( $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ )为横坐标(X)，氟氯西林与内标的峰面积比为纵坐标(Y)，采用加权最小二乘法计算得到回归方程  $Y=0.087\,2X+0.007\,43(r=0.999\,2)$ ，经过验证，该分析方法的线性范围为  $0.20\sim 80 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ ，定量下限为  $0.20 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

### 3.3 提取回收率与基质效应

取空白新生儿血浆按照表 4 配置方法依次配置成低、中、高( $0.60, 6, 60 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ )3 个浓度氟氯西林的样品各 5 份，分别进行提取回收率和基质效应考察。

提取回收率：测定氟氯西林质控样品的峰面积和相同浓度的处理后样品，按照公式(1)计算氟氯西林不同浓度的提取回收率。

基质效应：测定处理后的空白血浆加入标准溶液的峰面积与对应浓度的标准溶液的峰面积之比计算氟氯西林不同浓度的基质效应。见公式(2)。

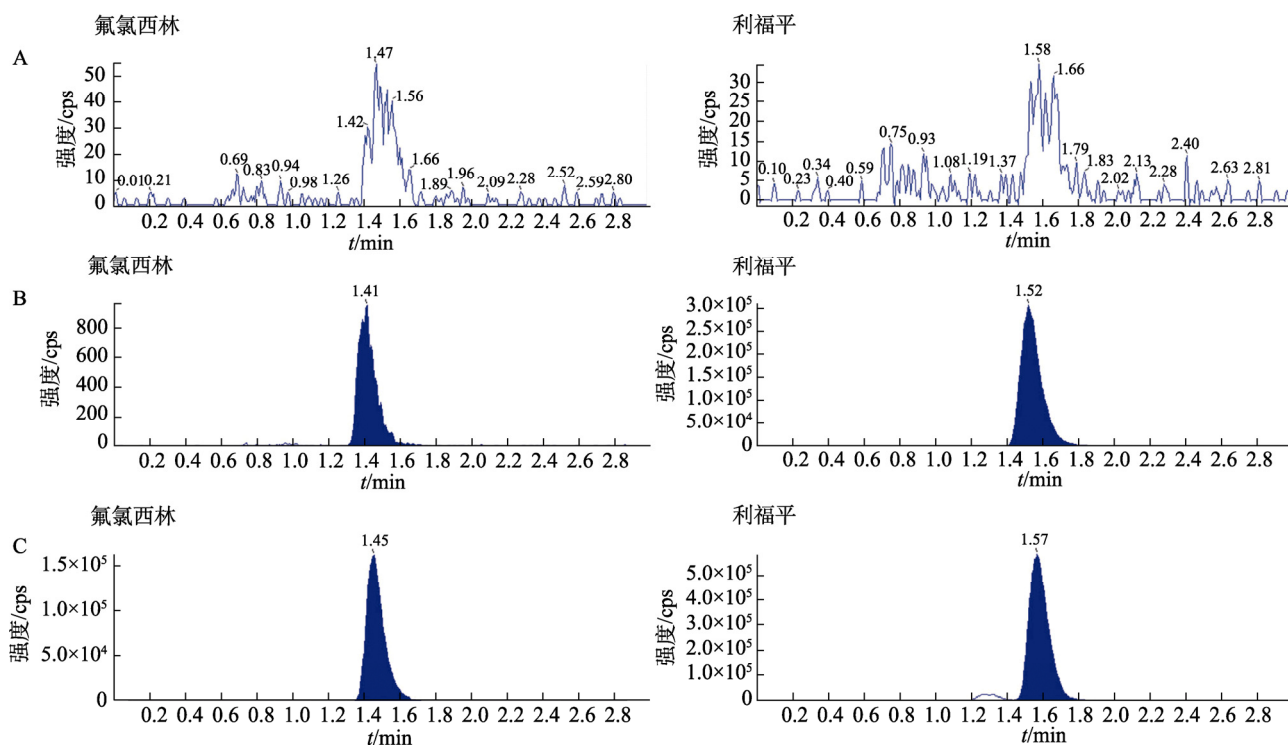


图 2 空白血浆(A)、空白血浆加入氟氯西林和内标利福平工作液(20 µg·L<sup>-1</sup>)(B)、新生儿注射氟氯西林后 1 h 血浆样品(C) 色谱图

Fig. 2 Chromatogram of blank plasma(A), blank plasma with flucloxacillin and internal standard rifampicin working solution (20 µg·L<sup>-1</sup>)(B) and plasma samples from newborns 1 h after injection of flucloxacillin(C)

表 3 标准曲线工作液的配置

Tab. 3 Configuration of standard curve working fluid

| 标准曲线<br>溶液代码 | 原溶液<br>浓度/<br>ng·mL <sup>-1</sup> | 量取源溶<br>液体积<br>/µL | 加入空白<br>血浆体积<br>/µL | 标准曲线溶<br>液最终体积<br>/µL | 标准曲线<br>溶液最终浓<br>度/ng·mL <sup>-1</sup> |
|--------------|-----------------------------------|--------------------|---------------------|-----------------------|----------------------------------------|
| Cal-8        | 1 600                             | 10                 | 190                 | 200                   | 80.00                                  |
| Cal-7        | 1 440                             | 10                 | 190                 | 200                   | 72.00                                  |
| Cal-6        | 800                               | 10                 | 190                 | 200                   | 40.00                                  |
| Cal-5        | 200                               | 10                 | 190                 | 200                   | 10.00                                  |
| Cal-4        | 80.00                             | 10                 | 190                 | 200                   | 4.00                                   |
| Cal-3        | 20.00                             | 10                 | 190                 | 200                   | 1.00                                   |
| Cal-2        | 8.00                              | 10                 | 190                 | 200                   | 0.40                                   |
| Cal-1        | 4.00                              | 10                 | 190                 | 200                   | 0.20                                   |

回收率%=100%×各浓度质控样品的 6 个平行样本提取后的平均峰面积/各浓度回收率评价样品的 3 个平行样的平均峰面积 (1)

基质效应%=100%×基质存在下的峰面积/基质不存在的平均峰面积 (2)。

血浆中氟氯西林低、中、高 3 个浓度(0.60, 6.0, 60 ng·mL<sup>-1</sup>)的提取回收率分别为(85.3±6.82)%, (89.2±4.56)%和(87.3±5.28)%, 基质效应分别为(89.3±5.31)%, (90.3±3.54)%和(92.3±4.36)%。结果见表 5。

### 3.4 精密度和准确度试验

取空白血浆配制成氟氯西林血浆浓度为 0.60,

表 4 质控溶液的配制

Tab. 4 Configuration of quality control solution

| 质控溶<br>液代码 | 原溶液<br>浓度/<br>ng·mL <sup>-1</sup> | 量取源溶<br>液体积/<br>µL | 加入空<br>白血浆<br>体积/µL | 质控溶<br>液最终<br>体积/µL | 质控溶液<br>最终浓度/<br>ng·mL <sup>-1</sup> |
|------------|-----------------------------------|--------------------|---------------------|---------------------|--------------------------------------|
| HQC        | 1 200                             | 350                | 6 650               | 7 000               | 60                                   |
| MQC        | 120                               | 150                | 2 850               | 3 000               | 6                                    |
| LQC        | 12                                | 350                | 6 650               | 7 000               | 0.60                                 |
| LLOQ       | 4                                 | 150                | 2 850               | 3 000               | 0.20                                 |

表 5 新生儿血浆中氟氯西林的提取回收率和基质效应

Tab. 5 Results of extraction recovery and matrix effect of flucloxacillin in newborn plasma

| 分析<br>药物 | 血浆药物浓<br>度/ng·mL <sup>-1</sup> | 提取回收率           |       | 基质效应            |       |
|----------|--------------------------------|-----------------|-------|-----------------|-------|
|          |                                | $\bar{x} \pm s$ | RSD/% | $\bar{x} \pm s$ | RSD/% |
| 氟氯<br>西林 | 0.60                           | 85.3±6.82       | 8.00  | 89.3±5.31       | 5.95  |
|          | 6                              | 89.2±4.56       | 5.11  | 90.3±3.54       | 3.92  |
|          | 60                             | 87.3±5.28       | 6.05  | 92.3±4.36       | 4.72  |

6 和 60 ng·mL<sup>-1</sup>的质控样品, 见表 4, 按“2.5”项下方法操作, 每一浓度进行 5 样本分析, 连续测定 3 d, 根据当日的标准曲线, 计算质控样品的准确度(测得值与实际值的比值)与精密度。相对标准偏差(RSD%)评价日内和日间精密度。相对误差(RE%)评估准确度, 计算公式: RE(%)=[(测定值-标示值)/标示值]×100%, 结果见表 6。该结果表明, 分析物氟氯西林的精密度检测结果, 包括日内精密度

表 6 HPLC-MS/MS 测定血浆中氟氯西林的准确度和精密度

Tab. 6 Accuracy and precision of determination of flucloxacillin in plasma by HPLC-MS/MS

| 分析药物 | 血浆浓度/ng·mL <sup>-1</sup> | 日内准确度和精密度(n=6)             |      |       |       | 日间准确度和精密度(n=18)            |      |       |       |
|------|--------------------------|----------------------------|------|-------|-------|----------------------------|------|-------|-------|
|      |                          | 测得血浆浓度/ng·mL <sup>-1</sup> | SD/% | RE/%  | RSD/% | 测得血浆浓度/ng·mL <sup>-1</sup> | SD/% | RE/%  | RSD/% |
| 氟氯西林 | 0.60                     | 0.57                       | 0.01 | -5.00 | 2.11  | 0.58                       | 0.02 | -3.33 | 3.10  |
|      | 6                        | 5.78                       | 0.32 | -3.67 | 5.54  | 5.83                       | 0.48 | -2.83 | 8.23  |
|      | 60                       | 59.35                      | 1.35 | -1.08 | 2.27  | 58.73                      | 1.38 | -2.12 | 2.35  |

和日间精密度均<8.23%，准确度检测结果 RE(%) 在-5.00%~-1.08%，说明该 HPLC-MS/MS 方法测定血浆中氟氯西林浓度准确可靠。

### 3.5 稳定性试验

**3.5.1 室温稳定性考察** 按“3.3”项下方法制备氟氯西林低、中、高 3 个浓度质控样品，在室温下放置 12 h，按“2.5”项下方法进行样品处理，每一种浓度水平进行 5 样本分析。结果表明，氟氯西林血浆样品于室温条件下放置 12 h 稳定，RSD 分别为 2.41%，4.03%，3.13%。

**3.5.2 血样处理后 4 h 放置稳定性考察** 按“3.3”项下的方法制备氟氯西林低、中、高 3 个浓度质控样品进行样品处理，将血样处理后的上清液在 4℃进样箱中放置 4 h 后进样，每个浓度水平进行 5 样本分析。结果表明，氟氯西林血浆样品经处理后在 4℃下放置 4 h 稳定，RSD 分别为 2.14%，3.75%，2.67%。

**3.5.3 冻融稳定性考察** 按“3.3”项下方法制备氟氯西林和利福平低、中、高 3 个浓度的血浆样品，在经历“冻-融”3 次循环后，按“2.5”项下方法进行样品处理，每一种浓度水平进行 5 样本分析。结果表明，氟氯西林血浆样品经过 3 次冻融循环后稳定，RSD 分别为 3.75%，5.45%，3.41%。

**3.5.4 长期稳定性考察** 按“3.3”项下方法制备氟氯西林低度质控样品，在-20℃冷冻条件下放置 30 d，按“2.5”项下方法进行样品处理，每一种浓度水平进行 5 样本分析。结果表明，在-20℃冷冻条件下，氟氯西林血浆样品放置 30 d 后仍稳定，RSD 分别为 4.18%，6.43%，3.59%。

### 3.6 残留效应

连续 3 次进样最高浓度的矫正标样后连续放置一个空白基质样品，通过测定空白基质样品中的分析物和内标的峰面积确定残留对分析物准确定量的影响。结果表明分析物的干扰峰响应低于 LOQ 中峰面积的 20%，内标的干扰峰响应不超过零浓度样品中内标峰面积的 5%，满足分析要求。

### 3.7 血药浓度检测结果

将 17 例新生儿联合使用氟氯西林注射液和氨溴索注射液和单独使用氟氯西林注射液的动脉血样进行含量分析。治疗剂量：氟氯西林，100 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>，q6h；氨溴索，30 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>，q6h。结果表明，新生儿氟氯西林和氨溴索联合用药时，新生儿动脉血中氟氯西林的平均血药浓度为 15.89 ng·mL<sup>-1</sup>，而单独使用氟氯西林注射液时，新生儿平均血药浓度下降为 1.64 ng·mL<sup>-1</sup>，见表 7。氨溴索联用可以显著提高氟氯西林的血药浓度，两者存在药物相互作用。

表 7 不同新生儿氟氯西林、氨溴索联合用药以及氟氯西林单独给药情况下的动脉血中氟氯西林平均血药浓度

Tab. 7 Mean plasma concentration of flucloxacillin in arterial blood with different neonatal combination of flucloxacillin ambraxol and flucloxacillin alone ng·mL<sup>-1</sup>

| 患儿序号   | 氟氯西林、氨溴索联用 | 氟氯西林单独给药 |
|--------|------------|----------|
| 1      | 22.82      | 1.25     |
| 2      | 14.05      | 1.36     |
| 3      | 24.82      | 1.24     |
| 4      | 11.35      | 2.41     |
| 5      | 9.59       | 1.23     |
| 6      | 7.88       | 2.18     |
| 7      | 8.73       | 1.23     |
| 8      | 5.80       | 1.22     |
| 9      | 20.69      | 1.24     |
| 10     | 15.21      | 1.48     |
| 11     | 6.66       | 1.30     |
| 12     | 24.77      | 1.57     |
| 13     | 13.54      | 1.33     |
| 14     | 24.88      | 1.60     |
| 15     | 13.54      | 1.32     |
| 16     | 24.88      | 1.23     |
| 17     | 20.85      | 4.62     |
| 平均血药浓度 | 15.89      | 1.64     |
| SD     | 7.04       | 0.84     |

### 4 讨论

本研究建立了新生儿血浆中氟氯西林浓度测定的 HPLC-MS/MS 检测方法，采用内标法定量。样本前处理分别采用乙腈直接蛋白沉淀法简单易操作，回收率高。

氟氯西林是新生儿常规用药, 常规血药浓度检测是基于成人血浆基质建立的检测方法, 不适用于新生儿血药浓度监测。本研究首次建立了新生儿血浆中氟氯西林的含量检测方法, 测定方法仅利用查血气的剩余血液样本进行检测, 且分析方法准确度高, 灵敏度高, 专属性强。该方法测定的氟氯西林血药浓度的定量限为  $0.20 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 线性范围为  $0.20 \sim 80 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 适合测定新生儿体内氟氯西林的药浓度。

氟氯西林和氨溴索是新生儿肺炎常用药, 氨溴索具有显著促进排痰, 改善呼吸状况的作用, 氟氯西林主要用于细菌感染的治疗。临床上常见新生儿呼吸状况改善后停用氨溴索, 继续单独使用氟氯西林的情况, 本研究结果证明氨溴索联合用药会显著提升氟氯西林血药浓度, 两者存在药物相互作用, 在考虑氨溴索产生对氟氯西林协同增效的可能下, 也应该重点关注较高血药浓度氟氯西林的药物安全性。

## REFERENCES

- [1] NI W, HUANG Y L, YANG Q X. Etiological characteristics and influencing factors of neonatal pneumonia[J]. Med Innov China(中国医学创新), 2023, 20(7): 131-135.
- [2] JIA X Y, XU L M, XU N. Early identification and graded diagnosis and treatment of neonatal pneumonia[J]. Chin J Clin(中国临床医生杂志), 2022, 50(3): 264-267.
- [3] WANG B B, WEI X. Observation on therapeutic effect of ambroxol hydrochloride on neonatal pneumonia by different administration routes[J]. Tianjin Pharm(天津药学), 2021, 33(1): 65-67.
- [4] WANG W L, GAO Y. Clinical value of different antibiotics in the treatment of neonatal pneumonia[J]. Syst Med(系统医学), 2022, 7(16): 153-156.
- [5] LI L, LIU F. Effect of ambroxol hydrochloride intravenous drip combined with atomization inhalation on neonatal pneumonia and analysis of its influence on children's indexes[J]. Doctor(大医生), 2022, 7(4): 120-123.
- [6] National Institute for Health and Care Excellence. Neonatal infection: Antibiotics for the prevention and treatment[EB/OL]. (2021-04-20) [2023-06-06]. <https://www.nice.org.uk/guidance/ng195>.
- [7] FANG Q Y, ZHOU L, ZHENG H Y. Establishment and clinical validation of the precise dosing mode of voriconazole[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2023, 40(5): 668-672.
- [8] QIN J Y, ZHU Y B, LU X Y, et al. Clinical pharmacist participated in the pharmaceutical consultation on venous thromboembolism in pediatric patient with portal hypertension after vascular shunt[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2023, 40(6): 824-829.
- [9] SUN Y X, ZHAO L M, HE X J, et al. Determination the plasma concentration of flucloxacillin in healthy volunteers by HPLC[J]. Chin J Clin Pharmacol(中国临床药理学杂志), 2008, 24(1): 68-70.

收稿日期: 2023-06-26

(本文责编: 陈怡心)