

代谢分析

HPLC 法同时测定儿童患者血清中万古霉素、咖啡因和氨茶碱浓度及其临床应用*

李赛¹, 李寿林¹, 王东亮¹, 苏凌瓔^{2**}

(1. 淮安市妇幼保健院药学部, 淮安 223001; 2. 南京医科大学附属淮安第一医院神经内科, 淮安 223300)

摘要 目的: 建立 HPLC 法同时测定儿童患者血清中万古霉素、咖啡因和氨茶碱浓度的方法并应用于临床检测。方法: 选用 6% 高氯酸为蛋白沉淀剂, 乙酰苯胺为内标物, 采用 Nucifera C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 以甲醇-0.05 mol · L⁻¹ 磷酸二氢钾溶液 (18 : 82, v/v) 为流动相, 流速 1 mL · min⁻¹, 检测波长 236 nm, 柱温 25 °C, 进样量 20 μL。结果: 万古霉素和氨茶碱血清药物浓度在 1.0~100 μg · mL⁻¹ 范围内线性关系良好, 标准曲线分别为 $Y=0.0106X+0.0069$ ($r=0.9988$)、 $Y=0.0127X+0.0084$ ($r=0.9989$); 咖啡因血清药物浓度在 1.0~160 μg · mL⁻¹ 范围内线性关系良好, 标准曲线为 $Y=0.0154X-0.0101$ ($r=0.9991$); 定量限均为 1.0 μg · mL⁻¹; 待测物的平均相对回收率均在 97.8%~103.1%, 日内和日间的精密度相对标准偏差均 < 10%, 样品稳定性良好。收集 10 例接受万古霉素、氨茶碱或咖啡因治疗的患儿进行方法验证, 符合临床检测需求。结论: 本方法操作简便, 准确度高, 适应于儿童患者血清万古霉素、氨茶碱或咖啡因浓度的同时测定。
关键词: 高效液相色谱法; 万古霉素; 咖啡因; 氨茶碱; 儿童患者; 血药浓度; 同时测定

中图分类号: R 917

文献标识码: A

文章编号: 0254-1793 (2025) 01-92-07

doi: 10.16155/j.0254-1793.2024-0300

Simultaneous determination of vancomycin, aminophylline and caffeine in children's serum by HPLC method*

LI Sai¹, LI Shou-lin¹, WANG Dong-liang¹, SU Ling-ying^{2**}

(1. Department of Pharmacy, Huai'an Women and Children's Health Care Hospital, Huai'an 223001, China;

2. The Affiliated Huai'an No.1 People's Hospital of Nanjing Medical University, Huai'an 223300, China)

Abstract Objective: To establish an HPLC method for simultaneous determination of vancomycin, caffeine and aminophylline in serum of children patients and apply it to clinical detection. **Methods:** 6% perchloric acid was used as protein precipitator and acetanilide was used as internal standard. The determination was performed on Nucifera C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) with mobile phase methanol-0.05 mol · L⁻¹ potassium dihydrogen phosphate (18 : 82, v/v). The detection wavelength was 236 nm, the flow rate was 1 mL · min⁻¹, the column temperature was 25 °C, and the sample size was 20 μL. **Results:** The serum concentrations of vancomycin

* 淮安卫生健康科研项目 (HAWJ201922)

** 通信作者 Tel: 18752396935; E-mail: susan.westlife@126.com

第一作者 Tel: 15851742373; Email: lisaihfy@163.com

and aminophylline were in the range of 1.0–100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, and the standard curves were $Y=0.010\ 6X+0.006\ 9$ ($r=0.998\ 8$), $Y=0.012\ 7X+0.008\ 4$ ($r=0.998\ 9$), respectively. The serum concentration of caffeine had a good linear relationship in the range of 1.0–160 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, and the standard curve was $Y=0.015\ 4X-0.010\ 1$ ($r=0.999\ 1$). Quantitative downlines were all 1.0 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$. The average recovery rates of the three compounds ranged from 97.8% to 103.1%, and the relative standard deviations of intraday and daytime precision were less than 10%, indicating good sample stability. Ten cases of children receiving vancomycin, aminophylline or caffeine were collected for method verification, which met the needs of clinical detection. **Conclusion:** The method is simple, rapid, accurate, and is suitable for the simultaneous determination of serum vancomycin, caffeine and aminophylline in children.

Keywords: high performance liquid chromatography; vancomycin; caffeine; aminophylline; pediatric patients; serum concentration; simultaneous determination

万古霉素属糖肽类抗菌药物,临床主要用于耐甲氧西林金葡菌(MASA)或其他革兰阳性菌感染的治疗,但考虑到万古霉素过量可导致耳肾毒性^[1]、药代动力学参数在不同年龄段儿童患者中变异较大等原因,临床使用需进行血药浓度监测^[2]。氨茶碱现主要用于治疗哮喘、早产儿呼吸暂停等疾病^[3-4],其安全范围较窄,安全浓度范围仅为 5~20 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$,过量易导致毒性反应发生。咖啡因作为治疗早产儿呼吸暂停的一线药物^[5],其安全的浓度范围为 8~30 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[6]。当早产儿出现给予初始剂量咖啡因治疗后呼吸暂停仍频繁发生或出现神经系统、心血管系统不良反应时,需及时进行血药浓度检测。

因此,进行万古霉素、氨茶碱和咖啡因血药浓度检测,对于保障新生儿用药安全具有重要意义。但调研文献发现,目前关于 3 种药物血药浓度检测方法都是独立的,不适应于新生儿患者。本研究拟建立可以同时测定患儿血清中万古霉素、咖啡因和氨茶碱的 HPLC 方法,操作简便,适用于存在呼吸衰竭合并耐药革兰阳性球菌感染时需联合使用万古霉素和氨茶碱或咖啡因的新生儿患者。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Agilent 1220 高效液相色谱仪(Agilent 公司);梅特勒 AL104 万分之一电子天平(Mettler Toledo 公司);WH-3 微型旋涡混合仪(上海沪西分析仪器有限公司);MC-12pro 离心机(群安实验仪器有限公司)等。

1.2 药品与试剂

万古霉素对照品(批号 100963,含量 $\geq 98\%$),购自中国食品药品检定研究院;对照品咖啡因(批号 AK02391,含量 $\geq 99\%$)、氨茶碱(批号 OX09320,含

量 $\geq 98\%$)、乙酰苯胺(批号 ZH04721,含量 $\geq 99\%$),均购自万佳标准物质研发中心有限公司;甲醇、乙腈(色谱级),均购自国药集团化学试剂有限公司。

本研究空白血清取自来院体检儿童(淮安市妇幼保健院检验科提供)。10 例患儿血清取自淮安市妇幼保健院儿科和新生儿科病区接受万古霉素、氨茶碱或咖啡因治疗患儿,平均年龄(3.18 ± 3.09)月,平均体质量(3.17 ± 2.35)kg,本研究经淮安市妇幼保健院伦理委员会批准(伦理号 2019069)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

采用 Nucifera C₁₈(250 mm \times 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱,以甲醇-0.05 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸二氢钾(18 : 82, *v/v*) 为流动相,流速 1 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$,检测波长 236 nm,柱温 25 $^{\circ}\text{C}$,进样量 20 μL 。

2.2 对照品储备液配制

精密称取万古霉素、氨茶碱、咖啡因的对照品各 10.2 mg,分别置 10 mL 量瓶中,加入水溶解并定容至刻度,充分摇匀,配制成质量浓度为 1 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的对照品储备液。上述 3 个对照品储备液 4 $^{\circ}\text{C}$ 避光保存备用。

2.3 内标储备液配制

精密称取内标物质乙酰苯胺对照品 10.1 mg,置 10 mL 量瓶中,加入甲醇溶解并定容至刻度,充分摇匀,配制成质量浓度为 1 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 内标储备液,并于 4 $^{\circ}\text{C}$ 避光保存备用。

2.4 血清样品处理方法

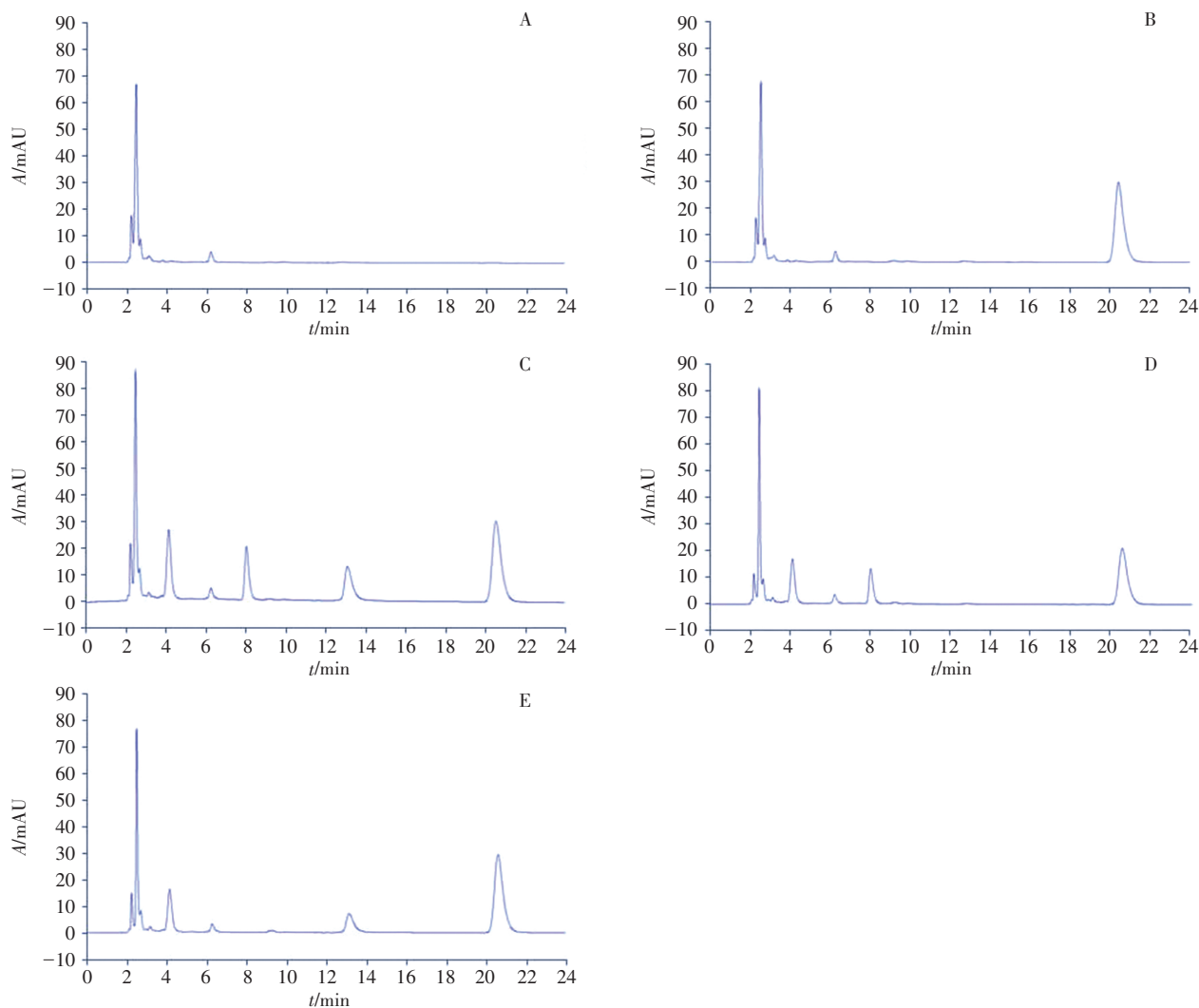
取血清样品 0.2 mL,加入内标储备液 10 μL ,加入 6% 高氯酸 50 μL ,涡旋振荡混匀 1 min,充分沉淀蛋白,12 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min,取上清液进样分析。

2.5 方法学确证

2.5.1 专属性 取空白血清,用甲醇-水(20 : 80)

溶液代替内标储备液,按“2.4”项下方法处理后,按“2.1”项下条件进样记录得到空白血清色谱图。另分别取加入对照品的空白血清、使用万古霉素和氨茶碱患儿血清以及使用万古霉素和咖啡因患儿血清,按“2.4”项下方法处理后,按“2.1”项下条件分

别进样记录色谱图。万古霉素、氨茶碱、咖啡因以及内标乙酰苯胺峰形及分离度良好,保留时间分别为 4.15、8.01、13.05、20.45 min。且空白血清中的内源性物质不干扰待测药物及内标的测定,色谱图见图 1。



1. 万古霉素 (vancomycin) 2. 茶碱 (theophylline) 3. 咖啡因 (caffeine) 4. 内标 (internal standard)

A. 空白血清 (blank serum) B. 空白血清加内标 (blank serum and internal standard) C. 空白血清加对照品和内标 (blank serum with standards and internal standard) D. 使用万古霉素和氨茶碱患儿血清 (serum sample from a pediatric patient after intravenously administration of vancomycin and aminophylline) E. 使用万古霉素和咖啡因患儿血清 (serum sample from a pediatric patient after intravenously administration of vancomycin and caffeine)

图 1 万古霉素、氨茶碱和咖啡因血清样品色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of vancomycin, aminophylline and caffeine in serum

2.5.2 标准曲线和定量限 分别精密吸取万古霉素、氨茶碱和咖啡因的对照品储备液,用甲醇-水 (20 : 80) 稀释 5 倍配制成 $200 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 标准工作液。分别精密吸取 3 个标准工作液适量于 2 mL 离心管中,室温经氮气吹干后,加入空白血清 $200 \mu\text{L}$,使万古霉素和氨茶碱血清终质量浓度分别为 100、

80、40、20、10、5、2.5、 $1 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,咖啡因血清终质量浓度分别为 160、80、40、20、10、5、2.5、 $1 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。按照“2.4”项下方法进行样品前处理并进样,记录色谱图。以待测物浓度 ($X, \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 为横坐标,以待测物与乙酰苯胺峰面积比值 (Y) 为纵坐标,用加权 ($W=1/X^2$) 最小二乘法进行线性回归。万古霉

素、氨茶碱和咖啡因的直线回归方程和相关系数分别为

$$Y=0.0106X+0.0069 \quad r=0.9988$$

$$Y=0.0127X+0.084 \quad r=0.9989$$

$$Y=0.0154X-0.0101 \quad r=0.9991$$

结果表明,万古霉素和氨茶碱血药浓度在 1.0~100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内线性关系良好;咖啡因血清药物浓度在 1.0~160 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内线性关系良好。按信噪比 $S/N \geq 10$,待测物定量限均为 1.0 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

2.5.3 精密度 分别精密吸取“2.5.2”项下万古霉素、氨茶碱和咖啡因标准工作液适量,加入甲醇-水(20:80)配制成高、中、低质量浓度的质控溶液,万古霉素 80、30、2 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$;氨茶碱 80、30、2 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$;咖啡因 130、40、2 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。按照“2.4”项下方法进行血清样品处理并检测,每日平行测定 5 次,连续 5 d 测定,计算日内和日间精密度。万古霉素、氨茶碱和咖啡因高、中、低浓度质控溶液日内、日间精密度 RSD 值在 2.3%~9.7%,结果见表 1。

表 1 万古霉素、氨茶碱及咖啡因精密度试验结果 ($\bar{x} \pm s, n=5$)

Tab. 1 Precision test results of vancomycin, aminophylline, and caffeine

分析物 (analyte)	理论浓度 (concentration) / ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	日内精密度 (intra-day)		日间精密度 (inter-day)	
		实测浓度 (measured concentration) / ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	RSD/%	实测浓度 (measured concentration) / ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	RSD/%
万古霉素 (vancomycin)	2	1.88 ± 0.14	7.6	2.04 ± 0.18	9.0
	30	29.40 ± 1.18	4.0	30.19 ± 2.20	7.3
	80	80.43 ± 2.59	3.2	81.17 ± 2.16	2.7
氨茶碱 (aminophylline)	2	1.98 ± 0.09	4.5	2.04 ± 0.15	7.3
	30	30.82 ± 2.67	8.7	31.32 ± 2.18	7.0
	80	79.97 ± 3.12	3.9	79.63 ± 3.08	3.9
咖啡因 (caffeine)	2	2.05 ± 0.17	8.4	2.07 ± 0.20	9.7
	40	39.87 ± 2.45	6.1	40.25 ± 3.24	8.1
	130	128.53 ± 2.96	2.3	127.94 ± 4.45	3.5

2.5.4 回收率 取“2.5.3”项下方法万古霉素、氨茶碱和咖啡因高、中、低浓度质控溶液,按照“2.4”项下方法进行血清样品处理并检测,每个浓度平行制作 5 份。根据待测物线性回归方程计算实测浓度,相对

回收率为实测浓度与理论浓度比值。3 个待测物高、中、低浓度质控样品相对回收率在 97.8%~103.1%, RSD 在 2.7%~9.4%,结果见表 2。此方法的回收率符合要求。

表 2 万古霉素、氨茶碱及咖啡因回收率试验结果 ($\bar{x} \pm s, n=5$)

Tab. 2 recovery test results of vancomycin, aminophylline, and caffeine

待测药物 (drug)	理论浓度 (concentration) / ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	实测浓度 (measured concentration) / ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	回收率 (recovery) / %	RSD/%
万古霉素 (vancomycin)	2	1.96 ± 0.15	97.8 ± 7.3	7.5
	30	29.67 ± 1.70	98.9 ± 5.7	5.7
	80	80.91 ± 2.21	101.1 ± 2.8	2.7
氨茶碱 (aminophylline)	2	2.03 ± 0.18	101.7 ± 9.6	9.4
	30	30.67 ± 1.83	102.3 ± 6.1	6.0
	80	80.88 ± 2.31	101.1 ± 3.2	3.1
咖啡因 (caffeine)	2	2.06 ± 0.18	103.1 ± 9.0	8.7
	40	39.71 ± 2.61	99.3 ± 6.5	6.6
	130	130.84 ± 6.19	100.6 ± 4.8	4.7

2.5.5 稳定性 取“2.5.3”项下万古霉素、氨茶碱和咖啡因高、中、低浓度质控溶液,分别按照“2.4”项下方法进行血清样品处理并检测,考察各浓度质控样品短期、长期和冻融循环稳定性。稳定性试验结果

显示,室温放置 24 h (短期稳定性)、-20 $^{\circ}\text{C}$ 放置 3 月 (长期稳定性)、-20 $^{\circ}\text{C}$ 反复冻融 3 次 (冻融循环稳定性) RSD 均 < 10%,表明待测药物在上述条件下稳定性良好,结果见表 3。

表3 万古霉素、氨茶碱及咖啡因稳定性试验结果 ($\bar{x} \pm s, n=5$)

Tab. 3 Stability test results of vancomycin, aminophylline, and caffeine

待测药物 (drug)	理论浓度 (concentration) / ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	室温 24 h (room temperature 24 h)		-20 °C 3 月 (long-term -20 °C 3 month)		-80 °C 冻融 3 次 (freeze -80 °C / thaw 20 °C 3 times)	
		实测浓度 (measured) concentration) / ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	RSD/%	实测浓度 (measured) concentration) / ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	RSD/%	实测浓度 (measured) concentration) / ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	RSD/%
万古霉素 (vancomycin)	2	1.96 ± 0.16	8.0	1.90 ± 0.09	4.8	2.02 ± 0.19	9.3
	30	29.90 ± 2.62	8.8	30.42 ± 1.99	6.6	30.13 ± 2.40	8.0
	80	80.36 ± 2.57	3.2	79.36 ± 2.57	3.2	82.73 ± 3.77	4.6
氨茶碱 (aminophylline)	2	1.90 ± 0.14	7.3	1.96 ± 0.18	9.3	1.98 ± 0.12	6.1
	30	30.63 ± 2.52	8.2	29.89 ± 1.59	5.3	31.46 ± 2.87	9.1
	80	80.17 ± 2.83	3.5	78.98 ± 2.38	3.0	80.42 ± 2.77	3.5
咖啡因 (caffeine)	2	2.06 ± 0.17	8.5	2.04 ± 0.12	6.0	2.08 ± 0.16	7.9
	40	41.03 ± 2.34	5.7	38.68 ± 2.87	7.4	40.26 ± 2.78	6.9
	130	132.80 ± 6.02	4.5	129.86 ± 3.97	2.4	128.74 ± 3.40	2.6

2.6 临床应用

本研究采用上述方法对 10 例接受万古霉素、氨茶碱或咖啡因治疗的患儿血清药物浓度进行测定。该 10 例患者中万古霉素给药剂量范围为 28.90~40.05 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, 每 12 h 或 8 h 给药 1 次, 氨茶碱给药剂量范围为 4.49~6.01 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, 每 12 h 给药 1 次, 咖啡因给药剂量范围为 5.13~10.00 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, 每天给药 1 次。参考相关文献^[4, 7-8]及药物半衰期, 万古霉素、氨茶碱和咖啡因分别在连续给药至少 2 d、5 d 和 5~7 d 后血药浓度达稳态, 联合用药患儿因给药时间不同满足同时测定要求。静脉血抽取选择晨起给药前, 无需空腹。6 例患儿进行万古霉素血药浓度检测, 质量浓度范围为 4.93~11.05 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,

仅有 2 例患儿血清药物浓度达到目标谷浓度 10~20 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 这与既往研究发现儿童患者标准剂量下, 万古霉素谷浓度达标率较低^[9]一致。6 例患儿进行咖啡因血清药物浓度检测, 质量浓度范围为 9.77~28.65 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 目前咖啡因目标谷浓度范围尚存在争议, 药品说明书推荐质量浓度范围为 8~30 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 6 例患儿谷浓度均达标。2 例患儿进行氨茶碱血清药物浓度检测, 质量浓度分别为 5.30 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 6.79 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 均达到目标谷浓度 5~10 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。以上所有结果均在定量分析线性范围内, 具体见表 4。本试验建立的 HPLC 方法能够满足临床对万古霉素、氨茶碱和咖啡因血药浓度检测的需求。

表4 10 例患儿血清药物浓度检测结果

Tab. 4 Results of serum drug concentration in 10 children

序号 (NO.)	性别 (gender)	药物 (drug)	给药剂量 (administration dosage) / ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)	血清药物浓度 (concentration) / ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)
1	男 (male)	万古霉素 (vancomycin)	30.00	7.43
2	女 (female)	万古霉素 (vancomycin)	40.05	11.05
3	女	氨茶碱 (aminophylline)	4.49	5.30
4	男 (male)	万古霉素 (vancomycin)	30.28	10.02
		氨茶碱 (aminophylline)	6.01	6.79
5	女 (female)	咖啡因 (caffeine)	10.00	28.65
6	女 (female)	咖啡因 (caffeine)	9.80	16.86
7	男 (male)	咖啡因 (caffeine)	10.00	11.02
8	女 (female)	万古霉素 (vancomycin)	30.00	6.06
		咖啡因 (caffeine)	10.00	24.55
9	男 (male)	万古霉素 (vancomycin)	30.00	5.01
		咖啡因 (caffeine)	10.00	20.18
10	男 (male)	万古霉素 (vancomycin)	28.90	4.93
		咖啡因 (caffeine)	5.13	9.77

3 讨论

万古霉素、氨茶碱和咖啡因均为儿科常用药物,其中万古霉素为治疗 MRSA 感染首选药物,咖啡因和氨茶碱为治疗早产儿呼吸暂停综合征重要药物^[10]。另外,氨茶碱在治疗哮喘^[11]和改善肾脏缺血^[12]方面仍具有重要价值。目前,万古霉素、氨茶碱和咖啡因血药浓度检测多为单独抽血测定,对于合并使用万古霉素、氨茶碱或咖啡因的患儿,血药浓度检测极为不便。常规血药浓度检测每次至少需抽取静脉血 2~3 mL,若血药浓度未达标,有时需进行调整药物剂量后重新检测。新生儿由于红细胞系增生降低,红细胞生存期短,血容量扩充等原因,出生 1~8 周易发生生理性贫血。有研究显示 2 周内累计取血量超过 5 mL·kg⁻¹ 能够进一步引起医源性贫血的发生^[13]。因此,开发 1 种可同时测定万古霉素、氨茶碱和咖啡因血药浓度的方法,对于减少新生儿静脉抽血次数和抽血量,避免因抽血引起相关并发症,具有积极的意义^[14]。

内标物质选择方面,HPLC 法测定万古霉素血药浓度多采用去甲万古霉素、甲硝唑或替硝唑为内标物质。去甲万古霉素与万古霉素结构相近,仅比万古霉素少 1 个甲基,二者出峰位置相近,难以严格区分,对于实验条件要求较为严格。使用甲硝唑或替硝唑作为内标物质,不适应于万古霉素与甲硝唑或替硝唑联合使用患者,或者病程中使用过甲硝唑或替硝唑,体内仍有药物残留患者。因此,寻找一种不受患儿同时服用药物干扰且操作简便的内源性物质,成为准确测定万古霉素血药浓度的关键性问题。既往研究表明,寻找合适的内标,也是困扰检测早产新生儿咖啡因血药浓度的问题。本研究创新性地将乙酰苯胺作为万古霉素和咖啡因血药浓度检测的内标物质,不受患儿合并用药的影响,为准确测定万古霉素和咖啡因血药浓度奠定基础。

本实验中检测波长选择也较为关键,《中华人民共和国药典》中关于万古霉素和氨茶碱或咖啡因的检测波长要求不同,为同时检测以上 3 个化合物带来难题。但结合相关文献报道^[15],万古霉素、氨茶碱及咖啡因在 236 nm 下有较好的紫外吸收,能够满足血药浓度检测需要。本实验也验证了检测波长为 236 nm 条件下,同时准确测定以上 3 个药物的可能性。流动相选择方面,本研究在前期新生儿血清中咖啡因浓度检测基础上先考察了乙腈-水体系^[16],但万

古霉素峰形不佳。后又考察了乙腈-磷酸二氢钾水溶液和乙腈-磷酸二氢钾水溶液,通过调节配比及磷酸二氢钾浓度,确定流动相为甲醇-0.05 mol·L⁻¹ 磷酸二氢钾 (19 : 81, v/v), 3 个待测物色谱峰峰形均较佳,且与杂质峰完全分离。

本研究首次建立并通过系列试验验证了 HPLC 法同时测定新生儿患者血清中万古霉素、氨茶碱和咖啡因浓度方法。本检测方法建立对于呼吸衰竭合并重度感染新生儿患者安全合理使用万古霉素、氨茶碱和咖啡因,具有重要临床意义。

参考文献

- [1] KAN WC, CHEN YC, WU VC, *et al.* Vancomycin-associated acute kidney injury: a narrative review from pathophysiology to clinical application [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(4): 2052
- [2] HE N, SU S, YE Z, *et al.* Evidence-based guideline for therapeutic drug monitoring of vancomycin: 2020 update by the Division of Therapeutic Drug Monitoring, Chinese Pharmacological Society [J]. *Clin Infect Dis*, 2020, 71(Suppl 4): S363
- [3] CHU YT, CHEN JS, CHEN YS, *et al.* Effects of early aminophylline therapy on clinical outcomes in premature infants [J]. *Pediatr Neonatol*, 2023, 64(3): 288
- [4] 陆权,李智平,刘恩,等. 氨茶碱在儿童安全合理使用的专家共识 [J]. *中国实用儿科杂志*, 2019, 34(4): 249
LU Q, LI ZP, LIU E, *et al.* Expert consensus on safe and rational use of aminophylline in children [J]. *Chin J Pract Pediatr*, 2019, 34(4): 249
- [5] ROSTAS SE, MCPHERSON C. Caffeine therapy in preterm infants: the dose (and timing) make the medicine [J]. *Neonatal Netw*, 2019, 38(6): 365
- [6] SUGINO M, KUBOI T, NOGUCHI Y, *et al.* Serum caffeine concentrations in preterm infants: a retrospective study [J]. *Sci Rep*, 2023, 13(1): 10305
- [7] 陈佰义,管向东,何礼贤,等. 万古霉素临床应用中国专家共识 (2011 版) [J]. *中国新药与临床杂志*, 2011, 30(8): 561
CHEN BY, GUAN XD, HE LX, *et al.* Chinese expert consensus on clinical application of vancomycin (2011 edition) [J]. *Chin J New Drugs Clin Rem*, 2011, 30(8): 561
- [8] NATARAJAN G, BOTICA ML, THOMAS R, *et al.* Therapeutic drug monitoring for caffeine in preterm neonates: an unnecessary exercise? [J]. *Pediatrics*, 2007, 119(5): 936
- [9] 万古霉素临床应用剂量专家组. 万古霉素临床应用剂量中国专家共识 [J]. *中华传染病杂志*, 2012, 30(11): 641
Vancomycin Clinical Application Dosage Expert Group. Chinese expert consensus on clinical dose of vancomycin [J]. *Chin J Infect Dis*, 2012, 30(11): 641
- [10] LONG JY, HU YH, XIA Y, *et al.* Therapeutic drug monitoring of

- caffeine and its primary metabolites in plasma using LC-ESI-MS/MS for apnea of prematurity treatment: evaluation of ultrapure water as a surrogate matrix [J]. *Biomed Chromatogr*, 2022 36(11): e5462
- [11] NAKAMURA Y, TAMAOKI J, NAGASE H, *et al.* Japanese guidelines for adult asthma 2020 [J]. *Allergol Int*, 2020, 69(4): 519
- [12] ALSAADOUN S, RUSTOM F, HASSAN HA, *et al.* Aminophylline for improving acute kidney injury in pediatric patients: a systematic review and meta-analysis [J]. *Int J Health Sci (Qassim)*, 2020, 14(6): 44
- [13] DAI HR, GUO HL, WANG WJ, *et al.* From “wet” matrices to “dry” blood spot sampling strategy: a versatile LC-MS/MS assay for simultaneous monitoring caffeine and its three primary metabolites in preterm infants [J]. *Clin Chem Lab Med*, 2023, 62(1): 97
- [14] WEN SY, MA H, CHEN XL, *et al.* Determination of caffeine, paraxanthine, theophylline and theobromine in premature infants by HILIC-MS/MS [J]. *Bioanalysis*, 2022, 14(23): 1497
- [15] SASIKALA L, KOTESWARA RAO V, KATARI NK, *et al.* A combined qualitative and quantitative method development and validation of vancomycin hydrochloride injection formulation by HPLC and UV involving quality by design [J]. *Biomed Chromatogr*, 2023, 37(3): e5568
- [16] 李赛, 李寿林, 苏凌瓔. 高效液相色谱法测定新生儿咖啡因血药浓度及临床应用 [J]. *儿科药学杂志*, 2023, 29(8): 31
- LI S, LI SL, SU LY. Determination of neonatal caffeine concentration by high performance liquid chromatography and its clinical application [J]. *J Pediatr Pharm*, 2023, 29(8): 31

(本文于 2024 年 5 月 8 日收到)