

# HPLC – MS/MS 法同时测定脑脊液中氟康唑、泊沙康唑、利奈唑胺的浓度

## Simultaneous determination of fluconazole, Posaconazole, and Linezolid in human cerebrospinal fluid by HPLC MS/MS

强 琼, 王琴会, 杨 燕,  
陈 曦, 姜 维

(空军军医大学 唐都医院 药剂科, 西安 710032)

QIANG Qiong, WANG Qin – hui,  
YANG Yan, CHEN Xi,  
JIANG Wei

(Pharmacy Department of the Tangdu  
Hospital of The Fourth Military Medical  
University, Xi ' an 710032, Shanxi  
Province, China)

作者简介: 强琼(1993 – ), 女, 主管药师, 主要从事临床精准用药监测  
通信作者: 姜维, 副主任药师  
Tel: (029) 84777857  
E – mail: aact@163. com

**摘要:**目的 建立一种同时测定脑脊液中氟康唑、泊沙康唑、利奈唑胺浓度的高效液相色谱 – 质谱(HPLC – MS/MS)方法。**方法** 脑脊液样品经乙腈沉淀蛋白后,通过 Agilent C<sub>18</sub>柱(2.7 μm, 4.6 × 150 mm)分离,采用水(0.1% 甲酸) – 乙腈流动相梯度洗脱,洗脱流速 0.4 mL · min<sup>-1</sup>,柱温 35 °C,进样量 1 μL;采用电喷雾离子源正离子模式,多反应监测进行测定。考察该方法的专属性、标准曲线与定量下限、精密度与准确度、稳定性和回收率。采用上述方法测定临床脑脊液标本中氟康唑、泊沙康唑、利奈唑胺的药物浓度。**结果** 方法学结果显示专属性良好,三种药物的定量下限分别为 0.4、0.04 和 0.2 μg · mL<sup>-1</sup>,脑脊液标本中氟康唑(0.4 ~ 32 μg · mL<sup>-1</sup>,  $r = 0.9996$ ),泊沙康唑(0.04 ~ 3.2 μg · mL<sup>-1</sup>,  $r = 0.9992$ )和利奈唑胺(0.2 ~ 16 μg · mL<sup>-1</sup>,  $r = 0.9989$ )在线性范围内线性关系良好。日内、日间精密度的相对标准偏差(RSD)值都 < 15%,稳定性良好,提取回收率均在 80% 以上,不受基质效应影响。该方法对 7 例临床患者脑脊液中氟康唑、泊沙康唑、利奈唑胺具有良好的检测灵敏度,测得样本浓度在线性范围内。**结论** 本方法简单、快速、灵敏度高、专属性强,可用于临床样本的大量测定。**关键词:** 氟康唑、泊沙康唑、利奈唑胺; 高效液相色谱串联质谱法; 脑脊液

DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2025.19.017

中图分类号: R969 文献标志码: A

文章编号: 1001-6821(2025)19-2810-07

**Abstract: Objective** To establish a high – performance liquid chromatography – mass spectrometry (HPLC – MS/MS) method for the simultaneous determination of fluconazole, posaconazole, and linezolid in human cerebrospinal fluid. **Methods** Cerebrospinal fluid samples were precipitated with acetonitrile containing internal standard (voriconazole) and separated by Agilent C<sub>18</sub> column (2.7 μm, 4.6 × 150 mm). The mobile phase was 0.1% formic acid aqueous solution acetonitrile, gradient elution, flow rate 0.4 mL · min<sup>-1</sup>, column temperature 35 °C, and injection volume 1 μL; The spray ion source, positive ion mode and multi reaction monitoring were used for the determination. The specificity, standard curve, lowerer limit of quantification (LLOQ), precision, accuracy, recovery rate and recovery rate. This method was applied to determine the concentrations of fluconazole, posaconazole, and linezolid in clinical cerebrospinal fluid. **Results** The methodological results showed that fluconazole (0.4 – 32 μg · mL<sup>-1</sup>,  $r = 0.9996$ ) in cerebrospinal fluid samples, posaconazole (0.04 – 3.2 μg · mL<sup>-1</sup>,  $r = 0.9992$ ) and linezolid (0.2 – 16 μg · mL<sup>-1</sup>,  $r = 0.9989$ ) had a good

linear relationship and specificity within the linear range. The LLOQ of, posaconazole, and linezolid was 0.4、0.04 and 0.2  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ , respectively. The relative standard deviation (RSD) values of intra-day and inter-day precision were both less than 15%, with good stability and extraction recovery rates above 80%, unaffected by matrix effects. Additionally, the method exhibited good detection sensitivity for fluconazole, posaconazole, and linezolid in the cerebrospinal fluid of rats and clinical patients. The concentration of the 7 tested sample was within the linear range.

**Conclusion** This method is simple, fast, and highly sensitive, and can be used for the determination of cerebrospinal fluid concentrations of fluconazole, posaconazole, and linezolid in clinical patients.

**Key words:** fluconazole; posaconazole; linezolid; high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry; cerebrospinal fluid.

随着越来越多的神经外科手术的进行,颅内感染成为愈发常见的术后疾病,影响着患者的愈后<sup>[1-2]</sup>。颅内感染主要有细菌、真菌等病原体引起,可导致脑膜炎、脑脓肿、脑室炎等症状,临床治疗中氟康唑(fluconazole)、泊沙康唑(posaconazole)和利奈唑胺(linezolid)因其抗菌谱差异和对血脑屏障穿透性不同,基本可满足大多数颅内感染的临床质量需求<sup>[3]</sup>。由于血脑屏障的阻隔作用,使颅内药物浓度与外周系统血药浓度存在不同程度的差别。脑脊液存在于充于脑室、蛛网膜下腔等位置,可以反应脑内疾病和药物情况,因此,监测药物脑脊液浓度对于中枢神经系统合理用药具有重要意义<sup>[4,5]</sup>。目前临床药物浓度监测工作中关于检测脑脊液中药物浓度的方法研究较少,尤其缺少可在同一系统下快速分析三种药物的检测方法,因此,本研究拟在既有文献基础上,建立一种快速、准确的检测方法,用于同时测定三种药物脑脊液浓度,以供指导临床安全用药。

## 材料与方法

### 1 材料

**药品与试剂** 氟康唑:规格:每支 100 mg,纯度:99%,批号:22-SSR-67-1,泊沙康唑:规格:每支 10 mg,纯度:98%,批号:3-JLW-13-1,利奈唑胺:规格:每支 20 mg,纯度:98%,批号:1-MLM-3-1,伏立康唑:规格:,纯度 99.8%,批号:100862-201903,均购自中国食品药品检定研究院;人工脑脊液、甲酸,购自天津科密欧化学试剂有限公司;乙腈,购自美国赛默飞世尔科技公司,甲酸和乙腈均为色谱纯。

**仪器** LC-30AD 高效液相色谱系统,日本岛津公司产品;API4000 质谱仪(配备电喷雾离子源),美国应用生物系统公司产品;Analyst Software (1.6.2) 数据采集系统,美国应用生物系统公司产品;电子分

析天平,德国 Sartorius 公司产品;混匀器,美国吉尔森公司产品;Genespeed 低温高速离心机,中国基因有限公司产品;低温冷藏冰箱;移液枪,德国 Eppendorf 公司产品。

### 2 测定条件、溶液配制与样品处理

**色谱条件** 色谱柱:Agilent poroshell120 EC-C<sub>18</sub> (填料粒径 2.7  $\mu\text{m}$ ,规格 4.6 mm × 150 mm);流动相 A 为乙腈,B 为水(含 0.1% 甲酸)。梯度洗脱模式:初始 0~1 min,99% → 70% B;1~2 min,70% → 2% B;2.5~4.5 min,2% → 2% B;4.5~4.51 min,2% → 99% B;4.51~6.50 min,99% → 99% B。柱温 35  $^{\circ}\text{C}$ ,流速 0.4  $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ,进样量 1  $\mu\text{L}$ 。

**质谱条件** API4000 质谱仪采用电喷雾离子源(electrospray ion source, ESI)正离子检测模式,进行多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM)碎片精度,离子化方式为气动辅助电喷雾离子化;雾化气:55 psi,辅助加热器:45 psi;气帘气:20 psi;喷雾电压:5500 V;辅助加热温度:400  $^{\circ}\text{C}$ ;用于定量分析监测的化合物的主要参数如表 1 所示:

表 1 待测物与内标的多反应监测(MRM)参数

Table 1 Multiple reaction monitoring parameters of the tested object and internal standard

| Name              | Q1 ( $m/z$ ) | Q3 ( $m/z$ ) | Declustering potential /V | Collision energy /eV |
|-------------------|--------------|--------------|---------------------------|----------------------|
| Fluconazole       | 307.1        | 238.0        | 80                        | 13                   |
| Posaconazole      | 701.3        | 683.4        | 100                       | 43                   |
| Linezolid         | 338.1        | 296.2        | 10                        | 15                   |
| Voriconazole (IS) | 307.1        | 238.0        | 80                        | 13                   |

**标准溶液配制** 精密称取氟康唑对照品 2.4 mg、泊沙康唑对照品 0.24 mg、利奈唑胺对照品 1.2 mg,合并后共同置于 25 mL 容量瓶中,用乙腈溶解并定容,得到浓度分别为 96, 9.6, 48  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的混合对照品储备液,置于 4  $^{\circ}\text{C}$  环境中保存。取 3 种待测物的混合

储备液,按一定比例稀释制成混合系列工作溶液及低、中、高质控样品。氟康唑系列标准曲线工作溶液的浓度为16,32,64,128,320,640,1280  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,质控标准溶液的浓度为20,160,960  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ;泊沙康唑系列标准曲线工作溶液浓度为1.6,3.2,6.4,12.8,32,64,128  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,质控标准溶液的浓度为2.0,16,96  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ;利奈唑胺的系列标准曲线工作溶液浓度为8,16,32,64,160,320,640  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,质控标准溶液浓度为10,80,480  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

**内标工作液的配制** 精密称取伏立康唑对照品1mg,置于1 mL容量瓶中,用乙腈溶解并定容至刻度,混匀,配成质量浓度为1  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的伏立康唑内标储备液。取内标储备液适量,用乙腈稀释,配成质量浓度为5  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的伏立康唑内标溶液,置于-20℃保存备用。

**标准曲线工作溶液的配制** 吸取空白脑脊液195  $\mu\text{L}$ ,加入5  $\mu\text{L}$ 不同浓度的标准曲线工作溶液,涡旋混合30 s,配置成浓度为0.4,0.8,1.6,3.2,8,16,32  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的氟康唑脑脊液标准曲线工作溶液;0.04,0.08,0.16,0.32,0.8,1.6,3.2  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的泊沙康唑脑脊液标准曲线工作溶液和0.2,0.4,0.8,1.6,4,8,16  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的利奈唑胺脑脊液标准曲线工作溶液。同样方法配置浓度为0.5,4,24  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的氟康唑质控溶液;0.05,0.4,2.4  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的泊沙康唑质控溶液和0.25,2,12  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的利奈唑胺质控溶液。

**脑脊液样品预处理方法** 用蛋白沉淀法对脑脊液样本进行预处理。1.5 mL离心管中加入脑脊液50  $\mu\text{L}$ ,加入450  $\mu\text{L}$ 含内标液的乙腈溶液,涡旋1 min,于4℃、13 000  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心5 min后吸取上清液80  $\mu\text{L}$ 进样分析。

### 3 方法学考察

**专属性** 取空白人工脑脊液50  $\mu\text{L}$ ,加入250  $\mu\text{L}$ 乙腈溶液,按“脑脊液样品预处理”项下方法处理,得到空白脑脊液样品;将加入对照品(待测物的低质控浓度)的空白脑脊液,按照“脑脊液样品预处理”项下方法处理,得到对照品脑脊液样品;再配制同等浓度的对照品溶液,按照上述色谱与质谱条件进样测定,考察分析方法的专属性。

**标准曲线与定量下限** 取上述“标准曲线工作溶液”参照“脑脊液样品预处理方法”项下制备的脑脊液的标准标准曲线工作溶液样品。按“2 测定条件”项下方法进样分析,以3种待测成分的质量浓度为横坐标,纵坐标分别为3种待测成分对应的

质谱色谱峰积分面积与内标的峰面积比,所得数据用最小加权二乘法以 $1/x^2$ 为权重因子进行线性回归拟合方程,得氟康唑、泊沙康唑和利奈唑胺的回归方程即标准曲线。标准曲线最低点即为定量下限。

**精密度与准确度** 取上述“标准曲线”项所述方法制备的低、中、高质量浓度(见表2)的质控脑脊液样品,每种浓度的质控样本平行制备5份,按“2 测定条件”项下方法连续检测3天,每天单独制备一份标准曲线工作溶液作为随行标曲,根据当日随行标准曲线计算日内、日间精密度和准确度。

**回收率与基质效应** 上述“标准曲线工作溶液”方法制备低、中、高3种质量浓度的质控样品,每种质量浓度的质控样本平行制备5份,“2 测定条件”项下方法进样分析,得到相应质谱色谱峰积分面积(A);另取空白人工脑脊液,同法处理制备对照组质控质量浓度样本,进样分析后得到相应质谱色谱峰面积(B),以此计算方法的提取回收率 $= A/B \times 100\%$ 。

以液相方法中流动相的有机相(乙腈)溶液为空白基质的参比,其余分析操作相同,测得质谱色谱峰面积记为C,分别带入 $A/C \times 100\%$ ,以此计算分别得到三种待测物氟康唑、泊沙康唑、利奈唑胺和内标的基质效应因子,再以三种待测物的基质效应因子除以内标的基质效应因子计算归一化的基质效应因子,并计算其相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)值。

**稳定性试验** 制备低、中、高浓度的脑脊液质控样品,每个浓度各5份,在常温放置6 h、处理后进样器放置24 h、-20℃反复冻融3次,进样分析后考察稳定性。

### 4 临床应用

对接受氟康唑、泊沙康唑或利奈唑胺治疗患者的脑脊液中药物浓度进行定量检测分析,考察本检测方法的临床适用性。使用该方法检测临床的脑脊液样本,选择本院急诊科诊断为蛛网膜下腔出血、颅底侵袭性真菌感染或重症肺炎等,并分别使用了氟康唑、泊沙康唑或利奈唑胺的部分患者,2025年9月采集患者给药2 h后的脑脊液样本1 mL,按“脑脊液样品预处理方法”方法制备待测样本后进样药物浓度测定。本研究经空军军医大学第二医院科研伦理委员会批准(伦理批号:TDLL-第202509-01号)。所有受试者或法定代理人均签署知情同意书。

## 结 果

## 1 方法学评价

专属性 如图 1 所示, 氟康唑保留时间为

4.07 min, 泊沙康唑保留时间为 4.77 min, 利奈唑胺保留时间为 4.21 min, 伏立康唑(内标)保留时间为 4.64 min。脑脊液中基质在 3 种待测物及内标峰位处均无干扰, 说明该方法具有良好的专属性。

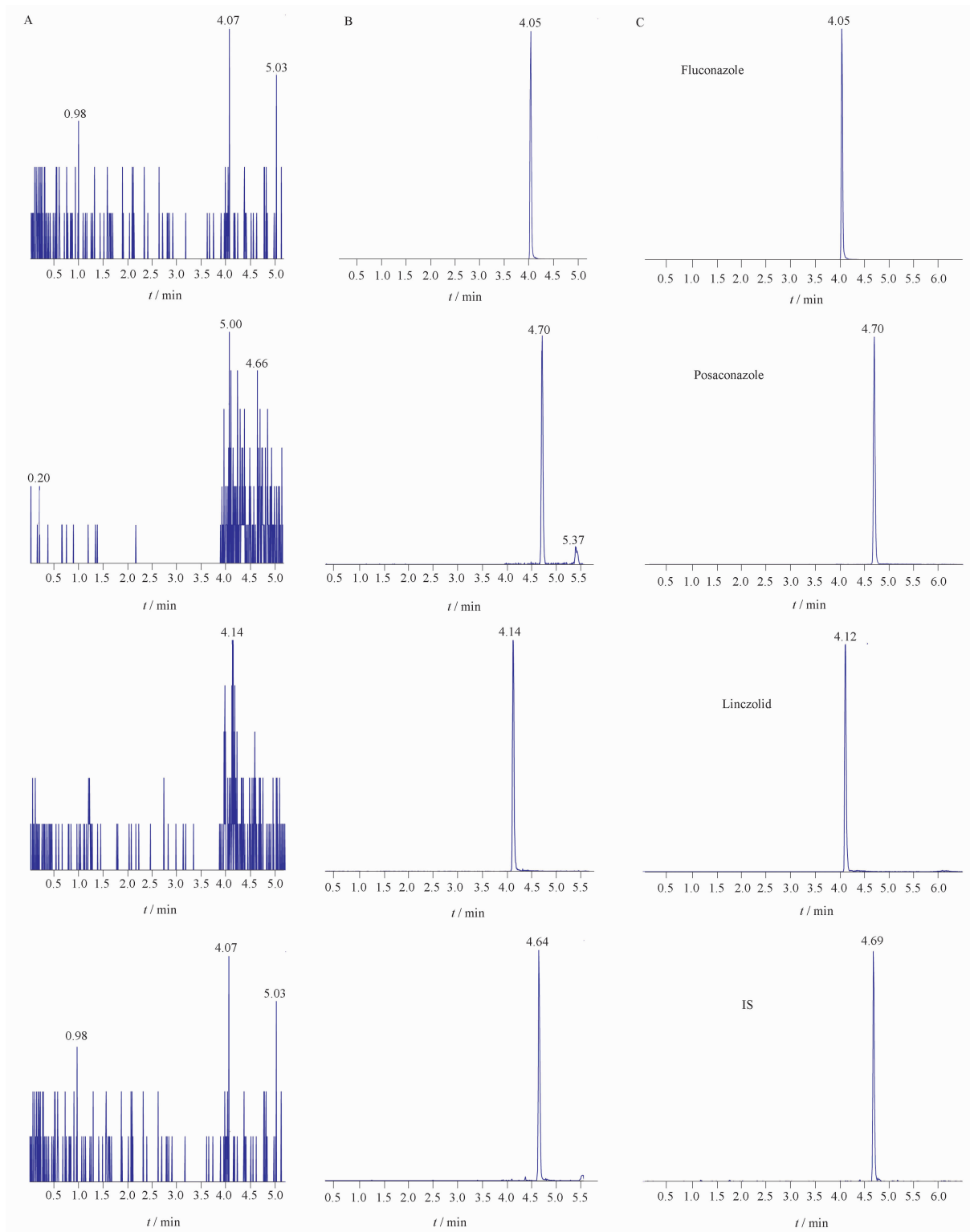


图 1 氟康唑、泊沙康唑、利奈唑胺和伏立康唑(内标)的色谱图

**Figure 1** High performance liquid chromatography of fluconazole, posaconazole, linezolid, and voriconazole (internal standard)

A. Blank cerebrospinal fluid; B. Blank cerebrospinal fluid + reference substance; C. Reference substance

**标准曲线及定量下限** 氟康唑的线性回归方程为  $Y = 9.84 \times 10^{-1}X + 2.14 \times 10^{-3}$ ,  $r = 0.9996$ ; 泊沙康唑的线性回归方程为  $Y = 2.38 \times 10^{-1}X + 1.39 \times 10^{-1}$ ,  $r = 0.9992$ , 利奈唑胺的线性回归方程为  $Y = 3.72 \times 10^{-1}X + 5.71 \times 10^{-3}$ ,  $r = 0.9989$ 。3种药物的定量下限分别为  $0.4$ 、 $0.04$  和  $0.2 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 分别在  $0.4 \sim 32 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  (氟康唑),  $0.04 \sim 3.2 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  (泊沙康唑),  $0.2 \sim 16 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  (利奈唑胺) 范围内线性关系良好。

**精密度与准确度** 结果表明各待测物低、中、高3个质量浓度的日内和日间变异系数均  $< 15\%$ , 准确度在  $86.47\% \sim 109.01\%$  之间, 符合生物样品分析要求, 见表2。

**回收率和基质效应** 结果如表2所示, 各待测物的提取回收率和基质效应均在  $80\%$  以上, RSD 值

均  $< 15\%$ , 表明待测物回收率高, 样品测定不受基质效应的影响。

**稳定性试验** 制备低、中、高浓度的脑脊液质控样品, 各浓度均平行制备5份, 考察在各组样本在常温放置6h、冷藏放置24h, 以及经  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  与室温反复冻融3次后的药物浓度, 结果表明样品在采集后经常温、冷藏储存、冷冻过程后均能保持稳定, 准确度偏差均在  $\pm 15\%$ , 各样品的  $\text{RSD} < 15\%$ 。

2 临床应用

使用该方法检测临床的脑脊液样本, 其中检测使用氟康唑患者1例, 计算脑脊液中氟康唑浓度为  $0.87 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ; 检测泊沙康唑3例, 计算3例脑脊液样本中的药物浓度为:  $0.21$ 、 $0.09$ 、 $0.34 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ; 检测利奈唑胺3例, 计算脑脊液样本中的药物浓度为:  $2.13$ 、 $0.76$ 、 $1.63 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

表2 日内、日间精密度、准确度、提取回收率和基质效应( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

Table 2 Intra-day precision, inter-day precision, accuracy, extraction recovery and matrix effects ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

| Name         | Concentration<br>( $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) | Intra-day precision                  |       |          | Inter-day precision                  |       |          | Extraction<br>recovery<br>/% | RSD<br>/% | Matrix<br>effects<br>/% | RSD<br>/% |
|--------------|-------------------------------------------------------|--------------------------------------|-------|----------|--------------------------------------|-------|----------|------------------------------|-----------|-------------------------|-----------|
|              |                                                       | Measured value                       | RSD   | Accuracy | Measured Value                       | RSD   | Accuracy |                              |           |                         |           |
|              |                                                       | ( $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) | /%    | /%       | ( $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) | /%    | /%       |                              |           |                         |           |
| Fluconazole  | 500                                                   | $507.17 \pm 20.28$                   | 4.00  | 101.43   | $545.06 \pm 8.62$                    | 1.58  | 109.01   | $104.23 \pm 8.29$            | 7.95      | $87.80 \pm 3.64$        | 4.15      |
|              | 4 000                                                 | $4 303.67 \pm 234.69$                | 5.45  | 107.59   | $3 458.61 \pm 511.97$                | 14.80 | 86.47    | $87.67 \pm 3.43$             | 3.91      | $84.65 \pm 1.81$        | 2.14      |
|              | 24 000                                                | $24 433.33 \pm 1191.08$              | 4.87  | 101.81   | $23 426.61 \pm 872.10$               | 3.72  | 97.61    | $81.19 \pm 4.56$             | 5.61      | $86.05 \pm 7.62$        | 8.44      |
| Posaconazole | 50                                                    | $51.40 \pm 6.11$                     | 11.90 | 102.80   | $43.74 \pm 3.06$                     | 6.99  | 87.49    | $93.54 \pm 3.81$             | 4.07      | $88.72 \pm 1.18$        | 1.33      |
|              | 400                                                   | $370.33 \pm 7.97$                    | 2.15  | 92.58    | $386.04 \pm 13.71$                   | 3.55  | 96.51    | $92.4 \pm 7.32$              | 7.92      | $88.38 \pm 4.17$        | 4.71      |
|              | 2 400                                                 | $2 280.67 \pm 89.76$                 | 3.94  | 95.03    | $2 356.42 \pm 78.88$                 | 3.35  | 98.18    | $80.77 \pm 6.77$             | 8.39      | $80.19 \pm 4.11$        | 5.12      |
| Linezolid    | 250                                                   | $255.50 \pm 33.00$                   | 12.92 | 102.20   | $240.06 \pm 18.03$                   | 7.51  | 96.02    | $88.19 \pm 9.31$             | 10.56     | $81.13 \pm 9.52$        | 11.73     |
|              | 2 000                                                 | $1 943.33 \pm 127.38$                | 6.55  | 97.17    | $2 033.44 \pm 150.82$                | 7.42  | 101.67   | $88.80 \pm 8.07$             | 9.09      | $81.30 \pm 7.23$        | 8.89      |
|              | 12 000                                                | $11 675.00 \pm 449.70$               | 3.85  | 97.29    | $11 787.28 \pm 170.11$               | 1.44  | 98.23    | $93.55 \pm 6.69$             | 7.15      | $96.69 \pm 10.14$       | 10.48     |

讨 论

临床常见细菌感染, 如革兰阴性菌和革兰阳性球菌, 少量会有真菌感染, 如念珠菌、隐球菌等<sup>[5]</sup>, 严重时可危及患者生命, 及时地采取一定的抗菌措施有助于患者术后的恢复。利奈唑胺为唑烷酮类抗生素, 对革兰阳性球菌, 如耐甲氧西林金黄色葡萄球菌有广泛的抗菌活性<sup>[6]</sup>; 氟康唑属于广谱抗真菌药, 对隐球菌, 念珠菌有良好的治疗效果, 临床常用于新型隐球菌脑膜炎和念珠菌脑膜炎的治疗<sup>[7]</sup>; 泊沙康唑为三唑类抗真菌药, 亲脂性高, 在脑内分布良好<sup>[8-9]</sup>, 常被用于手术清除脑曲霉病灶后的联合治疗<sup>[10]</sup>。目前有大量报道表明在体内留存高浓度的利奈唑胺可能导致

患者出现血小板减少<sup>[11-13]</sup>, 据此部分学者提出临床用药时有必要对患者进行血药浓度监测, 以减少此类不良反应的发生<sup>[14]</sup>。唑类抗真菌药物因其吸效率收与饮食、药物剂型、病理等因素关系密切, 导致其患者用药后的药代动力学、血药浓度个体差异较大<sup>[15]</sup>。氟康唑由于其排泄途径的特征, 会引起部分中枢神经系统真菌感染或肾功能不全的患者出现体内药物浓度显著升高的情况<sup>[16]</sup>, 因此在《抗真菌治疗药物监测指南》中明确推荐临床使用泊沙康唑和氟康唑的患者均应根据患者实际病情和用药情况进行必要的药物浓度监测<sup>[17]</sup>。

血脑屏障(blood-brain barrier, BBB)是位于血液和脑组织之间的一种特殊的生理屏障结构, 它能够限制大多数大分子、极性较强的药物, 或病原体等进入

脑组织,对维持中枢神经系统内环境的稳定起着至关重要的作用。这种阻隔作用对于临床用药也具有显著的两面性,会严重降低部分临床用药进入中枢系统的效率,不利于临床治疗,如颅脑术后抗感染用药,需要药物能够有效进入脑脊液并达到一定浓度,才能在中枢神经系统发挥治疗作用。颅内感染一般在4~15 d发生较多,在一项调查研究中表示,颅内感染患者脑脊液病原学培养结果显示金黄色葡萄球菌和真菌分别均占16.2%<sup>[8-11]</sup>。利奈唑胺因其分子量小、生物利用度高、脑脊液穿透力强,常被用于治疗耐甲氧西林金黄色葡萄球菌<sup>[21]</sup>;氟康唑和泊沙康唑常被用于侵袭性真菌感染初级预防的推荐用药,在治疗真菌感染时因其功效显著,抗菌谱较广而被广泛使用<sup>[16,17]</sup>。近年来,随着抗菌药物的广泛使用,不良反应逐渐增多,所以优化给药方案,调整给药剂量,监测病灶部位药物富集浓度也变得尤为重要<sup>[18,22]</sup>。通过监测脑脊液药物浓度,可直观了解利奈唑胺在中枢神经系统内的实际水平,判断利奈唑胺是否能在病变部位达到有效治疗浓度,从而准确评估药物对神经系统疾病的治疗效果。

目前临床关于脑脊液系统中药物浓度的检测方法研究较少,本研究建立了一种简单、快速的HPLC-MS/MS方法,可用于同时测定氟康唑、泊沙康唑、利奈唑胺的脑脊液浓度。常规药物浓度检测方法主要包括样品前处理和分析方法两部分,由于脑脊液组成与血液组成存在较大差别,因此在前处理过程中不仅需要除蛋白,还需要有效控制脑脊液中无机盐的残留。分析方法借鉴临床常用的血药浓度检测方法有免疫法、色谱法、质谱法和液相-质谱联用法(HPLC-MS),HPLC-MS因为价格低廉、运行时间短、特异性高,且可以同时检测多种物质被临床广泛使用<sup>[23-25]</sup>。该方法样品使用量少,脑脊液样品预处理方法简单快速,检测时间短,专属性强,灵敏度高,适用于临床样本大规模检测。

本文采用有机溶剂沉淀蛋白法,分别对比了甲醇和乙腈的前处理效果,结果显示甲醇沉淀后的色谱图有干扰峰的存在,而乙腈沉淀后的色谱图效果优于甲醇,所以选择乙腈作为前处理溶剂;在柱子的选择上,分别对比了Agilent C<sub>18</sub>柱和Kinetex C<sub>18</sub>柱的分离效果,结果显示Agilent C<sub>18</sub>柱的分离效果更优,色谱峰无拖尾和难以分离的现象;氟康唑、泊沙康唑均呈弱碱性,所以在选择流动相时,为了避免色谱峰拖尾和响应强度变弱的问题,本研究分别考察了甲醇-水、甲醇-水溶液(0.1%甲酸)、甲醇(0.1%甲酸)-水溶液

(0.1%甲酸)、乙腈-水、乙腈-水溶液(0.1%甲酸)、乙腈(0.1%甲酸)-水溶液(0.1%甲酸)不同流动相条件下待测物的响应值和峰形,结果表明在水相中加入0.1%的甲酸可以在正离子模式下提高待测物离子化效率从而提高响应度和检测灵敏度,获得良好的峰型;在内标的选择上,实验得出伏立康唑作为内标物具有保留时间与待测物相近且稳定不受脑脊液内源物干扰的优点,所以出于对成本控制的考虑,选用了价格相对低廉的伏立康唑而非各待测物的同位素,在不影响检测效果的前提下大大降低了检测成本。

本研究通过对临床用药患者脑脊液的样本检测,发现其色谱方法出峰稳定,检测灵敏度依然良好。研究所建立的方法是基于待测物质在质谱上的特征离子响应,并满足色谱分离的稳定性要求,因此检测结果的准确性非常可靠,可大范围推广至其他患者脑脊液中氟康唑、泊沙康唑、利奈唑胺浓度的检测,可为临床合理化用药提供重要依据。本研究目前运用此方法检测的临床样本数量有限,在接下来的研究中将扩大临床样本量以分析患者的脑脊液药浓度水平,通过对临床患者脑脊液药浓度的测定,结合其个体化情况调整给药方案,指导临床合理用药。

## 参考文献:

- [1] FANG CY, ZHU T, ZHANG P, *et al.* Risk factors of neurosurgical site infection after craniotomy: A systematic review and Meta-analysis [J]. *Am J Infect Control*, 2017, 45(11): e123-e134.
- [2] SRINIVAS D, VEENA KUMARI HB, SOMANNA S, *et al.* The incidence of postoperative meningitis in neurosurgery: An institutional experience [J]. *Neurol India*, 2011, 59(2): 195-198.
- [3] 张玉曼,宋佳,李宝栋等. 病毒性脑炎继发颅内感染的危险因素及病原菌耐药性分析[J]. *中国病原生物学杂志*, 2025, 20(07): 941-945.
- [4] PAVLOS M, SOPHIA LM, KONSTANTINOS V, *et al.* Serum and cerebrospinal fluid concentrations of linezolid in neurosurgical patients [J]. *Antimicrob Agents CH*, 2006, 50(2): 3971-3976.
- [5] 程卫,魏俊吉,王任直等. 中枢神经系统真菌感染诊断治疗进展[J]. *基础医学与临床*, 2012, 32(3): 358-361.
- [6] 郭明星,彭珑,吴诚等. 测定人血浆中利奈唑胺浓度的HPLC-MS/MS法建立[J]. *国际药学研究杂志*, 2016, 43(4): 740-743.
- [7] 张飞雨,张瑞霞,高慧儿等. UPLC-MS/MS法同时测定人血浆中泊沙康唑、氟康唑、伏立康唑的血药浓度[J]. *天津医科大学学报*, 2022, 28(2): 195-199.
- [8] 李晓杰,王庆亮,周文营等. 新型隐球菌颅内感染的临床特征及治疗转归[J]. *中华医院感染学杂志*, 2018, 28(17):

- 2564—2566.
- [9] 冯成红,罗灿. 颅内真菌性肉芽肿的治疗现状[J]. 中国医药科学, 2013, 3(10): 43—44, 64.
- [10] 施顺孝,龚卫月,龙连圣. 抗菌药物治疗颅内感染的研究进展[J]. 中国抗生素杂志, 2020, 45(9): 861—866.
- [11] REDMOND A, DANCER C, WOODS M. Fungal infections of the central nervous system: A review of fungal pathogens and treatment[J]. *Neurol India*, 2007, 55: 251—259.
- [12] 孙健,樊明超,王念等. 脑脊液与血清利奈唑胺浓度监测指导颅内感染临床治疗的价值[J]. 中华重症医学电子杂志(网络版), 2020, 6(3): 292—295.
- [13] TAKAHASHI Y, TAKESUE Y, NAKAJIMA K, *et al.* Risk factors associated with the development of thrombocytopenia in patients who received linezolid therapy[J]. *J Infect Chemother*, 2011, 17(3): 382—387.
- [14] LIN Y H, WU V C, TSAI I J, *et al.* High frequency of linezolid associated thrombocytopenia among patients with renal insufficiency[J]. *Int J Antimicrob Agents*, 2006, 28(4): 345—351.
- [15] WU V C, WANG Y T, WANG C Y, *et al.* High frequency of linezolid-associated thrombocytopenia and anemia among patients with end-stage renal disease[J]. *CLin Infect Dis*, 2006, 42(1): 66—72.
- [16] 张飞雨,张瑞霞,宋学武等. 影响泊沙康唑血药浓度相关因素的研究进展[J]. 中国医院药学杂志, 2021, 41(9): 971—976.
- [17] DAVIS M R, NGUYEN M H, DONNELLEY M A, *et al.* Tolerability of long-term fluconazole therapy[J]. *J Antimicrob Chemother*, 2019, 74(3): 768—771.
- [18] ASHBEE H R, BARNES R A, JOHNSON E M, *et al.* Therapeutic drug monitoring (TDM) of antifungal agents: guidelines from the British Society for Medical Mycology[J]. *J Antimicrob Chemother*, 2014, 69(5): 1162—1176.
- [19] BEER R, PFAUSLER B, SCHMUTZHARD E. Infectious intracranial complications in the neuro-ICU patient population[J]. *Curr Opin Crit Care*, 2010, 16(2): 117—122.
- [20] 刘晓霞,徐述贵,叶溪等. 临床药师参与颅内感染会诊病例回顾性分析[J]. 中国医院药学杂志, 2023, 43(10): 1124—1128.
- [21] 王法琴,杨飞. 万古霉素和利奈唑胺治疗儿童中枢神经系统感染研究进展[J]. 中国现代应用药学, 2017, 34(2): 301—304.
- [22] 中国医师协会血液科医师分会,中国侵袭性真菌感染工作组. 血液病/恶性肿瘤患者侵袭性真菌病的诊断标准与治疗原则(第六次修订版)[J]. 中华内科杂志, 2020, 59(10): 754—763.
- [23] 任静,孙莉,郑瑶,等. LC-MS/MS同时测定连续性肾脏替代治疗患者头孢他啶阿维巴坦的血药浓度[J]. 中国药师, 2022, 25(11): 2020—2024.
- [24] 张飞雨,张瑞霞,高慧儿,等. UPLC-MS/MS法同时测定人血浆中泊沙康唑、氟康唑、伏立康唑的血药浓度[J]. 天津医科大学学报, 2022, 28(2): 195—199.
- [25] 李颖,于泽芳,郭彩会,等. 用UPLC-MS/MS法测定大鼠血浆中瑞波西利的浓度[J]. 中国临床药理学杂志, 2025, 41(12): 1746—1750. (收稿日期 2025-02-23)

## · 科学文摘 ·

# 二甲双胍通过激活肺泡上皮干细胞和 FGFR2b 信号传导促进纤维化消退的证据

引自:LV Y, *et al.* Evidence that metformin promotes fibrosis resolution via activating alveolar epithelial stem cells and FGFR2b signaling[J]. *Acta Pharm Sin B*, 2025, 15(9): 4711—4729.

温州医科大学张金三/李校堃团队通过研究发现二甲双胍能够有效激活肺泡Ⅱ型上皮细胞的增殖和分化,特别是具有再生潜能的损伤激活肺泡祖细胞亚群。通过肺泡Ⅱ型上皮细胞的谱系示踪和单细胞测序等技术,研究者证明二甲双胍能够有效抑制其凋亡,促进肺上皮结构的修复。此外,研究者发现这一作用并不依赖于 BMP2/PPAR $\gamma$  通路,而是主要通过上调 AMPK/FGFR2b 信号轴来实现。当研究人员特异性敲除肺泡Ⅱ型上皮细胞的 *Fgf2b* 基因后,二甲双胍的促修复作用则基本消失。

该研究阐明二甲双胍通过激活肺泡上皮干细胞促进肺纤维化消退的机制,为特发性肺纤维化治疗提供新思路。