

# 达托霉素血浆浓度的 UPLC-MS/MS 法测定及其在重症患者体内药代动力学

胡琳璘<sup>1</sup>, 郭楠<sup>2</sup>, 张学丽<sup>1</sup>, 邵华<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>东南大学附属中大医院药学部, 南京 210009; <sup>2</sup>中国药科大学药学院, 南京 210009)

**摘要** 建立测定血浆和置换液中达托霉素的高通量 UPLC-MS/MS 方法, 采用 Kinetex C<sub>18</sub> 色谱柱 (50 mm × 2.1 mm, 1.7 μm), 柱温 45 °C, 流动相为含 0.1% 甲酸水溶液-乙腈, 流速 0.4 mL/min, 电喷雾离子化正离子扫描模式下, 达托霉素  $m/z$  810.9 → 159.1; 内标来曲唑  $m/z$  286.2 → 217.2, 分析时长 2.5 min。达托霉素在血浆 (1 ~ 200 μg/mL) 和置换液 (0.005 ~ 20 μg/mL) 中均呈现良好的线性关系, 日内及日间精密性、准确性、稳定性等均符合生物样品测定要求。静脉滴注 6 mg/kg 达托霉素在接受持续肾脏替代治疗 (CRRT) 治疗的感染性休克患者体内的  $c_{\max}$  和  $AUC_{0-24}$  明显低于健康受试者, 下降比例分别为 50% 和 60%, 未达到预期的杀菌效果。这可能与感染性休克患者毛细血管通透性增加联合间隙水肿, 从而使药物的分布容积增加有关, 此外, 肾脏替代治疗模式可体外滤过约 16% 的达托霉素, 导致剂量不足和感染治疗不彻底。研究结果推荐在接受 CRRT 治疗的感染性休克患者中使用达托霉素应适当增加剂量, 且须对该类患者进行达托霉素治疗药物浓度监测。

**关键词** 达托霉素; UPLC-MS/MS 法; 持续肾脏替代治疗; 感染性休克患者; 药代动力学

**中图分类号** R969 **文献标志码** A **文章编号** 1000-5048(2015)06-0700-07

doi:10.11665/j.issn.1000-5048.20150611

## Determination of daptomycin by UPLC-MS/MS and its pharmacokinetic evaluation in critically ill patients

HU Linlin<sup>1</sup>, GUO Nan<sup>2</sup>, ZHANG Xueli<sup>1</sup>, SHAO Hua<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Pharmacy, Zhongda Hospital, Southeast University, Nanjing 210009;

<sup>2</sup>School of Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

**Abstract** A sensitive, selective and simple liquid chromatography tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) method was developed for determining of daptomycin in human plasma and effluent. The analyte was extracted from plasma samples by SPE method, separated through a Phenomenex Kinetex C<sub>18</sub> column (50 mm × 2.1 mm, 1.7 μm) using isocratic mobile phase consisting of 0.1% formic acid-acetonitrile (75 : 25), and analyzed by electrospray ionization (ESI). The precursor to product ion transitions of  $m/z$  810.9 → 159.1 and  $m/z$  286.2 → 217.2 were used to measure daptomycin and the internal standard, respectively. The method was validated over a concentration range (plasma: 1-200 μg/mL, effluent: 0.005-20 μg/mL). The intra- and inter-day precision values were less than 10% and accuracy values 90%-110%. The stability of daptomycin in human plasma and effluent under different storage conditions met the requirements of bioanalytical method. The concentration of daptomycin is significant lower in the septic shock patient, when give a dose of 6 mg/kg, the  $c_{\max}$  and  $AUC_{0-24 h}$  of steady state decreased by 50% and 60% respectively; the increase in capillary permeability and interstitial oedema during sepsis and septic shock may enhance drug distribution. By the way, daptomycin can be cleared via continuous veno-venous hemofiltration (CVVH) for nearly 16%. In summary, on the treatment of continuous renal replacement therapy (CRRT) in patients with septic shock with daptomycin therapy, the suggested dose should be

increased, and the drug monitoring should be carried on.

**Key words** daptomycin; UPLC-MS/MS method; continuous renal replacement therapy (CRRT); septic shock; pharmacokinetics

This study was supported by the Nanjing Pharmaceutical Association-Changzhou Siyao Hospital Pharmaceutical Research Foundation (No. 2015YX004)

达托霉素是2004年上市的第1个环脂肽类抗菌药物<sup>[1]</sup>,现今已成为继万古霉素之后强有力的备用抗生素,其可与细胞膜结合使细胞膜电位快速去极化,从而抑制了蛋白质、DNA和RNA的合成,最终导致细菌细胞死亡。由于其独特的作用机制,对革兰阳性菌表现出快速的杀菌活性,同时对金黄色葡萄球菌属(包括MRSA)、肠球菌属(包括万古霉素耐药菌株)、链球菌属等超级细菌均具有良好的抑菌作用,耐药发生率较低,不良反应小,被誉为抗菌药物的“最后一道防线”<sup>[2]</sup>,相关研究备受关注。

合并严重感染是感染性休克患者发生急性肾损伤的重要原因,其可通过持续肾脏替代治疗(CRRT)达到调节容量、纠正酸碱及电解质紊乱的目的。关于CRRT治疗时抗菌药物的药代动力学研究提示:①此类特殊人群的药代动力学会受到感染性休克生理病理的影响<sup>[3]</sup>;②药物经CRRT体外清除可能会导致剂量不足和抗感染治疗不彻底<sup>[4]</sup>。前期的药代动力学研究结果显示达托霉素的经肾排泄率为80%以上<sup>[5]</sup>,故针对肾功能衰竭或接受CRRT治疗的重症感染性休克患者体内达托霉素的药代动力学研究迫在眉睫,但国内对于这方面的研究甚少,原因之一为多肽类抗菌药物浓度监测的方法尚待建立。达托霉素相对分子质量为1 620.67,极性大、易吸附,目前国外文献中已报道的达托霉素测定方法均存在一定局限性,如单纯使用高效液相色谱法进行测定,不仅灵敏度无法达到临床检测要求,且达托霉素和内源性杂质无法在短时间内分离,不适用于大批量临床样品分析<sup>[6-7]</sup>。液-质联用技术(LC-MS/MS)具有高灵敏性和快速性,特别适合多肽物质的定量分析<sup>[7]</sup>,已报道的LC-MS/MS法前处理方法复杂,所建立方法的线性范围无法完全覆盖重症患者体内达托霉素的最低和最高浓度<sup>[9-11]</sup>。因此,本研究根据临床个体化给药治疗需要,建立了人血浆及CRRT置换液中达托霉素的UPLC-MS/MS测定方法,并且观察了达

托霉素在接受CRRT治疗并发感染性休克重症患者体内的药代动力学特征,为临床研究制定合理的给药方案提供理论依据。

## 1 材料

### 1.1 药品与试剂

达托霉素对照品(阿斯利康制药有限公司);来曲唑对照品(中国食品药品检定研究院);含量100%,批号:101045-201101;乙腈、甲醇(色谱纯,德国Merk公司);其他试剂均为市售分析纯。固相萃取 Oasis HLB 小柱(美国Waters公司)1 mL, 30 mg。

### 1.2 仪器

XS105DU 电子分析天平(瑞士梅特勒托利多公司);Nexera X2 液相色谱-API4000 质谱联用仪,含:双高压泵、自动进样器、柱温箱、电喷雾离子化接口、三重四极杆质谱检测器(日本岛津公司);色谱工作站:Analyst1.5.2 系统软件(美国AB Sciex公司)。

### 1.3 受试者选择

10例接受CRRT治疗且并发感染性休克患者纳入本研究。纳入标准:年龄18~75岁;感染性休克;确诊的阳性菌引起的血源性或皮肤软组织感染;疑似的阳性菌引起的血源性或皮肤软组织感染。排除标准:对达托霉素过敏;确诊或疑似的由阳性菌引起的肺炎;达托霉素耐药菌感染;妊娠或哺乳;有横纹肌溶解病史;合并导致肌酸磷酸激酶升高的疾病。本研究经东南大学附属中大医院伦理委员会批准(批件号:2015ZDSYLL001.1)。受试者均签署知情同意书。

## 2 方法

### 2.1 色谱条件

流动相:含0.1%甲酸水溶液-乙腈(75:25);流速:0.4 mL/min;色谱柱:Phenomenex Kinetex XB-C<sub>18</sub>(50 mm×2.1 mm,1.7 μm),柱温:45℃;进

样量: 3  $\mu\text{L}$ 。

## 2.2 质谱条件

离子检测方式: 多重反应监测(MRM); 离子化方式: 气动辅助电喷雾离子化(ESI); 离子极性: 正离子; 检测对象: 达托霉素,  $[M + 2H]^{2+}$   $m/z$  811.4  $\rightarrow$  159.1; 内标(来曲唑),  $[M + H]^+$   $m/z$  286.2  $\rightarrow$  217.2; 去簇电压: 35 V; 碰撞能量: 25 V; 入口电势: 8 V; 碰撞池出口电势: 10 V; 碰撞气压力: 6 psi (1 psi = 6.895 kPa); 气帘气压力: 30 psi; 离子源气体1压力: 70 psi; 离子源气体2压力: 70 psi; 离子喷射电压为 4 500 V; 辅助加热温度: 400  $^{\circ}\text{C}$ 。

## 2.3 对照品溶液的配制

精密称取达托霉素标准品 10.03 mg, 置于 10 mL 量瓶中, 加含 0.1% 甲酸的甲醇-水(60:40)混合溶液溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得 1.003 mg/mL 达托霉素的储备液。使用时用含 0.1% 甲酸的甲醇-水(60:40)混合溶液稀释至所需浓度。精密称取来曲唑对照品 10.24 mg, 置于 10 mL 量瓶中, 加入甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得 1.024 mg/mL 内标储备液。使用时用甲醇稀释至浓度为 10.24  $\mu\text{g/mL}$  的内标液。

## 2.4 血浆及置换液样品处理

固相萃取小柱依次以甲醇 1 mL 及水 1 mL 活化; 取血浆(或置换液)0.4 mL 与水 0.5 mL 混匀均匀后直接上固相萃取小柱; 以水 1 mL 淋洗, 弃去淋洗液; 以甲醇(含 0.1% 甲酸)1.5 mL 洗脱样品, 将收集的洗脱液于 36  $^{\circ}\text{C}$  真空氮气挥发中挥干, 提取好的血浆(置换液)样品放置于 -80  $^{\circ}\text{C}$  冰箱中保存, 血浆样品残渣和置换液样品残渣分别用溶样流动相 200  $\mu\text{L}$  和 100  $\mu\text{L}$  复溶, 进行 LC-MS/MS 分析。

## 2.5 标准曲线及质控样品的制备

取 1.5 mL 离心管数支, 分别精密加入不同量的达托霉素对照品溶液后以氮气流吹干, 加入空白血浆或置换液 400  $\mu\text{L}$ , 漩涡混匀, 分别配成含达托霉素质量浓度为 1.003, 3.009, 10.03, 30.09, 100.3 和 200.6  $\mu\text{g/mL}$  的标准含药血浆和含达托霉素质量浓度为 0.005 015, 0.015 05, 0.030 09, 0.501 5, 1.003, 5.015, 10.03, 20.06  $\mu\text{g/mL}$  的标准含药置换液, 按“2.4”项下操作, 制备标准曲线, 并同时制备相应介质的空白样品及空白加内标样品, 进行 LC-MS/MS 分析。

## 2.6 达托霉素在接受 CRRT 治疗的感染性休克患者体内药代动力学

所有感染性休克患者在试验期间均接受连续性静脉-静脉血液滤过(CVVH)前稀释加后稀释治疗模式, 滤过膜采用 Prismaflex M100-AN-69, 血流速 180 ~ 200 mL/min, 前置换液流速为 2 000 ~ 2 400 mL/min, 后置换液为 300 ~ 900 mL/min, 肝素抗凝。将达托霉素粉针溶解在 0.9% 氯化钠注射液 100 mL 中, 受试者采用输液泵恒速静脉输注达托霉素(剂量 6 mg/kg), 0.5 h 滴注完成, 静脉输注。于给药前(0 h)及静脉输注开始后 0.25, 0.5, 1.5, 2.5, 4.5, 6.5, 8.5, 10.5, 12.5, 16.5, 20.5, 24 h 分别采集滤前、滤后静脉血约 2 mL, 滤液 2 mL 均置 EDTA-K<sub>3</sub> 真空采血管中, 分离血浆后于 -80  $^{\circ}\text{C}$  保存待测。

## 3 结果

### 3.1 样品的色谱行为

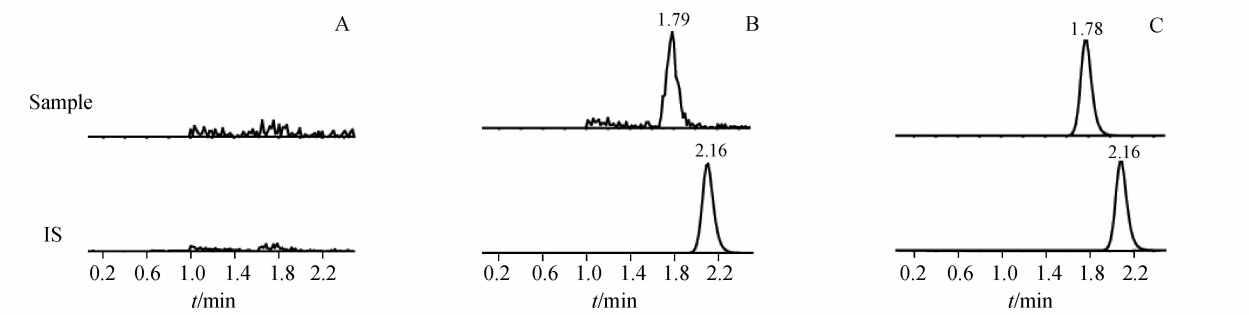
在本实验所采用的色谱条件下, 达托霉素出峰时间在 1.79 min 左右, 内标出峰时间在 2.16 min 左右。达托霉素和内标峰形良好, 无杂峰干扰测定。本方法具有较高的特异性, 能准确测定血浆中达托霉素的浓度, 灵敏度较高, 所得的色谱图见图 1。

### 3.2 达托霉素标准曲线的制备

按照“2.5”项下分别配制达托霉素于血浆和置换液中的标准曲线, 进行 LC-MS/MS 分析, 同时计算达托霉素峰面积  $A_{s(Da)}$  和内标面积  $A_i$  的比值  $f_{(Da)}$  ( $f_{(Da)} = A_{s(Da)} / A_i$ ), 以峰面积比值  $f_{(Da)}$  对血药浓度  $c_{(Da)}$  作权重回归计算, 得出标准曲线方程, 血浆样品标准曲线的典型权重回归方程:  $f_{(Da)} = 0.083\ 78 + 0.002\ 79 \times c$  (权重系数  $w = 1/c^2$ ),  $r = 0.995\ 9$ , 置换液样品标准曲线的典型权重回归方程:  $f_{(Da)} = 0.066\ 99 + 0.006\ 234 \times c$  (权重系数  $w = 1/c^2$ ),  $r = 0.997\ 4$ 。

### 3.3 精密度与准确度

按“3.2”项下方法制备含达托霉素质量浓度分别为 1.003, 2.006, 20.06, 180.6  $\mu\text{g/mL}$  的标准含药血浆, 和质量浓度分别为 0.005 015, 0.010 03, 3.009, 18.06  $\mu\text{g/mL}$  的标准含药置换液样品, 每个浓度各配制 6 份样品, 按“2.4”项下操作。结果见表 1。



**Figure 1** Representative chromatograms (A) a blank plasma sample; (B) a blank effluent sample spiked with daptomycin at the limit of quantitation (0.005 015  $\mu\text{g/mL}$ ) and the internal standard (IS); (C) a plasma sample from a volunteer 0.5 h after intravenous infusions of 6 mg/kg daptomycin

**Table 1** Precision and accuracy data for the analysis of daptomycin in effluent and plasma samples ( $n=6$ )

Samples	QC	c/ ( $\mu\text{g/mL}$ )		RSD/%		RE/%
		Added	Measured	Intra-day	Inter-day	
Effluent	LLOQ	0.005 015	0.005 249	4	3.4	0.04
	Low QC	0.010 03	0.010 19	6.5	9.9	0.02
	Middle QC	3.009	3.079	3.7	5.2	0.02
	High QC	18.06	18.69	5.8	2.5	0.03
Plasma	LLOQ	1.003	1.052	7.5	3	0.05
	Low QC	2.006	2.020	6.4	10.9	0.01
	Middle QC	20.06	18.62	2.1	7.2	-0.08
	High QC	180.6	184.1	5.7	3.6	0.02

LLOQ; Lower limit of quantitation; QC; Quality control

3.4 提取回收率实验

制备含低、中、高 3 种质量浓度的达托霉素标准含药血浆和含药置换液样品各 5 份,按“2.4”项下方法处理后进样,记录达托霉素峰面积,与相应浓度标准品溶液峰面积比较。结果表明,低、中、高浓度达托霉素在血浆中的提取回收率分别为  $(88.23 \pm 4.02)\%$ 、 $(87.45 \pm 5.90)\%$  和  $(91.94 \pm 2.12)\%$ 。在置换液中的提取回收率为  $(89.71 \pm 5.03)\%$ 、 $(90.34 \pm 4.90)\%$  和  $(92.94 \pm 5.82)\%$ 。

3.5 介质效应考察

按配制低、中、高 3 种质量浓度达托霉素的标准含药血浆的量分别加入对应达托霉素的对照品溶液和内标溶液,涡旋混匀,于真空浓缩仪中抽干。残渣分别用溶样流动相和空白血浆上清液 200 和 100  $\mu\text{L}$  复溶,进行 LC-MS/MS 分析,结果表明:各组分介质效应的平均值在 98.9% ~ 103.5% 范围内;内标在血浆中介质效应的平均值在 93.3% ~ 100.2% 之间,在置换液中介质效应的平均值在 97.0% ~ 103.5% 范围内。

3.6 稳定性考察

分别考察了低、中、高 3 种质量浓度的达托霉素的标准含药血浆和置换液稳定性,分别考察上述

样品在室温下放置 9 h,进样器放置 10 h,反复 3 次冻融及冰冻放置 1 个月条件下稳定性,及残渣室温放置 9 h、长期冰冻 1 个月稳定性。低、中、高 3 种质量浓度的血浆样品在室温下放置 6 h 结果分别为  $(100.6 \pm 4.7)\%$ 、 $(97.4 \pm 4.5)\%$  和  $(106.0 \pm 3.9)\%$ ;进样器放置 10 h 结果分别为  $(101.9 \pm 7.2)\%$ 、 $(108.8 \pm 5.6)\%$  和  $(104.7 \pm 4.6)\%$ ;在  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ /室温反复冻融 3 次结果分别为  $(93.3 \pm 4.4)\%$ 、 $(108.7 \pm 8.2)\%$  和  $(103.7 \pm 9.9)\%$ ,长期冰冻结果分别为  $(97.0 \pm 6.72)\%$ 、 $(98.7 \pm 4.12)\%$  和  $(97.4 \pm 8.38)\%$ ;残渣放置 9 h 和长期冰冻 1 个月结果分别为  $(98.1 \pm 12.3)\%$ 、 $(100.1 \pm 6.5)\%$ 、 $(109.0 \pm 7.8)\%$  和  $(101.2 \pm 6.1)\%$ 、 $(98.4 \pm 10.5)\%$ 、 $(95.1 \pm 6.1)\%$ 。低、中、高 3 种质量浓度的置换液样品在室温下放置 6 h 结果分别为  $(101.6 \pm 5.7)\%$ 、 $(110.4 \pm 5.9)\%$  和  $(97.3 \pm 2.2)\%$ ;进样器放置 10 h 结果分别为  $(90.6 \pm 12.3)\%$ 、 $(95.8 \pm 4.9)\%$  和  $(96.3 \pm 5.20)\%$ ;在  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ /室温反复冻融 3 次结果分别为  $(103.1 \pm 3.8)\%$ 、 $(96.3 \pm 5.7)\%$  和  $(100.9 \pm 10.7)\%$ ,长期冰冻结果分别为  $(97.3 \pm 6.9)\%$ 、 $(96.6 \pm 8.1)\%$  和  $(104.0 \pm 4.4)\%$ ;残渣放置 9 h 和长期冰冻 1 个

月结果分别为  $(100.5 \pm 1.4)\%$ 、 $(97.5 \pm 2.9)\%$ 、 $(98.0 \pm 8.2)\%$  和  $(107.1 \pm 2.3)\%$ 、 $(109.1 \pm 4.2)\%$ 、 $(110.0 \pm 2.6)\%$ 。

3.7 残留效应

分别制备空白溶样流动相和含达托霉素质量浓度为  $20.06\text{ }\mu\text{g/mL}$ 、 $200.6\text{ }\mu\text{g/mL}$  标准含药置换液和标准含药血浆样品,按“2.4”项下操作处理血浆样品后,进行 LC-MS/MS 分析,在高浓度样品进样分析后,分析空白溶样流动相,反复 5 次,空白溶

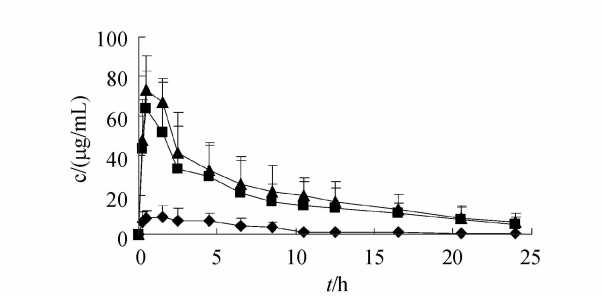
样流动相样品的达托霉素与内标的峰位处均无响应,断定该方法不存在残留效应。

3.8 达托霉素接受 CRRT 治疗的感染性休克患者体内药代动力学评价

10 名接受 CRRT 并发感染性休克患者单次静脉滴注  $6\text{ mg/kg}$  达托霉素后,所得的达托霉素于滤前、滤后以及置换液中的平均血药浓度-时间曲线比较图见图 2。采用 DAS 2.0 软件计算药代动力学参数,结果见表 2。

**Table 2** Mean pharmacokinetics of daptomycin following the single dose of  $6\text{ mg/kg}$  to the patients with septic shock during continuous renal replacement therapy (CRRT) ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Parameter	Plasma pre-dilute	Plasma after-dilute	Effluent
$c_{\max}/(\text{ }\mu\text{g/mL})$	$73.00 \pm 17.62$	$63.94 \pm 19.13$	$8.622 \pm 6.043$
$t_{\max}/\text{h}$	$0.7 \pm 0.4$	$0.5 \pm 0.3$	$1.5 \pm 0.5$
$t_{1/2}/\text{h}$	$6.8 \pm 1.7$	$7.0 \pm 2.3$	$8.2 \pm 3.8$
$\text{CL}/(\text{mL}/(\text{h}\cdot\text{kg}))$	$13.39 \pm 7.86$	$13.91 \pm 6.54$	—
$V_d/(\text{L/kg})$	$0.13 \pm 0.039$	$0.14 \pm 0.058$	—
$\text{AUC}_{0-24\text{ h}}/(\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{h/mL})$	$508.8 \pm 200.7$	$431.3 \pm 201.1$	$69.05 \pm 43.09$
$\text{AUC}_{0-\infty}/(\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{h/mL})$	$570.5 \pm 245.8$	$472.6 \pm 278.3$	$75.43 \pm 50.96$



**Figure 2** Concentration-time profiles of the study population. Daptomycin concentrations after intravenous infusions of  $6\text{ mg/kg}$ , sampled from the pre-filter, post-filter and the effluent ports during 24 h of continuous veno-venous hemofiltration (CVVH) ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

4 讨论

4.1 达托霉素测定方法的建立

在建立达托霉素 UPLC-MS/MS 定量分析方法前,首先考察了达托霉素于  $1.5\text{ mL}$  国产塑料离心管,Eppendorf 塑料离心管和玻璃管中的吸附效应及储备液稳定性,分别使用不同酸度和不同配比的甲醇与水混合溶液溶解达托霉素标准品,试验结果证明,在保证达托霉素溶解度和稳定性的情况下,适量的酸度以及尽可能小的去离子水比例可以有效地减少塑料离心管对达托霉素的吸附。当使用含  $0.1\%$  甲酸的甲醇-水 ( $60:40$ ) 混合溶液稀释达

托霉素溶液时,Eppendorf 塑料离心管和玻璃管对达托霉素的吸附效应在可控范围内,最终选择 Eppendorf 塑料离心管处理样品,并使用玻璃小瓶进样。为了减少基质效应并保证灵敏度<sup>[12]</sup>,本试验首次尝试液-液萃取法,蛋白直接沉淀浓缩法和固相萃取法,其中液-液萃取法提取回收率仅为  $50\%$ ,无法达到灵敏度要求,蛋白直接沉淀浓缩法虽可获得较高提取回收率,但连续进样后,达托霉素由于受到前面进样样品质效叠加重复性差,需采用梯度洗脱法,无法满足高通量分析要求,最终选择固相萃取法处理含药血浆及置换液样品<sup>[13-14]</sup>,由于流速会影响达托霉素在所选固相萃取小柱上的保留,本试验依靠重力作用,采用滴速。优化洗脱液 pH 最终选择含  $0.1\%$  甲酸的甲醇洗脱上样小柱使得达托霉素和内标的提取回收率均大于  $85\%$ ,批内、批间精密度和准确度满足测定要求。在色谱和质谱条件的选择上,达托霉素在 ESI 正离子扫描模式下产生  $[\text{M} + 2\text{H}]^{2+}; m/z\ 810.9$  和  $[\text{M} + \text{H}]^{+}; m/z\ 1\ 620.6$ ,使水相中加大甲酸比例使得达托霉素在质谱中更易产生多价离子,从而使母离子  $[\text{M} + 2\text{H}]^{2+}; m/z\ 810.9$  响应数几十倍高于  $[\text{M} + \text{H}]^{+}$ 。在此基础上优化碰撞能量,在特征产物离子  $313.2, 187.1, 159.1$  中选择  $159.1$  作为目标监测产物离子,并进行 UPLC-MS/MS 分析。

#### 4.2 达托霉素在接受 CRRT 治疗的感染性休克患者体内药代动力学特征

众所周知,感染性休克患者的病理生理改变会对药物的药代动力学和药效动力学产生显著影响<sup>[3]</sup>,而患者在接受 CRRT 时,可能会引起经肾排泄药物达托霉素的体外清除,从而减少其在体内有效浓度<sup>[4]</sup>。文献报道健康受试者静脉滴注 6 mg/kg 达托霉素后, $c_{\max}$  和  $AUC_{0-24\text{ h}}$  分别为  $(95.7 \pm 31.8)$  和  $(729.8 \pm 32.2) \mu\text{g} \cdot \text{h}/\text{mL}$ <sup>[15-16]</sup>,与健康志愿者相比,达托霉素在接受 CVVH 治疗的感染性休克患者体内的分布容积和清除率显著增加,分别增加约 1.5 和 1.6 倍; $c_{\max}$  和  $AUC_{0-24\text{ h}}$  降低为相同给药剂量下 50% 和 60%,见表 2。试验结果进一步说明造成血药浓度下降的主要原因一方面是由于常规剂量的 CVVH 治疗模式下,血液流经滤膜可清除约 15.9% 的达托霉素,在血液滤过过程中达托霉素的筛过系数随着其血药浓度的改变而发生变化。另一方面,感染性休克使得患者产生全身炎症反应,导致毛细血管通透性增加,回心血量减少,组织间隙水肿,使药物的分布容积增加,游离药物浓度降低<sup>[17]</sup>。目前,达托霉素在临床主要用于金黄色葡萄球菌引起的难治性感染,作为浓度依赖型抗菌药物,其药效学评价指标为  $AUC/MIC$  及  $c_{\max}/MIC$ 。根据文献报道,当达托霉素的  $AUC/MIC$  达到  $666.25 \pm 87.2$  或  $c_{\max}/MIC$  达到  $128.75 \pm 24.06$  时可以对耐药金黄色葡萄球菌起到杀灭作用<sup>[18]</sup>。而本试验得到达托霉素对耐药金黄色葡萄球菌 ( $MIC = 0.5 \sim 2$ ) 的  $AUC/MIC$  范围在  $431.3 \sim 215.7$  之间, $c_{\max}/MIC$  范围在  $63.94 \sim 31.97$  之间,可知在此种给药剂量下达托霉素对  $MIC$  大于 1 的耐药金黄色葡萄球菌基本无杀菌作用。根据达托霉素静脉滴注 6 ~ 10 mg/kg 时呈现线性药代动力学的特征及所得试验结果<sup>[15-16]</sup>,本研究推荐在接受 CRRT 治疗的感染性休克患者使用达托霉素时,应根据病情适当提高剂量,并配合血药浓度监测以最终确定有效剂量。

#### 参考文献

- [1] Tally FP, Zeckel M, Wasilewski MM. Daptomycin: a novel agent for gram-positive infections [J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 1999, 8(8): 1223 - 1238.
- [2] Reyes J, Panesso D, Tran TT, et al. A liaR deletion restores susceptibility to daptomycin and antimicrobial peptides in multidrug-resistant *Enterococcus faecalis* [J]. *Infect Dis*, 2015, 211(8): 1317 - 1325.
- [3] Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock, 2012 [J]. *Intensive Care Med*, 2013, 39(2): 165 - 228.
- [4] Trotman RL, Williamson JC, Shoemaker DM, et al. Antibiotic dosing in critically ill adult patients receiving continuous renal replacement therapy [J]. *Clin Infect Dis*, 2005, 41(8): 1159 - 1566.
- [5] Dvorchik B. Moderate liver impairment has no influence on daptomycin pharmacokinetics [J]. *Clin Pharmacol*, 2004, 44(7): 715 - 722.
- [6] Tobin CM, Darville JM, Lovering AM, et al. An HPLC assay for daptomycin in serum [J]. *Antimicrob Chemother*, 2008, 62: 1462 - 1476.
- [7] Lorena B, Antonio DA, Simone P, et al. Development and validation of an UPLC-PDA method to quantify daptomycin in human plasma and in dried plasma spots [J]. *Pharm Biomed Anal*, 2014, 88: 66 - 70.
- [8] Rauh M. LC-MS/MS for protein and peptide quantification in clinical chemistry [J]. *Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2012, 883-884: 59 - 67.
- [9] Marie CV, Danie BF, Olivier T, et al. Determination of daptomycin in human plasma by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Clin Chem Lab Med*, 2011, 49: 69 - 75.
- [10] Gika HG, Michopoulos F, Divanis DS, et al. Daptomycin determination by liquid chromatography-mass spectrometry in peritoneal fluid, blood plasma, and urine of clinical patients receiving peritoneal dialysis treatment [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2010, 397: 2191 - 2197.
- [11] Fotini NB, Evangelos G, Athanasios S, et al. Development and validation of an ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for the quantification of daptomycin in human plasma [J]. *Pharm Biomed Anal*, 2011, 56: 78 - 85.
- [12] Liu WY, Xu WL, Li P, et al. Tissue distribution and excretion of baicalein and its main metabolite in rats by LC-MS/MS [J]. *China Pharm Univ (中国药科大学学报)*, 2009, 40(4): 348 - 352.
- [13] Jiao HY, Xu FG, Tian Y, et al. Determination of fluoroquinolones multiresidue in milk by solid-phase extraction-LC-MS/MS [J]. *China Pharm Univ (中国药科大学学报)*, 2009, 40(1): 62 - 66.
- [14] Tian Y, Zhang ZJ, Li J, et al. Multiresidue determination of fluoroquinolones in eggs by solid-phase extraction-LC-MS/MS [J]. *China Pharm Univ (中国药科大学学报)*, 2010, 41(1): 60 - 65.
- [15] Dvorchik BH, Brazier D, DeBruin MF, et al. Daptomycin pharmacokinetics and safety following administration of escalating doses

- once daily to healthy subjects [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2003, (47):1318–1323.
- [16] Mark B, David PB, Sara Y. Pharmacokinetics and tolerability of daptomycin at doses up to 12 milligrams per kilogram of body weight once daily in healthy volunteers [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2006, 50(10):3245–3249.
- [17] Roberts JA, Lipman J. Pharmacokinetic issues for antibiotics in the critically ill patient [J]. *Critical Care Medicine*, 2009, 37(3):840–851;859.
- [18] Nasia S, David A, Craig WA. *In vivo* pharmacodynamic activity of daptomycin [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2004, 48(1):63–68.