

超高效液相色谱法测定伏立康唑血药浓度及临床应用^Δ

徐兰兰^{1*}, 千清², 刘芳², 李雪征^{2#} (1. 庆阳市人民医院药剂科, 甘肃 庆阳 745000; 2. 延边大学附属医院药学部, 吉林 延吉 133000)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1672-2124(2026)06-0684-04

DOI 10.14009/j.issn.1672-2124.2026.06.010



摘要 目的: 建立测定人血浆中伏立康唑浓度的超高效液相色谱法(UPLC), 为优化伏立康唑临床用药方案提供依据。方法: 采用 Shim-pack GIST-HP C18 色谱柱(150 mm×2.1 mm, 3 μm), 以甲醇-水为流动相, 检测波长 256 nm, 流速 0.3 mL/min, 进样量 5 μL, 柱温 40 ℃。结果: 伏立康唑在 0.25~20.00 μg/mL 内线性关系较好, 定量下限为 0.25 μg/mL, 平均回收率 91.04%~95.93%, 日内精密度相对标准偏差(RSD)≤8.53%, 日间精密度 RSD≤1.36%, 室温下 0、12、24 h 反复冻融 3 次的稳定性均表现良好。本研究建立了伏立康唑个体化用药监护路径, 并对 57 例使用伏立康唑的患者进行血药浓度监测, 其中 49 例测定结果在(0.5~5.0 μg/mL)浓度范围内, 8 例测定结果未在有效浓度范围内。结论: 本方法操作简便, 专属性高, 结果准确, 适用于医疗机构开展伏立康唑血药浓度监测工作。根据监测结果进行给药方案调整, 有助于临床安全、合理使用该药。

关键词 伏立康唑; 治疗药物监测; 血药浓度; 超高效液相色谱法

Determination of Voriconazole Concentration in Human Plasma by UPLC and Its Clinical Application^Δ

XU Lanlan¹, QIAN Qing², LIU Fang², LI Xuezheng² (1. Dept. of Pharmacy, Qingyang People's Hospital, Gansu Qingyang 745000, China; 2. Dept. of Pharmacy, Yanbian University Hospital, Jilin Yanji 133000, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To establish an ultra performance liquid chromatography (UPLC) method for the determination of voriconazole concentration in human plasma, and to provide a scientific basis for the clinical optimization of voriconazole regimen. **METHODS:** The determination was performed on a Shim-pack GIST-HP C18 column (150 mm×2.1 mm, 3 μm) with mobile phase consisting of methanol/water at the flow rate of 0.3 mL/min; the detection wavelength was set at 256 nm, injection volume was 5 μL, and column temperature was 40 ℃. **RESULTS:** The established method for the determination of voriconazole concentration showed good linearity in the range of 0.25-20.0 μg/mL, with a lower limit of quantification of 0.25 μg/mL. The average recoveries were between 91.04% and 95.93%. The RSD of intra-day precision was less than 8.53%, and the inter-day precision was less than 1.36%. Voriconazole in plasma showed good stability after storage at room temperature for 0, 12, 24 h, followed by three freeze-thaw cycles. An individualized therapeutic drug monitoring (TDM) pathway for voriconazole was established and implemented in 57 patients receiving voriconazole therapy. Therapeutic concentrations (0.5-5.0 μg/mL) were attained in 49 patients, whereas 8 patients had concentrations outside this range. **CONCLUSIONS:** This method is simple to operate, highly specific, and accurate, making it particularly suitable for voriconazole TDM in clinical settings. The voriconazole regimen should be adjusted based on TDM results, which contributes to the safe and rational use of voriconazole.

KEYWORDS Voriconazole; Therapeutic drug monitoring; Plasma concentration; Ultra performance liquid chromatography

伏立康唑是第二代三唑类广谱抗真菌药物, 广泛用于预防或治疗曲霉菌、念珠菌、隐球菌等致病菌引起的侵袭性感染^[1]。其具有非线性药动力学、治疗窗窄等特征, 常规给药方案

在不同个体间及个体内存在较大差异^[2]。研究表明伏立康唑的治疗有效性和不良反应发生率与血药浓度显著相关, 而血药浓度受性别、年龄、体重指数、基因多态性、血浆蛋白水平、药物相互作用、潜在疾病等多因素影响^[3-5]。因此, 对使用伏立康唑的患者开展个体化用药监护已成为业界共识。近年来伏立康唑血药浓度测定方法有: 液质联用法、串联质谱法、生物分析法、高效液相色谱法等。结合延边大学附属医院仪器条件, 为满足临床对伏立康唑血药浓度监测需求, 本研究拟在

Δ 基金项目: 吉林省卫生健康科技能力提升项目 (No. 2024B004); 延边大学应用基础项目 (No. ybkj202331)

* 初级药师, 硕士研究生。研究方向: 治疗药物监测。E-mail: x1030053636@163.com

通信作者: 主任药师, 博士, 教授。研究方向: 临床药学。E-mail: xzli@ybu.edu.cn

既往报道的超高效液相色谱法 (UPLC) 测定伏立康唑血药浓度的基础上优化色谱条件, 提供一种更简单、准确、可操作性强的方法, 以便促进医疗机构开展血药浓度监测工作, 促进临床合理用药。

1 材料与方法

1.1 仪器

超高效液相色谱仪 (日本岛津公司, 型号: DGU-20A); BSA124S-CW 电子分析天平 (德国赛多利斯科学仪器有限公司); B320A 低速离心机、Biofuge pico 微量高速离心机 (美国科峻仪器有限公司); MX-S 涡旋混合器 (美国赛洛捷克有限公司)。

1.2 药品与试剂

伏立康唑对照品 (批号 201802, 含量 99.7%), 卡马西平对照品 (批号 201905, 纯度 99.7%), 均购自中国食品药品检定研究院; 人空白血浆由延边大学附属医院 (延边医院) 检验科提供; 甲醇、乙腈为色谱纯; 水为超纯水。

1.3 方法

1.3.1 色谱条件: 色谱柱为 Shim-pack GIST-HP C18 (150 mm × 2.1 mm, 3 μm), 流动相为甲醇-水 (63 : 37, V/V), 检测器为光电二极管阵列检测器 (PDA), 检测波长为 256 nm, 流速为 0.3 mL/min, 进样量为 5 μL, 柱温为 40 ℃。

1.3.2 储备液制备: (1) 精密称取伏立康唑对照品 10 mg 置于 10 mL 容量瓶中, 用甲醇-水 (1 : 1, V/V) 溶解定容至刻度, 配制成 1 mg/mL 的伏立康唑对照品母液, 密封存于 -20 ℃ 冰箱冷冻备用。 (2) 精密称取卡马西平对照品 10 mg 置于 10 mL 容量瓶中, 用甲醇-水 (1 : 1, V/V) 溶解定容至刻度, 配制成 1 mg/mL 的卡马西平母液, 密封于 -20 ℃ 冰箱冷冻备用。

1.3.3 生物样品预处理: 取空白血浆 200 μL, 加 10 μL 浓度为 350 μg/mL 的内标卡马西平, 加 350 μL 乙腈, 涡旋 3 min, 4 ℃ 高速离心机中 15 000 r/min, 离心半径 8.5 cm, 离心 10 min, 取上清液, 加 50 μL 乙腈 15 000 r/min 离心 10 min, 有机膜过滤后进样检测。

1.3.4 方法学考察: (1) 专属性: 将正常人空白血浆、空白血浆+内标溶液、空白血浆+内标+伏立康唑对照品溶液的血浆样品按照 2.3 项处理, 进样分析后记录色谱图。

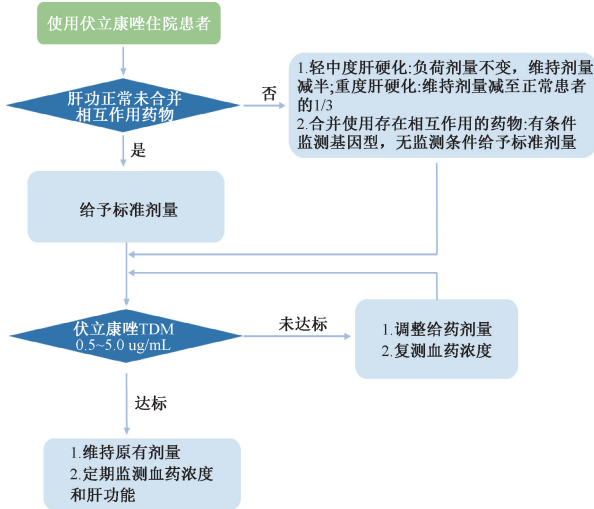
(2) 线性关系: 取空白血浆样品 200 μL, 置于 1.5 mL EP 管, 精密量取不同质量浓度的伏立康唑对照品溶液 10 μL 配成 0.25、0.5、1.0、2.0、5.0、10.0、20.0 μg/mL 的标准曲线血浆样品。按 2.3 项处理样品后, 进样分析记录图谱。以待测物与内标峰面积的比值为 Y 轴, 以待测物浓度为 X 轴进行线性回归, 绘制标准曲线。

(3) 精密度与回收率: 分别配制低、中、高 3 组不同质控浓度 (0.5、2、10 μg/mL) 的含药血浆各 5 份, 按 2.3 项处理后进样。伏立康唑测定浓度与理论浓度的比值为相对回收率。同时, 同一天测定 5 次计算日内精密度, 连续测定 5 d 计算日间精密度。另配等浓度伏立康唑标准液进样, 以质控样品峰面积与相应浓度标准液峰面积相比, 计算提取回收率。

(4) 稳定性: 分别配制低、中、高 3 组不同质控浓度 (0.5、2、10 μg/mL) 的含药血浆各 5 份, 放置于常温下储存 0、12、24 h 及 -80 ℃ 反复冻融 3 次, 按照 2.3 项处理样品后, 进样分

析考察其稳定性。

1.3.5 精准化给药与血药浓度监测路径: 本研究方案经延边大学附属医院伦理委员会批准 (伦理批号: 延医伦理 2024377 号)。对 2022 年 5 月至 2024 年 12 月在延边大学附属医院使用伏立康唑的 57 例住院患者开展了个体化用药监护, 为减少因初始给药剂量不当导致的不良反应发生风险, 本研究制定了伏立康唑个体化用药监护路径, 给药前首先评估患者的肝功能及合并用药情况, 具体给药剂量根据用药监护路径 (图 1) 确定。给药后血药浓度监测时机参考中国治疗药物监测学术年会发布的《伏立康唑个体化用药指南》^[1]: 给予负荷剂量时, 首次监测时机不早于第 5 次给药前 (第 3 日), 未给予负荷剂量则需要 5~7 d 达稳态血药浓度, 采血时间为用药前 30 min。



TDM: 治疗药物监测 (therapeutic drug monitoring)。

图 1 伏立康唑个体化用药监护路径

2 结果

2.1 专属性

空白血浆、空白血浆+内标、空白血浆+内标+伏立康唑色谱图如图 2 所示。伏立康唑及内标物卡马西平的保留时间分别在 15.3 min 和 11.0 min 左右, 测定中不受其他内源性物质干扰, 表明该方法专属性良好。

2.2 线性关系

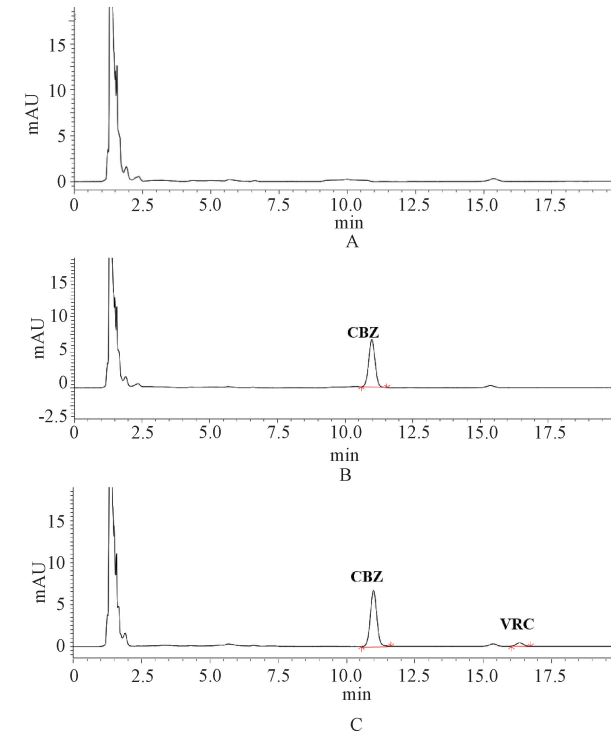
伏立康唑标准曲线回归方程: $Y = 0.0361X - 0.0021$ ($R^2 = 0.9997$), 线性范围 0.25~20.0 μg/mL, 线性关系较好且符合生物样本分析要求。

2.3 精密度与回收率

伏立康唑不同质控浓度的精密度和回收率结果显示, 各浓度日内精密度相对标准偏差 (RSD) ≤ 8.53%, 相对回收率在 99.00%~108.00% 之间; 日间精密度 RSD ≤ 1.36%, 相对回收率在 94.50%~106.00% 之间, 平均提取回收率在 91.04%~95.93% 之间, 符合生物样本测定要求。见表 1。

2.4 稳定性

伏立康唑不同质控浓度的稳定性实验结果显示, 室温下 0、12、24 h 及 -80 ℃ 反复冻融 3 次后血浆样品的稳定性较好,



A: 空白血浆; B: 空白血浆+内标; C: 空白血浆+内标+伏立康唑。
VRC: 伏立康唑; CBZ: 卡马西平。

图2 不同血浆样品色谱图

表1 伏立康唑精密度与回收率试验结果 (n=5)

标准浓度/($\mu\text{g/mL}$)	日内精密度			日间精密度			提取回收率/%
	测得浓度/($\mu\text{g/mL}$)	相对回收率/%	RSD/%	测得浓度/($\mu\text{g/mL}$)	相对回收率/%	RSD/%	
0.5	0.54	108.00	8.53	0.53	106.00	1.36	92.83
2	1.98	99.00	1.57	1.89	94.50	0.53	91.04
10	9.99	99.90	0.70	9.81	98.00	0.47	95.93

注: n=5 表示不同浓度血浆样品各 5 份。

表2 伏立康唑稳定性试验结果 (n=5)

浓度/($\mu\text{g/mL}$)	时间				均值/ ($\mu\text{g/mL}$)	RSD/%
	0 h	12 h	24 h	反复冻融 3 次		
0.5	0.54	0.52	0.45	0.47	0.50	8.49
2	1.98	1.91	1.98	1.86	1.93	2.90
10	10.02	9.77	9.61	9.43	9.70	2.58

注: n=5 表示不同浓度血浆样品各 5 份。

表3 伏立康唑血药浓度监测结果

科室	平均血药浓度/ ($\mu\text{g/mL}$)	(<0.5 $\mu\text{g/mL}$)/ 例	(0.5~ 5.0 $\mu\text{g/mL}$)/ 例	(>5.0 $\mu\text{g/mL}$)/ 例	合计/例
血液科	2.50 $\pm$ 1.13	1	20	0	21
ICU	4.01 $\pm$ 2.56	0	12	5	17
呼吸科	2.59 $\pm$ 1.27	0	15	1	16
肿瘤科	1.21 $\pm$ 0.80	1	2	0	3

色谱法 (HPLC) 和液相色谱串联质谱法 (LC-MS/MS) [7-9]。LC-MS/MS 样品处理较复杂、仪器价格昂贵且维修成本较高,难以在各家医院推广或普及。HPLC 虽操作简单、重复性较好,适用于临床上生物样本的测定,但保留时间较长,临床样本检测效率较低。本文在参考相关文献 [10-11] 的基础上采用 UPLC 测定伏立康唑血药浓度, UPLC 是一种采用小粒径填料色谱柱和超高压系统的新型色谱技术,具有灵敏度高、分辨率高、分析速度快和节省试剂等优点 [12]。部分文献报道的方法

RSD $\leq$ 8.49%,符合生物样品测定要求。见表 2。

2.5 临床应用结果

结合临床监护路径并根据本研究所建立的方法共对 57 例静脉使用伏立康唑的住院患者进行血药浓度测定,结果显示使用伏立康唑的临床科室主要为血液内科、重症监护室 (ICU) 及呼吸科,57 例患者的血药浓度范围为 0.32~9.71 $\mu\text{g/mL}$, ICU 患者平均血药浓度为 (4.01 $\pm$ 2.56) $\mu\text{g/mL}$,肿瘤科患者平均血药浓度为 (1.21 $\pm$ 0.80) $\mu\text{g/mL}$,不同患者显示出较大个体差异。其中 2 例低于目标浓度 (0.5 $\mu\text{g/mL}$),6 例高于目标浓度 (5.0 $\mu\text{g/mL}$),伏立康唑血药浓度监测的分布情况见表 3。

3 讨论

伏立康唑是治疗和预防侵袭性真菌感染的一线药物,且具有可供参考的治疗药物浓度范围和毒性水平 [1]。由于药动学过程复杂、个体差异显著,加上临床广泛应用中不合理用药问题的出现,其治疗有效性与安全性一直是临床关注的重点。目前,已有研究证明伏立康唑血药浓度与其安全性、有效性显著相关 [6]。但不同医疗机构血药浓度监测工作开展能力参差不齐,因此,探究一种更简单、环保、低成本并易于普及的监测方法并应用于医疗机构十分必要,该工作的开展有助于实时调整患者给药剂量,提高伏立康唑治疗的安全性及有效性。

3.1 伏立康唑方法学建立与评价

目前国内外监测伏立康唑血药浓度的方法多为高效液相

中,流动相常含缓冲盐 [13],此类流动相需要配制、过滤,且易损坏仪器系统。本实验前期分别考察了甲醇-水、乙腈-水、磷酸盐缓冲液作为流动相时的出峰情况,发现存在不出峰、拖尾等现象,最终通过调整流动相构成及比例,确定甲醇-水 (63:37, V/V) 作为流动相。相较磷酸盐缓冲液,甲醇-水体系更简单、环保,降低了日常维护成本,且该条件下伏立康唑的峰形及分离度较好,无拖尾、无其他杂质峰干扰;内标选择上,部分方法 [14] 以结构类似物 (酮康唑) 为内标,可能存在稳定性及分离度等问题,本文以结构及化学性质稳定的卡马西平为内标,在色谱条件下峰形对称,与伏立康唑分离较好。

在样品预处理环节,固液萃取法成本较高、液液萃取法消耗溶剂较多,蛋白沉淀法所用的溶剂通常为高氯酸和三氟乙酸,2 种物质有较强的氧化性,会导致伏立康唑氧化破坏,同时,强酸条件会对色谱柱造成一定的损害 [15]。本实验经过条件优化发现血浆样品与乙腈体积比为 1:2 时蛋白可完全沉淀,该方法无需萃取和复溶,且更加温和,避免药物降解和对色谱柱的损害。相比液质联用法成本极大降低,易于在医院实验室推广。

3.2 伏立康唑治疗药物监测

治疗药物监测一直以来用于药物治疗方案优化,并已显示出

对患者治疗的益处。目前,伏立康唑的有效浓度范围尚未形成国际共识。非亚洲人群推荐浓度范围大多为 1.0~5.5 $\mu\text{g/mL}$;而以中国为代表的亚洲人群推荐目标浓度范围为 0.5~5.0 $\mu\text{g/mL}$ ^[1,16]。这主要是考虑到血药浓度低于 0.5 $\mu\text{g/mL}$ 显著降低了治疗有效性,血药浓度高于 5.0 $\mu\text{g/mL}$ 时亚洲患者肝毒性发生率升高^[17]。因此实验室将血药浓度范围确定为 0.5~5.0 $\mu\text{g/mL}$ 。该项目实施初期药师发现血药浓度未在目标浓度范围内患者占比较高,为实现尽早干预,制定了伏立康唑的个体化给药监护路径,在初始给药方案制定中考患者肝功能及药物相互作用对血药浓度的影响。本研究结果发现,57 例患者中有 8 例血药浓度未在有效目标浓度范围内,6 例血药浓度高于浓度上限,其中 5 例为 ICU 患者,而 ICU 患者平均血药浓度为(4.01 $\pm$ 2.56) $\mu\text{g/mL}$ 。分析原因主要有以下几点:一是 ICU 患者病情较重,基础疾病复杂,住院期间脏器功能有所下降,伏立康唑在体内的代谢能力降低;二是 ICU 患者炎症指标水平较高,影响药物代谢能力^[18];三是 ICU 患者营养状态较差,蛋白水平较低,游离药物浓度较正常患者升高^[19]。本研究发现 ICU 患者血药浓度水平可能会处于较高水平,故针对此类患者更应该开展治疗药物监测工作,以降低浓度过高导致的肝损伤、视觉障碍及神经毒性等不良反应发生率。此外,2 例患者血药浓度低于浓度下限,考虑原因为此 2 例患者均联合使用糖皮质激素,作为细胞色素 P450 酶的诱导剂,糖皮质激素能诱导伏立康唑代谢,导致血药浓度偏低^[20]。药师对上述浓度未在治疗范围内的患者进行给药方案调整后复测血药浓度,血药浓度达标率明显提高,表明通过治疗药物监测结果进行个体化用药能显著提高疗效和安全性。

综上所述,本研究成功建立了一种操作简便、经济环保、准确可靠的 UPLC 法,用于测定人血浆中伏立康唑的浓度。该方法在专属性、线性范围、精密度、回收率及稳定性等方面均符合生物样本分析要求,适用于医疗机构开展伏立康唑治疗药物监测工作。此外,伏立康唑的个体化用药监护路径能实现早期干预,指导剂量调整,从而提高治疗效果并降低不良反应发生风险。未来研究可进一步优化色谱条件以提高检测效率,并结合基因分型等深入探讨影响血药浓度的因素,为伏立康唑的精准用药提供更全面的依据。

参考文献

[1] 陈恳,张相林,克晓燕,等.《伏立康唑个体化用药指南》解读[J]. 临床药物治疗杂志,2019,17(3): 47-52, 78.

[2] BRÜGGEMANN R J M, DONNELLY J P, AARNOUTSE R E, et al. Therapeutic drug monitoring of voriconazole[J]. Ther Drug Monit, 2008, 30(4): 403-411.

[3] LI X Q, HU Q Z, XU T. Associated factors with voriconazole plasma concentration: a systematic review and meta-analysis[J]. Front Pharmacol, 2024, 15: 1368274.

[4] MORIYAMA B, OBENG A O, BARBARINO J, et al. Clinical pharmacogenetics implementation consortium (CPIC) guidelines for CYP2C19 and voriconazole therapy[J]. Clin Pharmacol Ther, 2017, 102(1): 45-51.

[5] JIANG L, LIN Z Q. Voriconazole: a review of adjustment programs guided by therapeutic drug monitoring[J]. Front Pharmacol, 2024, 15: 1439586.

[6] 陈瑶,陈思宇,白杨娟,等. 1 630 例患者伏立康唑血药浓度监测结果的分析[J]. 华西药理学杂志, 2024, 39(6): 685-688.

[7] GIRTON M, TOMSIG J, BAZYDLO L. Triazole antifungal quantification for therapeutic drug monitoring in serum by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS): posaconazole, voriconazole, itraconazole, and hydroxyitraconazole[J]. Methods Mol Biol, 2024, 2737: 55-65.

[8] YAMAMOTO T, ISHIDA M, KODAMA N, et al. Development of a new method for simultaneous quantitation of plasma concentrations of voriconazole and voriconazole N-oxide using column-switching LC-MS/MS and its application in therapeutic drug monitoring[J]. Yonago Acta Med, 2023, 66(3): 365-374.

[9] KAILASAM V, DASGUPTA O, MANNANGATTY T, et al. A novel HPLC method for simultaneous estimation of natamycin and voriconazole for ocular drug delivery applications[J]. J Pharm Biomed Anal, 2025, 257: 116705.

[10] 庄奕筠,张吟,许秋霞,等. 超高效液相色谱法测定人血浆中伏立康唑浓度[J]. 海峡药学, 2021, 33(7): 79-82.

[11] 肖雄,李月,胡锦芳,等. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定人血浆中的塞利尼索、维奈克拉、伏立康唑及泊沙康唑[J]. 色谱, 2026, 44(3): 349-356.

[12] PEÑA-LORENZO D, REBOLLO N, SÁNCHEZ-HERNÁNDEZ J G, et al. Comparison of ultra-performance liquid chromatography and ARK immunoassay for therapeutic drug monitoring of voriconazole[J]. Ann Clin Biochem, 2021, 58(6): 657-660.

[13] 朱丽莎,苏强,唐春梅. 高效液相色谱法测定人血浆中伏立康唑浓度[J]. 中国药业, 2024, 33(13): 56-58.

[14] 李强,邓艳辉,段萍萍,等. 在线固相萃取——高效液相色谱法测定人血浆中伏立康唑浓度[J]. 中国临床药理学杂志, 2019, 35(24): 3234-3236.

[15] 李学娟,刘四喜,陈泽彬,等. 高效液相色谱法测定人血浆中伏立康唑的浓度[J]. 中国药房, 2017, 28(32): 4499-4502.

[16] TAKESUE Y, HANAI Y, ODA K, et al. Clinical practice guideline for the therapeutic drug monitoring of voriconazole in non-Asian and Asian adult patients: consensus review by the Japanese Society of Chemotherapy and the Japanese Society of Therapeutic Drug Monitoring[J]. Clin Ther, 2022, 44(12): 1604-1623.

[17] LIAO R Q, ZHENG X Y. Updating the traditional voriconazole trough concentration range[J]. Lancet Infect Dis, 2026, 26(2): e79.

[18] LI X J, LAI F Y, JIANG Z H, et al. Effects of inflammation on voriconazole levels: a systematic review[J]. Br J Clin Pharmacol, 2022, 88(12): 5166-5182.

[19] TAKAHASHI T, JABER M M, SMITH A R, et al. Predictive value of C-reactive protein and albumin for temporal within-individual pharmacokinetic variability of voriconazole in pediatric patients undergoing hematopoietic cell transplantation[J]. J Clin Pharmacol, 2022, 62(7): 855-862.

[20] JIA S J, GAO K Q, HUANG P H, et al. Interactive effects of glucocorticoids and cytochrome P450 polymorphisms on the plasma trough concentrations of voriconazole[J]. Front Pharmacol, 2021, 12: 666296.

(收稿日期:2025-10-21 修回日期:2026-03-23)