

· 研究报告 ·

梗阻性黄疸对患者体内右美托咪定药动学的影响

段 虎, 李盛建, 周艳卿, 杨俊炜, 赵 亮, 李群英 (上海市宝山区罗店医院, 上海 201908)

[摘要] **目的** 建立超高效液相色谱-串联质谱法测定人血浆右美托咪定的浓度, 评价梗阻性黄疸对患者体内右美托咪定药动学参数的影响。**方法** 样品经液-液萃取后测定, 色谱柱为 Agilent Eclipse Plus C₁₈, 流动相为甲醇-0.1% 甲酸水溶液, 流速为 0.2 ml/min, 柱温为 35 °C, 质谱检测采用动态多反应离子检测模式。**结果** 人血浆中右美托咪定在 0.01 ~ 10.00 ng/ml 浓度范围内线性关系良好, 日内和日间精密度均小于 15.00%, 提取回收率为 85.5% ~ 93.1%, 基质效应为 91.2% ~ 95.6%, 样品在分析期间稳定性良好。与对照组相比, 梗阻性黄疸患者体内右美托咪定药动学参数 c_{max} 、 $AUC_{(0-t)}$ 、 $AUC_{(0-\infty)}$ 和 V_z 分别增加 63.4%、78.9%、66.4%、82.5%; CL_z 降低 42.1%。**结论** 该方法结果准确, 灵敏度高, 重现性好, 适用于检测人血浆右美托咪定的浓度; 梗阻性黄疸患者体内右美托咪定消除减慢。

[关键词] 超高效液相色谱-串联质谱; 梗阻性黄疸; 右美托咪定; 药动学

[中图分类号] R969.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2021)01-0073-04

[DOI] 10.12206/j.issn.1006-0111.202003085

Effect of obstructive jaundice on pharmacokinetics of dexmedetomidine in vivo

DUAN Hu, LI Shengjian, ZHOU Yanqing, YANG Junwei, ZHAO Liang, LI Qunying (Department of Pharmacy, Luodian Hospital of Baoshan District, Shanghai 201908)

[Abstract] **Objective** To establish a UPLC-MS/MS method for the determination of dexmedetomidine in human plasma and investigate the effect of obstructive jaundice on pharmacokinetics of dexmedetomidine in vivo. **Methods** Samples were obtained by liquid-liquid extraction. Agilent Eclipse Plus C₁₈ column was used for chromatograph with methanol and 0.1% formic acid-water solution as mobile phase. Flow rate was 0.2 ml/min. The column temperature was 35 °C, and the MS detection was selected in MRM mode. **Results** The calibration curves of dexmedetomidine showed good linearity in the ranges of 0.01–10.00 ng/ml. The results of intra and inter-day precisions were both within 15%. The recovery rate was 85.5%–93.1%. Matrix effect was 91.2%–95.6%. Samples remained stable during analysis. Compared with the control group, c_{max} 、 $AUC_{(0-t)}$ 、 $AUC_{(0-\infty)}$ and V_z of dexmedetomidine in the patients with obstructive jaundice were increased by 63.4%, 78.9, 66.4%, 82.5%, respectively ($P < 0.01$). CL_z was decreased by 42.1%. **Conclusion** This method is accurate, sensitive and reproducible. It is suitable for dexmedetomidine assay in human plasma. The elimination rate of dexmedetomidine is slower in obstructive jaundice.

[Key words] UPLC-MS/MS; obstructive jaundice; dexmedetomidine; pharmacokinetics

右美托咪定是一种 α -2 肾上腺素受体激动剂, 由于它对认知功能、血流动力学稳定性和呼吸的影响较小, 已被广泛用作麻醉辅助剂用于抗焦虑、镇静、术后镇痛等^[1-2]。在临床上, 我们发现达到相同镇静效果, 梗阻性黄疸患者使用右美托咪定的用量低于非黄疸者, 故猜测梗阻性黄疸患者使用该药有可能影响其药动学特征。目前, 在婴儿、儿童、成人以及在肥胖和低蛋白血症人群中已有右美托咪定的药动学报道^[3-6], 而对梗阻性黄疸患者相关研究甚

少。因此, 本研究通过测定患者体内药物浓度, 探讨梗阻性黄疸对右美托咪定药动学的影响。

目前已有多种分析方法用于测定血浆中的右美托咪定, 包括高效液相色谱法、气相色谱-串联质谱法、高效液相色谱-串联质谱法^[7-9], 但这些方法存在分析时间长、灵敏度低、回收率低等缺点。本研究建立一种快速、灵敏、稳定的超高效液相色谱-串联质谱法测定人血浆右美托咪定的浓度, 为右美托咪定药动学研究提供一种可靠的分析方法。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Agilent 1290 Infinity II 液相色谱仪、Agilent 6470 三重四级杆质谱仪 (Agilent Technologies, 美国); 真

[作者简介] 段 虎, 主管药师, 研究方向: 临床药理学, Email: duanhu62216@163.com

[通信作者] 李群英, 主管药师, 研究方向: 医院药理学, Email: ldyyyjk2015@sina.com

空浓缩旋转仪、低温高速离心机(Thermo, 德国); XW 80A型涡旋混合器(医大仪器, 上海); Mettler AE240十万分之一电子天平(梅特勒-托利多, 瑞士); Millipore-Q超纯去离子水净化仪(Millipore, 美国)。

1.2 试药

右美托咪定对照品(批号: 100523-201301)、卡马西平对照品(批号: 100142-201706)(中国食品药品检定研究院); 甲醇(色谱纯, 美国Merck公司); 甲酸(色谱纯, SIGMA公司); 乙酸乙酯(分析纯, 江苏强盛功能化学股份有限公司)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱为 Agilent Eclipse Plus C₁₈ RRHD column (2.1 mm×50 mm, 1.8 μm), 甲醇-0.1% 甲酸水 (75 : 25) 为流动相, 流速 0.2 ml/min, 柱温: 35 °C, 进样量 2 μl, 运行时间 1.5 min。

2.2 质谱条件

采用 AJS ESI 正离子模式, 多反应离子监测模式 (MRM) 进行二级扫描; 动态反应监测的离子对参数: 右美托咪定 201→95; 卡马西平 237→194。离子源参数设置: 干燥气温度 350 °C; 干燥气流速 10 L/min; 雾化器压力 40 psi; 鞘气温度 400 °C; 鞘气流速 11 L/min; 毛细管电压 4000 V; 喷嘴电压 500 V。右美托咪定保留时间为 0.9 min, 内标保留时间为 1.1 min, 色谱图如图 1 所示。

2.3 标准曲线溶液的配制和质控样品的制备

精密称取右美托咪定对照品 10.00 mg, 置于 10 ml 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 得质量浓度为 1.00 mg/ml 对照品储备液。再采用逐级稀释法配置质量浓度为 0.01、0.05、0.1、0.5、1.00、5.00、10.00 ng/ml 的系列对照品血浆溶液; 随

行质控样品中右美托咪定的低、中、高质量浓度分别为 0.05、0.50、5.00 ng/ml。以上溶液量于 4 °C 冰箱备用。

2.4 血浆样品前处理方法

取 200 μl 血浆样品于离心管中, 加入 20 μl 内标溶液、20 μl NaOH (1 mol/L) 溶液和 1 ml 乙酸乙酯-氯甲烷 (4 : 1, V/V) 提取溶剂, 涡旋 60 s, 4 °C 条件下 3000×g 离心 10 min, 取上清液 800 μl 加入离心管中, 真空浓缩干燥, 加入 100 μl 流动相溶液, 涡旋 30 s 使残渣溶解, 4 °C 条件下 3000×g 离心 10 min, 取上清液进样。

2.5 线性关系考察

按“2.3”和“2.4”项中的方法制备标准曲线, 平行操作 5 份, 按上述 UPLC-MS/MS 条件, 连续进样分析, 以对照品浓度 (X) 为横坐标, 右美托咪定的峰面积与内标的峰面积比值 (Y) 为纵坐标, 进行线性回归, 得线性方程: $Y=1.3072X-0.0156$, $r=0.9998$ ($r=0.9999$), 线性范围为 0.01 ~ 10.00 ng/ml, 以信噪比为 5 时 (S/N=5) 测得右美托咪定的最低定量限为 10 pg/ml, 以信噪比为 3 时 (S/N=3) 测得右美托咪定的最低检测限为 5 pg/ml。

2.6 精密度与准确度试验

按“2.3”和“2.4”项中的方法制备低、中、高 3 种浓度的质控样品, 平行操作 5 份, 连续 3 d, 计算实测浓度。如表 1 所示, 精密度用相对标准偏差 (RSD%) 表示, 结果日内精密度 $RSD\% \leq 5.9\%$ 、日间精密度 $RSD\% \leq 5.8\%$; 准确度以相对回收率表示, 实测浓度与理论加入浓度的比值即为相对回收率。结果表明日内、日间结果准确度范围在 91.2% ~ 105.6%。

2.7 基质效应和提取回收率

按“2.3”和“2.4”项中的方法制备低、中、高 3 种浓度含药血浆, 平行操作 5 份, 其待测物的峰

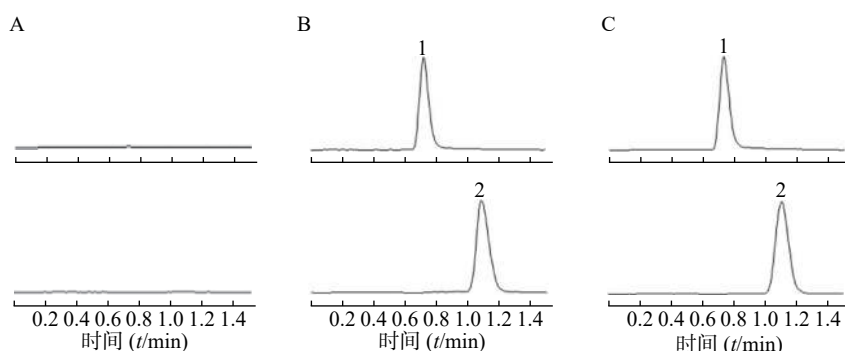


图 1 血浆中右美托咪定和内标卡马西平的色谱图

A. 空白血浆; B. 质控样品; C. 人血浆样品; 1. 右美托咪定; 2. 内标卡马西平

表1 右美托咪定在人血浆中的精密度和准确度 (n=5)

浓度(ng/ml)	日内			日间		
	实测浓度(pg/ml)	精密度(%)	准确度(%)	实测浓度(pg/ml)	精密度(%)	准确度(%)
0.05	52.78±3.12	5.9	105.6	51.13±2.97	5.8	102.2
0.50	455.84±13.30	2.9	91.2	455.82±10.04	2.2	91.2
5.00	4939.46±33.17	0.7	98.8	4970.33±144.57	2.9	99.4

面积作为 Set 3;取空白人血浆按“2.4”项下处理,甲醇代替内标溶液,真空浓缩干燥后加入相应浓度对照品溶液使残渣溶解,使之浓度与 Set 3 的待测理论浓度一致,分别制备 5 份,其峰面积作为 Set 2;将待测化合物标准溶液用甲醇稀释,使之与 Set 3 待测理论浓度一致,进样 5 次,其峰面积作为 Set 1。基质效应为 Set 2/Set 1,提取回收率计算公式为 Set 3/Set 2,考察内标的基质效应和提取回收率操作步骤同上。低、中、高 3 种浓度待测物及内标提取回收率均在 85.5%~93.1% 之间,基质效应均在 91.2%~95.6% 之间,具体结果见表 2。

表2 待测物基质效应和提取回收率 (n=5)

待测物	浓度(ng/ml)	提取回收率(%)	基质效应(%)
右美托咪定	0.05	87.7±s7.1	95.6±6.1
	0.50	90.5±5.4	94.3±8.3
	5.00	93.1±4.2	91.2±7.9
内标	10.00	85.5±6.8	94.5±6.6

2.8 稳定性试验

按“2.3”和“2.4”项中的方法制备低、中、高 3 种浓度含药血浆,分别考察样品室温放置 6 h 后处理,样品前处理后室温放置 24 h,3 次冻融循环以及-80℃保存 30 d 的稳定性,按“1.9”项操作测定样品浓度,计平均值,并计算 RSD% 及相对偏差 RE%,测定结果的 RE 范围为 95.4%~103.5%,RSD 均小于 15%,表明样本稳定性良好。

2.9 右美托咪定药动力学研究

选取拟进行胆管手术的患者 19 名。根据术前血清总胆红素水平,分为黄疸组(n=11,平均年龄 60.5 岁,体重 60.1 kg,身高 159.8 cm)和对照组(n=8,平均年龄 60.5 岁,体重 60.1 kg,身高 159.8 cm)。术前静脉输注右美托咪定(剂量为 1.0 μg/kg),给药后使用含 EDTA 的采血管收集患者静脉血,采血时间点为 0、0.5、1、2、3、5、10、12、15、20、30、40、60、90、120、180、240、300 min。血样经低温离心后,取其上清液于-80℃冰箱保存。待收集所有患

者血浆后,使用本研究建立的 UPLC-MS/MS 法测定样品中右美托咪定的浓度。通过 WinNonlin 7.0 软件,非房室模型计算药动力学参数,绘制平均血药浓度-时间曲线,如图 2 所示。使用 SPSS 13.0 软件,t-test 分析比较两组数据的差异,结果见表 3,与非黄疸组相比,梗阻性黄疸患者体内右美托咪定药动力学参数 c_{max} 增加 63.4%($P<0.01$), $AUC_{(0-t)}$ 、 $AUC_{(0-\infty)}$ 和 V_z 分别增加 78.9%、66.4%、82.5%($P<0.005$), CL_z 降低 42.1%($P<0.05$)。结果显示,梗阻性黄疸患者体内右美托咪定消除减慢。

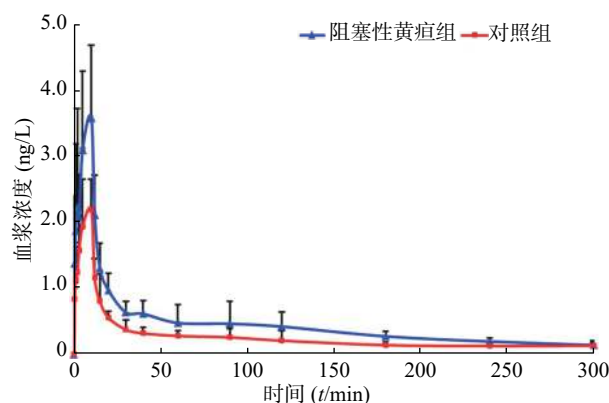


图2 右美托咪定在患者体内的平均血药浓度-时间曲线

3 讨论

本文所建立的 UPLC-MS/MS 法快速、灵敏、稳定,能应用于右美托咪定血浆样品的高通量分析。右美托咪定主要在肝脏发生生物转化^[10],梗阻性黄疸可引起一定程度的肝功能异常(如药物代谢酶系统改变、胆管排泄功能受损、低蛋白血症)。根据总胆红素水平,将入组患者分为黄疸组(总胆红素水平>17.1 μmol/L)和非黄疸组(总胆红素水平<17.1 μmol/L)。本试验发现黄疸组患者右美托咪定的 c_{max} 、 $AUC_{(0-t)}$ 、 $AUC_{(0-\infty)}$ 和 V_z 显著升高, CL_z 显著降低。结果提示,黄疸组与非黄疸组患者对右美托咪定药物处置存在差异,梗阻性黄疸可能会降低右美托咪定在患者体内的消除速度。该试验为右旋美托咪定在梗阻性黄疸患者中的临床使用剂量提供了一定的参考依据。

表3 患者静脉推注右美托咪定后的平均药动学参数

参数	对照组	阻塞性黄疸组	P值
c_{\max} (ng/ml)	2.43±0.39	3.97±1.00	<0.01
t_{\max} (t/min)	8.13±2.59	7.91±3.02	NS
$t_{1/2}$ (t/min)	146.72±82.28	135.10±49.92	NS
CLz/F (ml·min ⁻¹ ·kg ⁻¹)	10.20±2.34	6.10±1.05	<0.001
AUC _(0-t) (ng·min·ml ⁻¹)	77.70±15.15	139.16±40.59	<0.005
AUC _(0-∞) (ng·min·ml ⁻¹)	101.94±19.68	169.58±36.62	<0.001
AUMC _(0-∞) (ng·min ² ·ml ⁻¹)	19 068.07±12 619.6	27 436.85±10 299.48	NS
Vz(ml/kg)	2 072.09±904.67	1 199.87±454.79	<0.05
MRT _(0-∞) (t/min)	172.4±86.81	159.96±60.01	NS

注: c_{\max} : 血峰浓度, t_{\max} : 达峰时间, $t_{1/2}$: 半衰期, CLz/F: 清除率, AUC_(0-t): 药时曲线面积_(0-t), AUC_(0-∞): 药时曲线面积_(0-∞), AUMC_(0-∞): 一阶药时曲线面积_(0-∞), Vz: 表观分布容积, MRT_(0-∞): 平均驻留时间。

【参考文献】

- [1] 马波, 刘志恒, 王显春. 右美托咪定镇痛的临床应用进展[J]. 临床麻醉学杂志, 2018, 34(11): 1136-1139.
- [2] KEATING G M. Dexmedetomidine: a review of its use for sedation in the intensive care setting[J]. *Drugs*, 2015, 75: 1119-1130.
- [3] 蔺娜, 任晓莉. 右美托咪定在不同肥胖程度患者体内的药代动力学特点比较[J]. 黑龙江医药, 2017, 30(4): 836-838.
- [4] LIU H C, LIAN Q Q, WU F F, et al. Population pharmacokinetics of dexmedetomidine after short intravenous infusion in Chinese children[J]. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*, 2017, 42(2): 201-211.
- [5] KUANG Y, XIANG Y X, GUO C X, et al. Population pharmacokinetics study of dexmedetomidine in Chinese adult patients during spinal anesthesia[J]. *Int J Clin Pharmacol Ther*, 2016, 54(3): 200-207.
- [6] ZHANG T, DENG Y X, HE P, et al. Effects of mild hypoalbuminemia on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of dexmedetomidine in patients after major abdominal or thoracic surgery[J]. *J Clin Anesth*, 2015, 27(8): 632-637.
- [7] CUI Z, CHOW D S, WU L, et al. High performance liquid chromatography-tandem mass spectrometric assay of dexmedetomidine in plasma, urine and amniotic fluid samples for pregnant ewe model[J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2014, 961: 13-19.
- [8] 王瑞花, 刘锐, 栾玉静, 等. 固相萃取-气相色谱-质谱法检验人血浆中的右美托咪定[J]. 中国法医学杂志, 2017, 32(5): 497-499.
- [9] 李鸿雁, 张顺利, 刘珍仁, 等. HPLC法测定盐酸右美托咪定有关物质[J]. 药物分析杂志, 2015, 35(12): 2193-2198.
- [10] LI A W, YUEN V M, GOULAY-DUFAY S, et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of dexmedetomidine[J]. *Drug Dev Ind Pharm*, 2016, 42(12): 1917-1927.
- [收稿日期] 2020-03-12 [修回日期] 2020-06-08
[本文编辑] 李春德
- ~~~~~
- (上接第 48 页)
- [9] 戎晨亮, 侯立峰, 黄海龙, 等. 温敏性SA/P(NIPAM-co-AM)水凝胶分子运动的固体核磁共振研究[J]. 功能高分子学报, 2018(10): 1-9.
- [10] 李芮. 基于壳聚糖大分子交联剂的双交联温敏性高强度水凝胶的制备与性能[D]. 青岛: 青岛大学, 2017.
- [11] 陈可可. 胶原/聚甲基丙烯酸-2-羟乙酯多孔水凝胶的研究[D]. 郑州: 郑州大学, 2018.
- [12] 赵爱杰, 原续波, 常津. O-羧甲基壳聚糖的制备及应用研究进展[J]. 高分子通报, 2004(4): 59-63.
- [13] 郎铁咏, 王强, 姜同英, 等. 温敏接枝共聚物瓜耳胶-g-异丙基丙烯酸酰胺水凝胶胰岛素埋植剂[J]. 沈阳药科大学学报, 2009, 26(11): 845-848.
- [14] 高凤苑, 关欣, 韩良亮, 等. 木薯淀粉水凝胶负载姜黄素及缓释[J]. 食品与发酵工业, 2019(2): 1-9.
- [15] NORDQUIST L, ROXHED N, GRISS P, et al. Novel microneedle patches for active insulin delivery are efficient in maintaining glycaemic control: an initial comparison with subcutaneous administration[J]. *Pharm Res*, 2007, 24(7): 1381-1388.
- [16] LIU S, JIN M N, QUAN Y S, et al. The development and characteristics of novel microneedle arrays fabricated from hyaluronic acid, and their application in the transdermal delivery of insulin[J]. *J Control Release*, 2012, 161(3): 933-941.
- [收稿日期] 2020-05-30 [修回日期] 2020-12-23
[本文编辑] 李睿旻