

UHPLC-MS/MS 同时检测人血浆中 5 种麻醉药物

李思盈¹, 张明丽², 陈小云^{1*} (1.广西医科大学附属武鸣医院麻醉科, 南宁 530199; 2.广西壮族自治区药品监督管理局, 南宁 530029)

摘要: 目的 建立 UHPLC-MS/MS 同时检测人血浆中瑞芬太尼、舒芬太尼、依托咪酯、右美托咪定、地佐辛 5 种麻醉药物的分析方法, 为指导临床用药提供参考。方法 血浆样品经乙腈沉淀蛋白质后进样分析, 以普鲁卡因为内标, 采用 Agilent Poroshell 120 EC-C₁₈(2.1 mm×150 mm, 2.7 μm) 色谱柱进行色谱分离; 以甲醇-10 mmol·L⁻¹ 甲酸铵溶液(28:72, 用甲酸调节 pH 至 3.5) 为流动相, 流速 0.2 mL·min⁻¹; 采用电喷雾电离源正离子检测模式, 以多反应监测方式进行分析。结果 人血浆中瑞芬太尼、舒芬太尼、依托咪酯、右美托咪定、地佐辛分别在 0.25~25.32($r=0.9987$), 0.27~27.48($r=0.9992$), 1.54~154.05($r=0.9995$), 0.51~51.35($r=0.9992$), 0.56~56.19($r=0.9988$) ng·mL⁻¹ 内线性关系良好。日内和日间精密度 RSD 均 <10.0%, 提取回收率均处于 92.8%~107.3% 之间。该方法成功应用于 30 例临床患者血浆样本分析。结论 该方法操作简单快速、灵敏度高、专属性高且稳定, 适用于人血浆中瑞芬太尼、舒芬太尼、依托咪酯、右美托咪定、地佐辛 5 种麻醉药物的分析, 能够服务于临床治疗药物监测。

关键词: 瑞芬太尼; 舒芬太尼; 依托咪酯; 右美托咪定; 地佐辛; 超高压高效液相色谱-串联质谱法; 血药浓度

中图分类号: R917.101 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2022)03-0364-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2022.03.013

引用本文: 李思盈, 张明丽, 陈小云. UHPLC-MS/MS 同时检测人血浆中 5 种麻醉药物[J]. 中国现代应用药学, 2022, 39(3): 364-369.

Simultaneous Determination of 5 Anesthetics in Human Plasma by UHPLC-MS/MS

LI Siying¹, ZHANG Mingli², CHEN Xiaoyun^{1*} (1. Department of Anesthesiology, Wuming Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530199, China; 2. Guangxi Zhuang Autonomous Region Market Supervision and Administration Bureau, Nanning 530029, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish UHPLC-MS/MS method for simultaneous determination of the concentrations of remifentanyl, sufentanyl, etomidate, dexmedetomidine, dezocine in human plasma to provide reference for clinical drug use. **METHODS** The plasma samples were precipitated by acetonitrile, procaine was used as internal standard, and separated on Agilent Poroshell 120 EC-C₁₈(2.1 mm×150 mm, 2.7 μm) with the mobile phase of methanol and 10 mmol·L⁻¹ ammonium formate solution(pH was adjusted to 3.5 with formic acid)(28:72) at a flow rate of 0.2 mL·min⁻¹. Multiple reaction monitoring was conducted in ion detection mode using positive electrospray ionization source. **RESULTS** The linear calibration curves of remifentanyl, sufentanyl, etomidate, dexmedetomidine and dezocine were obtained in the concentration range of 0.25~25.32($r=0.9987$), 0.27~27.48($r=0.9992$), 1.54~154.05($r=0.9995$), 0.51~51.35($r=0.9992$), 0.56~56.19($r=0.9988$)ng·mL⁻¹, respectively. The intra- and inter-day precision RSD was <10.0% and the absolute recovery was between 92.8% and 107.3%. This method was successfully applied to analyze the drugs in human plasma from thirty clinical samples. **CONCLUSION** The method is rapid, accurate, sensitive and reliable for determination of the concentrations of remifentanyl, sufentanyl, etomidate, dexmedetomidine, dezocine in human plasma, and proves to be suitable for clinical therapeutic drug monitoring.

KEYWORDS: remifentanyl; sufentanyl; etomidate; dexmedetomidine; dezocine; UHPLC-MS/MS; plasma concentration

舒芬太尼、瑞芬太尼、依托咪酯、右美托咪定、地佐辛均为临床上常用的静脉麻醉药, 可单用, 也可联合使用。目前, 复合麻醉是临床上应用较多的一种麻醉方式, 它可以避免由于单独使用 1 种麻醉药物剂量过大而带来的不良反应^[1]。地佐辛、舒芬太尼与瑞芬太尼均为阿片类镇痛药, 如三者合用, 则地佐辛和舒芬太尼可以防治瑞芬太尼引起的疼痛过敏, 降低疼痛评分^[2]。右美托咪

定是一种高选择性的 α₂ 肾上腺素受体激动剂, 其作用主要为镇静、镇痛、抗焦虑以及抑制交感神经活性, 与阿片类镇痛药物复合使用可以提高术后镇痛效果, 减少阿片类药物用量, 从而减少不良反应的发生^[3-4]。依托咪酯为非巴比妥类静脉麻醉药, 具有快速起效、快速苏醒等优点, 但是它诱导插管时所致的血压、心率增加等心血管不良反应亦较为突出, 因此常与右美托咪定联合用药^[5]。

作者简介: 李思盈, 男, 副主任医师 E-mail: 774942338@qq.com

*通信作者: 陈小云, 男, 主任医师 E-mail: 386769969@qq.com

目前国内外未曾报道同时测定人血浆中瑞芬太尼、舒芬太尼、依托咪酯、右美托咪定、地佐辛等 5 种麻醉药物浓度的方法。液相色谱-质谱联用技术发挥了液相色谱仪对复杂样品的超高分离能力和质谱仪的高灵敏度、高专属性的特点^[6], 目前已被广泛应用于药物的血药浓度测定^[7-10]。本试验建立了同时测定人血浆中 5 种麻醉药物的 UHPLC-MS/MS 方法, 为治疗药物监测及调整个体用药提供参考。

1 材料

UHPLC 1290 超高压液相色谱仪-6460QQQ 质谱联用仪(美国 Agilent 公司), 色谱柱为 Agilent Poroshell 120 EC-C₁₈(2.1 mm×100 mm, 2.7 μm); BP211 型电子分析天平(瑞士梅特勒公司); Milli-Q 超纯水纯化系统(美国 Millipore 公司); Allegra64R 低温高速离心机(美国 Beckman Coulter 公司)。

对照品地佐辛(纯度: 99.9%; 批号: 171262-202002)、依托咪酯(纯度: 99.8%; 批号: 101132-201902)、盐酸右美托咪定(纯度: 99.9%; 批号: 100523-202002)、枸橼酸舒芬太尼(纯度: 99.4%; 批号: 171259-201602)、盐酸瑞芬太尼(纯度: 99.9%; 批号: 171260-202002)、内标普鲁卡因(批号: 100424-201603; 含量: 99.2%)均购自中国食品药品检定研究院; 地佐辛注射液(扬子江药业集团有限公司, 批号: 20030331; 规格: 每支 50 mg 或 2 mL); 依托咪酯乳状注射液(江苏恩华药业有限公司, 批号: YT201105; 规格: 每支 20 mg 或 10 mL); 盐酸右美托咪定注射液(四川国瑞药业有限责任公司, 批号: 2001102; 规格: 每支 50 μg 或 1 mL); 枸橼酸舒芬太尼注射液(批号: 01A10081; 规格: 每支 50 μg 或 1 mL); 注射用瑞芬太尼(批号: 00A09131; 规格: 每支 1 mg)均购自宜昌人福药业有限责任公司; 甲酸、甲酸铵、甲醇乙腈、为色谱级; 试验用水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

采用 Agilent Poroshell 120 EC-C₁₈(2.1 mm×150 mm, 2.7 μm) 色谱柱, 以甲醇-10 mmol·L⁻¹ 甲酸铵溶液(28:72, 用甲酸调节 pH 至 3.5) 为流动相, 流速为 0.2 mL·min⁻¹; 柱温 35 °C; 进样量 2 μL。

2.2 质谱条件

采用电喷雾电离源(ESI), 正离子模式, 多反应离子监测(MRM), 毛细管电压 3 000 V, 离子源

温度 350 °C, 雾化器压力 275.8 kPa, 去溶剂气: N₂, 干燥气流速 10 L·min⁻¹, 干燥气温度 300 °C。各待测组分的相关质谱参数见表 1。

表 1 离子对检测参数

Tab. 1 Parameters of ion pairs

序号	成分	定量离子对 (m/z)	定性离子对 (m/z)	裂解电 压/V	碰撞能 量/eV
1	舒芬太尼	386.9→238.0	386.9→355.0	85	15/19
2	瑞芬太尼	377.1→317.2	377.1→285.1	102	12/25
3	依托咪酯	245.0→141.1	245.0→95.0	70	5/13
4	右美托咪定	201.1→95.1	201.1→68.0	100	30/35
5	地佐辛	246.1→97.1	246.1→147.0	80	10/22
6	普鲁卡因	237.0→100.1	237.0→120.1	92	22/26

2.3 对照溶液与质控工作溶液配制

对照品溶液的配制: 分别称取瑞芬太尼、舒芬太尼、依托咪酯、右美托咪定、地佐辛对照品各 10 mg 置不同的 100 mL 量瓶中, 以 50% 甲醇水溶液溶解并稀释至刻度, 均配制成 0.1 mg·mL⁻¹ 的储备液, 放于 4 °C 冰箱避光保存。用 50% 甲醇水溶液稀释成混合对照品溶液后再进一步稀释成系列标准曲线工作液及质控工作液, 标准曲线各分析物质量浓度分别如下: 舒芬太尼、瑞芬太尼质量浓度为 0.25, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0, 10.0, 25.0 ng·mL⁻¹ 的系列工作溶液; 依托咪酯质量浓度为 1.5, 3.0, 6.0, 15.0, 30.0, 60.0, 150.0 ng·mL⁻¹ 的系列工作溶液; 右美托咪定、地佐辛质量浓度为 0.5, 1.0, 2.0, 5.0, 10.0, 20.0, 50.0 ng·mL⁻¹ 的系列工作溶液。低、中、高质控工作溶液各分析物质量浓度分别如下: 舒芬太尼、瑞芬太尼质量浓度为 0.75, 2.5, 18.75 ng·mL⁻¹ 的质控工作溶液; 依托咪酯质量浓度为 4.5, 15.0, 112.5 ng·mL⁻¹ 的质控工作溶液; 地佐辛、右美托咪定质量浓度为 1.5, 5.0, 37.5 ng·mL⁻¹ 的质控工作溶液。

2.4 标准曲线血浆样品及质控样品的制备

精密量取瑞芬太尼、舒芬太尼、依托咪酯、右美托咪定、地佐辛的标准曲线工作液 250 μL, 置 2 mL 离心管中, 加入空白血浆 250 μL, 涡旋 20 s, 制成含待测物系列浓度血浆样本。

2.5 血浆样品处理

精密移取血浆 100 μL 于 2 mL 离心管中, 精密加入 100 μL 内标溶液(0.1 μg·mL⁻¹ 普鲁卡因溶液), 涡旋 20 s, 加入乙腈 800 μL 沉淀蛋白, 涡旋 2 min, 9 000 r·min⁻¹ 离心 15 min, 取上清液 100 μL

至含内衬管进样瓶中, 进样量为 2 μL 。

2.6 方法学考察

2.6.1 方法专属性 取 6 个不同来源的空白人血浆 100 μL 于 2 mL 离心管中, 除不加入内标溶液外, 按“2.5”项下方法操作, 获得空白血浆色谱图, 典型总离子流图见图 1A; 取中质控工作溶液, 按“2.4”项下方法制备得含药血浆, 再按“2.5”项下方法, 制备得瑞芬太尼、舒芬太尼、依托咪酯、右美托咪定、地佐辛与内标物普鲁卡因的色谱图, 其总离子流图见图 1B; 色谱图结果显示, 瑞芬太尼、舒芬太尼、依托咪酯、右美托咪定、地佐辛以及内标在各自的保留时间内无杂质干扰, 血浆内源性物质不干扰 5 个待测物以及内标物的测定, 且峰形良好, 理论板数高, 基线平稳。

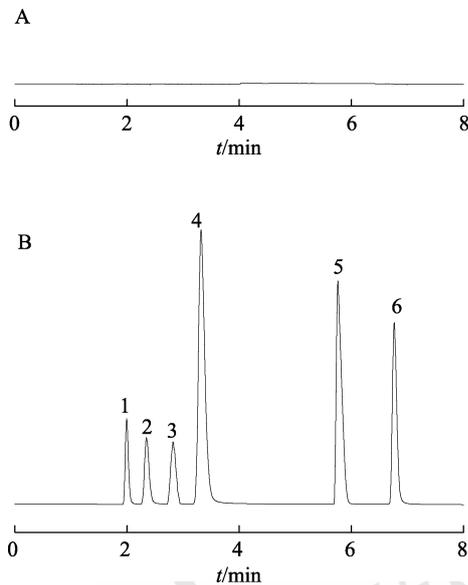


图 1 UHPLC-MS/MS 色谱质谱图

A-空白血浆; B-含药血浆+内标; 1-瑞芬太尼; 2-舒芬太尼; 3-普鲁卡因; 4-依托咪酯; 5-右美托咪定; 6-地佐辛。

Fig. 1 UHPLC-MS/MS chromatographic mass spectrometry A-blank plasma; B-medicated plasma+internal standard; 1-remifentanyl; 2-sufentanyl; 3-procaine; 4-etomidate; 5-dexmedetomidine; 6-dezocine.

2.6.2 线性范围及最低定量限 (lower limit of quantification, LLOQ) 取“2.4”项下方法制备得到的含药标准曲线血浆, 按“2.5”项下方法进行血浆样本处理后进样测定, 以待测物与内标峰面积的比值为纵坐标(y), 以待测物的质量浓度为横坐标(x), 用加权最小二乘法拟合标准曲线(权重因子为 $1/x^2$)。计算地佐辛、依托咪酯、右美托咪定、舒芬太尼、瑞芬太尼的回归方程, 结果表明, 各待测物在相应的线性范围内线性关系良好, 见表

2。5 个待测物的 LLOQ 设定为标准曲线的最低点, 均能满足 $S/N \geq 10$ 的要求。

表 2 5 种麻醉药的保留时间、线性范围、线性方程

Tab. 2 Retention time, linear equations and linear ranges of 5 anesthetics

组分	范围/ $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$	线性方程	r
瑞芬太尼	0.25~25.32	$y=1.0189x-0.0342$	0.9987
舒芬太尼	0.27~27.48	$y=1.8137x+0.0482$	0.9992
依托咪酯	1.54~154.05	$y=1.1798x-0.0473$	0.9995
右美托咪定	0.51~51.35	$y=1.7696x-0.0236$	0.9992
地佐辛	0.56~56.19	$y=0.8686x-0.0149$	0.9988

2.6.3 精密度与准确度 取“2.3”项下的低、中、高质控工作溶液按“2.4”项下方法制成含药血浆后再按“2.5”项下进行血浆样品处理后进样测定, 每个浓度平行制备 6 份, 用随行标准曲线计算相应的质量浓度, 分别考察日和日间(连续 3 d 测定)的精密度与准确度。结果见表 3。结果表明, 各化合物在曲线最低点、低、中、高 4 个质量浓度的日和日内 RSD 均 $< 10.0\%$, 准确度为 $94.1\% \sim 107.7\%$ 。

2.6.4 回收率和基质效应 取“2.3”项下的低、中、高质控工作溶液, 按“2.4”项下方法处理成含药血浆后再按“2.5”项下进行血浆样本制备, 每个浓度平行制备 6 份, 记录待测物的峰面积为 A 。

取空白血浆, 按“2.5”项下的血浆样本处理之后, 精密量取 250 μL , 精密加入“2.3”项下的低、中、高质控工作溶液 250 μL , 涡旋 20 s, 再按“2.5”项下进行血浆样本制备, 每个浓度平行制备 6 份, 记录待测物的峰面积为 B 。

取“2.3”项下的低、中、高质控工作溶液 250 μL , 精密加入 50% 甲醇水溶液 250 μL , 精密移取 100 μL , 按“2.5”项下进行制备, 每个浓度平行制备 6 份, 记录待测物峰面积为 C 。基质效应为 B/C , 方法提取回收率为 $A/B \times 100\%$, 结果见表 4。

精密量取瑞芬太尼、舒芬太尼、依托咪酯、右美托咪定、地佐辛的标准曲线工作液 250 μL , 置 2 mL 离心管中, 加入空白血浆 250 μL , 涡旋 20 s, 制成含待测物系列浓度血浆样本。

2.6.5 稳定性试验 长期存储稳定性: 取在 -20°C 冰箱内储存 1 个月后地佐辛、依托咪酯、右美托咪定、舒芬太尼、瑞芬太尼储备液, 分别按“2.4”项下方法配制成低、中、高质控含药血浆样品,

表 3 5 种麻醉药物测定方法的精密度和准确度($\bar{x} \pm s, n=6$)

Tab. 3 Precision and accuracy of the assay method for 5 anesthetics in human plasma($\bar{x} \pm s, n=6$)

组分	理论浓度/ ng·mL ⁻¹	日内			日间		
		精密度		准确度/%	精密度		准确度/%
		实测浓度/ng·mL ⁻¹	RSD/%		实测浓度/ng·mL ⁻¹	RSD/%	
瑞芬太尼	0.25	0.28±0.01	6.6	107.7	0.26±0.02	8.5	104.6
	0.76	0.76±0.03	6.2	99.8	0.74±0.04	4.9	97.0
	2.53	2.61±0.07	5.0	100.2	2.43±0.11	4.7	96.0
	18.99	18.47±0.73	4.0	97.2	18.66±0.97	5.2	98.3
舒芬太尼	0.27	0.27±0.02	7.3	97.4	0.27±0.01	3.4	97.3
	0.82	0.82±0.02	4.2	99.9	0.81±0.02	2.8	98.2
	2.75	2.66±0.10	4.5	95.3	2.67±0.05	2.6	95.9
	20.61	19.97±0.67	3.7	96.9	20.16±0.27	1.4	97.8
依托咪酯	1.54	1.55±0.08	6.4	100.6	1.47±0.07	4.6	95.4
	4.62	4.53±0.10	3.1	98.0	4.42±0.10	2.2	95.6
	15.40	14.64±0.52	3.7	95.0	14.71±0.39	2.6	95.5
	115.53	112.71±3.24	2.9	97.6	114.22±3.78	3.3	98.9
右美托咪定	0.52	0.55±0.03	6.5	105.6	0.52±0.03	5.2	100.3
	1.55	1.57±0.03	5.0	101.0	1.49±0.04	2.6	96.2
	5.17	4.98±0.15	3.1	96.3	4.91±0.16	3.2	94.9
	38.81	39.02±0.71	3.5	98.1	39.15±1.00	2.5	100.9
地佐辛	0.56	0.58±0.03	5.3	103.8	0.59±0.03	5.0	105.8
	1.69	1.67±0.03	3.8	98.9	1.74±0.04	2.2	103.3
	5.62	5.30±0.16	2.9	94.3	5.29±0.10	1.8	94.1
	42.15	41.52±2.27	2.5	98.5	41.50±0.69	1.7	98.5

表 4 5 种麻醉药的基质效应、回收率和稳定性

Tab. 4 Matrix effect, recovery and stability of 5 anesthetics

组分	理论浓度/ ng·mL ⁻¹	基质效应/% (n=6)	回收率/% (n=6)	稳定性 RSD/(n=3)		
				20 °C	24 h 室温	反复冻融 3 次
瑞芬太尼	0.76	100.2	93.8	7.7	8.3	3.5
	2.53	102.3	97.4	5.8	4.6	1.8
	18.99	97.5	99.8	3.5	1.9	0.9
舒芬太尼	0.82	96.5	92.8	2.8	2.8	5.2
	2.75	99.8	93.3	5.9	4.4	3.3
	20.61	94.5	97.9	1.7	2.9	2.4
依托咪酯	4.62	99.5	102.8	4.1	5.8	7.1
	15.40	95.6	107.3	3.5	2.2	2.3
	115.53	103.4	99.4	1.5	1.3	2.3
右美托咪定	1.55	97.1	96.5	7.5	5.2	4.8
	5.17	94.7	97.6	6.4	2.6	3.5
	38.81	95.8	94.3	3.4	0.9	1.8
地佐辛	1.69	99.3	95.5	6.6	6.0	7.5
	5.62	98.5	96.8	2.1	2.2	3.4
	42.15	100.2	100.8	0.9	1.3	2.1

每一个浓度平行制备 3 份, 按“2.5”项下方法处理后进样, 采用当日新鲜配制的标准曲线计算放置 1 个月的储备液中待测物浓度, 并计算浓度的偏差。

自动进样器放置 24 h 稳定性考察: 取“2.3”项下的低、中、高质控工作溶液, 按“2.4”项下

方法处理成含药血浆后再按“2.5”项下进行血浆样本制备, 每个浓度平行制备 3 份, 放置于自动进样器 24 h 后进样测定, 采用当日新鲜配制的标准曲线计算待测物的浓度, 并计算浓度的偏差。

血浆样本反复冻存稳定性考察: 取“2.3”项下的低、中、高质控工作溶液按“2.4”项下方法

处理成含药血浆后,置-20℃冰箱冷冻,取出后室温放置融化,反复3次,再按“2.5”项下进行血浆样本制备,每个浓度平行制备3份,进样测定后采用当日新鲜配制的标准曲线计算待测物的浓度,并计算浓度的偏差。

5种麻醉药物稳定性试验结果见表4。结果表明长期冷冻放置血浆样品、分析测试放置过程中以及血浆样品反复冻融后样品RSD为0.9%~8.3%,较为稳定,各种贮存条件不影响本方法对样品浓度进行准确测定。

3 临床应用

本方案经广西医科大学附属武鸣医院伦理委员会批准,共入选广西医科大学附属武鸣医院收治的30例拟进行腹腔镜胆囊切除术的患者(男18例,女12例),均采用瑞芬太尼、舒芬太尼、依托咪酯、右美托咪定、地佐辛等5种药物进行全身麻醉并复合双侧腹横肌平面阻滞。所有受试者均签署知情同意书,并排除相关用药禁忌。患者入手术室后开放静脉通道,在局部麻醉下桡动脉穿刺置管,测量患者血压,然后静脉注射地佐辛5mg。10min后开始行麻醉诱导,右美托咪定配置为 $4\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 浓度以 $1\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 标准缓慢静脉泵注,泵注时间 $\geq 10\text{min}$ 。同时静脉注射舒芬太尼 $0.5\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ +依托咪酯 $0.3\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 予以静脉快速诱导气管插管,外科医师消毒铺巾后将瑞芬太尼 $0.15\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ 进行泵注,术中严密监测患者血压、心率等体征指标。分别于给药前(0h)取空白血浆,瑞芬太尼给药后第10分钟抽取上肢静脉血2mL。所有血样置于肝素钠采血管中,离心分离血浆,并置于-20℃冰箱内冷冻储存待测。

30例手术患者的血药浓度为地佐辛 $12.35\sim 35.69\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ (平均浓度 $25.73\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$, $\text{SD}=7.20$)、依托咪酯 $95.67\sim 141.58\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ (平均浓度 $114.36\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$, $\text{SD}=14.32$)、右美托咪定 $1.67\sim 4.82\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ (平均浓度 $3.34\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$, $\text{SD}=0.94$)、舒芬太尼 $10.59\sim 17.56\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ (平均浓度 $14.76\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$, $\text{SD}=1.97$)、瑞芬太尼 $3.77\sim 5.65\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ (平均浓度 $4.67\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$, $\text{SD}=0.61$)。

4 讨论

4.1 色谱质谱条件优化

前期研究分别在正负离子模式下对每个成分进行母离子扫描,结果发现在正离子模式下,离子的相应值大于负离子。再分别对每个成分进行

二级质谱扫描,结果发现每个成分均得到多个二级碎片离子,最后选择响应值最大的碎片离子作为定量离子对,并选择响应值第二大的碎片离子作为定性离子对。

对流动相进行考察发现,选择水-甲醇、水-乙腈为流动相时,瑞芬太尼与舒芬太尼未能得到有效分离。选择水中增加 $10\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 甲酸铵,两者的分离度能得到一定的改善。同时考察不同pH值的流动相(pH 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0)对分离测定的影响发现,当pH为3.5时,5种麻醉药的离子响应值及分离度最好。

4.2 线性范围及内标物的选择

5种麻醉药物在体内的分布各不同,浓度也不同,因此必须通过前期条件摸索,得到多个患者体内每个药物的浓度范围,从而设计出适合彼此的曲线范围。用药剂量较大的药物(如依托咪酯),在人血浆中的浓度有可能最大,因此设计的曲线浓度范围应较其他的大一些。相反,用量较小的药物(如瑞芬太尼和舒芬太尼)设计的曲线浓度范围应最小。在临床实际应用过程中,30例患者的血浆中,5种麻醉药物的浓度均在设计的曲线范围之内。

前期研究随机考察了布洛芬、绿原酸、普鲁卡因、美托洛尔、地西洋等5种不同物质作为内标物,结果发现,浓度为 $0.1\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 普鲁卡因溶液与曲线中间点(即中质控工作溶液)的瑞芬太尼、舒芬太尼有较接近的响应值,因此选择普鲁卡因作为内标物。

4.3 溶剂的选择

地佐辛、右美托咪定、舒芬太尼、瑞芬太尼等4种药物均能溶解于水,而依托咪酯不溶于水却可溶于甲醇或者乙腈。因此分别考察了甲醇、乙腈,或者是甲醇、乙腈与水的混合溶液作为溶剂来配制对照品溶液。结果采用甲醇或者是乙腈作为溶剂时,由于溶剂本身易挥发,试验过程中溶剂损失较大,因此导致对照品的浓度相差较大,日内及日间的精密度结果不好。选择50%甲醇水溶液作为溶剂,各项精密度及稳定性均能满足方法学的要求。

4.4 血浆样本处理的选择

本试验对血浆样本处理的方法分别比较了甲醇沉淀蛋白法及乙腈沉淀蛋白法。结果发现,2种处理方法得到的基质均不影响测定的结果,但是

乙腈沉淀蛋白法中依托咪酯的回收率更高一些,因此选择乙腈沉淀蛋白法。

本实验采用UHPLC-MS/MS联用技术,建立了专属性强、灵敏度高、分析测定时间短的定量分析方法,能达到满足血药浓度监测要求,并成功应用于30例患者人血浆中地佐辛、依托咪酯、右美托咪定、舒芬太尼和瑞芬太尼共5种麻醉药物的浓度测定。该方法的精密度、稳定性、专属性、基质效应、准确度和回收率均符合生物样品分析方法的要求,线性范围能较好地覆盖临床中有效浓度范围,为患者给药方案调整提供科学合理的指导,为后续研究地佐辛、依托咪酯、右美托咪定、舒芬太尼和瑞芬太尼的药动学特点奠定了理论基础。

REFERENCES

- [1] WANG J H. Comparison of Sufentanil and Dezocine in preventing pain allergy after remifentanil anesthesia[J]. Med Inform Dec(医学信息), 2019, 32(24): 151-152.
- [2] LIANG Y, HAN J, WANG L L, et al. Determination of sufentanil in plasma of patients receiving intravenous combined anesthesia by LC-MS/MS[J]. Chin Pharm J(中国药理学杂志), 2012, 47(2): 146-149.
- [3] LI P H, QIN R X, ZHANG L Z. The effect of postoperative intravenous patient controlled analgesia with sufentanil combined with dexmedetomidine and its effect on postoperative sleep[J]. Proceeding Clin Med(临床医药实践),

2018, 27(4): 248-251.

- [4] LIU Y H, ZHANG X, JAING L, et al. Comparison of partint-controlled analgesia effects of dexmedetomidine combined with fentanyl, sufentanyl and dezocine[J]. Chin J Hosp Pharm J(中国医院药学杂志), 2019, 39(20): 2077-2080.
- [5] YUAN C M, HAUNG S N, XIE L X, et al. Effect of Dexmedetomidine on Etomidate tracheal intubation response[J]. Med Diet Health(医学食疗与健康), 2020, 18(19): 119-120, 126.
- [6] LI D F, ZHU J P, LU R G. Research progress in structural identification of drug impurities[J]. J Guangxi Acad Sci(广西科学院学报), 2019, 35(4): 281-287.
- [7] WANG J J, YAO Q, HUANG H, et al. Duloxetine concentration determination in human plasma with UFLC-MS/MS and applied for therapeutic drug monitoring[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2019, 36(8): 951-955.
- [8] FENG Y L, HONG Y, TIAN W Q. Study on plasma concentration and pharmacokinetics of axitinib after intravenous administration in rats by UHPLC-MS/MS[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2017, 34(9): 1304-1308.
- [9] FENG Y L, TIAN W Q, JIANG X M. Study on plasma concentration and pharmacokinetics of darusentan in rat plasma by UHPLC-MS/MS[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2018, 35(4): 506-509.
- [10] FENG Y L, TIAN W Q, JIANG X M. Study on plasma concentration and pharmacokinetics of darusentan in rat plasma by UHPLC-MS/MS[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2018, 35(4): 506-509.

收稿日期: 2021-04-08

(本文责编: 陈怡心)