

## РАЗВИТИЕ МЕТОДА МУЛЬТИСЕНСОРНОЙ ИНВЕРСИОННОЙ ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИИ ДЛЯ АНАЛИЗА МЕДИЦИНСКИХ ПРЕПАРАТОВ. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФЕНТАНИЛА В СЛЕЗНОЙ ЖИДКОСТИ

© 2021 г. И.И. Колесниченко\*, Л.М. Балашова\*\*, \*\*\*, Л.С. Коробова\*\*, \*\*\*

\*Институт физической химии и электрохимии имени А.Н. Фрумкина РАН, 119071, Москва, Ленинский просп., 31/4

\*\*НП Международный научно-практический Центр пролиферации тканей, 119034, Москва, ул. Пречистенка, 29/14

\*\*\*Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова Минздрава РФ, 117997, Москва, ул. Островитянова, 1

E-mail: kolesnichenko-ii@mail.ru

Поступила в редакцию 28.12.2020 г.

После доработки 22.03.2021 г.

Принята к публикации 26.03.2021 г.

Для эффективной дозировки офтальмологических препаратов требуется оценка динамики изменения их концентрации в слезной жидкости во времени. В работе приведены примеры определения с помощью мультисенсорной инверсионной вольтамперометрии анальгезирующего препарата фентанил, применяемого для премедикации перед офтальмологическими хирургическими операциями. Изучено поведение данного препарата в слезной жидкости пациентов при проведении операции в детской офтальмологии.

*Ключевые слова:* мультисенсорная инверсионная вольтамперометрия, планарные электроды, фентанил, премедикация, офтальмология.

DOI: 10.31857/S0006302921030182

Известно, что, среди электрохимических методов анализа, одним из наиболее информативных является метод инверсионной вольтамперометрии [1]. Этот метод широко используется при анализе неорганических веществ, в частности тяжелых металлов. В известных электрохимических устройствах типа «Электронный язык» в качестве линейки сенсоров используется набор электродов с различными аналитическими характеристиками (мультieleктродные системы).

Сенсоры, используемые в аналитических исследованиях, должны одновременно обладать воспроизводимыми аналитическими характеристиками и высокой перекрестной чувствительностью, под которой понимается чувствительность к нескольким компонентам анализируемого раствора [2]. Необходимы новые усилия по созданию оригинальных сенсорных композиций, а также по разработке методик практического применения «электронного языка» для решения конкретных задач. При этом достаточно трудно добиться воспроизводимости характеристик каждого электрода, что, в конечном счете, отрицательно сказывается на разрешающей способности и достоверности идентификации.

На практике реализация метода инверсионной вольтамперометрии требует также тщательной пробоподготовки, заключающейся в удалении из анализируемой пробы органических веществ, которые существенным образом влияют на вид аналитических вольтамперограмм. С другой стороны, именно эта способность органических веществ изменять поведение электрохимической системы, содержащей катионы различных металлов, может быть использована для анализа соответствующих объектов.

В Институте физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН (Москва) был разработан электрохимический метод анализа органических веществ – мультисенсорная инверсионная вольтамперометрия [1, 3]. Этим методом определяется изменение электрохимической активности катионов металлов в растворе в результате их взаимодействия с органическими веществами. В качестве линейки сенсоров было предложено использовать содержащиеся в составе фонового электролита катионы металлов с частично заполненными *d*-орбиталями, которые обладают способностью образовывать комплексные соединения с алкалоидами и, таким образом, формировать мультисенсорную тест-систему. Эти металлы хорошо определяются методом ин-

версионной вольтамперометрии, что позволяет осуществлять идентификацию различных веществ на основании анализа характерных изменений вольтамперных кривых, происходящих в результате введения различных алкалоидов в исходную тест-систему. При этом открывается возможность получения необходимой информации на единичном электроде. Таким образом, отпадает необходимость использования набора из нескольких индикаторных электродов, от количества которых зависит число информативных параметров. На получаемой вольтамперограмме при этом фиксируются изменения пиков токов растворения металлов, которые можно определить для каждого металла тест-системы по отдельности или оценить изменение всей вольтамперограммы интегрально. Измерения проводят на одном индикаторном электроде, что имеет большое преимущество по сравнению с мультисенсорными методами, в которых используют набор электродов. При решении задачи идентификации конкретного органического вещества данным методом требуется сравнение с предварительно составленной базой данных.

Преимуществами мультисенсорного анализа органических веществ методом инверсионной вольтамперометрии являются:

- простота формирования и высокая стабильность рабочих характеристик мультисенсорной системы;
- минимальное количество стадий аналитического процесса и, как следствие, простота алгоритма и малое время проведения анализа;
- портативность и невысокая стоимость аппаратуры;
- возможность проведения экспресс-анализа как в лабораторных, так и во внелабораторных условиях;
- полная автоматизация процесса обработки данных и формирования протокола измерения;
- низкая стоимость расходных материалов.

Ранее для экспресс-диагностики биологических объектов с использованием мультисенсорной инверсионной вольтамперометрии нами был опробован метод ранней диагностики глаукомы по сыворотке крови [4]. В дальнейшем работоспособность и эффективность метода была показана нами, в частности, при определении ряда офтальмологических препаратов – визомитина [5, 6], ланостерола [7], бетоптика и его дженериков [8, 9], а также местноанальгезирующих препаратов – наропина, хирокаина и лидокаина [10].

Для выяснения эффективной дозировки вновь разрабатываемых анальгезирующих офтальмологических препаратов требуется оценка динамики изменения их концентрации в слезной жидкости во времени. Целью данной работы являлось ис-

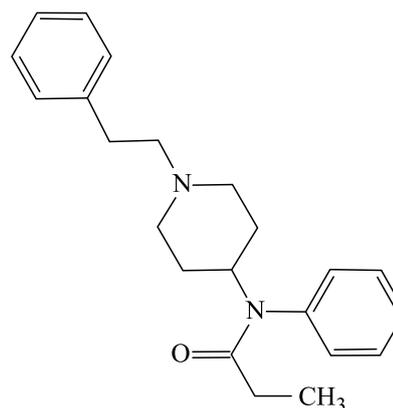


Рис. 1. Структурная формула фентанила.

следование методом мультисенсорной инверсионной вольтамперометрии фармакокинетики поведения в слезной жидкости препарата опиоидного ряда – фентанила – в детской офтальмологии у больных при проведении операции по коррекции косоглазия.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Вещество фентанил (N-фенил-N-[1-(2-фенилэтил)-4-пиперидинил]пропанамида, брутто-формула  $C_{22}H_{28}N_2O$ ) (рис. 1) – белый кристаллический порошок, практически нерастворимый в воде, но легко растворимый в спирте. Фармакологическое действие – анальгезирующее (опиоидное). Фентанил возбуждает опиатные (преимущественно  $\mu$ -) рецепторы центральной нервной системы, спинного мозга и периферических тканей, повышает активность антиноцицептивной системы, увеличивает пороги болевой чувствительности. Он нарушает передачу возбуждения по специфическому и неспецифическому болевому путям к ядрам таламуса, гипоталамуса и миндалевидному комплексу, изменяет эмоциональную окраску боли. Также оказывает снотворное влияние (преимущественно в связи со снятием болевого синдрома). Применяется фентанил для премедикации перед хирургическими операциями, для вводного наркоза, послеоперационной анальгезии, при выраженном болевом синдроме и др.

Исследование проведено на больных детях в возрасте от 2 лет 4 мес. до 17 лет, которым была проведена операция по коррекции косоглазия. Послеоперационный период протекал без осложнений. Перед хирургическими вмешательствами детям проводили ингаляцию препарата «Севоран®» (действующее вещество – севофлуран) в концентрации до 8%, что обычно обеспечивает введение в общую анестезию в течение менее 2 мин. Низкая растворимость севофлурана в кро-

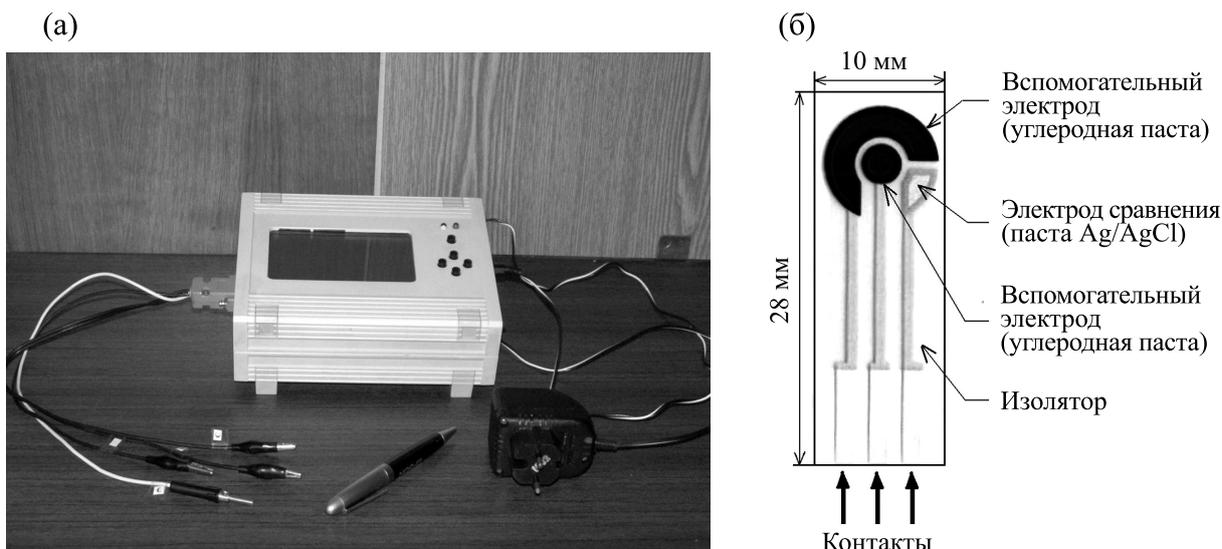


Рис. 2. (а) – Внешний вид прибора ЭЛ-02; (б) – схема планарного электрода (трехэлектродная конфигурация).

ви обеспечивает быстрое повышение альвеолярной концентрации при введении в наркоз и быстрое снижение после прекращения ингаляции. Быстрое выведение севофлурана из легких сводило к минимуму метаболизм препарата. Затем внутривенно (по стандартной методике) вводили 0.005%-й раствора фентанила, объем вводимого препарата составлял 1 мл на 10 кг веса пациента.

Для получения образцов слезной жидкости в конъюнктивальный мешок глаза пациента помещали диск диаметром 8 мм из предварительно обработанного пористого материала (фильтровальной бумаги, которую тщательно промывали в спирте и дистиллированной воде и сушили при 80°C в течение трех часов). С целью возможного выявления растворов анестезиологических препаратов в слезе через определенное время (до введения препарата, через 10 мин и через 40 мин после его введения) бумажный диск извлекали из конъюнктивального мешка, помещали на электрод с нанесенной на него тест-системой и снимали инверсионные вольтамперограммы. Всего было взято 15 проб.

Исследования осуществляли с помощью электрохимического мультисенсорного анализатора, разработанного в ИФХЭ РАН. Общий вид анализатора ЭЛ-02 и схема планарной электродной системы представлена на рис. 2а. Для обнаружения и идентификации алкалоидов формировали тест-системы, в которых использовали растворы следующих солей: нитраты ртути, цинка, кадмия, свинца, галлия, кобальта.

Исследования проводили на планарных электродах (ООО «КолорЭлектроникс»), представляющих собой полипропиленовую пластину с нанесенными рабочим и вспомогательным электрода-

ми (углеродный материал) и хлорсеребряным электродом сравнения. Схема планарного электрода представлена на рис. 2б. Так как планарные электроды являются одноразовыми, производить подготовку поверхности индикаторного электрода не требовалось.

Статистическую обработку результатов проводили в пакете программ Statistica 6.0.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В качестве электрохимической «тест-системы» использовали раствор электролита, содержащий катионы ряда металлов, обладающих способностью образовывать комплексные соединения с органическими веществами:  $Zn^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Co^{3+}$ ,  $Hg^{2+}$  [1, 3]. Сформированная таким образом на индикаторном электроде матрица сенсоров в нашем случае обеспечивала работу прибора в формате «Электронный язык» [2].

Вольтамперограммы, получаемые методом инверсионной вольтамперометрии, имеют определенный вид (рис. 3, кривая 1) и хорошо воспроизводимы. Они представляют собой зависимости тока от потенциала рабочего электрода, меняющегося по линейному закону во времени. Регистрируемые пики соответствуют окислению разных металлов, входящих в тест-систему. Введение в тест-систему анализируемых органических веществ приводит к изменению спектра вольтамперограмм. Эти изменения характерны для каждого из органических веществ (или смеси веществ), что позволяет проводить их идентификацию. При электрорастворении металлов с поверхности электрода потенциалы пиков токов растворения являются определяющей характери-

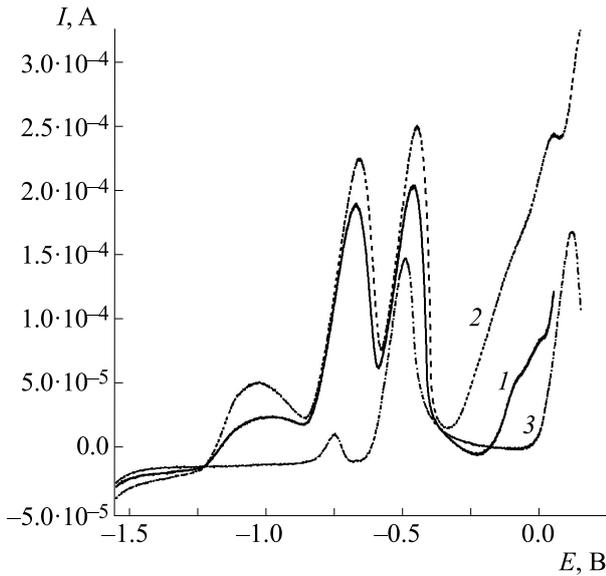


Рис. 3. Инверсионные вольтамперограммы тест-системы при воздействии на нее фентанила в различных концентрациях (%): 1 – 0 (фон), 2 – 10%; 3 – 25%.

стикой растворяющегося металла, а их амплитуда зависит от количества электро растворенного металла. Состав фоновых электролитов заметно влияет как на величину токов растворения металлов, так и на потенциалы пиков.

Были исследованы токи электро растворения металлов в следующих фоновых электролитах: 0.5 М КСl, 0.1 М НСl, 0.05 М КСl, 0.1 М К<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

Возрастание прочности комплекса, присутствующего в фоне, приводит к увеличению высоты пика тока растворения металла и соответственно к уменьшению его ширины [11]. Ряд по прочности комплексов в растворе совпадает с улучшением формы токов растворения металлов и выглядит следующим образом:

0.5 М КСl > 0.1 М НСl > 0.05 М КСl > 0.1 М К<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

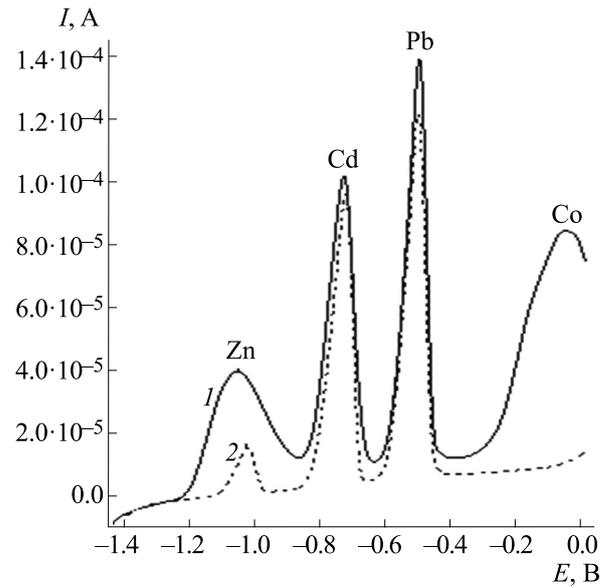


Рис. 4. Инверсионные вольтамперограммы, демонстрирующие влияние слезной жидкости на тест-систему: 1 – тест-система, 2 – слезная жидкость через 10 мин. после введения фентанила.

Критерием выбора фонового электролита являлась степень влияния алкалоидов на пики токов растворения металлов электрохимической тест-системы. Влияние фентанила на пики токов растворения цинка, кадмия, свинца и кобальта в перечисленных выше растворах приведено в табл. 1. Из опробованных фоновых растворов наибольшее влияние алкалоидов на пики токов растворения металлов наблюдается в 0.05 М КСl. Поэтому именно раствор 0.05 М КСl в дальнейшем использовали в качестве фонового электролита.

При проведении испытаний на планарные электроды наносили 50 мкл тест-системы, содержащей ионы металлов в одинаковых концентрациях ( $5 \cdot 10^{-5}$  М), и снимали фоновую инверсионную вольтамперограмму при потенциале катод-

Таблица 1. Влияние фентанила на пики токов растворения металлов для разных фоновых электролитов

№	Фоновый электролит	Изменение пиков токов растворения металлов ( $\Delta I$ , %)			
		Zn	Cd	Pb	Co
1	0.1 М К <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	-1	-7	-9	0
2	0.5 М КСl	0	0	0	-100
3	0.05 М КСl	-3	-10	0	-70
4	0.1 М НСl	0	0	0	0

Примечание. «-» – Уменьшение пиков токов растворения металлов; «0» – пики токов растворения металлов не изменялись.

**Таблица 2.** Влияние фентанила на тест-систему

Анестетик	Концентрация фентанила	Пики токов растворения металлов, мкА			
		Zn	Cd	Pb	Co
Фон	–	48	84	140	124
Фентанил	10%	47	78	134	98
	12%	28	72	122	88
	25%	29	69	115	86

**Таблица 3.** Влияние на слезную жидкость фентанила после его внутривенного введения

Анестетик	Время отбора пробы	Пики токов растворения металлов, мкА			
		Zn	Cd	Pb	Co
Фон		48	84	140	124
Фентанил	До введения препарата	33	71	71	31
	Через 10 мин после введения	22	50	50	20
	Через 40 мин после введения	20	21	21	20

ного осаждения металлов –1.55 В относительно хлорсеребряного электрода с последующей разверткой потенциала до 0.3 В. Затем на электрод помещали 50 мкл свежего раствора тест-системы и диск из пористого материала (фильтровальной бумаги) с нанесенным на него тем или иным препаратом в различной концентрации и снова снимали инверсионные вольтамперограммы.

**Влияние фентанила на тест-систему.** На рис. 3 показаны фоновая вольтамперограмма и вольтамперограммы, полученные для фентанила в различных концентрациях *in vitro*.

Можно видеть, что в присутствии фентанила токи ионов металлов, входящих в тест-систему, изменяются в разной степени в зависимости от концентрации фентанила: с ростом концентрации ток иона ртути возрастает, а у остальных металлов – уменьшается.

Влияние фентанила на токи растворения металлов тест-системы можно объяснить двумя причинами. Первая – способность алкалоидов образовывать комплексы с металлами, вторая – адсорбция алкалоидов на электроде. Обе эти причины приводят к затруднению процессов электровосстановления и электроокисления металлов. Комплексы могут оказаться не электроактивны, вследствие чего выделение из них металлов на электроде будет затруднено. В этом случае количество электроосажденных металлов на электроде уменьшается, что вызывает последующее уменьшение токов электрорастворения. На образование комплексов металлов с алкалоидами

влияют различные причины: рН раствора, наличие различных анионов, величина концентрации металлов. Те же условия влияют на токи растворения электроосажденных металлов. Важным критерием выбора фонового электролита является степень влияния алкалоидов на пики токов растворения металлов тест-системы.

В исследованном диапазоне концентраций фентанила наиболее заметным было изменение тока ионов кобальта – от 124 до 70 мкА, цинка – от 48 до 16 мкА. Несколько меньшим оказалось изменение тока ионов кадмия и свинца. Следовательно, в дальнейшем достаточно ограничиться изучением влияния слезной жидкости пациентов только на эти ионы, а остальные ионы из тест-системы были исключены. Данные по воздействию фентанила на тест-систему приведены в табл. 2.

**Анализ слезной жидкости пациентов после внутривенного введения фентанила.** Группа пациентов, поступивших на операцию по поводу косоглазия, которым вводили фентанил внутривенно, состояла из семи человек. Был проведен отбор образцов слезной жидкости для исследования, как описано в разделе «Материалы и методы». Рис. 2 демонстрирует влияние слезной жидкости после введения фентанила на тест-систему. Результаты анализа методом мультисенсорной инверсионной вольтамперометрии образцов слезной жидкости пациентов этой группы представлены в табл. 3. На основе полученных данных можно сделать заключение, что наиболее значительными оказались изменения токов растворения для ионов кобальта и свинца.

## ВЫВОДЫ

1. Разработана электрохимическая мультисенсорная тест-система, обеспечивающая проведение экспресс-анализа алкалоидов (на примере фентанила) в формате «Электронный язык» методом инверсионной вольтамперометрии на единичном электроде.

2. Представлен новый подход к анализу алкалоидов, основанный на регистрации и количественном учете влияния комплексообразования органических лигандов на мультисенсорную тест-систему, представляющую собой раствор солей металлов с частично заполненными *d*-орбиталями.

## СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все процедуры с участием пациентов соответствовали этическим стандартам Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующим изменениям. С учетом возраста пациентов письменное информированное согласие на проведение исследования подписывали их родители, которые получили полную информацию о методах и целях исследования.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Х. З. Брайнина, Е. Я. Нейман и В. В. Слепушкин, *Инверсионные электроаналитические методы* («Химия», М., 1988).
2. В. Н. Андреев, В. М. Ганшин, А. Н. Доронин и др., Патент на изобретение № 2375705 от 22.08.2008.
3. Г. К. Будников, В. Н. Майстренко и М. Р. Вяселев, Основы современного электрохимического анализа («Мир», М., 2003).
4. И. И. Колесниченко, А. Л. Клюев, В. М. Ганшин и др., *Физикохимия поверхности и защита материалов* **50** (4), 440 (2014).
5. И. И. Колесниченко, Е. П. Кантаржи и А. Н. Доронин, в сб. *Труды 6-й Всероссийской науч.-практич. конф. «Измерения в современном мире – 2017»* (СПбПУ, СПб., 2017), сс. 33–37.
6. Л. М. Балашова, И. И. Колесниченко и Е. П. Кантаржи, *Клин. геронтология* **23** (9–10), 6 (2017).
7. Л. М. Балашова, В. А. Намиот, И. И. Колесниченко и др., *Биофизика* **63** (4), 825 (2018).
8. Л. М. Балашова, И. И. Колесниченко, В. А. Намиот и др., *Биофизика* **64** (6), 1088 (2019).
9. I. I. Kolesnichenko, L. M. Balachova, and E. P. Kantarzhii, *Am. J. Anal. Chem.* **7** (7), 588 (2016).
10. Л. М. Балашова, В. А. Намиот, И. И. Колесниченко и др., *Биофизика* **65** (6), 1211 (2020).
11. Г. Л. Шлефер, *Комплексообразование в растворах* («Химия», М., 1964).

## Development of a Method of Multisensory Stripping Voltammetry for Analysis of Medical Preparations. Determination of Fentanyl in Lacrimal Fluid

I.I. Kolesnichenko, L.M. Balashova\*\*, \*\*\*, and L.S. Korobova\*\*, \*\*\*

\*Frumkin Institute of Physical Chemistry and Electrochemistry, Russian Academy of Sciences, Leninskiy prosp. 31/4, Moscow, 119071 Russia

\*\*International Scientific and Practical Center for Tissue Proliferation, ul. Prechistenka 29/14, Moscow, 119034 Russia

\*\*\* Pirogov Russian National Research Medical University, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, ul. Ostrovitianova 1, Moscow, 117997 Russia

For effective dosage of ophthalmic drugs, it is necessary to assess the dynamics of changes in drug concentration in the lacrimal fluid over time. The paper provides information about premedication of surgical patients before ocular surgery with focus on the application of fentanyl, belonging to the class of analgesics. A multisensory stripping voltammetric method was used to determine this drug. The behavior of the drug in the lacrimal fluid of pediatric patients undergoing ophthalmic surgery was studied.

*Keywords: multisensory stripping voltammetry, planar electrodes, fentanyl, premedication, ophthalmology*