

14;15

Мембранный сепараторный интерфейс для масс-спектрометрического анализа плазмы крови

© А.Ю. Елизаров, Д.Г. Герасимов

Физико-технический институт им. А.Ф. Иоффе РАН, Санкт-Петербург
Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова МО, Санкт-Петербург
E-mail: a.elizarov@mail.ioffe.ru

Поступило в Редакцию 7 февраля 2014 г.

Продемонстрирована возможность масс-спектрометрического экспресс-анализа содержания анестетиков в плазме крови при помощи мембранного сепараторного интерфейса. В интерфейсе использовалась гидрофобная селективная мембрана, позволявшая выделять анестезиологические медикаментозные агенты из плазмы крови, такие как ингаляционный анестетик севофлуран, неингаляционный анестетик тиопентал, гипнотик пропофол, опиоидный анальгетик фентанил, и осуществлять их ввод в масс-спектрометр. Исследования плазмы крови не приводили к эффекту памяти и деструкции мембраны. Представлены результаты клинических исследований концентрации анестетиков в плазме крови.

Состав и концентрация медикаментозных агентов в крови определяет их терапевтический эффект и служит для решения задач фармакокинетики и фармакодинамики. При проведении внутривенной пропофол ($C_{12}H_{18}O$)-фентаниловой ($C_{22}H_{28}N_2O$) анестезии отсутствует возможность измерения концентрации пропофола в крови в режиме реального времени, что затрудняет контроль адекватности анестезии.

Мембранный сепараторный интерфейс состоит из камеры дифференциальной откачки и камеры масс-спектрометра. В первой камере установлена мембрана (polydimethylsiloxane) толщиной $75\ \mu\text{m}$. Для фиксации мембраны на отверстии во фланце интерфейса диаметром $10\ \text{mm}$ использовалась пористая титановая пластина. Камера масс-спектрометра и камера дифференциальной откачки вакуумировались при помощи турбомолекулярного насоса и первой ступени откачки того же насоса. Скорость откачки камеры масс-спектрометра и дифференциальной камеры составляла $601\ \cdot\ \text{s}^{-1}$ и

$201 \cdot \text{s}^{-1}$ соответственно. Эти камеры разделены диафрагмой с диаметром $100 \mu\text{m}$ (Pfeiffer Vacuum). Перепад давлений между камерами составлял $1000 \text{ mbar} - 2.0 \cdot 10^{-3} \text{ mbar} - 1.1 \cdot 10^{-5} \text{ mbar}$, где 1000 mbar — давление над мембраной, $1.1 \cdot 10^{-5} \text{ mbar}$ — давление в камере масс-спектрометра.

В работе использовался времяпролетный масс-спектрометр [1] и квадрупольный масс-спектрометр (Prisma Plus, Pfeiffer Vacuum). Конструкция интерфейса позволяла осуществлять его нагрев до температуры 45°C . В настоящее время разработаны методики абсолютного измерения концентрации широкого класса органических соединений, растворенных в воде, которые демонстрируют высокие аналитические возможности мембранных интерфейсов. Так, при использовании квадрупольного масс-спектрометра был достигнут предел обнаружения не хуже $10^{-8} - 10^{-7}\%$ ($0.1 - 5 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$) [2,3]. К недостаткам мембранных интерфейсов следует отнести большее время отклика в сравнении с капиллярным вводом, зависимость характеристик мембраны от температуры и селективность между различными соединениями.

Исследования свойств сепарации мембраны для анестетиков были выполнены при исследовании плазмы крови. Забор крови осуществлялся *in vivo* во время анестезии из периферических вен во время ингаляционной сбалансированной анестезии (концентрация севофлурана в режиме минимальной альвеолярной концентрации поддерживалась в диапазоне $2 - 4 \text{ vol.}\%$, каждые 20 min внутривенно вводился фентанил (0.1 mg)) и тотальной внутривенной анестезии (пропофол или тиопентал + фентанил).

На рис. 1 представлен масс-спектр плазмы крови. Забор крови осуществлялся в начальный период ингаляционной сбалансированной анестезии. Для обеспечения анестезиологической защиты пациента использовался пропофол в дозе $2.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ массы тела. В дыхательном контуре аппарата ингаляционной анестезии поддерживалась концентрация севофлурана $3 \text{ vol.}\%$, при которой концентрация compound A, который образовывался в результате взаимодействия с натронной известью, составляла $50 - 75 \text{ ppm}$.

Масс-спектр плазмы крови был получен с использованием электронной ионизации (энергия электронов 70 eV). Были зарегистрированы следующие материнские и осколочные пики медикаментозных агентов: севофлуран m/z 131, m/z 181, $\text{M}^+ m/z$ 199; метаболит севофлурана:

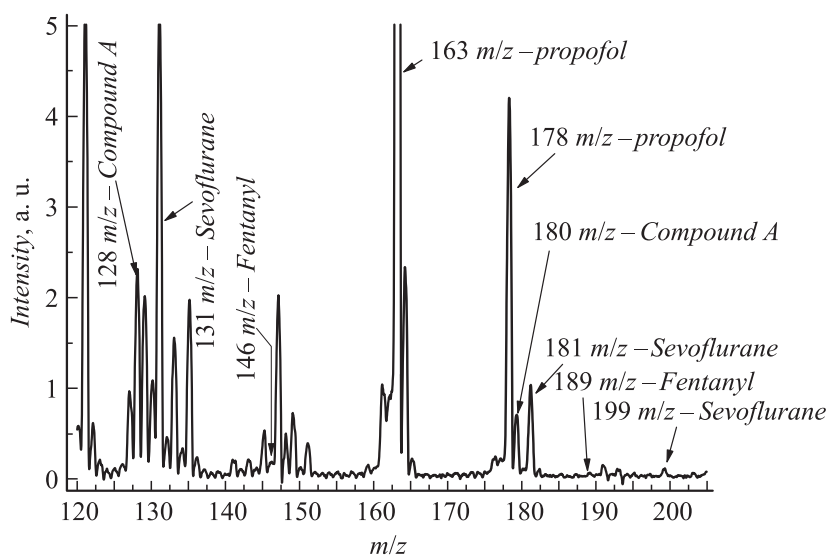


Рис. 1. Масс-спектр плазмы крови, забор которой осуществлялся во время ингаляционной анестезии, полученный при помощи мембранного сепараторного интерфейса.

m/z 99, m/z 129; compound A: m/z 128, m/z 180; пропофол: m/z 163, m/z 178; фентанил: m/z 146, m/z 189.

Указанные массовые пики анестетиков соответствуют массовым пикам и их относительным весам в масс-спектре этих анестетиков из масс-спектрометрических баз данных. Проницаемость мембраны для всех указанных выше соединений различна, поэтому для проведения абсолютных измерений концентрации анестетика необходимо выполнять процедуру калибровки интенсивности массового пика с использованием внутреннего стандарта концентрации этого медикаментозного агента, что было выполнено на примере пропофола.

Внутривенный гипнотик пропофол практически нерастворим в воде, но хорошо растворяется в жирах, поэтому этот медикаментозный агент вводится внутривенно в составе эмульсии, состоящей из 10% соевого масла, 1,2% очищенных яичных фосфолипидов (эмульгатор), 2,25% глицерина, воды и гидроксида натрия, регулирующего pH. Эмульсифи-

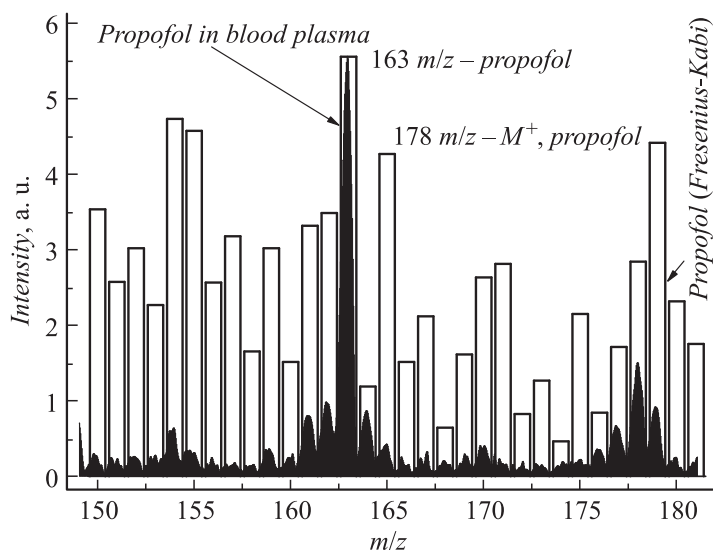


Рис. 2. Масс-спектры препарата пропофол (Fresenius-Kabi) и плазмы крови, забор которой осуществлялся во время тотальной внутривенной пропофол-фентаниловой анестезии, полученные при помощи мембранного сепараторного интерфейса.

цированная форма пропофола поступила на фармрынок в 1986 году и в настоящее время является гипнотиком „выбора“ при проведении ингаляционной или внутривенной анестезии. Масс-спектр препарата пропофол (Fresenius-Kabi), полученный при помощи мембранного интерфейса, представлен на рис. 2. Эмульсия пропофола наносилась непосредственно на мембрану интерфейса масс-спектрометра.

Масс-спектр плазмы крови, забранной во время тотальной внутривенной анестезии пропофолом и фентанилом, представлен на рис. 2. Отметим отсутствие пиков севофлурана и его метаболита, compound A в масс-спектре плазмы крови. Аналогично, не были зафиксированы массовые пики севофлурана, его метаболита и compound A в образцах плазмы крови, которые были забраны во время тотальной внутривенной анестезии тиопенталом и фентанилом. Тиопентал был зарегистрирован в плазме крови по массовым пикам m/z 157 и m/z 172. Во время

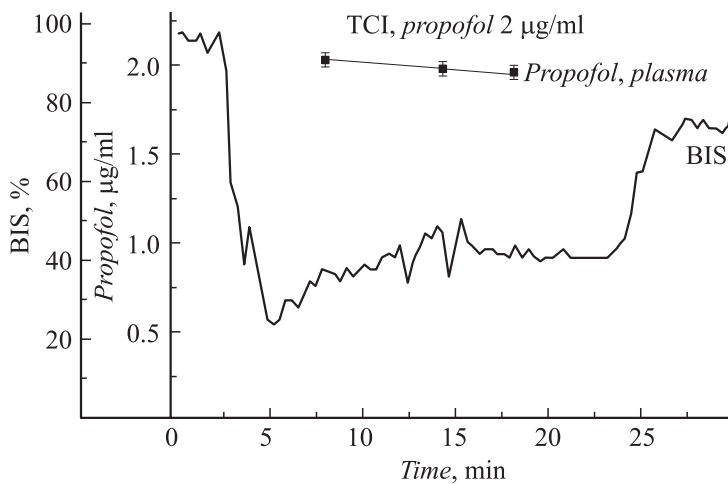


Рис. 3. Временная зависимость концентрации пропофола в плазме крови и BIS спектрального индекса во время тотальной внутривенной пропофол-фентаниловой анестезии.

тотальной внутривенной анестезии в режиме целевой концентрации пропофола в крови его концентрация $3 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ устанавливалась при помощи шприцевого насоса (B|Braun). С интервалом в 15 min был осуществлен забор крови из периферических вен. В качестве внутреннего стандарта был приготовлен раствор препарата пропофол в препарате для парентерального (внутривенного) питания (Интралипид, Fresenius-Kabi), состав которого соответствует растворителю препарата пропофол (Fresenius-Kabi). Во время анестезии было выполнено измерение электроэнцефалограммы при помощи BIS-монитора (Vista, Aspect Medical). Вид энцефалограммы представлен на рис. 3, из которого следует, что во время анестезии (5–25 min) глубина гипнотического эффекта была постоянна, что обусловлено стабильной концентрацией пропофола в крови. При помощи мембранного интерфейса с использованием внутреннего стандарта известной концентрации пропофола были выполнены измерения абсолютной концентрации пропофола всех 3 образцов плазмы крови. После каждого измерения осуществлялся прогрев интерфейса до 45°C , затем он охлаждался до комнатной

температуры. В результате серии из 4 измерений было получено совпадение концентрации пропофола для всех 4 образцов с точностью не хуже 5%, что демонстрирует возможность использования мембранного сепараторного интерфейса для абсолютных измерений концентрации медикаментозных агентов в плазме крови в условиях клиники. Высокая растворимость пропофола в липидах позволяет ему легко проходить через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ), чем объясняется его быстрая терапевтическая активность. В работе производился забор крови из периферической артерии и из хиазмально-селлярной области головного мозга во время аденомэктомии гипофиза. Измерения концентрации пропофола в плазме крови этих 2 образцов выполнялись при помощи мембранного сепараторного интерфейса. Было получено, что концентрация пропофола в хиазмально-селлярной области была на $45 \pm 3\%$ ниже, чем в периферической артерии, что объясняется свойством ГЭБ [4].

В результате измерений деградация свойств мембраны обнаружена не была. Время выхода масс-спектрометра с мембранным интерфейсом не превышало 10 min. Время одного измерения — 1 min. На примере пропофола продемонстрирована возможность абсолютного измерения концентрации анестетиков. Использование мембранного интерфейса, ввиду простоты в эксплуатации и сервисном обслуживании, имеет перспективы использования в практической анестезиологии для экспресс-анализа концентрации анестезиологических агентов в плазме крови.

Список литературы

- [1] *Елизаров А.Ю., Фаизов И.И., Козловский А.В., Левшанков А.И.* // ПТЭ. 2013. № 5. С. 1–5.
- [2] *Viktorova O.S., Kogan V.T., Manninen S.A., Kotiaho T., Ketola R.A., Dubenskii B.M., Parinov S.P., Smirnov O.V.* // J. Am. Soc. Mass. Spectrom. 2004. V. 15. P. 823–831.
- [3] *Hansen K.F., Gylling S., Lauritsen F.R.* // Int. J. Mass Spectrom. Ion Proc. 1996. V. 152. P. 143–155.
- [4] *Rubin L.L., Barbu K., Bard F., Cannon C., Hall D.E., Horner H., Janatpour M., Liaw C., Manning K., Morales J., Porter S., Tanner L., Tomaselli K., Yednock T.* Ann. N. Y. Acad. Sci. 1992. V. 663. P. 420–425.