

# Использование QTOF в судебно-медицинской экспертизе токсикологии

## The use of QTOF in forensic toxicology

Д-р Саймон Эллиотт

Консультант судебной токсиколог, директор Global криминалистика

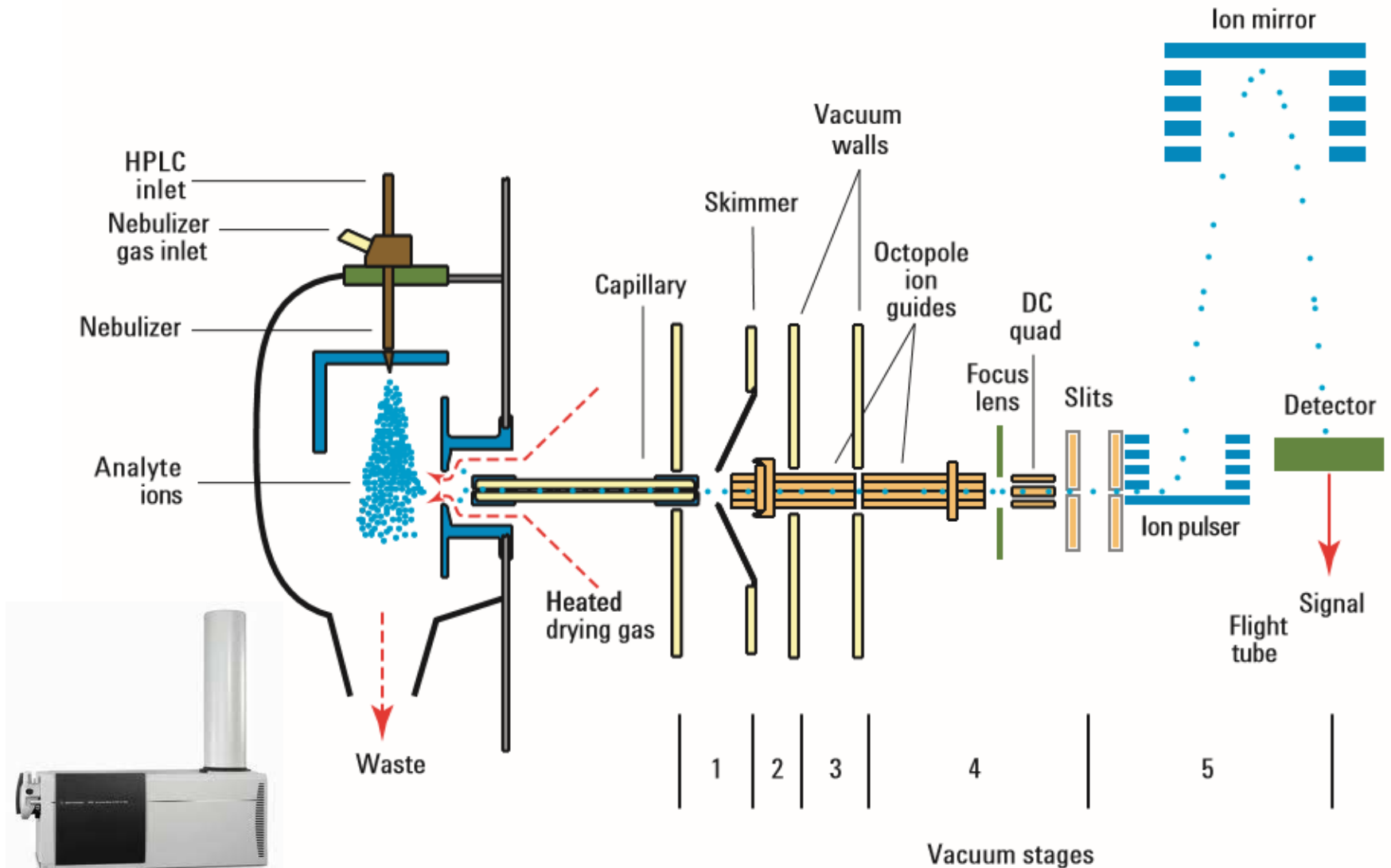
Alere (теперь Abbott), Malvern



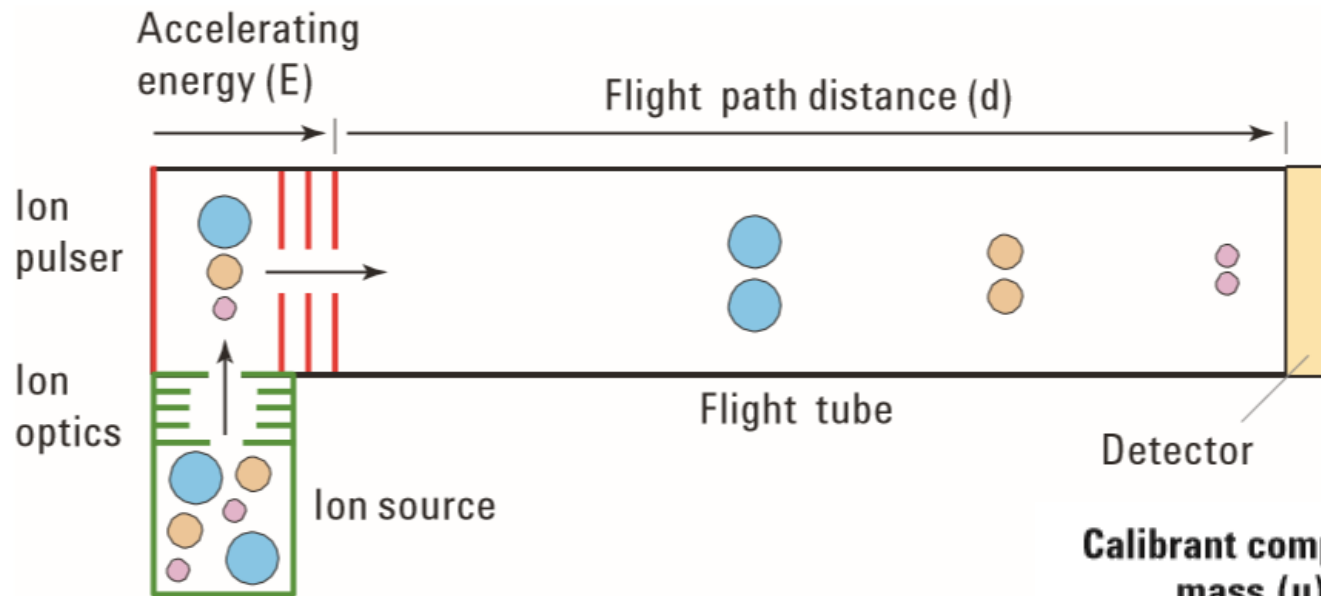
Точная Масс-ЖХ / МС была вокруг некоторое время, но его использование в настоящее время начинает быстро увеличиваться:

- Может быть использован для широкого спектра применений, например мульти-анализа лекарственных средств, белков, мониторинга окружающей среды и т.д.
- Имеет особые преимущества для анализа некоторых соединений
- Обеспечивает дополнительный метод анализа к существующим методам
- LC-QTOF / МС с CID MS-MS может обеспечить весьма избирательный и чувствительное обнаружение

# например Agilent QTOF-MS



# например Agilent QTOF-MS



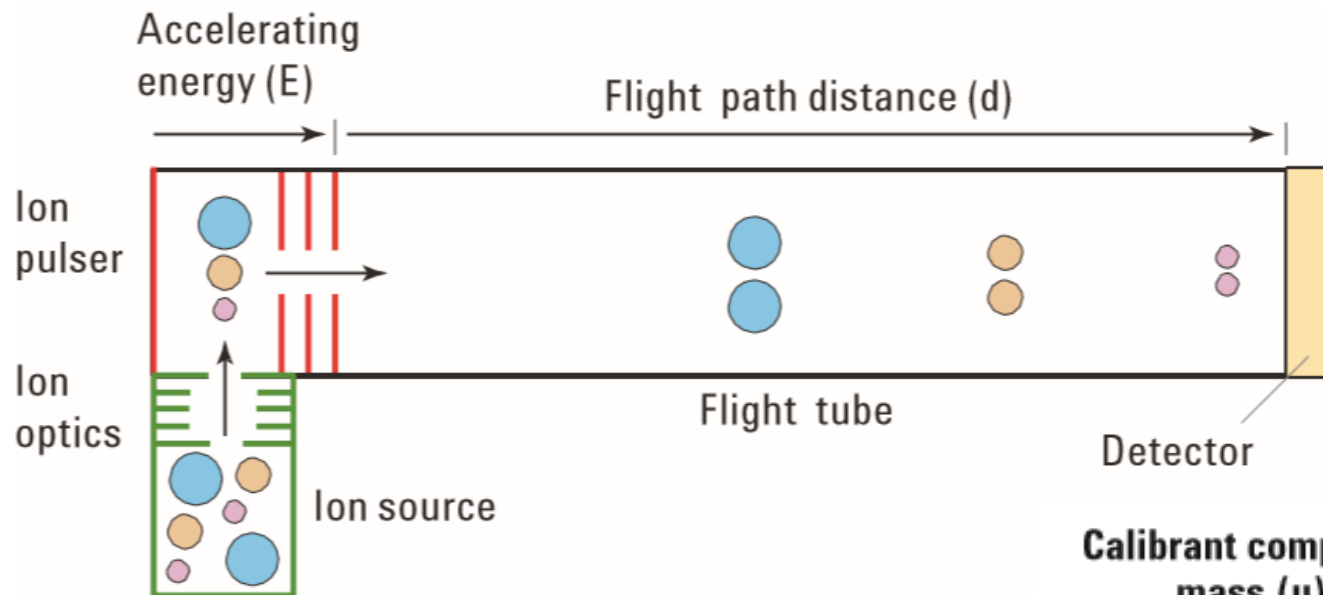
Масса определяется время полета после калибровки.

Чем длиннее путь полета, *выше* разрешение массы.

Масса точность контролируется путем введения исходных масс в перспективе

Calibrant compound mass (u)	Flight time (µsec)
118.0863	20.79841
322.0481	33.53829
622.029	46.12659
922.0098	55.88826
1521.971	71.45158
2121.933	84.14302
2721.895	95.13425

# например Agilent QTOF-MS



Масса определяется время полета после калибровки.

Чем длиннее путь полета, *выше* разрешение массы.

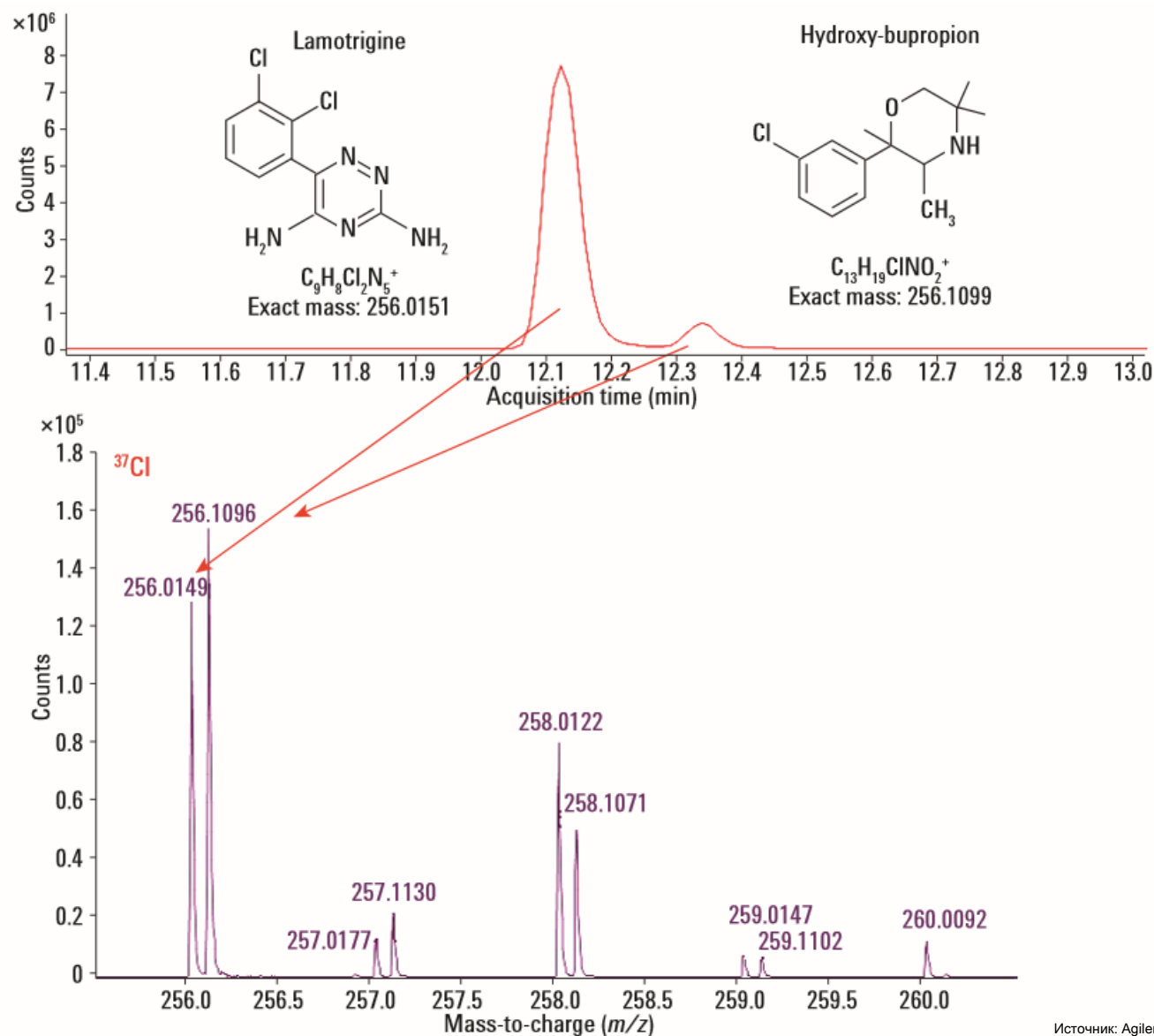
Масса точность контролируется путем введения исходных масс в перспективе

Calibrant compound mass (u)	Flight time (µsec)
118.0863	20.79841
322.0481	33.53829
622.029	46.12659
например 922.0098	55.88826
1521.971	71.45158
2121.933	84.14302
2721.895	95.13425

# например Agilent QTOF-MS

Низкое разрешение  
(например, LC-MS)  
будет 256,0 против  
256,1

Высокое разрешение MS  
позволяет препараты с  
очень похожей массой  
следует отличать



Mass accuracy [ppm]	Empirical formulae
100	138
50	67
25	32
10	15
5	7
2	2

**Table 1**  
**Mass accuracy vs. number of calculated empirical formulae for reserpine ( $C_{33}H_{40}N_2O_9$   $M=608.2734$ ; within  $C_{1-100}H_{2-200}N_{0-10}O_{0-10}$ ).**

Скорость быстрого приобретения необходимой для предоставленных достаточно «точных» точек через пик.

Пониженный ppm уменьшает количество опций - проще определить личность

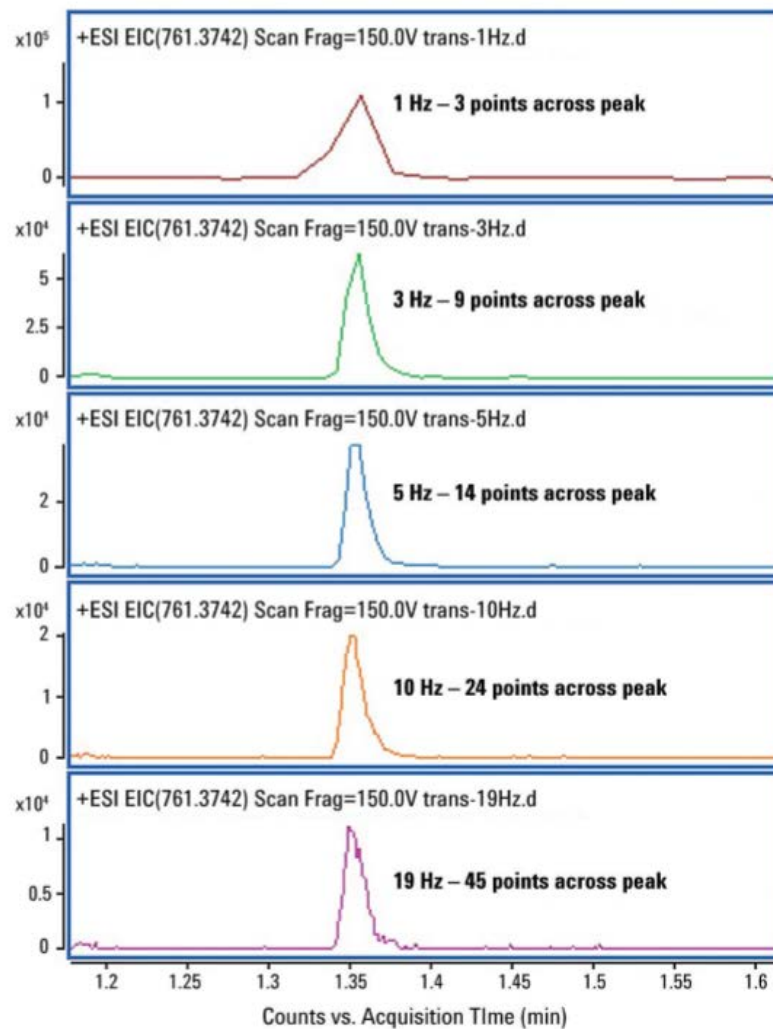
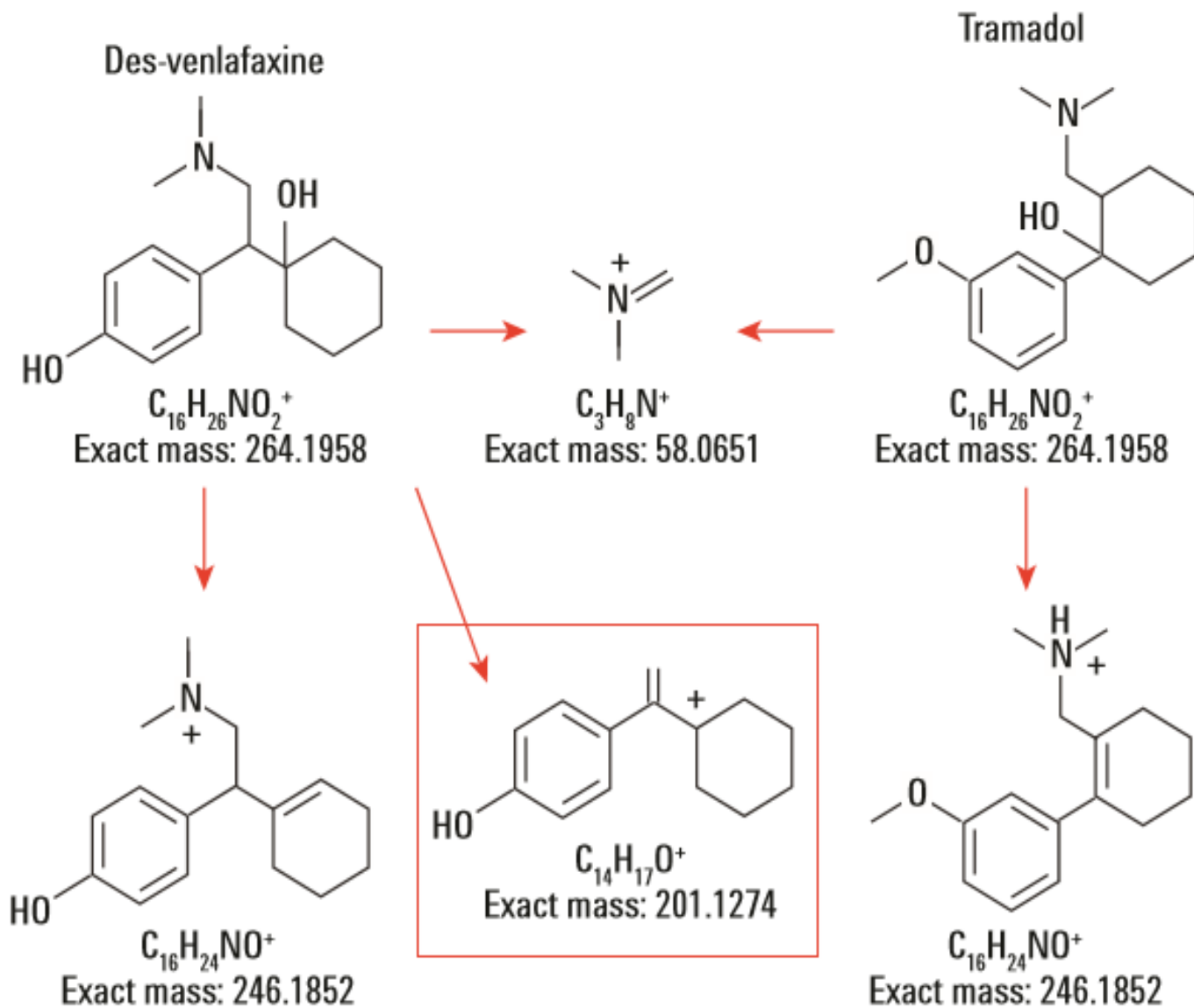


Figure 1. Faster acquisition rates provide better definition for this peptide peak from a UHPLC /MS run. The minimum number of data points that a chromatographer would accept is 10 to 12.

# например Agilent QTOF-MS

Однако, если же  
соединения  
имеют  
эмпирические  
Формула,  
необходимо  
разделение LC и /  
или MS / MS

фрагментация





# например Agilent QTOF-MS

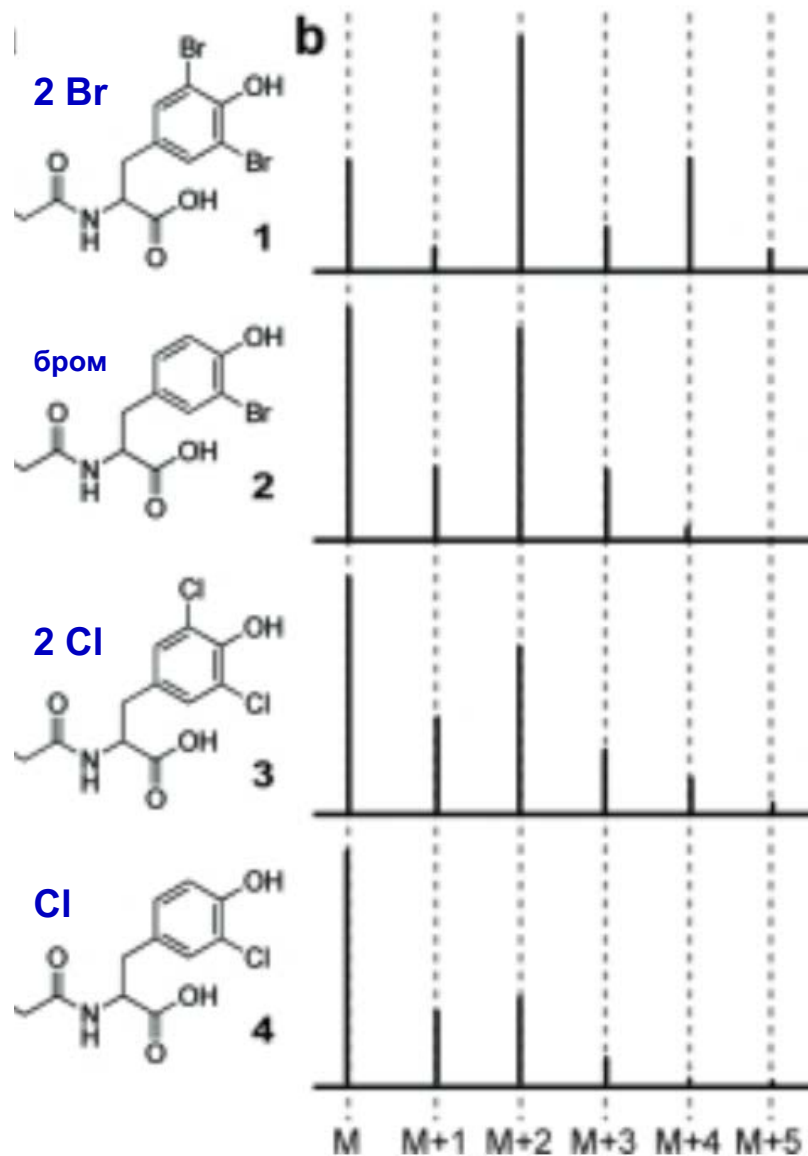
Изотопные отношения может быть использовано для структурного анализа, особенно с СУП в связи с массовым разрешением достигнуты.

В соединениях, которые содержат бром или хлор есть отличительная структура ионов.

Если нет Br или Cl, шаблон показывает, что для C;

Высокие M, нижние M +-и даже ниже, по-прежнему M +-

Поскольку многие NPS имеют Br или Cl, это оказалось полезным для тех соединений (например, АГ-7921, NBOMes и т.д.)



## Forensic токсикологические применения LC-MS / QTOF

- **Общие скрининги лекарств**

- Неизвестный скрининг
- Целенаправленное скрининг

- **измерение Drug**

- селективный и чувствительный Может быть применен к различным **образцы**; кровь, плазма / сыворотка, моча, жидкость полости рта, волосы, некротические жидкости, таблетки / растворы. Может применяться для широкого круга **Запросы**; Медико-правовой, посмертные, дорожное движение и уголовная токсикология.



например Agilent 6540

Источник: Agilent Technologies

## Общие скрининги лекарств

### преимущества :

- Существующие преимущества LC-MS (без дериватизации, чувствительный, селективный, и т.д.). UHPLC обеспечивает быстрый анализ. Можно также пара УФ.
- Можно обнаружить очень широкий спектр аналитов (в зависимости от используемой экстракции)
- Идентификация на основе точного массового молекулярного иона (поиск по библиотеке или онлайн-базе данных)
- Точная масса MS-MS соответствие спектрального
- Программное обеспечение помогает с структурным анализом
- Можно вернуться к историческим данным пересмотреть возможное наличие соединений

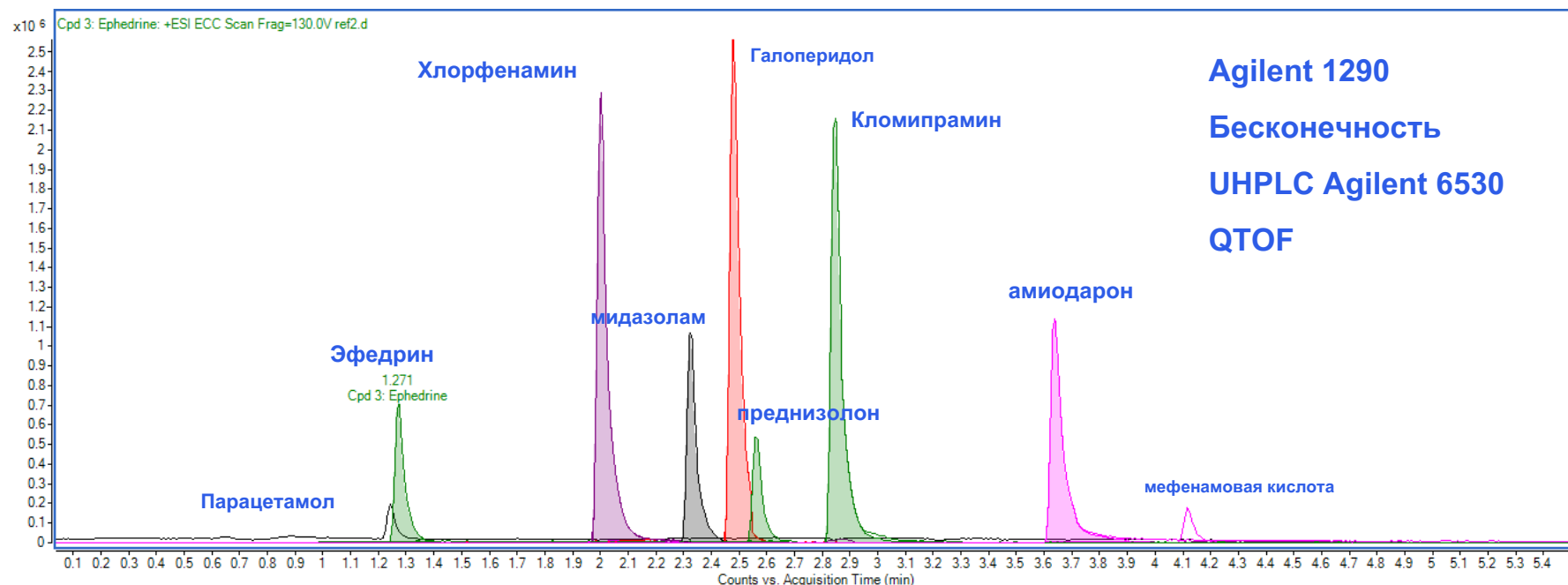
### Недостатки :

- Другие соединения изобарны, чем вы могли бы подумать, даже с точной массой
- Для абсолютной идентификации, по-прежнему необходимо параметр удержания и / или данных MS-MS

# Application of QTOF LC-MS

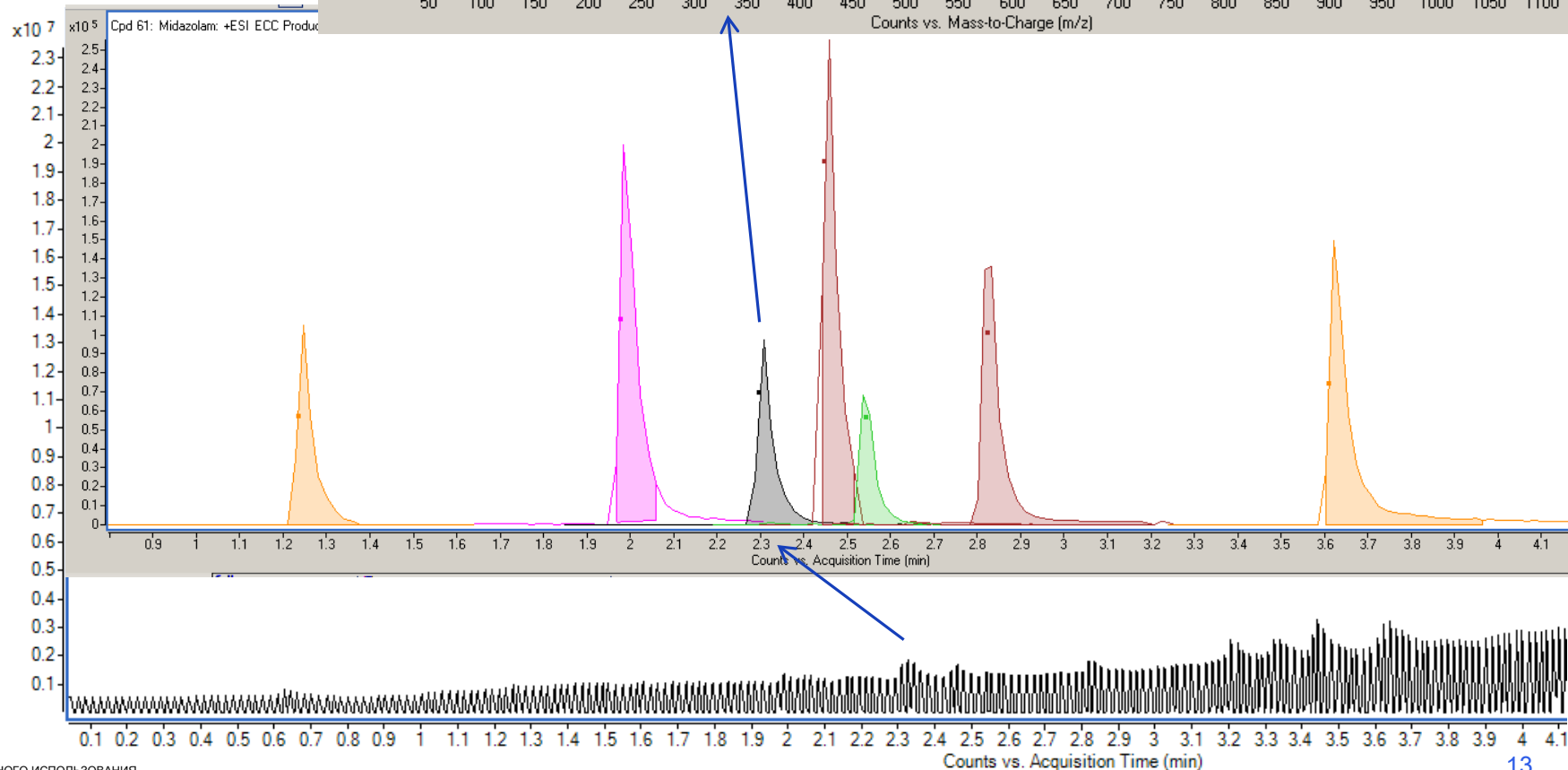
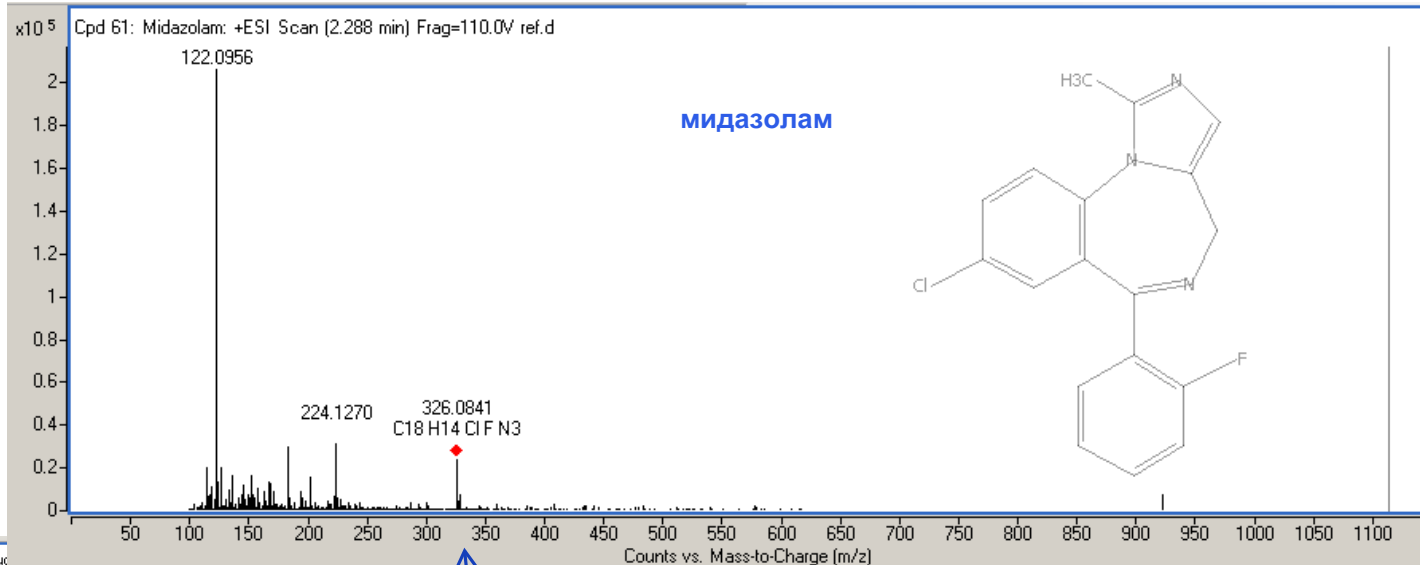
## Общее экранирование

Agilent 2,1 мм x 100 мм Eclipse Plus C18 1,8 мкм колонки ацетонитрилом и 0,1% муравьиной кислоты подвижная фаза градиент UHPLC



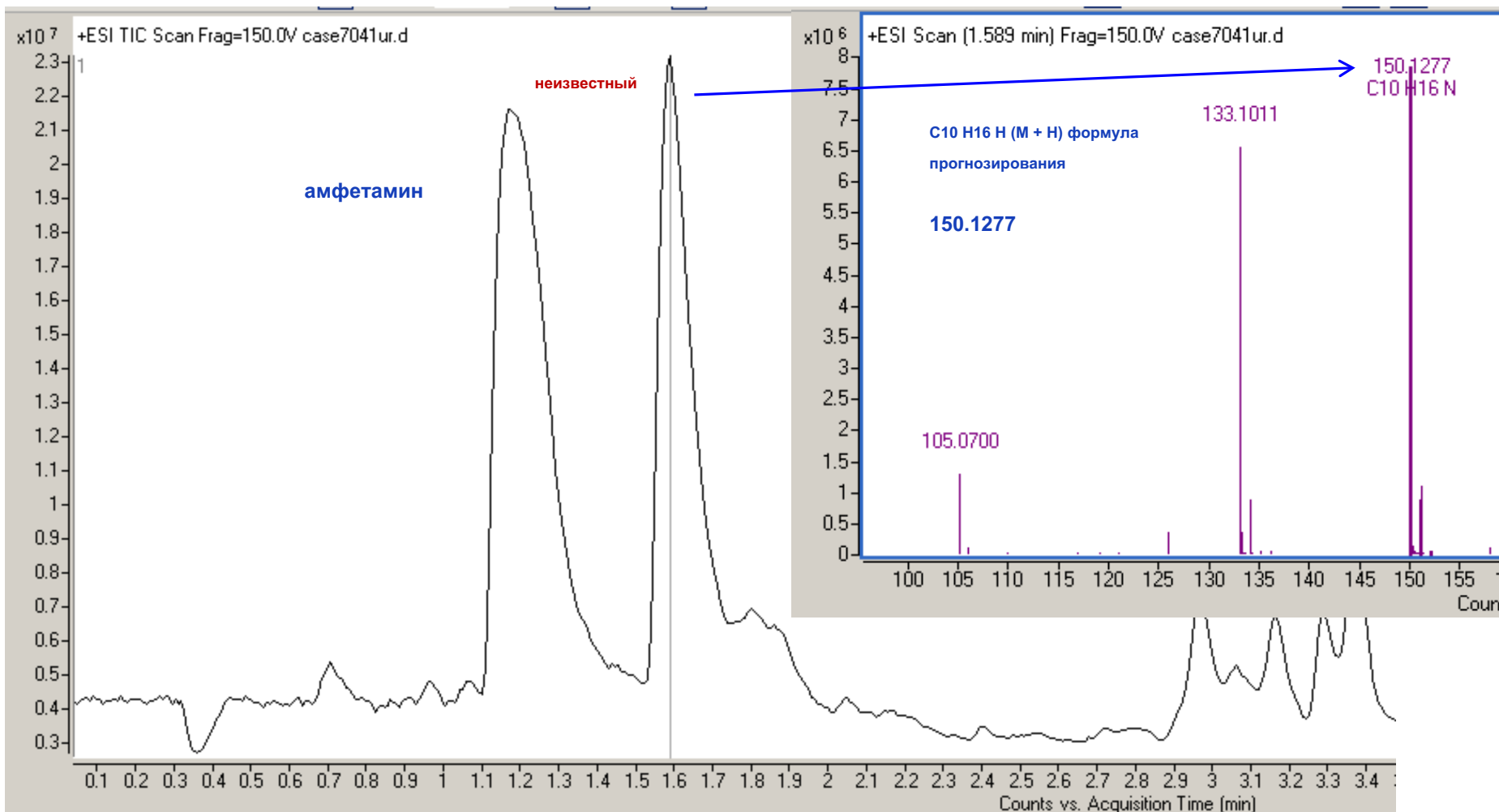
Система позволяет обнаруживать с помощью точной массы и автоматизированной MS-MS. Из ТЭП, различные фильтры могут быть использованы для идентификации потенциальных пиков, представляющих интерес, а затем с помощью функции поиска в отношении базы данных / библиотеки.

Авто MS-МС  
Обнаружение и  
идентификация



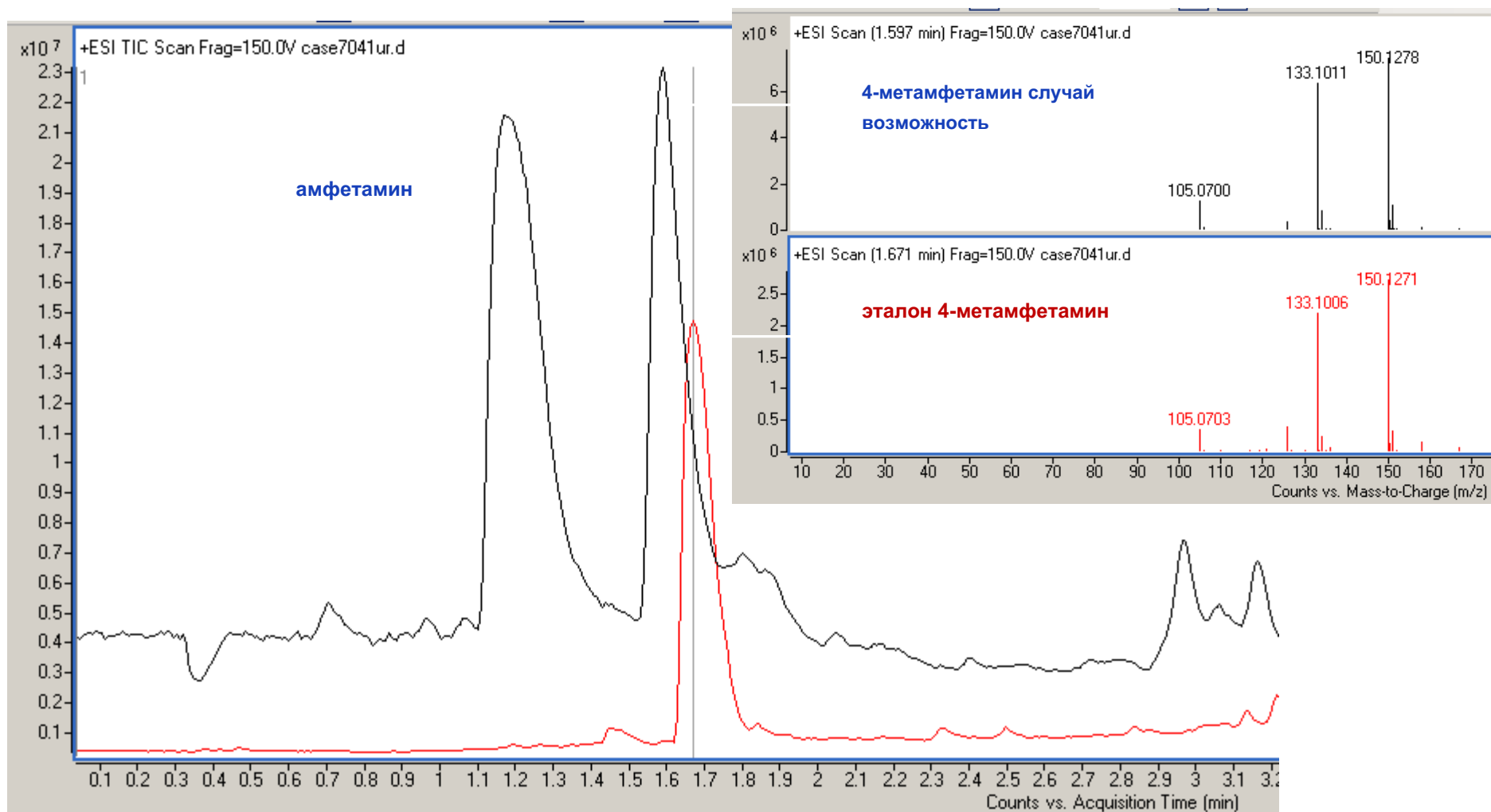
## Примеры Примеры

### Новые психоактивные вещества (NPS)



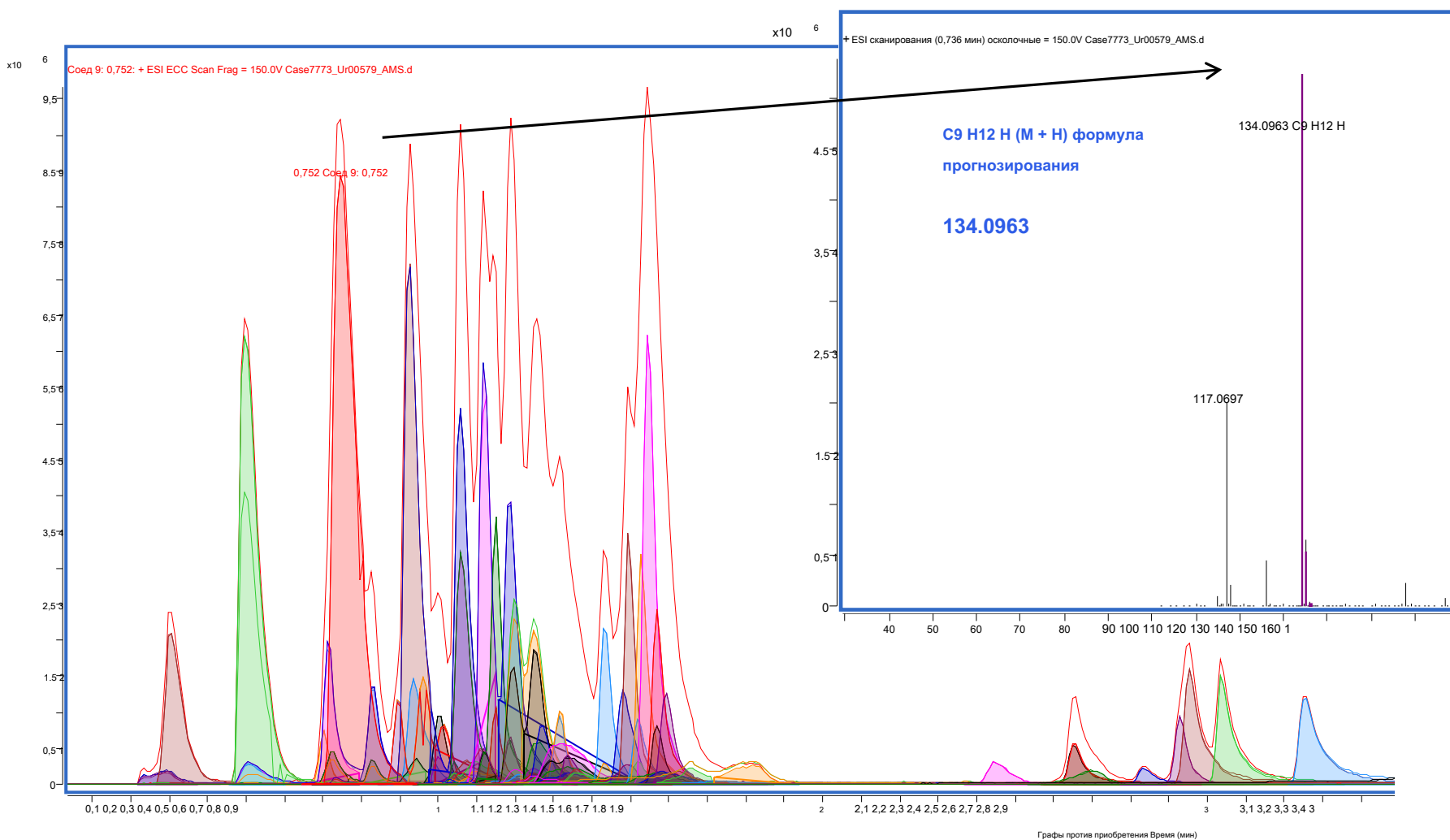
## Примеры Примеры

### Новые психоактивные вещества: 4-метамфетамин (4-МА)



# Примеры Примеры

## Новые психоактивные вещества: 2-аминоиндан





## Примеры Примеры

### Новые психоактивные вещества: 2-аминоиндан

Single Search | Batch Search | Batch Summary | Edit Compounds | Spectral Search | Browse Spectra | Edit Spectra

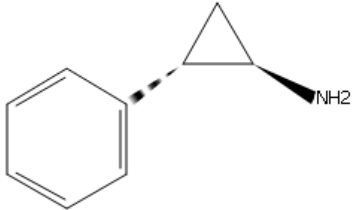
Mass: 134.0963 [M+H]<sup>+</sup> Neutral [M-H]<sup>-</sup>  
 Mass tolerance: 10.0 ppm mDa

Retention time  
 RT tolerance: 0.1 min

Ion search mode  
☒ Include neutrals  
☐ Include anions  
☐ Include cations

Formula:   
 Name:   
 Notes:   
 IUPAC:   
 CAS:   
 ChemSpider:

Molecule: Structure MOL Text



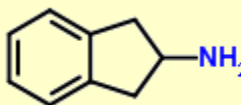
Notes: MAO-Inhibitor

2-Аминоиндан является изобарическим с транилципромин

Single Search Results: 1 hit for Mass: 134.0963

	Compound Name	Formula	Mass	Delta Mass (ppm)	RT (min)	CAS	ChemSpider	IUPAC Name	Spectra #
▶	Tranylcypromine	<u>C<sub>9</sub>H<sub>11</sub>N</u>	133.08915	0.95		<a href="#">155-09-9</a>	<a href="#">18369</a>	(1R,2S)-2-Phenylcyclopropanamine	3

[68787](#)



C<sub>9</sub>H<sub>11</sub>N

133.1903

54

81

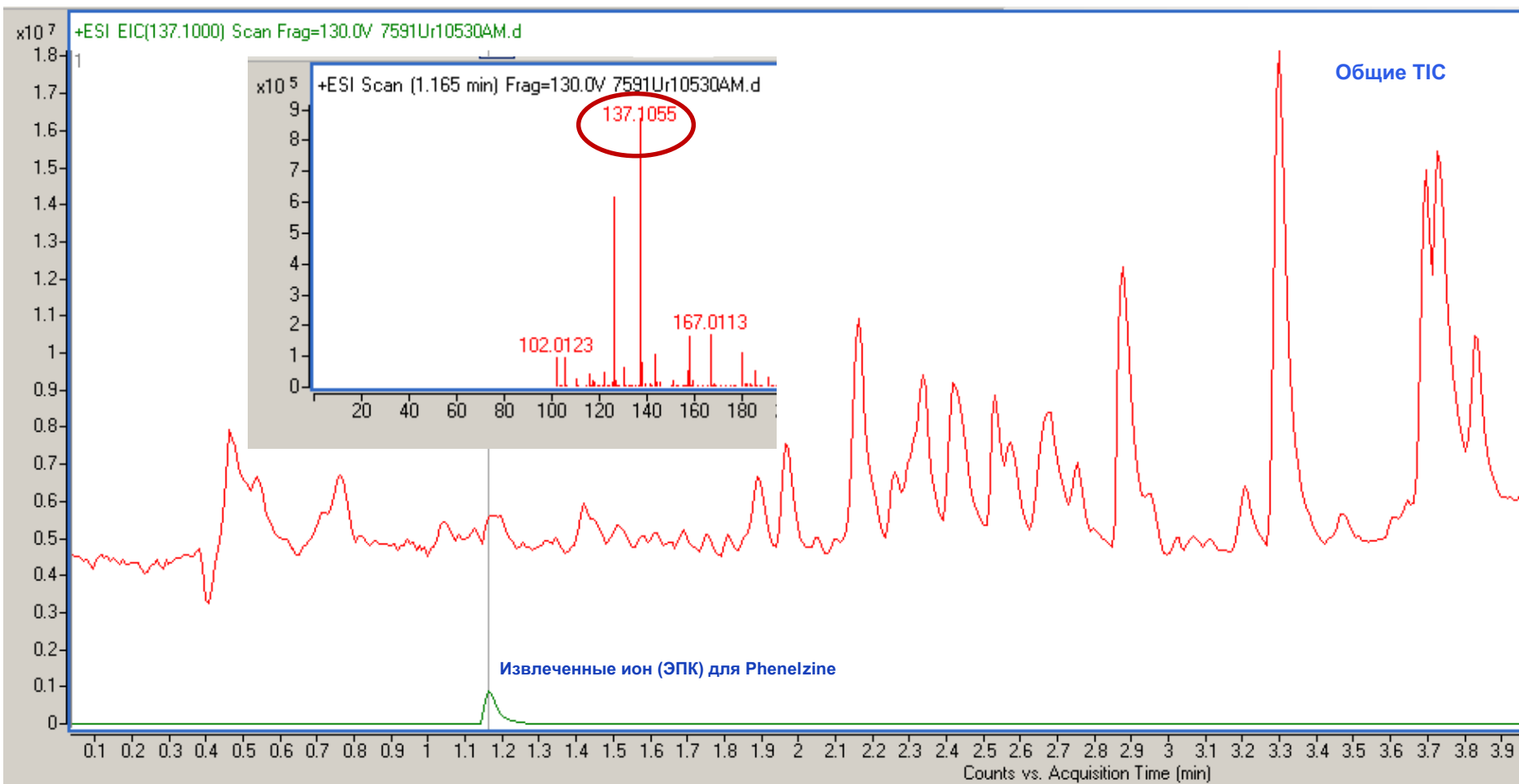
26

7

Источник:  
[www.chemspider.com](http://www.chemspider.com)

## Примеры Примеры

Повторное рассмотрение результатов - фенелзином (после  
новых доказательств использования)



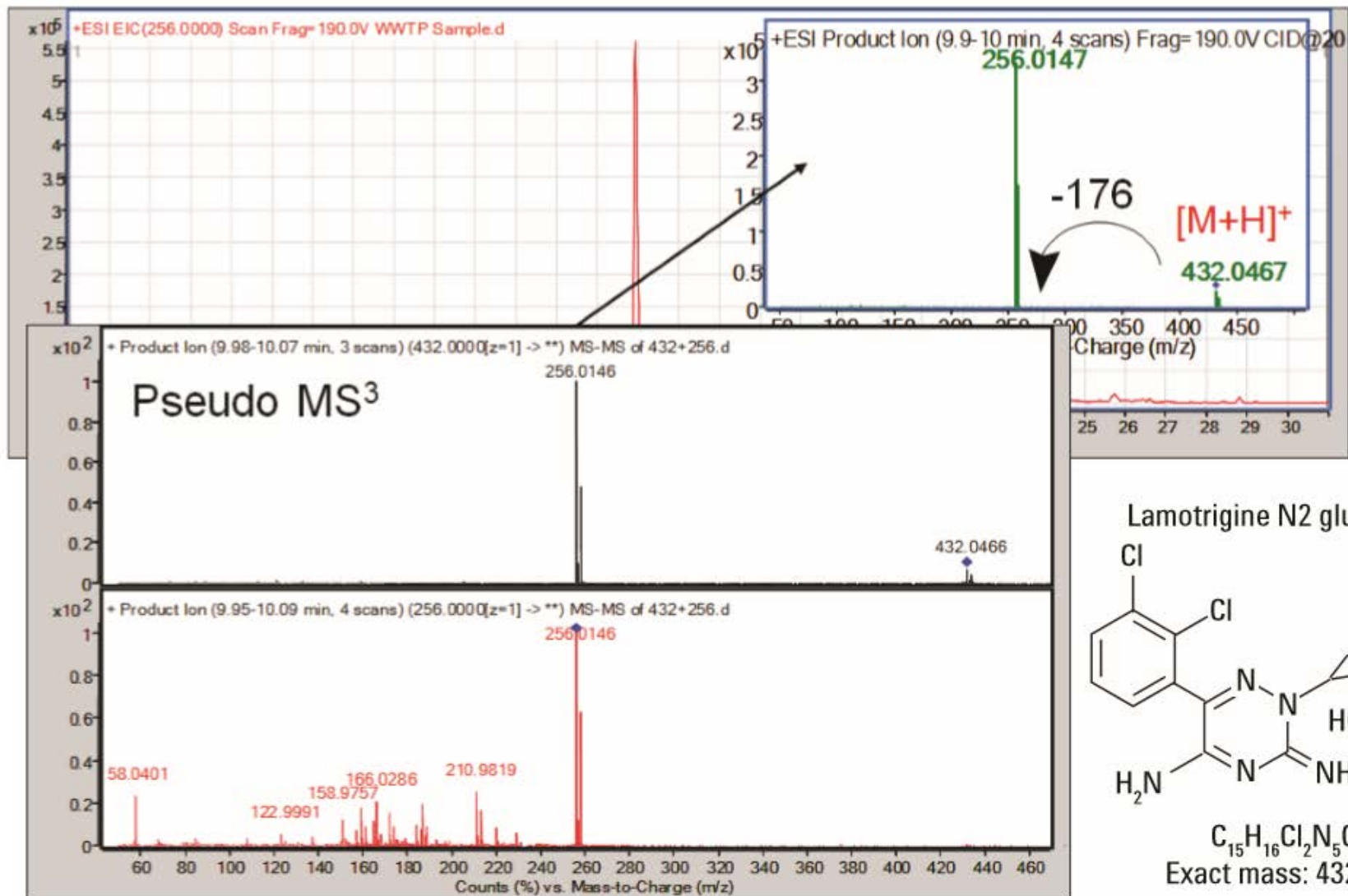
# Application of QTOF LC-MS

## Анализ глюкуронидов лекарственных средств

- Глюкуроновой кислоты представляет собой карбоновую кислоту, которая активно участвует во вторичном (Фаза II) метаболизм многих лекарственных средств. Неизменно возникает с препаратами, которые имеют «ОН» или группу «NH»
- Как правило, приводит к более полярного соединения, которое легче устранить из организма. Сообщается, чтобы оставаться обнаруживаемыми дольше, чем родитель или фаза 1 метаболитов в моче
- Моча анализировали с помощью разбавленной-н-стрелять и / или путем экстракции твердой фазы
- Точная масса «нейтральные потери» данные опроса (м / з 176,03209) был использован пост прогон, чтобы определить любые потенциальные соединения глюкуронида в экстракте
- Глюкуронид метаболиты могут быть идентифицированы путем сопоставления базы данных точной массы исходного соединения (после потери 176.03209), а затем в матче библиотеки фрагментов MS-MS
- Обнаружение обеспечивает полезные вещественные доказательства (особенно в тех случаях, когда длительное время, прошедшее между падающим и отбором пробами, например, корпусами DFSA)
- Обычно глюкурониды гидролизуют для обнаружения метаболита, но это может удалить важную информацию судебно-медицинской экспертизы временной шкалы (например, отношение Фазы I: II),

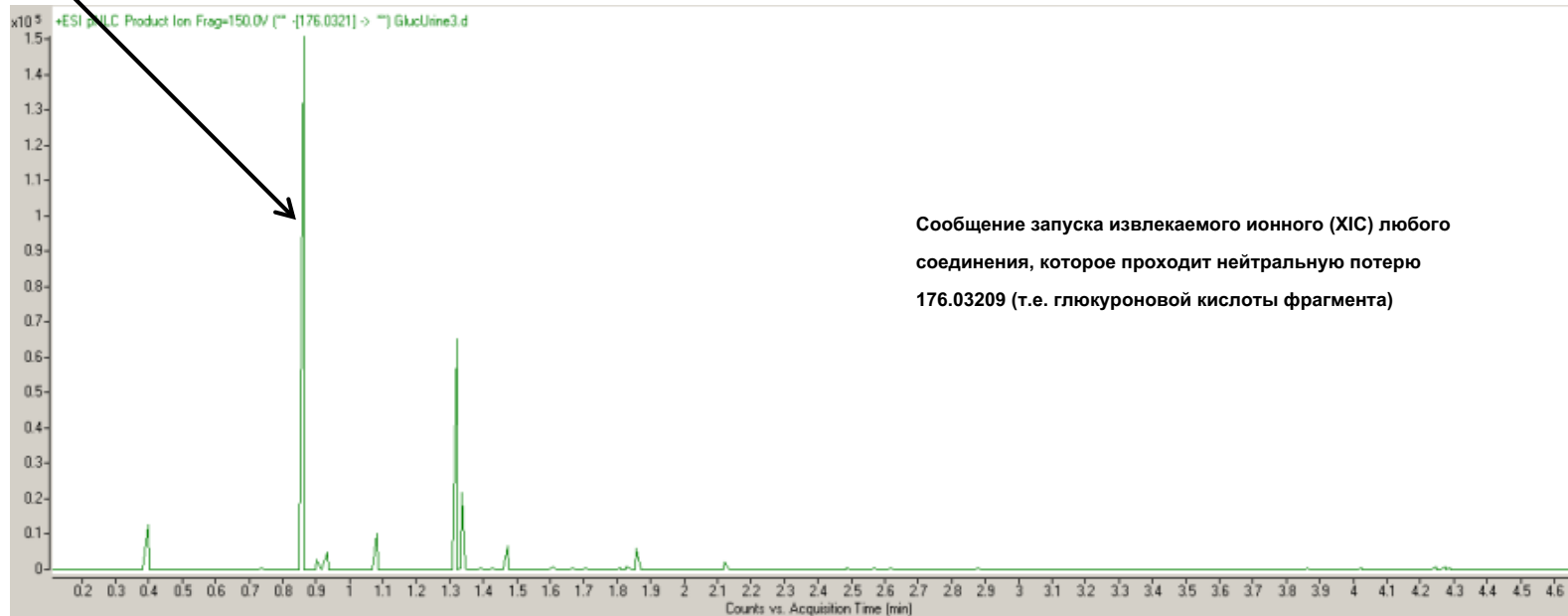
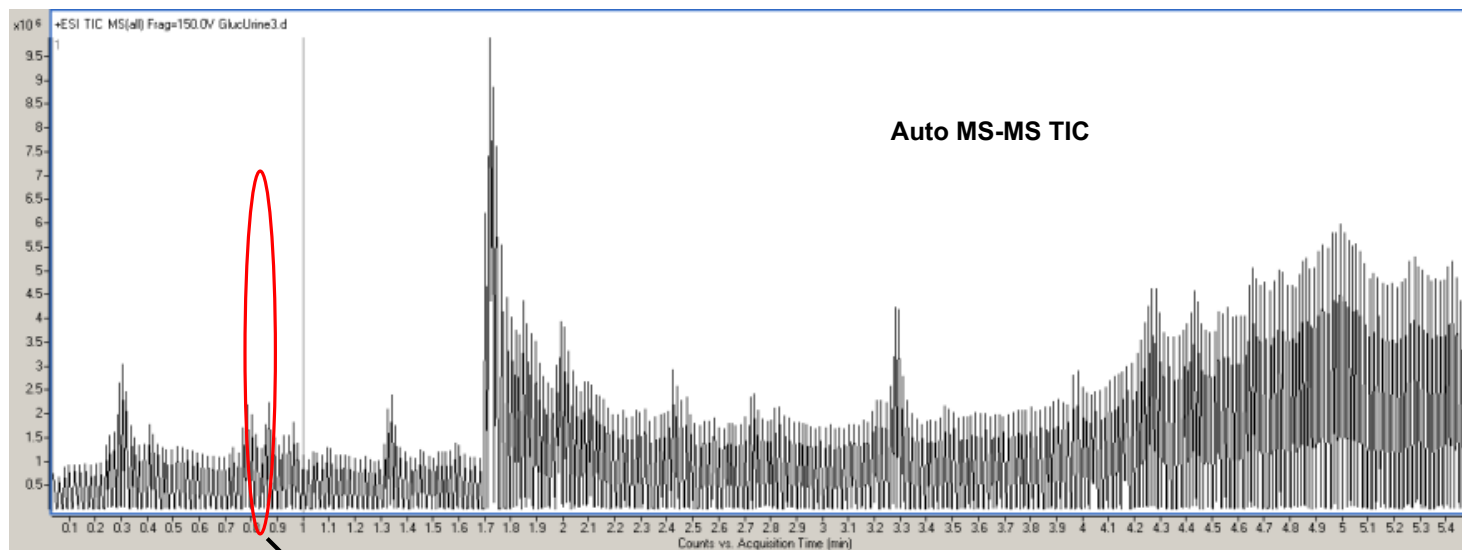
## Примеры Примеры

Глюкуронид метаболитов (например, соблюдение рецепта)



# Примеры Примеры

Глюкуронид метаболиты (например, идентификация метаболита)



Сообщение запуска извлекаемого ионного (XIC) любого соединения, которое проходит нейтральную потерю 176.03209 (т.е. глюкуроновой кислоты фрагмента)

# Примеры Примеры

Глюкуронид метаболиты (например, идентификация метаболита)

Find Compounds

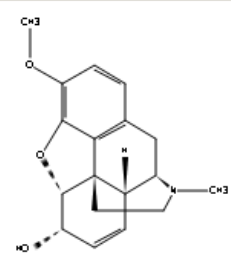
Single Search | Batch Search | Batch Summary | Edit Compounds | Spectral Search | Browse Spectra | Edit Spectra

Mass:  ☒ [M+H]<sup>+</sup> ☐ Neutral ☐ [M-H]<sup>-</sup>  
Mass tolerance:  ppm ☐ mDa

Retention time:  min ☐ Require  
RT tolerance:  min

Ion search mode:  
☒ Include neutrals  
☐ Include anions  
☐ Include cations

Formula:   
Name:   
Notes:   
IUPAC:   
CAS:   
ChemSpider:

Molecule: 

Structure | MOL Text

es: Opioid

**300.1592**  
Точная масса выбранного пика (M + H)

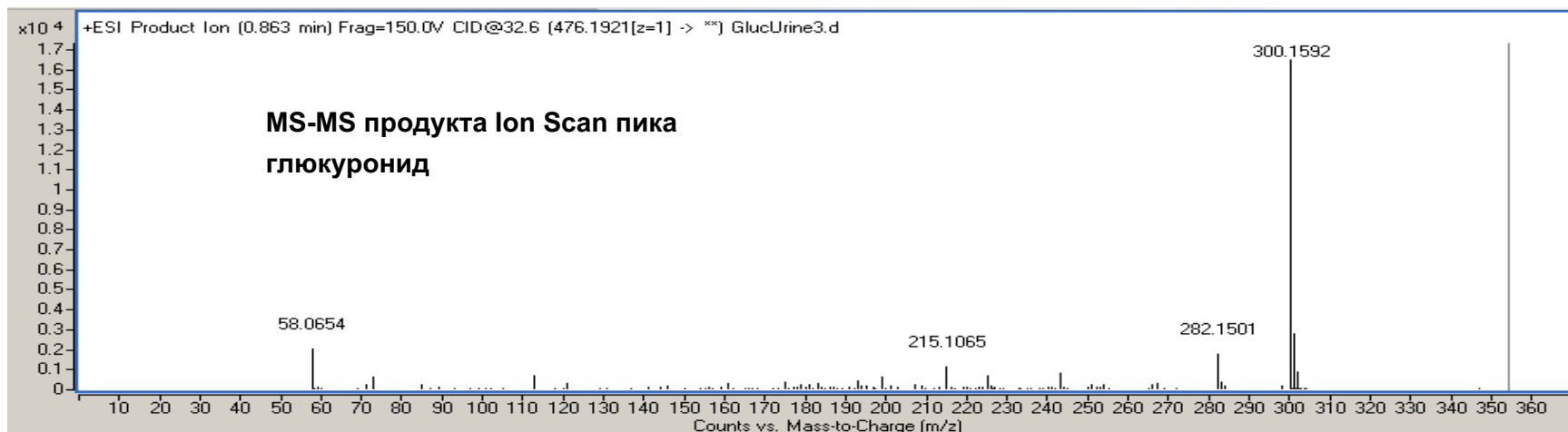
Single Search Results: 6 hits for Mass: 300.1592

	Compound Name	Formula	Mass	RT (min)	CAS	ChemSpider	IUPAC Name	Spectra #
▶	Codeine	C <sub>18</sub> H <sub>21</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	299.15214		<a href="#">76-57-3</a>	<a href="#">4447447</a>	(5α,6α)-3-Methoxy-17-methyl-7,8-didehyd...	3
	Dimethylaminoethylbenzilate	C <sub>18</sub> H <sub>21</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	299.15214		<a href="#">968-46-7</a>	<a href="#">13171</a>	2-(Dimethylamino)ethyl hydroxy(diphenyl)acetate	0
	Hydrocodone	C <sub>18</sub> H <sub>21</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	299.15214		<a href="#">125-29-1</a>	<a href="#">4447623</a>	(5α)-3-Methoxy-17-methyl-4,5-epoxymorphina...	3
	Metopon	C <sub>18</sub> H <sub>21</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	299.15214		<a href="#">143-52-2</a>	<a href="#">4514264</a>	(5α)-3-Hydroxy-5,17-dimethyl-4,5-epoxymorphi...	0
	Neopine	C <sub>18</sub> H <sub>21</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	299.15214		<a href="#">467-14-1</a>	<a href="#">4575408</a>	(5α,6α)-3-Methoxy-17-methyl-8,14-didehyd...	0
	N-Desmethylpropafenone	C <sub>18</sub> H <sub>21</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	299.15214		<a href="#">86383-21-3</a>	<a href="#">114154</a>	1-[2-(3-amino-2-hydroxypropoxy)phenyl]-3-phenylp...	3

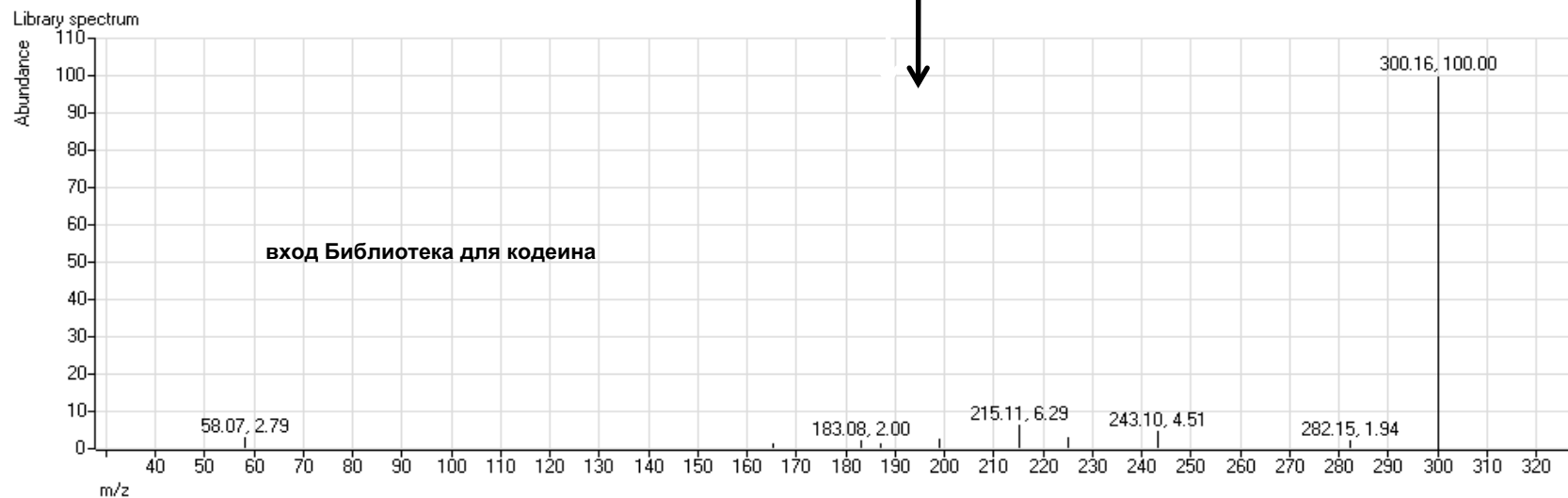
Точная масса полученного продукта нейтральной потери 176.1321 дает шесть возможных изобарные матчей для этого пика ОДНАКО .....

# Примеры Примеры

Глюкуронид метаболиты (например, идентификация метаболита)

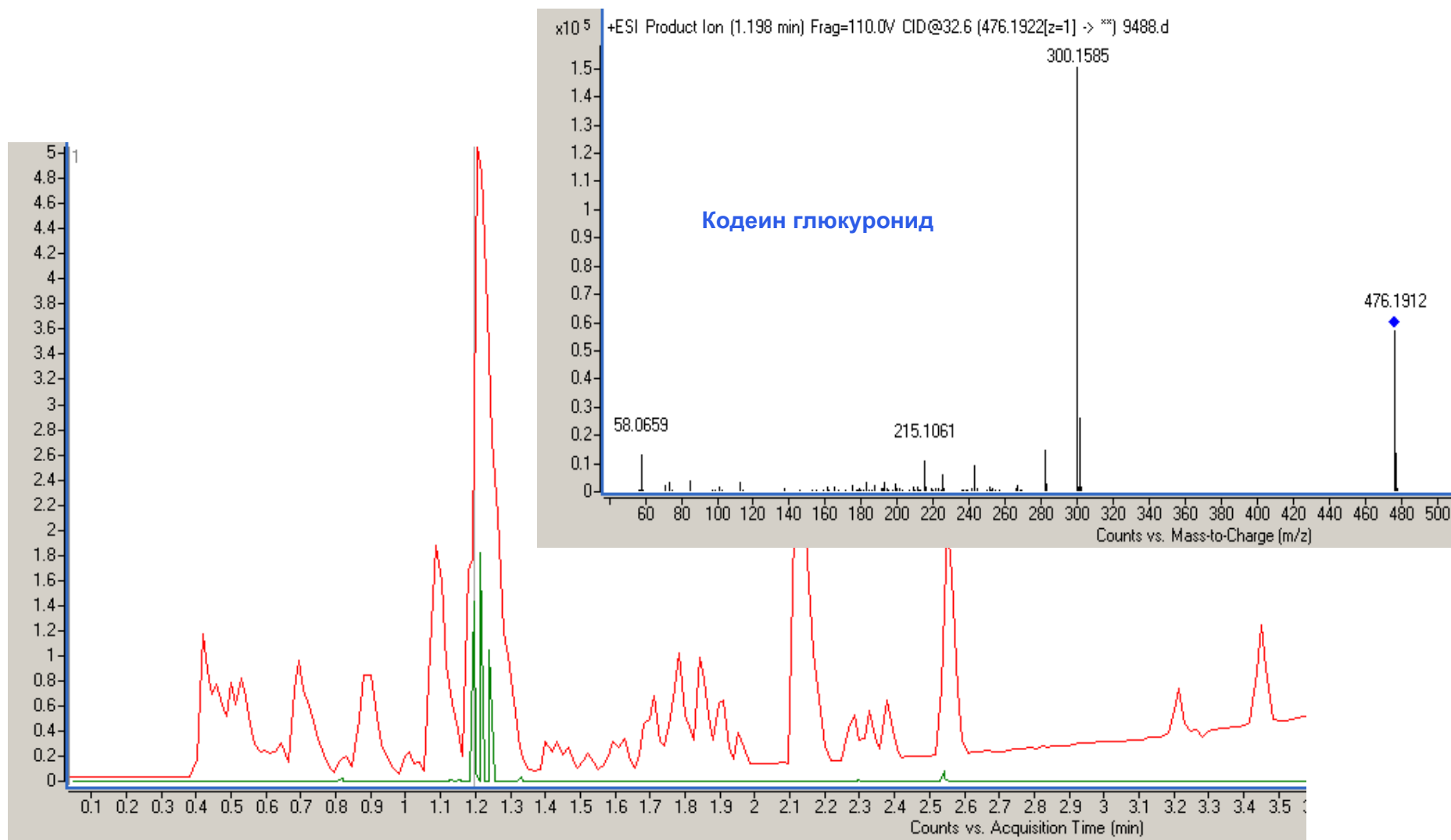


**СОВПАДЕНИЕ!**



## Примеры Примеры

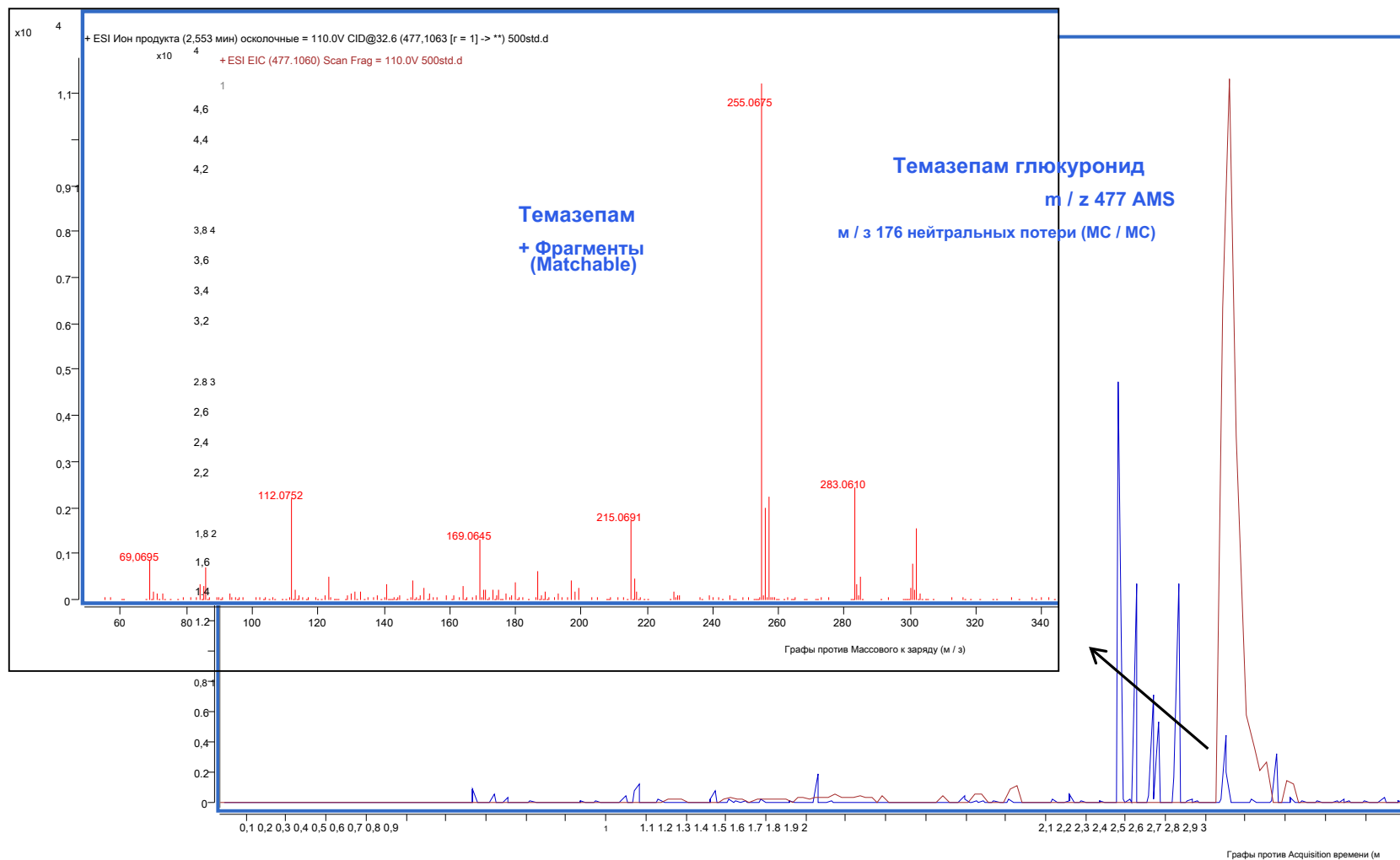
Глюкуронид метаболиты (например, идентификация метаболита)





# Примеры Примеры

Глюкуронид метаболиты (например, расширенное окно обнаружения)



## Примеры Примеры

Глюкурониды метаболиты обнаружены в судебных делах

РОДИТЕЛЬ / ФАЗА 1 метаболит также в СЛУЧАЕ	Глюкуронид <u>метаболит НАЙДЕН В</u> СЛУЧАЕ	РОМАН глюкуронидов (ничего не опубликовано)
Пропранолол-глюкуронид Mirtazapine-глюкуронид Амитриптилин-глюкуронид Hydroxynortriptyline- глюкуронид  Hydroxyamitriptyline- глюкуронид Оксиморфон-глюкуронид норкодеин-глюкуронид лоразепам глюкуронид циталопрам-глюкуронид хинин-глюкуронид клозапин-глюкуронид Dosulepin-глюкуронид Венлафаксин-глюкуронид ODV-глюкуронид	Парацетамол-глюкуронид Дигидрокодеин-глюкуронид дигидроморфин-глюкуронид ламотриджин-глюкуронид Морфин-3-глюкуронид морфин-6-глюкуронид Оксазепы глюкуронид Темазепы глюкуронид Desmethylparaverine глюкурониды	Омепразол-глюкуронид Hydroxymethadone- глюкуронид Desmethylnoscapine- глюкуронида α-Hydroxyalprazolam- глюкуронид Hydroxydesmethylnortazapine  - глюкуронид

# Application of QTOF LC-MS

## Синтетические каннабиноиды и метаболиты

### проблемы:

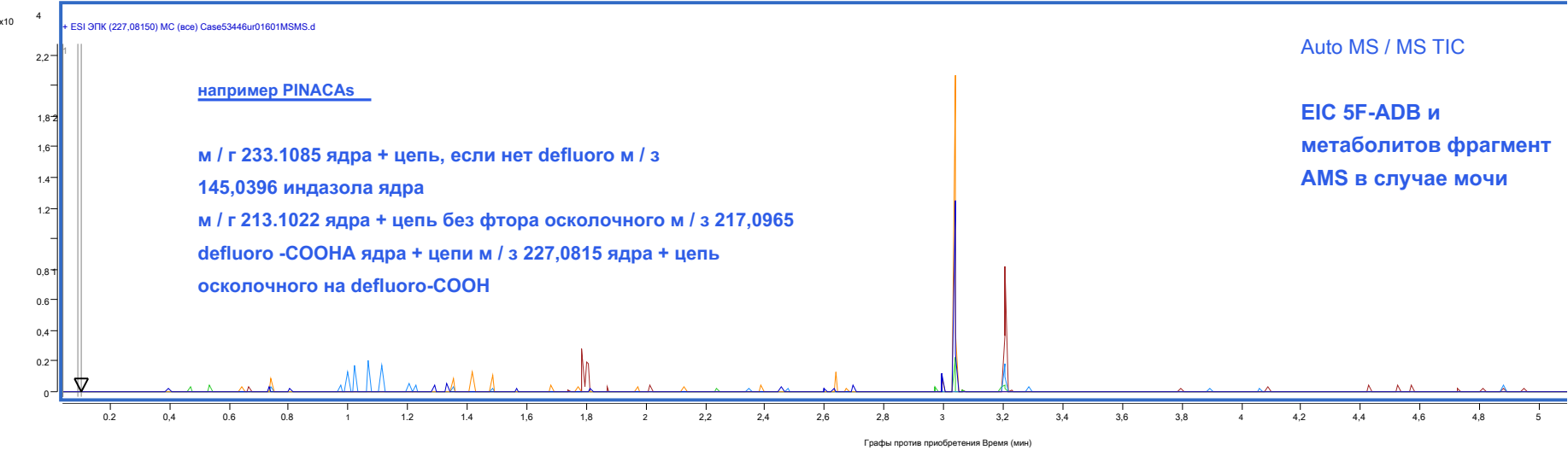
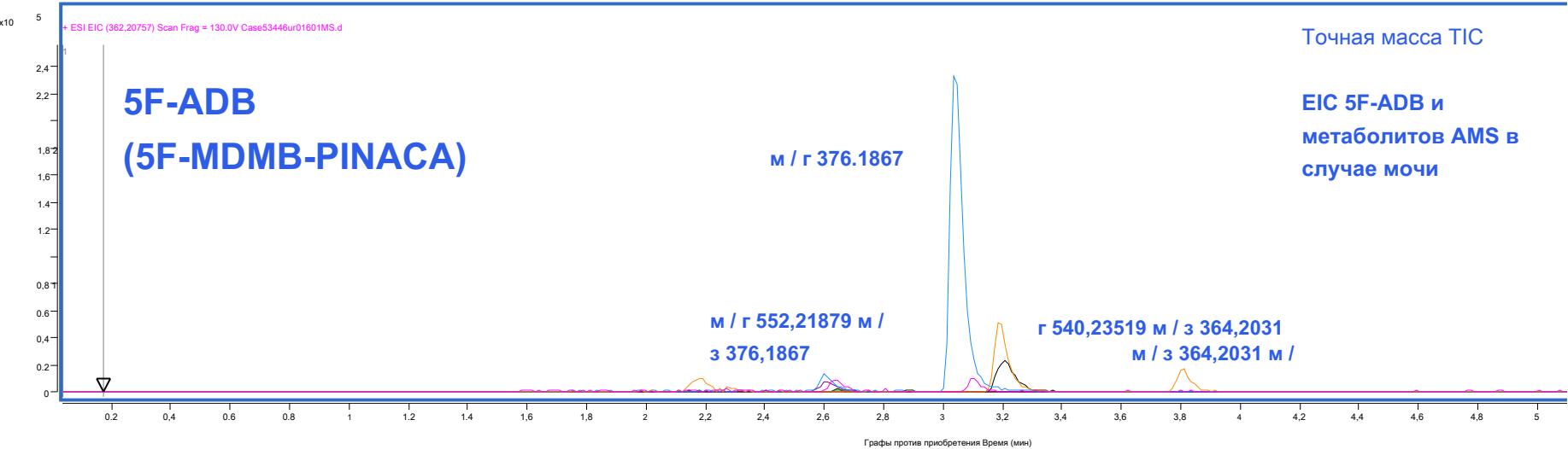
- Очень низкие концентрации исходных лекарственных веществ и метаболитов
- Родительские препараты преимущественно в крови, метаболитов в моче
- Справочный материал доступен не для всех препаратов или метаболитов

### Что ты можешь сделать? :

- Использование целевых QTOF-MS / MS для точной массы исходного лекарственного средства или метаболитов
- Извлечение точных ионов в масс-масс-точной TIC из исходного лекарственного средства или метаболитов
- Выполните ионы Авто MS / MS и извлекать в MS / MS ТЭП общих фрагментов для общих классов синтетических каннабиноидов (например, PINACA, PICA, CHMINACA, FUBINACA, кумил, и т.д.)
- Overlay ЭПК и искать ответы в обоих хроматограммах
- Проверьте с литературой и / или справочного материала (особенно для РТ)

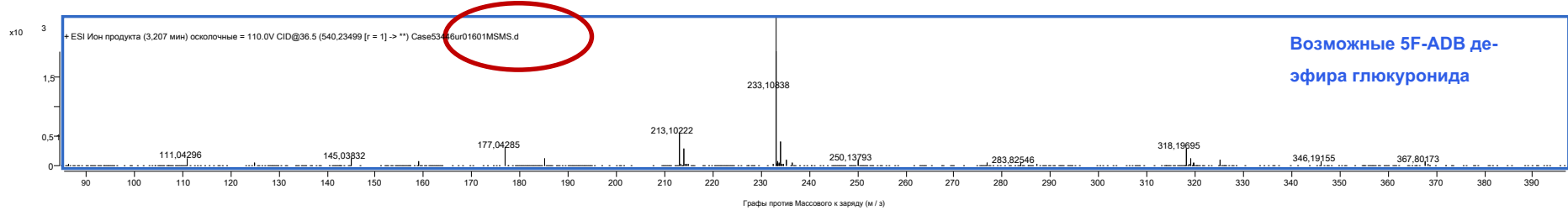
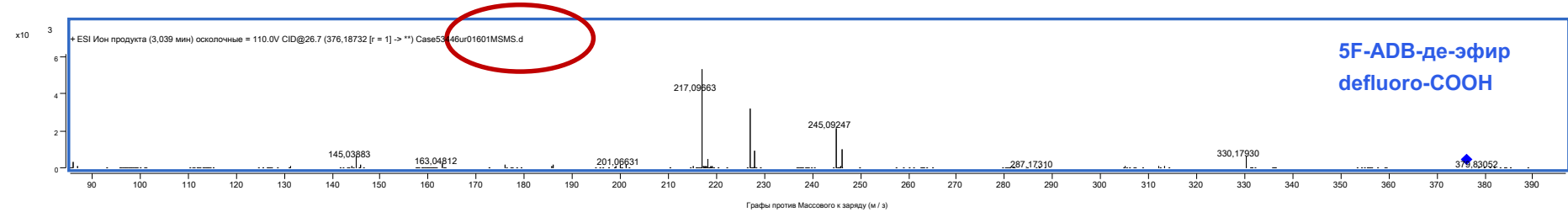
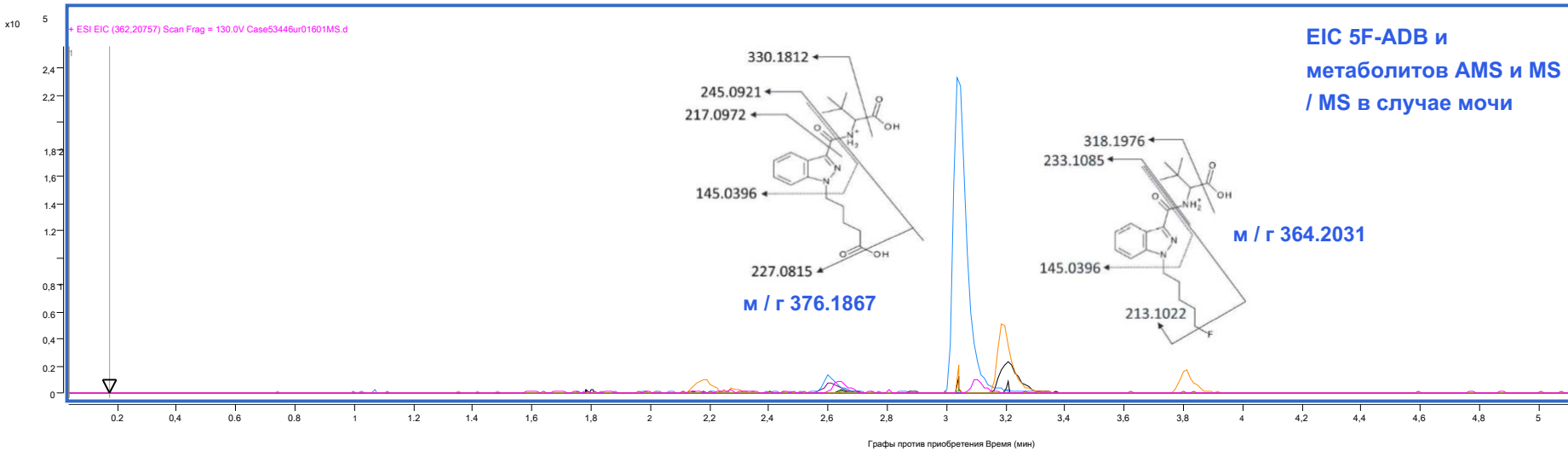
# Примеры Примеры

## Новые психоактивные вещества: синтетические каннабиноиды



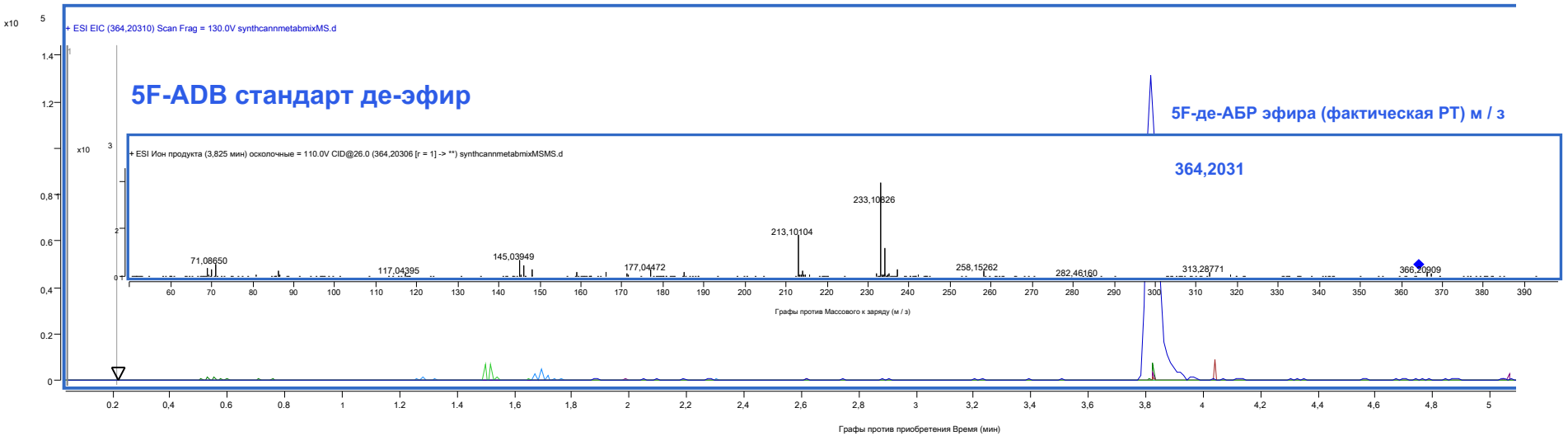
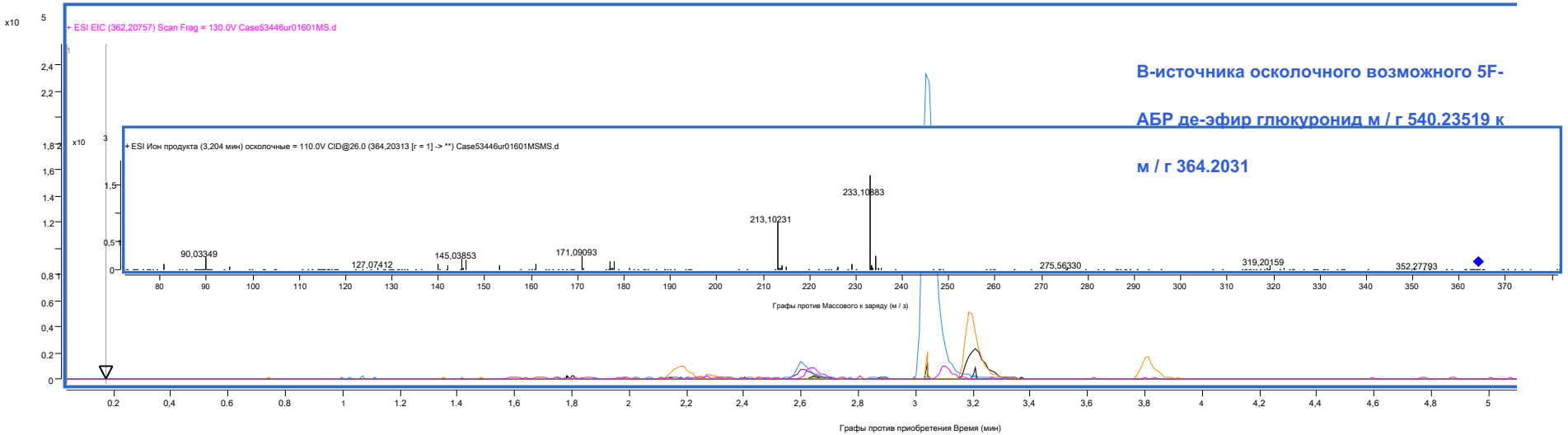
# Примеры Примеры

## Новые психоактивные вещества: синтетические каннабиноиды



Примеры Примеры

Новые психоактивные вещества: синтетические каннабиноиды

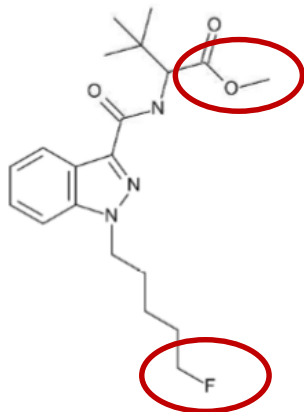


# Примеры Примеры

## Новые психоактивные вещества: синтетические каннабиноиды

Дальнейшее чтение и МС / МС 5F-АБР и метаболитов:  
Kusano M и др. «Фатальная опьянение 5F- АБР и diphenidine:  
Обнаружение, количественное определение, и  
исследование их основных метаболических путей в  
организме человека с помощью ЖХ / МС / МС и ЖХ /  
Q-TOFMS», Drug Test Anal. 10 (2): 284-293 (2018)

### 5F-ADB



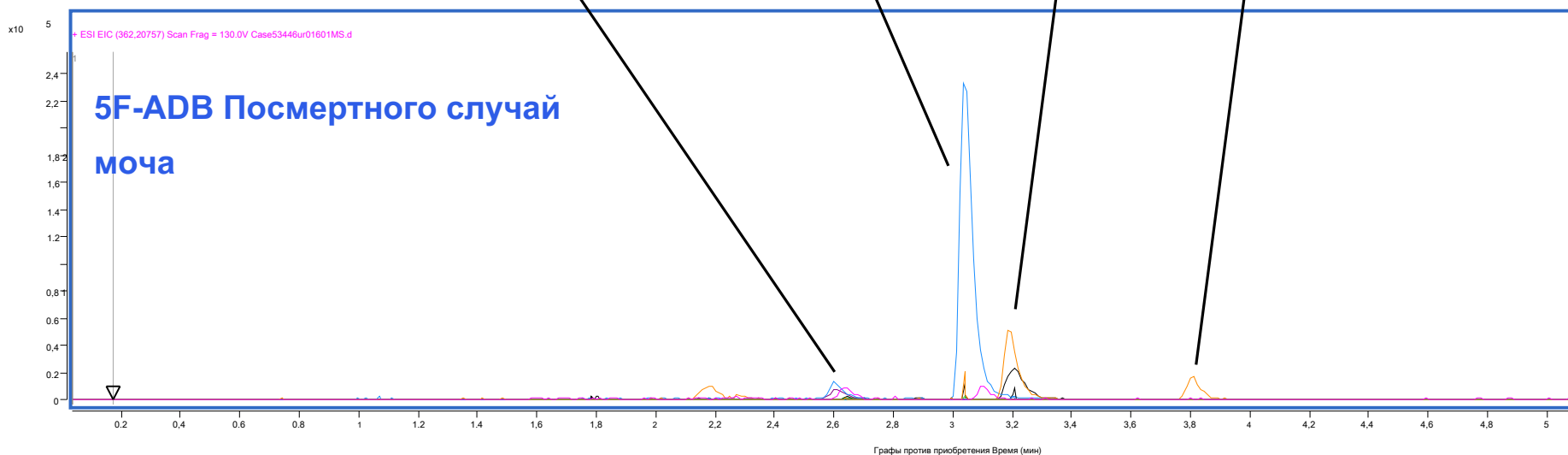
Возможные  
5F-ADB-де-эфир  
defluoro - фрагментация  
COOH глюкуронида с  
в-исток м / г 552,21879 м  
/ г 376,1867

5F-де-АБР эфира  
defluoro -COOH м / з  
376,1867

Возможный  
5F-ADB-де-эфир  
глюкуронид с в  
источнике  
фрагментации м / г  
540,23519 м / г 364,2031

5F-де-АБР эфир  
(валин) м / з 364,2031

### 5F-ADB Посмертного случай моча



- Дополняет существующие системы

Иммуноферментный

ГХ-МС ВЭЖХ-DAD

ЖХ-МС / МС



- Заменяет существующие системы

Иммуноферментный

ГХ-МС ВЭЖХ-DAD

ЖХ-МС / МС





## Дополнительная реализация

Убедитесь, что вы знаете аналитического перекрытия покрытия или различие

Можно использовать те же самые процедуры экстракции или экстракты

Обеспечивает дополнительную уверенность в результатах (в частности, скрининг)

Метод может быть проверен и оценен наряду с существующими системами

## осуществление замены

Убедитесь, что он выполняет, а также, если не лучше, чем метод он заменяет (особенно при замене ЖХ-МС-МС)!

Реализация должна быть тщательно спланирована, чтобы вписаться в существующую систему документооборота

Новый метод должен быть полностью проверен и оценен

Работники должны быть обучены соответствующим образом для эффективного использования



## ПРОБЛЕМЫ И ЛОВУШКИ



При использовании чувствительного QTOF MS в первый раз, вы найдете еще больше вещей, чем традиционная ЖХ / МС-МС! Это может изменить окно обнаружения комментариев, сообщая предохранители и другие аспекты пояснительных судебно-медицинской токсикологии

Помните о фрагментации в источнике-это может повлиять на идентификацию молекулярного иона

Эксперимент с положительным и отрицательным режимом - некоторые лекарства могут сделать как с помощью дейтерированных внутренних стандартов или матричного разбавления может свести к минимуму любых эффектов подавления ионов / повышения, особенно в квантификации Не забудьте про U / HPLC - тем лучше хроматографию, тем лучше данные MS полученный

# Use of QTOF LC-MS

## Использование QTOF LC-MS

### РЕЗЮМЕ

QTOF LC-MS обеспечивает дополнительный метод анализа или может заменить существующие методы (включая LC-MS / MS)

Может быть применен к очень широкому диапазону аналитов поэтому имеет особые преимущества для общего скрининга (вкл. Возможность повторно опрашивать исторические данные), а также обнаружение наркотиков и метаболит & идентификации

Нужно быть в курсе о толковании и аналитических вопросов

Тщательное внедрение и обучение могут улучшить рабочий процесс и значительно улучшить лабораторную службу