



Применение ВЭЖХ-МСВР для выявления карфентанила, ЛСД и каннабимиметика XLR-11 в загнивших трупных тканях

Д.А. Бурмыкин, М.В. Овчаров

ООО «Брукер»

С.А. Савчук

*«РЦСМЭ» Минздрава России, Первый МГМУ
им. И.М. Сеченова Минздрава России
(Сеченовский Университет)*



РЦСМЭ
Российский Центр
судебно-медицинской
экспертизы



Преимущества квадруполь-времяпролетных масс-спектрометров для скрининга



- «Неограниченное» количество определяемых в одном анализе соединений
- Высокая чувствительность в режиме регистрации полного масс-спектра
- Высокая специфичность благодаря точной массе
- Информация о фрагментных и изотопных ионах
- Возможность ретроспективного анализа
- Поиск и идентификация новых и неизвестных соединений

Высокая производительность анализа

Обзорный анализ с низким уровнем ложноотрицательных результатов

Низкий уровень ложноположительных identifications

Неограниченные возможности по детальной обработке данных даже через несколько лет после анализа образца (аудит и расследования)

Bruker TargetScreener HR



Готовое решения на базе ВЭЖХ-МС QTOF, основанные на регистрации полных масс-спектров высокого разрешения для многокомпонентного скрининга, подтверждения и количественного определения пестицидов и наркотических соединений в различных матрицах

Пробоподготовка

ТФЭ, ЖЖЭ

Моча, плазма и т.д.



Оборудование

UHPLC-QTOF

- Bruker QTOF
- Bruker Elute UHPLC



ПО для скрининга и количественного анализа

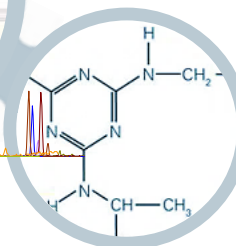
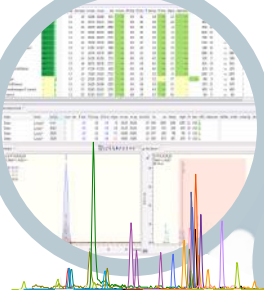
TASQ 1.4

- Обработка данных: готовые методы (с возможностью редактирования)
- Скрининг
- Просмотр результатов и подтверждение
- Количественный анализ

Результаты

Шаблоны отчетов

- Идентификация
- Подтверждение
- Количественный анализ



Готовые условия анализа

- МС: Fullscan + bbCID МС/МС
- ВЭЖХ: колонка, подвижные фазы и градиент

База данных TargetScreener

Более 2180 соединений

- Пестициды, психоактивные и наркотические соединения, лекарственные соединения, токсины, новые психоактивные соединения
- Точная масса, **времена удерживания**
- Диагностические подтверждающие ионы
- Изотопная картина

TargetScreener HR: условия анализа



СВЭЖХ

Bruker Elute UHPLC

Колонка: Bruker Infinity Solo C18-2 2.1x100 mm, 1.8 μ m с предколонкой VanGuard BEH C18 (Waters)

Подвижная фаза: A = H₂O/MeOH 90/10 , B = MeOH (обе фазы с добавкой 5 mM формиата аммония/ 0.01% HCOOH)

Градиент: несколько ступеней, 5 – 99.9% за 15 мин (цикл анализа 20 мин).

Поток: градиент потока 0.2-0.48 мл/мин

Объем пробы: 2-5 мкл

Температура колонки: 40° C

Масс-спектрометр

Bruker maXis impact

Ионизация: ESI(+) 2,500V

Диапазон сканирования: m/z 30-1000

Режим: Чередование **Full scan TOF MS (4eV) с bbCID (25 eV +/- 6eV)* @ 2Hz**



Обработка результатов и база данных

Обработка результатов: **TASQ 1.4**

База данных точных масс: **TargetScreener 3.0**



Квадруполь-времяпролетные (QTOF) масс-спектрометры Bruker



micrOTOF-Q II



Высокоточное определение масс для широкого круга применений

Решение рутинных задач

30,000 FSR

maXis impact



Универсальный прибор для качественного и количественного анализа

Настольный прибор исследовательского класса

50,000 FSR

maXis 4G

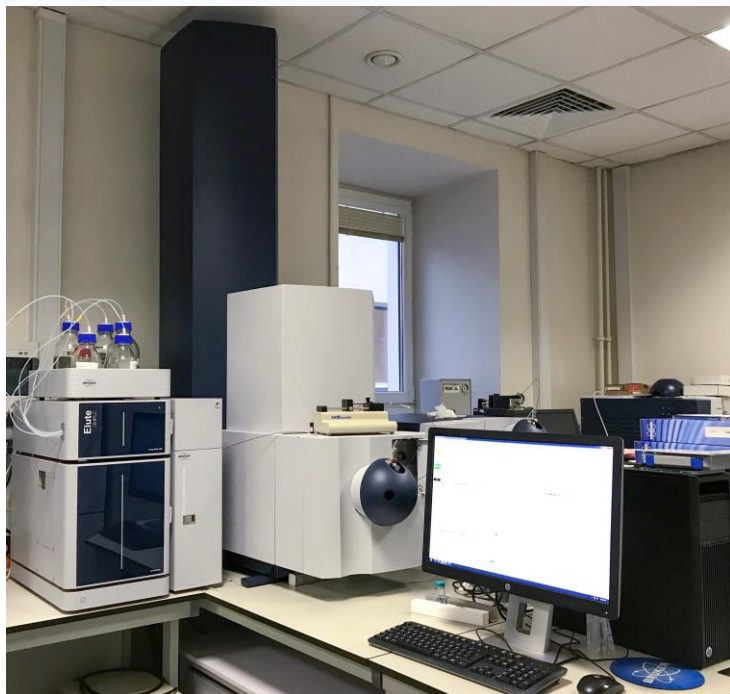


Непревзойденное разрешение и точность определения массы

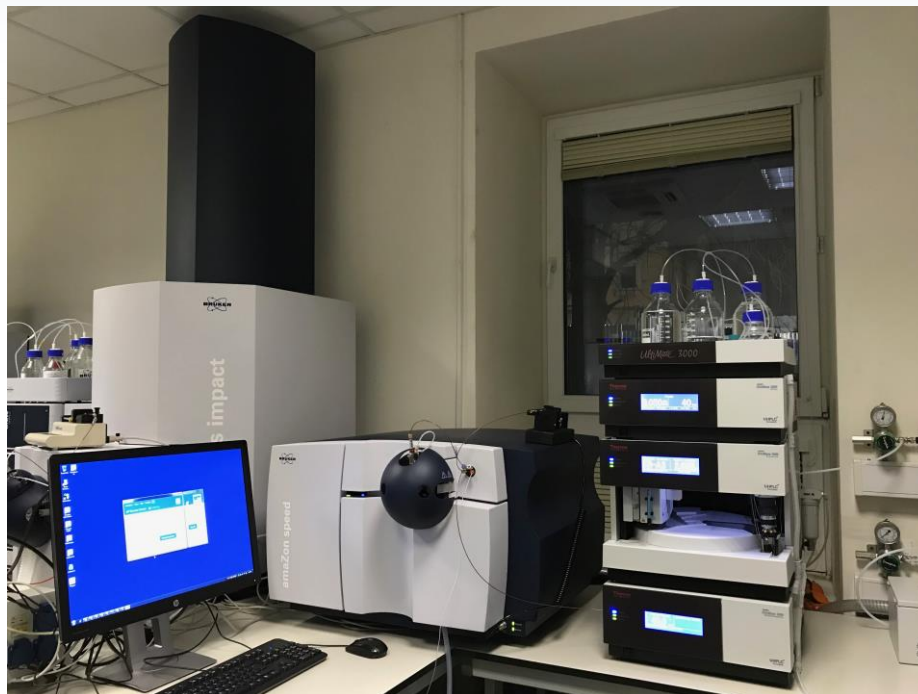
Решение самых сложных задач

80,000 FSR

Демонстрационная лаборатория Bruker



Target Screener HR



Tox typer

Принцип анализа на TargetScreener



Детектирование
"Всего"

- **Регистрация полных масс-спектров высокого разрешения** в режимах MS и bbCID (широкополосной диссоциации, индуцированной соударениями)

Исключение
ложноположительных
результатов

- **ПО TASQ автоматически сверяет** наблюдаемое время удерживания, точную массу псевдомолекулярного иона, изотопную картину, возможные аддукты и фрагментные ионы, полученные в режиме bbCID **с базой данных TargetScreener HR**
- **Применение подтверждающих ионов для исключения ложноположительных identifications**

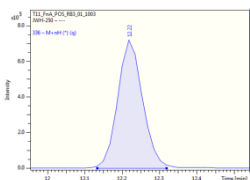
Выдача отчета +
ретроспективный
анализа (при
необходимости)

- Все данные сохраняются для **ретроспективного анализа** без необходимости повторного анализа пробы в случае поиска дополнительных соединений
- **Базу данных легко можно расширить** при наличии стандартов определяемых соединений

Режим работы масс-спектрометра: скрининг (стандартно)

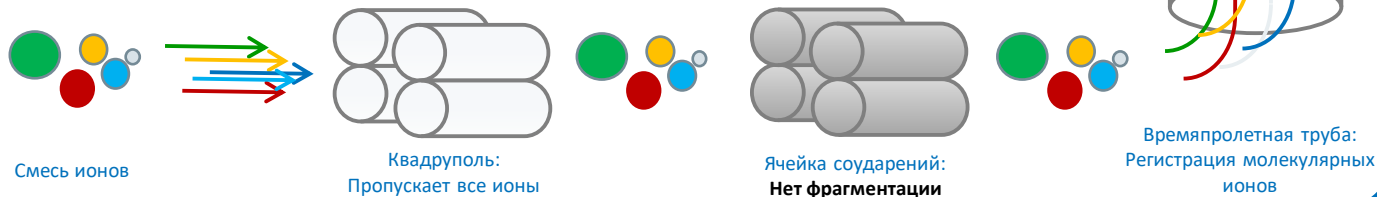


Полное сканирование для детектирования

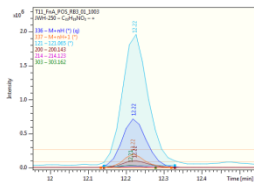


Сканирование в MS режиме:

- Без изоляции квадруполом
- **Без фрагментации** в ячейке соударений (низкая энергия соударений)



МС/МС для подтверждения



Широкополосный МС/МС режим:

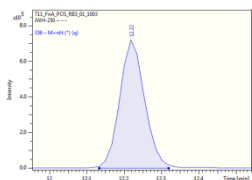
- Без изоляции квадруполом
- **Фрагментация всех ионов** в ячейке соударений (высокая энергия соударений)



Режим работы масс-спектрометра: подтверждение (при необходимости)

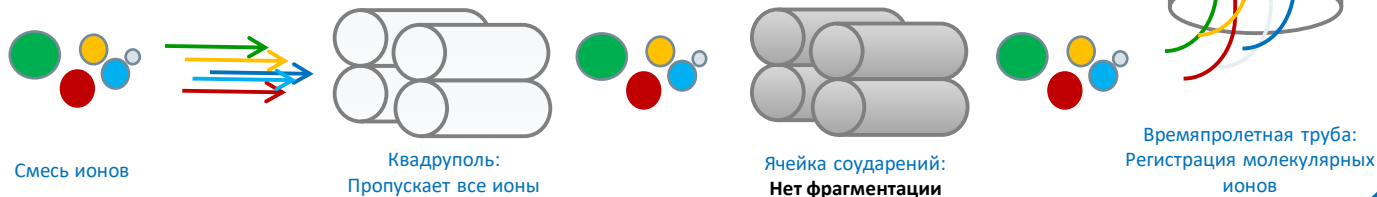


Полное сканирование для детектирования

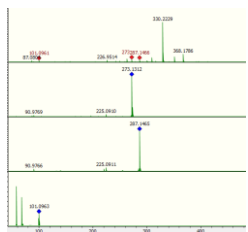


Сканирование в MS режиме:

- Без изоляции квадруподем
- **Без фрагментации** в ячейке соударений (низкая энергия соударений)

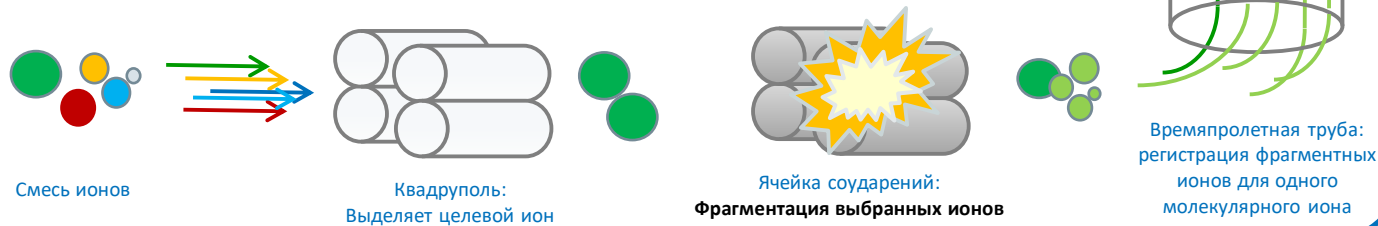


МС/МС для подтверждения



Автоматический MS/MS режим:

- Изоляция молекулярных ионов квадруподем
- **Фрагментация выбранных ионов** в ячейке соударений (высокая энергия соударений)



База данных TargetScreeener HR (в ПО TASQ)



Порядок отображения колонок в базе данных может быть изменен для удобства просмотра

Method settings Analytes settings Internal Standards

Row	Analyte	Formula	Mass [Da]	RT [min]	Rt tol. [min] ±	Rt Narrow [min] ±	Rt Wide [min] ±
283	Clothiapine	C18H18CIN3S	343.091	8.960	0.500	0.250	0.400
284	Clotiazepam	C16H15CIN2OS	318.059	10.170	0.500	0.250	0.400
285	Clozapine	C18H19CIN4	326.130	7.190	0.500	0.250	0.400
286	Cocaethylene	C18H23NO4	317.163	5.460	0.500	0.250	0.400
287	Cocaine	C17H21NO4	303.147	4.860	0.500	0.250	0.400
288	Codeine	C18H21NO3	299.152	3.400	0.500	0.250	0.400
289	Colchicine	C22H25NO6	399.168	6.280	0.500	0.250	0.400
290	Corticosterone	C21H30O4	346.214	8.740	0.500	0.250	0.400

Row	Ion	Ion formula	m/z	Spectrum type	Mandatory	Area thr.	Int. thr.	Sens. [%]	Min peak valley [%]
1	M+nH	C17H22NO4^1+	304.1543	FullScan	<input checked="" type="checkbox"/>	1000	400	99	4
2	182.118	C10H16NO2^1+	182.1176	bbCID	<input checked="" type="checkbox"/>	1000	400	99	4
3	82.065	C5H8N^1+	82.0651	bbCID	<input checked="" type="checkbox"/>	1000	400	99	4
4	105.033	C7H5O^1+	105.0335	bbCID	<input type="checkbox"/>	1000	400	99	4
5	119.049	C8H7O^1+	119.0491	bbCID	<input type="checkbox"/>	1000	400	99	4
6	150.091	C9H12NO^1+	150.0913	bbCID	<input type="checkbox"/>	1000	400	99	4

TargetScreeener HR 3.0 включает высококачественную базу данных точных масс для более чем 2000 соединений, актуальных в СМЭ.

База данных включает:

- Время удерживания
- Подтверждающие ионы bbCID
- Продукты фрагментации в источнике
- Изотопное распределение
 - Аддукты
 - Изомеры

Edit ion ratio

Remove ion ratio



Institute of Forensic
Medicine, Freiburg



UNIVERSITY OF HELSINKI
FACULTY OF MEDICINE

База данных TargetScreeener (в ПО TASQ)



Ожидаемое время удерживания и соответствующие допуски могут быть изменены пользователем независимо для каждого соединения

Row	Analyte	Formula	Mass [Da]	RT [min]	Rt tol. [min] ±	Rt Narrow [min] ±	Rt Wide [min] ±	Reg.Id
283	Clothiapine	C18H18CIN3S	343.091	8.960	0.500	0.250	0.400	(2058-52-8)
284	Clotiazepam	C16H15CIN2OS	318.059	10.170	0.500	0.250	0.400	(33671-46-4)
285	Clozapine	C18H19CIN4	326.130	7.190	0.500	0.250	0.400	(5786-21-0)
286	Cocaethylene	C18H23NO4	317.163	5.460	0.500	0.250	0.400	(529-38-4)
287	Cocaine	C17H21NO4	303.147	4.860	0.500	0.250	0.400	(50-36-2)
288	Codeine	C18H21NO3	299.152	3.400	0.500	0.250	0.400	(76-57-3)
289	Colchicine	C22H25NO6	399.168	6.280	0.500	0.250	0.400	(64-86-8)
290	Corticosterone	C21H30O4	346.214	8.740	0.500	0.250	0.400	(50-22-6)

...как и допуски для других параметров обработки (например ширина EIC, пороговые значения интенсивности/ площади, степень совпадения изотопной картины)

Area thr.	Int. thr.	EIC width[mDa] ±	EIC width[ppm] ±	mDa narrow ±	ppm narrow ±	mDa wide ±	ppm wide ±	mSigma tol.	mSigma narrow	mSigma wide
1000	400	3	9.9	1	3.0	2	7.0	1000	25	60
1000	400	3	16.5	1	3.0	1	7.0	1000	25	60
1000	400	3	36.6	0	3.0	1	7.0	1000	25	60
1000	400	3	28.6	0	3.0	1	7.0	1000	25	60
1000	400	3	25.2	0	3.0	1	7.0	1000	25	60
1000	400	3	20.0	0	3.0	1	7.0	1000	25	60

База данных TargetScreener (в ПО TASQ)



Row	Analyte	Formula	Mass [Da]	RT [min]	Rt tol. [min] ±	Rt Narrow	Relative intensity	Relative intensity	Relative intensity
283	Clothiapine	C18H18ClN3S	343.091	8.960	0.500				
284	Clotiazepam	C16H15ClN2OS	318.059	10.170	0.500				
285	Clozapine	C18H19ClN4	326.130	7.190	0.500		0.250	0.400	(3780-21-0)
286	Cocaethylene	C18H23NO4	317.163	5.460	0.500		0.250	0.400	(529-38-4)
287	Cocaine	C17H21NO4	303.147	4.860	0.500		0.250	0.400	(50-36-2)
288	Codeine	C18H21NO3	299.152						
289	Colchicine	C22H25NO6	399.168						
290	Corticosterone	C21H30O4	346.214						
291	Cortisone	C21H28O5	360.194						

Row	Ion	Ion formula	m/z	Spectrum type	Mandatory
1	M+nH	C17H22NO4 ⁺¹	304.1543	FullScan	<input checked="" type="checkbox"/>
2	182.118	C10H16NO2 ⁺¹	182.1176	bbCID	<input checked="" type="checkbox"/>
3	82.065	C5H8N ⁺¹	82.0651	bbCID	<input checked="" type="checkbox"/>
4	105.033	C7H5O ⁺¹	105.0335	bbCID	<input type="checkbox"/>
5	119.049	C8H7O ⁺¹	119.0491	bbCID	<input type="checkbox"/>
6	150.091	C9H12NO ⁺¹	150.0913	bbCID	<input type="checkbox"/>

Эксперт может назначить каждый ион (ы) в качестве обязательно необходимого для точной идентификации

База TargetScreener содержит несколько ионов для каждого соединения

Комбинация базы данных ToxScreener с ПО TASQ делает возможной быструю и надежную идентификацию на уровне ppb в сложных матрицах и обеспечивает низкий уровень ложноположительных определений

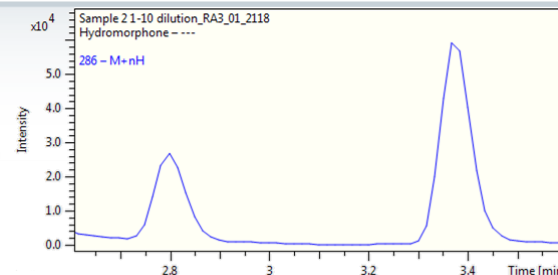
Обработка данных в TASQ

Скрининг



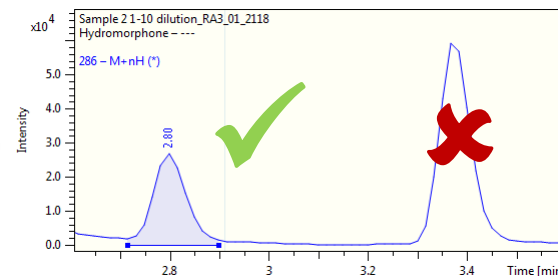
Расчет точных масс определяемых соединений и создание хроматограмм по выбранным ионам (EIC)

- Hydromorphone: $[C_{17}H_{19}NO_3+H]^+ = 286.1438$

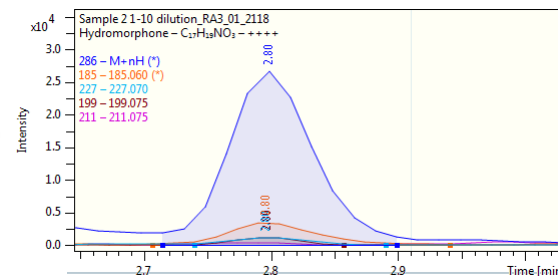


Есть ли пики на хроматограмме по выбранным ионам?

- Если присутствуют несколько пиков
У какого из них время удерживания ближе к библиотечному?



Подтверждение по диагностическим ионам



Оценка совпадения основана на четырех критериях:

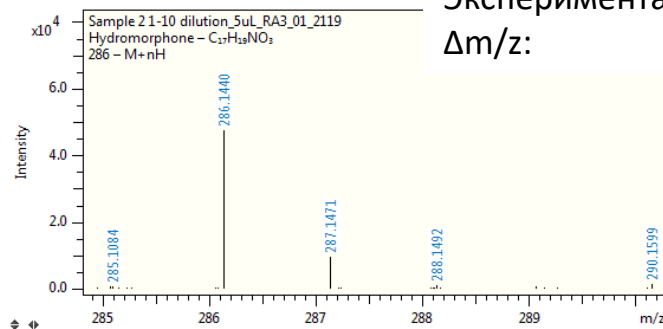
Точность массы, время удерживания, диагностические ионы и изотопная картина

Обработка данных в TASQ

Оценка надежности идентификации



Точность массы



Теоретическая: 286.1438
Экспериментальная: 286.14440
 $\Delta m/z$: 0.82 ppm



++

Время удерживания



Теоретическое: 2.91
Экспериментальное: 2.80
Art: -0.11 min



++

Диагностические ионы



Все диагностические ионы обнаружены?



++

Изотопная картина



mSigma: 12.5



++

Общая оценка



Hydromorphone **++++**

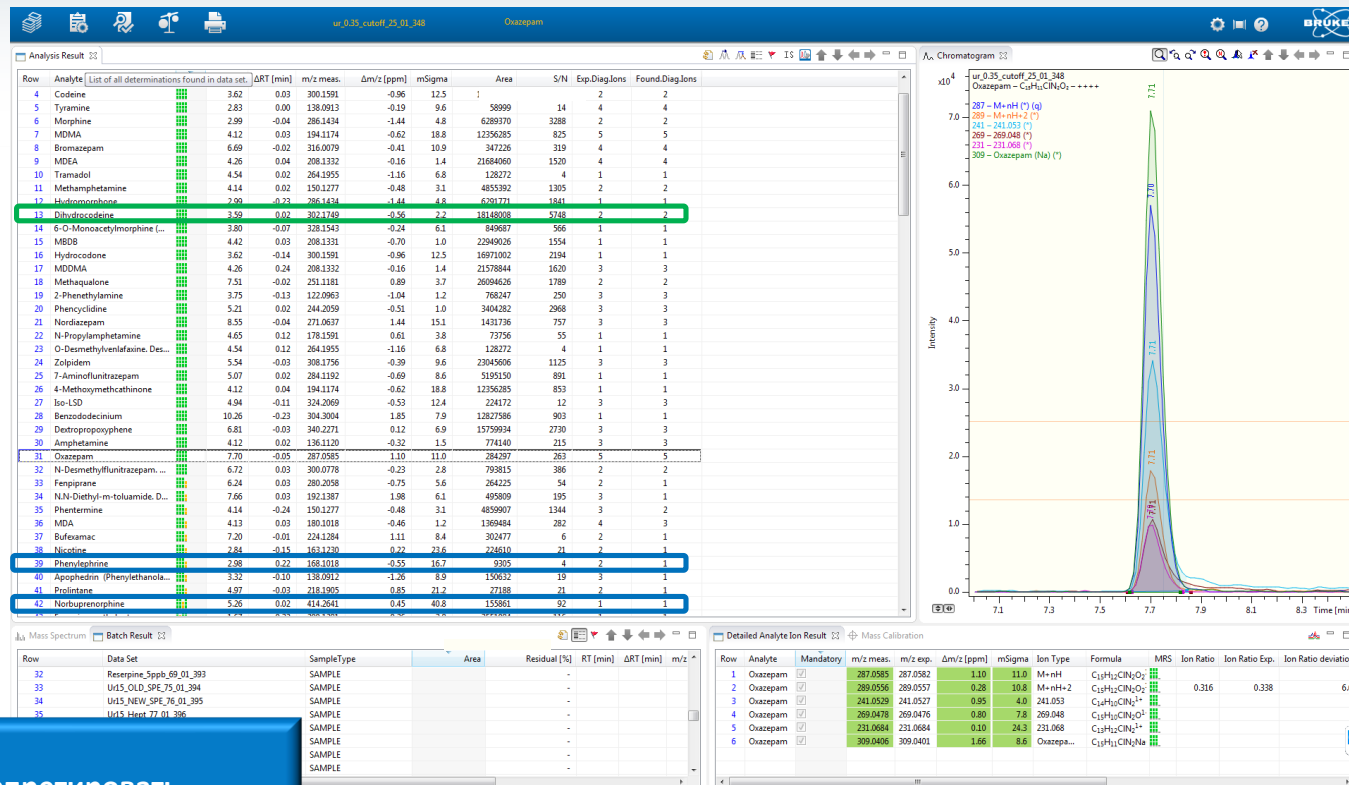
Просмотр и подтверждение результатов Обработанная хроматограмма в TASQ



Подтверждены



Требуется более
внимательный
просмотр



- Быстро, надежно и просто интерпретировать
- Автоматический поиск и оценка совпадения с базой данных
- Выделение цветом в зависимости от оценки совпадения
- Экспорт в ЛИМС или Excel

Анализ стандартного образца мочи

Medidrug Drug Confirmation Cut-off -25%



	Bestandteil / Constituent / Component	Einheit Unit Unité	Cut-off EWDTS	Gravimetrischer Wert Gravimetric Value Valeur gravimétrique
AMPH	Amphetamin(e)	µg/L	200	152,2
	Methamphetamin(e)	µg/L	200	152,2
	MDA 3,4-Methylen(e) dioxyamphetamin(e)	µg/L	200	152,1
	MDE (MDEA) 3,4-Methylen(e) dioxy-N-ethylamphetamin(e)	µg/L	200	152,2
	MDMA 3,4-Methylen(e) dioxymethamphetamin(e)	µg/L	200	152,2
	MBDB N-Methyl-1-(3,4-Methylen(e) dioxyphenyl)-2-Butenamin(e)	µg/L	200	152,2
	BARB	Secobarbital	µg/L	150
BENZO	7-Aminoflunitrazepam	µg/L	100	76,1
	Bromazepam	µg/L	100	76,1
	Oxazepam	µg/L	100	76,1
	Desmethyflunitrazepam	µg/L	100	77,2
	Nordiazepam	µg/L	100	75,4
	Zolpidem	µg/L	100	76,2
	CANN	THC-COOH 11-Nor-Δ ⁸ -THC-carbonsäure / 11-nor-Δ ⁸ -THC carboxylic acid	µg/L	15
COC	Benzoylscgonin(e)	µg/L	150	114,0
	Ecgonin(e) methyl ester	µg/L	150	114,1
OPI	Morphin(e)	µg/L	300	228,4
	Morphin(e)-3-β-D-glucuronid(e)	µg/L	300	228,4
	Codein(e)	µg/L	300	228,5
	Dihydrocodein(e)	µg/L	300	228,3
	6-MAM 6-Monoacetylmorphin(e)	µg/L	10	7,61
	Methadon(e)	µg/L	250	191,6
	EDDP 2-Ethyliden(e)-1,3-dimethyl-5,3-diphenylpyrrolidin(e)	µg/L	250	191,5
	Buprenorphin(e)	µg/L	5	3,81
	Norbuprenorphin(e)	µg/L	5	3,81
	Propoxyphen(e)	µg/L	300	209,2
	LSD Lysergäurediethylamid / Lysergic acid diethylamide	µg/L	1	0,76
	Methaqualon(e)	µg/L	300	216,6
	Phencyclidin(e)	µg/L	25	19,1

Row	Analyte	MR...	RT [min]	ΔRT [min]	m/z meas.	Δm/z [ppm]	mSigma	Area
1	LSD	■■■■	4.94	0.02	324.2069	-0.53	12.4	224172
2	Caffeine	■■■■	4.31	0.04	195.0874	-1.08	8.2	2917545
3	Codeine	■■■■	3.62	0.03	300.1591	-0.96	12.5	16968546
4	Morphine	■■■■	2.99	-0.04	286.1434	-1.44	4.8	6289370
5	MDMA	■■■■	4.12	0.03	194.1174	-0.62	18.8	12356285
6	Bromazepam	■■■■	6.69	-0.02	316.0079	-0.41	10.9	347226
7	MDEA	■■■■	4.26	0.04	208.1332	-0.16	1.4	21684060
8	Methamphetamine	■■■■	4.14	0.02	150.1277	-0.48	3.1	4855392
9	Hydromorphone	■■■■	2.99	-0.23	286.1434	-1.44	4.8	6291771
10	Dihydrocodeine	■■■■	3.59	0.02	302.1749	-0.56	2.2	18148008
11	6-O-Monoacetylmorphine (...)	■■■■	3.80	-0.07	328.1543	-0.24	6.1	849687
12	MBDB	■■■■	4.42	0.03	208.1331	-0.70	1.0	22949026
13	Hydrocodone	■■■■	3.62	-0.14	300.1591	-0.96	12.5	16971002
14	Methaqualone	■■■■	7.51	-0.02	251.1181	0.89	3.7	26094626
15	2-Phenethylamine	■■■■	3.75	-0.13	122.0963	-1.04	1.2	768247
16	Phencyclidine	■■■■	5.21	0.02	244.2059	-0.51	1.0	3404282
17	Nordiazepam	■■■■	8.55	-0.04	271.0637	1.44	15.1	1431736
18	Zolpidem	■■■■	5.54	-0.03	308.1756	-0.39	9.6	23045606
19	7-Aminoflunitrazepam	■■■■	5.07	0.02	284.1192	-0.69	8.6	5195150
20	Dextropropoxyphene	■■■■	6.81	-0.03	340.2271	0.12	6.9	15759934
21	Amphetamine	■■■■	4.12	0.02	136.1120	-0.32	1.5	774140
22	Oxazepam	■■■■	7.70	-0.05	287.0585	1.10	11.0	284297
23	N-Desmethyflunitrazepam. ...	■■■■	6.72	0.03	300.0778	-0.23	2.8	793815
24	Phentermine	■■■■	4.14	-0.24	150.1277	-0.48	3.1	4859907
25	MDA	■■■■	4.13	0.03	180.1018	-0.46	1.2	1369484
26	Norbuprenorphine	■■■■	5.26	0.02	414.2641	0.45	40.8	155861
27	Ecgonine methyl ester	■■■■	1.67	-0.32	200.1281	-0.26	3.8	3551084
28	Methylscopolamine	■■■■	3.72	-0.28	318.1697	-1.01	12.0	482274
29	Buprenorphine	■■■■	7.72	-0.10	468.3119	2.22	8.8	429806
30	7-Aminodesmethyflunitrazep...	■■■■	4.51	0.00	270.1039	0.66	545.8	52761
31	EDDP	■■■■	5.62	0.01	278.1909	1.97	111.2	55491236
32	Methadone	■■■■	7.00	-0.02	310.2173	2.29	126.9	52217404
33	Naftifine	■■■■	7.78	-0.12	288.1752	1.65	172.3	443315
34	Oxycodone	■■■■	3.75	0.06	316.1541	-0.86	572.8	228653

1. Подтверждение обнаружения карфентанила в образцах биоматериала Ф., П., О.



- Исследовались экстракты из печени, мочи и жидкости, содержащейся в контейнерах с размороженной печенью
- Пробоподготовку проводили методами твердофазной экстракции, экстракции гексаном и экстракции гептаном после кислотного и щелочного гидролиза.
- Подробные процедуры подготовки представлены в докладах Никитиной Н.М. и Айгумова М.Ш.
- Анализ образцов проводили с применением источников ESI (стандартный источник электрораспыления и IonBooster (электрораспыление с термофокусировкой))

Подтверждение обнаружения карфентанила в образцах биоматериала лиц Ф., П., О.



- Жидкость из контейнера с печенью П., экстракция гексаном, источник ESI, 5 мкл

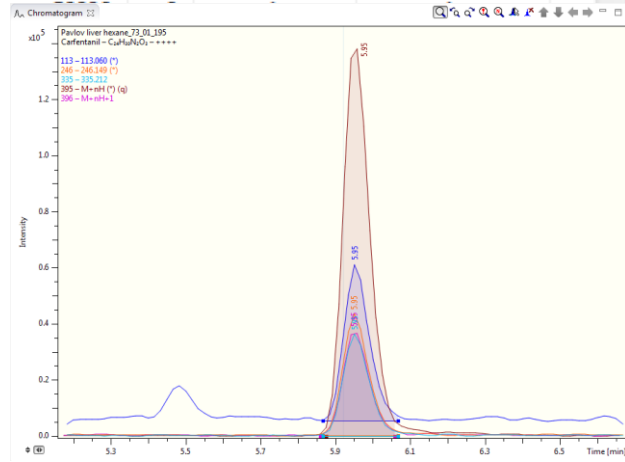
Analysis Result

Row	Analyte	MR...	RT [min]	ΔRT [min]	m/z meas.	Δm/z [ppm]	mSigma	Area	S/N	Exp.Diag.Ions	Found.Diag.Ions
1	Caffeine		4.30	0.03	195.0874	-1.24	16.2	191427	36	3	3
2	2-Phenethylamine		3.80	-0.08	122.0962	-1.49	2.6	4676684	96	3	3
3	Amphetamine		4.15	0.05	136.1118	-1.93	2.5	1305414	62	3	3
4	Tetryzoline		4.53	0.15	201.1383	-1.55	17.8	255219	11	2	2
5	Nicotine		2.86	-0.13	163.1226	-2.27	6.6	22867274	350	2	2
6	Cotinine		3.90	-0.03	177.1020	-1.58	17.3	353351	41	1	1
7	Carfentanyl		5.95	0.03	395.2332	0.64	8.4	699914	344	2	2
8	Fenproporex (NARL)		4.12	-0.13	189.1382	-2.14	5.5	3249849	125	1	1
9	Carfentanil		5.95	0.03	395.2332	0.64	8.4	699914	344	2	2
10	Methamphetamine		4.33	0.21	150.1275	-1.23	9.6	316914	9	2	1

Mass Calibration Detailed Analyte Ion Result

Row	Analyte	Mandatory	m/z meas.	m/z exp.	Δm/z [ppm]	mSigma	Ion Type	Formula	MRS
1	Carfentanil	<input checked="" type="checkbox"/>	113.0595	113.0597	-2.06	n.a.	113.060		
2	Carfentanil	<input checked="" type="checkbox"/>	246.1486	246.1489	-1.05	n.a.	246.149		
3	Carfentanil	<input checked="" type="checkbox"/>	395.2332	395.2329	0.64	8.4	M+nH	C ₂₄ H ₃₁ N ₂ O ₃ ¹⁺	
4	Carfentanil	<input type="checkbox"/>	335.2121	335.2118	0.99	n.a.	335.212		
5	Carfentanil	<input type="checkbox"/>	396.2365	396.2361	0.90	8.4	M+nH+1	C ₂₄ H ₃₁ N ₂ O ₃ ¹⁺	

- Обнаружены все подтверждающие ионы ✓
- Δm/z менее 1 ppm ✓
- ΔRT 0,03 min. ✓



Подтверждение обнаружения карфентанила в образцах биоматериала лиц Ф., П., О.



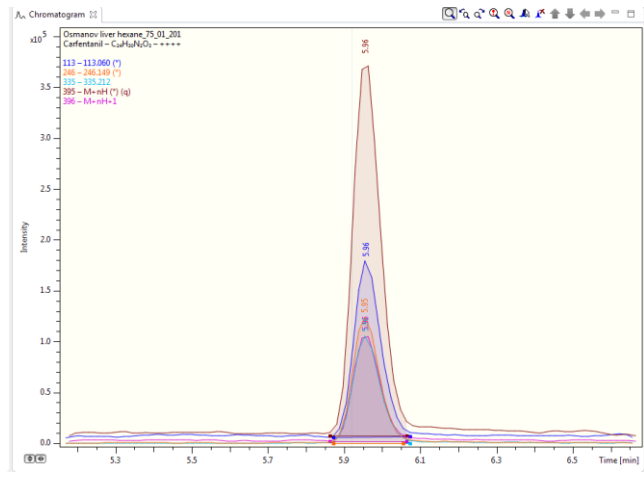
- Жидкость из контейнера с печенью О., экстракция гексаном, источник ESI, 5 мкл

Analysis Result

Row	Analyte	MR...	RT [min]	ΔRT [min]	m/z meas.	Δm/z [ppm]	mSigma	Area	S/N	Exp.Diag.Ions	Found.Diag.Ions
1	Fluoxetine		7.45	0.03	310.1411	-0.67	1.1	20239342	5...	1	1
2	Carfentanil		5.96	0.04	395.2326	-0.76	8.7	1887949	208	2	2
3	Carfentanyl		5.96	0.04	395.2326	-0.76	8.7	1887949	208	2	2
4	2-Phenethylamine		3.81	-0.07	122.0961	-2.91	1.0	1711634	105	3	3
5	Harman		4.65	0.04	183.0910	-3.61	2.7	19956144	497	1	1
6	Cannabidiol		12.19	0.08	315.2318	-0.17	19.8	404489	64	2	2
7	Cotinine		3.91	-0.02	177.1018	-2.59	6.5	537247	42	1	1
8	Benzododecinium		10.37	-0.12	304.2999	0.10	2.2	1163187	464	1	1
9	Nicotine		2.88	-0.11	163.1225	-3.10	8.4	6967195	329	2	2
10	Norfluoxetine		7.49	0.03	296.1253	-1.12	3.9	24129942	1...	2	2

Mass Calibration Detailed Analyte Ion Result

Row	Analyte	Mandatory	m/z meas.	m/z exp.	Δm/z [ppm]	mSigma	Ion Type	Formula	MRS
1	Carfentanil	<input checked="" type="checkbox"/>	113.0594	113.0597	-3.14	n.a.	113.060		
2	Carfentanil	<input checked="" type="checkbox"/>	246.1486	246.1489	-1.08	n.a.	246.149		
3	Carfentanil	<input checked="" type="checkbox"/>	395.2326	395.2329	-0.76	8.7	M+nH	C ₂₄ H ₃₁ N ₂ O ₃ ¹⁺	
4	Carfentanil	<input type="checkbox"/>	335.2117	335.2118	-0.33	n.a.	335.212		
5	Carfentanil	<input type="checkbox"/>	396.2362	396.2361	-0.23	8.7	M+nH+1	C ₂₄ H ₃₁ N ₂ O ₃ ¹⁺	

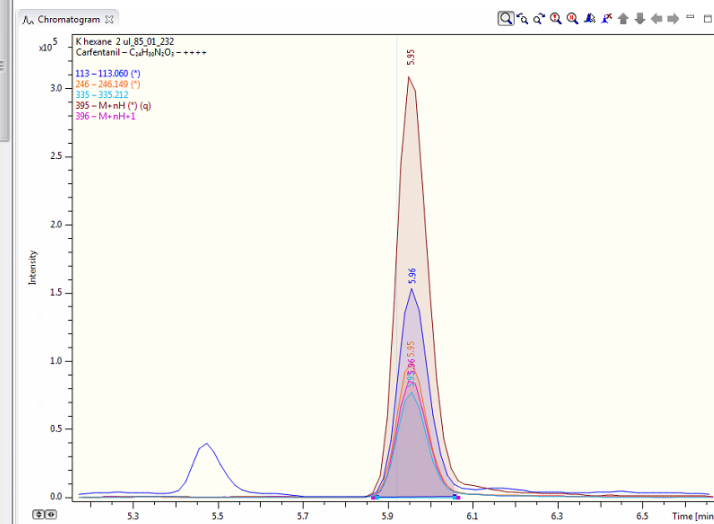


- Обнаружены все подтверждающие ионы ✓
- Δm/z менее 1 ppm ✓
- ΔRT 0,04 min. ✓

Контрольная проба, содержащая карфентанил



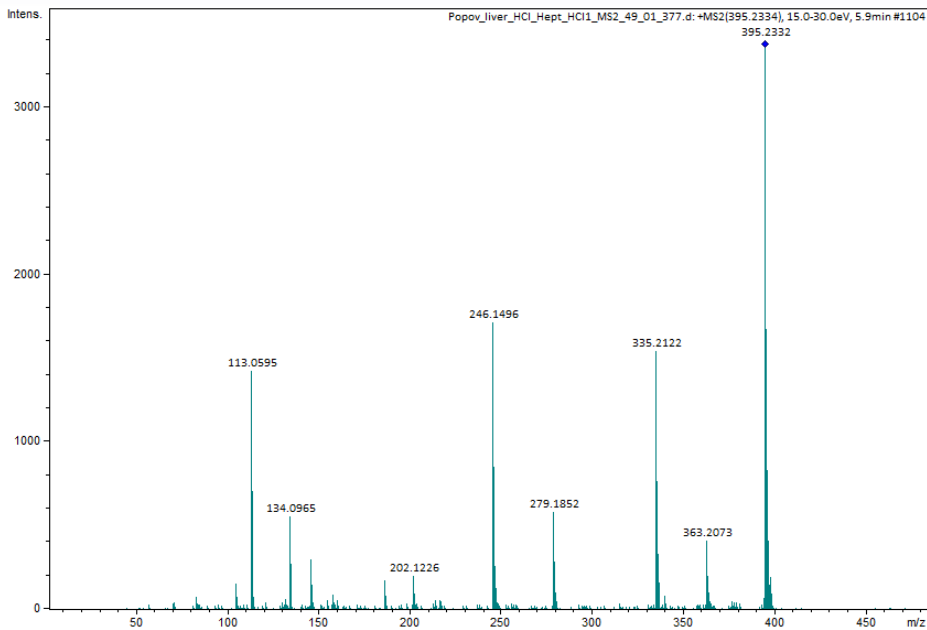
Row	Analyte	MR...	RT [min]	ΔRT [min]	m/z meas.	Δm/z [ppm]	mSigma	Area	S/N	Exp.Diag.Ions	Found.Diag.Ions
1	Quinidine		4.98	0.21	325.1905	-1.60	4.7	13375962	3...	2	2
2	Azithromycin (M+2H) ²⁺		5.02	-0.14	375.2617	0.45	3.5	218080	154	1	1
3	3-F-Amphetamine		4.27	0.06	154.1025	-0.86	2.4	1970719	589	3	3
4	Cotinine		3.74	-0.19	177.1021	-0.72	1.7	800116	28	1	1
5	Holdenine		3.20	0.14	166.1224	-1.16	5.6	52228	18	1	1
6	Carfentanyl		5.95	0.03	395.2331	0.40	3.0	1624540	645	2	2
7	Xylometazoline		6.88	0.05	245.2009	-1.24	10.6	3588911	2...	1	1
8	Methadone		7.08	0.06	310.2164	-0.60	3.8	3194788	1...	1	1
9	Anabasin		3.12	-0.14	163.1228	-0.89	9.0	4341434	14	1	1
10	Trans-3-methylfentanyl		5.95	0.08	351.2433	0.53	2.5	1073290	676	2	2
11	Amphetamine		4.15	0.05	136.1119	-1.19	1.5	12339960	1...	3	3
12	Nortriptyline		7.46	0.03	264.1744	-1.22	3.4	862510	12	3	3
13	Methamphetamine		4.16	0.04	150.1276	-1.15	3.2	13247962	3...	2	2
14	3-Methylnorfentanyl		4.66	0.07	247.1801	-1.45	6.1	5764760	750	2	2
15	Quinine		4.98	0.05	325.1905	-1.60	4.7	13389837	3...	2	2
16	cis-Methylfentanyl		5.95	-0.06	351.2433	0.53	2.5	1074990	646	3	3
17	Phentermine		4.16	-0.22	150.1276	-1.15	3.2	13258555	2...	3	3
18	Caffeine		4.32	0.05	195.0876	-0.26	12.5	50213	44	3	3
19	Carfentanil		5.95	0.03	395.2331	0.40	3.0	1624540	645	2	2
20	Chloroquine		3.81	-0.04	320.1889	0.23	10.1	304638	362	3	3
21	4-F-Amphetamine		4.27	0.05	154.1025	-0.86	2.4	1970306	610	3	3
22	2-Phenethylamine		3.76	-0.12	122.0965	0.70	4.2	292110	55	3	3
23	Benzododecinium		10.36	-0.13	304.2993	-1.78	6.8	1666303	656	1	1
24	2-Fluoramphetamine		4.27	-0.02	154.1025	-0.86	2.4	1971885	584	3	3



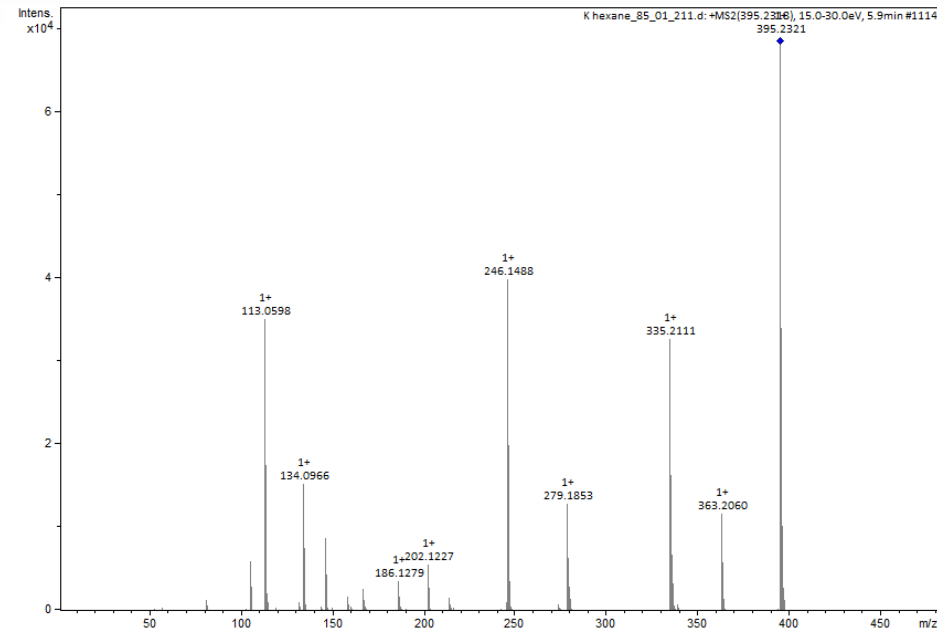
Mass Calibration Detailed Analyte Ion Result

Row	Analyte	Mandatory	m/z meas.	m/z exp.	Δm/z [ppm]	mSigma	Ion Type	Formula	MRS
1	Carfentanil	<input checked="" type="checkbox"/>	113.0594	113.0597	-2.83	n.a.	113.060		
2	Carfentanil	<input checked="" type="checkbox"/>	246.1485	246.1489	-1.47	n.a.	246.149		
3	Carfentanil	<input checked="" type="checkbox"/>	395.2331	395.2329	0.40	3.0	M+nH	C ₂₄ H ₃₁ N ₂ O ₃ ¹⁺	
4	Carfentanil	<input type="checkbox"/>	335.2113	335.2118	-1.31	n.a.	335.212		
5	Carfentanil	<input type="checkbox"/>	396.2367	396.2361	1.45	3.1	M+nH+1	C ₂₄ H ₃₁ N ₂ O ₃ ¹⁺	

Сравнение спектров МС/МС карфентанила, зарегистрированных при анализе образца экстракта из печени П. и контрольного образца



Образец экстракта из печени П.



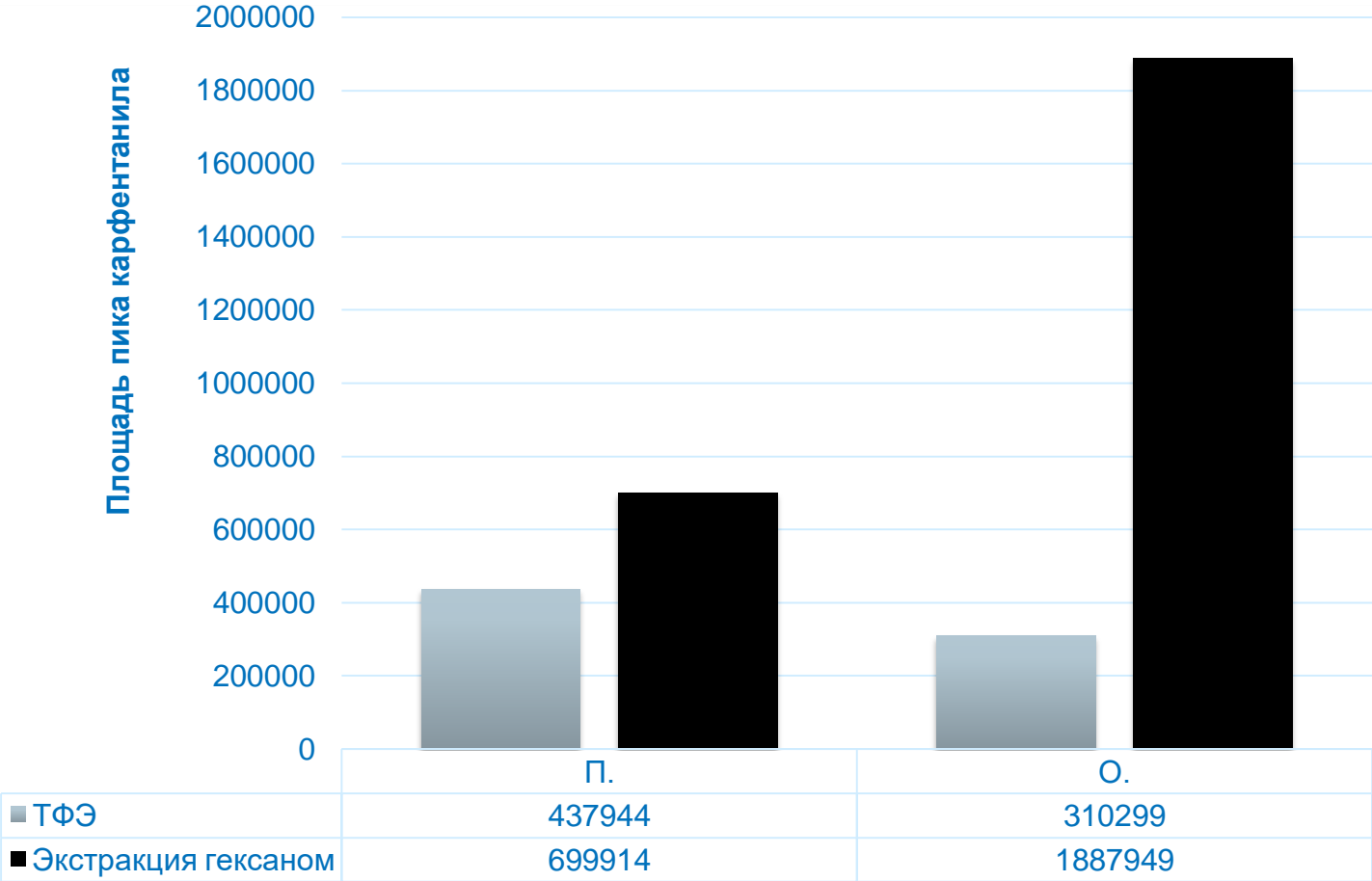
Контрольный образец

- Все основные и минорные пики в спектре контрольного образца обнаружены в спектре кандидата
- Соотношения пиков тоже совпадают
- Присутствие карфентанила в пробах подтверждено

Сравнение различных способов пробоподготовки при определении карфентанила



- Образцы жидкости из контейнера с печенью, вводимая проба 5 мкл, источник ESI



Сравнение различных способов пробоподготовки при определении карфентанила



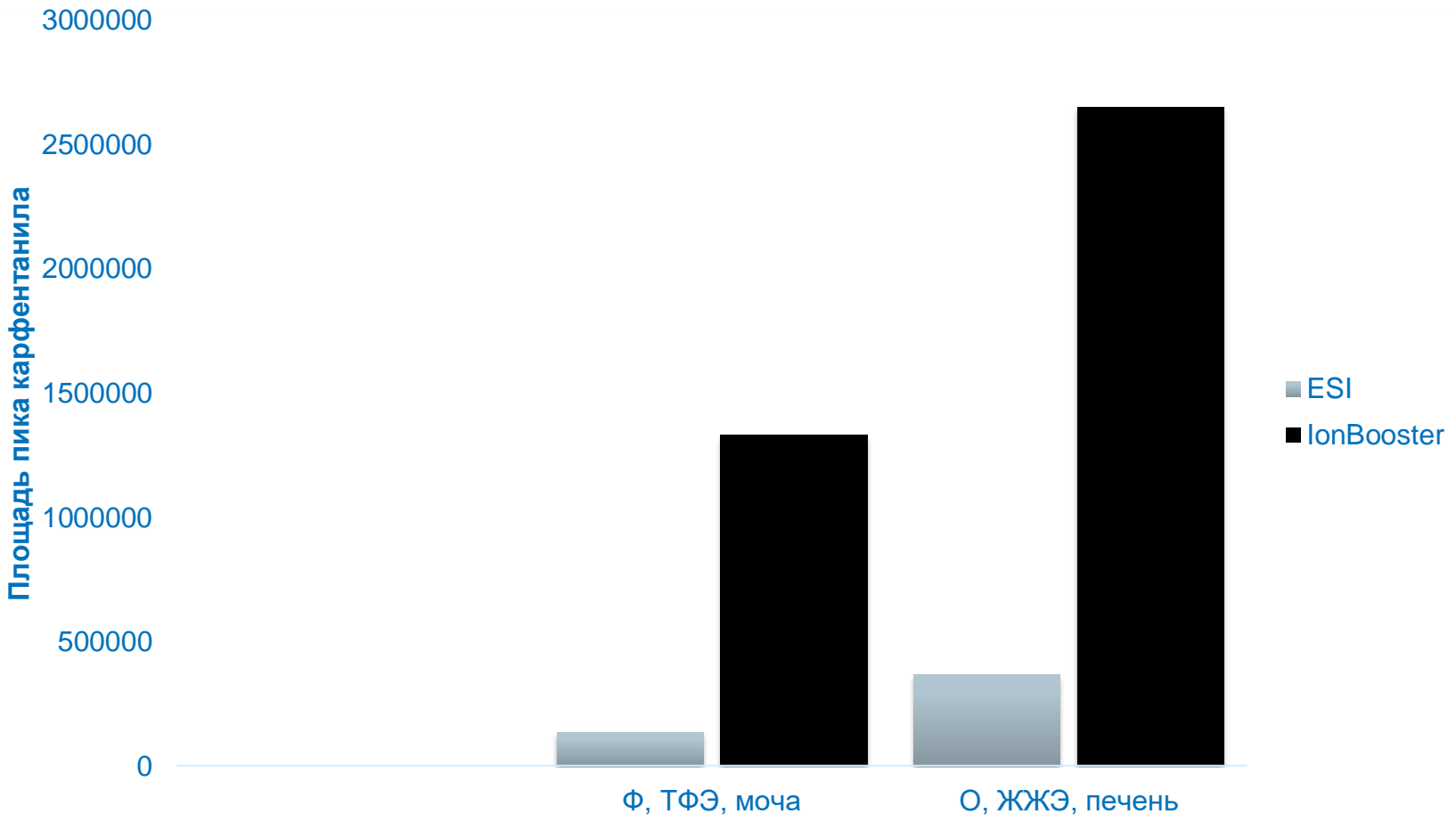
- Образцы печени, вводимая проба 2 мкл, источник ESI



Зависимость площади пика карфентанила от типа ионного источника



- Вводимая проба 2 мкл

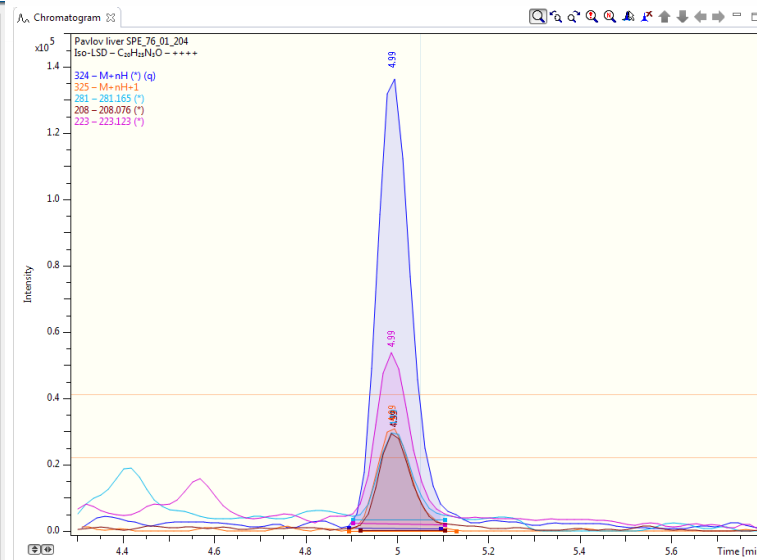


2. Обнаружение ЛСД/изо-ЛСД в полученных образцах (П. и Ф.)



- Образец жидкости из контейнера с печенью П., ТФЭ, источник ESI

Row	Analyte	MR...	RT [min]	Δ RT [min]	m/z meas.	Δ m/z [ppm]	mSigma	Area	S/N	Exp.Diag.Ions	Found.Diag.Ic
1	N,N-Diethyl-m-toluamide. D...		7.70	0.07	192.1378	-2.41	9.3	347730	75	3	3
2	Harman		4.65	0.04	183.0913	-1.84	21.1	38773072	2080	1	1
3	Carfentanyl		5.95	0.03	395.2330	0.24	22.4	437944	67	2	2
4	Carfentanil		5.95	0.03	395.2330	0.24	22.4	437944	67	2	2
5	LSD		4.99	0.07	324.2068	-0.77	5.7	717956	98	1	1
6	Cotinine		3.91	-0.02	177.1017	-3.21	8.6	2289768	86	1	1
7	2-Phenethylamine		3.80	-0.08	122.0960	-3.76	1.4	2163351	82	3	3
8	Ciprofloxacin		4.21	-0.04	332.1401	-1.30	6.8	2017950	490	1	1
9	Tyramine		2.87	0.04	138.0909	-3.09	2.8	6488376	316	4	4
10	XLR-11		11.77	0.05	330.2228	-0.00	16.3	211378	67	2	2
11	Nicotine		2.87	-0.12	163.1224	-3.27	6.9	28717824	348	2	2
12	Benzododecinium		10.37	-0.12	304.2997	-0.45	0.9	1147094	482	1	1
13	MDA		4.24	0.14	180.1014	-2.66	8.5	1730410	178	4	4
14	Iso-LSD		4.99	-0.06	324.2068	-0.77	5.7	714486	107	3	3
15	Fenproporex (NARL)		4.12	-0.13	189.1381	-2.64	3.4	2212113	39	1	1
16	DMAA Fragm 57		4.48	0.03	57.0696	-4.47	20.5	15489	4	2	1
17	BDB		4.60	0.18	194.1170	-2.68	3.9	18231590	3207	3	1
18	Rivastigmine		4.34	-0.10	251.1749	-1.91	0.7	1561233	146	2	1
19	Caffeine		4.30	0.03	195.0872	-2.28	6.0	345688	50	3	2
20	Methadone		7.08	0.06	310.2162	-1.03	27.8	83293	29	1	1
21	Malathion		9.14	-0.01	331.0426	-2.35	42.1	7991	20	1	1
22	Thebaine		4.38	0.09	312.1597	0.83	56.6	357434	56	1	1
23	Anabasin		2.87	-0.39	163.1224	-3.27	6.9	30180470	352	1	1
24	Histamine		1.11	-0.32	112.0866	-2.81	6.1	9144058	724	1	1
25	Harmine		4.51	-0.36	213.1018	-1.94	4.9	879906	43	2	2
26	Tacrine		4.24	-0.29	199.1225	-2.29	13.6	455984	25	1	1
27	Norflouxetine		7.49	0.03	296.1257	-0.07	23.5	71664	25	2	1
28	Tetryzoline		4.53	0.15	201.1382	-2.36	45.6	307526	17	2	1
29	Ethenzamide		5.26	-0.18	166.0859	-2.33	36.3	57319	14	3	1
30	Nikethamide		4.60	-0.02	179.1173	-3.18	57.6	287474	34	2	1
31	Meloxicam		6.80	0.04	352.0418	-0.60	56.3	10361	40	2	1
32	Mefenbutine		1.86	0.13	130.0860	-2.63	20.7	100051	16	2	1



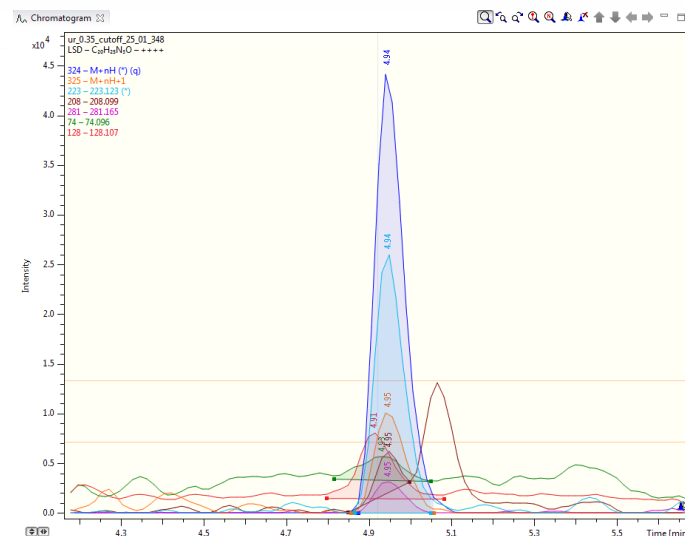
- Обнаружены все необходимые подтверждающие ионы ✓
- Δ m/z менее 1 ppm ✓
- Δ RT 0,07/-0,06 min. ???
- Основные метаболиты ЛСД не обнаружены

Обнаружение ЛСД в стандартном образце мочи Medidrug Drug Confirmation Cut-off -25%



- Образец мочи Medidrug Drug Confirmation Cut-off -25%, ЖЖЭ, источник IonBooster

Row	Analyte	MR...	RT [min]	ΔRT [min]	m/z meas.	Δm/z [ppm]	mSigma	Area	S/N	Exp.Diag.Ions	Found.Diag.Ion
7	Dextropropoxyphene		6.81	-0.03	340.2271	0.12	6.9	15759934	2730	3	3
8	N-Desmethyflunitrazepam...		6.72	0.03	300.0778	-0.23	2.8	793815	386	2	2
9	Bromazepam		6.69	-0.02	316.0079	-0.41	10.9	347226	319	4	4
10	EDDP		5.62	0.01	278.1909	1.97	111.2	55491236	1417	2	2
11	Zolpidem		5.54	-0.03	308.1756	-0.39	9.6	23045606	1125	3	3
12	Norbuprenorphine		5.26	0.02	414.2641	0.45	40.8	155861	92	1	1
13	Phencyclidine		5.21	0.02	244.2059	-0.51	1.0	3404282	2968	3	3
14	7-Aminoflunitrazepam		5.07	0.02	284.1192	-0.69	8.6	5195150	891	1	1
15	LSD		4.94	0.02	324.2069	-0.53	12.4	224172	12	1	1
16	Iso-LSD		4.94	-0.11	324.2068	-0.60	56.9	217578	12	3	3



- Обнаружены все необходимые подтверждающие ионы ✓
- Δm/z менее 1 ppm ✓
- ΔRT для ЛСД 0,02 min, а для изо-ЛСД -0,11 min. ???
- Основные метаболиты ЛСД не обнаружены

ЛСД и изо-ЛСД: литературные данные



- ЛСД и изо-ЛСД являются стереоизомерами
- изо-ЛСД не является психоактивным
- Изо-ЛСД встречается как примесь в ЛСД «подпольного» производства
- В растворах ЛСД и изо-ЛСД могут переходить друг в друга

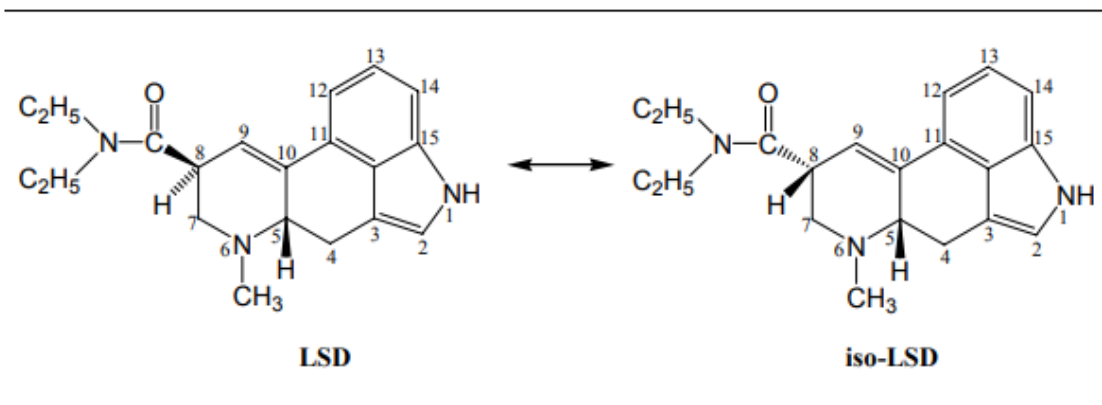
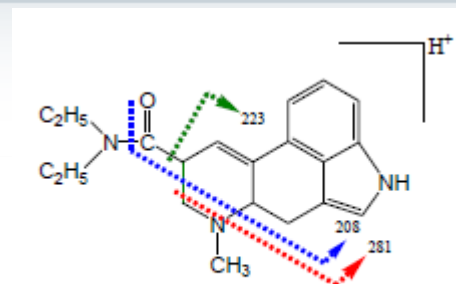


Figure 1.3: LSD isomerization to iso-LSD at the C-8 carbon.

ЛСД и изо-ЛСД: литературные данные

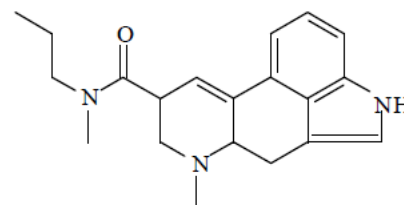


- ЛСД и изо-ЛСД имеют одинаковый набор ионов в масс-спектрах фрагментации, но разные соотношения ионов 223 и 281

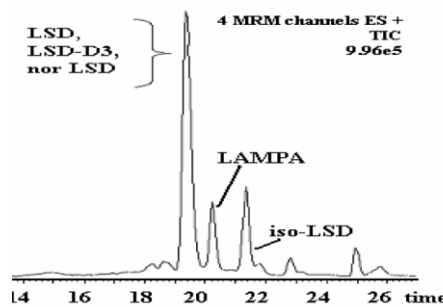


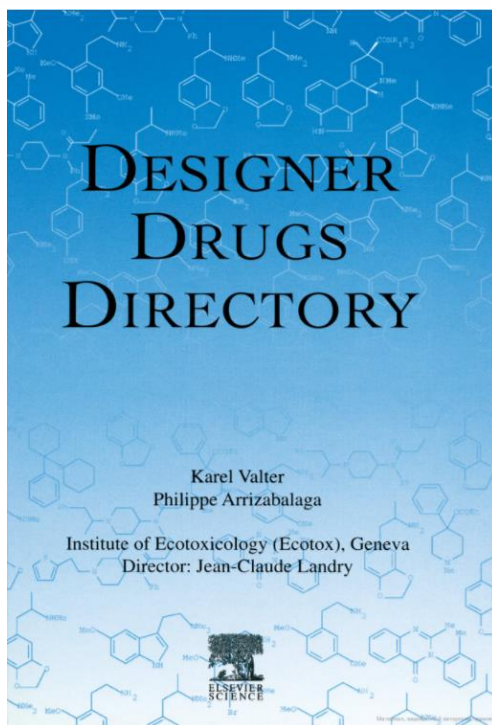
(a) LSD and iso-LSD

- В качестве внутреннего стандарта при определении ЛСД часто применяют изомерный метил-*n*-пропиламид лизергиновой кислоты (LAMPA). При этом он является психоактивным и контролируемым соединением.



- Порядок выхода в условиях ОФ ВЭЖХ:
LSD, затем LAMPA, затем iso-LSD

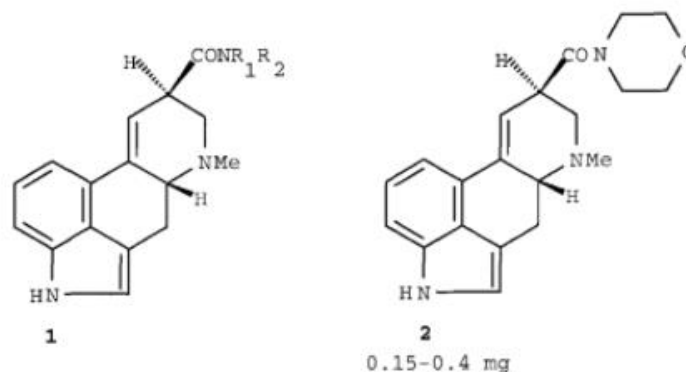




2.2 LSD Analogues

Being extremely **potent** and relatively easy to produce, LSD (**1**, R₁=R₂=Et;) **is** a drug particularly suited for illicit traffic. Several procedures for its manufacture have been developed and mastered by clandestine chemists [1]. However, diethylamine, the key precursor in LSD synthesis **is** a highly suspect and closely controlled chemical and has been occasionally replaced by another suitable dialkylamine [2]. Consequently, in spite of their generally lower potency, several LSD analogues have sporadically been detected on the drug market.

Thus, the ethylpropylamide (LEP-57; **1**, R₁=Et; R₂=n-Pr) shows about 50% of LSD psychotomimetic activity in man. The morpholide (**2**) and the methylpropylamide (LMP-55, **LAMPA**; **1**, R₁=Me; R₂=n-Pr) [7] are still less active (30% [3], 10-15 % [4,5], respectively). The identification of these substances was described in several recent papers [6].

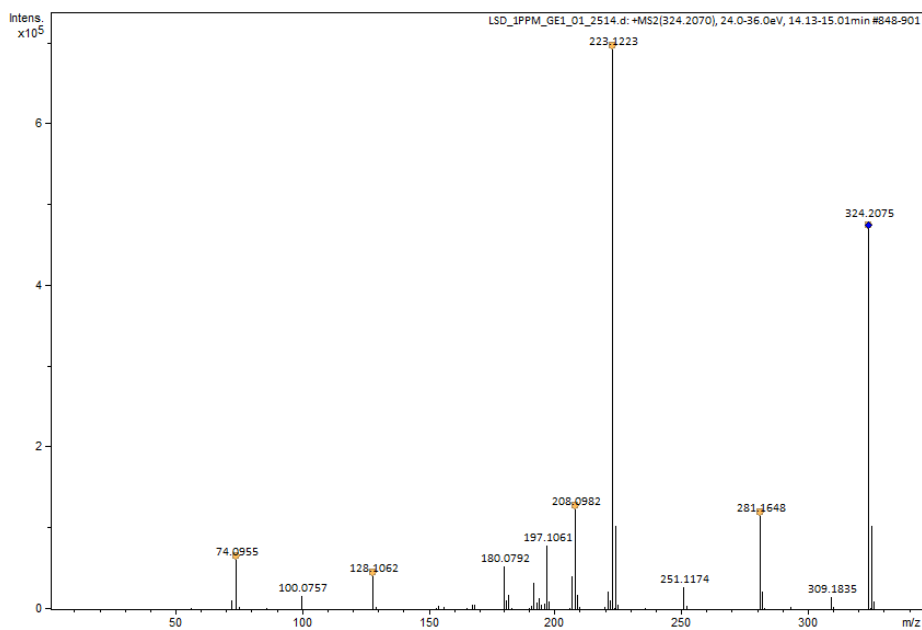


Most of the other LSD analogues (e.g. piperidide, pyrrolidide) show very low or negligible LSD-like activity in humans [6]. Only two LSD analogues have recently been reported to be more **potent** psychotomimetics than LSD itself [8]. However, there **is** no evidence of their eventual abuse or clandestine manufacture.

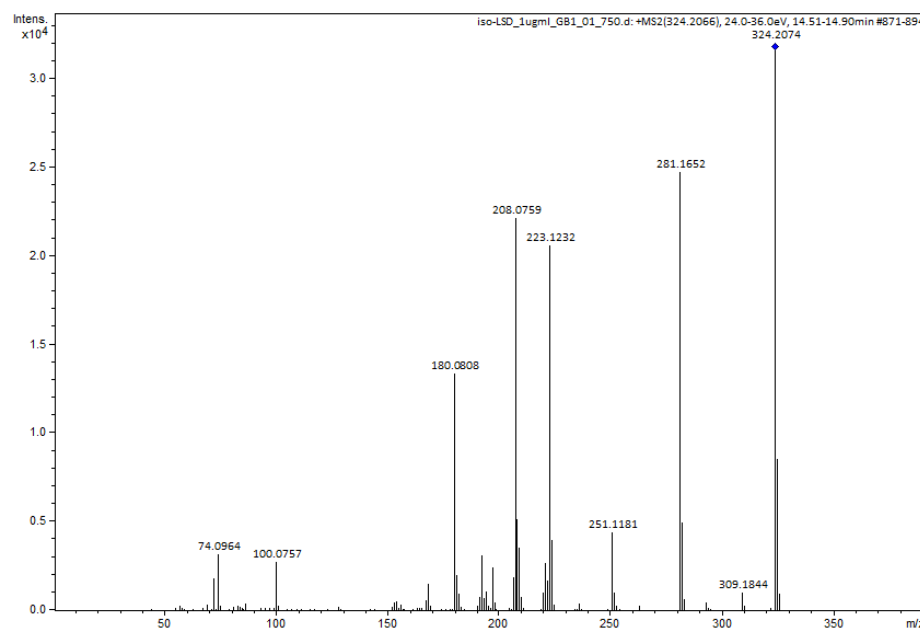
ЛСД и изо-ЛСД: литературные данные



- MS2 спектры ЛСД и изо-ЛСД были запрошены у немецких коллег.



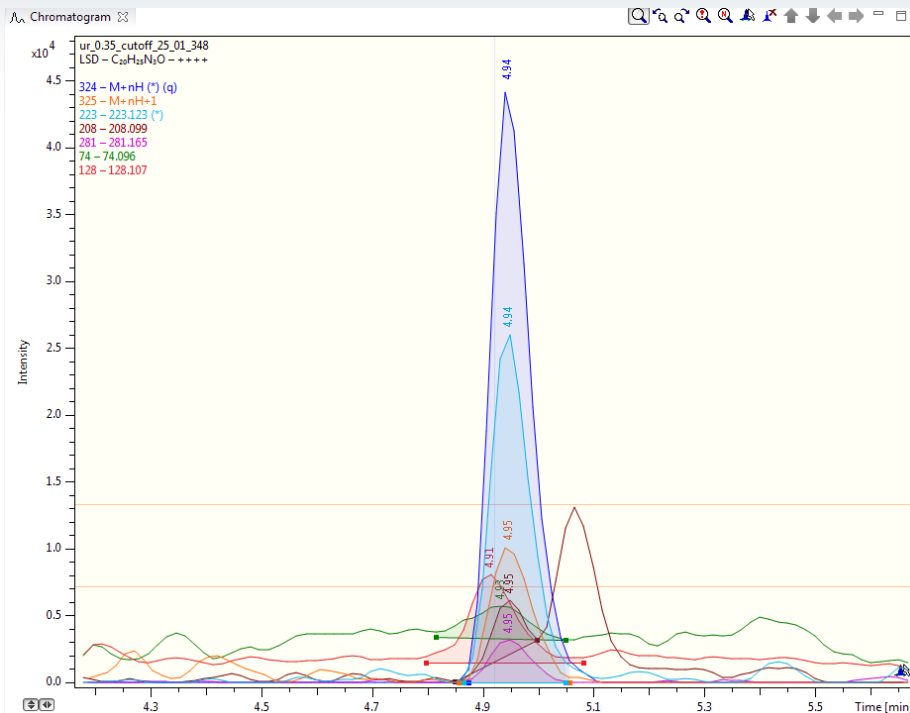
MS2 спектр ЛСД
223>281



MS2 спектр изо-ЛСД
223<281

- В базе данных TargetScreener фрагментные ионы на хроматограмме указаны в порядке убывания интенсивности

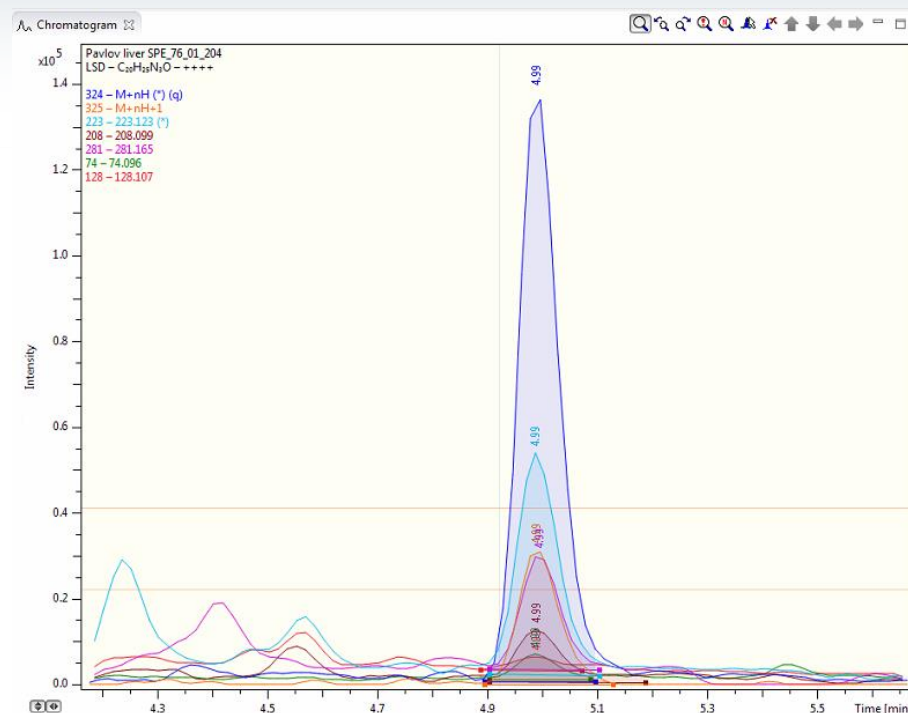
Сравнение соотношения интенсивностей фрагментного иона



Mass Calibration Detailed Analyte Ion Result

Row	Analyte	Mandatory	m/z meas.	m/z exp.	Δm/z [ppm]	Intensity	mSigma	Ion Type	Formula	MRS	Ion Ratio	Ion R _i
1	LSD	<input checked="" type="checkbox"/>	324.2069	324.2070	-0.53	44563	12.4	M+nH	C ₂₀ H ₂₆ N ₃ O ¹⁺			
2	LSD	<input type="checkbox"/>	325.2094	325.2101	-2.28	10166	12.6	M+nH+1	C ₂₀ H ₂₆ N ₃ O ¹⁺		0.228	
3	LSD	<input checked="" type="checkbox"/>	223.1229	223.1230	-0.35	26091	35.9	223.123	C ₁₅ H ₁₅ N ₂ ¹⁺			
4	LSD	<input type="checkbox"/>	208.0989	208.0995	-2.68	6163	236.1	208.099	C ₁₄ H ₁₂ N ₂ ¹⁺			
5	LSD	<input type="checkbox"/>	281.1653	281.1648	1.60	3167	305.7	281.165	C ₁₈ H ₂₁ N ₂ O ¹⁺			
6	LSD	<input type="checkbox"/>	74.0964	74.0964	-0.26	5685	1.5	74.096	C ₄ H ₁₂ N ¹⁺			
7	LSD	<input type="checkbox"/>	128.1069	128.1070	-0.43	8060	16.1	128.107	C ₇ H ₁₄ NO ¹⁺			

Образец, содержащий LSD

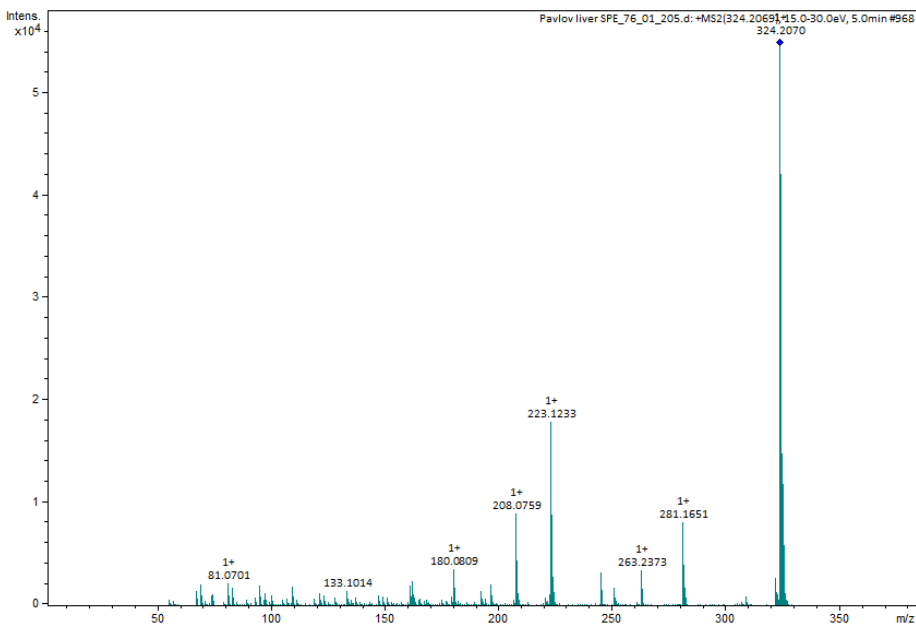


Mass Calibration Detailed Analyte Ion Result

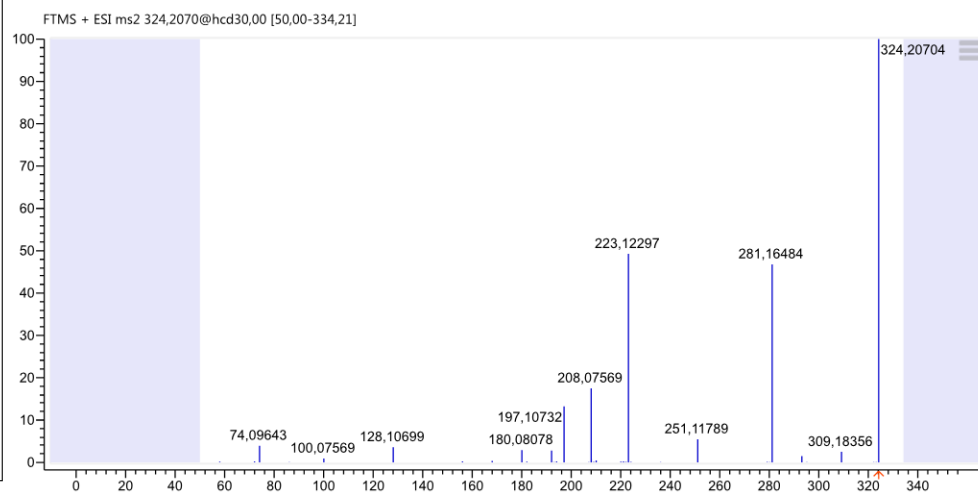
Row	Analyte	Mandatory	m/z meas.	m/z exp.	Δm/z [ppm]	Intensity	mSigma	Ion Type	Formula	MRS	Ion Ratio	Ion R _i
1	LSD	<input checked="" type="checkbox"/>	324.2068	324.2070	-0.77	138069	5.7	M+nH	C ₂₀ H ₂₆ N ₃ O ¹⁺			
2	LSD	<input type="checkbox"/>	325.2098	325.2101	-1.07	31244	5.7	M+nH+1	C ₂₀ H ₂₆ N ₃ O ¹⁺		0.227	
3	LSD	<input checked="" type="checkbox"/>	223.1227	223.1230	-1.31	53884	226.7	223.123	C ₁₅ H ₁₅ N ₂ ¹⁺			
4	LSD	<input type="checkbox"/>	208.0988	208.0995	-3.30	12735	405.8	208.099	C ₁₄ H ₁₂ N ₂ ¹⁺			
5	LSD	<input type="checkbox"/>	281.1647	281.1648	-0.50	30165	30.4	281.165	C ₁₈ H ₂₁ N ₂ O ¹⁺			
6	LSD	<input type="checkbox"/>	74.0960	74.0964	-5.14	7101	1.5	74.096	C ₄ H ₁₂ N ¹⁺			
7	LSD	<input type="checkbox"/>	128.1067	128.1070	-2.28	6342	479.9	128.107	C ₇ H ₁₄ NO ¹⁺			

Образец жидкости из контейнера с печенью П.

Спектр MC2 кандидата и спектр MC2 LAMPA

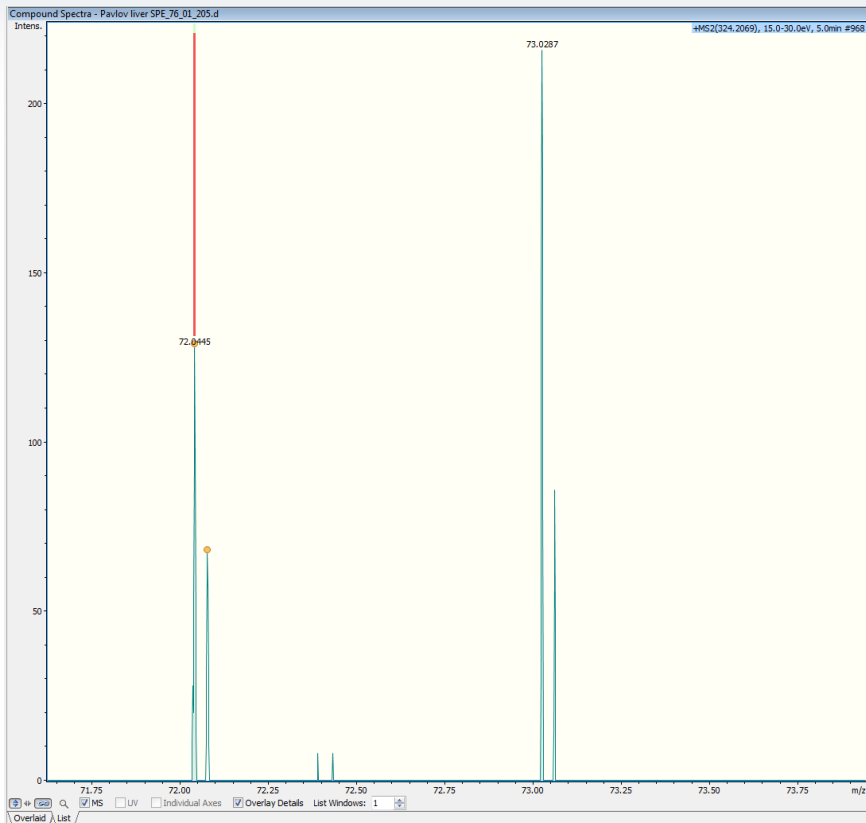


Образец жидкости из контейнера с печенью П.



База данных масс-спектров mzcloud.com
MC2 спектр LAMPA

Спектр MC2 кандидата и спектр MC2 LAMPA: Область m/z 72



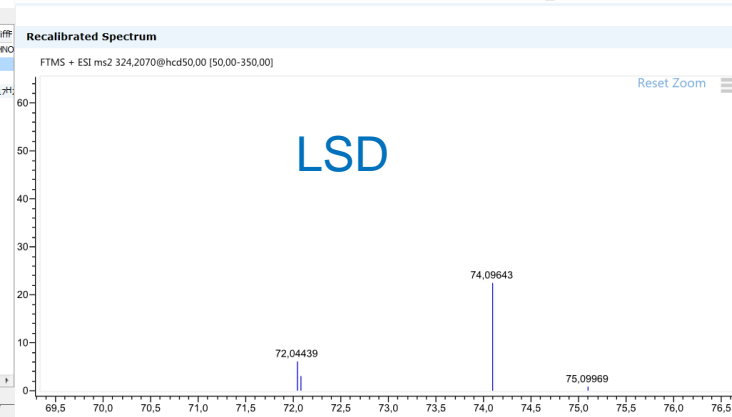
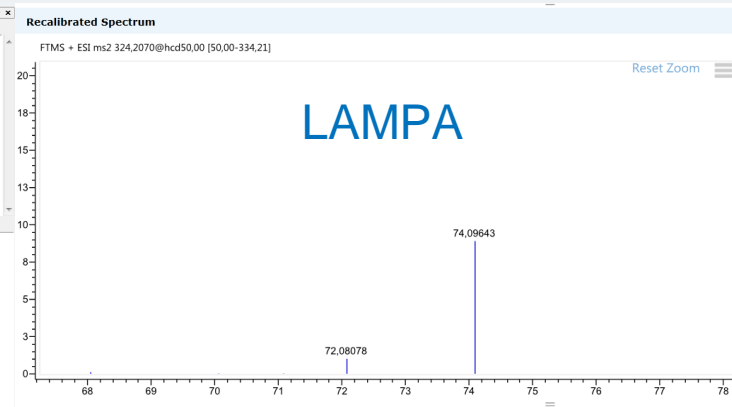
Spectrum Data
Fragmentation Sketch

Edit... New... Delete

Add as New Sketch

#	Formula	Mass	Diff	mSigma	Cleavages	diff
1	C ₂ H ₅	29.039			1 CHNO	
2	C ₉ H ₉ NO	72.045			2	
3	C ₁₅ H ₁₅ N ₂	223.124			1	
4	C ₂₀ H ₂₀ N ₃ O+	324.208			0 C ₁₇ H ₁₇	

Filter Spectrum SmartFormula
Mass List Deconvolution Results SmartFormula Fragments



Образец жидкости из контейнера с печенью П.

База данных масс-спектров mzcloud.com
MC2 спектр LAMPA и LSD

Обнаружение ЛСД/изо-ЛСД лизергиновой кислоты в полученных образцах: выводы



- Экстракты из мочи Ф. и жидкости, содержащейся в контейнерах с печенью П. и Ф. а также печени П. и Ф., вероятнее всего содержат диэтиламид лизергиновой кислоты (LSD)
- Для однозначного подтверждения требуется наличие стандартов ЛСД и метилпропиламида лизергиновой кислоты, а также оптимизация условий ВЭЖХ анализа для более эффективного разделения LSD и LAMPA

Обнаружение XLR-11 в полученных образцах



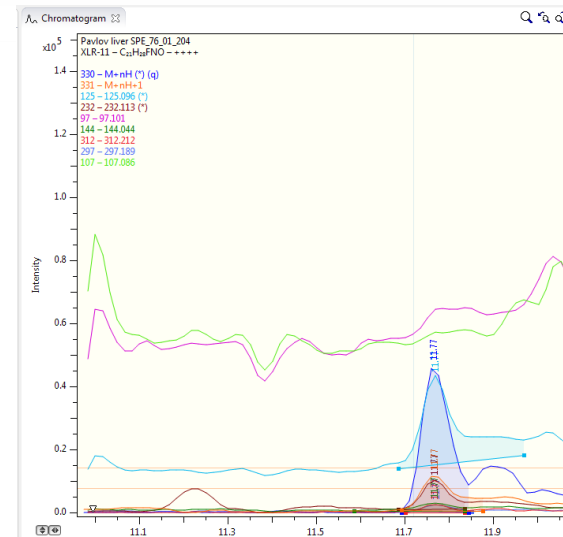
- В экстрактах из печени, жидкости из контейнера с печенью и мочи, полученных методом ТФЭ также обнаружен каннибиметик XLR-11 в нативном виде
- Такое поведение не характерно для данного соединения, обычно в биологических образцах регистрируют метаболиты XLR-11
- В представленных образцах основные метаболиты XLR-11 не зарегистрированы
- Обнаружение XLR-11 в нативном виде очень похоже на ложноположительное...НО!

Обнаружение XLR-11 в полученных образцах



- Образец жидкости из контейнера с печенью П.

Row	Analyte	MR...	RT [min]	ΔRT [min]	m/z meas.	Δm/z [ppm]	mSigma	Area	S/N	Exp.Diag.Ions	Found.Diag.Ic
3	Carfentanyl		5.95	0.03	395.2330	0.24	22.4	437944	67	2	2
4	Carfentanil		5.95	0.03	395.2330	0.24	22.4	437944	67	2	2
5	LSD		4.99	0.07	324.2068	-0.77	5.7	717956	98	1	1
6	Cotinine		3.91	-0.02	177.1017	-3.21	8.6	2289768	86	1	1
7	2-Phenethylamine		3.80	-0.08	122.0960	-3.76	1.4	2163351	82	3	3
8	Ciprofloxacin		4.21	-0.04	332.1401	-1.30	6.8	2017950	490	1	1
9	Tyramine		2.87	0.04	138.0909	-3.09	2.8	6488376	316	4	4
10	XLR-11		11.77	0.05	330.2228	-0.00	16.3	211378	67	2	2
11	Nicotine		2.87	-0.12	163.1224	-3.27	6.9	28717824	348	2	2
12	Benzododecinium		10.37	-0.12	304.2997	-0.45	0.9	1147094	482	1	1
13	MDA		4.24	0.14	180.1014	-2.66	8.5	1730410	178	4	4
14	Iso-LSD		4.99	-0.06	324.2068	-0.77	5.7	714486	107	3	3
15	Fenproporex (NARL)		4.12	-0.13	189.1381	-2.64	3.4	2212113	39	1	1
16	DMAA Fragm 57		4.48	0.03	57.0696	-4.47	20.5	15489	4	2	1
17	BDB		4.60	0.18	194.1170	-2.68	3.9	18231590	3207	3	1
18	Rivastigmine		4.34	-0.10	251.1749	-1.91	0.7	1561233	146	2	1
19	Caffeine		4.30	0.03	195.0872	-2.28	6.0	345688	50	3	2
20	Methadone		7.08	0.06	310.2162	-1.03	27.8	83293	29	1	1



Mass Calibration Detailed Analyte Ion Result

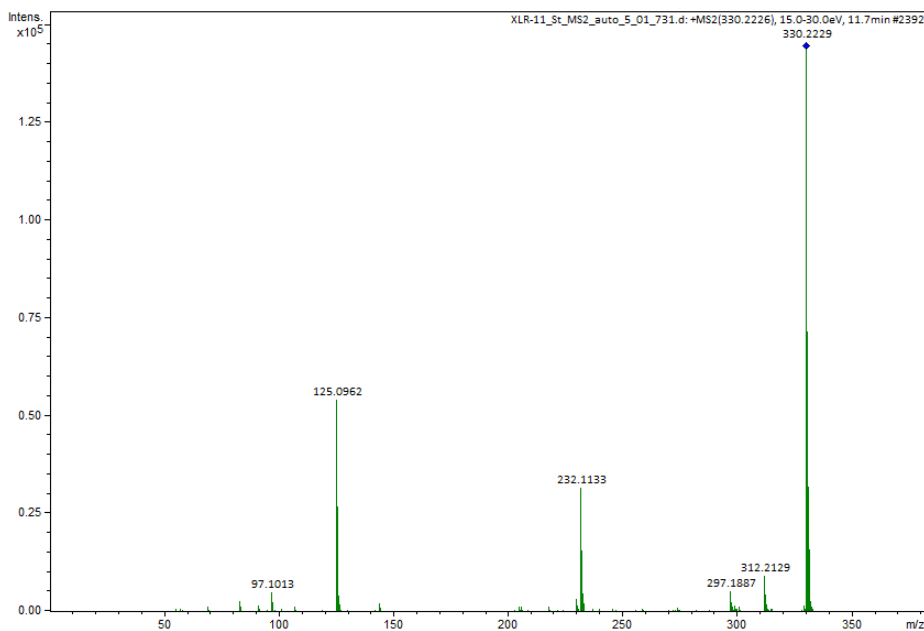
Row	Analyte	Mandatory	m/z meas.	m/z exp.	Δm/z [ppm]	mSigma	Ion Type	Formula	MRS	Ion Ratio	Ion Ratio Exp.	Ion Ratio deviation
1	XLR-11	<input checked="" type="checkbox"/>	330.2228	330.2228	-0.00	16.3	M+nH	C ₂₁ H ₂₉ FNO ¹⁺				
2	XLR-11	<input checked="" type="checkbox"/>	125.0962	125.0961	0.92	0.7		C ₈ H ₁₃ O ¹⁺				
3	XLR-11	<input checked="" type="checkbox"/>	232.1131	232.1132	-0.73	84.5		C ₁₄ H ₁₅ FNO ¹⁺				
4	XLR-11	<input type="checkbox"/>	331.2258	331.2261	-0.75	20.2	M+nH+1	C ₂₁ H ₂₉ FNO ¹⁺		0.241	0.234	2.8
5	XLR-11	<input type="checkbox"/>		97.1012		n.a.		C ₇ H ₁₃ ¹⁺				
6	XLR-11	<input type="checkbox"/>	144.0441	144.0444	-2.11	72.0		C ₉ H ₉ NO ¹⁺				
7	XLR-11	<input type="checkbox"/>	312.2122	312.2122	0.03	203.0		C ₂₁ H ₂₇ FN ¹⁺				
8	XLR-11	<input type="checkbox"/>	297.1878	297.1887	-2.99	168.8		C ₂₀ H ₂₄ FN ¹⁺				
9	XLR-11	<input type="checkbox"/>		107.0855		n.a.		C ₈ H ₁₁ ¹⁺				

- Обнаружено большинство подтверждающих ионов
- Δm/z менее 1 ppm
- ΔRT 0,05 min.

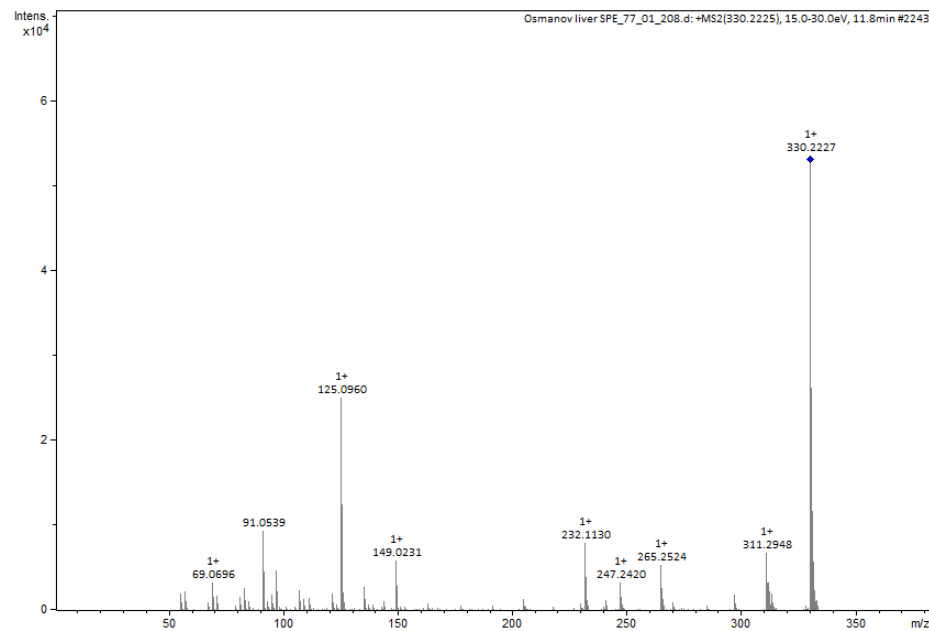
Для дополнительного подтверждения был зарегистрирован MS2 спектр молекулярного иона XLR-11 в режиме auto-MS2



- Образец жидкости из контейнера с печенью О.



MS2-спектр стандарта XLR-11, зарегистрированный на таком же приборе в Европе



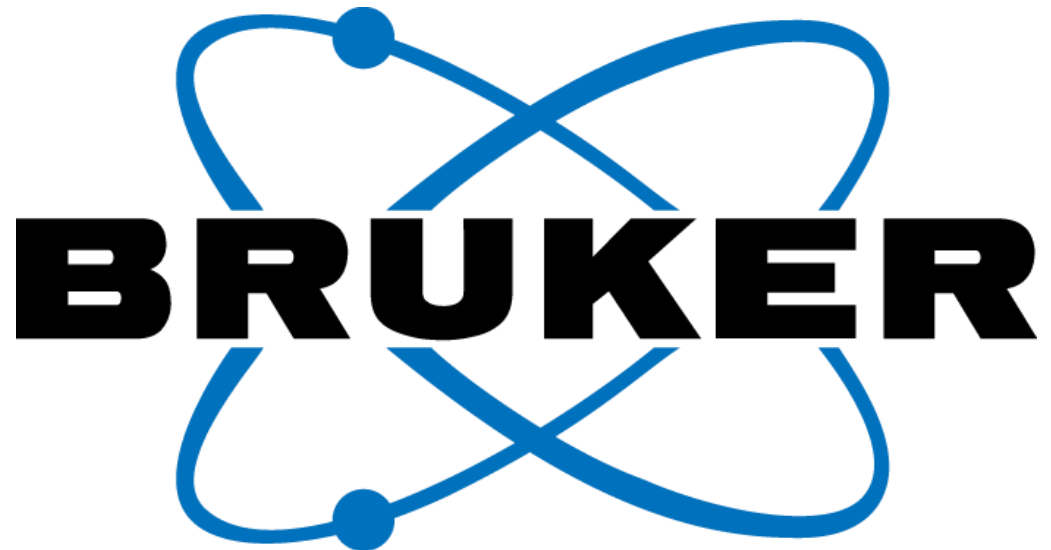
Образец экстракта из печени П.

Обнаружение XLR-11 в полученных образцах: выводы



- Обнаружение XLR-11 в образцах, предоставленных для анализа не является ошибкой непосредственно хромато-масс-спектрометрического анализа.
- XLR-11 присутствует только в экстрактах, полученных методом ТФЭ в одной из лабораторий.
- XLR-11 присутствует и в контрольной пробе.
- В экстрактах, полученных методом ТФЭ в другой лаборатории XLR-11 не обнаружен.
- **Факт потребления XLR-11 не установлен.**

Примечание: согласно опыту коллег, в ряде случаев XLR-11 обнаруживается в нативном виде при условии, что употребивший сразу после потребления впал в кому или умер, что не исключено в данном случае



Вопросы?

E-mail: dmitry.burmykin@bruker.com