

О ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ОРБИТАЛЬНОЙ ИОННОЙ ЛОВУШКИ ДЛЯ РЕШЕНИЯ ЗАДАЧ СУДЕБНО-МЕДИЦИНСКОЙ ТОКСИКОЛОГИИ

Акимова В.Д., Барсегян С.С.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский центр судебно-медицинской экспертизы» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия

Данная работа посвящена орбитальной ионной ловушке в сочетании с квадрупольным масс-фильтром Orbitrap Exploris 120 Thermo Fisher Scientific. Описаны схема орбитальной ионной ловушки, принцип работы, преимущества и недостатки при решении практических задач в области судебно-медицинской токсикологии. Обосновывается идея о том, что благодаря своей разрешающей способности (до 120 000 FWHM), высокой точности (1-3 ppm), скорости сканирования (до 22 Гц) и диапазону масс (40-3000 m/z) Orbitrap успешно применяется для идентификации токсических веществ в следовых количествах в сложных биологических матрицах. Показано, что с помощью нецелевого скрининга масс-спектрометрии высокого разрешения в режиме полного сканирования и фрагментации ионов при судебно-химической экспертизе мочи были обнаружены и подтверждены компоненты семян клещевины – рицинин и рицинолевая кислота. Как существенный научно-практический фактор выполненных исследований отмечается, что при обнаружении и идентификации карбамазепина и продуктов его деградации с помощью Orbitrap посредством искусственного устаревания, найдены 22 продукта деградации. Выделяются и описываются два из них: иминостильбен и карбамазепин-10,11-эпоксид, которые были обнаружены в экспертном образце печени человека.

Ключевые слова: *судебно-медицинская токсикология, орбитальная ионная ловушка, объект биологического происхождения, масс-спектрометрия, идентификация наркотических веществ.*

Современная аналитическая и судебно-медицинская токсикология включает в себя исследование вещественных доказательств, объектов биологического и иного

Адрес для корреспонденции: Акимова Валерия Дмитриевна, судебный эксперт-химик отдела судебно-химических экспертиз Федерального государственного бюджетного учреждения «Российский центр судебно-медицинской экспертизы» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия, e-mail: akimova@rc-sme.ru

происхождения с целью выделения, идентификации и количественного определения (или исключения) наркотических, лекарственных средств, психотропных, сильнодействующих, ядовитых и токсичных веществ, продуктов их превращения. В настоящее время в судебно-медицинском сообществе масс-спектрометрия пользуется высоким уровнем доверия и считается «золотым стандартом» инструментального анализа, благодаря сочетанию преимуществ – селективности, чувствительности, пределов обнаружения и надежности [1, стр. 3977].

Данная работа посвящена обзору относительно новой разработке в масс-спектрометрии — масс-анализатору орбитальной ионной ловушке Orbitrap, которая была представлена Александром Алексеевичем Макаровым в 1999 году (рис. 1(в)) [2, стр. 1156]. Первый коммерческий тандемный масс-спектрометр в основе с орбитальной ловушкой LTQ-Orbitrap компания Thermo Fisher Scientific выпустила в 2005 году [3, стр. 2113], после чего технология масс-спектрометров на основе Orbitrap непрерывно совершенствовалась. Тандемная масс-спектрометрия, за счет объединения различных инструментов масс-спектрометрического разделения в одном приборе, обеспечивает более высокую специфичность и селективность анализа [4, стр. 276].

Одной из многочисленных моделей Orbitrap на данный момент является семейство Exploris, представителем которого является Orbitrap Exploris 120. Данный тандемный масс-спектрометр является гибридом сочетающим орбитальную ловушку и квадруполь. Схема упомянутого масс-спектрометра, принцип работы, преимущества, недостатки и использование в решении практических задач в области судебно-медицинской экспертизы в настоящей статье является предметом рассмотрения.

Прототипом нынешней орбитальной ловушки послужило изобретение электростатической орбитальной ловушки ионов К. Н. Kingdon опубликованное в 1923 году (рис. 1(а)) [5, стр. 408]. Ловушка Кингдона состоит из центрального проволочного электрода и внешнего цилиндрического электрода с фланцами, которая использует чисто электростатическое поле для улавливания ионов. При подаче постоянного напряжения между внешним и внутренним электродами, создается радиальный логарифмический потенциал. Если ионы вводятся в ловушку со скоростью, перпендикулярной проволочному электроду, то перпендикулярное движение как бы отменяет притяжение между электрически заряженным электродом и ионами, заставляя ионы существовать в своего рода орбитальном состоянии, не сталкиваясь с электродами [6, стр. 431]. Это «орбитальное удержание» – первый главный принцип работы Orbitrap, подобно тому, как Луна вращается вокруг Земли, ловушка Кингдона заставляет ионы вращаться вокруг этого центрального металлического электрода по устойчивым орбитам.

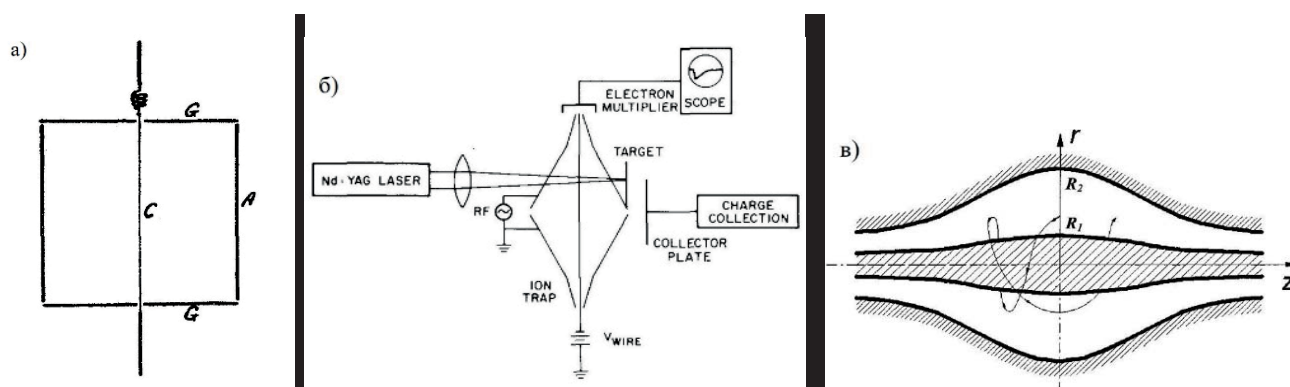


Рисунок 1. Авторские схемы: (а) ловушки К. Н. Kingdon [5, стр. 410], (б) модифицированной ловушки, предложенной R. D. Knight [7, стр. 221], (в) орбитальной ионной ловушки, предложенной А. А. Макаровым [2, стр. 1157].

В 1981 году R. D. Knight изменил форму ловушки Кингдона, в частности внешний электрод был разделен посередине, что позволяло ионам инжектироваться в ловушку (рис. 1(б)) [7, стр. 221]. Применение частоты переменного тока между разделенными внешними электродами позволило наблюдать как логарифмический потенциал, который обеспечивает орбитальное улавливание ионов в радиальном направлении, как в традиционной ловушке Кингдона, так и квадрупольный аксиальный потенциал, который ограничивает ионы аксиально, позволяя им подвергаться гармоническим колебаниям в направлении z [6, стр. 431]. Это в свою очередь, вошло во второй главный принцип работы современной орбитальной ловушки.

Таким образом, А. А. Макаров в 1999 году представил модифицированную ловушку Кингдона «в стиле Найта» (рис. 1(в)) [2, стр. 1156]. Она представляла собой веретенообразный центральный электрод и два внешних гиперконических (чашеобразных) электрода, разделенных между собой очень узким зазором и поддерживаемых вакуумом более чем 3×10^{-10} торр [8, стр. 346]. Конструкция позволяла улавливать ионы электрическим полем и с максимальной точностью контролировать их движение, а так же измерять частоты аксиальных колебаний.

Следует обратить внимание на то, что ионы попадают в орбитальную ловушку с помощью электродинамического сжатия: на центральный электрод подается высокое напряжение, которое притягивает ионы, когда они влетают в Orbitrap, при этом напряжение на центральном электроде изменяется, усиливает поле внутри ловушки, и ионы движутся по орбитальным траекториям [6, стр. 435]. В определенный момент напряжение стабилизируется так, чтобы радиусы орбит находились примерно посередине между внутренним и внешними электродами (примерно 10 мм). Начинается фаза орбитального удержания – параметры колец стабилизируются.

Благодаря тому, что входное отверстие ионов расположено несколько сбоку от центра, ионы влетают в поле вдали от экватора ловушки и испытывают силу, толкающую их к этому экватору, что, в свою очередь, запускает осцилляцию ионов вдоль оси центрального электрода. Частота таких гармонических колебаний ионов вдоль оси z (аксиально) центрального электрода характеризует отношение массы к заряду ионов (m/z).

Частота аксиальных колебаний рассчитывается по формуле:

$$\omega_z = \sqrt{\frac{ek}{m/q}}$$

где k – константа кривизны поля, e – заряд электрона, m и q – масса и заряд иона [9, стр. 26].

Частоты аксиальных колебаний ионов измеряются по наведенному току на внешних электродах ловушки и регистрируются с помощью дифференциального усилителя как широкополосный сигнал во временной области и преобразуются в масс-спектр с помощью алгоритмов преобразования Фурье (FFT, eFT) [8, стр. 346].

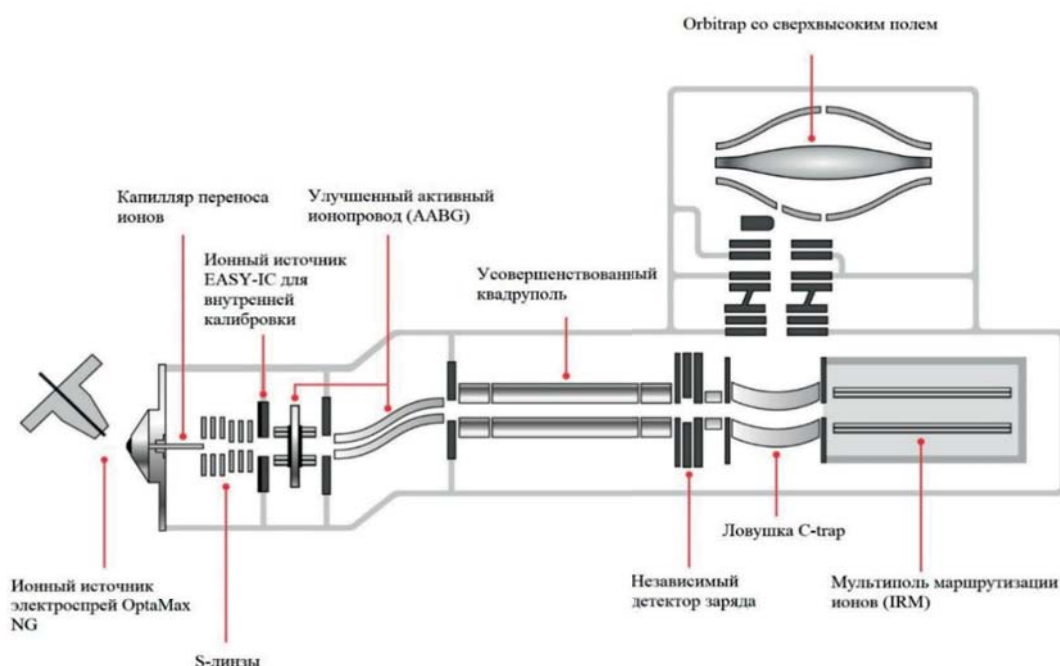


Рисунок 2. Схема гибридного масс-спектрометра Orbitrap Exploris 120

На рисунке 2 представлена схема гибридного масс-спектрометра Orbitrap Exploris 120. Образец вводится в систему масс-спектрометра с помощью непрерывного источника ионов [10, стр. 1699]. Orbitrap Exploris 120 совместим с источником H-ESI II (ионизация электрораспылением с подогревом). Можно также использовать зонды ESI

(ионизация электрораспылением), NSI (ионизация наноэлектрораспылением или nanoESI) и APCI (ионизация при атмосферном давлении), что позволяет использовать множество методов ионизации для расширения аналитических возможностей. Например, ESI более селективен по отношению к полярным соединениям, а APCI способствует обнаружению неполярных, низко- и среднеполярных соединений [11, стр. 2], что позволяет исследовать широкий спектр соединений.

После ионизации, поток ионов переходит из атмосферы в вакуум по нагретому капилляру переноса ионов, далее через ионный проводник с набором кольцевых электродов (S-линза, stacked-ring ion guide), который эффективно захватывает и фокусирует ионы в плотный пучок для повышения чувствительности прибора [12, стр. 2]. В след за S-линзой располагается улучшенный активный ионопровод (Advanced Active Beam Guide, AABG), целью которого является снижение шума и предотвращение попадания нейтральных молекул в квадруполь, за счет S-образной формы изгиба.

Затем ионы попадают в сегментированный гиперболический квадрупольный масс-фильтр. В режиме полного сканирования Full-Scan все ионы беспрепятственно проходят через квадруполь. При целевом скрининге последний позволяет выбирать ионы-предшественники (precursor-ion), отбрасывая все остальные. Масс-фильтр в сочетании с Orbitrap позволяет проводить дополнительные многоуровневые эксперименты, такие как MS/MS или MS_n, с целью выяснения масс-фрагментов молекул с точностью до нескольких ppm, что позволяет предсказать детальную структуру сложных молекул.

Между квадруполем и орбитальной ловушкой располагается C-образная ловушка (C-trap) и мультиполь маршрутизации ионов (Ion-routing multipole, IRM). C-trap является газонаполненной искривленной линейной ионной ловушкой. За счет соударений ионов с молекулами газа N₂, они теряют излишнюю энергию, стабилизируются и сосредотачиваются вдоль кривой оси этой ловушки, таким образом накапливаясь. Когда нужно число ионов накапливается, под воздействием вытягивающего напряжения ионы перпендикулярно оси C-trap выталкиваются в Orbitrap [9, стр. 25].

Эта технология C-образной ловушки позволила сопрячь непрерывный источник ионов (такой как H-ESI/ESI) с Orbitrap, который анализирует ионы короткими пакетами. Соответственно, накопление ионов в C-trap происходит одновременно с детектированием в Orbitrap ионов из предыдущего цикла. Благодаря накоплению используются около 50% всех ионов, исходящих из источника, в то время как в других анализаторах используется 3-5% всех ионов [3]. Данное преимущество способствует возрастанию чувствительности без снижения скорости анализа и информативности спектров, что позволяет выявить следовые количества целевых аналитов в сложных биологических матрицах.

Помимо этого, ионы могут проходить через C-trap в мультиполь маршрутизации ионов, который также может удерживать и распределять ионы в системе и снова отправлять их в C-ловушку, где ионы могут подвергаться фрагментации с помощью диссоциации столкновений при более высоких энергиях (Higher Energy Collisional Dissociation, HCD) [13, стр. 35].

Объединение вышеперечисленных технологий обеспечило высокое качество и скорость записи данных. Поскольку ионы подвергаются «орбитальному удержанию» электростатическим полем, разрешающая способность орбитальной ловушки слабо зависит от отношения m/z и позволяет работать в широком диапазоне масс. Благодаря детектированию методом наведенных токов, разрешение превышает 100 000 и может достигать 120 000 при m/z 200, а линейный динамический диапазон находится на уровне 4-5 порядков (табл. 1). Это подразумевает очень высокую и почти неизменную чувствительность во всем диапазоне масс [9, стр. 27].

Orbitrap Exploris 120 обладает технологией высокоточной масс-спектрометрии и генерирует данные точной массы высокого разрешения (High Resolution Accurate Mass Spectrometry, HRAM). Это обеспечивает точность масс вплоть до 3 ppm и позволяет различать интересующие и мешающие ионы со схожими массами [14, стр. 3913]. Помимо этого, система EASY-IC обеспечивает автоматическое введение внутреннего калибратора во время анализа и достигает высокой точности массы: менее 1 ppm в течение как минимум 5 дней [15, стр. 2010, 16, стр. 2].

Быстрое переключение полярности (положительного и отрицательного режимов) с частотой одного цикла приблизительно 1,4 Гц, не требует восстановления после переключения полярности, что позволяет экономить время.

Каждая технология обладает преимуществами и недостатками, которые ограничивают их выбор среди других масс-спектрометров. Сравнения характеристик разных масс-спектрометров представлены в таблице 1.

Таблица 1.

Сравнение характеристик разных масс-спектрометров.

Параметр сравнения	Quadrupole	Quadrupole Ion Trap	Linear Ion Trap	ToF	Orbitrap Exploris 120
Разрешающая способность (FWHM)	10^2 - 10^3	10^3	10^3	10000 - 20000	120000 при m/z 200
Точность, ppm	100	50-100	100	5-50	<3, <1 ppm с внутренней калибровкой

Линейный динамический диапазон	5-6 порядков	3-4 порядка	3-4 порядка	7-8 порядков	4-6 порядков
Диапазон масс m/z	5-4000	4-6000	50-2000, 200-4000	нет верхнего предела	40-3000
Скорость сканирования, Гц	0,5-4	до 5	1-10	до 50	до 22
Стоимость	+	++	+++	+++	++++
Источники литературы	[8, стр. 341], [17, стр. 426], [18, стр. 76], [19, стр. 769], [20, стр. 301], [21, стр. 664], [22, стр. 413], [23, стр. 138]				

Как уже было отмечено, Orbitrap специализируется на анализе малых и средних молекул пептидов (<30 кДа) и может оказаться непригодным для анализа крупных белков и других соединений, если они не прошли ферментативное расщепление, из-за ограниченного диапазона масс 40-3000 m/z.

Диапазон сканирования ограничен множителем 15, если нижняя граница массы установлена на 100 Да, то массы свыше 1500 Да не могут быть отслежены [24, стр.104].

Несмотря на то, что С-образная ловушка обеспечивает сопряжение с непрерывным источником ионов, за счет их накопления, тем самым увеличивая чувствительность и скорость анализа, она имеет ограничение по объемному заряду ионов. С-trap может накапливать ионы с суммарным зарядом не более 10^6 , поэтому возможны потери некоторого количества ионов, во время того, как в Orbitrap проходит детектирование предыдущего цикла ионов [9, стр. 32].

Одними из преимуществ орбитальной ионной ловушки, сравнительно с другими типами масс-спектрометров, являются разрешение и высокая точность масс. Разрешающая способность определяется и ограничивается только качеством электродов и степенью вакуума в орбитальной ловушке. Поэтому для работы прибора на максимально высоких разрешениях, требуется установка и дальнейшая поддержка глубокого вакуума (более чем 3×10^{-10} торр). Для поддержания HRAM на уровне менее 1 ppm, необходимо проводить регулярную внешнюю калибровку [25, стр. 1823].

Основные проблемы, возникающие при эксплуатации прибора, заключаются в сложности самой установки, и соответственно, техническое обслуживание приборов Orbitrap (доступ к квадруполью и др.) сложнее по сравнению со стандартными тройными квадрупольями. Необходимо обеспечить максимальное стабильное электропитание и надлежащие температурные условия в помещении.

Также, по-прежнему является существенным фактором стоимость, которую учитывают при приобретении приборов Orbitrap. Помимо этого, для лабораторий, у которых есть возможность приобрести масс-спектрометры Orbitrap, полноценная эксплуатация все еще может быть проблемой без опыта или знаний в использовании аналогичных систем. Для соответствующей эксплуатации прибора существует потребность в квалифицированном операторе с длительным послевузовским образованием [4, стр. 271].

Благодаря высокой разрешающей способности и надежной точности определения масс в анализах малых молекул и пептидов, орбитальная ловушка почти незаменима в протеомике [26, стр. 16, 27, стр. 2253] и метаболомике [28, стр. 2717, 29, стр. 2], например, в центрах трансляционной медицины. За счет высокого разрешения и чувствительности приборов, технология Orbitrap оказалась востребованной в антидопинговом контроле [30, стр. 1, 31, стр. 950], в анализе загрязнителей окружающей среды для определения остаточных количеств пестицидов [32, стр. 1662, 33, стр. 6317], а также в судебно-медицинской токсикологии [34, стр. 209, 35, стр. 2161, 36, стр. 1204].

Масс-спектрометры, оснащенные орбитальной ловушкой, можно использовать в судебно-медицинской экспертизе для целевого и нецелевого скрининга наркотических, лекарственных, психотропных, сильнодействующих, ядовитых, токсичных веществ и продуктов их превращения.

Такие масс-спектрометры, как тройной квадруполь, используют метод мониторинга множественных реакций (MRM), который нацелен только на предварительно выбранные соединения, из-за чего происходит потеря информации о нецелевых веществах [23, стр. 146, 37, стр. 55]. Поэтому для полной идентификации всех соединений, находящихся в биологических образцах, для судебно-медицинской токсикологии необходим нецелевой скрининг. Нецелевой скрининг – это комплексный анализ всех измеряемых аналитов в образце [38, стр. 525].

Масс-спектрометрия высокого разрешения (HRAM) орбитальной ионной ловушки позволяет одномоментно измерять любое количество ионов, которые попадают в масс-анализатор. Для судебно-химического ненаправленного поиска, анализ проводится в режиме, включающем полное сканирование высокого разрешения и фрагментацию ионов (FullMS-ddMS2) в положительной и отрицательной ионизации. Данный режим обеспечивает получение информации о всех молекулярных ионах образца и их характеристичных фрагментах.

При проведении экспертизы алгоритм идентификации токсических веществ в анализируемых образцах заключается в поиске точной молекулярной массы самого аналита и его характерных фрагментов, изотопного распределения, времени удерживания (RT) и сопоставление полученных данных с внутрिलाбораторной библиотекой, NIST Mass Spectral Library.

Отклонение по массе в 1-10 ppm от теоретических масс молекул обеспечивает точную идентификацию брутто-формулы молекулы, что позволяет выявить аналит токсических веществ и надежно дифференцировать от компонентов матрицы.

Программное обеспечение прибора Orbitrap позволяет осуществлять высокопроизводительный целевой и нецелевой скрининг при помощи создания индивидуально настраиваемых методов анализа данных. Автоматическое обнаружение и интегрирование хроматографических пиков необходимо при проведении количественного определения. Встроенные программы имеют как интегрированные базы данных и библиотеки масс-спектров NIST Mass Spectral Library, mzValue, Advanced Mass Spectral Database mzCloud, так и возможность создания собственных внутрилабораторных спектральных библиотек. Программа Compound Discoverer применяется для нецелевого скрининга, облегчает сравнительный анализ и имеет обширные возможности фильтрации. Программа автоматически проводит расчет и поиск как разнообразных аддуктов исследуемого соединения, так и его различных метаболитов и продуктов деградации.

Для демонстрации использования технологических возможностей Orbitrap Exploris 120 в судебно-медицинской токсикологии, стоит привести несколько примеров по выявлению токсических веществ в биологическом материале при проведении судебно-химической и химико-токсикологической экспертизы.

Случай 1. При проведении экспертизы образца мочи, использовали метод осаждения белков метанолом, далее извлечение анализировали в режиме полного сканирования с последующей фрагментацией ионов (FullMS-ddMS2). Идентификация с помощью автоматической обработки полученных хроматограмм программой Thermo TraceFinder™ подтвердила совпадение по точной массе и изотопному распределению с токсическим алкалоидом рицинином и рицинолевой кислотой (рис. 3 (а), 4 (а)) [39, стр. 34]. Рицинин и рицинолевая кислота являются компонентами семян клещевины обыкновенной *Ricinus communis* L. [40, стр. 4].

Для определения хроматографических и масс-спектрометрических характеристик, обнаруженных в извлечении мочи веществ, было проведено исследование семян клещевины обыкновенной, ввиду отсутствия стандартного образца рицинина и рицинолевой кислоты. Несколько семян измельчали, гомогенизировали, добавляли подкисленную щавелевой кислотой воду и настаивали 1-2 ч. Затем центрифугировали при 14 000 об/мин 15 минут и экстрагировали диэтиловым эфиром. Далее водное извлечение подщелачивали раствором аммиака и экстрагировали смесью этилацетат-гептан-изопропанол (5:5:1). Извлечение упаривали, сухой остаток растворяли в 200 мкл смеси (0,1% раствор муравьиной кислоты в 10% водном растворе ацетонитрила), центрифугировали и анализировали.

Результаты исследования извлечения из семян клещевины показали совпадение времени удерживания и масс-спектра рицинина и рицинолевой кислоты с образцами мочи (рис. 3 (б), 4 (б)).

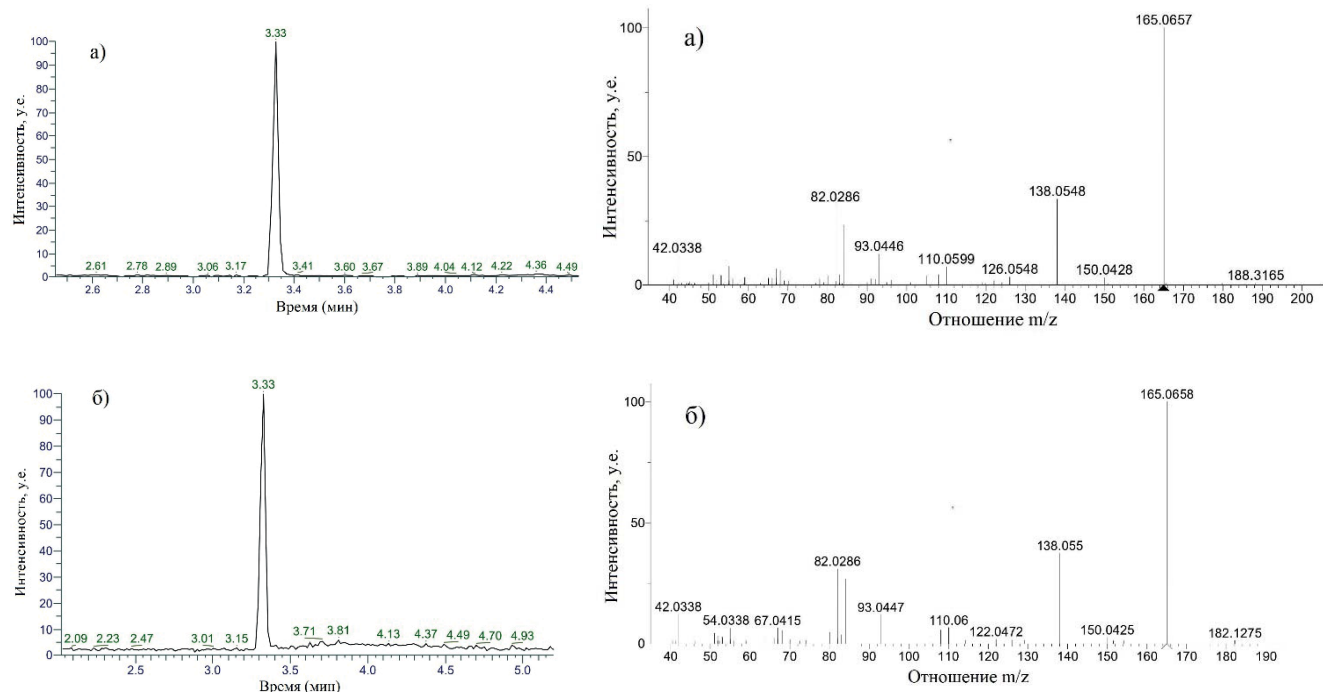


Рисунок 3. Хроматографический пик и масс-спектр рицинина в (а) моче, (б) в извлечении семян клещевины.

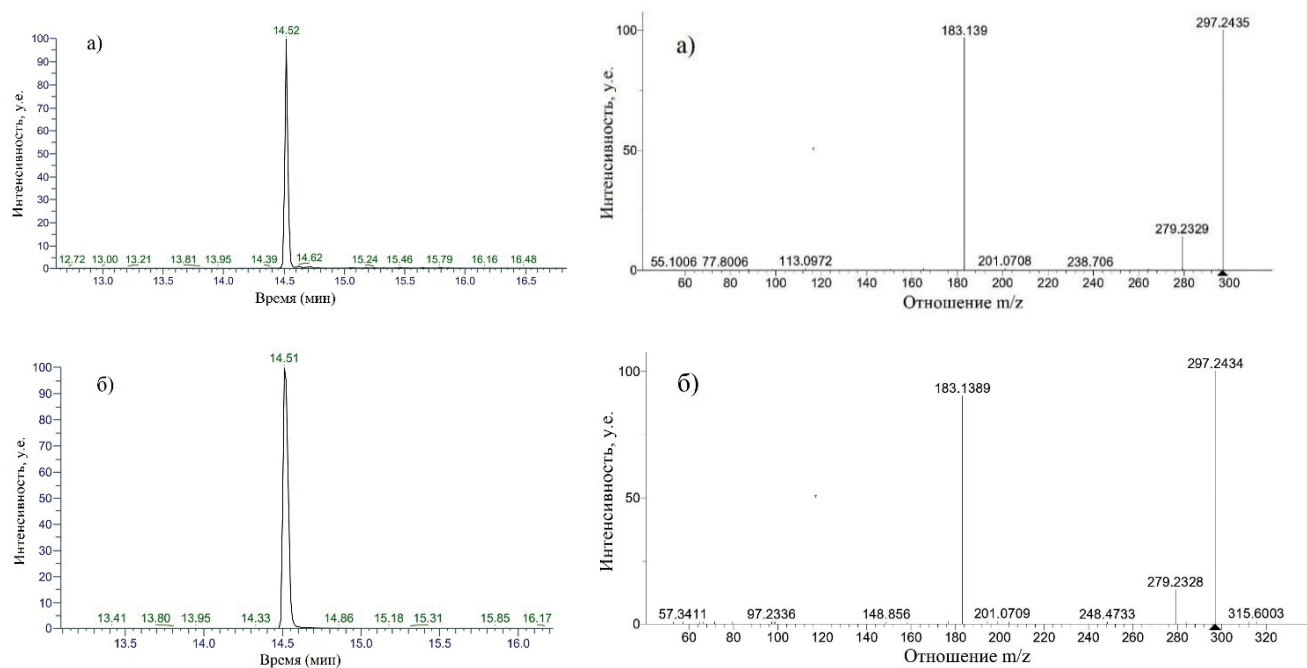


Рисунок 4. Хроматографический пик и масс-спектр рицинолевой кислоты в (а) моче, (б) в извлечении семян клещевины.

Таким образом, с помощью масс-спектрометра Orbitrap, при проведении нецелевого скрининга, по совпадению лишь точной массы, удалось предварительно идентифицировать, а затем подтвердить наличие токсических веществ в биологическом материале.

Случай 2. Идентификация карбамазепина и продуктов его деградации и метаболизма.

Изучение состава продуктов деградации и метаболизма карбамазепина актуально в случаях термического и микробиологического разложения биологического материала. Поскольку деградация действующего вещества приводит к уменьшению его содержания в биологическом материале и образованию продуктов с различной фармакологической активностью, изучение процессов деградации препарата в неблагоприятных условиях играет важнейшую роль.

Для получения продуктов деградации было проведено искусственное устаревание образцов карбамазепина, с использованием 18% раствора соляной кислоты (HCl), 2М раствора гидроксида натрия (NaOH), 3% раствора пероксида водорода (H₂O₂), подкисленного HCl до pH=1-2. Образцы нагревали при 100°C на водяной бане различное количество времени (10, 30, 60 мин). Продукты деградации извлекали органическими растворителями и анализировали в режиме полного сканирования с последующей фрагментации ионов (FullMS-ddMS2).

При поиске деградантов были использованы литературные данные и информация из базы данных Human Metabolome Database (HMDB). Идентификация проводилась с использованием программ Compound Discoverer software, Thermo FreeStyle. Основанием для идентификации продукта деградации крабамазепина являлись: точная масса гидратированного молекулярного иона (± 10 ppm), изотопное распределение, характерная фрагментация ионов. Теоретическую фрагментацию ионов рассчитывали на основании последовательных отщеплений групп и фрагментов и перегруппировок с помощью программных пакетов Competitive Fragmentation Modeling (CMF-ID) и MetFrag [41, стр. 2].

В ходе проведенного исследования в образцах искусственного устаревания было идентифицировано 22 продукта деградации карбамазепина. Практически все идентифицированные деграданты присутствовали в каждом из образцов с использованием 18% HCl, 2М NaOH и 3% H₂O₂. Это говорит об общей нестабильности карбамазепина в неблагоприятных условиях среды и о тенденции к химическим модификациям и деградации. За счет окисления, 8 из 22 продуктов деградации карбамазепина являются производными акридина, что говорит о том, что акридин наиболее стабильная и устойчивая форма, 6 продуктов деградации имеют кетогруппу, 2 – альдегидную, 5 продуктов деградации – хлорпроизводные соединения, амидная группа –C(O)NH₂ сохранилась только у 7 продуктов деградации карбамазепина.

Для подтверждения полученных результатов, был проанализирован экспертный материал (печень), в котором предварительно был обнаружен карбамазепин. Для извлечения карбамазепина и продуктов его деградации из биоткани использовали метод QuEChERS. В тканях печени человека были обнаружены карбамазепин, иминостильбен и карбамазепин-10,11-эпоксид.

Таким образом, масс-спектрометрия открыла новые возможности для судебно-медицинской токсикологии, где идентификация и количественное определение наркотических, лекарственных, психотропных, сильнодействующих, ядовитых и других веществ являются наиболее важными проблемами судебной медицины. Относительно новая разработка в масс-спектрометрии — масс-анализатор орбитальная ионная ловушка Orbitrap. Комплекс различных технологий Orbitrap, которые непрерывно

совершенствуются, привели к востребованию орбитальной ловушки в том числе и в судебно-медицинской токсикологии. Основными ее преимуществами являются скорость сканирования, разрешающая способность и точность масс, обеспечивая получение воспроизводимых и надежных сверхвысококачественных данных. Точность масс достигается вплоть до 1 ppm с внутренней калибровкой и позволяет различать ионы со схожими массами. Благодаря технологии высокоточной масс-спектрометрии высокого разрешения (HRAM) орбитальная ловушка позволяет проводить нецелевой скрининг, в отличие от других масс-спектрометров, например, тройного квадруполя.

При использовании Orbitrap Exploris 120 в судебно-химической экспертизе образца мочи, с помощью полного сканирования высокого разрешения и фрагментации ионов (FullMS-ddMS2) в положительной и отрицательной ионизации, были идентифицированы компоненты семян клещевины – риксинин и риксинолевая кислота. Их времена удерживания и масс-спектры совпали с извлечениями из семян клещевины обыкновенной.

Для определения и идентификации продуктов деградации карбамазепина, образцы карбамазепина подвергались искусственному устареванию и анализировались на Orbitrap Exploris 120. Идентификацию проводили по точной массе вещества, изотопного распределения и совпадению характеристических фрагментов ионов с теоретическими. Идентифицировано 22 продукта деградации карбамазепина, два из которых (иминостильбен и карбамазепин-10,11-эпоксид) были обнаружены в экспертном образце печени человека.

Список литературы:

1. Brown H. M. [и др.]. The current role of mass spectrometry in forensics and future prospects // *Analytical Methods*. 2020. № 32. С. 3974–3997.
2. Makarov A. Electrostatic Axially Harmonic Orbital Trapping: A High-Performance Technique of Mass Analysis // *Analytical Chemistry*. 2000. № 6. С. 1156–1162.
3. Makarov A. [и др.]. Performance Evaluation of a Hybrid Linear Ion Trap/Orbitrap Mass Spectrometer // *Analytical Chemistry*. 2006. № 7. С. 2113–2120.
4. Jackson G. P., Barkett M. A. A History of the Forensic Applications of Mass Spectrometry // Elsevier, 2016. С. 271–284.
5. Kingdon K. H. A Method for the Neutralization of Electron Space Charge by Positive Ionization at Very Low Gas Pressures // *Physical Review*. 1923. № 4. С. 408–418.
6. Hu Q. [и др.]. The Orbitrap: a new mass spectrometer // *Journal of Mass Spectrometry*. 2005. № 4. С. 430–443.
7. Knight R. D. Storage of ions from laser-produced plasmas // *Applied Physics Letters*. 1981. № 4. С. 221–223.
8. Hocart C. H. Mass Spectrometry: An Essential Tool for Trace Identification and Quantification // Elsevier, 2010. С. 327–388.
9. Makarov A. A. Orbitrap after 20 years // *Laboratory and production*. 2020. № 1. С. 24–34.
10. Hardman M., Makarov A. A. Interfacing the Orbitrap Mass Analyzer to an Electrospray Ion Source // *Analytical Chemistry*. 2003. № 7. С. 1699–1705 .

11. Kondyli A., Schrader W. Evaluation of the combination of different atmospheric pressure ionization sources for the analysis of extremely complex mixtures // *Rapid Communications in Mass Spectrometry*. 2020. № 8. С. 1–9.
12. Yan Y. [и др.]. Ion transmission in an electrospray ionization-mass spectrometry interface using an S-lens // *Journal of Mass Spectrometry*. 2023. № 7. С. 1–9.
13. arcía-Reyes J. F. [и др.]. HRMS // Elsevier, 2017. С. 15–57.
14. Mullen W. [и др.]. Use of Accurate Mass Full Scan Mass Spectrometry for the Analysis of Anthocyanins in Berries and Berry-Fed Tissues // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2010. № 7. С. 3910–3915.
15. Olsen J. V. [и др.]. Parts per Million Mass Accuracy on an Orbitrap Mass Spectrometer via Lock Mass Injection into a C-trap // *Molecular & Cellular Proteomics*. 2005. № 12. С. 2010–2021.
16. Cadang L. [и др.]. A Highly Efficient Workflow for Detecting and Identifying Sequence Variants in Therapeutic Proteins with a High Resolution LC-MS/MS Method // *Molecules*. 2023. № 8. С. 1–15.
17. Pól J. [и др.]. Molecular mass spectrometry imaging in biomedical and life science research // *Histochemistry and Cell Biology*. 2010. № 5. С. 423–443.
18. Tanna S., Lawson G. Analytical Chemistry Methods for the Assessment of Medication Adherence // Elsevier, 2016. С. 51–86.
19. Cunsolo V. [и др.]. Mass spectrometry in food proteomics: a tutorial // *Journal of Mass Spectrometry*. 2014. № 9. С. 768–784.
20. Yates J. R. Mass Spectral Analysis in Proteomics // *Annual Review of Biophysics and Biomolecular Structure*. 2004. № 1. С. 297–316.
21. Kaklamanos G. [и др.]. Mass Spectrometry: Principles and Instrumentation // Elsevier, 2016. С. 661–668.
22. Rockwood A. L., Johnson-Davis K. L. Mass Spectrometry for Clinical Toxicology: Therapeutic Drug Management and Trace Element Analysis // *Clinics in Laboratory Medicine*. 2011. № 3. С. 407–428.
23. Jiwan J.-L. H. [и др.]. HPLC-high resolution mass spectrometry in clinical laboratory? // *Clinical Biochemistry*. 2011. № 1. С. 136–147.
24. Kaufmann A., Teale P. Capabilities and Limitations of High-Resolution Mass Spectrometry (HRMS): Time-of-flight and Orbitrap™ // Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc., 2016. С. 93–139.
25. Lim H. [и др.]. Metabolite identification by data-dependent accurate mass spectrometric analysis at resolving power of 60 000 in external calibration mode using an LTQ/Orbitrap // *Rapid Communications in Mass Spectrometry*. 2007. № 12. С. 1821–1832.
26. Scigelova M., Makarov A. Orbitrap Mass Analyzer – Overview and Applications in Proteomics // *PROTEOMICS*. 2006. № S2. С. 16–21.
27. Geiger T. [и др.]. Proteomics on an Orbitrap Benchtop Mass Spectrometer Using All-ion Fragmentation // *Molecular & Cellular Proteomics*. 2010. № 10. С. 2252–2261.
28. Misra B. B., Olivier M. High Resolution GC-Orbitrap-MS Metabolomics Using Both Electron Ionization and Chemical Ionization for Analysis of Human Plasma // *Journal of Proteome Research*. 2020. № 7. С. 2717–2731.

29. Stettin D. [и др.]. Metabolomics Benefits from Orbitrap GC–MS—Comparison of Low- and High-Resolution GC–MS // *Metabolites*. 2020. № 4. С. 1–16.
30. He G. [и др.]. Doping control analysis of 13 steroids and structural-like analytes in human urine using Quadrupole-Orbitrap LC–MS/MS with parallel reaction monitoring (PRM) mode // *Steroids*. 2018. С. 1–6.
31. Virus E. D. [и др.]. Introduction of HPLC/orbitrap mass spectrometry as screening method for doping control // *Journal of Mass Spectrometry*. 2008. № 7. С. 949–957.
32. Alder L. [и др.]. Suitability of an Orbitrap Mass Spectrometer for the Screening of Pesticide Residues in Extracts of Fruits and Vegetables // *Journal of AOAC INTERNATIONAL*. 2011. № 6. С. 1661–1673.
33. Mar Gómez-Ramos M. del [и др.]. Liquid chromatography Orbitrap mass spectrometry with simultaneous full scan and tandem MS/MS for highly selective pesticide residue analysis // *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2015. № 21. С. 6317–6326.
34. Pan M. [и др.]. Development of a high-throughput screening analysis for 288 drugs and poisons in human blood using Orbitrap technology with gas chromatography-high resolution accurate mass spectrometry // *Journal of Chromatography A*. 2019. С. 209–226.
35. Maurer H. H., Meyer M. R. High-resolution mass spectrometry in toxicology: current status and future perspectives // *Archives of Toxicology*. 2016. № 9. С. 2161–2172.
36. Ojanperä I. [и др.]. Current use of high-resolution mass spectrometry in drug screening relevant to clinical and forensic toxicology and doping control // *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2012. № 5. С. 1203–1220.
37. Mokhtar S. U. [и др.]. Simultaneous Analysis of Drugs in Forensic Cases by Liquid Chromatography–High-Resolution Orbitrap Mass Spectrometry // *Chromatographia*. 2020. № 1. С. 53–64.
38. Manz K. E. [и др.]. Non-targeted analysis (NTA) and suspect screening analysis (SSA): a review of examining the chemical exposome // *Journal of Exposure Science & Environmental Epidemiology*. 2023. № 4. С. 524–536.
39. Kalekin R. A. [и др.]. Forensic chemical and chemico-toxicological examination of ricin poisoning by the HPLC-MS/MS method // *Sudebno-meditsinskaya ekspertiza*. 2023. № 3. С. 34–39.
40. Abomughaid M. M. [и др.]. A phytochemical and pharmacological review of *Ricinus communis* L. // *Discover Applied Sciences*. 2024. № 315. С. 1–20.
41. Wolf S. [и др.]. In silico fragmentation for computer assisted identification of metabolite mass spectra // *BMC Bioinformatics*. 2010. № 148. С. 1–12.

ԴԱՏԱԿԱՆ ԹՈՒՆԱԲԱՆՈՒԹՅԱՆ ԽՆԴԻՐՆԵՐԻ ԼՈՒԾՄԱՆ ՀԱՄԱՐ ՈՒՂԵԾՐԱՅԻՆ ԻՈՆԱՅԻՆ ԹԱԿԱՐԴՆ ՕԳՏԱԳՈՐԾԵԼՈՒ ՀՆԱՐԱՎՈՐՈՒԹՅԱՆ ՄԱՍԻՆ.

Ակիմովա Վ.Դ., Բարսեղյան Ս.Ս.

Սույն աշխատանքը նվիրված է ուղեծրային իոնային թակարդին՝ Orbitrap Exploris 120 Thermo Fisher Scientific քառաբևեռ զանգվածային ֆիլտրի համադրմամբ:

Նկարագրված է դատական թունաբանության բնագավառում գործնական խնդիրների լուծման ժամանակ ուղեծրային իոնային թակարդի շարժընթացը, աշխատանքի

սկզբունքը, առավելություններն ու թերությունները: Հիմնավորվում է այն միտքը, որ իր լուծողական ուժի շնորհիվ (մինչև 120,000 FWHM), բարձր ճշգրտությամբ (1-3 ppm), սկանավորման արագությամբ (մինչև 22 Հց) և զանգվածային միջակայքով (40-3000 մ/զ) Orbitrap-ը հաջողությամբ կիրառվում է բարդ կենսաբանական մատրիցներում թունավոր նյութերի հետքերի քանակների հայտնաբերման համար: Ցույց է տրվել, որ բարձր լուծաչափության զանգվածային սպեկտրոմետրիայի ոչ նպատակային զննման լրիվ սկանավորման ռեժիմում մեզի դատաքիմիական փորձաքննության և իոնների մասնատման ժամանակ հայտնաբերվել և հաստատվել են գերչակի յուղի սերմերի բաղադրիչներ՝ ռիցինին և ռիցինոլաթթու: Որպես իրականացված հետազոտությունների կարևոր գիտական և գործնական գործոն, նշվում է, որ Orbitrap արհեստական հնեցման միջոցով կարբամազեպինի հայտնաբերման, նույնականացման և դրա արտադրանքի քայքայման ժամանակ հայտնաբերվել են 22 քայքայման արտադրանքներ: Առանձնացվել և նկարագրվել են, մասնավորապես, դրանցից երկուսը՝ իմինոստիլբեն և կարբամազեպին-10,11-էպօքսիդ, որոնք հայտնաբերվել են մարդու լյարդի թեստի նմուշում:

Բանալի բառեր. դատական թունաբանություն, ուղեծրային իոնային թակարդ, կենսաբանական ծագման առարկա, թմրամիջոցների զանգվածային սպեկտրոմետրիայի նույնականացում:

ON THE POSSIBILITY OF USING AN ORBITAL ION TRAP TO SOLVE FORENSIC TOXICOLOGY PROBLEMS

Akimova V.D., Barseghyan S.S.

This paper is devoted to an orbital ion trap in combination with a Thermo Fisher Scientific Orbitrap Exploris 120 quadrupole mass filter. The paper describes the scheme of the orbital ion trap, its operating principle, advantages and disadvantages in solving practical problems in forensic toxicology. It substantiates the idea that due to its resolution (up to 120,000 FWHM), high accuracy (1-3 ppm), scanning speed (up to 22 Hz) and mass range (40-3000 m/z), Orbitrap is successfully used to identify toxic substances in trace amounts in complex biological matrices. It is shown that using non-targeted screening of high-resolution mass spectrometry in full scan mode and ion fragmentation in forensic chemical expertise of urine, the components of castor seeds - ricinin and ricinoleic acid - were detected and confirmed. As a significant scientific and practical factor of the conducted studies it is noted that when detecting and identifying carbamazepine and its degradation products using Orbitrap through artificial aging, 22 degradation products were found. Two of them are singled out and described: iminostilbene and carbamazepine-10,11-epoxide, which were found in an expert sample of human liver.

Keywords: forensic toxicology, orbital ion trap, object of biological origin, mass spectrometry identification of narcotic substances.

Статья поступила: 27.08.2024

Принята к печати: 10.05.2025