

# TOXSPEC ANALYZÁTOR

## Úvod

Screening drog a toxických látek se rychle stává rutinní praxí zaváděnou v mnoha toxikologických a klinických laboratořích. Hlavním úkolem těchto pracovišť je v co nejrychlejší čas získat přesné výsledky navzdory velkému počtu potenciálních analytů, které jsou ve většině případů monitorovány ve složitých biologických maticích. Běžnou prací těchto laboratoří je používání automatizovaných imunochemických metod, plynovou chromatografií ve spojení s hmotnostní detekcí a kapalinou chromatografií ve spojení s konvekčním detektorem (UV, DAD) pro screening analytů. Žádná z těchto metod ovšem není schopna analyzovat všechny drogy a toxické látky, které jsou potenciálně přítomné ve vzorcích. Jako vhodné řešení pro odstranění těchto nedostatků předchozích metod je spojení kapalinové chromatografie s hmotnostní detekcí (LC-MS), které poskytuje specifické a průkazné analýzy drog a toxických látek.

## ToxSpec analyzátor

Thermo Fisher Scientific (LABOREXPO 2009 vystavovatel) vyvinul pro klinické a toxikologické studie ToxSpec Analyzer. Tento systém obsahuje hardware: LXQ lineární (2D) iontovou past, CTC PAL autosampler a Accela 1000 UHPLC pumpu. Tento hardware je vybaven softwarem a optimalizován tak, aby umožnil snadné a co nejrychlejší nasazení v rutinní laboratoři. Použitý hmotnostní detektor zároveň zvyšuje jistotu identifikace a kvantifikace látek v klinické toxikologii a forenzní analýze.

ToxSpec Analyzer primárně identifikuje látku na základě MS<sup>2</sup> spekter a retenčních časů pomocí hledání v knihovně, která je jeho součástí. Zároveň je vhodným řešením i pro uživatele, kteří nemají hlubší znalost a zkušenosti v LC-MS oblasti.

Komplexní softwarová a spotřební sada obsahuje: metody pro přípravu vzorků, metody sběru dat, metody k přípravě vzorků, knihovnu MS<sup>2</sup> spekter, ToxID 2.1.0 automatizovaný toxikologický screeningový software, Xcalibur® 2.0.7 Data System, výkonný a uživatelsky jednoduchý software pro přípravu reportů a seznam reakčních látek a spotřebního materiálu.

Unikátní funkce LXQ iontové pasti jako normalizovaná kolizní energie (NCE) a reverzní změna energie (RER) umožňují získávat reprodukovatelná MS/MS spektra s bohatou fragmentací vhodná pro identifikaci a tvorbu knihoven. Rychlé skenování zajišťuje efektivní screening zatímco koelující látky jsou identifikovány přepínáním pozitivní a negativní ionizace v rámci jedné analýzy. S využitím připravených metod dochází k eliminaci zdlouhavé přípravy vzorků a tím se dosahuje úspor nákladů na

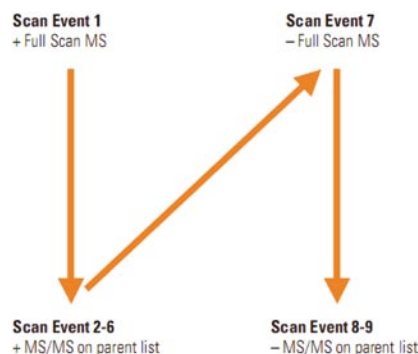
analýzu. Náklady snižují i činidla používaná v zadaných metodikách, která jsou levnější než obvykle používaná činidla.

Dále uvádíme typický pracovní postup pro kompletní toxikologický screening drog a toxických látek v moči a plazmě pomocí LC-MS/MS s použitím ToxSpec analyzátoru (*A Complete Toxicology Screening Procedure for Drugs and Toxic Compounds in Urine and Plasma Using LC-MS/MS: Marta Kozak, Taha Rezaei, Thermo Fisher Scientific, San Jose, CA*).

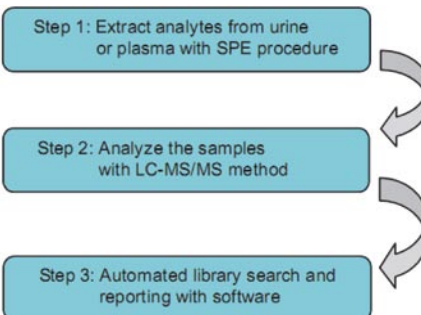
## Experimentální podmínky

Byla vytvořena knihovna spekter MS/MS 275 drog a toxických látek. Vzorky spikované moči a plazmy byly přečištěny na SPE kolonkách pro neutrální a kyselé sloučeniny. Pro chromatografickou separaci byla použita perfluorfenylová kolona a HPLC separace trvala 13 minut. Vzorky byly analyzovány pomocí hmotnostního detektoru (lineární 2D iontové pasti s elektrosprejovou ionizací) s přepínáním polaritativy závislým na MS/MS experimentech (Data Dependent Scan, viz Obr. 1) a s časovými retenčními okny specifickými pro každou rodičovskou hmotu z daného seznamu látek. Obrázek 2 ukazuje celý použitý aplikační postup.

Obr. 1 – Data Dependent Scan



Obr. 2 – Použitý aplikační postup



## Příprava vzorků

Vzorky (1 ml moči a 0,5 ml plazmy) byly spikovány 0,1 ml roztokem vnitřního standardu o koncentraci 1 µg/ml (chlorpromazin-D3, haloperidol-D4 a prazepam-D5) a zředěny 2 ml 0,1 M fosfátového pufru s pH 6,0. Výsledná směs byla extrahována pomocí

SPE extrakce (Thermo Scientific Hypersep VerifyCX 200 mg mixed mode cartridges) před nástřikem na LC-MS.

## Chromatografické podmínky

HPLC separace byla provedena na Thermo Scientific Accela UHPLC pumpě a koloně Thermo Scientific Hypersil GOLD PFP (50 x 2,1 mm, 5 µm velikost částic). Průtok byl nastaven na 200 µL/min. Gradient je shrnut v tabulce 1 (rozpuštědlo A: voda/0,1 % kyselina mravenčí/10 nM mravenčan amonny, rozpuštědlo B: acetonitril/0,1% kyselina mravenčí). Nástřikový objem byl 10 µL.

Tab. 1 – Gradient použitý pro LC separaci

Čas (min.)	%A	%B
0	95	5
0,5	95	5
5,5	5	95
8,5	5	95
8,6	5	95
13	95	5

Tab. 2 – MS podmínky

Instrument	LXQ ion trap mass spectrometer
Ionization	ESI, Thermo Scientific Ion Max source
Capillary temperature	275 °C
Spray voltage	5,0 kV
Sheath gas	30
Aux gas	8
Data acquisition mode	Polarity switching scan dependent experiment
Microscans	1
WideBand Activation	On
Stepped Normalized Collision Energy	35% ± 10%

## Závěr

ToxSpec Analyzer je vhodná náhrada za systém REMEDI HS v laboratořích toxikologie a klinické biochemie. Nabízí však navíc zvýšenou citlivost, větší jistotu identifikace a nižší náklady na analýzu vzorků, uživatelsky jednoduchý software, hardware a připravené metody potřebné k toxikologickému screeningu v klinické toxikologii a forenzní analýze. Uživatelé ToxSpec systému mohou přidávat nové látky k aplikacím podle požadavků laboratoře. Tato schopnost umožňuje dynamickou expanzi do oblastí nových látek, které mohou být identifikovány.

Ing. Petr VERNER,  
Thermo Fisher Scientific (Praha) s.r.o.,  
petr.verner@thermofisher.com