

FAB (Fast Atom Bombardment)-Massenspektrometrie

Eine neue Untersuchungsmethode in der Hand des (forensischen) Toxikologen

W. Gielsdorf¹ und P. Farrow²

¹ LAB-MS Gesellschaft für pharmakologische Untersuchungen mbH, Brühlweg 23,
D-7910 Neu-Ulm 4, Bundesrepublik Deutschland

² VG Instruments GmbH, Gustav-Stresemann-Ring 12–16, D-6200 Wiesbaden,
Bundesrepublik Deutschland

FAB (Fast Atom Bombardment)-Mass Spectrometry

A New Tool in the Hand of the (Forensic) Toxicologist

Summary. The FAB (Fast Atom Bombardment)-mass spectrometric ionization technique, which has now been available for about 1 year, has been successfully employed in forensic toxicology. The mass spectral behaviour of some representative drug-glucuronides (Codeine, p-Nitrophenol and 2-Phenyl-1-propanol) were studied by positive- and negative-ion-FAB-MS. The presented promising results may be of some interest, not only for the analytical toxicologist.

Key words: FAB (Fast Atom Bombardment)-MS – Drug-glucuronides of Codeine, p-Nitrophenol and 2-Phenyl-1-propanol

Zusammenfassung. Die vorliegende Arbeit zeigt einige Anwendungsmöglichkeiten der seit ca. einem Jahr kommerziell erhältlichen FAB (Fast Atom Bombardment)-massenspektrometrischen Untersuchungstechnik in der analytisch-forensischen Toxikologie auf. Dazu werden die mit Hilfe der positiv-/negativ-Ionen-FAB-MS erhaltenen Massenspektren einiger repräsentativer Arzneimittel-Glucuronide (Codein, p-Nitrophenol und 2-Phenyl-1-propanol) vorgestellt und diskutiert. Die bisher erzielten Ergebnisse zeigen klar, daß diese neue massenspektrometrische Ionisierungstechnik nicht nur dem (forensischen) Chemiker neue, zusätzliche analytische Möglichkeiten eröffnet.

Schlüsselwörter: FAB (Fast Atom Bombardment)-MS – Arzneimittel-Glucuronide von Codein, p-Nitrophenol und 2-Phenyl-1-propanol

Sonderdruckanfragen an: Dr. W. Gielsdorf (Adresse siehe oben)

Der forensisch-toxikologische Sachverständige wird in der täglichen Praxis oft mit der Problemstellung konfrontiert — beispielsweise bei Untersuchungen auf Medikamente im biologischen Material —, den Nachweis zu erbringen, daß diese Verbindung die Körperpassage durchlaufen hat: nicht selten wird bei Gericht vorgebracht, die fragliche Substanz sei (im nachhinein von Unbekannten) in böser Absicht dem Untersuchungsgut hinzugefügt worden. Diese Einlassung kann im allgemeinen dadurch widerlegt werden, daß neben dem Nachweis der unveränderten Ausgangsverbindung die verschiedenen Biotransformationsprodukte (Metabolite) oder andere charakteristische Abbauprodukte (Benzodiazepine) im Harn gefunden werden. Eine Anzahl toxikologisch bedeutender Verbindungen — wie Morphin, Codein usw. — jedoch werden überwiegend in Form ihrer Konjugate (Glucuronide, Sulfate) mit dem Harn ausgeschieden: Zu deren Nachweis ist infolgedessen eine salzsaure/enzymatische Hydrolyse (mit anschließender Extraktion des Aglykons) erforderlich. Es kann dann nicht mehr entschieden werden, ob Körperpassage stattgefunden hat oder nicht.

Als Ausweg bietet sich der direkte Nachweis der entsprechenden Konjugate an; dies stößt jedoch rasch — u. a. bedingt durch die thermische Instabilität der hochpolaren Verbindungen — auf experimentelle Schwierigkeiten.

In den letzten Jahren sind zur Überwindung dieser Probleme eine ganze Reihe verschiedener, allerdings experimentell aufwendiger, hauptsächlich massenspektrometrischer Meßtechniken entwickelt worden, die jedoch oft nur bei ganz speziellen Fragestellungen eindeutige Ergebnisse liefern; stellvertretend sei hier nur die Feld-Desorptions-Massenspektrometrie (FD-MS) genannt [1–4].

Im vorigen Jahr nun wurde eine weitere, massenspektrometrische Untersuchungsmethode vorgestellt, bei der die Ionisierung des Probenmaterials durch einen Strahl schneller, neutraler Edelgas-Atome (Ar, Xe) erfolgt: FAB (Fast Atom Bombardment) [5, 6a–c]. Die so erzeugten Ionen können dann beschleunigt und einer „normalen“ massenspektrometrischen Untersuchung zugeführt werden; die Probenvorbereitung besteht darin, daß die Probe in einem Tropfen Glycerin gelöst wird und dann (mit einer FD-Schubstange) ins Massenspektrometer eingeführt wird.

Damit wird deutlich, daß auch labile und nicht unzersetzt verdampfbare Verbindungen (Salze) nun einer massenspektrometrischen Untersuchung zugänglich werden [7].

Bisher erfolgreich untersucht wurden u. a. folgende Substanzklassen: Antibiotica, Peptide, Nucleotide, Glukoside, Glykoside, Alkaloide usw., jedoch — bis auf Cholesterinsulfat, einige Hormon-Glucuronide und die Taurin/Glycin-Derivate von Gallensäuren — bisher keine Arzneimittel-Glucuronide. Wir haben daher einige repräsentative Glucuronide, nämlich die von Codein, p-Nitrophenol und 2-Phenyl-1-propanol mit Hilfe der FAB-MS untersucht¹:

Das FAB-Spektrum des Codein-Glucuronids zeigt im oberen Massenbereich das bei dieser Meßmethode in der Regel immer zu beobachtende Quasimolekülion (MH^+) bei m/e 476 mit ca. 85% rel. Int. (Abb. 1a).

¹ Wir danken Herrn Prof. Dr. S. Gonechea, Institut für Rechtsmedizin Bonn, für die Überlassung der Reinsubstanzen

Abbildung 1b nun macht einen weiteren interessanten Aspekt der Methode deutlich: durch den Einsatz der negativ-ion (Anion)-MS [8, 9] ergeben sich offensichtlich Vorteile in bezug auf u. a. Empfindlichkeit, Einfachheit der Spektren durch Unterdrückung der Fragmentbildung sowie Selektivität:

Als base-peak tritt das $(M-H)^-$ -Ion bei m/e 474 auf. Dies gilt in gleichem Maße auch für das Massenspektrum des p-Nitrophenol-Glucuronids (Abb. 2): auch hier tritt das $(M-H)^-$ -Ion (bei m/e 314) als base-peak auf. Vom 2-Phenyl-1-propanol-Glucuronid kann nur durch die Registrierung negativer Ionen ein Signal für das Molekülion, bzw. $(M-H)^-$ -Ion, bei m/e 311 erhalten werden; den base-peak bei Registrierung positiver Ionen liefert das Ion bei m/e 242 (Abb. 3).

Ebenfalls mit der FAB-MS wurde das Molekulargewicht des bei der salzsauren Hydrolyse des Pentazocins (Fortral) quantitativ entstehenden Pentazocin-Hydrats bestimmt [10, 11].

Experimentelles

Die Untersuchungen wurden mit einem VG Micromass 7035 durchgeführt.

Bombarding gas: Argon

Druck in der Ionenquelle: 3×10^{-6} m bar

Energie der Ar-Atome: ca. 8 keV

Massenauflösung: 1000–5000 (10% Tal)

Beschleunigungsspannung: 6 kV

Scan: 10 s/dec

Lösungsmittel: Glycerin.

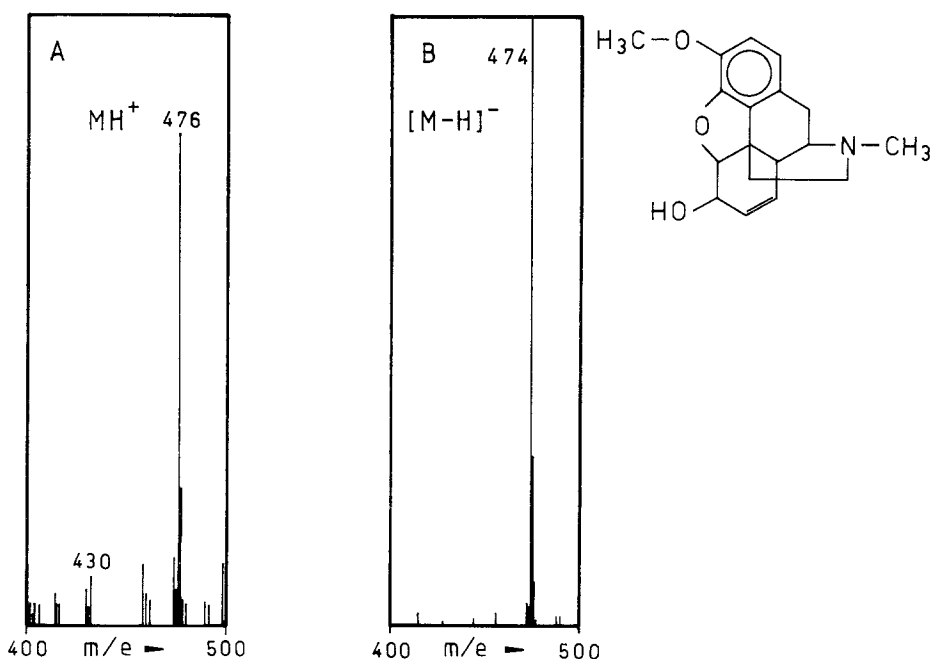


Abb. 1. A FAB-Massenspektrum des Codein-Glucuronids (positive-ion-MS; PI-MS). B wie A, jedoch negative-ion-MS; NI-MS

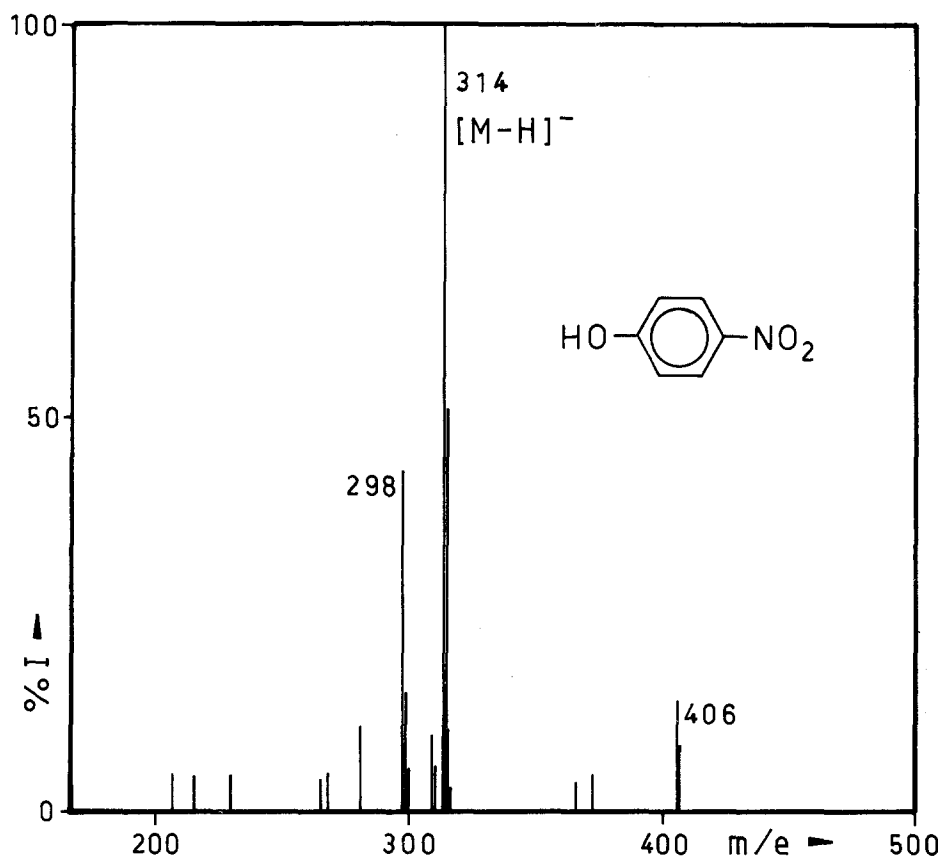


Abb. 2. FAB-NI-Massenspektrum des p-Nitrophenol-Glucuronids

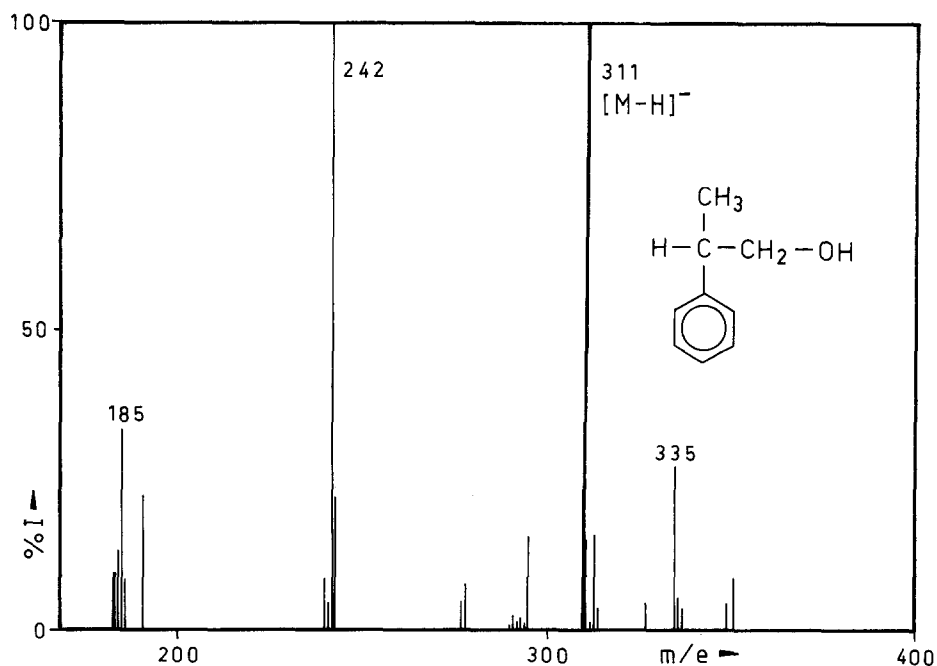


Abb. 3. FAB-Massenspektrum des 2-Phenyl-1-propanol-Glucuronids; PI- und NI-MS sind durch unterschiedliche Strichstärken differenziert

Schlußfolgerungen

Unsere vorliegenden Ergebnisse zeigen, daß mit Hilfe dieser neuen Untersuchungsmethode jetzt Verbindungen massenspektrometrisch analysiert werden können, die sich bisher einer derartigen Untersuchung entzogen. Für den forensischen/analytischen Toxikologen ergeben sich insbesondere bei der (Arzneimittel)-Analytik im biologischen Material neue, interessante Möglichkeiten, deren volle Ausschöpfung der Toxikologie neue Impulse verleihen kann [12].

Da die FAB-MS erst seit ca. 1 Jahr kommerziell erhältlich ist und bisher nur in wenigen Laboratorien eingesetzt wird, muß die Zukunft zeigen, auf welchen Anwendungsgebieten und in welchem Umfang die Methode in die Toxikologie Eingang findet.

Literatur

1. Deutsch J, Gelboin HV (1982) Benzo-(a)-pyrene glucuronide and sulfate conjugate characterization by field desorption mass spectrometry. *Biomed Mass Spectrom* 9:99–101
2. Beckey HD, Schulten HR (1975) Felddesorptions-Massenspektrometrie. *Angew Chem* 87: 425–460
3. Goenechea S, Goebel KJ, Heinen HJ (1978) Rapid detection of basic drugs in biological materials employing field desorption mass spectrometry. *Fresenius Z Anal Chem* 290: 110–111
4. Sweeley CC, Soltmann B, Holland JF (1978) Prognosis for field desorption mass spectrometry in biomedical application. In: Gross ML (ed) *High performance mass spectrometry: Chemical applications*. ACS Symposium Series 70, Washington, pp 209–228
5. Barber M, Bordoli RS, Sedgwick RD, Tyler AN (1981) Fast atom bombardment of solids (FAB): A new ion source for mass spectrometry. *J Chem Soc Chem Commun* 63:325–327
- 6a. VG Instruments GmbH (o. Jahresang.) „FAB — Eine neue leistungsstarke Ionisierungsmethode für die Massenspektrometrie — Anwendungen in der organischen Analytik“, „Fast Atom Bombardment“. Appl Notes No 6
- 6b. Kratos GmbH (o. Jahresang.) „Fast Atom Bombardment Spectra“; „Fast Atom Bombardment (FAB) Mass Spectrometry“. Data Sheet No 138
- 6c. Finnigan-MAT (o. Jahresang.) „More application examples for FAB“
7. Gielsdorf W (1982) Fortschritte in der massenspektrometrischen Analysentechnik: FAB, CI, NCI, SIR. Internationales Symposium „Entwicklung und Fortschritte der forensischen Chemie“, Hamburg, 19.–20. 3. 1982
8. Higuchi T, Kumihira F, Takagi T, Kubota E, Itagaki Y (1979) Analysis of nonvolatile compounds by means of negative FD mass spectrometry. *Proc 4th Meeting Jap Soc Med Mass Spectrometry*, Nagoya
9. Budzikiwicz H (1981) Massenspektrometrie negativer Ionen. *Angew Chem* 93:635–649
10. Gielsdorf W, Klug E, Tümmlers MH (1982) Der Nachweis von Pentazocin (Fortral) im menschlichen Harn: Gaschromatographisch-massenspektrometrische Untersuchungen. *Z Rechtsmed* 89:181–189
11. Gielsdorf W, Tümmlers MH (1982) Determination of pentazocine (Fortral) in human urine: Gas chromatographic-mass spectrometric investigations. Poster presentation, 9th International Mass Spectrometry Conference, Vienna, 30. 8.–3. 9. 1982
12. Fenselau C, Heller D, Lehmann J, Stogniew J, Feng P (1982) Analysis of glucuronides by fast atom bombardment. Oral presentation, 9th International Mass Spectrometry Conference, Vienna, 30. 8.–3. 9. 1982