

环境水样品中药物残留的潜在代谢物的鉴定

Gareth Cleland, Mark Wrona, Lauren Mullin and Jennifer Burgess
沃特世公司 (美国马萨诸塞州米尔福德)

应用优势

- 对大量目标物进行HRMS筛查, 包括加合物
- 使用ACQUITY UPLC® HSS C₁₈色谱柱进行快速UPLC®分析
- 鉴定产生的残留成分代谢物

沃特世解决方案

筛查平台解决方案与UNIFI®

ACQUITY UPLC I-Class系统

Xevo® G2-S QTOF质谱仪

ACQUITY UPLC HSS 1.7 μm, C₁₈色谱柱

关键词

药物, 个人护理产品, PPCP, 农药, 环境水样品, UNIFI, 筛查, HRMS, 代谢物鉴定, 农药筛查

简介

近年来, 有关水体中农药、药物和个人护理产品 (PPCP) 残留的问题在全世界范围内受到越来越多的关注¹。这也对我们的分析技术提出了更高要求, 即不仅要能够筛查这些化合物, 而且还要能够查找出它们的代谢物。

理论上, 利用高分辨质谱仪全采集的数据, 可鉴定任意数量的化合物。此外, 当目标化合物数量较多, 且仅以精确质量作为污染物唯一的鉴定手段时, 会出现大量误检, 而采用UPLC-MS^E收集的丰富信息。可降低误检的数量。通过在低碰撞能量和高碰撞能量之间交替扫描, 单次实验中, MS^E即可同时提供母离子及其子离子的精确质量信息。通过与UNIFI这一集成的科学信息系统联用, 目前在常规的实验室环境下, 即可实现对PPCP及其加合物, 以及它们潜在代谢物的筛查。

在先前的工作中, 我们联用沃特世筛查平台解决方案和沃特世毒理学数据库, 首先对当地井水样品中大量的 (>1000种) PPCP、农药和滥用药物进行了筛查²。在本应用纪要中, 我们使用该集成软件的代谢物鉴定功能, 处理同一数据, 通过可靠的筛查库匹配, 查找出已知或潜在代谢物。一旦代谢物被发现, 其检测结果 (保留时间和经鉴定的碎片离子) 就将被添加到科学库中, 用于未来的代谢物筛查实验。

实验

将从当地获取的井水样品按照如前所述的方法浓缩1000倍^{2,3}。使用UPLC-MS^E采集数据,使UNIFI获得一个综合数据集。UNIFI中的毒理学筛查解决方案包括预设的LC-MS条件 and 处理参数。UNIFI中的毒理学数据库由包括多种PPCP在内的1000多种化合物组成,例如滥用的药物、兽药和人用药物。数据库中还包含保留时间和精确的理论碎片质量。实验条件、样品制备方案,以及数据处理参数可在同一作者先前的一份应用纪要中找到²。

结果与讨论

在先前的一份应用纪要中²,我们通过采用多达3种加合物(H⁺、Na⁺、K⁺),根据UNIFI中的毒理学数据库对当地的一个井水样品进行了筛查,结果表明,该样品中存在4种化合物,如表1所示。

Component no.	Formula	m/z	Retention Time Error (min)	Mass error (ppm)	Identified High Energy Fragments	Response	Adducts
1	Carbamazepine	C15H12N2O	237.1021	0.21	-0.62	3	10282 +H
2	Hexamine	C6H12N4	141.1136	0.38	0.92	3	40806 +H
3	Imidacloprid	C9H10ClN5O2	256.0597	0.18	0.66	1	7907 +H
4	Tramadol	C16H25NO2	264.1956	0.42	-0.68	1	16859 +H

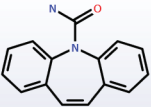
表1. 根据包含1000多种化合物的数据库对经过提取的井水样品进行筛查所得到的UNIFI组分汇总表,其中展示了可靠匹配成分的详细信息。

毒理学筛查科学库包含保留时间和子离子的精确质量,能够实现可靠的匹配,这是由于可以依据更多信息进行匹配,而不仅仅是母离子的精确质量。如前所述,这对于降低误检率是至关重要的,能够实现筛查实验的数据快速浏览。

使用UNIFI筛查解决方案软件中代谢物鉴定功能,可对综合数据集开展进一步的研究。

该功能需要目标化合物的分子式mol形式的文件,以及可能发生代谢的基团列表,如表1所示。

Selected transformations			
	Name	Delta Mass (Da)	Classifier
1	Ketone to alcohol	2.0157 +H2	Phase I
2	Oxidation	15.9949 +O	Phase I
3	Glucosylation	162.0528 +C6H10O5	Phase II
4	Methylation of alcohol	14.0157 +CH2	Phase II
5	Glucuronide conjugation of anything	176.0321 +C6H8O6	Phase II
6	Sulfate conjugation	79.9568 +SO3	Phase II



Carbamazepine
+H

图1. 转化类型和mol文件示例,用于鉴定筛查实验中所发现化合物的潜在代谢物。

首先，应用化学知识⁴，根据理论，将目标化合物结构mol文件系统地剖解。这将极大有助于在目标列表中，准确检索出母体化合物及其潜在降解产物。采用MS²综合数据采集的低能量通道，可自动地提取出母体离子的质量数，以及可能的转化物列表，无论这些转化物是否来自母体分子的系统性裂解。卡马西平可能的代谢物列表如表2和图2所示。

筛查实验中，其它3种化合物的代谢物，没有观察到。

Component Summary				View: "Metabolite Summary"			
Component name	Formula	m/z	Observed RT (min)	Mass error (ppm)	Response	Percentage of Parent Response (%)	Identification status
1 Carbamazepine	C15H12N2O	237.1021	7.49	-0.62	10282	100.000	Identified
2 Carbamazepine+O	C15H12N2O2	253.0975	4.34	1.49	5927	57.645	Identified
3 Carbamazepine+O	C15H12N2O2	253.0964	5.82	-2.80	6263	60.907	Identified
4 Carbamazepine+O	C15H12N2O2	253.0984	3.44	4.96	451	4.194	Identified

表2. 使用图1所示的转化和mol文件找到的卡马西平潜在代谢物组分汇总表。

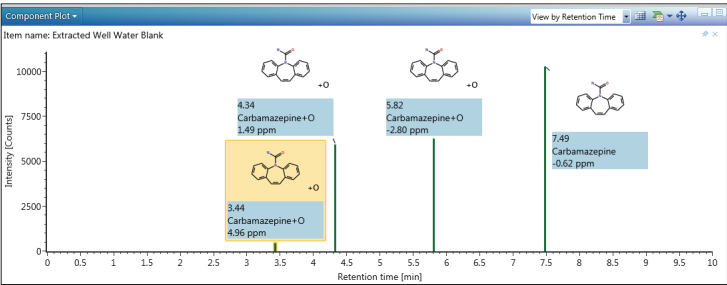


图2. 使用图1所示的转化和mol文件找到的卡马西平潜在代谢物组分结构式。

图3和4分别展示了卡马西平和一种卡马西平氧化物的全部UI详细信息。UNIFI中的碎片匹配功能使用了与上述裂解算法类似的智能功能。它将系统地分析母体化合物或所可能的代谢物的mol文件，然后与通过MS²高能量功能采集到的碎片离子精确质量数据相匹配。得到确认的碎片离子，将被标注，如图3中的质量数194.06691 Da，以及图4中的质量数210.09098 Da和236.07105 Da。

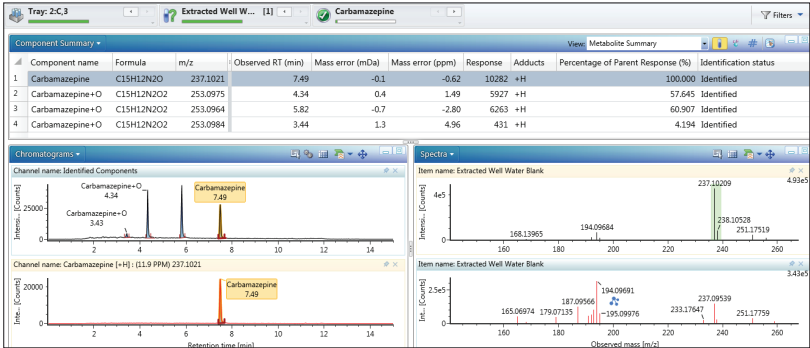


图3. UNIFI中的完整用户界面(UI)信息，展示了卡马西平母体化合物鉴定的详细信息。组分汇总表展示了鉴定的详细信息，同时色谱图展示了所有已鉴定组分的提取离子色谱图，这些组分在组分汇总表中突出显示。谱图部分展示了突出显示组分的母离子和碎片离子谱图。

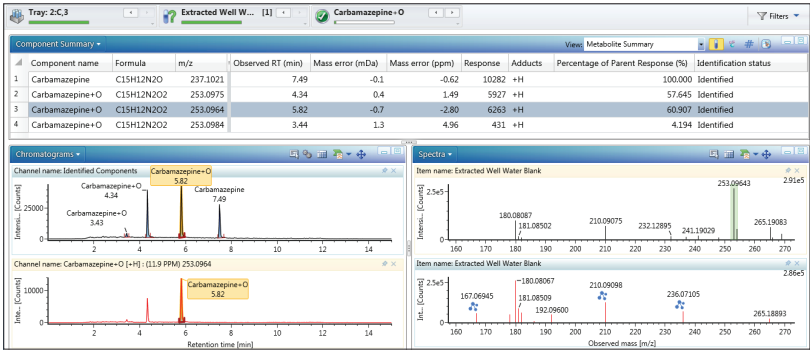


图4. UNIFI中完整的用户界面(UI)信息展示了所推测卡马西平代谢物鉴定的详细信息。组分汇总表展示了鉴定的详细信息，同时色谱图展示了所有已鉴定组分的萃取离子色谱图，这些组分在组分汇总表中突出显示。谱图部分展示了突出显示组分的母离子和碎片离子谱图。

正如筛查实验中的一样，高能量通道得到的碎片离子，可有助于鉴别和确认该代谢物的可靠性。UNIFI还提供共有碎片离子和中性丢失的确认功能，这也将有助于提高代谢物鉴定的可靠性。图5展示了使用共同子离子进行搜索的结果。卡马西平的两个分别在4.3和5.8分钟出峰的+O代谢物，显示：它们相互关联是因为：它们都有共同的210.0910 Da子离子，而。该子离子是从253.0964 Da的母体化合物，丢失43.005 Da后形成的。它们还都有相同的主要碎片离子(194.0969 Da)，是卡马西平母体化合物(237.1021 Da)的中性丢失后得到的，这又进一步提高了代谢物鉴定的可靠性。

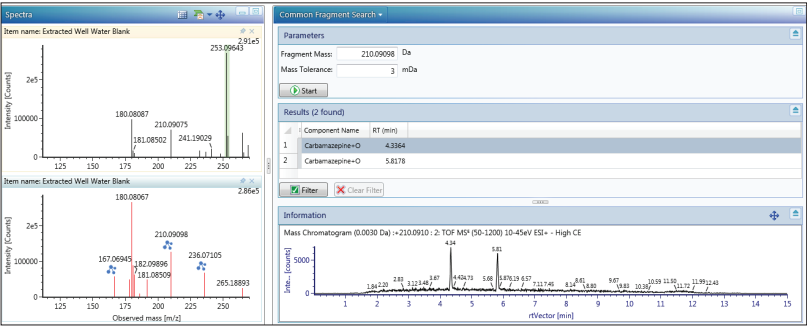


图5. 在UNIFI中使用解析工具集对210.09098 Da的共有碎片离子进行搜索的结果。

一旦某种代谢物被确证存在，通过单击鼠标右键就能很容易地将它的条目导出至UNIFI中现有或新的科学数据库中，如图6所示。其详细信息如：化学式、保留时间、子离子的理论精确质量数和谱图，可用于将来其它用户进一步分析。

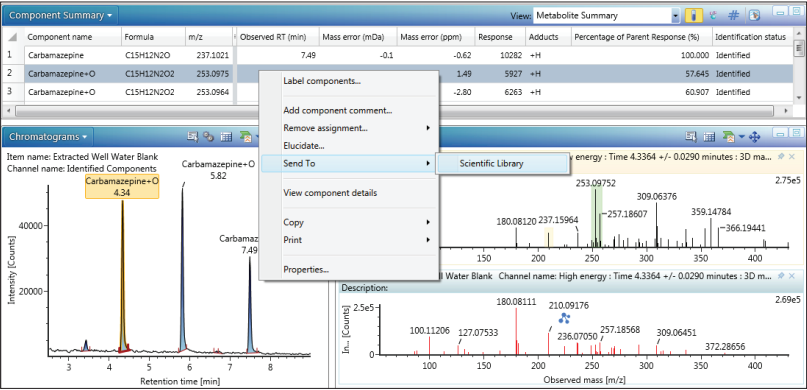


图6. 将经过审查的代谢物发送到UNIFI的科学数据库。

结论

- MS²采集和集成的科学信息系统所提供的大量信息，使我们能在常规实验室环境中，筛查目标化合物及其加合物，以及其潜在代谢物。
- UNIFI中的科学数据库包含：保留时间和碎片离子的精确质量数，因而，我们在进行鉴定时能够参考更多信息，而不仅仅是母离子的精确质量。这对于降低误检率并实现筛查实验中的快速数据审查至关重要。
- 使用UNIFI的代谢物鉴定功能，在浓缩的当地井水样品中可靠地鉴定出了3种卡马西平代谢物。
- 鉴定出的代谢物，能够被方便地添加到UNIFI的科学数据库中，扩大了未来筛查分析中目标化合物的范围。

参考文献

1. S Richardson. Environmental Mass Spectrometry: Emerging Contaminants and Current Issues. *Anal Chem.* (2012) 84: 747-778.
2. C Mallet, G Cleland, J Burgess. Screening Environmental Samples For a Diverse Range of Compounds With Accurate Mass LC-MS and an Integrated Scientific Information System. (2013) Waters Application Note no. 720004810en.
3. C Mallet, G Cleland, J Burgess. Multi-residue analysis of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in water using the ACQUITY UPLC H-Class and the Xevo TQD tandem mass spectrometer. (2013) Waters Application note no. 720004813en.
4. R J Mortishire-Smith, J M Castro-Perez, K Yu, J P Shockcor, J Goshawk, M J Hartshorn, A Hill. Generic dealkylation: a tool for increasing the hit-rate of metabolite rationalization, and automatic customization of mass defect filters. *Rapid Commun Mass Spectrom.* (2009) Apr 23, (7): 939-48. doi: 10.1002/rcm. 3951.

Waters

THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

Waters, UNIFI, UPLC, ACQUITY UPLC, Xevo和The Science of What's Possible是沃特世公司的注册商标。其它所有商标均归各自的拥有者所有。

©2013沃特世公司 中国印刷 2013年10月 720004812ZH AG-PDF

沃特世中国有限公司
沃特世科技(上海)有限公司

北京: 010 - 5209 3866
上海: 021 - 6156 2666
广州: 020 - 2829 5999
成都: 028 - 6578 4990
香港: 852 - 2964 1800

免费售后服务热线: 800 (400) 820 2676
www.waters.com