

应用纪要

## 使用Xevo™ G3 QToF对苯并咪唑阿片类化合物进行准确质量数筛查和发现研究

---

Nayan S. Mistry, Lisa J. Calton, Jane Cooper

Waters Corporation

仅适用于法医毒理学应用。

---

### 摘要

本文介绍了法医毒理学高分辨率质谱(HRMS)筛查解决方案的一个应用实例：使用waters\_connect™信息学平台和Xevo G3 QToF（图1）通过半靶向和发现工作流程分析苯并咪唑阿片类药物。

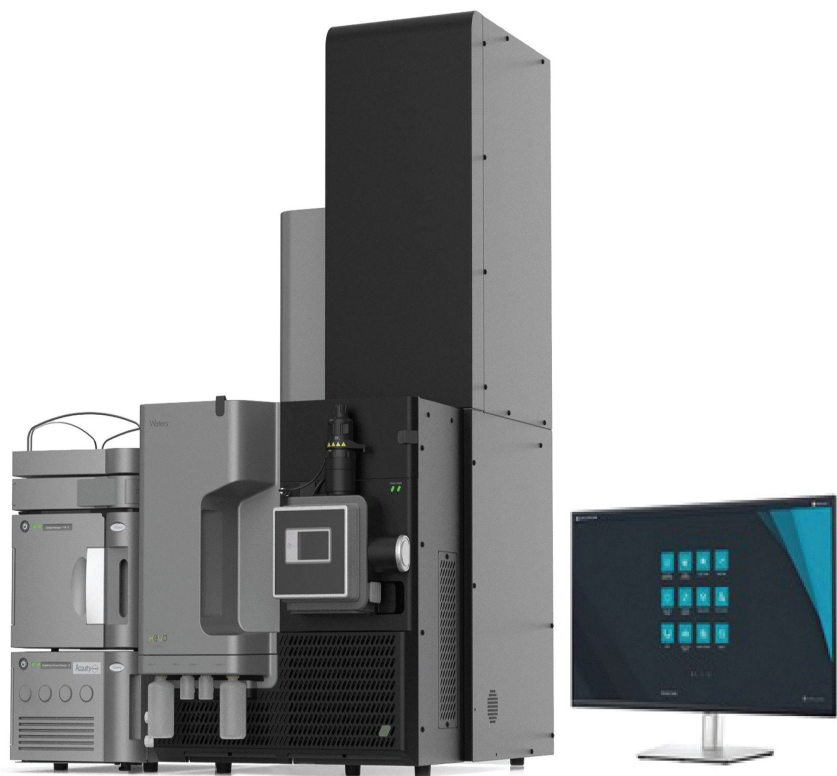


图1.ACQUITY UPLC I-Class和Xevo G3 QTof

## 优势

利用waters\_connect信息学平台的解析工具包中的全套发现参数，展示使用该软件创建和更新自定义谱库时添加新分析物的简便性。

## 简介

飞行时间质谱(Tof-MS)已成为筛查应用的优选仪器，因为准确质量数相比标准质量具有明显的优势，其中之一就是无需参比物质即可实施筛查方法。除了专属性高之外，在结合同位素数据进行物质鉴定时，准确质量质谱还能帮助用户推测可能的元素组成。推测元素化学式通常是复杂的多阶段化学结构表征过程的起点。在毒理学研究中，该技术的价值不可估量，它可以协助分析人员对那些还没有可用的认证参比物质的新兴策划药、新型精神活性物质及其代谢物进行靶向分析。

在本研究中，我们分析了一系列苯并咪唑阿片类药物（硝氮酮类），这是一类合成阿片类药物，药效可达吗啡的数百倍。这些含氮杂环化合物由芳香族化合物苯和咪唑稠合生成。通过分析这些物质，我们得以评估 waters\_connect 信息学软件包中的半靶向和发现工作流程。

---

## 实验

### 材料

五种苯并咪唑阿片类药物的认证参比物质购自Merck（英国多塞特），为1 mg/mL溶于甲醇的储备液：异丙基依托、氯尼他秦、依托尼秦、依替氮卓和N-吡咯烷基依托尼秦。

### 样品前处理

首先用甲醇稀释各苯并咪唑阿片类药物的原始储备液，制备浓度为10 µg/mL的单独储备液。分析前，用5 mM甲酸铵(pH 3.0)进一步稀释储备液，得到浓度为500 ng/mL的样品供进样使用。分析前涡旋混匀样品。

---

## 结果与讨论

分析之前先创建苯并咪唑阿片类药物的自定义谱库，创建方法很简单，输入五种分析物的名称即可。我们为谱库中的每个条目都添加了描述每种物质结构的MOL文件（图2）。单独进样分析各种苯并咪唑类阿片类药物，使用 ACQUITY™ UPLC™ I-Class (FTN)/Xevo G3 QTof 联用系统和成熟的法医毒理学HRMS筛查解决方案采集数据，采用梯度洗脱设置，在15 min内就实现了色谱分离<sup>1,2</sup>。Xevo G3 QTof 质谱仪在正离子模式的MS<sup>E</sup>采集模式下运行<sup>2</sup>。这种采集模式有利于采集完整的MS谱图，并且需要在两种碰撞室电压之间的快速切换：第一种在低电压下采集，提供母离子的准确质量数；第二种在逐渐升高(10~40 eV)的电压下采集，提供碎片离子的准确质量数。分析苯并咪唑阿片类药物标准品后，比对自定义苯并咪唑阿片类药物谱库筛选采集到的数据。鉴定每种分析物的可接受标准如下：三维(3D)低能量离子计数强度大于250；保留时间与参比值的偏差在0.35 min以内；实测母离子质量数与预期值的偏差在5 ppm以内。

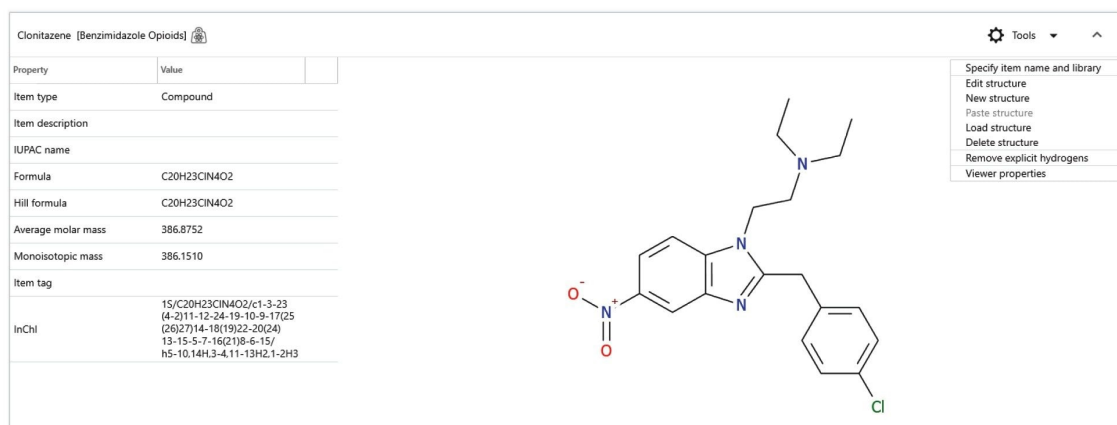


图2.自定义苯并咪唑阿片类药物谱库中的氯尼他秦条目。可以添加现有MOL文件结构（“加载结构”），也可以先使用标准化学绘图包创建，然后添加（“新结构”）。

## 半靶向工作流程：通过计算机模拟机碎裂进行鉴定

测定质子化母离子的质量精度，并在处理过程中根据MOL文件结构自动生成理论碎片离子，与高能质谱图中观察到的碎片离子进行匹配，再结合这两个结果确认每种苯并咪唑阿片类药物。图3展示了waters\_connect组分摘要页面上氯尼他秦的计算机模拟碎裂示例。指配给该物质的低能量离子在谱图中以绿色突出显示，对应于质子化同位素簇。高能质谱图中标注了氯尼他秦的子结构，这些子结构由waters\_connect自动生成，并以碎片离子的形式与高能质谱图中的峰相关联。

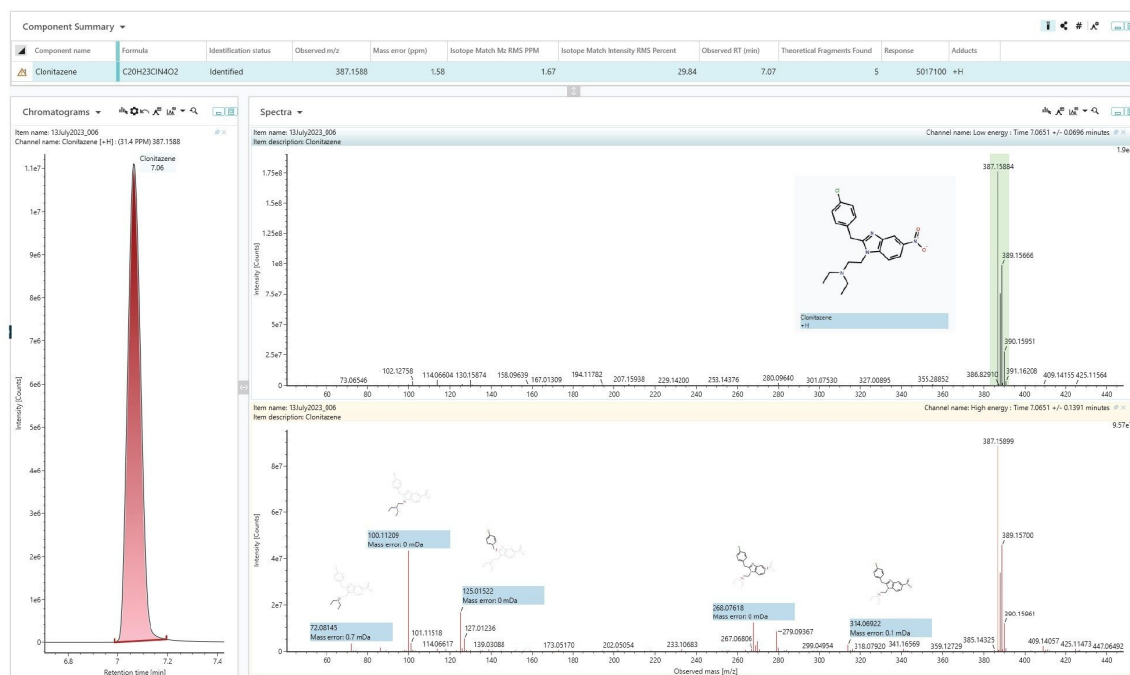


图3.使用waters\_connect信息学平台鉴定氯尼他秦

## 更新库条目

根据输入自定义谱库的信息，我们成功检出并鉴定了所有五种苯并咪唑阿片类化合物，库中添加了处理步骤中生成的理论碎片离子以及每种分析物的实测保留时间。库条目可以直接根据此次分析轻松更新，以包含指配的加合物和相关碎片离子的预期保留时间和预期 $m/z$ 值。库更新后，典型条目包含的信息与图4中所示的N-吡咯烷基依托尼秦相似。这些附加信息可在后续分析中用于靶定分析物。

N-Pyrrolidino Etonitazene [Benzimidazole Opioids]

Property Value

Item type Compound

Item description

IUPAC name

Formula C<sub>22</sub>H<sub>26</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>

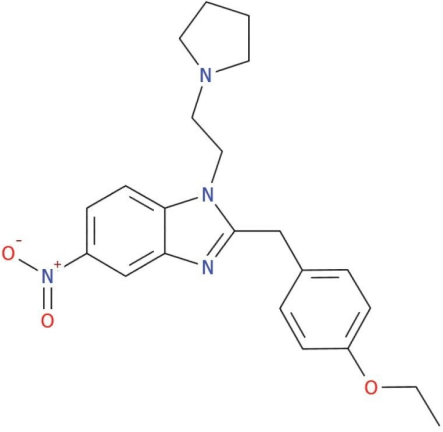
Hill formula C<sub>22</sub>H<sub>26</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>

Average molar mass 394.4668

Monoisotopic mass 394.2005

Item tag

InChI 1S/C<sub>22</sub>H<sub>26</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>/c1-2-19-8-5-17(6-9-19)/15-22-23-20-16-18(26(27)28)/7-10-21(20)25(22)/14-13-24-11-3-4-12-24/h5-10,16h,2-4,11-15h,2,1H3



Detection results

Add Edit Delete

Priority	Intensity	Formula	Neutral Mass (Da)	Adduct	Charge	Fragmentation type	Expected m/z	Observed RT (min)	Ionization technique	Detail type
Manually edited										
Detection result: Instrument model: Xevo G3 QToF, Instrument serial no: YGA0161 (6 items)										
Analysis, Created by wilmtos on Jul 14, 2023										
1	25025856		394.2005	+H	1	None	395.2078	6.585	ESI+	MSe
2	82813424	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> N				CID	98.0964	6.585	ESI+	MSe
3	10241681	C <sub>7</sub> H <sub>7</sub> O				CID	107.0491	6.585	ESI+	MSe
4	5996586	C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> O				CID	135.0804	6.585	ESI+	MSe
5	1656833	C <sub>18</sub> H <sub>18</sub> N <sub>2</sub> O				CID	278.1414	6.585	ESI+	MSe
6	620821	C <sub>14</sub> H <sub>17</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>				CID	273.1346	6.585	ESI+	MSe

图4. *N*-吡咯烷基依托尼秦的库条目。组合界面的下半部分现在已经填充了母离子和碎片离子的预期保留时间信息以及预期 $m/z$ 值。

## 发现工作流程

waters\_connect的一大特色是解析工具包，它可以充分利用发现参数；元素组成、谱库搜索和碎片匹配功能被整合到一个步骤中，助力用户轻松完成样品中未知物质的鉴定。实验所用的发现参数如图5A~D所示。

图5A显示了要为每种组分返回的元素组成的最大数量，以及要为每种元素组成返回的谱库匹配结果的数量。对于每种选定的组分，实测 $m/z$ 值会被提交给元素组成应用程序，图5B展示了所用的参数。随后，元素组成应用程序返回的每一个科学分子式会自动提交到选定谱库列表中。这些谱库可以来自waters\_connect数据库，也可以来自ChemSpider（如果连接了互联网）。ChemSpider谱库的选择如图5C所示。

谱库搜索返回的每个科学分子式都将自动提交至碎片离子匹配应用程序（前提是该谱库匹配结果具有MOL文件形

式的关联结构)。碎片离子匹配应用程序将应用图5D中所选的参数，对每个结构执行系统性断键，然后将理论子结构的 $m/z$ 值与实测的高能量碎片离子进行匹配。程序会确定匹配的碎片离子数量以及这些离子在高能量质谱图中所占的强度百分比。

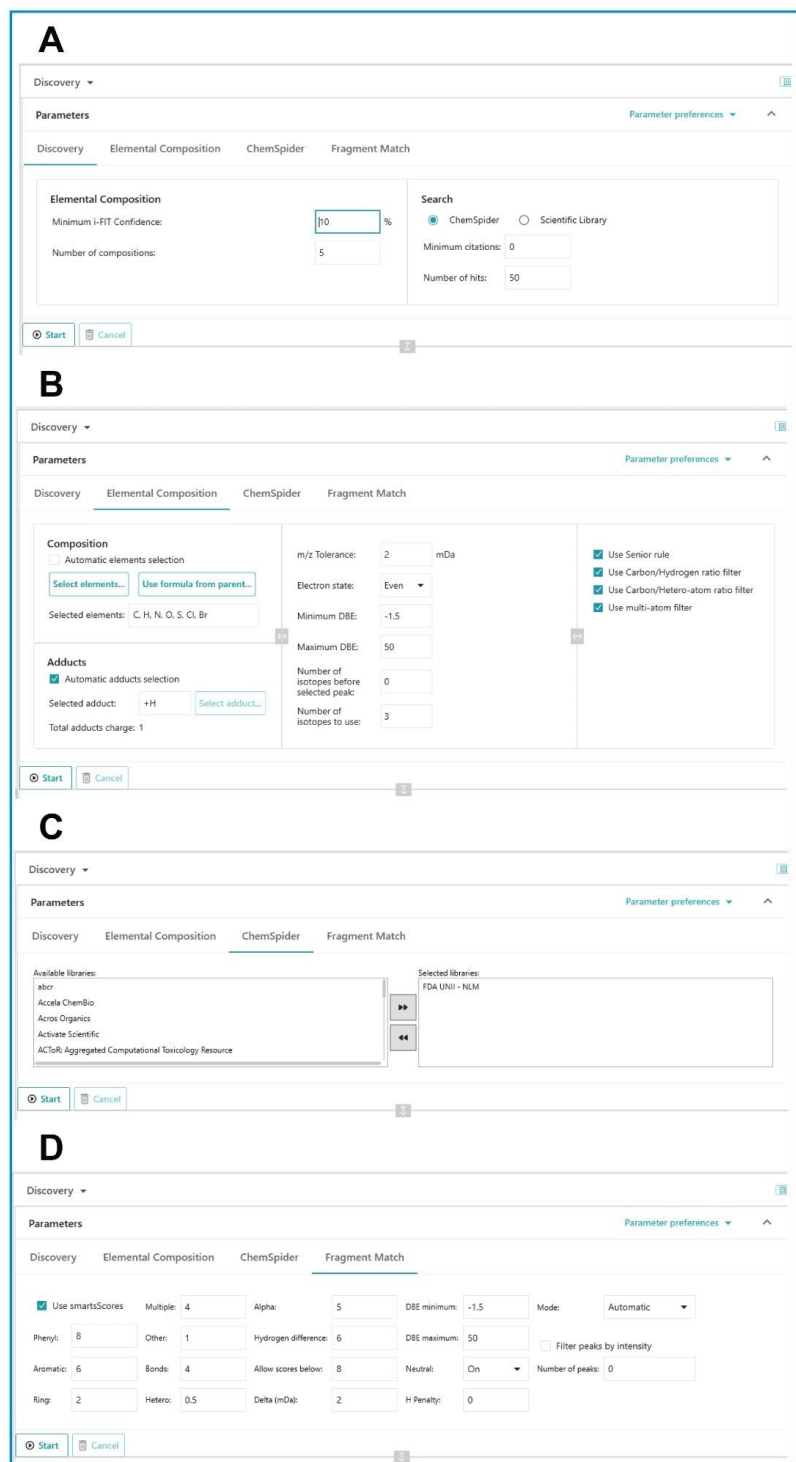


图5. waters\_connect中的解析工具包。A)通用发现参数。B)元素组成参数。C) ChemSpider参数。D)



碎片离子匹配参数。

为便于说明，我们提交了靶向分析中鉴定为依替氮卓的候选组分进行结构表征。图6展示了使用图5A~D中所示的参数运行应用程序得到的结果。

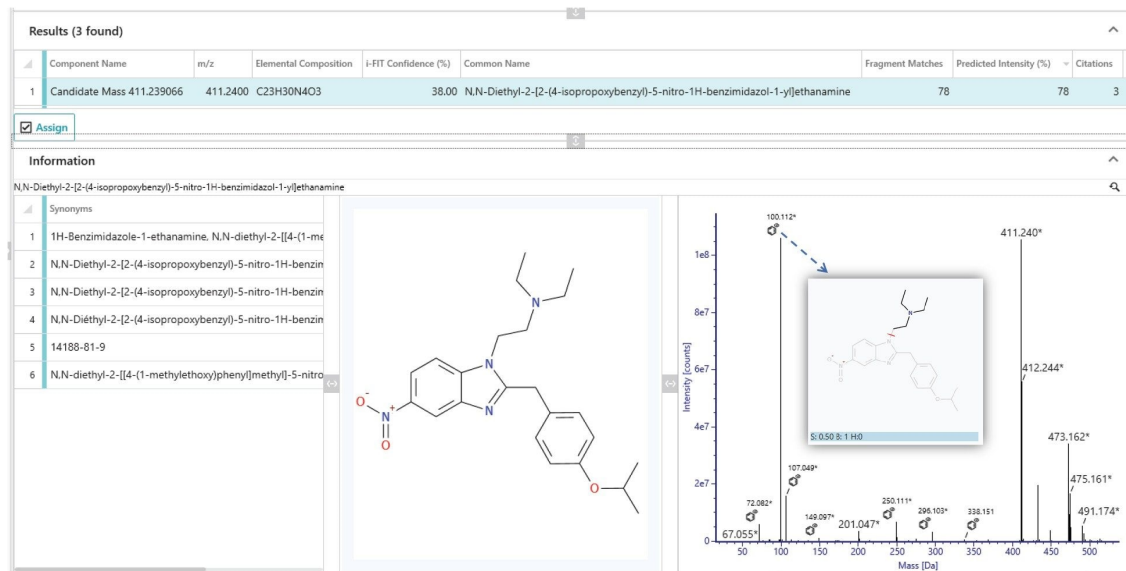


图6.使用waters\_connect信息学软件包中的解析工具包生成的典型结果

提交进行结构表征的组分的候选质量数为 $m/z$  411.239066。结果中给出了一种i-FIT™置信度高于设定阈值的元素组成(C<sub>23</sub>H<sub>30</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>)。该元素组成被自动提交至ChemSpider中的FDA UNII-NLM谱库，然后返回了依替氮卓 (N,N-二乙基-2-[2-(4-异丙氧基苯基)-5-硝基-1H-苯并咪唑-1-基]乙胺) 匹配结果以及同义词列表、结构和引用次数。系统自动将该结构与碎片离子匹配结果相结合，为候选质量数 $m/z$  411.239066关联的高能量质谱图指配了适当的子结构，如图6所示。谱库匹配结果中显示了子结构匹配的高能量碎片离子数量，以及这些匹配的碎片离子在高能量质谱图中所占的强度百分比。

获取一系列有关组分、元素组成和谐库匹配结果的信息，有助于分析人员在鉴定样品中的非预期物质时做出明智的决定。

---

## 结论

本研究结合法医毒理学HRMS筛查解决方案与waters\_connect采集了一系列苯并咪唑阿片类药物的数据，然后使用采集到的数据证明了创建和更新自定义科学数据库的简便性。我们使用waters\_connect信息学平台的半靶向工作流程处理MS<sup>F</sup>数据，并利用碎片离子匹配功能成功为高能量离子指配了子结构。此外，本研究还证明解析工具包有助于改进发现工作流程。

---

## 参考资料

1. M. Wood. The Utility of MS<sup>F</sup> for Toxicological Screening; Waters Application Brief. [720005198](#). 2022年3月.
2. HRMS Forensic Toxicology Screening solution media available at [Forensic Toxicology Application Solution Media by Waters | Marketplace <https://marketplace.waters.com/apps/159226/forensic-toxicology-application-solution-media#!overview>](https://marketplace.waters.com/apps/159226/forensic-toxicology-application-solution-media#!overview) .

---

## 特色产品

[ACQUITY UPLC I-Class PLUS系统 <https://www.waters.com/134613317>](https://www.waters.com/134613317)

[Xevo G3 QToF质谱仪 </nextgen/cn/zh/products/mass-spectrometry/mass-spectrometry-systems/xevo-g3-qtof.html>](https://nextgen.cn/zh/products/mass-spectrometry/mass-spectrometry-systems/xevo-g3-qtof.html)

[UNIFI筛查平台解决方案 <https://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=134682903>](https://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=134682903)

[waters\\_connect <https://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=135040165>](https://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=135040165)

720008036ZH, 2023年9月



© 2024 Waters Corporation. All Rights Reserved.

[使用条款](#) [隐私策略](#) [商标](#) [招聘](#) [法律和隐私声明](#) [危险化学品生产经营许可证](#) [Cookie](#) [Cookie](#)  
[设置](#)

沪ICP备06003546号-2 京公网安备 31011502007476号