

使用waters_connect™和Xevo™ G3 QTof质谱仪进行MS^E法毒理学筛查

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

Waters Corporation

这是一份应用简报，不包含详细的实验部分。

仅适用于法医毒理学应用。

摘要

本应用简报探究了MS^E这种创新的数据采集模式在人类样本毒物筛查中的应用。

简介

实验室常常需要对复杂的生物样品实施各种筛查技术，以鉴定滥用药物和其他毒物。近年来，得益于准确质量数数据的高度专属性，高分辨率质谱(HRMS)在此领域的应用越来越受关注。

虽然理论或精确质量数数据库无需参比物质即可自动生成（即根据分子式计算），但这类数据库的信息量有限，用于分析真实样品时可能导致产生假阳性结果。因此，在可能的情况下，应使用相关保留时间(RT)和确认碎片离子等其他信息来提高药物鉴定的可信度，改善数据审查和报告的便捷性。

MS^E是沃特世专有的一种创新数据采集模式，能够在单次分析中无缝切换母离子和碎片离子采集，全面收集信息¹⁻³。该功能通过在两个功能通道之间快速切换来实现，即第一个功能通道在低碰撞能量下采集数据，提供母离子的

准确质量数，第二个通道在高碰撞能量下采集数据，提供碎片离子的准确质量数。除提高鉴定可信度外，碎裂还有助于区分同分异构化合物。

本应用简报列出了一些毒理学化合物的MS^E数据示例，并总结了这种采集模式与传统数据依赖型技术相比的一些主要优势。文中介绍了Waters™法医毒理学HRMS筛查解决方案和数据库在数据处理方面的灵活性，并对其内容做了总结。

实验

LC-MS系统配置

ACQUITY™ UPLC™-I-Class (FTN)/Xevo™ G3 QTof质谱仪联用系统。

LC-MS条件

色谱柱：	ACQUITY UPLC HSS™ C ₁₈ 1.8 μm, 2.1 x 150 mm (P/N: 186003534)
运行时间：	15 min
电离模式：	ESI+
采集范围：	<i>m/z</i> 50~1000
MS ^E 条件：	碰撞能量功能通道1：6 eV 碰撞能量功能通道2：梯度，10~40 eV

软件和库

waters_connect™信息学软件包与沃特世法医毒理学HRMS科学数据库结合使用。

结果与讨论

毒理学相关化合物的认证参比物质(CRM)购自Merck（英国多塞特），并在UPLC-QToF的MS^E模式下进行分析。图1所示为分析代表性物质丁咯地尔得到的MS^E数据。图中展示了如何通过精确测量母离子质量数（精确到小数点后四位，母离子质量数显示在低能量质谱图中）来获得可靠的鉴定结果。使用MS^E时，通过额外采集碰撞能量增加时产生的特定碎片离子的质量数（高能量质谱图），来实现更可靠的鉴定。此外，保留时间(RT)也可以包含在鉴定标准中。



图1.使用MS^E获得的数据集是完整的；即使是邻近洗脱或共流出分析物，也一定能采集到母离子（显示在低能量质谱图中）和碎片离子（高能量质谱图）的完整准确质量数数据。

MS^E是一种数据非依赖型技术，这意味着整个分析过程会在低能量和高能量条件下连续采集完整的准确质量数数据。与之相反的是数据依赖型（或信息依赖型）技术，通常情况下，仪器一开始会在低能量下收集完整的准确质量

数数据，以提供完整分子的质量数信息，在接收到触发信号后，仪器才会切换为串联质谱(MS/MS)模式采集数据。触发信号可以是任何超过最低响应阈值的母离子，也可以将仪器设定为检测到特定目标母离子时触发模式切换。数据依赖型方法的缺点在于，仪器在采集MS/MS数据时无法采集全扫描MS数据，因此数据并不完整。在法医毒理学研究中，完整且不受限制的数据集优势很明显，因为它们有助于进行数据的回顾性检查，而不必担心像使用靶向采集技术（如传统MS/MS之类的数据依赖型分析）时那样遗漏可能相关的数据。换句话说，用户可以重新处理现有数据，无需重新分析或重新采集样品的其他数据。

然而，拥有完整数据的关键优势在于，我们能够使用三种互补工作流程来处理数据，如图2所示。



靶向分析:

与毒理学数据库（保留时间和特征碎片离子）中的2000多种已表征的药物和代谢物进行比较



半靶向分析

Mol文件是一种描述分子结构（包括原子和化学键）的文件。在waters_connect中，可以使用该文件通过以下方式筛查物质：

- 1) 提供物质的预期m/z，以便自动在低能量MS数据中搜索化合物的证据
- 2) 对分子结构进行计算机模拟碎裂，得到理论碎片离子，然后在高能量MS数据中自动搜索这些碎片离子。如果MS数据中出现了任何相应的离子，则可以作为鉴定依据。



非靶向分析:

将“未知峰”提交到“发现”工具集后，系统会自动给出元素化学式，在外部在线谱库中搜索可能的物质，随后启动计算机模拟碎裂程序，比较推测候选物质的理论碎片离子与高能量数据中的碎片离子。

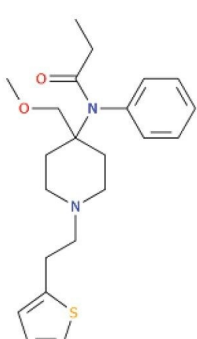
图2. MS^E数据的完整性让这些互补工作流程得以实现

靶向分析

靶向分析是最简单直接的方法，只需将采集到的数据与参比数据库比对即可。waters_connect法医毒理学HRMS筛查解决方案包含一个综合数据库，其中，每个数据库条目都有一个参比RT、母离子精确质量数，以及经验证的特征精确质量数碎片离子。图3展示了沃特世法医毒理学HRMS数据库的代表性条目。

Sufentanil [Waters Toxicology Library [POS waters-connect_UNIFL_v1]]

Property	Value
Item type	Compound
Item description	
IUPAC name	N-[4-(methoxymethyl)-1-[2-(thiophen-2-yl)ethyl]piperidin-4-yl]-N-phenylpropanamide
Formula	C ₂₂ H ₃₀ N ₂ O ₂ S
Hill formula	C ₂₂ H ₃₀ N ₂ O ₂ S
Average molar mass	386.5508
Monoisotopic mass	386.2028
Item tag	Analgesic, Narcotic, Opioid - synthetic
InChI	15/C ₂₂ H ₃₀ N ₂ O ₂ S/c1-3-21(25)24(19-8,5-4,6-9-19)22(18-26-2)12-15-23(16-13-22)14-11-20-10-7-17-27-20/h4-10,17H,3,11-16,18H2,1-2H3



Mol文件

Detection results

Priority	Intensity	Formula	Neutral Mass (Da)	Adduct	Charge	Fragmentation type	Expected m/z	Observed RT (min)	Expected RT (min)	Ionization technique	Detail type
Detection result: Instrument model: Unknown, Instrument serial no.: Manually created, Created by ukngakm on May 15, 2023 (4 items)											
1			386.2028	+H	1	None	387.2101	7.780	7.780	ESI+	MSe
2						CID	238.1261	7.780	7.780	ESI+	MSe
3						CID	111.0263	7.780	7.780	ESI+	MSe
4						CID	355.1839	7.780	7.780	ESI+	MSe

图3.waters_connect法医毒理学数据库中代表性化合物的库条目示例

图4所示为以这种方式处理典型样品的结果浏览器视图，展示了谱库匹配过程中可用的丰富信息，这些信息可以让用户快速得到明确且可靠的鉴定结果。



图4.靶向分析后样品中MDMA的检测结果。有大量信息可供查看（如有需要）。图中上方表格(4A)详细列出了采集数据与毒理学数据库中的参考信息的比较结果。窗格4B显示了目标母离子和3种特征碎片离子的提取离子流色谱图，证明所有离子都在6.36 min处时间对齐。低能量和高能量质谱图如窗格4C（上方）所示。碎片离子的详细信息列于下方表格中。

半靶向分析

高分辨率/准确质量数仪器的一大优势在于，即使没有完全表征的库条目，用户仍然能够根据精确质量数来筛查药物。这对法医毒理学实验室尤其有利，因为用户无需使用CRM即可筛查新型药物；这一点非常有价值，因为新型类似物市售参比物质的推出时间往往会延迟。半靶向处理使用Mol文件；该文件描述了目标化合物的元素化学式和整体化学键排列。自动处理过程中，系统会在低能量迹线中寻找母离子 m/z 证据（根据Mol文件确定）（图5）。虽然这些信息对于初步鉴定很有用，但waters_connect还会对Mol文件中的化合物进行计算机模拟碎裂，生成理论碎片离子，然后在高能量数据中搜索这些碎片离子。如果样品中同时存在特定药物的母离子和理论碎片离子，那么对于样品中该药物的鉴定把握会更大。

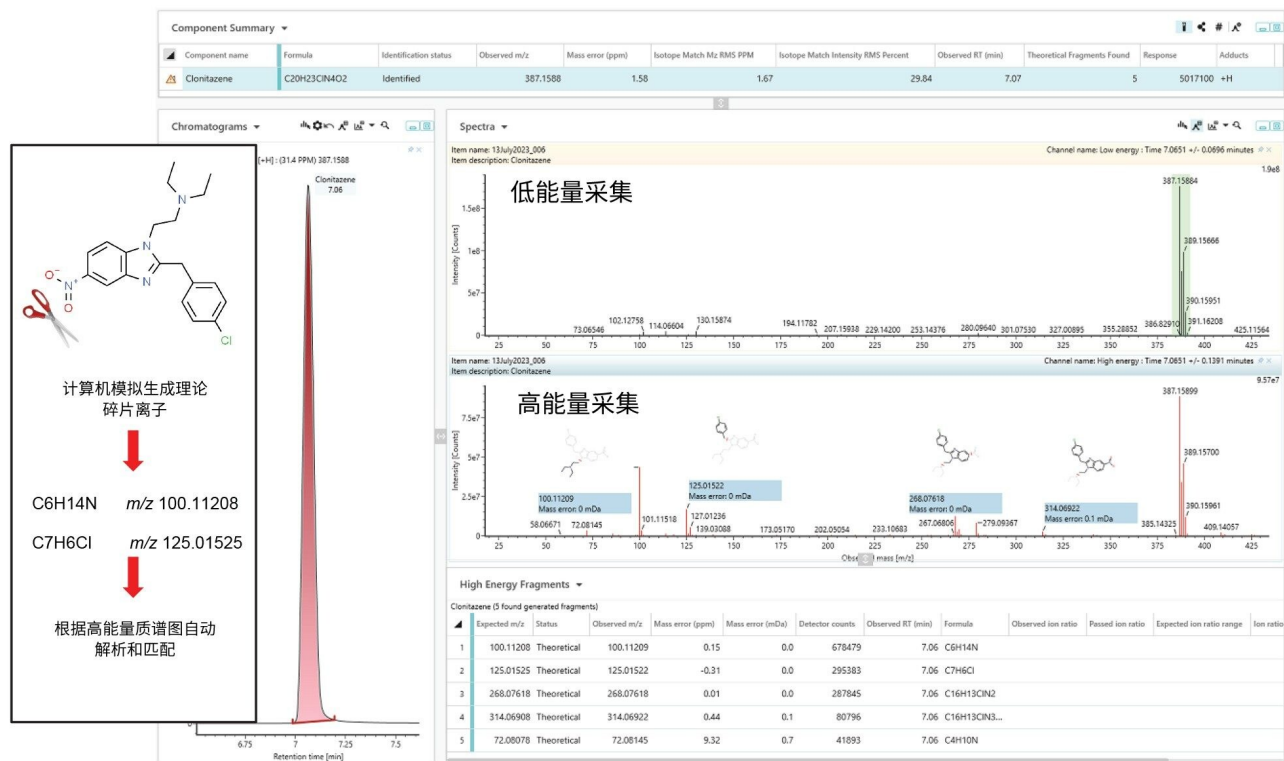


图5.使用Mol文件筛查苯并咪唑（硝氮酮）阿片类混标中的氯尼他秦得到的初步检测结果。此类合成阿片类药物的药效可达吗啡的数百倍。在此样品中，处理过程突出显示了一个质量数为 m/z 387.1588的未知峰。软件会自动对添加到数据库中的所有Mol文件进行计算机模拟碎裂，产生理论碎片，然后在高能 MS^E 数据中寻找这些碎片。初步检测到的氯尼他秦，经CRM分析之后得到了确证。

非靶向（发现）分析

发现工作流程可应用于数据中存在未知峰，且靶向或半靶向工作流程都识别不了该峰的情况。针对这种情况，waters_connect提供了一整套发现工具，可用于解析未知物结构。发现过程的第一步是确定该物质可能的元素化学式；waters_connect根据母离子的准确质量数和同位素信息（来自 MS^E 数据的低能量迹线）来确定元素化学式。第二步是指配任何可能与测定的化学式相对应的物质。waters_connect通过搜索在线化学数据库（例如Chemspider中的数据库）并同时访问与该物质相关的Mol文件来实现这一目的。在第三步（也是最后一步）中，waters_connect对所有推测的物质进行计算机模拟碎裂，并将理论碎片离子与未知物质高能质谱图中实际观察到的碎片离子进行比较。实测数据与理论预测的相似度越高，所推测的鉴定结果的可信度就越高。要进一步证实此类初步鉴定结果，需要通过CRM分析来验证保留时间和碎片离子。图6显示了使用发现工作流程初步鉴定依替氮

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) 的示例。有关发现工作流程的详细说明，请参阅我们的另一篇应用纪要⁴。

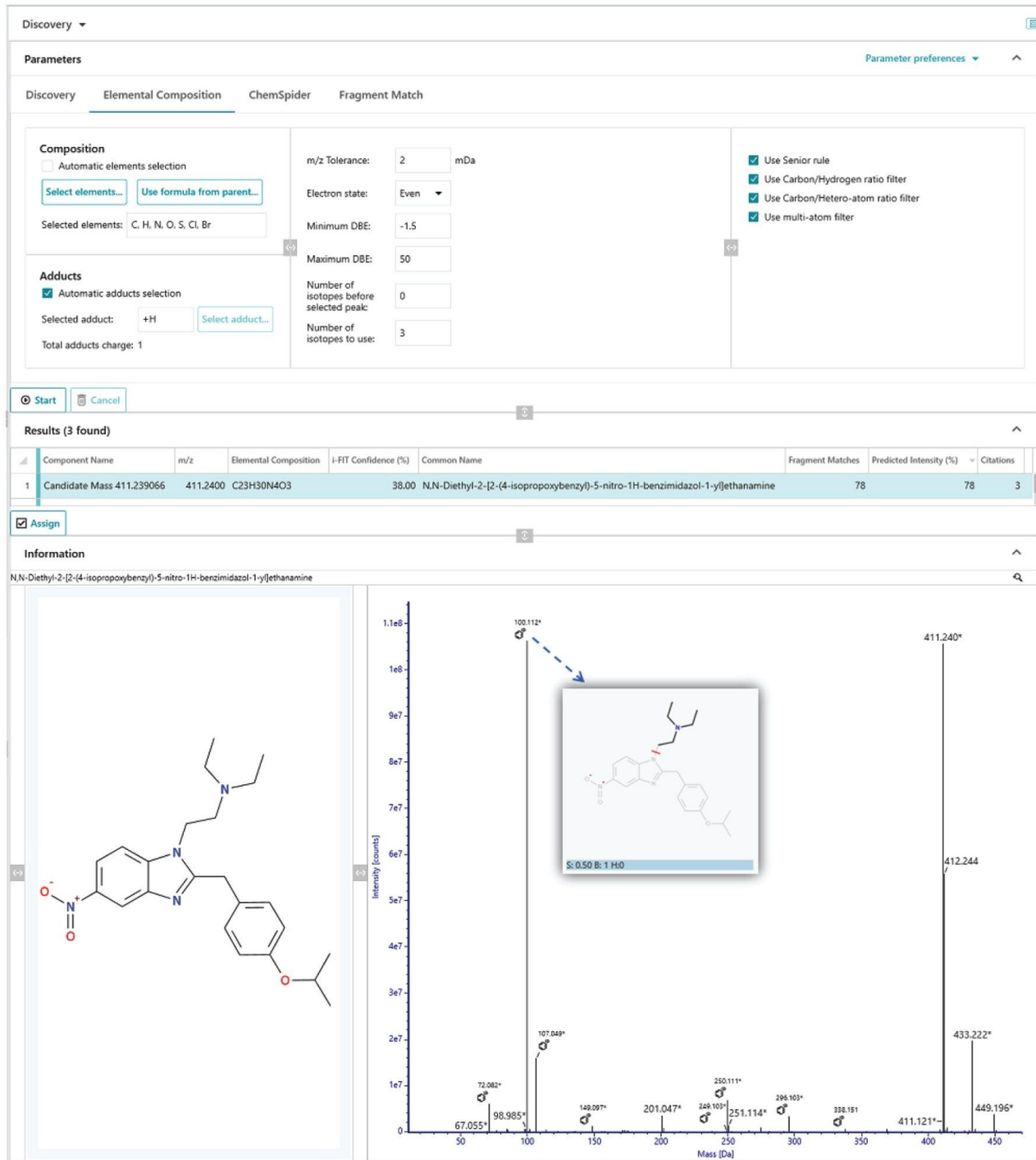


图6. 选择未知物组分峰进行解析时会触发一个自动发现序列，其中包括搜索外部科学库（如FDA UNII-NLM）以获

取可能与实测准确质量数相符的物质，并将理论碎片离子与实测碎片离子进行匹配。在本示例中，基于实测质量数 m/z 411.2400以及同位素信息得到的依替氮卓（*N,N*-二乙基-2-[2-(4-异丙氧基苯基)-5-硝基-1*H*-苯并咪唑-1-基]乙胺）推测鉴定结果通过26个匹配碎片离子的数据得到了确认。

结论

MS^E是一种功能强大的采集模式，可提供完整的准确质量数数据。这种技术基于分析物的保留时间和准确质量数指纹图谱来进行鉴定。虽然ToF仪器能指配精确到小数点后四位的质量数，并且与标准质量相比具有更高的专属性，但MS^E提供的关于特征碎片离子的额外信息却提供了更多特定的鉴定参数，可以尽可能减少假阳性结果。用户也可以将碎片离子的离子丰度比纳入鉴定标准中⁵。此外，碎片离子在区分异构体方面也很有用。这些功能的结合为用户带来了更快速、更简便的数据审查体验，并且在整体上提高了鉴定结果的可信度。

MS^E不仅可以提供完整、不受限制的准确质量数信息，还支持使用发现工作流程来帮助鉴定可能的新型精神活性物质及其类似物。

参考资料

1. Plumb R, Johnson K, Rainville P, Smith B, Wilson I, Castro-Perez J, Nicholson J. UPLC/MS^E; a new approach for generating molecular fragment information for biomarker structure elucidation. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* (2006) 20: 1984–1994.
2. Ni S, Qian D, Duan J, Guo J, Shang E, Shu Y. UPLC–QToF/MS-based screening and identification of the constituents and their metabolites in rat plasma and urine after oral administration of *Glechoma longituba* extract. *Journal Chromatogr. B* (2010) 878: 2741–2750.
3. Hernandez F, Bijlsma L, Sancho JV, Diaz R, Ibanez M. Rapid wide-scope screening of drugs of abuse; prescription drugs with potential for abuse and their metabolites in influent and effluent urban wastewater by UHPLC-QToF-MS. *Analytica Chimica Acta* (2011) 684: 96–106.

4. Nayan.S. Mistry, Lisa Calton, Jane Cooper. Accurate Mass Screening and Discovery of Benzimidazole Opioids with the Xevo G3 QToF. Waters Application Note. [720008036](#). 2023.
5. Goshawk J, Wood M. Evaluation of ion ratios as an additional level of confirmation in accurate mass toxicology screening. Waters White papers. [720005866](#) <<https://www.waters.com/waters/library.htm?cid=511436&lid=134922443&lcid=134922442>> .2016.

特色产品

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

Xevo G2-XS QToF四极杆飞行时间质谱仪 <<https://www.waters.com/134798222>>

UNIFI科学信息系统 <<https://www.waters.com/134801648>>

waters_connect <<https://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=135040165>>

720008045ZH, 2023年9月



© 2024 Waters Corporation. All Rights Reserved.

[使用条款](#) [隐私](#) [商标](#) [招聘](#) [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