

# QTRAP<sup>®</sup>质谱结合LightSight<sup>®</sup>软件快速鉴定猪粪中盐酸可乐定代谢物

## Identification of clonidine hydrochloride metabolites in pig feces using QTRAP<sup>®</sup> mass spectrometry and LightSight<sup>®</sup> software

李志远, 刘冰洁, 李立军, 郭立海  
Li Zhiyuan, Liu Bingjie, Li Lijun, Guo Lihai  
SCIEX China

**Key words:** Identification, QTRAP<sup>®</sup>, LightSight<sup>®</sup>, clonidine hydrochloride metabolites, pig feces

### 前言

一直以来, 常见的代谢物鉴定方法大多依赖于高分辨质谱的数据分析形式。然而低分辨质谱的灵敏度高, 对于低浓度的代谢产物采集有着巨大的优势, 但是低分辨质谱的二级数据的质量一直是其鉴定代谢产物的障碍, 能否在低分辨质谱上开展代谢产物鉴定的工作一直是客户关心的重点。

QTRAP<sup>®</sup>质谱技术是一款将三重四极杆质量分析器和线性离子阱质量分析器进行复合的一款质谱。其既具有三重四极杆质谱功能, 又具有离子阱质谱的离子富集功能。因此允许得到其它质谱无法获得的、极低含量目标化合物的高质量二级碎片全谱。结合专业自动的代谢产物分析软件LightSight<sup>®</sup>, 为代谢物鉴定提供最好的解决方案。

### 技术特点:

1. 高灵敏度, MRM (即, 多反应检测扫描) 是目前质谱中灵敏度最高的采集形式, QTRAP<sup>®</sup>独有的扫描模式MRM-IDA-EPI, 主要还是以灵敏度较高的MRM采集模式为预扫描, 进而触发EPI扫描。
2. 高质量的二级数据, EPI (即, 增强子离子扫描) 采集模式, 应用线性离子阱可对子离子进行富集的特点, 获得比高分辨质

谱和三重四极杆质谱灵敏度提高两个数量级以上的二级碎片全谱。从而可更好的用于代谢产物结构解析

3. LightSight<sup>®</sup>软件内置并涵盖了上百种可能的代谢途径 (如图2所示), 包括I相代谢、II相代谢、GSH代谢等, 也可根据需要自行选择或自定义新的途径, 结合QTRAP<sup>®</sup>质谱, 可模拟出更有针对性的pMRM-IDA-EPI (即, 预测型的目标代谢产物鉴定) 扫描模式。pMRM是预测的MRM方式, 即LightSight<sup>®</sup>软件基于母药的裂解规律、以及预测代谢物, 自动设计预测和给出MRM离子对。
4. 数据处理时, LightSight<sup>®</sup>可以对预测的代谢产物进行自动分析, 发现并鉴定生成的代谢产物。

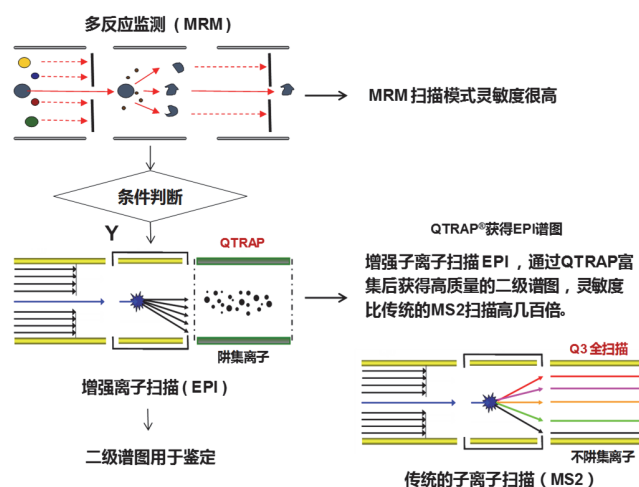


图1. MRM-IDA-EPI扫描模式。

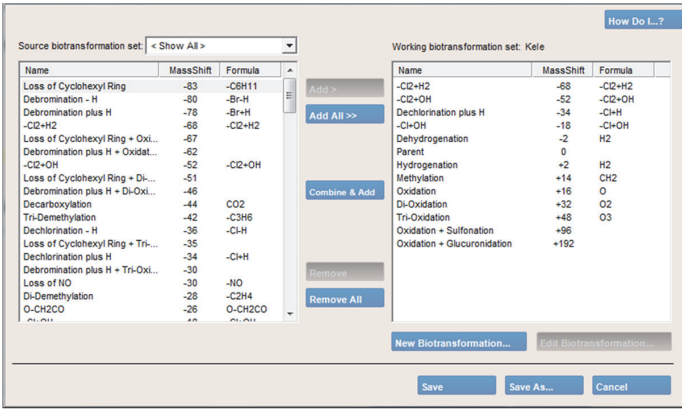


图2. MRM-IDA-EPI扫描模式。

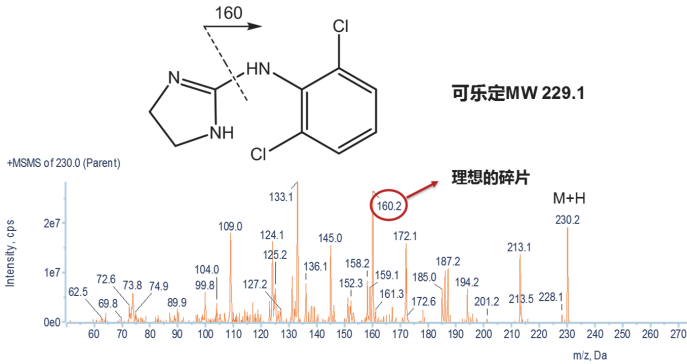


图3. 可乐定理想碎片的选择。

数据的采集

首先选择可乐定的典型碎片，作为pMRM预测的理想碎片（如图3），然后通过LightSight®软件预测其可能的代谢途径，可乐定可能发生代谢反应有：Oxidation、Mthylation、Di-Oxidation、Oxidation + Glucuronidation、Oxidation + Sulfonation等I相和II相代谢，最后通过LightSight®软件自动建立pMRM-IDA-EPI方法，如图4。

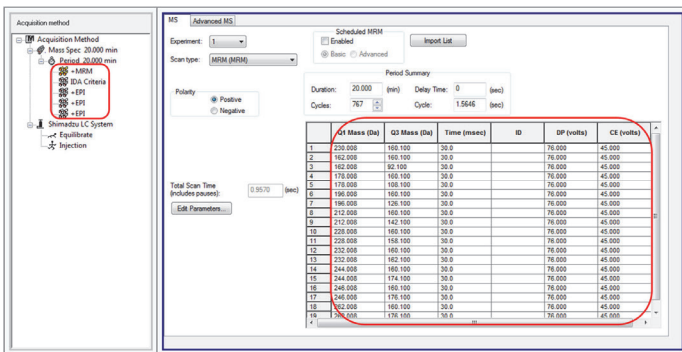


图4. 自动建立MRM-IDA-EPI扫描方法。

数据分析

LightSight®软件内置的涵盖了上百种可能的代谢途径（如图2所示），包括I相代谢、II相代谢、GSH代谢等，或者根据需要自行选择或自定义新的途径，软件对预测的代谢产物进行自动化数据分析（如图5所示）。

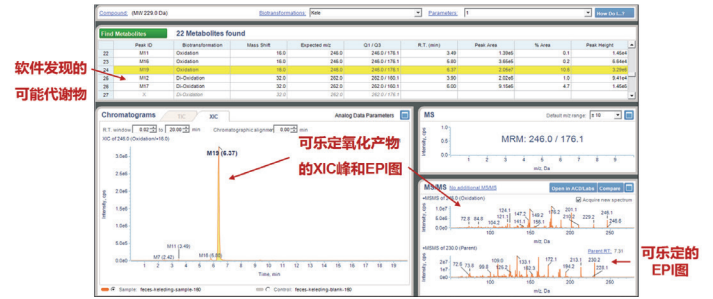


图5. LightSight®自动化数据处理结果展示。

化合物的鉴定举例：

举例1：可乐定氧化产物M19（m/z = 246/176.1，RT = 6.37 min），如图6所示。

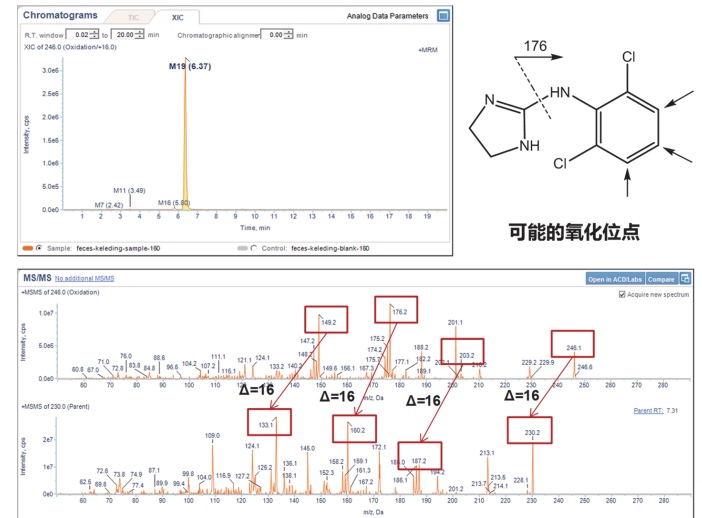


图6. 可乐定氧化产物M19。

举例2：可乐定双氧化产物M17（m/z=262/160.1，RT=6.00 min），如图7所示。

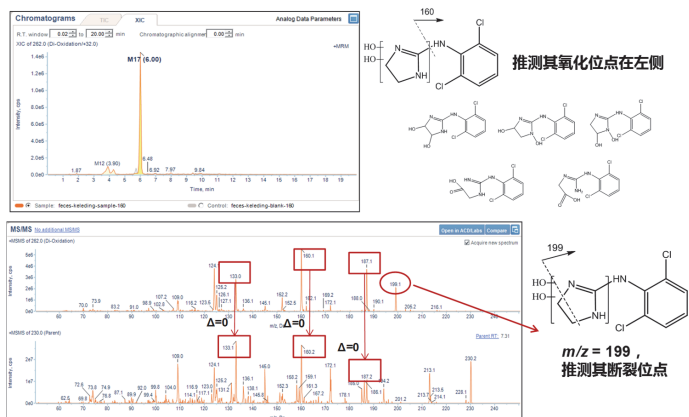


图7. 可乐定双氧化产物M17。

举例3：可乐定氧化后葡萄糖醛酸结合物M9 ( m/z = 422/422, RT = 2.52 min )，如图8所示。

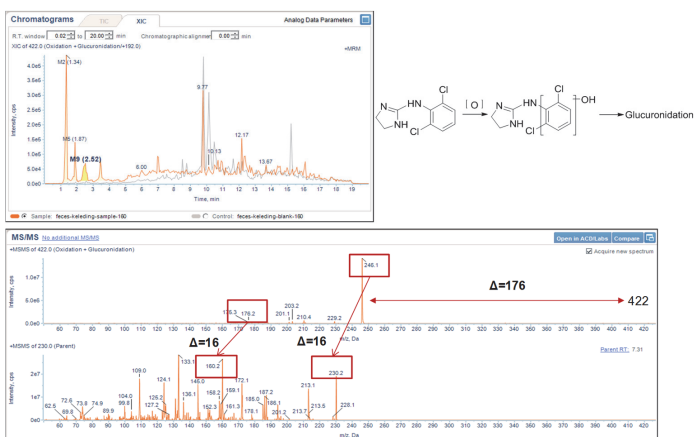


图8. 可乐定氧化后葡萄糖醛酸结合物M9。

## 鉴定结果

本实验共快速鉴定了12个猪粪中盐酸可乐定的代谢产物（如图9所示），主要代谢类型有氧化代谢、双氧化代谢、氧化后葡萄

糖醛酸化代谢等途径。整个鉴定过程快速高效，结合LightSight®软件，可以实现从数据的采集到数据的处理全过程。

实验表明，QTRAP®质谱技术结合LightSight®软件，在实现代谢物鉴定的工作中，灵敏度高，鉴定结果准确可靠。

图9. 盐酸可乐定的代谢产物列表。

Peak ID	Biotransformation	Mass Shift	Expected Q1 / Q3 m/z	R.T. (min)	Peak Area	% Area	Peak Height
	Parent	0.0	230.0 / 160.1	7.31	9.40e7	49.8	7.95e6
M1	Oxidation + Glucuronidation	192.0	422.0 / 422.0	2.52	8.06e5	0.4	5.92e4
M2	Oxidation + Glucuronidation	192.0	422.0 / 422.0	3.44	5.65e5	0.3	6.85e4
M3	Oxidation	16.0	246.0 / 176.1	3.49	1.39e5	0.1	1.45e4
M4	Di-Oxidation	32.0	262.0 / 160.1	3.90	1.38e6	0.7	9.41e4
M5	Di-Oxidation	32.0	262.0 / 160.1	4.26	6.38e5	0.3	5.78e4
M6	Oxidation	16.0	246.0 / 176.1	5.80	3.65e5	0.2	6.64e4
M7	Di-Oxidation	32.0	262.0 / 160.1	6.00	9.15e6	4.9	1.45e6
M8	Methylation	14.0	244.0 / 160.1	6.33	2.32e6	1.2	2.81e5
M9	Oxidation	16.0	246.0 / 176.1	6.37	2.05e7	10.9	3.29e6
M10	Tri-Oxidation	48.0	278.0 / 192.1	6.92	2.37e5	0.1	4.28e4
M11	Hydrogenation	2.0	232.0 / 160.1	7.31	8.64e6	4.6	7.28e5
M12	Hydrogenation	2.0	232.0 / 162.1	7.31	4.99e7	26.5	4.29e6

## 总结

1. LightSight®软件配合QTRAP®质谱的使用，不仅提供很高的检测灵敏度，还可快速自动化的完成代谢物鉴定的工作。软件涵盖数百种生物转化类型，可自动创建预设方法（pMRM-IDA-EPI），并将其直接导入QTRAP®质谱系统进行检测，简单易行。
2. LightSight®软件可根据母体药物结构准确创建数据采集方法，并高效分析和挖掘结果数据。
3. LightSight®软件简单明了的数据处理，使鉴定代谢物的工作更有效。
4. 该方法可将高灵敏度的三重四极杆扫描模式（比如，MRM扫描，中性丢失或母离子扫描等）与经过富集的高度灵敏的二级全扫描EPI（MS/MS）数据结合起来进行结构鉴定。