

应用纪要

使用ACQUITY QDa质谱检测器进行系统性毒理学分析(STA) - 第1部分：质谱检测技术在法医毒物筛查中的应用简介

Robert Lee, Nayan S. Mistry, Michelle Wood

Waters Corporation



仅适用于法医毒理学应用。

这是一份应用简报，不包含详细的实验部分。

摘要

本应用简报评估了Waters STA方法在ACQUITY QDa质谱检测器上的应用，助力筛查各种生物基质中的毒理学相关化合物。

优势

在使用ACQUITY QDa质谱检测器进行STA分析的两部分系列文章中，我们将在第一部分回顾传统筛查方法的优缺点，并介绍一种检测生物基质中毒理学相关分析物的简化筛查技术。

简介

常规未知物筛查或系统性毒理学分析(STA)是法医毒理学实验室工作流程中不可或缺的组成部分。这种初步筛查技术的主要目的是鉴定推定的阳性样品，即含有相关药物物质的样品，同时排除那些在随后的分析解读中评定为阴性的样本。通常情况下，尿液和血浆/血清是首选样本。

传统技术包括免疫分析(IA)、气相色谱-质谱分析法/质谱联用(GC-MS)以及液相色谱(LC)联合紫外(UV)或光电二极管阵列(PDA)检测器。这些技术虽然已广泛使用，但都有一些明显的局限性，如表1所示。

技术		优势	劣势
免疫分析		无需色谱分离, 快速简单	<p>非全面筛查; 每个样本需进行多次免疫分析 - 成本可能较高</p> <p>仅针对特定类别的检测 (例如, 报告“苯二氮卓阳性”, 但未指明具体是哪种苯二氮卓类药物)</p> <p>不适用于所有药物/药物类别 (如NPS)</p> <p>NPS与常见免疫分析方法的交叉反应性尚不清楚或变化不定</p> <p>某些免疫分析方法容易出现假阳性或假阴性结果</p>
气相色谱	质谱	<p>色谱分离 - 适用于生物样品分析, 并提供参比保留时间(RT), 可在鉴定过程中使用</p> <p>基于电子碰撞(EI)电离技术的优势在于质谱库的可用性和重现性。基于母离子和碎片离子的质荷比(m/z)进行鉴定</p> <p>可进行回顾性数据解析</p>	<p>全面筛查需要采用通用色谱条件 - 可能并非适用于所有分析物的理想条件</p> <p>为达到适当的灵敏度, 通常需要进行化学衍生化。可能需要对每个样本采用不同的衍生化方案</p> <p>苯二氮卓类等不耐热分析物不适合GC中应用的高温</p> <p>分析极性药物、代谢物和非挥发性物质时灵敏度较差</p> <p>降解产物和剩余衍生化合物可能会导致质谱数据的解析复杂化</p>
液相色谱	质谱	<p>直接分析 - 无需化学衍生化</p> <p>LC适用于最广泛的分析物</p> <p>色谱分离 - 适用于复杂生物样品, 并提供参比RT用于鉴定</p> <p>提供的质谱库是一大优势, 具有较高的特异性</p> <p>电喷雾电离是一种“软”电离技术, 可提供丰富的结构信息 - 根据匹配的母离子和碎片离子的m/z进行鉴定</p>	<p>全面筛查需要采用通用色谱条件 - 可能无法提供适合所有分析物的理想条件</p>
液相色谱	UV/PDA检测器	<p>直接分析 - 无需化学衍生化</p> <p>LC适用于最广泛的分析物</p> <p>色谱分离 - 适用于复杂生物样品, 并提供参比RT用于鉴定</p> <p>提供的UV或PDA谱库是一大优势</p>	<p>只能使用单一谱图进行鉴定 - 灵敏度和特异性较差, 尤其是在分析复杂的混合物和基质时</p>

表1.各种筛查技术的优缺点比较。

简而言之，免疫分析通常会生成针对特定类别的筛查结果，因此需要使用多种试剂盒才能提供主要药物类别的信息。此外，并非所有药物和药物类别都有适用的分析，因此这种方法的筛查范围非常有限。假阳性和假阴性鉴定也是免疫分析法的一个重大缺点，有据可查¹。

多年来，气相色谱-质谱分析被视为全面筛查的“金标准”，也是许多毒理学实验室的主流方法。基于电子撞击(EI)、包含异生物质数据的大型商业数据库对用户无疑是有益的，EI被认为是一种硬电离技术，一些分析物可能会由于碎片例子过多而难以检出。为提高灵敏度，通常使用化学衍生化，该方法既耗时又可能带来其他问题。基于上述原因，过去二十年来，液相色谱技术已逐渐取代GC。

与GC相比，LC可直接分析药物，无需对分子进行化学修饰，适用范围更广。LC-MS联用技术提供了一种更简单、灵敏度更高的方法。与PDA或UV检测相比，质谱检测还具有更高的选择性，可进行分析物特异性检测，而非免疫分析法中针对特定类别的方法。LC-MS将多种优势集于一身，成为法医毒理学领域中理想的筛查工具。

自2007沃特世年首次推出LC-MS联用的STA检测方法²以来，这种方法随着沃特世技术的进步不断发展，用户现在可以在包含1200种化合物的谱库中进行搜索³⁻⁵。

沃特世于2013年推出了ACQUITY QDa质谱检测器。该仪器已被证实适用于药物和非法药物的鉴定⁶。

在本技术简报中，我们将相同的方法应用于生物样品中，进行全面的毒理学筛查。

结果与讨论

筛查方法

采用电喷雾电离(ESI)技术的LC-MS非常适用于分析极性、非挥发性和热不稳定性化合物，可为多种毒理学相关化合物提供强大的快速鉴定手段，无需像GC-MS一样进行样品衍生化。电喷雾电离是一种软电离技术，主要在正离子模式下生成质子化分子，在负离子模式下产生去质子化分子。为了获得更具体的结构信息，可以在QDa的离子源区域对这些分子离子进行诱导碎裂，这一效果可以通过提高施加到采样锥孔上的电压来实现。然后，分子离子与离子源区域的中性分子碰撞，碎裂为特征离子。这一过程称为源内碰撞诱导解离(CID)。利用源内CID，我们可以根据离子源中施加的锥孔电压值生成具有不同碎裂模式的质谱图（见图1）。通过这一过程，我们可以使用可重现的LC-MS质谱图建立质谱库。

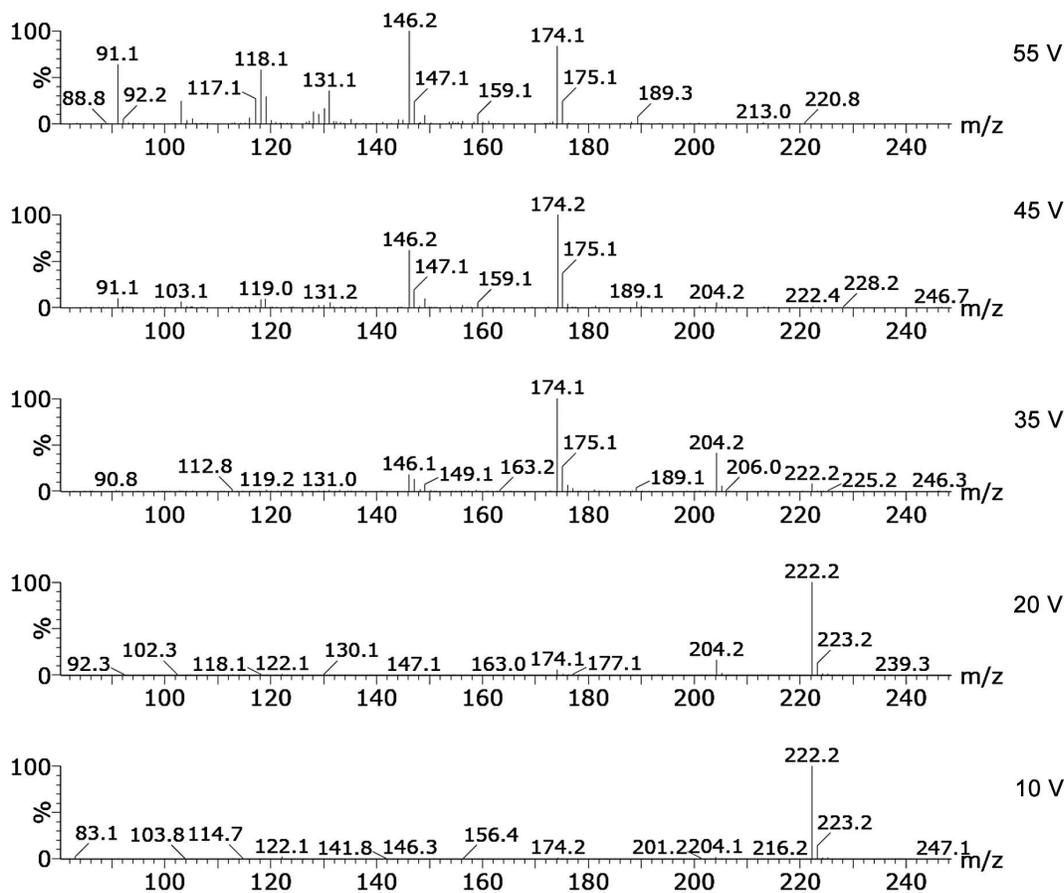


图1.向锥孔施加不同电压时,新型精神活性物质(NPS)乙基酮 (bk-MDEA, 浓度200 ng/mL) 的源内CID碎片离子模式谱图。

Waters ACQUITY QDa质谱检测器无需专业培训或具备专业知识即可进行设置,本研究使用的所有采集和处理方法均可从Waters Marketplace免费获得。它是唯一一款可与您的现有仪器组合集成,甚至只需放置在仪器组合顶端的质谱检测器。与传统质谱仪相比,它占用的工作台空间和能量更少。它仅需最少的清洗和常规维护,从而尽可能地延长正常运行时间,并且可以与其他沃特世软件平台和检测技术(例如UV或PDA)集成。

ChromaLynx是MassLynx中的一款应用管理软件,可对质谱数据进行去卷积处理,并自动处理数据并将其与预配置数据库(包含1200种化合物)比较,通过谱库匹配进行鉴定。组分鉴定结果的可信度以平均匹配因子表示,最大值为1000。在提供的谱库中,所有化合物都必须在保留时间的0.35 min内洗脱。客户可以使用参比材料或真实材料数据创建自己的数据库。此外,还可以使用更新的谱库重新处理先前采集的数据,无需制备新鲜样品。

结果

本研究将100种毒理学相关分析物加标至对照人尿液和人血浆中（浓度200 ng/mL），使用简单的Oasis PRiME HLB μ Elution方法进行前处理，并在Waters ACQUITY QDa质谱检测器上使用毒理学STA筛查方法进行分析⁷。

在本研究中，平均匹配因子>700即视为阳性结果；图2展示了使用ChromaLynx分析加标至人尿液中的化合物混合物（浓度200 ng/mL）所获得的结果示例。

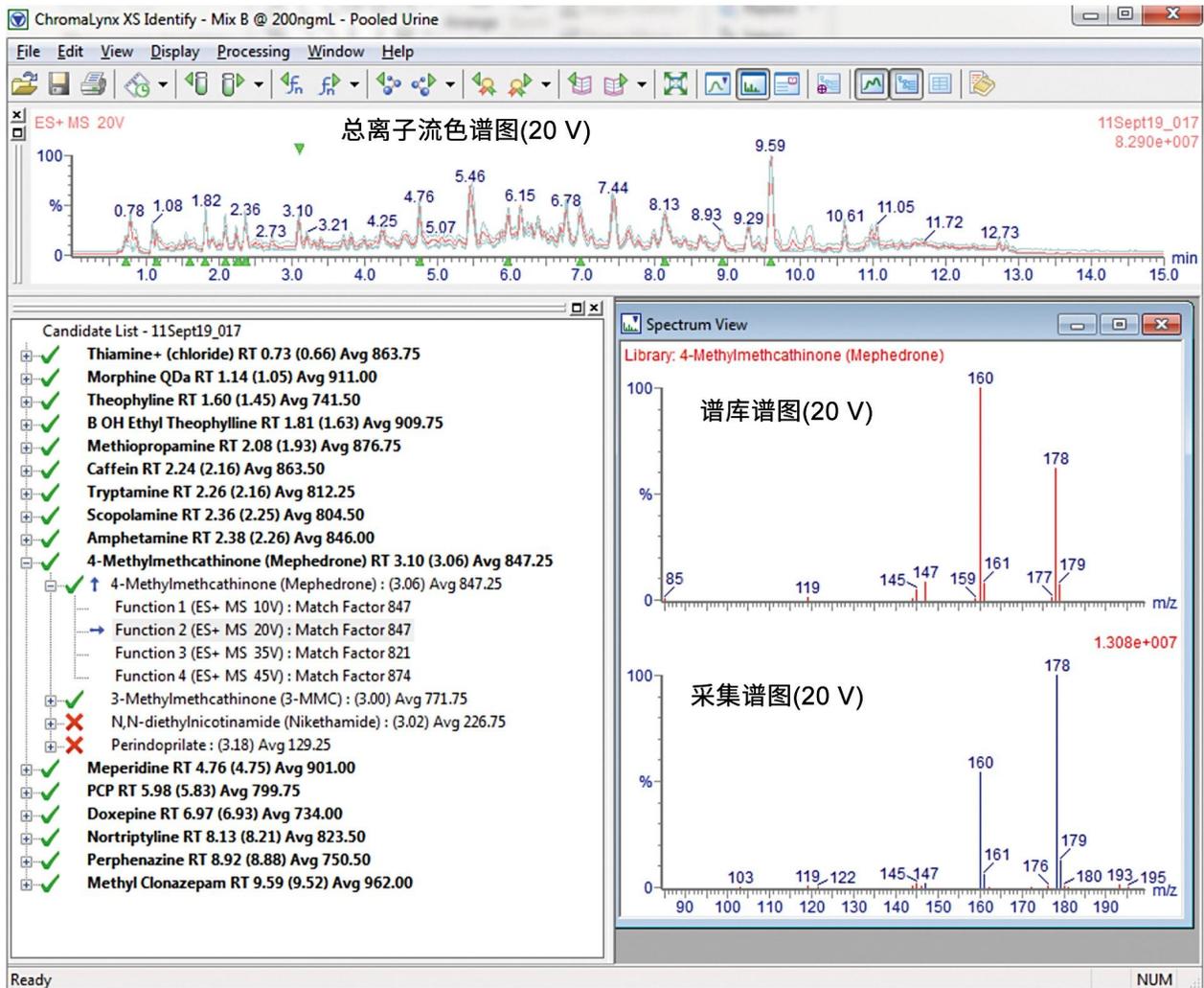


图2. ChromaLynx结果浏览器显示了加标至人尿液中的化合物混合物（浓度200 ng/mL）的分析结果，并特别显示了4-甲基甲卡西酮（甲氧麻黄酮）的鉴定结果。

结论

本技术简报展示了一种液相色谱与ACQUITY QDa质谱检测结合的方法，能够快速、简单有效地筛查各种生物基质中的毒理学相关化合物。与其他成熟的筛查技术（例如免疫分析法、GC-MS和LC-UV）相比，该技术在成本效益、分析速度和特异性方面均有显著的优势。该系统还可用于提供定量数据，如Mistry等人所述⁸。

参考资料

1. Saitman A, Park H. and Fitzgerald RL.False-Positive Interference of Common Urine Drug Screen Immunoassays: A Review.2014, *Journal of Analytical Toxicology*; 38: 387-396.
2. Humbert L, Lhermitte M, and Grisel F. General Unknown Screening for Drugs in Biological Samples by LC/MS.2007, 沃特世应用纪要, 720001552EN.
3. Humbert L, Grisel F, Richeval C. and Lhermitte M. Screening of Xenobiotics by Ultra-Performance Liquid Chromatography–Mass Spectrometry Using In-Source Fragmentation at Increasing Cone Voltages: Library Constitution and an Evaluation of Spectral Stability.2010, *Journal of Analytical Toxicology*; 34: 571-580.
4. Rosano T, Wood M. and Swift T. Postmortem Drug Screening by Non-Targeted and Targeted UltraPerformance Liquid Chromatography-Mass Spectrometry Technology.2011, *Journal of Analytical Toxicology*; 35: 411-423.
5. Lee R和Wood M. 扩展系统性毒理学筛查数据库以配合沃特世名义质量数筛查解决方案进行毒理学筛查分析.2019, 沃特世技术简报, 720006502ZH.
6. Goshawk J、Lee R和Wood M. ACQUITY QDa质谱检测器在法医化学实验室和药物监控实验室中的应用潜力评估.2017, 沃特世技术简报, 720006004ZH.
7. Mistry N, Lee R, 和Wood M. 使用ACQUITY QDa质谱检测器进行系统性毒理学分析(STA) - 第2部分：一种快速简便的OASIS PRiME SPE方法在生物样品异生物质萃取中的应用评价.2019, 沃特世技术简报, 720006726ZH.
8. Mistry N、Lee R和Wood M. ACQUITY H-Class系统结合ACQUITY QDa质谱检测器在法医毒理学研究中用于测定人尿液中安非他命、甲基安非他命、氯胺酮和去甲氯胺酮的效果评估.2019, 沃特世技术简报, 720006595ZH.

特色产品

[ACQUITY QDa质谱检测器 <https://www.waters.com/134761404>](https://www.waters.com/134761404)

[ChromaLynx <https://www.waters.com/513759>](https://www.waters.com/513759)

720006725ZH, 2020年1月



©2019 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