

# UFLC-QTOF-MS/MS分析噁唑啉草胺 及其在生物体内的代谢产物\*

罗剑文, 钟创光, 刘羿飞, 黄欣如,  
黄昆, 彭霏, 殷梓宁, 何昀泽, 张以顺

中山大学生命科学学院, 广东 广州 510275

**摘要:** 采用超高效液相色谱-四极杆串联飞行时间质谱(UFLC-QTOF-MS/MS)技术, 以黄粉虫幼虫(*Tenebrio molitor*)作为模式生物, 探索了一种在缺乏全面代谢物标准品的情况下发现和积累噁唑啉草胺(metamifop)代谢物色谱-质谱特征数据的新方法, 并构建出噁唑啉草胺在黄粉虫中的代谢途径。研究显示从连续15 d定量摄食含噁唑啉草胺2 mg/g药饵的黄粉虫粪便提取物中发现了21种代谢产物, 包括14种I相代谢产物和7种II相代谢产物。在I相代谢产物中除单氧化噁唑啉草胺、精噁唑啉草胺、6-CBO、HPFMPA、HPPA和HFMPA已报道外, 其余8种均为首次在生物体内发现。并发现这些I相代谢产物至少通过与氨基酸结合、与葡萄糖硫酸酯结合以及与硫酸酯结合3种途径进一步转化为相应的II相代谢产物。

**关键词:** 噁唑啉草胺(metamifop); 黄粉虫(*Tenebrio molitor*); 代谢产物; 超高效液相色谱-四极杆串联飞行时间质谱(UFLC-QTOF-MS/MS)

中图分类号: Q-331; S482.4<sup>+</sup>6 文献标志码: A 文章编号: 2097-0137(2025)02-0067-09

## Analysis of metamifop and its metabolic products in biological systems via UFLC-QTOF-MS/MS

LUO Jianwen, ZHONG Chuanguang, LIU Yifei, HUANG Xinru,  
HUANG Kun, PENG Fei, YIN Zining, HE Yunze, ZHANG Yishun

School of Life Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China

**Abstract:** Utilizing ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry (UFLC-QTOF-MS/MS) technology, and employing the larvae of mealworm (*Tenebrio molitor*) as a model organism, this study developed a new approach to discover and accumulate chromatographic-mass spectrometric characteristic data of metamifop metabolites in the absence of comprehensive metabolite standards. The metabolic pathway of metamifop in *T. molitor* was further elucidated. The study identified 21 metabolites in the excreta of mealworms larvae that were fed a diet containing 2 mg/g of metamifop over a period of 15 days. These included 14 phase I metabolites and 7 phase II metabolites. Among the phase I metabolites, beside the reported compounds such as Metamifop monooxide, Fenoxaprop acid, 6-CBO, HPFMPA, HPPA, and HFMPA, eight were identified for the

\* 收稿日期: 2024-04-03 录用日期: 2024-06-20 网络首发日期: 2024-07-22

基金项目: 广东省高等教育学会实验室管理专业委员会基金(GDJ20220159);  
中山大学校级教学质量与教学改革工程类项目(33000-12220011)

作者简介: 罗剑文(1972年生), 女; 研究方向: 组学仪器技术;  
E-mail: luojw@mail.sysu.edu.cn



first time in any biological system. It was also observed that these phase I metabolites underwent transformation into corresponding phase II metabolites through three primary pathways: Conjugation with amino acids, glucose-sulfate esterification, and sulfation.

**Key words:** metamifop; *Tenebrio molitor*; metabolite; UFLC-QTOF-MS/MS

超高效液相色谱-四极杆串联飞行时间质谱(UFLC-QTOF-MS/MS)具有高分辨率和极高的扫描速率,能够提供精确相对分子质量信息、同位素丰度比例及二级碎片分布情况,通过结合分子裂解规律和色谱保留时间进行分子结构分析(董振霖等,2022;黄昕等,2014),有助于减少未知物定性对标准品的依赖,在代谢物分析领域得到广泛应用。

噁唑酰草胺属于新型的芳氧苯氧丙酸酯类除草剂(曾仲武等,2004),为乙酰辅酶A羧化酶(ACCCase, acetyl-CoA carboxylase)抑制剂,ACCCase能催化生成脂肪酸合成中一种关键代谢产物——丙二酸单酰辅酶A。该除草剂能被禾本科杂草的叶子吸收后能迅速传导至整个植株,在植物分生组织部位积累,抑制植物体内ACCCase的活性,导致脂肪酸合成受阻引起叶片的黄化从而杀死杂草(McCullough et al., 2016)。

目前关于噁唑酰草胺的研究大多集中在噁唑酰草胺在农作物上的残留检测(杨静等,2021;张月,2020)、药害作用(林涛等,2019;Zhao et al., 2019)以及杂草的抗药性(Deng et al., 2019;左平等,2016;Kaundun, 2014),关于噁唑酰草胺在自然条件下的降解尤其是生物体内的代谢研究较少(罗雪琪等,2020;罗傲等,2020;Barik et al., 2018;王点点等,2012)。我们的前期工作检测了几种昆虫摄食了噁唑酰草胺后的粪便样品,发现噁唑酰草胺的代谢产物远比已经报道的多,尽管昆虫的II相代谢过程与高等动物有差别,但其产生的I相代谢及部分II相代谢产物的谱学特征可直接用于其他生物体,作为液质联用靶向采集的参考标准。

黄粉虫作为重要的经济昆虫,可为动物提供优质蛋白。最近的研究发现黄粉虫能分解塑料(郭鸿钦等,2020)、并被用于研究农药在生物体内的富集作用(Lv et al., 2014)等。我们拟以黄粉虫作为模式生物,利用UFLC-QTOF-MS/MS技术研究噁唑酰草胺在动物中的代谢过程,探索在缺乏较完备的代谢物标准品的情况下,发现并积累噁唑酰草胺代谢产物的色谱-质谱特征数据,为其他生

物代谢研究提供谱学数据支撑,同时通过构建噁唑酰草胺在黄粉虫中的代谢路径图,探索黄粉虫作为外源化学物毒理学分析的模式动物的可能性。

## 1 仪器与材料

超高效液相色谱-四极杆串联高分辨飞行时间质谱仪(Shimadzu Prominence UFLC 20A System, AB Sciex TripleTOF 5600+);数据分析(PeakView 1.2, AB Sciex);噁唑酰草胺(毕得医药,纯度 $w > 98\%$ );6-氯-2-苯并噁唑酮(6-CBO, 6-chloro-2-Benzoxazolinone)(TCI, 纯度 $w > 98\%$ );甲醇(色谱纯);乙腈(色谱纯);甲酸铵(色谱纯);超纯水(Millipore Milli-QA);黄粉虫及饵料(麦麸)从广东永兴虫业购入。

## 2 实验方法

### 2.1 样品制备

用含 $\varphi=10\%$ 乙酸乙酯的甲醇溶解药品配制母液,将一定量的麦麸置 $65\text{ }^{\circ}\text{C}$ 烘箱2 h以烘干并简单灭菌,放置至室温后在锡纸上称量出2 000 mg麦麸。按麦麸的实际质量吸取一定量的药物母液至小试管,用适量甲醇稀释后全部滴加到麦麸中搅拌均匀,避光放置使有机溶剂完全挥发并风干,配制成2 mg/g的药饵。待药饵干燥后称重分装,每份100 mg,放入 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱备用。

实验分为药饵组与空白对照组。随机称取黄粉虫置烧杯中,每组30头,每组每天投喂100 mg药饵或空白麦麸,间隔24 h收集粪便样品放入 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存待测,重新投喂相应的饵料,实验共持续15 d,实验在 $(28\pm 1)\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的恒温培养箱中进行,光照设定12L12D,实验共进行3次重复。3次实验所用黄粉虫体质量范围在65~100 mg之间。

取黄粉虫粪使用甲醇提取过夜,获得10 mg/mL(粪便/甲醇)提取物作为上机样品进行质谱测量。

噁唑酰草胺和6-CBO分别配制成0.02 mg/mL甲醇溶液作为无基质对照品,或用空白组粪便的甲醇提取液稀释成0.02 mg/mL的含基质对照品。

## 2.2 质谱条件

质谱使用电喷雾离子化(ESI)电离, 离子源温度(TEM): 500 °C; 雾化气(GS1): 55 psi(1 psi≈6 894.757 29 Pa); 质量范围(TOF Masses): 母离子100~1 000, 子离子50~1 000; 气帘气(CUR): 40 psi; 锥孔电压(DP): +80 V(正离子模式), -80 V(负离子模式); 离子喷雾电压(ISVF): +5 500 V(正离子模式), -4 500 V(负离子模式); 碰撞能(CE): +40 V(正离子模式), -40 V(负离子模式), 碰撞能梯度(CES): ±20 V。

以信息依赖采集扫描(IDA, information-dependent acquisition)扫描方式采集数据: 每个循环选择8个最强的离子自动触发二级扫描(TOF MS-IDA-8 MS/MS); 采样点扫描累积时间: 母离子0.15 ms, 子离子0.1 ms; 动态背景扣除(DBS): 开启。

## 2.3 液相条件

液相色谱柱: Kinetex 2.6 μm C18, 100 Å, 2.1 mm×150 mm; 流动相: A为w=0.01%甲酸铵水溶液, 另将甲酸铵溶解于乙腈和少量水中, 使其最终的w=0.01%, 制成流动相B; 流速0.3 mL/min, 柱温40 °C, 进样量8 μL。

因外源物在生物体内的代谢过程有可能发生在多个位点, 并通过多种途径与内源性的官能团结合, 因此大多数情况下难以获取全面的标品进行验证, 需要依赖目标母离子的一级与二级高分辨全谱根据分子裂解规律进行分析, 为此实验的液相洗脱梯度使用较长的时间分离组分, 从一开始的40 min逐渐优化缩减至23 min(表1), 并在流动相加入了甲酸铵, 尽量让每个组分在正负离子模式下能获得相同保留时间的色谱峰相互验证, 提升数据的可信度。

表1 液相梯度洗脱条件

时间/min	流动相B/%	流动相A/%
0	4	96
3	4	96
15	87.8	12.2
16	99	1
20	99	1
20.1	4	96
23	4	96

## 3 实验结果

### 3.1 噁唑酰草胺在黄粉虫体内的代谢产物分析

采用UFLC-QTOF-MS/MS技术, 分别在正、负离子模式下分析噁唑酰草胺代谢产物的总离子色谱图(TIC)(增强出版:附图1)。通过药饵组与空白组对照, 发现黄粉虫在摄食了含噁唑酰草胺2 mg/g的麦麸后, 所排出的粪便含有一系列的噁唑酰草胺代谢产物。根据差异色谱峰的保留时间、精确质量数、同位素丰度比例与碎片分布特征情况, 结合文献报道, 归纳出噁唑酰草胺在生物体内至少生成21种代谢产物(表2), 包括I相代谢产物14种, 以及7种II相代谢物, 其中9种代谢产物正负离子模式均采集到二级质谱。

**3.1.1 I相代谢产物分析** 从黄粉虫粪便提取物中检测到M<sub>0</sub>的离子峰[M+H]<sup>+</sup> m/z 441.100 77, 其RT 15.902, 二级碎片 m/z 288、180、123(图1)与噁唑酰草胺参考物完全吻合, 确认为原药噁唑酰草胺。其二级碎片与罗雪琪等(2020)和Moon et al.(2010)的报道完全吻合。

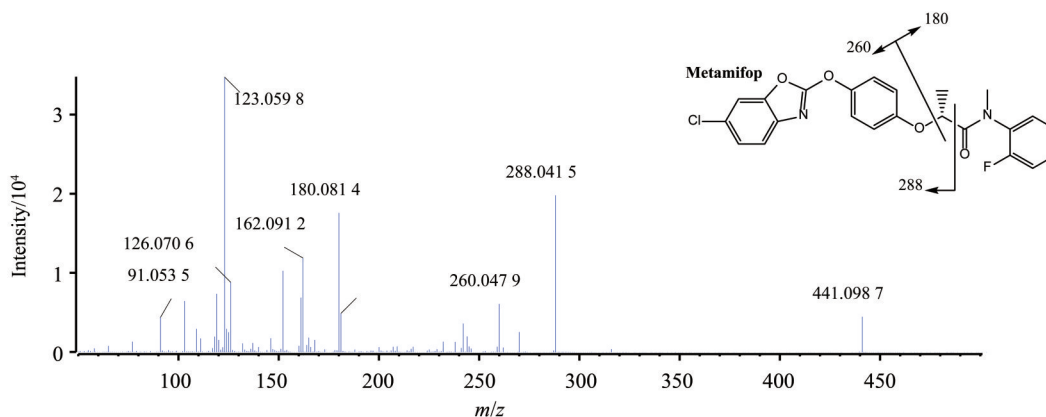


图1 Metamifop的分子结构与主要裂解途径

Fig. 1 Molecular structure and major cleavage pathways of Metamifop

根据噁唑酰草胺的分子结构,结合原药谱学特征的跟踪,对其他代谢产物的来源进行了分析,初步鉴定了噁唑酰草胺在黄粉虫体内生成的 14 种 I 相代谢产物。

$M_1$ :  $[M+H]^+$   $m/z$  198.092 48, 其一级高分辨质谱与 HFMPA 理论精确相对分子质量吻合,二级质谱与罗雪琪等(2020)相符,根据碎片  $m/z$  180、152、103 推测的质谱裂解途径(增强出版:附图 2),初步鉴定  $[M+H]^+$   $m/z$  198.092 48 为 HFMPA。

$M_2$ :  $[M-H]^-$   $m/z$  288.103 84,  $[M+H]^+$   $m/z$  290.118 9 与 HPFMPA 的精确相对分子质量理论值吻合,根据二级质谱  $m/z$  180.082 1、152.087 1、137.059 4 推测的质谱裂解途径(增强出版:附图 3),结合罗雪琪等(2020)及 Moon et al.(2010),判断为 HPFMPA。

$M_3$ :  $[M-H]^-$   $m/z$  167.985 74 与 6-CBO 精确相对分子质量理论值吻合,从其同位素丰度比例中显示含有 1 个 Cl,但提取离子流色谱图上出现 4 个色谱峰,且二级质谱  $m/z$  132.008 6、76.018 7 相同(增强出版:附图 4),经仔细比对,发现除保留时间 10.5 min 的色谱峰与 6-CBO 对照品相同,其余色谱峰均为前体电离产物,从而确认了保留时间 10.5 min 的色谱峰为 6-CBO。

$M_4$ : 根据噁唑酰草胺分子结构,醚键断裂可以生成 HFMPA,也有可能生成的 4-(6-chlorobenzoxy)phenol (CBOP) (Moon et al., 2010),以此依据,从采集数据中提取到  $[M-H]^-$   $m/z$  260.011 99 的离子峰,同位素丰度比例显示含有 1 个 Cl,精确相对分子质量与 CBOP( $C_{13}H_8ClNO_3$ ) 吻合,且含有 6-CBO 相同的碎片  $m/z$  167.986 0、151.990 3、116.013 9( $M_4$ )(增强出版:附图 5),分子裂解规律与结构相符,初步鉴定为 CBOP,并采集到相同保留时间的正离子  $[M+H]^+$   $m/z$  262.026 12 加以验证,正离子二级碎片与 Moon et al.(2010)报道相符。

$M_5$ :  $[M-H]^-$   $m/z$  425.071 3 的一级质谱(增强出版:附图 6)显示含有 1 个 Cl 的同位素丰度比例特征,根据二级碎片包含的  $[CBOP-H]^-$   $m/z$  260.012 7,及与 CBOP 相同的碎片  $m/z$  167.986 3、151.991 4、116.014 3,对其裂解途径进行推测,初步鉴定为噁唑酰草胺 N 氧化脱甲基生成的 (*R*)-2-(4-((6-chlorobenzo[d]oxazol-2-yl)oxy)phenoxy)-N-(2-fluorophenyl)propanamide (CBPPPA)。

$[M-H]^-$   $m/z$  471.074 4,一级精确相对分子质

量与双氧化噁唑酰草胺相符,但其色谱峰保留时间 16.09 min 与 CBPPPA 相同,且二级碎片离子分布相同,因此判断为  $[CBPPPA-H+HCOOH]^-$ ,应并入 CBPPPA。

$M_6$ 、 $M_7$ : CBPPPA 的 N 键可能进一步脱烷基化生成 (*R*)-2-(4-((6-chlorobenzo[d]oxazol-2-yl)oxy)phenoxy)propanamide (CBPP),再脱胺氧化生成精噁唑禾草酸(FA, fenoxaprop acid) (Moon et al., 2010),从采集数据中提取到  $[M+H]^+$   $m/z$  333.636 6 ( $M_6$ )与 CBPP 的理论相对分子质量数相符, $M_7$   $[M-H]^-$   $m/z$  332.033 1、 $[M+H]^+$  334.047 68 与 FA 的理论相对分子质量数相符,两者有相对分子质量相近的正离子二级碎片  $m/z$  288.043 2、167.985 1,且与根据实测相对分子质量推算的分子式吻合,其中 FA 与罗雪琪等(2020)相符,结合二级质谱推测的裂解图(增强出版:附图 7),鉴定为 CBPP 与 FA。

$M_8$ : FA 的分子结构提示醚键断裂可生成 6-CBO,与 (*R*)-(p)-2-(4-hydroxyphenoxy)propionic acid (HPPA),从数据中提取到  $M_8$ :  $[M-H]^-$   $m/z$  181.050 81 与 HPPA 理论相对分子质量数相符,且存在  $m/z$  108.022 0、109.029 6 的特征子离子(二羟基酚残基)(增强出版:附图 8),结合 Dong et al.(2017)分析,初步鉴定该组分为 HPPA。

$M_9$ :  $[M-H]^-$   $m/z$  142.005 9 同位素丰度比例显示含有 1 个 Cl(增强出版:附图 9),精确相对分子质量与 2-氨基-5-氯苯酚(ACP, 2-amino-5-chlorophenol) 吻合,虽然未采集到二级质谱,但与空白对照明显,初步鉴定为 ACP,推测为苯并噁唑环开环生成。从  $[M-H]^-$   $m/z$  221.963 33 的二级碎片  $m/z$  142.006 6 回溯,再次验证了 ACP 的存在。ACP 也是化学合成噁唑酰草胺的中间体(Moon et al., 2010),为此我们对多个噁唑酰草胺原药样品及药饵提取物进行仔细搜索,未检测到 ACP,排除 ACP 主要作为杂质带人的可能性。

$M_{10}$ ~ $M_{14}$ 均为来源于次级代谢产物的氧化物。

$M_{10}$ :  $[M-H]^-$   $m/z$  455.081 2,相对分子质量比原药多 16,初步鉴定为原药氧化生成的单氧化噁唑酰草胺,根据碎片  $m/z$  260.011 9、151.990 7、116.013 7 排除了氧化发生在氯苯噁唑苯醚环上的可能性,推测氧化发生在邻氟苯胺环上(增强出版:附图 10),这与给药蛋鸡的结果不同(罗雪琪等, 2020)。

$M_{11}$ :  $[M-H]^-$   $m/z$  348.027 85 相对分子质量比

FA多16,提示其可能为FA的单氧化物,二级质谱显示碎片  $m/z$  276.007 7、183.984 1,相对分子质量与FA对应的碎片  $m/z$  260.012 0、167.986 0多16,推测氧化发生在噁唑环上。负离子模式碎片包含  $m/z$  167.985 2与FA相符,根据二级质谱推测  $[FA+O]^-$ 裂解途径(增强出版:附图11),同时从正离子模式采集中找到的  $[M+H]^+$  350.042 73,保留时间同为10.5 min,相对分子质量与理论值匹配,初步鉴定为单氧化FA。

$M_{12}$ :  $[M-H]^-$   $m/z$  183.980 59相对分子质量比6-CBO多16,并有相对分子质量相近的碎片  $m/z$  151.987 2,二级质谱与单氧化FA有部分重合,148.002 2碎片确证单氧化的存在,且指向氧化位置为氯原子的间位,根据推测的裂解途径(增强出版:附图12),鉴定为4-羟基-6-CBO。

$M_{13}$ :  $[M+H]^+$  306.113 61相对分子质量比HPFMPA多16,主要碎片分布  $m/z$  137.058 4、109.064 9与HPFMPA重合,其中  $m/z$  197.087 6比HPFMPA的  $m/z$  181.089 5相对分子质量多1个O(增强出版:附图13),加上碎片  $m/z$  177.077 1提供的信息,确认氧化位置发生在邻氟苯胺环上,配合  $[M-H]^-$   $m/z$  304.099 35的保留时间验证,鉴定为单氧化HPFMPA。

$M_{14}$ :  $[M-H]^-$   $m/z$  441.065 36与  $[M+H]^+$   $m/z$  443.080 69相对分子质量比CBPPPA多16,精确相对分子质量与单氧化CBPPPA匹配,负离子模式的二级碎片  $m/z$  260.010 7、151.991 1与CBPPPA重合,正离子二级碎片  $m/z$  154.066 0比CBPPPA的碎片  $m/z$  138.070 8相对分子质量多16,其它碎片  $m/z$  288.042 1、260.047 8、119.049 1与CBPPPA重合(增强出版:附图14),确认氧化位置发生在邻氟苯胺环上,因此鉴定为单氧化CBPPPA。

**3.1.2 II相代谢产物分析** 通过原药及I相代谢产物结构信息的跟踪,发现这些I相代谢产物通过至少3种途径生成对应的II相代谢产物。

#### 1) 与氨基酸结合

$M_{15}$ :  $[M-H]^-$   $m/z$  389.054 47,  $[M+H]^+$   $m/z$  391.069 41相对分子质量比FA多57.021 47,与取代了FA羧基上羟基的甘氨酸残基的相对分子质量完全吻合;一级高分辨质谱图中有Cl的同位素特征,碎片分布  $m/z$  260.012 9、167.986 0、151.991 1(增强出版:附图15)与FA吻合,所以推断该离子

是FA与甘氨酸(Gly, glycine)结合后的代谢物FA-Gly。

$M_{16}$ :  $[M-H]^-$   $m/z$  403.069 6,  $[M+H]^+$   $m/z$  405.084 71比丢失羟基的FA相对分子质量多87.031 94,与取代了FA羧基上的羟基的丙氨酸残基的相对分子质量完全吻合;一级高分辨质谱图中出现Cl的同位素峰,碎片分布  $m/z$  260.017 8、167.983 9、151.990 5与FA吻合,所以推断该离子是FA与丙氨酸(Ala, alanine)结合后得到的代谢物FA-Ala。

$M_{17}$ :  $[M-H]^-$   $m/z$  419.064 48比FA-Ala相对分子质量多16,推测为单氧化FA-Ala,正/负离子模式的一级电离结果支持预期分子的元素组成( $C_{19}H_{17}N_2O_7Cl$ ),由于离子碎片分布与FA吻合,排斥氧化发生在氯苯噁唑苯醚上的可能性,推断该离子是FA-Ala生成后在丙氨酸残基的甲基发生氧化反应,碎片  $m/z$  389.056 4为此提供了证据(增强出版:附图16)。

$M_{18}$ :  $[M-H]^-$   $m/z$  238.071 9,  $[M+H]^+$   $m/z$  240.086 8比丢失羟基的HPPA相对分子质量多73.016 73,与取代了HPPA羧基上羟基的甘氨酸残基的相对分子质量完全吻合,其碎片分布  $m/z$  137.061 2、122.035 8与HPPA相似,初步鉴定为HPPA与甘氨酸结合后的代谢物HPPA-Gly(增强出版:附图17)。

#### 2) 硫酸酯化(Sul, sulfate)

$M_{19}$ :  $[M-H]^-$   $m/z$  221.963 33相对分子质量比ACP多79.956 73,为硫酸酯残基相对分子质量,二级碎片  $m/z$  142.006 6与预测的ACP吻合(增强出版:附图18),初步鉴定该离子为ACP与硫酸酯结合生成的ACP-Sul。

$M_{20}$ :  $[M-H]^-$   $m/z$  263.938 4相对分子质量比单氧化6-CBO多79.956 73,且含有  $m/z$  183.981 3的二级碎片(增强出版:附图19),推测为单氧化6-CBO-Sul( $C_7H_4NO_6SCl$ ),其中硫酸酯二级电离时发生中性丢失。

#### 3) 与葡萄糖硫酸酯结合

$M_{21}$ :  $[M-H]^-$   $m/z$  409.995 2相对分子质量比6-CBO多242.010 29,与取代6-CBO上羟基的葡萄糖硫酸酯残基的相对分子质量一致;一级高分辨质谱图中出现Cl的同位素峰,碎片分别出现了6-CBO、葡萄糖硫酸酯残基与硫酸酯离子峰  $m/z$  241.001 8、167.986 8、96.959 6(增强出版:

附图 20), 确认该离子是 6-CBO-Glu-Sul。同时, 由于检测到硫酸酯离子峰较强, 提示硫酸酯位于分子的外侧, 由此推测 6-CBO 与糖基端结合。

### 3.2 噁唑酰草胺在黄粉虫中的代谢途径

基于噁唑酰草胺及其代谢产物的谱学数据, 我们构建出噁唑酰草胺在黄粉虫中的代谢途径(图 2)。这些代谢途径可以解释噁唑酰草胺在昆虫体内的转化和排泄过程, 为进一步研究其毒性和环境归趋提供了重要线索。

鉴于 FA 及其 II 相代谢产物在所有的代谢产物中

的占比最大, 我们推测噁唑酰草胺通过水解脱甲基后形成 CBPPA, 后者氧化脱氨形成 FA 或 CBPP, 而 CBPP 进一步氧化脱氨的产物也是 FA, 这是噁唑酰草胺在黄粉虫中代谢的主线。噁唑酰草胺也可以通过 O-脱烷基化同时产生 HPFMPA 和 6-CBO, 以及 HFMPA 和 CBOP。噁唑酰草胺还可以通过氧化产生单氧化噁唑酰草胺。FA 可以通过 O-脱烷基化同时产生 6-CBO 和 HPPA、氧化产生单氧化 FA, 这是 FA I 相代谢的主要途径。6-CBO 则通过氧化产生单氧化 6-CBO。

表 2 噁唑酰草胺在黄粉虫幼虫体内产生的代谢产物

Table 2 Metabolites of metamifop in mealworm *Tenebrio molitor*

序号	检测数据			分析结果					
	一级质谱	保留时间/ min	二级质谱	电离方式	名称	分子式	相对分子 质量	误差/ 10 <sup>-6</sup>	代谢 类型
M <sub>0</sub>	441.100 77	15.90	288.041 0, 180.081 1, 123.059 6	[M+H] <sup>+</sup>	metamifop	C <sub>23</sub> H <sub>18</sub> ClFN <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	440.093 91	-1.0	原药
M <sub>1</sub>	198.092 64	9.03	180.080 5, 152.085 3, 103.053 5	[M+H] <sup>+</sup>	HFMPA	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> FNO <sub>2</sub>	197.085 21	0.8	I 相
M <sub>2</sub>	290.118 92	11.02	180.082 1, 152.087 1, 137.059 4, 123.059 9	[M+H] <sup>+</sup>	HPFMPA	C <sub>16</sub> H <sub>16</sub> FNO <sub>3</sub>	289.111 42	0.8	I 相
	288.103 84	11.01	108.217	[M-H] <sup>-</sup>				-1.1	
M <sub>3</sub>	167.985 74	10.50	132.008 6, 76.018 7	[M-H] <sup>-</sup>	6-CBO	C <sub>7</sub> H <sub>4</sub> ClNO <sub>2</sub>	168.993 06	-0.2	I 相
M <sub>4</sub>	260.011 67	13.49	167.985 3, 151.990 3, 116.013 9	[M-H] <sup>-</sup>	CBOP	C <sub>13</sub> H <sub>8</sub> ClNO <sub>3</sub>	261.019 27	-1.2	I 相
	262.026 12	13.50	167.987 8, 139.986 2, 93.037 3	[M+H] <sup>+</sup>				-1.6	
M <sub>5</sub>	425.071 19	16.08	260.012 7, 167.986 3, 151.991 4	[M-H] <sup>-</sup>	CBPPPA	C <sub>22</sub> H <sub>16</sub> ClFN <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	426.078 26	0.5	I 相
	471.076 44	16.09	425.071 1, 260.012 7, 167.985 7, 151.991 1	[M+HCOOH-H] <sup>-</sup>				-0.1	
M <sub>6</sub>	333.063 55	12.95	288.042 5, 167.979 9, 165.060 2	[M+H] <sup>+</sup>	CBPP	C <sub>16</sub> H <sub>13</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	332.056 38	-0.3	I 相
M <sub>7</sub>	332.033 08	11.93	260.012 0, 167.986 0, 151.990 8	[M-H] <sup>-</sup>	FA	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> ClNO <sub>5</sub>	333.040 40	-0.1	I 相
M <sub>8</sub>	181.050 81	2.01	137.060 7, 108.021 5, 109.029 6	[M-H] <sup>-</sup>	HPPA	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>	182.057 91	1.0	I 相
	183.064 95	1.78	137.059 0, 123.042 8, 109.065 1	[M+H] <sup>+</sup>					
M <sub>9</sub>	142.006 42	8.97		[M-H] <sup>-</sup>	ACP	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> ClNO	143.013 79	-0.8	I 相
M <sub>10</sub>	455.081 20	14.40	260.011 9, 151.990 7, 116.013 7	[M-H] <sup>-</sup>	单氧化 metamifop	C <sub>23</sub> H <sub>18</sub> ClFN <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	456.088 83	-0.8	I 相

续表

序号	检测数据			分析结果					
	一级质谱	保留时间/ min	二级质谱	电离方式	名称	分子式	相对分子 质量	误差/ 10 <sup>-6</sup>	代谢 类型
M <sub>11</sub>	348.027 85	10.52	276.007 7, 183.984 1, 167.985 2	[M-H] <sup>-</sup>	单氧化FA	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> ClNO <sub>6</sub>	349.035 32	-0.5	I相
	350.042 73	10.48	254.035 9, 183.981 9, 121.027 1	[M+H] <sup>+</sup>				0.4	
M <sub>12</sub>	183.980 59	9.73	151.996 9, 148.003 2, 120.007 6	[M-H] <sup>-</sup>	单氧化 6-CBO	C <sub>7</sub> H <sub>4</sub> ClNO <sub>3</sub>	184.987 97	-0.6	I相
M <sub>13</sub>	304.099 35	10.32	163.038 7, 108.021 6	[M-H] <sup>-</sup>	单氧化 HPFMPA	C <sub>16</sub> H <sub>16</sub> FNO <sub>4</sub>	305.106 34	1.0	I相
	306.113 81	9.72	197.087 6, 177.077 1, 137.058 4	[M+H] <sup>+</sup>				0.6	
M <sub>14</sub>	441.065 36	14.42	260.010 7, 151.991 1, 137.040 9	[M-H] <sup>-</sup>	单氧化 CBPPPA	C <sub>22</sub> H <sub>16</sub> ClFN <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	442.073 18	-1.2	I相
	443.080 69	16.102	288.042 1, 260.047 8, 119.049 1	[M+H] <sup>+</sup>					
M <sub>15</sub>	389.054 47	11.81	260.012 9, 167.986 0, 151.991 1	[M-H] <sup>-</sup>	FA-Gly	C <sub>18</sub> H <sub>15</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>6</sub>	390.061 86	-0.3	II相
	391.069 41	11.80	288.043 4, 260.047 4, 119.048 3	[M+H] <sup>+</sup>				0.7	
M <sub>16</sub>	403.069 60	12.24	260.007 8, 167.983 9, 151.990 5	[M-H] <sup>-</sup>	FA-Ala	C <sub>19</sub> H <sub>17</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>6</sub>	404.077 51	-1.6	II相
	405.084 71	12.23	288.044 1, 262.026 2, 119.051 5	[M+H] <sup>+</sup>				-0.2	
M <sub>17</sub>	419.064 48	11.23	389.056 4, 260.014 7, 167.984 9, 151.990 0	[M-H] <sup>-</sup>	单氧化 FA-Ala	C <sub>19</sub> H <sub>17</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	420.072 43	-1.6	II相
M <sub>18</sub>	238.071 85	7.36	194.082 3, 137.061 2, 122.035 8	[M-H] <sup>-</sup>	HPPA-Gly	C <sub>11</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>5</sub>	239.079 37	-1.0	II相
	240.086 79	7.05	165.054 3, 137.058 9, 122.035 3	[M+H] <sup>+</sup>				0.6	
M <sub>19</sub>	221.963 16	7.42	142.006 6, 106.028 1, 79.956 8	[M-H] <sup>-</sup>	ACP-Sul	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> ClNO <sub>4</sub> S	222.970 61	-0.8	II相
M <sub>20</sub>	263.938 40	8.842	183.981 3, 155.985 6	[M-H] <sup>-</sup>	单氧化 6-CBO-Sul	C <sub>7</sub> H <sub>4</sub> NO <sub>6</sub> SCl	264.944 79	-0.6	II相
M <sub>21</sub>	409.995 22	8.76	241.001 8, 167.986 8, 96.959 6	[M-H] <sup>-</sup>	6-CBO- Glu-Sul	C <sub>13</sub> H <sub>14</sub> ClNO <sub>10</sub> S	411.002 70	-0.5	II相

至于ACP的来源,在噁唑酰草胺代谢物中检测到ACP及其II相代谢产物的存在,但在饲喂了2 mg/g 6-CBO的黄粉虫粪便中,只能检测到微量的ACP及其II相代谢物的存在(结果未列出),提示直接从6-CBO代谢产生ACP的产额不高,是否存在从FA或其他代谢产物直接产生的ACP,则需进一步研究才能得出定论。

噁唑酰草胺I相代谢产物中凡带有羧基的均优

先与甘氨酸/丙氨酸结合,如FA及其氧化产物、HPPA等,而带有羟基的代谢物则主要以葡萄糖硫酸酯与形成硫酸酯结合物的形式生成对应的II相代谢产物。

综上所述,21种代谢产物代表了噁唑酰草胺较完整的代谢物物种,为了解噁唑酰草胺的生物代谢提供重要的基础资料。如单氧化噁唑酰草胺二级子离子提供的信息表明其氧化的位置在邻氟

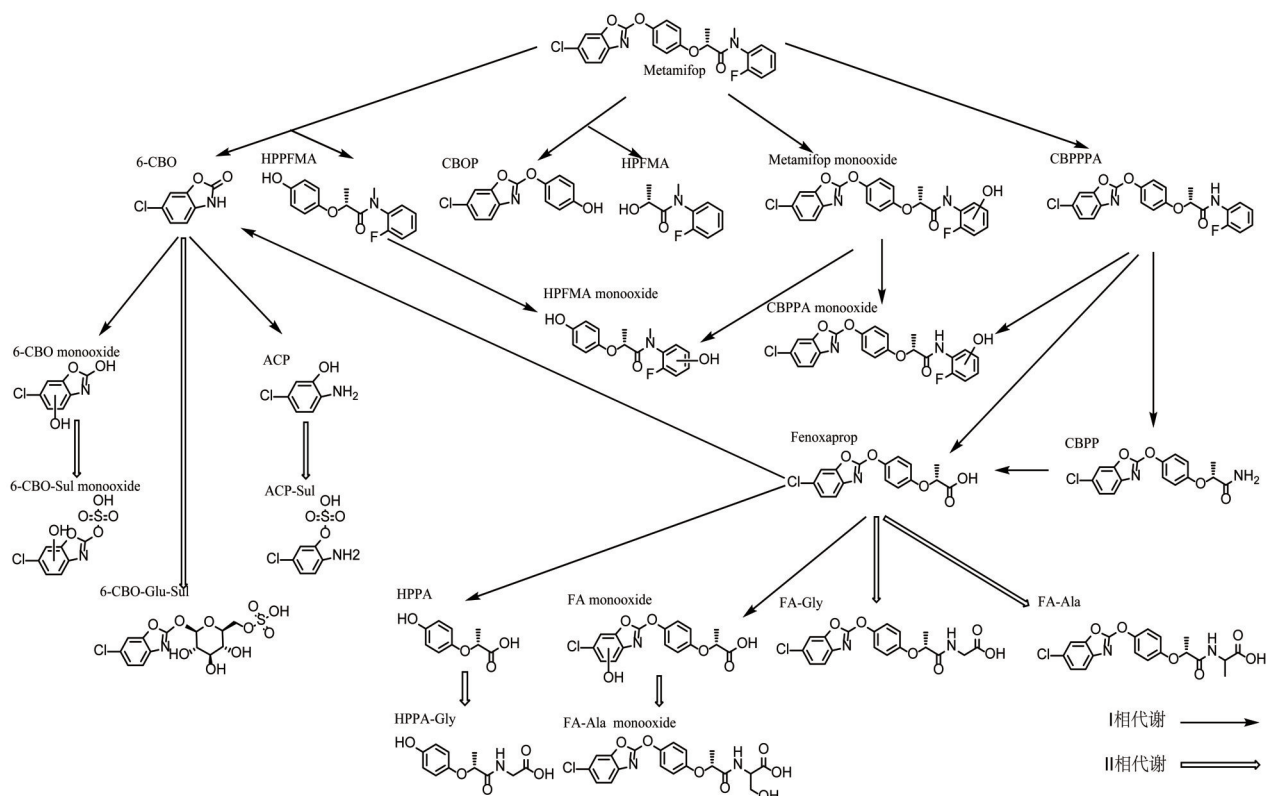


图2 噁唑酰草胺在黄粉虫中的代谢途径

Fig. 2 Presumed metabolic pathway of metamifop in *Tenebrio molitor*

苯胺基团上,这和噁唑酰草胺的主要代谢产物FA的氧化位置不同,后者是发生在苯并噁唑环上,故本研究的结果为后续正确构建噁唑酰草胺的生物代谢途径提供了有力的保障。

## 4 讨论

高分辨液质联用技术可以在液相分离基础上,通过分析质谱碎片信息快速鉴定物质中的低含量成分(张琪等,2021)。但对于种类繁多的化学品的生物代谢产物的分析,即使是定性分析,仍摆脱不了对于标准品的依赖。Dong et al.(2017)在研究微生物对噁唑酰草胺的降解时,更多地依赖于标准品的指引,导致降解路径图的残缺。罗雪琪等(2020)用QTrap质谱仪研究了喂食过噁唑酰草胺的蛋鸡,发现其排泄物中含有9种代谢产物,这是最早也是迄今唯一的关于噁唑酰草胺在动物中代谢产物的报道,对后续研究提供非常有益的启示。遗憾的是,可能作者在基于原药及有限的代谢物标准品建立检测方法时,由于原药及所用代谢物标准品在负离子模式下检测效率太低,因此仅采用正离子

模式检测了蛋鸡粪便提取物,遗漏了很多其他的代谢产物。我们充分挖掘了仪器的潜力,在黄粉虫粪便中检测到最少21种噁唑酰草胺的代谢产物,除6种已为前人所发现外(Dong et al.,2017;罗雪琪等,2020),其余15种均为在动物体内首次发现。在蛋鸡中被发现的双氧化噁唑酰草胺、脱氟噁唑酰草胺双氧化物、脱氯噁唑酰草胺以及微生物中存在的NMFA等I相代谢产物均未在黄粉虫粪便提取物中检测到。黄粉虫的II相代谢产物中,氨基酸化与硫酸酯化与脊椎动物的相类似,而脊椎动物中最为常见的葡萄糖醛酸化则未出现于黄粉虫中,糖基化等常见于植物的代谢方式也成为黄粉虫的主要代谢方式之一,同时葡萄糖硫酸酯结合物也是包括噁唑酰草胺在内的很多外源物在黄粉虫中的重要代谢途径。

利用昆虫如家蚕等作为病理模型及药物代谢模式动物已经有近20 a的历史了(Hamamoto et al.,2004)。黄粉虫已被用于研究塑料的分解(郭鸿钦等,2020)、研究农药在生物体内的富集及变构作用(Lv et al.,2014)等。我们的实验结果也表明,

黄粉虫对外源化学品的耐受性极强,可以用高浓度投喂,所获得的粪便样品即使不进行前处理也可获得足够高的信噪比,达到很高的可信度。所获得的I相代谢物及部分II相代谢物的谱学信息与

高等动物的相同,既可替代高等动物,降低伦理风险,又可为其他生物代谢研究提供谱学数据支撑,提高分析的完整性及准确性,值得进行更深入的研究。

### 参考文献:

- 董振霖,杨春光,徐天,等,2022.液相色谱-四极杆/飞行时间质谱法分析29种芬太尼类物质及其碎裂机理[J].色谱,40(1):28-40.
- 郭鸿钦,罗丽萍,杨宇航,等,2020.利用昆虫取食降解塑料研究进展[J].应用与环境生物学报,26(6):1546-1553.
- 黄昕,张超,周翠兰,等,2014.基于UFLC-Q-TOF-MS/MS技术的盐酸克林霉素棕榈酸酯分散片杂质的研究[J].中山大学学报(自然科学版),53(4):101-106.
- 林涛,曾兆华,朱珍珍,等,2019.10%噁唑酰草胺乳油对3种水生生物的急性毒性和风险评估[J].福建农林大学学报(自然科学版),48(4):418-422.
- 罗傲,陈恒辉,熊胜,等,2020.液相色谱-串联质谱法检测水稻中噁唑酰草胺及其代谢物残留[J].精细化工中间体,50(3):77-80.
- 罗雪琪,李娜,张丹,等,2020.噁唑酰草胺在蛋鸡排泄物中代谢产物研究[J].农药科学与管理,41(5):48-59.
- 王点点,陈源,宋宁慧,等,2012.10%噁唑酰草胺可湿性粉剂在稻田环境中的残留动态[J].农药,51(11):818-821.
- 杨静,牛艳,吴燕,等,2021.噁唑酰草胺及其代谢物在水稻上的残留检测方法和储藏稳定性研究[J].保鲜与加工,21(10):108-112.
- 张琪,胡安琪,范倩,等,2021.基于UPLC-Q-TOF-MS的柑普茶外果皮、鲜陈皮和鲜砂糖橘皮的全成分对比分析[J].中山大学学报(自然科学版),60(6):128-141.
- 张月,2020.超高效液相色谱-串联质谱法测定水稻中噁唑酰草胺残留量[J].中国农学通报,36(9):127-131.
- 曾仲武,姜雅君,2004.新稻田除草剂metamifop[J].农药,43(7):2.
- 左平春,臧晓霞,陈仕红,等,2016.稻稗对噁唑酰草胺的非靶标抗药性和对氟氯草酯的交互抗药性[J].杂草学报,34(4):28-32.
- BARIK S R, GANGULY P, PATRA S, et al, 2018. Persistence behavior of metamifop and its metabolite in rice ecosystem [J]. Chemosphere, 193: 875-882.
- DENG W, CAI J, ZHANG J, et al, 2019. Molecular basis of resistance to ACCase-inhibiting herbicide cyhalofop-butyl in Chinese sprangletop (*Leptochloa chinensis* (L.) Nees) from China [J]. Pestic Biochem Physiol, 158: 143-148.
- DONG W, LIU K, WANG F, et al, 2017. The metabolic pathway of metamifop degradation by consortium ME-1 and its bacterial community structure [J]. Biodegradation, 28(2/3): 181-194.
- HAMAMOTO H, KUROKAWA K, KAITO C, et al, 2004. Quantitative evaluation of the therapeutic effects of antibiotics using silkworms infected with human pathogenic microorganisms [J]. Antimicrob Agents Chemother, 48(3): 774-779.
- KAUNDUN S S, 2014. Resistance to acetyl-CoA carboxylase-inhibiting herbicides [J]. Pest Manag Sci, 70(9): 1405-1417.
- LV X T, LIU C, LI Y B, et al, 2014. Stereoselectivity in bioaccumulation and excretion of epoxiconazole by mealworm beetle (*Tenebrio molitor*) larvae [J]. Ecotoxicol Environ Saf, 107: 71-76.
- McCULLOUGH P E, YU J L, CZARNOTA M A, et al, 2016. Physiological basis for metamifop selectivity on bermudagrass (*Cynodon dactylon*) and goosegrass (*Eleusine indica*) in cool-season turfgrasses [J]. Weed Sci, 64(1): 12-24.
- MOON J K, KIM J H, SHIBAMOTO T, 2010. Photodegradation pathways and mechanisms of the herbicide metamifop in a water/acetonitrile solution [J]. J Agric Food Chem, 58(23): 12357-12365.
- ZHAO F, LI H, CAO F J, et al, 2019. Short-term developmental toxicity and potential mechanisms of the herbicide metamifop to zebrafish (*Danio rerio*) embryos [J]. Chemosphere, 236: 124590.