



**HAL**  
open science

# Production in vitro de métabolites de xénobiotiques et enrichissement de la base de données PeakForest afin d'améliorer leurs détections dans des matrices complexes

Théo Perion, Elodie Person, Sandrine S. Bruel, Laurent Debrauwer, Emilien Jamin

## ► To cite this version:

Théo Perion, Elodie Person, Sandrine S. Bruel, Laurent Debrauwer, Emilien Jamin. Production in vitro de métabolites de xénobiotiques et enrichissement de la base de données PeakForest afin d'améliorer leurs détections dans des matrices complexes. 16ièmes JS du RFMF, Jun 2024, Saint Malo (FR), France. hal-04623222

**HAL Id: hal-04623222**

**<https://hal.science/hal-04623222>**

Submitted on 25 Jun 2024

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Théo PERION<sup>1,2</sup>, Elodie PERSON<sup>1</sup>, Sandrine BRUEL<sup>1</sup>, Laurent DEBRAUWER<sup>1,2</sup>, Emilien JAMIN<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Toxalim (Research Center in Food Toxicology), Toulouse University, INRAE, ENVT, INP-Purpan, Toulouse, France

<sup>2</sup>MetaboHUB-Metatoul, National Infrastructure of Metabolomics and Fluxomics, Toulouse, France

## Introduction

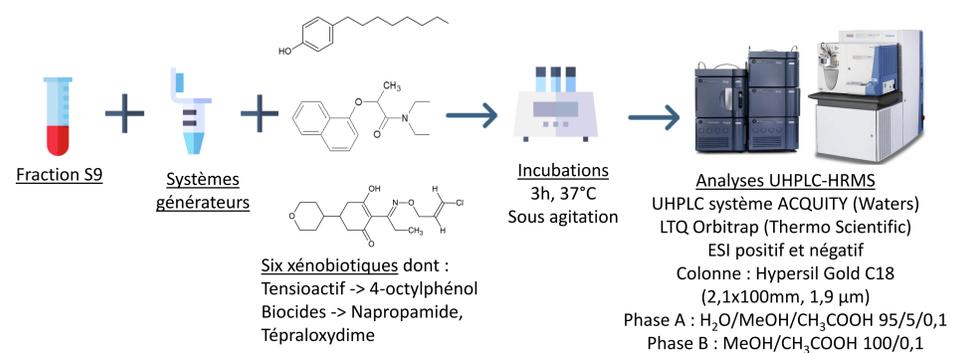
Les analyses métabolomiques non ciblées sont souvent confrontées à la présence de métabolites de contaminants, ce qui complique l'identification des biomarqueurs d'effets significatifs dans les échantillons humains. La rareté des composés commerciaux rend également difficile la confirmation de l'identité structurale de ces métabolites par spectrométrie de masse.

Ainsi, la création d'une base de données combinant les temps de rétention UHPLC et les spectres MS/MS se révèle essentielle. Cette démarche facilitera considérablement l'identification de ces composés dans diverses matrices.

**Objectif : Produire *in-vitro* des métabolites de standards de xénobiotiques (biocides domestiques, désinfectants, tensioactifs...) afin de faciliter leur identification lors d'analyses de matrices complexes.**



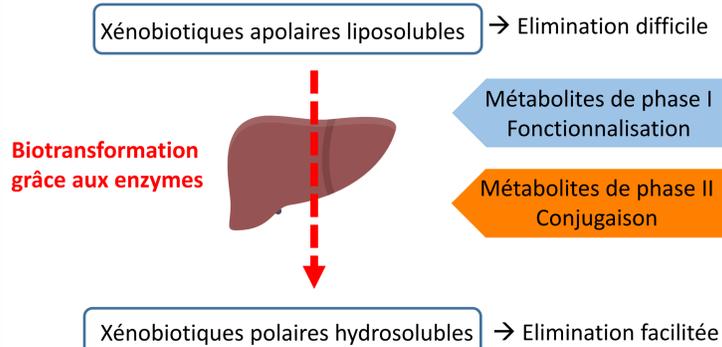
## Matériels et méthodes [1]



- Utilisation de fractions subcellulaires S9 hépatiques humaines.
- Enrichissement en protéines et systèmes générateurs spécifiques (enzymes + co-facteurs biologiques).
- Screening de métabolites suspectés selon expertise et selon le logiciel Metasense.
- Identification des métabolites par UHPLC-MS/MS.

## Résultats et discussions

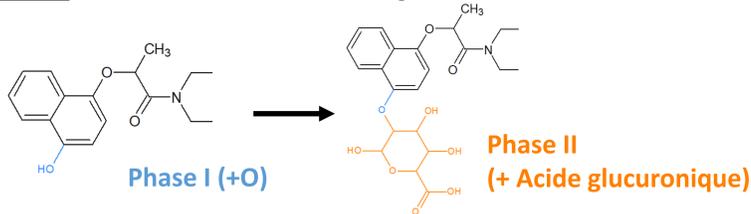
### Principe du métabolisme des xénobiotiques



### Métabolites de phase II

Les enzymes de cette phase ajoutent des groupements fonctionnels tels que l'acide glucuronique (GlcA), le sulfate (SO<sub>3</sub>) aux xénobiotiques modifiés par la phase I. Ce processus confère aux composés une meilleure solubilité dans l'eau et facilite leur élimination.

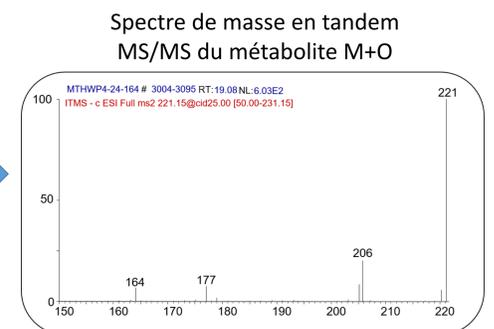
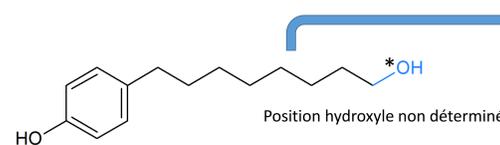
**Napropamide** : Désherbant efficace contre les graminées et les mauvaises herbes



### Métabolites de phase I

Les enzymes, notamment le cytochrome P450, altèrent chimiquement la structure des xénobiotiques par le biais de réactions d'oxydation, de réduction ou d'hydrolyse.

**4-Octylphénol**  
Tensioactif utilisé dans les peintures, les désinfectants pour améliorer la miscibilité des liquides



### Métabolites produits pour les six xénobiotiques

	Métabolite	4-nonylphénol	4-octylphénol	Napropamide	Tépraloxidime	Thiaclopride	Icaridine
m/z [M-H] <sup>-</sup>	Parent	219,1751	205,1597	X	340,1317	X	X
	M+O	235,1701	221,1543	X	X	267,0105	X
	M+SO <sub>3</sub>	299,1317	285,116	X	X	X	X
	M+O+SO <sub>3</sub>	X	301,1107	366,1007	X	X	X
	M+GlcA	395,2067	381,1915	X	X	X	404,1917
	M+O+GlcA	X	397,1859	462,1757	X	X	X
	DE-NPAM*+O+GlcA			434,1444			
	DE-NPAM*+O+SO <sub>3</sub>			338,0697			
	DP2*				248,1287		
	DP6*				251,1283		

■ Retrouvé dans les échantillons \* Nom trivial spécifique du xénobiotique correspondant [2]  
 X Non retrouvé dans les échantillons O : Hydroxyle SO<sub>3</sub> : Sulfate GlcA : Acide glucuronique

## Comment implémenter ces données de références dans PeakForest ?

➤ Génération des identifiants uniques InChI et InChIKey

Exemple du **Tépraloxidime** et de ses métabolites DP2 et DP6

➤ Identification des isotopes et des adduits de l'ion cible à partir du spectre de masse grâce au logiciel **MZmine 3**

➤ Obtention des fragments de la molécule par analyse MS/MS

➤ Regroupement de toutes ces informations dans un tableau Excel → Visualisation ici :

➤ Importation dans la base de donnée PeakForest :

## Conclusions

- Production de 16 métabolites à partir de six standards de xénobiotiques.
- L'utilisation de cette approche de génération de métabolites permet de palier au manque de standards pour de nombreux composés tels que les biocides, les tensioactifs, les plastifiants...
- La détection de ces métabolites dans différentes matrices biologiques sera rapide et permettra de se concentrer sur les biomarqueurs d'effets pertinents.

## Références

- [1] Al-Ayoubi et al., « Metabolism of versicolorin A, a genotoxic precursor of aflatoxin B1: Characterization of metabolites using *in vitro* production of standards », *Food and Chemical Toxicology*, (2022), 167, 113272
- [2] K. Kiefer et al., « New relevant pesticide transformation products in groundwater detected using target and suspect screening for agricultural and urban micropollutants with LC-HRMS », *Water Research*, (2019), 165, 114972

## Remerciements

MetaToul (Toulouse metabolomics & fluxomics facilities, <https://mth-metatoul.com/>) fait partie de l'infrastructure nationale française de métabolomique et de fluxomique MetaboHUB-ANR-11-INBS-0010.