

不饱和脂质氮杂环丙烷化反应 中间体的原位质谱分析

陈凯祥, 魏是奇, 陈素明

(武汉大学高等研究院, 湖北 武汉 430072)

摘要: 脂质结构决定生物功能, 对不饱和脂质 C=C 双键异构体的鉴定面临着挑战。直接的氮-甲基 (N-Me) 氮杂环丙烷化反应可以对不饱和脂质双键进行衍生, 通过与串联质谱结合可实现不饱和脂质双键位置的解析。然而, 目前 N-Me 氮杂环丙烷化反应机理研究尚缺乏中间过程的直接证据。本工作采用一种基于 θ 毛细管的纳升静电喷雾离子化质谱 (nESTASI-MS) 分析装置, 研究不饱和磷脂酰胆碱的氮杂环丙烷化反应过程, 捕获并鉴定了反应过程中的关键中间体, 为阐明氮杂环丙烷化反应机理提供了直接证据。

关键词: 质谱 (MS); 化学反应中间体; 氮杂环丙烷化反应; 双键位置鉴定

中图分类号: O657.63

文献标志码: A

文章编号: 1004-2997(2024)01-0149-08

doi: 10.7538/zpxb.2023.0102

In Situ Mass Spectrometric Analysis of Intermediates in Aziridination Reaction of Unsaturated Lipids

CHEN Kai-xiang, WEI Shi-qi, CHEN Su-ming

(The Institute for Advanced Studies, Wuhan University, Wuhan 430072, China)

Abstract: The structures of lipids determine their biological functions, and the identification of C=C double bond isomers in unsaturated lipids faces challenges. The direct nitrogen-methyl (N-Me) aziridination reaction allows for the derivatization of unsaturated lipid double bonds, which can combine with tandem mass spectrometry (MS/MS) to enable the resolving for positions of unsaturated lipid double bonds. However, current studies about the mechanism of the N-Me aziridination reaction lack direct evidence of intermediate processes. Here, a nano-electrostatic-spray ionization-mass spectrometry (nESTASI-MS) device based on a θ capillary was used to separate the reactants through the channels on both sides of the θ capillary, allowing the solutions to be mixed and react on-line during the electrospray process. This on-line mixing greatly shortened the residence time of the two reactants, providing for the successful capture and identification of short-lived intermediates during the reaction process. The device was used to study the reaction process of aziridination of unsaturated phosphatidylcholine (PC).

N-Methyl-*O*-(2,4-dinitrophenyl)hydroxylamine (*N*-Me-DPH) was used as the amination reagent, PC 36 : 2 as a representative substrate, and $\text{Rh}_2(\text{esp})_2$ as a catalyst to study the reactions of these three substances in different mixing modes. The results showed that *N*-Me-DPH pre-mixed with $\text{Rh}_2(\text{esp})_2$ may deactivate the catalyst and the relevant intermediates and products could not be observed. In the other two mixing modes, the key rhodium-nitrene intermediate and the ternary biradical intermediate containing the first C—N bond during the reaction were successfully captured and characterized, as well as the product containing 1-methyl aziridine structure, which provided key evidence for the mechanistic study of the direct aziridination reaction of *N*-Me. Derivatization of *N*-Me aziridination could generate the 1-methyl aziridine structure at the double bond position, which was susceptible to break during mass spectrometric collision-induced dissociation (CID) to generate fragment ions providing indicative information about the position of the double bond. The dissociation behavior of the protonated peak of its aziridination product in CID mode was examined using PC 36 : 2 as an example. The results showed that the abundance of fragment ions breaking at the 1-methyl aziridine structure was very low. Compared to the derived aziridine structure, the choline phosphate head group of PC was more likely to be lost during CID. Further collision-induced dissociation of the ion fragmentation peaks after the loss of the head group produced significant fragmentation of the aziridine structural unit, yielding fragment ions with C—N bond breaking near the acyl end and near the methyl end, respectively. The position of the double bond on the aliphatic chain could be easily determined from the mass of the fragment ions. This study provides a new *in situ* MS tool for the study of short-lived chemical reaction intermediates, which is expected to play an important role in the study of transient intermediate processes of chemical reactions.

Key words: mass spectrometry (MS); chemical reaction intermediates; aziridination reaction; double bond position identification

脂类物质是一类重要的生物分子,在生物系统中发挥着关键作用^[1-2],它们不仅是生物膜的重要组成部分,还在能量储存、信号转导等生物过程中扮演着重要角色^[3-4]。不饱和脂质是包含 1 个或多个碳-碳双键的脂质亚类,脂质双键的位置对其结构和功能有着重要影响,精确解析脂质双键异构体是深入理解不饱和脂质生物学功能的前提^[5]。质谱(mass spectrometry, MS)是分析脂质结构的有力工具^[6-7]。有研究表明,烯烃的臭氧分解反应^[8]、Paterno-Büchi 反应^[9]、环氧化反应^[10]、交叉复分解反应^[11]等均可用于脂质双键的活化和衍生,结合串联质谱可进行双键位置异构体的分析。其中,烯烃的氮杂环丙烷化反应是最新发现的一种脂质双键衍生方法^[12-14]。

烯烃的氮杂环丙烷化反应是合成氮丙啶化

合物的经典反应,通常使用催化剂将氮烯转移到 C=C 键上^[15-16]。最近,研究人员开发了一系列高效的 Rh(II)-催化氮杂环丙烷化反应,利用不同的胺化试剂从未活化的烯烃中直接制备氮丙啶^[17-18]。本课题组前期研究^[12]表明,*N*-甲基-*O*-(2,4-二硝基苯基)羟胺(*N*-Me-DPH)可在双[($\alpha, \alpha', \alpha', \alpha'$ -四甲基-1,3-苯二丙酸)铑]($\text{Rh}_2(\text{esp})_2$)催化剂的催化下与脂质双键高效反应生成 *N*-甲基氮丙啶结构,该反应条件温和,对脂质双键进行衍生后可生成具有高质子亲和势的氮丙啶结构,实现了脂质双键位置异构体的高灵敏分析鉴定。对于直接的 *N*-Me 氮杂环丙烷化反应,先前仅通过计算化学法推测 $\text{Rh}_2(\text{esp})_2$ 催化下 *N*-Me-DPH 与烯烃的氮杂环丙烷化反应机理,但铑-氮烯中间体的存在尚未得到直接验证^[17]。

本工作拟利用 θ 型毛细管代替常规纳升静电喷雾离子化质谱(nESTASI-MS)装置中的普通玻璃毛细管^[19-20],使 θ 毛细管两侧的溶液在电喷雾时进行在线混合和反应,然后进入质谱分析,以便捕获反应过程中的短寿命中间体。同时,以 *N*-Me-DPH 为胺化试剂,磷脂酰胆碱(PC 18 : 1/18 : 1)为代表性底物,研究 *N*-Me 氮杂环丙烷化反应的中间过程,希望为阐明氮杂环丙烷化反应机理提供数据支持。

1 实验部分

1.1 主要仪器与装置

Orbitrap Elite LTQ XL 高分辨质谱仪:德国 Thermo Fisher Scientific 公司产品,配有 Xcalibur 4.1 数据处理系统;DDS 数字合成函数信号发生器:中国国睿安泰信公司产品;10HVA24 高压放大器:美国 Advanced Energy 公司产品;24 V 直流电源:广东粤海电子产品公司;P-97 拉针仪:美国 Sutter 公司产品。

1.2 主要材料与试剂

磷脂酰胆碱 PC 36 : 2(18 : 1 (Δ 9)/18 : 1 (Δ 9))、PC 34 : 1 (16 : 0/18 : 1 (Δ 9)):美国 Avanti Polar Lipids 公司产品;三氟乙醇(TFE):纯度为 99.9%,北京伊诺凯科技有限公司产品;*N*-Me-DPH、 $\text{Rh}_2(\text{esp})_2$:上海毕得医药科技有限公司产品; θ 毛细管:美国 Harvard Apparatus 公司产品。

1.3 实验方法

使用拉针仪拉制毛细管,制备适用于 nESTASI-MS 的 θ 毛细管(1.5 mm \times 0.13 mm \times 0.17 mm),使其一端呈尖锐形状,作为反应底物的容器和 nESTASI-MS 的发射器。拉针仪参数条件为:HEAT=523,PULL=15,VEL=14,TIME=150。实验时,将 θ 毛细管固定在适配台上,使其尖端正对质谱仪的离子进样口,距离约 8 mm;毛细管尖端的下方放置 1 个垂直向上的圆形盘铂电极(外层为聚四氟乙烯材料,内部铂电极直径为 2 mm),毛细管与电极的距离约 5 mm;电极与脉冲高压装置(方波,频率 385 Hz,电压 8 kV)相连,从而在毛细管下方产生脉冲高压电场。检测样品时,在 θ 毛细管两侧通道各装入 10 μL 对应底物溶液,打开脉冲高压电源,毛细管尖端会形成静电喷雾使分析

物离子化后进入质谱分析,喷雾持续时间在 2 min 以上。

1.4 质谱条件

正离子模式,质量扫描范围 m/z 100~2 000,最大离子注入时间 100 ms,分辨率 60 000。

2 结果与讨论

2.1 基于 θ 毛细管的纳升静电喷雾离子化质谱分析装置的构建

基于 θ 毛细管的 nESTASI-MS 分析装置示意图示于图 1。当打开高压电源时,在 θ 毛细管和质谱仪进样口之间形成强大的脉冲电场,导致静电电荷在毛细管尖端裸露的溶液表面累积。有研究^[21]表明,当溶液表面的电荷累积过多时,表面张力将不足以阻止带电液滴形成喷雾,此时会突然形成静电喷雾使溶液中的待测分子离子化而被质谱检测。 θ 毛细管两侧的溶液会同时受到静电场的作用而喷射出来,并在管口处混合。因此,如果两侧装有不同的反应试剂,可以监测溶液在线混合后的反应过程。

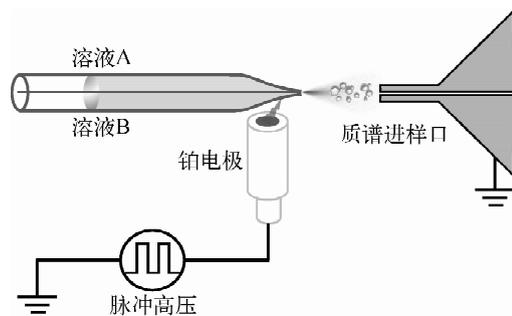


图 1 基于 θ 毛细管的纳升静电喷雾离子化质谱装置示意图

Fig. 1 Schematic of nano-electrostatic spray ionization-mass spectrometry device based on θ capillary

在 θ 毛细管两侧分别装入 TFE 和 1 mmol/L PC 36 : 2 溶液,打开电源后,可以稳定地观测到 PC 36 : 2 的质谱图,其中 m/z 786.603 0、808.582 3 分别是 PC 36 : 2 的质子化离子和钠离子加合离子,初步验证了该装置的可行性,示于图 2a。然后,测试该装置对 2 种溶液的检测能力,当在 θ 毛细管两侧分别装入 1 mmol/L PC 34 : 1、PC 36 : 2 溶液时,可同时观测到 2 种物质的质谱峰, m/z 782.567 9、808.581 5 分

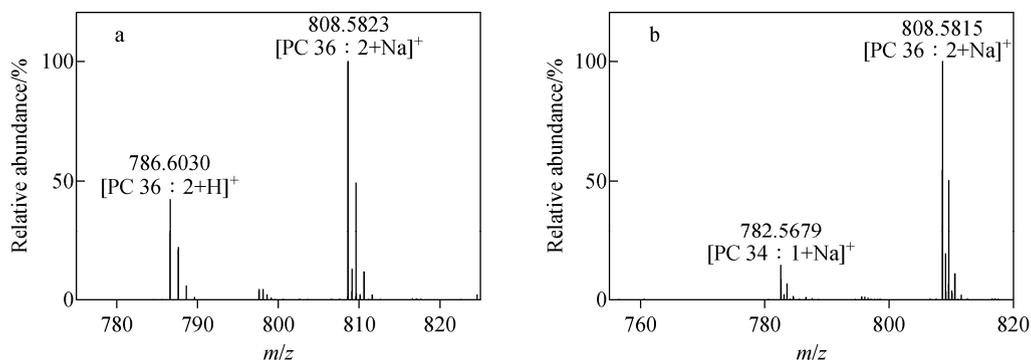
别是 PC 34 : 1、PC 36 : 2 的钠离子加合峰, 示于图 2b。该 θ 毛细管 2 个通道中的分析物可在喷雾离子化过程中混合, 然后进入质谱检测, 大大缩短了 2 种反应物混合后的停留时间, 为成功捕获反应过程中短寿命中间体提供了条件。

2.2 不饱和脂质的直接 *N*-Me 氮杂环丙烷化反应过程中间体研究

以 PC 36 : 2 和 *N*-Me-DPH 为反应物, $\text{Rh}_2(\text{esp})_2$ 为催化剂, 研究不同混合模式下的 *N*-Me 氮杂环丙烷化反应过程。根据文献^[17]推测的氮杂环丙烷化反应机理, PC 36 : 2 的 *N*-Me 氮杂环丙烷化反应可能的中间过程示于图 3。首先, *N*-Me-DPH 与催化剂 $\text{Rh}_2(\text{esp})_2$

反应生成铑-氮烯中间体 1, 同时失去 1 分子二硝基苯酚; 然后, 中间体 1 与 PC 36 : 2 的双键作用, 形成含有第 1 个 C-N 键的三元双自由基中间体 2; 最后, 形成第 2 个 C-N 键, Rh-N 键断裂, 生成含 1-甲基氮丙啶结构的产物。其中, 中间体 1 和中间体 2 是该反应可能的中间体, 但尚缺乏直接证据。

用 θ 毛细管 nESTASI-MS 装置研究反应过程。在第 1 种混合模式下, 以 TFE 为溶剂, 将催化剂 $\text{Rh}_2(\text{esp})_2$ 与 *N*-Me-DPH 溶液预混合, 使二者浓度分别为 0.1、1 mmol/L, 装入 θ 毛细管的一侧, 将 1 mmol/L PC 36 : 2 溶液装入另一侧, 然后进行 nESTASI-MS 分析, 结果示



注: a. θ 毛细管两侧分别装入三氟乙醇和 PC 36 : 2 溶液; b. θ 毛细管两侧分别装入 PC 34 : 1 和 PC 36 : 2 溶液

图 2 基于 θ 毛细管的 nESTASI-MS 装置验证

Fig. 2 Validation of the θ capillary-based nESTASI MS setup

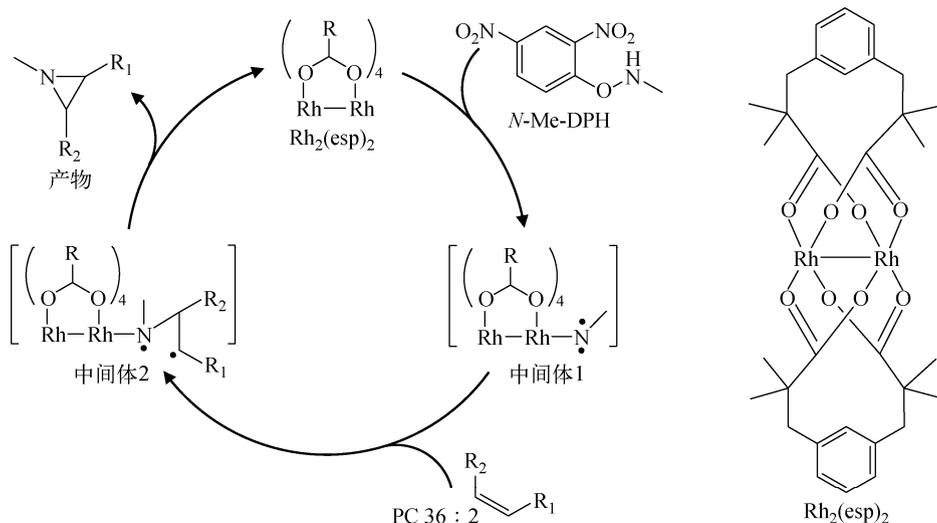


图 3 $\text{Rh}_2(\text{esp})_2$ 催化下 PC 36 : 2 与 *N*-Me-DPH 的氮杂环丙烷化反应可能的中间过程

Fig. 3 Possible intermediate process in the $\text{Rh}_2(\text{esp})_2$ -catalyzed aziridination reaction of PC 36 : 2 with *N*-Me-DPH

于图4。在质谱图中仅观察到PC 36:2的质子化峰(m/z 786.6007)和钠离子加合峰(m/z 808.5826),未检测到相关中间体和产物质谱峰。

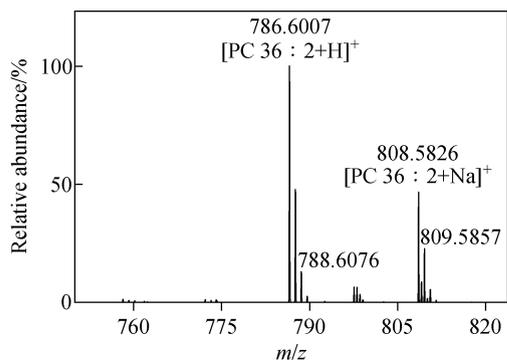


图4 第1种混合模式下的 θ 毛细管nESTASI质谱图

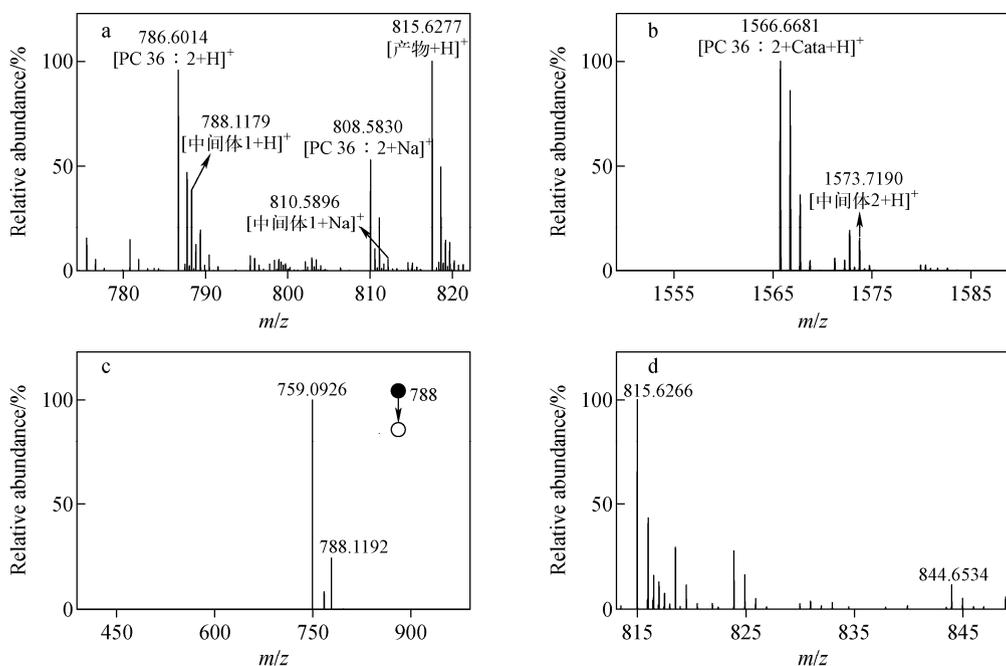
Fig. 4 θ Capillary-based nESTASI mass spectrum in the first mixing mode

在第2种混合模式下,将PC 36:2与催化剂 $\text{Rh}_2(\text{esp})_2$ 溶液预混合,使二者浓度分别为1、0.1 mmol/L,装入 θ 毛细管的一侧,将1 mmol/L N-Me-DPH溶液装入另一侧,然后进行nESTASI-MS分析,结果示于图5。可见,检

测到铈-氮烯中间体1的加氢峰(m/z 788.1179)和加钠峰(m/z 810.5896),氮杂环丙烷化产物的加氢峰(m/z 815.6277),以及三元双自由基中间体2的质子化离子峰(m/z 1573.7190)。通过对中间体1进行串联质谱分析,进一步确证其结构,示于图5c。虽然PC 36:2含有2个双键,但仅单个双键发生反应的产物是主要产物,且任一双键发生反应的产物质量数均相同。此外,还检测到2个双键同时发生反应的产物,其质子化离子峰为 m/z 844.6522,示于图5d。虽然其强度仅为单个双键反应产物的10%,但可为多个双键位置的同时鉴定提供可能。

在第3种混合模式下,将PC 36:2与N-Me-DPH预混合,使其浓度均为1 mmol/L,装入 θ 毛细管的一侧,将0.1 mmol/L催化剂 $\text{Rh}_2(\text{esp})_2$ 装入另一侧,然后进行nESTASI-MS分析,结果示于图6。可见,检测到中间体1的加氢峰(m/z 788.1186)和加钠峰(m/z 810.5905),以及产物的加氢峰(m/z 815.6288),表明在这种混合模式下可以发生反应,但产物的量较少。

仅在第1种混合模式下未观察到中间体和

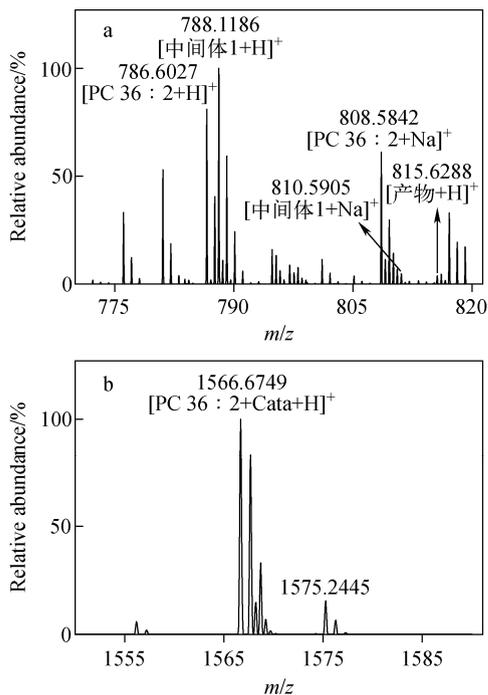


注:a. 低质量区;b. 高质量区;c. 中间体1的二级质谱图;d. PC 36:2 单个双键反应产物和2个双键反应产物质谱图

图5 第2种混合模式下的 θ 毛细管nESTASI质谱图

Fig. 5 θ Capillary-based nESTASI mass spectra in the second mixing mode

产物,推测 *N*-Me-DPH 与 $\text{Rh}_2(\text{esp})_2$ 混合可能会使催化剂失活,继而影响 *N*-Me-DPH 与 PC 36 : 2 的进一步反应。同时,也体现了本工作开发的具有在线混合反应功能的 θ 毛细管 nESTASI-MS 装置的优势。



注:a. 低质量区;b. 高质量区

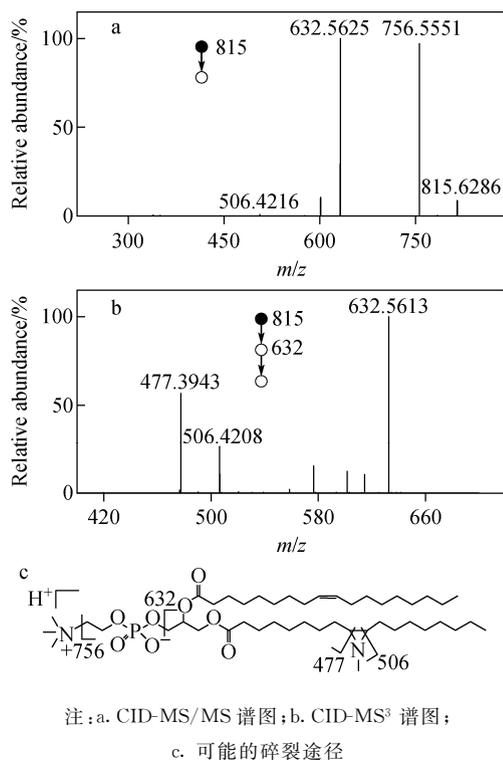
图6 第3种混合模式下的 θ 毛细管 nESTASI 质谱图

Fig. 6 θ Capillary-based nESTASI mass spectra in the third mixing mode

2.3 *N*-Me 氮杂环丙烷化反应用于脂质双键位置的鉴定

N-Me 氮杂环丙烷化衍生可以在双键处生成 1-甲基氮丙啶结构,该结构在质谱碰撞诱导解离(CID)过程中容易发生断裂,生成指示双键位置信息的碎片离子。本研究以 PC 36 : 2 为例,考察其氮杂环丙烷化产物的质子化离子在 CID 模式下的解离行为。衍生产物离子的 CID-MS/MS 谱图示于图 7a,出现了 2 个较高的质谱峰 m/z 756.555 1 和 632.562 5,分别是产物离子失去磷酸胆碱头基末端的 $\text{N}(\text{CH}_3)_3$ 和整个磷酸胆碱头基得到的。同时,在 1-甲基氮丙啶结构处断裂得到的碎片离子 m/z 506.421 6 丰度较低。以上结果表明,相较于衍生的氮丙啶结构,PC 的磷酸胆碱头基在 CID

过程中更易丢失。为得到相对丰度更高的双键诊断离子,进一步对丢失头基的碎片离子 m/z 632.562 5 进行 CID,得到 PC 36 : 2 衍生产物的三级质谱图,示于图 7b。在此条件下,氮丙啶结构发生了明显碎裂,分别得到靠近酰基端和甲基端的 C-N 键断裂生成的碎片离子 m/z 477.394 3 和 506.420 8。通过碎片离子质量可以判断双键的位置在 $\Delta 9$ 位。由于 PC 36 : 2 另 1 条脂肪链上的双键位置也在 $\Delta 9$ 位,因此无论是哪 1 个双键被衍生,得到的产物碎片离子均相同。从衍生产物离子的二级和三级质谱图上没有观察到指示其他双键位置信息的离子,表明 PC 36 : 2 中没有双键在其他位置的脂肪链。因此,推测 PC 36 : 2 的精确结构是 PC 18 : 1 ($\Delta 9$)/18 : 1 ($\Delta 9$)。



注:a. CID-MS/MS 谱图;b. CID-MS³ 谱图;
c. 可能的碎裂途径

图7 PC 36 : 2 氮杂环丙烷化衍生产物用于 C=C 键位置的鉴定

Fig. 7 Location identification of C=C bond by aziridination product of PC 36 : 2

甲基取代的氮丙啶结构具有较高的质子亲和势(934.8 kJ/mol)^[22],因此,不饱和脂质进行氮杂环丙烷化标记后,在电喷雾质谱分析中具有较高的灵敏度,可以提高复杂体系中脂质

双键异构体的鉴定效率。本课题组^[12]研究表明, *N*-Me 氮杂环丙烷反应结合液相色谱-质谱联用法可实现人血清中大量脂质异构体的鉴定。将本研究的基于纳升静电喷雾离子化的直接进样方法, 与 *N*-Me 氮杂环丙烷化衍生反应相结合, 可用于复杂生物样本中脂质双键异构体的鉴定。

3 结论

本工作使用基于 θ 毛细管的纳升静电喷雾离子化质谱分析装置, 实现了不同反应物的在线混合和质谱监测, 通过研究不同混合模式下的氮杂环丙烷化反应过程, 直接观测到了 *N*-Me 氮杂环丙烷化反应过程中的铈-氮烯中间体和三元双自由基中间体, 为该反应机理的确定提供了关键信息, 该装置也为反应过程中短寿命中间体的捕获和鉴定提供了有效方法。

参考文献:

[1] van MEER G, VOELKER D R, FEIGENSON G W. Membrane lipids: where they are and how they behave[J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2008, 9(2): 112-124.

[2] HAO Y, ZHANG Z, FENG G, CHEN M, WAN Q, LIN J, WU L, NIE W, CHEN S. Distinct lipid metabolic dysregulation in asymptomatic COVID-19[J]. *iScience*, 2021, 24(9): 102 974.

[3] LEMMON M A. Membrane recognition by phospholipid-binding domains[J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2008, 9(2): 99-111.

[4] WYMAN M P, SCHNEITER R. Lipid signaling in disease[J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2008, 9(2): 162-176.

[5] PORTA SIEGEL T, EKROOS K, ELLIS S R. Reshaping lipid biochemistry by pushing barriers in structural lipidomics[J]. *Angewandte Chemie (International Ed in English)*, 2019, 58(20): 6 492-6 501.

[6] FENG G, GAO M, WANG L, CHEN J, HOU M, WAN Q, LIN Y, XU G, QI X, CHEN S. Dual-resolving of positional and geometric isomers of C=C bonds via bifunctional photocycloaddition-photoisomerization reaction system [J]. *Nature Communications*, 2022, 13(1):

2 652.

[7] FENG G, HAO Y, WU L, CHEN S. A visible-light activated [2+2] cycloaddition reaction enables pinpointing carbon-carbon double bonds in lipids[J]. *Chemical Science*, 2020, 11(27): 7 244-7 251.

[8] THOMAS M C, MITCHELL T W, BLANKSBY S J. Ozonolysis of phospholipid double bonds during electrospray ionization: a new tool for structure determination[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2006, 128(1): 58-59.

[9] MA X, XIA Y. Pinpointing double bonds in lipids by Paternò-Büchi reactions and mass spectrometry[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2014, 53(10): 2 592-2 596.

[10] ZHAO Y, ZHAO H, ZHAO X, JIA J, MA Q, ZHANG S, ZHANG X, CHIBA H, HUI S P, MA X. Identification and quantitation of C=C location isomers of unsaturated fatty acids by epoxidation reaction and tandem mass spectrometry [J]. *Analytical Chemistry*, 2017, 89(19): 10 270-10 278.

[11] KWON Y, LEE S, OH D C, KIM S. Simple determination of double-bond positions in long-chain olefins by cross-metathesis[J]. *Angewandte Chemie (International Ed in English)*, 2011, 50(36): 8 275-8 278.

[12] FENG G, GAO M, FU R, WAN Q, WANG T, ZHANG Z, CHEN S. Direct *N*-Me aziridination reaction enables pinpointing C=C bonds in lipids with mass spectrometry[J]. *bioRxiv*, 2022, doi: 10.1101/2022.04.24.489320.

[13] ZHANG B, WANG Y, ZHOU B, CHENG J, XU Q, ZHANG L, SUN T Q, ZHANG J, GUO Y. Chloramine-T-enabled mass spectrometric analysis of C=C isomers of unsaturated fatty acids and phosphatidylcholines in human thyroids[J]. *Analytical Chemistry*, 2022, 94(16): 6 216-6 224.

[14] WAN Q, XIAO Y, FENG G, DONG X, NIE W, GAO M, MENG Q, CHEN S. Visible-light-activated aziridination reaction enables simultaneous resolving of C=C bond location and the *sn*-position isomers in lipids[J]. *Chinese Chemical Letters*, 2023: 108 775.

[15] MÜLLER P, FRUIT C. Enantioselective catalytic aziridinations and asymmetric nitrene insertions

- into CH bonds[J]. *Chemical Reviews*, 2003, 103(8): 2 905-2 920.
- [16] NAKANISHI M, SALIT A F, BOLM C. Iron-catalyzed aziridination reactions[J]. *Advanced Synthesis & Catalysis*, 2008, 350(11/12): 1 835-1 840.
- [17] JAT J L, PAUDYAL M P, GAO H, XU Q L, YOUSUFUDDIN M, DEVARAJAN D, ESS D H, KÜRTIL, FALCK J R. Direct stereospecific synthesis of unprotected *N*-H and *N*-Me aziridines from olefins[J]. *Science*, 2014, 343 (6 166): 61-65.
- [18] SABIR S, PANDEY C B, YADAV A K, TIWARI B, JAT J L. Direct *N*-H/*N*-Me aziridination of unactivated olefins using *O*-(sulfonyl) hydroxylamines as aminating agents[J]. *The Journal of Organic Chemistry*, 2018, 83(19): 12 255-12 260.
- [19] WU L, WAN Q, NIE W, HAO Y, FENG G, CHEN M, CHEN S. High-throughput nano-electrostatic-spray ionization/photoreaction mass spectrometric platform for the discovery of visible-light-activated photocatalytic reactions in the picomole scale[J]. *Analytical Chemistry*, 2021, 93(43): 14 560-14 567.
- [20] WAN Q, CHEN K, DONG X, RUAN X, YI H, CHEN S. Elucidating the underlying reactivities of alternating current electrosynthesis by time-resolved mapping of short-lived reactive intermediates[J]. *Angewandte Chemie (International Ed in English)*, 2023, 62(40): e202306460.
- [21] QIAO L, SARTOR R, GASILOVA N, LU Y, TOBOLKINA E, LIU B, GIRAULT H H. Electrostatic-spray ionization mass spectrometry [J]. *Analytical Chemistry*, 2012, 84(17): 7 422-7 430.
- [22] HUNTER E P L, LIAS S G. Evaluated gas phase basicities and proton affinities of molecules: an update[J]. *Journal of Physical and Chemical Reference Data*, 1998, 27(3): 413-656.

(收稿日期:2023-08-31;修回日期:2023-12-19)