第 23 卷 第 4 期
2002 年 11 月

质 谱 学 报
Journal of Chinese Mass Spectrometry Society

Vol. 23 No. 4
Nov. 2002

质谱在新药研究中应用的回顾

梁晓东
(军事医学科学院放射医学研究所, 北京 100850)

[作者简历]: 梁晓东, 男, 1975 年生, 河南镇平人。1998 年毕业于北京师范大学化学系, 军事医学科学院放射医学研究所在读硕士, 药物分析专业。主要从事肿瘤放射增敏剂药物的分析研究。

摘要: 回顾了质谱在新药研究中的一些应用, 包括新药合成、化学结构确证、质量控制以及药物代谢物的鉴定等。综述了基质辅助激光解吸电离/飞行时间质谱(Matrix-assistant laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry, MALDI/TOFMS)、电喷雾电离质谱(Electrode spray ionization mass spectrometry, ESI-MS)等仪器及其联用技术在生物大分子药物研究, 包括蛋白质组学、肽图谱、氨基酸序列、核苷酸分析等方面的进展, 展望了质谱在未来生命科学中广阔的应用前景。

关键词: 质谱学; 新药研究; 综述; 药物合成; 结构确证; 药物代谢
中图分类号: O 657.63; R 917 **文献标识码**: A **文章编号**: 1004-2997(2002)04-0234-07

质谱(MS)作为一种常用的分析技术[1], 有高灵敏度、高鉴别力, 并能与其他分离、分析手段如气相色谱-质谱(GC/MS)、高压液相色谱质谱(HPLC/MS)、超临界色谱/质谱(SFC/MS)、串级质谱(MS/MS)等相互兼容, 成为促进多学科研究的重要手段, 因此近年来发展迅速, 不仅应用学科领域广泛, 而且仪器种类也在不断改进。

早期的质谱研究工作是与同位素的测定密切相关的。1910 年, 英国的 Thomson 研制了世界上第一台现代意义上的质谱仪器, 这台质谱仪的诞生标志着质谱学的建立; 1918 年, 美国芝加哥大学的 Dempster 成功研制了 180°扇形磁场方向聚焦型质谱计, 此台仪器成了以后多种磁场型仪器的原始模型; 1934 年诞生的双聚焦质谱仪是质谱学发展的又一个里程碑, 在此之前创立的离子光学理论为仪器的研制提供了理论依据, 该仪器分辨率大大提高, 为原子量的精确测定奠定了基础; 二战期间, 质谱进入了实际应用时期, 首先是美国的核武器研究计划, 需要大量的 ^{235}U, 使质谱仪进入了军事科学领域, 同时在石油工业得到应用; 50 年代是质谱技术飞速发展的时期[1]。尤其值得一提的是 1957 年 Morell 和 Holmes 实验小组首次在实验室实现了色谱-质谱联用技术。由于色谱法的分离效能和质谱计的高灵敏度及高鉴别力, 色谱-质谱联用技术发展非常迅速, 特别是在复杂混合有机物分析方面占

收稿日期: 2002-09-20
作者简介: 梁晓东(1975～), 男(汉族), 河南镇平人, 药物分析专业
E-mail: llxxddoo75@sohu.com

© 1994-2006 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

有独特的地位, 从而为药物分析开辟了道路[2～4]。

最近 30 年质谱学在各个方面都获得了极大的进展。新的离子化方法不断出现, 1981 年 Barber 研究小组发现的快原子轰击质谱(FBA-MS)是一种软电离技术, 因能分析高极性难挥发和热不稳定性的化合物而倍受关注, 1984 年美国耶鲁大学 John Fnnn 小组首次发表了电喷雾电离质谱(ESI-MS)研究成果, 并于 4 年后首次成功地进行了蛋白质分析, 1988 年 Tanaka 和 Hillenkamp 两研究小组提出了基质辅助激光解吸电离/飞行时间质谱(MALDI/TOFMS), 该方法在最近几年的生物大分子研究中尤为突出。MALDI 依靠激光激发底物复杂的电子跃迁而达到电离。目前可用于核苷酸、多肽、蛋白质、糖蛋白以及高聚糖的飞行鉴别, 其灵敏度和精确度极高。联用技术是目前物质分析中的热点, 随着接口技术的突破, 联用技术及其组合方式正在迅速增加, 除了传统的 GC/MS、HPLC/MS 外, 利用 SFC-MS、MS/MS 进行选择监测也具有很高的选择性, 因而具有很好的定量灵敏度和可靠性, 目前这一技术也成为发达国家药物质控的热门手段。同时, 液相色谱-核磁共振-质谱联用仪器(LC/NMR/MS)也已应用于研究中。

必须指出, 计算机技术的发展是现代质谱仪器不可或缺的一部分, 主要功能是仪器状态的控制和实验数据的处理。很难想象一台没有计算机数据处理系统的色谱-质谱联用仪器如何获得和处理那么多的实验数据, 更不用说计算机检索及人工智能图谱解析了。在仪器发展的同时, 各种与色谱有关的理论研究广泛开展也大大丰富了质谱科学[5]。

1　质谱在新药研究中的应用

1.1　合成过程中、反应完成时检测

利用 GC/MS 联用技术对合成过程中不同时间内的反应物进行比较分析, 了解各物质的含量和组成的不同, 可以得出反应是否已经完成, 并计算反应产率, 对不同的合成路线做出比较, 同时可以知道反应产物中的相关物质, 运用 HPLC 和 LC/MS 法可对相关物质进行研究。在高分子合成反应中, 还可以利用质谱联用技术对反应进行监测和对产物进行直接鉴定而不需要纯化, 比传统的十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)测定方法要精确很多[6]。也可利用快原子电力飞行质谱(FT/ICR-MS)技术准确测定质量, 通过待测样品分子量的准确测定, 确定其元素组成, 并对碎片离子准确质量测定, 推测可能的裂解途径, 推断物质的结构。在有机合成反应中, 常常有副产物发生, 因此有时所得到的产物不是预期的化合物, 而是副反应产物, 在这方面质谱可提供巨大的方便。中国药科大学盛龙生科研小组在合成抗高血压新药 MX-2(代号)中, 利用傅立叶变换质谱法测定了副反应产物 N-(4-氯苯甲酰)二环己基脲[7,8]。这一实验充分体现了质谱在准确测定化合物分子量以及在未知物鉴定中的作用。

1.2　化学结构确证

可以说质谱的作用就是与其确定物质的结构分不开的。不管它与什么仪器联用, 最终都是将被测物进行结构确证。在这方面, 质谱的多功能性, 超过了其他所有研究有机和无机化合物的仪器方法[9]。在新药沙纳唑的结构确定中, 骆传环[10]科研小组重点利用 MS 的 FAB、高分辨快原子轰击(HRFAB)、EI、高分辨电喷雾电离(HREI)谱图进行比较, 再配合红外(IR)、紫外(UV)、核磁共振(NMR)以及 X-射线衍射等鉴定结果, 最后确证了沙纳唑的化学结构。用 GC/MS 为识别手段, 确定了中药辛夷挥发油提取的优选工艺为: 辛夷粗粉采用水蒸汽蒸馏法提取 3～4 h, 回收率大约为 86%[11]。用 MS、UV、IR、NMR 等确定新药的结构也是一类新药申报资料中必不可缺的组成部分。

1.3　质量研究

新药的质量研究包括纯度检查、含量测定等。它作为新药研究的一个主要组成部分, 对药物的安全性和稳定性及其实用价值有十分重要的意义, 因此必须建立有效的分析检测手段。在这方面, 质谱起着不可替代的作用。用 HPLC/MS 法既可进行杂质的分离又可进行结构和定量测定, 制定新药中杂质的检查方法, 同时研究制定药物含量的测定方法。现在申报的新药无一例外的都利用该方法进行质量研究, 当然还有其他方法也可考虑。还有一些药物在不同条件下或生产存贮过程中会产生相关物质, 例如用液相色谱-电喷雾电离质谱(LC/ESI-MS)法分析了克拉霉素分别在酸、碱、氧化和光照下的降解产物。克拉霉素的酸降解产物的 LC/MS 总离子流图

© 1994-2006 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

谱示于图1。实验结果为研究克拉霉素的稳定性及开发新制剂提供了参考依据。肽图谱是基因工程蛋白质药物质量控制的主要组成部分，应用LC/MS测定重组的L-天门冬酰胺酶Ⅱ的胰蛋白酶的降解肽图谱，同时获得了共振指纹谱和质量肽图谱。L-天门冬酰胺酶Ⅱ的ESI-MS图谱及分子量示于图2，其带亚甲基的理论分子量是34 549，以甲醇-水-醋酸作溶剂所得样品溶液用流动注射进样，测得的相对分子量为34 591，质量准确度相对偏差为0.015%。显然，这样的准确度是常规测定蛋白质分子量SDS-PAGE法所不能比拟的。对于糖蛋白药物的质量控制来说，糖蛋白分子量的测定是十分关键的，通过分子量的测定可确定糖的含量，但由于糖的影响，SDS-PAGE法测定误差较大，质谱法是最准确的测定方法，测定过程简便快速，已成为蛋白质分子量测定的常规方法。用MALDI/TOFMS可测定的分子量无理论上限[12]。

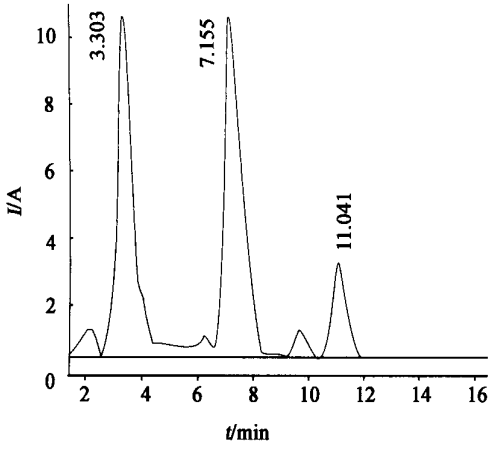

图1 克拉霉素的酸降解产物的LC/MS总离子流图

Fig 1 TIC of the LC/MS-acid degradation product of clarithromycin

1.4 药物代谢研究

药物的代谢转化是指药物进入机体后，在体内进行一些反应，发生结构变化，使脂溶性的药物获得极性基团，增加水溶性，而利于从肾及胆道排泄的过程[13]。药物代谢的研究一般有两种途径[14]。一种途径是通过薄层色谱、高效液相色谱等手段从体内外代谢样品中分离、检测、制备代谢物纯品，然后利用紫外、红外、核磁共振、质谱等手段进行结构鉴定；另一途径是以质谱为结构鉴定基础的色谱-质谱联用方法，并辅以同位

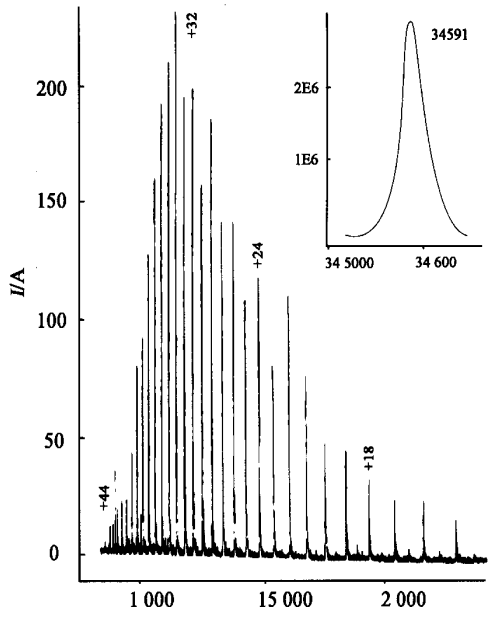

图2 L-天门冬酰胺酶Ⅱ的ESI-MS图谱及分子量

Fig 2 ESI-MS and molecular weight of L-asparaginase Ⅱ

素标记、衍生化反应以及纯品对照等手段，对代谢产物进行结构鉴定。后者尤其适合于生物体液中药物及其代谢产物的定性、定量测定与药物代谢动力学方面的研究。近年来，各种LC/MS接口的研制成功及商品化，使LC/MS成为药物代谢及药物代谢动力学研究的有力工具。与GC/MS技术相比，LC/MS的样品前处理简单，一般不需要水解或衍生化处理，可直接用于药物代谢物的分离与鉴定。其中TS-LC/MS较为成熟，灵敏度高，在药物代谢研究中已广泛应用[14,15]。新近出现的大气压电离技术，电喷雾和大气压化学电离技术，是LC/MS联用接口方面的一大进步，国外已有商品供应，应用日益广泛。总之，随着质谱技术以及接口技术的不断发展，LC/MS将最终成为药物代谢及药物代谢动力学十分有利的分析手段。近几年来更软的电离方法ESI和MALDI两种离子化技术开始受到重视并得到广泛应用。其中ESI和APCI离子化在药物代谢研究的应用中最广泛[16]，如Poon GK等[17]用ESI的LC/MS技术成功地分离了人血中抗肿瘤药萜二烯-1,8(Limonene)的5个代谢产物；Tomlinson等[18]用ESI接口的CE/MS技术成功地分离鉴定了神经抑制药Haloperido的代谢产物并确定其代谢途径。MS/MS、LC/MS/MS

© 1994-2006 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

技术的联用也显示了广阔的应用前景。其特点是高分辨能力低噪音, 可用于研究结构和碎片反应, 并可直接分离分析多组分的混合物尤其是痕量分析。F. Streit 等[19]用 ESI-MS/MS 分离鉴定了人肝微粒中免疫抑制剂的三个代谢物和一个降解物; Poon GK 等[20]用 LC/MS/MS 分离鉴定了马尿等复杂生物介质中赛拉嗪代谢物, 并确定了四种代谢物结构。总之, 随着质谱技术以及接口技术的不断完善, 色谱-质谱联用技术将成为药物代谢及药物代谢动力学最重要的分析手段。

2　质谱及其联用技术在生物大分子药物研究中的应用

随着分子生物学、细胞生物学、分子遗传学、生物化学等学科的不断发展, 人们不仅能够纯化出许多天然的多肽与蛋白质药物, 而且可以通过基因重组技术合成出许多新的多肽与蛋白质药物, 如重组人生长激素、白介素、干扰素等, 为了保证多肽和蛋白质药物的安全性、有效性和稳定性, 分子量、肽图谱和氨基酸序列的一级结构测定研究是重要环节, 质谱法在研究生物大分子的组成和结构方面占有极其重要的地位。最近二十年来, 伴随着 ESI 和 MALDI 质谱及其联用技术的迅速发展和商品化仪器的不断成熟, 逐渐形成了一门新兴的质谱分支学科——生物质谱学。生物质谱技术的发展为蛋白质化学提供了有力的分析工具, 因而迅速取代其他方法成为蛋白质分析的主流。该分析方法是目前分析化学和生物化学相当活跃的研究前沿[21]。

2.1　多肽及蛋白质分析

蛋白质是生物体中含量最高、功能最重要的一类生物大分子, 在生命科学中占有重要地位。它的结构分析是生命科学的重要课题, 质谱法作为这一分析的有力工具, 越来越受到人们的重视。由于 MALDI-MS 具有直接测定, 简单快速、准确度高等测定的优点, 已成为蛋白质分析的常规方法。目前用二维聚丙烯酰胺凝胶电泳(2D-PAGE)分离辅以质谱检测已成为蛋白质组学研究的常用的有效的手段之一。

为了测定某一目标蛋白, 除了准确测定其分子量和结构外, 还应测定其肽图谱及氨基酸的顺序尤其 N 端封闭、有后转译修饰的情况下, 将化学或酶降解法与 HPLC/MS(包括 MS/MS)相结合, 是一种测定肽图谱和氨基酸序列的有效方法。常用的是用质谱法分析由胰蛋白酶降解所得的肽段。在序列测定时, 由于碱性氨基酸残基在 C 端, 经过碰撞诱导解离(CID)所得产物的离子质谱易于解析。

近年来用质谱法研究蛋白质的非共价复合物日益得到重视, 包括抗体-抗原、蛋白质-辅助因子、受体-配体和酶-底物等, 这些工作虽可以用 MALDI-MS 完成, 但多数工作是用 ESI-MS 完成的[22]。目前质谱法分析主要是测定蛋白质的一级结构, 包括分子量、肽链中氨基酸的排列顺序, 以及多肽键或二硫键的数目和位置等[23]。质谱法分析蛋白质的高级结构正在研究中[24]。蛋白质可逆磷酸化是最普遍、最重要的一种蛋白翻译后修饰(PTM)。在哺乳动物细胞中大约有三分之一的蛋白质被认为是磷酸化修饰的。蛋白质组学研究的一个重要方面就是蛋白质磷酸化修饰的分析鉴定, 质谱已经成为解释蛋白质翻译后修饰和蛋白质一级结构分析的一个不可缺少的工具。Jonscher 的研究小组[25]用 MALDI-四极杆离子阱质谱(MALDI/QIT-MS)成功地发现了仙台病毒 P 蛋白的两个磷酸化位点。Mathias Wind 等[26]使用毛细管液相色谱分离磷酸化蛋白, 以 ICP/MS 联用检测鉴定 ^{31}P, 电喷雾质谱进行磷酸化蛋白分析。近年来用 ESI/QIT-MS 来研究蛋白质磷酸化位点也成为一种趋势[27]。但是, 使用 MALDI/TOFMS 虽能测定蛋白质的精确分子量, 可是对样品的纯度要求高, 且获得的结构信息少, 对质谱的质量分辨率要求高, 仪器价格昂贵。而 HPLC/ESI-MS 技术分析时间长, 样品消耗量大, 一次酶解产物仅能满足单次分析的需要, 不利于对分析条件进行优化以获得最佳的分析结果。鉴于此, 改进的 CE/ESI-MS 法可满足一些特殊的测定要求。最近上市的 Q-Star(ESI-QqTOF)质谱仪在传统电喷雾质谱仪的基础上, 采用双重四极杆与飞行时间质量分析器串联, 因而大大提高了仪器的分辨率、灵敏度和质量范围, 其质量准确度可达 5 μD[28], 能鉴别普通质谱所无法区分的赖氨酸(Lys)和谷氨酰胺(Gln)残基, 在蛋白质鉴定和多肽序列分析方面占有独特的优势。王英武等[29]利用该质谱仪分别测定了三种人工合成寡肽的精确分子量, 并成功地利用 MS/MS 技术对它们的一级结构进行了鉴定, 为蛋白质组学研究提供了一种快速、

© 1994-2006 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

准确鉴定寡肽的新方法。

2.2 肽图谱及氨基酸序列的分析

肽图谱分析是蛋白药物分析的常规手段,药品标准一般采用胰蛋白酶水解,HPLC分离肽段,通过和标准蛋白药物对比来进行质量控制。LC/MS联用的肽图谱测定技术日益成熟。它是将蛋白质用蛋白内切酶或化学试剂如溴化氰降解后,用质谱联用技术直接测定所得的肽段化合物中各特定肽段的质量而获取蛋白质的质量肽图谱。对于基因重组的蛋白质药物来说,根据其肽段的质量,确定其在整个蛋白质链中的位置验证重组蛋白质的一级结构是否与天然品一级结构一致[30]。固肽合成技术是现代蛋白质化学的一项关键技术,但是肽合成技术往往由于各种因素的影响,难以得到纯度合格的多肽产品,质谱学特别是MALDI/TOFMS技术在这方面起了非常大的的作用[31]。肽图谱是基因工程蛋白质药物质量控制的重要组成部分,用质谱可测定某些蛋白质降解后的肽图谱,同时获得其指纹图谱和质量肽图谱,从而来确认蛋白质。应用LC/UV/MS测定重组的L-天门冬酰胺酶Ⅱ的胰蛋白酶降解肽图谱示于图3。运用MALDI-MS测定蛋白质分子中氨基酸顺序的方法有两种,一种是基于对经典Edman降解反应的改进,另一种方法是将蛋白质外切酶降解与MALDI-MS相结合,测定由一个母肽段在不同酶解程度下依次丢失N端C端氨基酸产生的一系列不同长短的子肽段的混合物,由质谱图中相邻各峰之间的质量差依次读出N端C端氨基酸的顺序[32]。

2.3 核苷酸分析

由于核苷酸是极性较大的一类化合物,因此用MALDI-MS和ESI/MS进行核苷酸的测定比较困难[33,34]。但是,人们通过质谱仪技术的改进,使质谱法在核苷酸的分析上取得了很大进展。延迟离子引出技术大大提高了MALDI/TOFMS测定核苷酸的质量准确度和分辨率。测定12~60个核苷酸的分子量,准确度相对偏差小于0.1%,测定10^4的核苷酸可以获得同位素分布峰。为了测定核苷酸的的序列,常与酶解相结合,可使用内切核酸酶或外切核酸酶进行。用MALDI/TOFMS技术分析脱氧核糖核酸(DNA)和核糖核酸(RNA)及反应后修饰也显示了诱人的前景[35]。而蛋白质组学研究的开展和深入,对质谱技术提出了新的挑战:高通量、高灵敏度、高分辨率和高准确度缺一不可。质谱在蛋白质组学的发展中将会出现以下发展趋势:(1)多种模式的质谱技术相互补充,解决复杂问题;(2)针对不同系统质谱技术与多种分离方法联用;(3)质谱技术与蛋白质化学、细胞生物学方法整合,面向生物功能体系;(4)质谱技术与生物信息学结合,处理大量数据[36]。

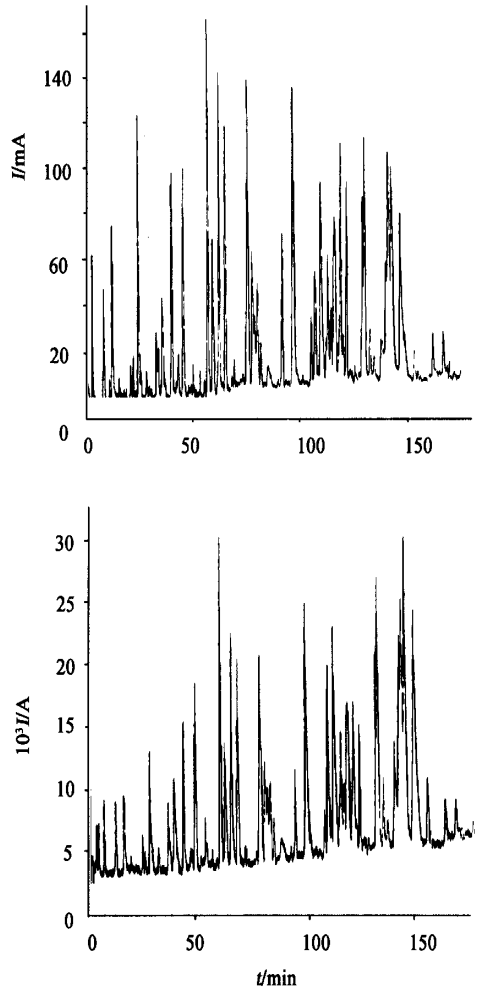

图3 L-天门冬酰胺酶Ⅱ的胰蛋白酶降解肽图谱

Fig 3 Peptide diagram of L-asparaginase Ⅱ by trypsin degradation

总之,生物质谱是目前质谱学中最活跃、最富生命力的研究领域,尤其是MALDI-MS和ESI-MS将成为未来生命科学研究中的主力军[37]。

3 展望

以上回顾了质谱在新药合成工艺研究、质量控制、药物代谢物分析以及生物大分子检测等方面的应用,可以看出质谱在新药研究中起着必不

© 1994-2006 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

可少、决定性的作用。随着色谱-质谱联用技术和新仪器的不断出现, 新药的分离、检测与结构鉴定的过程将会变得更为方便和快捷。随着生命科学的快速崛起, 欲分析的样品更加复杂, 传统的质谱分析法已经很难满足这些要求, 因而寻求新的质谱离子化和更准确的测定技术就显得非常必要。近年来MALDI-MS 和ESI-MS 两种质谱新技术的完善并市场化, 使质谱技术在大分子化合物分析方面取得了突破性的进展。可以预见, 随着各个学科的相互发展和相互渗透, 尤其是一些基础理论和生物技术的进一步融合, 对生命科学研究领域将产生巨大的冲击作用。同时也为质谱学的发展提供更大的应用舞台。今后, 电离技术和接口的改进和优化将会是其提高的突破口, 设计应用更广泛、更方便的电离技术和接口技术将成为各种质谱联用仪器研制者们追崇的热点。同时, 用质谱进行临床医学研究正在逐渐成为新药使用过程中的一个感兴趣的话题。在新世纪初, 已经有一些用质谱法配合临床诊断、治疗, 临床监测新药应用等的研究报导[38, 39], 预示着质谱技术在和人体健康密切相关的新药研究中越来越广阔的应用前景。

参考文献:

[1] 丛浦珠, 苏克曼. 分析化学手册(九) 质谱分析[M]. 北京: 化学工业出版社: 2000: 1～8.

[2] Dorsey JA, Hunt RH, Oneal MJ. Rapid-Scnning Mass Spectrometry Continuous Analysis of Fractions From Capillary Gas Chromatography [J]. Anal Chem, 1963 (35): 511～515.

[3] Waston JT, Biemann KB. High-Resolution Mass Spectra of Compounds Emerging From a Gas Chromatograph[J]. Anal Chem, 1964(36): 1 135～1 139.

[4] 杨承宇. 全国质谱学会议资料选编[M]. 北京: 原子能出版社, 1983, 156～164.

[5] 丛浦珠, 苏克曼. 分析化学手册(九) 质谱分析[M]. 北京: 化学工业出版社: 2000: 7～8.

[6] Kim SH, Lee JH, Yun SY, et al. Reaction Monitoring of Succinylation of Collagen With Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry [J]. Rapid-Commun-Mass-Spectrom. 2000, 14(22): 2 125～2 128.

[7] 盛龙生, 夏 霖, 傅立叶变换质谱法鉴定MZ-2 副产物N-(4-氯苯甲酰)二环己基脲[J]. 中国药科大学学报, 1989, 20(6): 367～369.

[8] 安登魁. 现代药物分析选论[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2001: 399～345.

[9] Silwar R. Analtical Techniques for the Investigation of Coffee Aroma [J]. Trends in Analytical Chemistry. 1982, 1(13): 292～295.

[10] 骆传环, 黄荣清, 舒 融, 等. 质谱在新药沙纳唑确定结构中的应用[J]. 质谱学报, 2001, 22(3): 15～20.

[11] 魏 刚, 赵敏华, 方春亮, 等. 气质联用追踪筛选辛夷挥发油提取工艺[J]. 时珍国医国药, 2000, 11(2): 105～107.

[12] 安登魁. 现代药物分析选论[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2001: 400～445.

[13] 宋振玉. 药物代谢研究—意义、方法、应用[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1990: 112～134.

[14] 汪尔康. 21 世纪的分析化学[M]. 北京: 科学出版社, 2001: 303～304.

[15] John JLangnfend, Stenve B, Hawthorne, et al. Differential Expression of Basal and Hydrocarbon-Induced Cytochrome P-450 Monooxygenase and Reductase Activities in Subpopulations of Murine Epidermal Cells Differing in Their Stages of Differentiation[J]. Drug Metab Dispos, 1992 (20): 360～368.

[16] Rozman E, Douglus K Sprucklin, K Enneth E Thummel, et al. Human Reductive Halothane Metabolism in Vitro is Catalyzed by Cytochrome P450 2A and 3A4 [J]. Drug Metab and Disp, 1996, 23(9): 976～981.

[17] Poon GK, Vigushin D, Griggs LJ. et al. Identification and Characterization of Limonene Metabolites With Advanced Cancer by Liquid Chromatography/Mass Spectrometry [J]. Drug Metab and Disp, 1996, 24(5): 565～569.

[18] Tomlinson AJ, Linda MB, Kenneth LJ. Investigation of the Metabolic Fate of the Neuroteptic Drug Haloperidol by Capillary Electrophoresie-Electrospary Ionization Mass Spectrometry[J]. J Chromatogr(Biomed Appl), 1993, (621): 239～248.

[19] Streit F, U Christians, B Disdier, et al. Structural Identification of Three Metabolites and a Degradation Product of the Macrolide Immunosuppressant Sirolimus(Rapamycin) by Electrospray-MS/MS After Incubation With Human Liver Microsomes [J]. Drug Metab and Disp, 1996, 24(11): 1 272～1 278.

[20] Poon GK, YC Chui, R Mccague, et al. Analysis of Phase Ⅰ and Phase Ⅱ Metabolites of Tamoxifen in Breast Cancer Patients[J]. Drug Metab and Disp, 1993, 21(6): 1 119～1 128.

[21] 罗秀华. 电喷雾离子化/质谱法(ESI-MS)及其在生物大分子研究中的应用[J]. 生物学杂志, 2002, 19(2): 28～30.

[22] 吴梧桐. 生物化学药物[M]. 北京: 中国医药科技

© 1994-2006 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

出版社, 2002: 553～570.
[23] 汪尔康. 21世纪的分析化学[M]. 北京: 科学出版社, 2001: 112～124.
[24] Mclafferty FW, Ziqing Guan, Ulrich Haupts. Gasous Conformational Structures of Cytochrome c[J]. Am Chem Soc, 1998, 120: 4 732～4 720.
[25] Jonscher KR, Yates JR. Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry of Peptides. Biol Chem, 1997, 272: 1 735.
[26] Mathiasa Wind, Michael Edler, Norbert Jakubowski, et al. Analysis of Protein Phosphorylation by Capillary Liquid Chromatography Coupled to Element Mass Spectrometry With ^{31}P Detection and to Electrospray Mass Spectrometry [J]. Analytical Chemistry, 2001, 70(1): 29～35.
[27] 车发云, 邵晓霞, 夏其昌. 高效液相色谱-电喷雾四极杆离子阱质谱鉴定蛋白质磷酸化位点[J]. 中国科学·C辑, 2000, 30(4): 421～427.
[28] Chirstine Enjalbal, Jean Martinz, Jean-Louis Aubagnac. Mass Spectrometry in Combinaborial Chemistry[J]. Mass Spectrometry Reviews, 2002, 19(3): 131～161.
[29] 王英武, 顾景凯, 王 玲, 等. ESI-QTOF质谱法分析寡肽的一级结构[A]. 全国第二届生物质谱及相关技术研讨会[C]. 北京, 2002. 10. 90～93.
[30] 彭建和, 盛龙生, 相秉仁, 等. 重组人促红细胞生成素HPLC/ESI-MS肽图谱分析[J]. 中国药科大学学报. 2000, 31(6): 438～442.
[31] 熊少祥, 赵 睿, 余 晓, 等. HPLC分离MALDI-TOF-MS鉴定合成多肽的研究[J]. 质谱学报. 2000, (21)3～4: 73～76.
[32] 吴梧桐. 现代生化药学[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2002: 558～560.
[33] Mechref Y, Novotny MV, Mass Spectrometry and Sequning of N-Linked Oligosaccharides Derived From Submicrogram Amount of Glycoproteins [J]. Anal Chem, 1996, 68: 2 090～2 100.
[34] 吴梧桐. 现代生化药学[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2002: 566～570.
[35] Berggren WT, Tsetska Takova, Marilyn COlson, et al. Multiplexed Gene Expression Nlysis Using the Invader RNA Assay With MALDI-TOF Mass Spectrometry Detection [J]. Anal Chem, 2002, (74): 1 745～1 750.
[36] 曾 嵘, 夏其昌. 生物质谱技术: 从蛋白质化学到蛋白质组学[A]. 全国第二届生物质谱及相关技术研讨会[C]. 北京, 2002. 10. 1～2.
[37] Joseph J Dalluge. Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry (MALDI-MS) [J]. Anal Bioanal Chem, 2002, (372): 18～19.
[38] 付良清, 骆传环, 舒 融. GC-MSD(SM)测定失眠病人体内MLT的血药浓度[J]. 质谱学报. 2002, 23(1): 17～20.
[39] 骆传环, 黄荣清, 舒 融. 人尿中雌三醇的GC/MS测定[J]. 质谱学报. 2001, 22(3): 47～50.

The Review of Mass Spectrometry Applied in New Drug Investigation

LIANG Xiao-dong
(*Institute of Radiation Medicine, Academy of Military Medicine Sciences, Beijing* 100850, *China*)

Abstract: Some applications of mass spectrometry in new developing drugs investigation, including synthesis procedure, corroboration of chemical structure, quality control and drug metabolism are reviewed. The research progress of various instruments such as typical matrix-assistant laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI/TOFMS), electrode spray ionization mass spectrometry (ESI-MS) and their technologies used together in biomacromolecule drugs, identification of protein, polypeptide, amino acid, DNA, RNA are summarized. Meanwhile, the broad prospects in mass spectrometry in living science are viewed.

key words: mass spectrometry; new drugs investigation; review; drug synthesis; structure corroboration; drug metabolism

© 1994-2006 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net