

乌头碱类生物碱的质谱研究进展

王 勇, 刘淑莹

(中国科学院长春应用化学研究所新药研究实验室, 吉林, 长春 130022)

摘要: 本文简述质谱方法在乌头碱型 C₁₉二萜生物碱的分析和结构鉴定等方面的应用以及不同电离方式下乌头碱的断裂行为, 并总结我们近来利用电喷雾串联质谱技术分析几种乌头属植物中生物碱的研究结果, 提出脂类生物碱(lipo-alkaloids)存在于其它乌头属植物中的可能性。

关键词: 电喷雾质谱; 乌头碱; 脂类生物碱; 串联质谱(MSⁿ, n= 1~ 3)

中图分类号: O 657. 63; Q 482. 31; **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-2997(2002)02-0112-09

毛茛科(Ranunculaceae)乌头属(Aconitum)和翠雀属(Delphinium)植物被广泛用于止痛、强心和抗风湿等, 其主要活性成分乌头碱型 C₁₉二萜生物碱具有很强的毒性和药理活性, 对乌头碱及其类似物的分析是一个重要课题。

国内分析附子及复方制剂中的乌头碱类生物碱的工作较多, 主要采用分光光度法、薄层扫描法和高效液相色谱法(HPLC)^[1]。光谱分析和检测乌头碱的优点在于应用广泛, 但特异性不够, 只能检测乌头总碱。高乌甲素的检测是一个例外, 因为其在 252 nm 处有特征吸收^[2]。电化学方法也存在特异性不够的问题^[3]。HPLC 是较合适的检测乌头碱的方法^[4], 陈丽宇等用该法测定了中药复方海马补肾口服液中的乌头碱^[5]。本文简述质谱技术在乌头碱类生物碱的分析、检测和结构鉴定等方面的应用, 并以三种乌头属植物为例说明电喷雾串联质谱(ESI-MSⁿ)技术分析二萜生物碱的优势。

最灵敏方法, 被广泛用于生物样品中乌头碱的分析。Mizugaki 等利用气相色谱—质谱方法分析和检测 Aconitum japonicum 中的乌头碱^[6]及人的血清及尿中的乌头碱及代谢物(苯甲酰乌头原碱和乌头原碱是主要代谢产物), 线性范围是 100 pg~ 7.5 ng。值得注意的是, 在口服乌头碱等双酯型生物碱一天后, 在尿中清楚地检测出了双酯型生物碱, 而在血中则很少。在口服一天后, 在血中检测不出双酯型生物碱, 但在服药 6 天后在患者的尿中仍可检测到乌头碱的水解产物^[7-9]。他们利用氘标记的乌头碱(AC)和中乌头碱(MA)为内标, 用 GC-MS-MS 分析体液中的相应生物碱, 回收率为 97.6%~ 101.3%, 线性范围是 50 pg~ 50 ng。该方法快速、准确、特异性强, 但需要将生物碱衍生化^[10]。Ohta 等利用毛细管液相色谱-快原子轰击质谱法和高效液相色谱—快原子轰击质谱方法检测血清和尿中的生物碱, 质子化生物碱作为基峰被检测, 线性范围是 5~ 500 pg^[11, 12]。

1 乌头碱的色谱—质谱联用分析

色谱—质谱联用方法是目前检测生物碱的

收稿日期: 2002-02-28

作者简介: 王勇(1970~), 男(汉族), 吉林四平人, 博士研究生, 物理化学专业

2 乌头碱类生物碱的质谱断裂规律

质谱技术除用于色谱仪器的检测外, 另一个重要的用途是表征和确认已分离的乌头类生物碱的结构。通过高分辨质谱可以直接给出分子式^[13-15]。更多的则是利用碎片峰提供结构信息。电离方式对生物碱的分析影响很大, 其中电子轰击电离(EI)是应用最广泛的一种方法, 在该条件下, 乌头碱类生物碱形成分子分离峰 M^+ , 但丰度很小^[16-20], $[M-CH_3O]^+$, $[M-CH_3OH]^+$, $[M-CH_3O-AcOH]^+$, $[M-CH_3O-AcOH-H_2O]^+$, $[M-CH_3O-AcOH-CO]^+$, $[M-CH_3O-AcOH-CH_3OH]^+$, 苯甲酰离子和苯离子是一些可能的碎片离子^[21-25]。尽管不同实验所得的离子峰的种类和丰度存在差别, 但主要碎片峰的变化较小, HA、MA 和 10-OH-MA 的基峰是 $[M-CH_3O-AcOH]^+$, 有人认为 AC 的基峰是 $[M-CH_3O]^+$ ^[26], 也有实验表明 AC 的基峰是 $[M-CH_3O-AcOH]^+$ ^[24]。在这几种生物碱的电子轰击(EI)质谱图上, 苯甲酰离子(m/z 105)和苯离子(m/z 77)的丰度也较高, 前者还是 10-OH-AC 和 10-OH-MA 的基峰^[24, 27]。乌头碱的水解产物苯甲酰乌头原碱在 EI 条件下形成 MH^+ , $[MH-H_2O]^+$, $[MH-CH_3OH]^+$, $[MH-H_2O-CH_3OH]^+$ ^[24], 苯甲酰乌头原碱和乌头原碱等生物碱的三甲基硅烷衍生物在 EI 下的基峰则为 $[M-CH_3O]^+$ ^[11]。另一方面, 如果 AC 的 C_8 位乙酰基被脂肪酰基(R)取代, 将形成脂类生物碱(脂碱), 其基峰是 $[M-CH_3O-ROH]^+$ ^[28, 29]。

Milgrom 等研究了乌头碱性生物碱的化学电离质谱, 其特点是同时存在 $[M+H]^+$, M^+ 和 $[M-H]^+$, 基峰是 $(M-15)^+$ 或 $(M-31)^+$, 依赖于骨架上取代基的种类和位置^[30]。他们还利用二次离子质谱技术(SIMS)分析了蒙古草乌中的总二萜生物碱, 其组成与北草乌基本一致, 基于 $(M-31)^+$ 的基峰, 还发现了两个具有 C_1 甲氧基的新生物碱^[31]。在快原子轰击质谱条件下, 虽然也有碎片峰如 m/z 105 产生, 但对所有二萜生物碱, 质子化分子已成为基峰^[12]。Katz 的研究表明, 14-deacetyl-14-isobutyrylnudicauline 等二萜生物碱还可形成钠离子化分子^[32]。Wada^[33]等利用液相色谱—大气压化学电离质谱联用技术对

Neoline 等生物碱的空间结构进行了研究。

在软电离条件下, 乌头碱形成质子化分子离子 MH^+ , 最近, MALDI-TOF 和 ESI-MS 被用于分析混合物中的 C_{19} 二萜生物碱^[34, 35], 后者与前都相比优势在于可提供多级串联质谱功能。乌头碱类生物碱在典型的电喷雾电离条件下生成质子化分子而无碎片离子产生, 在 MS^2 中以中性羧酸的形式失去 C_8 取代基是特征断裂, 而 C_{14} 位苯甲酰基在 MS^3 中丢失, 环上的羟基和甲氧基则分别以水和甲醇的形式失去^[35]。结合串联质谱和已知化合物的结构信息分析生物碱结构的方法特别适合分析那些与已知化合物具有相同骨架, 但取代基不同的未知生物碱。

3 三种乌头属植物中 C_{19} 二萜生物碱的电喷雾质谱分析

我们利用 ESI-MSⁿ 技术分析了生附子、制附子、生草乌、制草乌、生草乌花和制雪上一支蒿中的乌头碱型二萜生物碱, 发现生物碱在它们中的分布具有较强的规律性, 现以生附子、生草乌花和制雪上一支蒿为例加以说明。所有实验在 Finnigan LCQ-MAT 离子阱质谱仪上完成, 毛细管温度 180 °C; 喷雾电压 5 kV; 鞘气(氮气)流速 60 mL/min; 毛细管电压 38 V。MS/MS (MS^2) 能量为 25%~40%, 蠕动泵流速 3 μ L/min。

3.1 生附子(aconitum camicheali debx)中的 C_{19} 二萜生物碱

朱任宏的文章^[36]是国内最早报道附子中生物碱的工作之一, 他们从附子中分离出了 AC、MA 和次乌头碱(HA)三种生物碱。此外, 在附子中还分离出北乌碱(beiwutine, 10-OH-MA)、附子灵(fuziline)、尼奥灵(neoline)、卡拉可林(karaloline)^[30]。Kitagawa 最早利用气相色谱—质谱联用方法从川乌中发现了四种脂类生物碱(lipoalkaloids), 它们分别与 AC、MA、HA 和去氧乌头碱(deoxyaconitine, DA)为骨架, 唯一差别在于 C_8 位为长链脂肪酸基而非乙酰基。脂肪酰基可为五种, 以亚油酸(60%)、棕榈酸(20%)和油酸(20%)为主, 硬脂酸和亚麻酸的含量小于 1%, 脂碱在电子轰击质谱中的基峰是

$M^+ \cdot ROH \cdot CH_2O \cdot$ (ROH 为脂肪酸)^[28]。Pelletier 等^[29]利用化学方法合成了这类生物碱,得到了它们的核磁共振数据^[29]。

图 1a 是生附子乙醇提取液的 ESIMS, 乙醇提取液中其它成分不干扰生物碱的分析, 双酯型生物碱和脂类生物碱是两种主要的化合物(结构如图 2 所示)。在双酯型生物碱中, 除 AC (m/z 646), MA (m/z 632), HA (m/z 616), 10-OH-MA (m/z 648) 外, 还检测到了 10-OH-AC (m/z 662), 此结论被多级串联质谱进一步证实(未发表文章)。在 m/z 800~900 区域, 还直接检测到了质子化的脂类生物碱, 在一级谱上主要发现了中乌头碱和乌头碱的脂碱衍生物, 亚油酸脂碱的

丰度最高, 棕榈酸和油酸脂碱的含量次之, 这些常见脂碱与文献报道一致。但进一步的 ESIMS 分析表明, 在附子中还存在 10-OH-MA 和 10-OH-AC 对应的脂碱, 以及微量的以乌头碱和中乌头碱为母核, C_8 位为 15 碳、17 碳和 19 碳饱和或不饱和脂肪酸脂类生物碱(待发表结果)。例如, 图 1b 是 m/z 882 离子的串联质谱图, m/z 602 离子和 m/z 586 离子是两个主要的子离子, 根据乌头碱在电喷雾质谱下的断裂规律, 可推测它们分别由母离子失去 280 Da 和 296 Da, 对应亚油酸和十九碳 1 烯酸, 即 m/z 882 离子对应 8-亚油酸-10-羟基-苯甲酰乌头原碱和 8-十九碳 1 烯酸-苯甲酰乌头原碱。

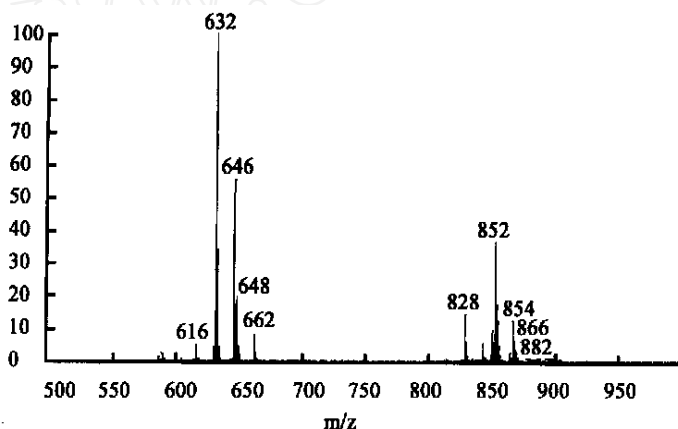


图 1a 生附子乙醇提取液的 ESI(+) 质谱

Fig 1a ESIMS of the extract of crude aconite roots

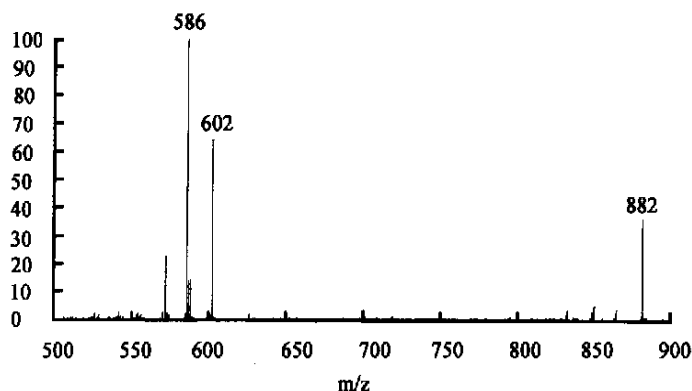
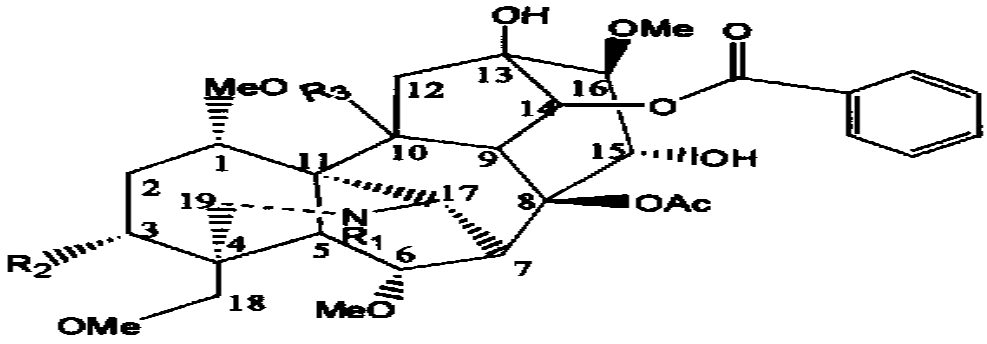


图 1b m/z 882 离子的串级质谱(附子)

Fig 1b ESIMS² of m/z 882 ion (aconite roots)



AC: R₁= C₂H₅, R₂= OH, R₃= H, M + 1, m/e 646; MA: R₁= CH₃, R₂= OH, R₃= H, M + 1, m/e 632
 HA: R₁= CH₃, R₂= H, R₃= H, M + 1, m/e 616; BW 10-OH-MA: R₁= CH₃, R₂= OH, R₃= OH, M + 1, m/e 648
 AF 10-OH-AC: R₁= C₂H₅, R₂= OH, R₃= OH, M + 1, m/e 662
 When C₈ acetyl is displaced by palmic, linoleic or oleic acyl, then corresponding lipo-alkaloids were formed:
 PBM m/z 828, LBM 852, OBM, 854
 PBA 842, LBA 866, OBA, 868
 PHB 812, LBH 836, OBH, 838

图 2 附子中一些二萜生物碱的结构

Fig 2 The Structure of aconitum alkaloids in aconite roots

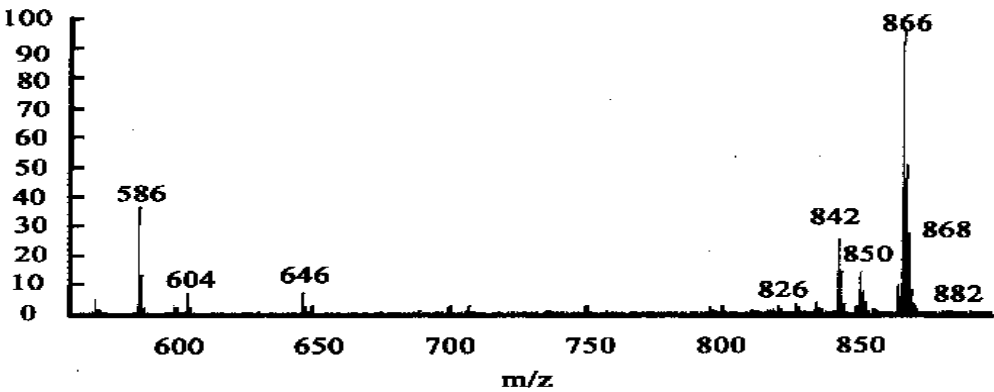


图 3a 雪上一支蒿乙醇提取液的 ESI(+) 质谱

Fig 3a ESIMS of the extract of prepared aconitum brachypudum roots

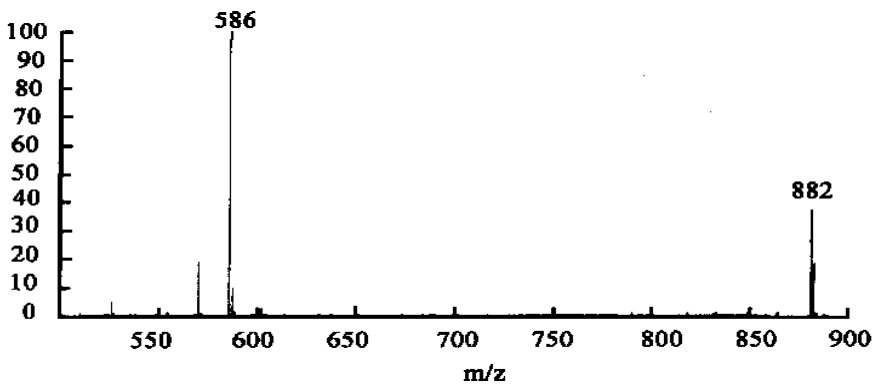


图 3b m/z882 离子的串级质谱(雪上一支蒿)

Fig 3b ESIMS² of m/z 882 ion (aconitum trachypudum roots)

3.2 雪上一支蒿(*aconitum brachypudum*)中的二萜生物碱

雪上一支蒿是一种在民间使用的乌头属植物,刘力敏等从中分离出乌头碱^[37]。制雪上一支蒿的乙醇提取液的电喷雾质谱如图 3a 所示。在低质量数区,乌头碱的热解产物产物 m/z 586 的丰度很高,苯甲酰乌头原碱 (m/z 604) 和乌头碱 (m/z 604) 的丰度较低,说明雪上一支蒿经炮制后乌头碱发生水解。值得注意的是,还发现了去氧乌头碱(DA, m/z 360), 尽管它们丰度很低,但串联质谱可进一步确定其存在。在高质量数区,发现了脂类乌头碱和脂类去氧乌头碱,后者的丰度低于前者。就 C_8 位的取代基而言,亚油酸、棕榈酸和油酸酰基是主要类型,但奇数脂肪酸酰基仍然存在。例如,图 3b 是 m/z 882 离子的串联质谱图,未观察到 m/z 602 离子,说明雪上一支蒿中的 m/z 882 离子对应 8-十九碳 1 烯酸-苯甲酰乌头原碱。

3.3 草乌(*aconitum kusnezoffii*)花中的生物碱

草乌的根是中国药典收录的药用部位,王永高等^[21]从中分离出 AC, MA, HA, DA 和 10-OH-MA 五种生物碱。草乌药是常用的蒙药,1999 年任玉琳^[25]等从中分离出 HA, MA, 10-OH-MA, 3-acetylMA, 3-acetylAC, 3-acetyl-10-OH-AC 六种 C_{19} 二萜类生物碱,但其它成分未见报道。草乌花乙醇提取液的 ESIMS 如图 4a 所示,除上述六种生物碱外,还发现去氧乌头碱 (m/z 630), 乌头碱 (m/z 646), 10-OH-AC (m/z

662), 3-acetyl-10-OH-MA (m/z 690) 四种生物碱,该结论被串联质谱进一步证实。此外,在 m/z 800~900 区域,检测到了一系列脂类生物碱,而在 m/z 900~950 区域,则对应以乌头碱等为母核, C_3 位为乙酰基, C_8 位为脂肪酰基的一系列生物碱,此类生物碱未见文献报道,在草乌根的电喷雾质谱图上也未检测到(未发表结果),我们称之三酯型脂类生物碱,详文另报。与图 2b 和 3b 不同,在草乌花提取液中, m/z 882 离子的串联质谱(图 4b)以 m/z 602 为主要子离子, m/z 586 尽管存在,但丰度较低,这说明 m/z 882 离子主要对应质子化的 8-亚油酸-10-羟基苯甲酰乌头原碱。值得注意的是,在全谱中, 10-OH-AC 的丰度也高于 AC。

4 结论

电喷雾串联质谱可以直接分析乌头属植物中的混合生物碱,不仅可以确认已知的生物碱,还可发现痕量的脂类生物碱。在被分析的脂类生物碱中,其 C_8 位脂肪酰基以亚油酸、棕榈酸和油酸酰基为主,但也存在奇数脂肪酸酰基,例如十九碳 1 烯酸酰基。在草乌花中,还发现一系列三酯型脂肪酸生物碱。综合这些结果,并考虑到乌头属植物之间亲缘关系和化学成分的相似性,我们认为脂类生物碱还有可能在其它乌头属植物中存在,而电喷雾串联质谱可为验证该假设提供便捷手段。

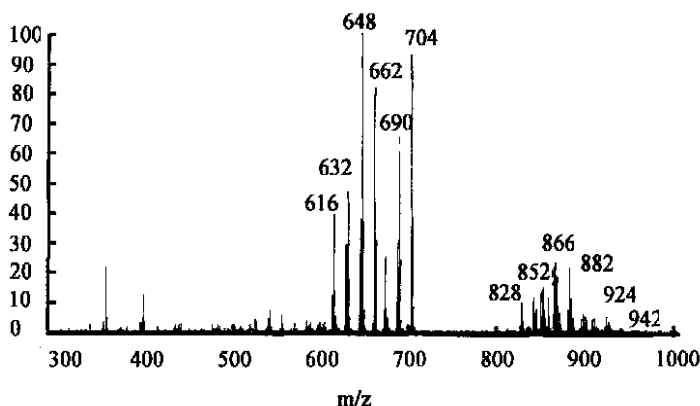
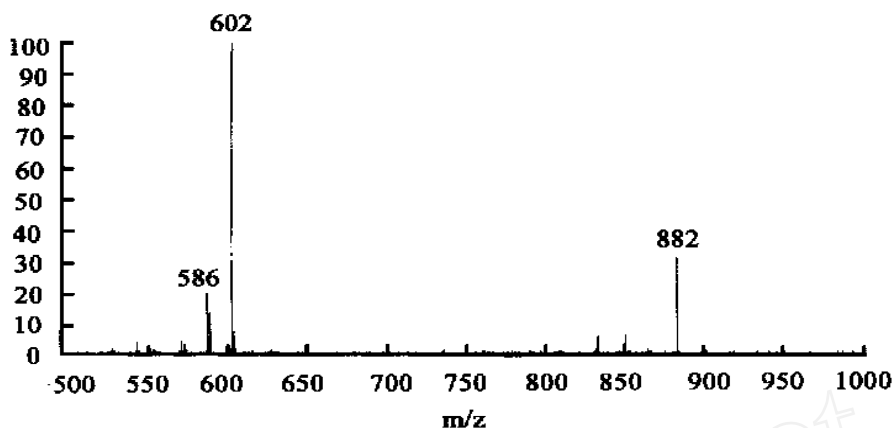


图 4a 草乌花乙醇提取液的 ESI(+) 质谱

Fig 4a ESIMS of the extract of crude *aconitum kusnezoffii* flowers

图 4b m/z 882 离子的串联质谱 (草乌花)Fig 4b ESIMS² of m/z 882 ion (*Aconitum kusnezoffii* flowers)

参考文献:

- [1] 陈巧玲. 川乌、草乌、附子及其复方制剂中乌头类生物碱的含量测定研究概况. 华西药学杂志, 1999, 14(2): 114~ 116
- [2] 陈如进, 杨岗, 丁苒芳, 等. 紫外分光光度法测定高乌甲素贴片含量. 中草药, 1992, 23(4): 187~ 188.
- [3] 刘万忠, 左阿玲. 全固态乌头碱电化学检测器的研制及其在流动注射分析中的应用. 药学学报, 1992, 27(4): 294~ 298.
- [4] Hiniko H, Konno C. Determination of Aconite Alkaloids by High-Performance Liquid Chromatography. J. Chromatogr., 1981, 211: 123~ 128.
- [5] 陈丽宇, 杜小英, 祖桂英. 海马补肾口服液中药头碱含量测定. 中草药, 2002, 33(2): 132~ 133.
- [6] Ito K, Ohayama Y, Hishinuma T, et al Determination of Aconitum Alkaloids in the Tubers of Aconitum Japonicum using Gas Chromatography/Selected Ion Monitoring. Planta Medica, 1996, 62: 57~ 59.
- [7] Yoshioka N, Gonnori K, Tagashira A, et al A Case of Aconite Poisoning with Analysis of Aconite Alkaloids by GC/SM. Forensic Sci Int., 1996, 81(2~ 3): 117~ 123.
- [8] Ito K, Ohayama Y, Konishi Y, et al Method for the Simultaneous Determination of Aconitum Alkaloids and Their Hydrolysis Products by Gas Chromatography-Mass Spectrometry in Human Serum. Planta Medica, 1997, 63: 75~ 79.
- [9] Mizugaki M, Ito K, Ohayama Y, et al Quantitative Analysis of Aconitum Alkaloids in the Urine and Serum of a Male Attempting Suicide by Oral Intake of Aconite Extract. J. Anal. Toxicology, 1998, 22(7~ 8): 336~ 340.
- [10] Ito K, Tanaka S, Konno S, et al Report on the Preparation of Deuterium Labelled Aconitine and Mesaconitine and Their Application to the Analysis of These Alkaloids from Body Fluids as Internal Standard. J. chromatogr. B Biomed Sci Appl., 1998, 714(2): 197~ 203.
- [11] Ohta H, Seto Y, Tsunoda N. Determination of Aconitum Alkaloids in Blood and Urine Samples. I. J. Chromatogr. B, 1997, 691(2): 351~ 356.
- [12] Ohta H, Seto Y, Tsunoda N, et al Determination of Aconitum Alkaloids in Blood and Urine Samples II. J. Chromatogr. B, 1998, 714: 215~ 221.
- [13] Pan Y J, Wang R, Chen S N, et al Diterpenoid Alkaloids from Delphinium Caeruleum. Planta Medica, 1993, 59: 80~ 85.
- [14] Uebelien A. Diterpenoid Alkaloids from Delphinium Davisii. J. Nat. Prod., 1996, 59: 360~ 366.
- [15] 李洪刚, 李广义. 松潘乌头二萜生物碱的研究. 药学学报, 1998, 23(6): 460~ 463.
- [16] 王锐, 倪京满. 狭盔高乌头中的二萜生物碱的研究. 中国中药杂志, 1992, 17(9): 549~ 550.
- [17] Lu J, Desai H K, Ross S A, et al New Norditerpenoid Alkaloids from the Leaves of Delphinium Ajacis. J. Nat. Prod., 1993, 56

- (2): 2098~ 2103.
- [18] 彭崇胜, 王锋鹏, 王建忠, 等. 两个新的双去甲二萜生物碱高乌碱丁和高乌碱戊的结构研究. 药学学报, 2000, 35(3): 201~ 203.
- [19] 杨靖华, 李良. 紫草乌化学成分研究. 中草药, 1999, 39(增刊): 59~ 60.
- [20] Fuznte G D, Reina M, Valencia E, et al. The Diterpenoid Alkaloids from *Aconitum Napellus*, Heterocycles. 1988, 27(5): 1109~ 1113.
- [21] 王永高, 朱元龙, 朱任宏. 中国乌头的研究 X III, 北草乌中的生物碱. 药学学报, 1980, 15(9): 526~ 531.
- [22] 王宪楷, 赵同芳, 赖盛. 中坝鹅掌叶附子中的生物碱. 中国药学杂志, 1995, 30(12): 716~ 718.
- [23] 李洪刚, 杨建萍, 田义杰, 等. 伏毛铁棒锤地上部分生物碱成分研究. 中草药, 1997, 28(5): 265~ 266.
- [24] 李正邦, 吕光华, 陈东林, 等. 草乌中生物碱的化学研究. 天然产物研究与开发, 1997, 9(1): 9~ 13.
- [25] 任玉琳, 黄兆宏, 贾世山. 蒙药草乌花中的三酯型二萜生物碱的分离和鉴定. 药学学报, 1999, 34(11): 873~ 876.
- [26] 丛薄珠. 质谱学在天然有机化学中的应用. 北京: 科学出版社, 1987, 8: 450~ 455.
- [27] 王洁之, 韩公羽. 四川江油附子脂溶性生物碱的研究. 药学学报, 1985, 20(1): 71~ 73.
- [28] Kitagawa I, Yoshikawa M, Chen Z L, et al. Chem. Four New Lipo-Alkaloids from *Aconitum Tuber*. Pharm. Bull., 1982, 30: 758~ 761.
- [29] Bai Y, Deasi H K, Pelletier S W. Long-Chain Fatty Acid Esters of Some Norditerpenoid Alkaloids. J. Nat. Prod., 1994, 57(7): 963~ 970.
- [30] Milgrom E G, Plugar V N, Rashkes Y Y. Chemical-Ionization Mass of Diterpene Alkaloids. Chemistry of Natural Compounds, 1995, 31(1): 91~ 97.
- [31] Milgrom E G, Sultankhodzhaev M N, Gui C C. Qualitative Mass Spectrometric Analysis of the Total Diterpene Bases from Roots of *Aconitum Kusnezoff*. Chemistry of Natural Compounds, 1996, 32(1): 71~ 73.
- [32] Shrestha P M, Katz A. Norditerpenoid Alkaloids from the Roots of *Delphinium Stapeliosum*. J. Nat. Prod., 2000, 63: 2~ 5.
- [33] Wada K, Mori T, Kawahara N. Stereochemistry of Norditerpenoid Alkaloids by Liquid Chromatography/atmospheric Pressure Chemical Ionization Mass Spectrometry. J. Mass Spectrometry, 2000, 35: 432~ 439.
- [34] Sun W X, Liu S Y, Liu Z Q, et al. A Study of *Aconitum Alkaloids* from *Aconitum Roots* in *Aconitum Camichaeli* Debx using Matrix-assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry. Rapid Commun. Mass Spectrometry, 1998, 12(13): 821~ 824.
- [35] Sun W X, Song F R, Cui M, et al. Simultaneous Determination of Lipo-Alkaloids Extracted from *Aconitum Camichaeli* Debx using Electrospray Ionization Mass Spectrometry and Multiple Tandem Mass Spectrometry. Planta Medica, 1999, 65: 432~ 434.
- [36] 陈燕, 朱元龙, 朱任宏. 中国乌头的研究 IX, 川乌、附子中的生物碱. 药学学报, 1965, 12(7): 437~ 439.
- [37] 刘力敏, 王洪诚, 朱元龙. 雪上一支蒿中的生物碱. 药学学报, 1983, 18(1): 9~ 44.

Study of Aconitum Alkaloids using Mass Spectrometry

WANG Yong, LIU Shu-ying

(The New Drug Laboratory, Changchun Institute of Applied Chemistry, Changchun 130022, China)

Abstract The analysis and determination of aconitum alkaloids by electron impact, fast atom bombardment, chemical ionization, electrospray ionization, and matrix-assisted laser desorption/ionization is reviewed, the fragment patterns of alkaloids are compared. The recent results for the analysis of aconitine-type alkaloids in several Aconitum plants by ESI-MSⁿ are also discussed, which indicates ESI-MSⁿ is a promising tool for the analysis of small molecules such as alkaloids as well as biomolecules. Our results also suggest that lipo-alkaloids may exist in some other Aconitum plants.

Key words: electrospray ionization mass spectrometry; aconitine; lipo-alkaloids; MSⁿ (multiple tandem mass spectrometry)

(上接第 95 页)

Studies on the Glucuronide Conjugates Drugs by ESI-QQ-TOF Mass Spectrometry

WANG Ling¹, WANG Ying-wu², CHEN Gang¹, ZHOU Xiu-qing¹, SHAN Hong-yan¹

(1. Test Science Experiment Center, Jilin University Changchun 130023, China;

2. College of Life Science, Jilin University Changchun 130023, China)

Abstract The glucuronide conjunction of N-(4-ethoxyphenyl)-2-hydroxyl-benzamide, 3H-1, 2-dihydro-2-(4-methyl-phenylamino)methyl-1-pyrrolizone (SFZ-47) and bilecol were analyzed by electrospray ionization (ESI) quadrupole time-of-flight mass spectrometry in the negative [M-H]⁻ anions were produced in high yield, some common fragmentation patterns were found to be closely related to the glucuronide. The fragment m/z 175.0241 which is respond to glucuronide was the common to all the compounds under study and the fragment m/z 113.0238 was another diagnostic fragmentation, which was produced by loss of H₂O and CO₂ from m/z 175.0241. These fragmentation patterns could be used to identify the glucuronide conjunction of drugs.

Key words: QQ-TOF mass spectrometry; glucuronide conjunction; MSⁿ (n= 1~ 3)