

国产高分辨飞行时间质谱仪 在药物分子结构鉴定中的应用

黄建鹏^{1,2}, 贺玖明³, 朱 辉⁴, 李铁钢³, 黄正旭¹, 莫 婷⁴, 李 梅¹

(1. 暨南大学大气环境安全与污染控制研究所, 广东 广州 510632; 2. 北京禾信科学仪器有限公司, 北京 100081;
3. 中国医学科学院北京协和医学院药物研究所, 北京 100050; 4. 广州禾信分析仪器有限公司, 广东 广州 510535)

摘要:为了考察自主研发的 API-TOF MS 10000 电喷雾高分辨飞行时间质谱仪 (ESI-TOF MS) 对离子准确质量数测定的准确性及其在新药研发中的应用前景, 采用该仪器对新药研发中涉及的 291 个天然产物及合成物进行质谱分析。以三氟乙酸钠为内标物进行仪器质量轴校准, 将测试得到的目标离子准确质量数与理论准确质量数对比, 计算两者的相对误差。结果表明: 248 个样品的分子质量测试结果与预期一致; 对其中 202 个样品进行高分辨质谱测试, 所得实验值与理论准确质量数之间的相对误差均小于 5×10^{-6} ; 与预期不一致的实验结果提示样品的结构解析有误, 并得到了其他波谱数据的验证。采用 API-TOF MS 10000 和美国 AB Sciex 公司的 QSIAR Elite 型 Q/TOF MS 对抗癌药物马来酸阿法替尼和降糖药利格列汀杂质进行质谱分析。结果表明, 自主研发的 API-TOF MS 10000 与国际同类仪器对药物分子准确质量数的测试结果无明显差异, 可以提供化合物准确的分子质量和分子式信息, 是新药研发中药物分子结构解析的有力工具。

关键词: 飞行时间质谱仪 (TOF MS); 高分辨质谱; 药物分析; 结构鉴定

中图分类号: O657.63 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-2997(2016)05-0431-09

doi: 10.7538/zpxb.youxian.2016.0024

Analysis of Pharmaceutical Molecules for Structure Identification by Domestic High Resolution Time-of-Flight Mass Spectrometer

HUANG Jian-peng^{1,2}, HE Jiu-ming³, ZHU Hui⁴, LI Tie-gang³,

HUANG Zheng-xu¹, MO Ting⁴, LI Mei¹

(1. Institute of Atmospheric Environmental Safety and Pollution Control,
Ji'nan University, Guangzhou 510632, China;

2. Beijing Hexin Scientific Instrument Company Limited, Beijing 100081, China;

3. Institute of Material Medical, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College,
Beijing 100050, China; 4. Guangzhou Hexin Analytical Instrument Company Limited, Guangzhou 510535, China)

收稿日期: 2015-11-10; 修回日期: 2016-03-25

基金项目: 国家重大科学仪器设备开发专项(2011YQ170067); 广东省自然科学基金(2015A030313339); 广东省科技创新青年拔尖人才项目(2014TQ01X190); 广东省工程中心建设项目(2015B0903029)资助

作者简介: 黄建鹏(1980—), 女(汉族), 北京人, 助理研究员, 从事质谱应用研发。E-mail: apsrc@aliyun.com

通信作者: 李 梅(1980—), 女(汉族), 山东人, 助理研究员, 从事质谱应用方法开发和大气环境科学研究。

E-mail: limei2007@163.com

网络出版时间: 2016-07-05; 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.2979.TH.20160705.1405.028.html>

Abstract: Electrospray ionization time-of-flight mass spectrometry (ESI-TOF MS) is one of the important tools for structure identification of molecules in drug research and development, in particular, the accuracy mass measured by high-resolution mass spectrometer can provide the information regard to elemental composition for the test compound. In recent years, with the rapid development of pharmaceutical industry, the demand for high-resolution mass spectrometer is increasing in the field of pharmaceutical research and development. The self-developed high-resolution time-of-flight mass spectrometer API-TOF MS 10000 has been designed in Guangzhou on 2011. The mass resolution of 10 000 can be achieved and the instrument detection limit is less than $2.5 \mu\text{g/L}$ (reserpine), mass ranges cover 30-5 000 Da. In order to verify the performance of this equipment for structure identification and the determining accurate mass of drug molecules, 291 natural products and synthesis products were analyzed on API-TOF MS 10000. Sodium trifluoroacetate was used as internal standard substance to calibrate the instrument, and the relative mass error was obtained by comparing the measured and theoretical mass. The molecular weights of 248 compounds determined by the machine are accord with their identified results, which have a large range of molecular weight from 145 to 5 826 Da. And the 248 compounds cover most of the chemical structure of natural products, such as flavonoids, alkaloids, lignins, phenylpropanoids, coumarins and so on. Accurate mass measurements were performed to confirm 202 compounds' formula. The results reveal that all the relative mass error is less than 5×10^{-6} , 76.7% of the relative mass error is less than 2.5×10^{-6} . Other results (43 compounds) were inconsistent with the expected structure indicating the original proposed structure was wrong and the other spectra were also provided information to demonstrate the point. In conclusion, the domestic time-of-flight mass spectrometer can accurately determine the mass of drug molecules and isotope abundance ratio, and it has been demonstrated as a powerful tool to provide the molecule and formula information for structure elucidation of pharmaceutical molecules.

Key words: time-of-flight mass spectrometry (TOF MS); high-resolution mass spectrometer; pharmaceutical analysis; structure identification

飞行时间质谱仪(TOF MS)具有测定质量范围宽、响应速度快、分辨率高以及离子传输率高等优点^[1]。电喷雾(ESI)电离属于软电离方式,适用于热不稳定、难挥发、极性大的化合物以及蛋白质等生物大分子的研究。两者结合,即ESI-TOF MS,已成为生物制药、基因蛋白质工程和生物化学等领域的重要研究工具^[2-8]。

近年来,世界医药工业飞速发展,新药的研发竞争日趋激烈,其中天然产物和微生物代谢物是极为重要的新药开发资源,从中寻找新结构活性化合物作为先导化合物,以此为基础开展新药的合成或半合成研究是化学药品投资研发的热点^[9-10]。不论是先导化合物的发现还是

新药的合成,目标化合物的结构解析都是不可或缺的工作^[11-12]。质谱测试是药物分子结构解析的重要手段之一,低分辨质谱测试可以通过正、负离子检测模式初步确定化合物的分子质量,而高分辨质谱测试可以通过对化合物准确质量数的测定计算化合物可能的元素组成。由于高分辨飞行时间质谱可以通过对化合物准确质量数的测定,计算目标化合物可能的元素组成(即分子式),且具有灵敏度高、分析速度快等优点,现已成为药物研发中化合物结构鉴定的重要工具^[13-16]。广州禾信分析仪器有限公司于2011年自主研发了高分辨飞行时间质谱仪(搭载ESI源)整机,该仪器分辨率可达10 000以

上,检出限为 $2.5 \mu\text{g/L}$ (利血平),质量检测范围为 $30\sim 5\,000 \text{ Da}$,可以满足药物研发中各种不同结构及类型化合物的准确质量数测定。

本研究拟采用国产高分辨质谱仪对具有不同结构类型的 291 种新药研发中涉及天然产物或化学合成产物进行低分辨或高分辨的质谱测试,并在此基础上确定其可能的元素组成。通过对测定结果进行回访,并与其他波谱获得的结果相比较,确定国产高分辨质谱仪测量结果的可靠性,以及其在药物开发中的应用前景。

1 实验部分

1.1 仪器和试剂

API-TOF MS 10000 电喷雾高分辨飞行时间质谱仪:广州禾信分析仪器有限公司产品,配备 ESI 离子源;注射泵:美国 Harvard Apparatus 公司产品;ApoloMs 质谱软件:广州禾信分析仪器有限公司产品;ChemDraw 软件:苏州苏杰思网络有限公司产品。

甲醇、甲酸:均为色谱纯,德国 Merck 公司产品;实验用水:杭州娃哈哈集团有限公司产品;三氟乙酸标准品:美国 Sigma-Aldrich 公司产品。所有样品均由中国医学科学院药物研究所各课题组提供,分别由天然植物提取分离或化学合成得到。

1.2 实验条件

注射泵参数:注射器内径 3.26 mm ,流速 $15 \mu\text{L/min}$ 。

质谱参数:毛细管温度 $150 \text{ }^\circ\text{C}$;电喷雾离子源(ESI),正离子模式,离子源电压 $4\,500 \text{ V}$;负离子模式,离子源电压 $-3\,800 \text{ V}$;质量分辨率 $10\,000$,质量扫描范围 $m/z\ 50\sim 2\,000$;高分辨质谱测试采用内标法,以 0.1% 三氟醋酸钠水溶液为内标物质。

流动相或样品溶解的溶剂:正离子检测模式下,采用含 0.1% 甲酸的甲醇-水溶液 ($4:1, \text{V/V}$);负离子检测模式下,采用甲醇-水溶液 ($4:1, \text{V/V}$)。

1.3 数据处理

采用 ApoloMs 和 ChemDraw 软件对数据进行采集和分析;利用 ApoloMs 工作站的质量校正功能,根据三氟乙酸钠系列离子峰对得到的目标化合物的分子离子峰进行质量校正,测

定其准确质量数;再根据客户推导的可能的分子式,用 ChemDraw 软件计算其理论准确质量数,最终得到实测准确质量数与理论准确质量数之间的相对误差。

2 结果与讨论

本研究共检测各种类型的样品 291 个,其中天然产物 87 个,合成产物 204 个;对其中的 220 个化合物进行高分辨质谱测试,71 个化合物进行低分辨质谱测试。测试结束后,对客户进行回访,询问该结果与其他波谱获得结果的一致性和能否相互印证等信息。其中,248 个样品的质谱数据与预期结果一致。对与预期结果不一致的样品,在其他商品化的质谱仪上进行进一步测试,只有 1 个化合物获得了目标分子离子峰,其余 42 个样品的测试结果与在本机上获得的结果一致。通过与客户沟通分析,总结了测试结果与客户预期不一致的原因:1) 合成得到的产物并非是客户的目标化合物,即化学合成过程有问题;2) 化合物本身的结构不稳定,在测试前发生了结构变化;3) 化合物的纯度不够,需要进一步分离纯化。

测试结果与目标化学式一致的天然产物有 76 个,样品的结构类型包括糖苷类、生物碱类、黄酮类、苯丙酸类、苯甲酸类、木质素类、香豆素类、萜类、核苷类、肽类、烯炔类、苯酞类等;测试结果与目标化学式一致的合成产物有 172 个,样品的结构类型主要为天然产物的衍生物,例如吴茱萸碱衍生物、盐霉素衍生物、小檗碱衍生物、石蒜碱衍生物、黄连碱衍生物等,还包括一些含有苯并咪唑、硫醚键、吡啶环等特征结构的有机化合物。以上 248 个样品的分子质量分布范围较大,主要集中在 $100\sim 1\,000 \text{ Da}$,分布情

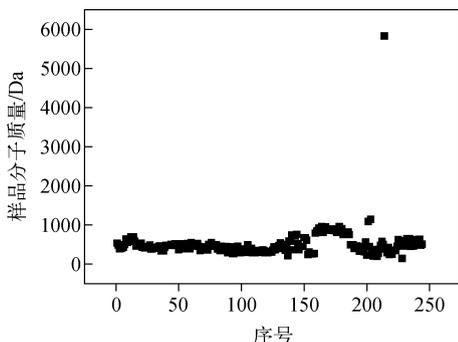


图 1 样品分子质量分布图

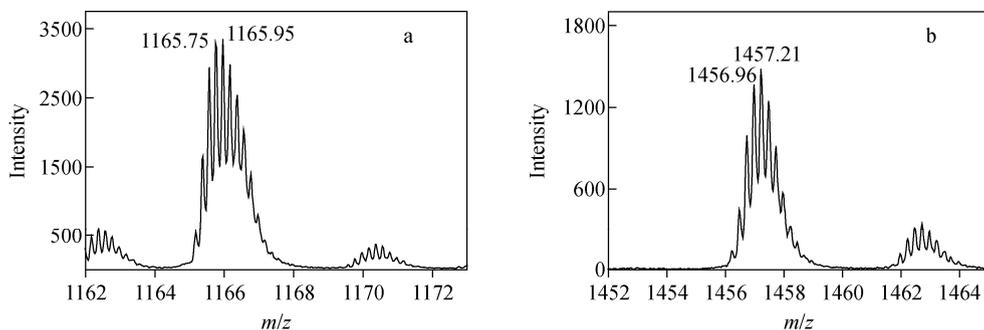
Fig. 1 Molecular weight distribution of compounds

况示于图 1;其中,分子质量最小的样品为 145 Da 的氮杂环化合物,分子质量最大的样品是 5 826 Da 的门冬胰岛素,其质谱图示于图 2。以上结果说明,该质谱仪对各种不同结构类型的药物分子、小分子化合物以及生物大分子都具有较好的鉴定能力。

2.1 质谱解析实例分析

2.1.1 黄酮类化合物 本实验共测试了 25 个

黄酮类化合物,以 IJB1701 和 HH-4 为例,考察该方法对黄酮类化合物的分析结果。其中, IJB1701 为黄酮苷类化合物, HH-4 为查尔酮类化合物,对这 2 个化合物进行高分辨质谱测试的结果列于表 1,对应的高分辨质谱图示于图 3。可以看出,高分辨质谱图峰形良好、信噪比高,其准确质量数计算结果显示质量误差均小于 5×10^{-6} 。



注:a. 五价离子;b. 四价离子

图 2 门冬胰岛素的质谱图

Fig. 2 Mass spectrums of insulin aspart

表 1 黄酮类化合物 IJB1702 和 HH-4 的高分辨质谱测试结果

Table 1 Determination results of flavonoids IJB1702 and HH-4 by high resolution mass spectrometry

编号	分子式	分子离子峰	理论准确质量数/Da	实测准确质量数/Da	相对误差/ $\times 10^{-6}$
IJB1702	$C_{22}H_{22}O_{10}$	$[M-H]^-$	445.1140	445.1142	0.45
HH-4	$C_{49}H_{52}O_{28}$	$[M+Na]^+$	1111.2537	1111.2572	3.15

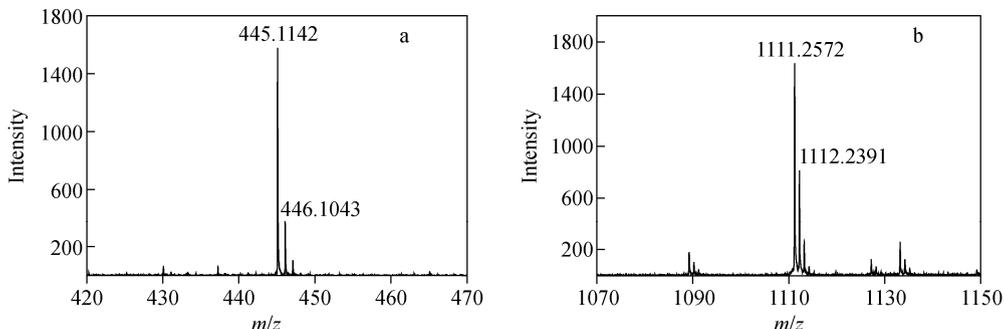


图 3 黄酮类化合物 IJB-1702(a)和 HH-4(b)的质谱图

Fig. 3 Mass spectrums of flavonoids IJB-1702 (a) and HH-4 (b)

该实验测试的 25 个黄酮类化合物中, HBJ-21 为分子质量未知的黄酮苷类化合物,通过对其进行正、负离子模式的低分辨质谱测试来确定分子质量,以方便进一步的化学式推导。

HBJ-21 的质谱图示于图 4。可以看出,在负离子检测模式下,离子峰 m/z 625.15 丰度最高,且质量数大于 625.15 的区域无明显离子峰,初步推断 m/z 625.15 为分子离子峰 $[M-H]^-$,

分子质量可能为 626;在正离子检测模式下,可以观察到基峰离子 m/z 649.14,它与 m/z 626 相差 23,符合正离子可能为 $[M+Na]^+$ 分子离子峰的推断。依据 2 种离子化模式质谱分析的结果,可以判定该化合物的分子质量为 626 Da。由客户反馈意见,并结合其他波谱数据,得知该化合物分子式为 $C_{27}H_{30}O_{17}$,这与本实验的结果完全一致。

2.1.2 生物碱类化合物 本实验共测定了 109 个生物碱类化合物。其中,石蒜碱具有较好的抗菌、抗病毒、抗肿瘤和抗白血病作

用^[17-18];黄连碱具有抑制 A 型单胺氧化酶、选择性抑制和双重抑制血管平滑肌细胞增殖、抑制破骨细胞分化、选择性调节血管平滑肌细胞中的多药耐药蛋白质、抗真菌、保护胃黏膜、保护心肌等药理活性^[19-20];吴茱萸次碱具有保护心脏、降压、舒血管、抗血栓、抗癌以及抗炎、镇痛等作用^[5]。石蒜碱衍生物 LY-1、LY-2,黄连碱衍生物 XMA-33、XMA-64 和吴茱萸次碱衍生物 L-6 和 L-7 在正离子检测模式下的测试结果列于表 2,吴茱萸次碱衍生物 L-6 和 L-7 的质谱图示于图 5。

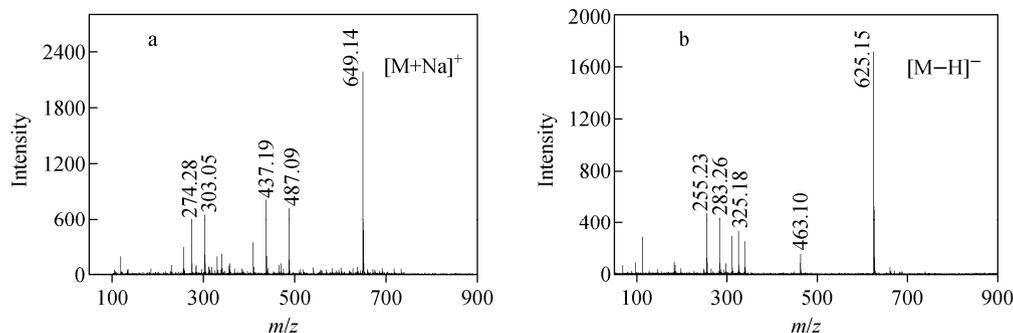


图 4 黄酮类化合物 HBJ-21 在正离子(a)和负离子(b)检测模式下的质谱图

Fig. 4 Mass spectrums of flavonoids HBJ-21 in positive (a) and negative (b) ion detection modes

表 2 生物碱类化合物的高分辨质谱测试结果

Table 2 Determination results of alkaloids by high resolution mass spectrometry

样品编号	分子式	分子离子峰	理论准确质量数/Da	实测准确质量数/Da	相对误差/ $\times 10^{-6}$
LY-1	$C_{16}H_{17}NO_4$	$[M+H]^+$	288.1230	288.1231	0.35
LY-2	$C_{16}H_{19}NO_4$	$[M+H]^+$	290.1387	290.1386	0.34
XMA-33	$C_{28}H_{22}N_2O_6 \cdot HCl$	$[M+H]^+$	483.1551	483.1553	0.41
XMA-64	$C_{27}H_{19}F_3N_2O_4 \cdot HCl$	$[M+H]^+$	493.1370	493.1379	1.83
L-6	$C_{18}H_{12}ClN_3O$	$[M+H]^+$	322.0742	322.0741	0.31
L-7	$C_{18}H_{12}BrN_3O$	$[M+H]^+$	366.0236	366.0222	3.82

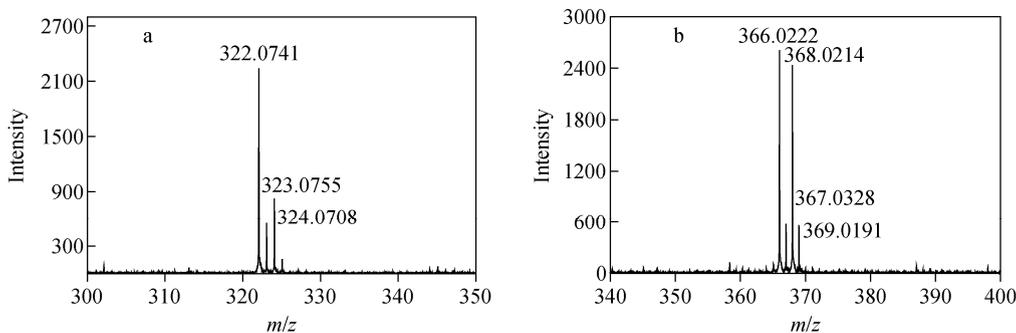


图 5 生物碱类化合物 L-6(a)和 L-7(b)的高分辨质谱图

Fig. 5 High resolution mass spectrums of alkaloids L-6 (a) and L-7 (b)

由图 5 可知:L-6 化合物含有氯元素,该化合物中氯元素的同位素丰度比与自然界的氯元素同位素丰度比(约 3 : 1)一致;而 L-7 化合物含有溴元素,同样,该化合物中溴元素的同位素丰度比与自然界的溴元素同位素丰度比一致。这说明该质谱仪能够准确测定化合物的分子质量及同位素丰度信息。

2.1.3 苯丙素类化合物 苯丙素类化合物主要分为苯丙酸、香豆素、木质素 3 大类。本研究对 13 个苯丙素类化合物进行质谱测试,其中,

XK-24 化学式为 $C_{16}H_{18}O_9$,属于苯丙酸类化合物,低分辨质谱中观察到的分子离子峰为 $[M+Na]^+$;XK-27 化学式为 $C_{15}H_{16}O_9$,属于香豆素类化合物,低分辨质谱中观察到的分子离子峰为 $[M-H]^-$ 。XK-24 和 XK-27 的低分辨质谱图示于图 6。

2.1.4 木质素类化合物 Sjj-w76 和 sjj-w96 为木质素类化合物,对其进行高分辨质谱测试,其结果列于表 3,质谱图示于图 7。

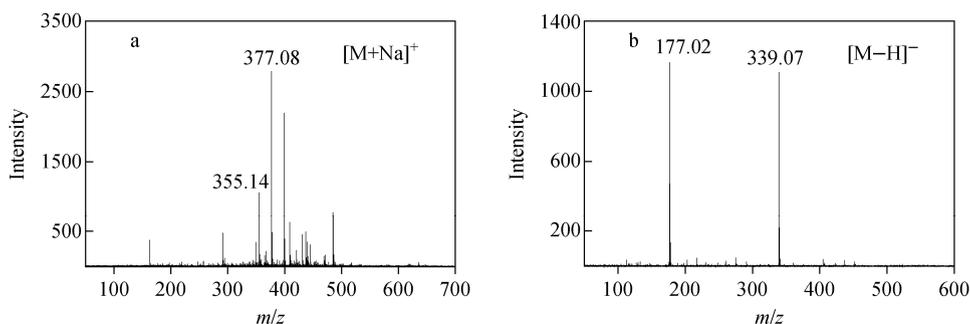


图 6 苯丙素类化合物 XK-24(a)和 XK-27(b)的低分辨质谱图

Fig. 6 Low resolution mass spectrums of phenylpropanoids XK-24 (a) and XK-27 (b)

表 3 木质素类化合物 sjj-w76 和 sjj-w96 的高分辨质谱测试结果

Table 3 Determination results of lignins sjj-w76 and sjj-w96 by high resolution mass spectrometry

编号	分子式	分子离子峰	理论准确质量数/Da	实测准确质量数/Da	相对误差/ $\times 10^{-6}$
sjj-w76	$C_{17}H_{18}O_9$	$[M-H]^-$	365.0878	365.0883	1.37
sjj-w96	$C_{32}H_{38}O_{20}$	$[M+Na]^+$	765.1849	765.1847	0.26

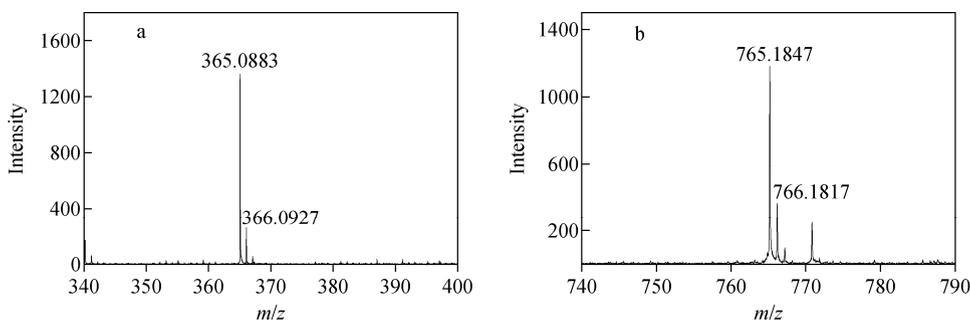


图 7 木质素类化合物 sjj-w76(a)和 sjj-w96(b)的高分辨质谱图

Fig. 7 High resolution mass spectrums of lignins sjj-w76 (a) and sjj-w96 (b)

2.2 高分辨质谱测试的准确性

本实验对 220 种化合物进行高分辨质谱测试,以考察该仪器对化合物准确质量数测定的准确性。通过分析,证实了其中 202 种样品的

结构推导是正确的,它们的相对误差均小于 5×10^{-6} ,其分布示于图 8。可以看出,在 202 种样品中,大多数化合物的质量相对误差均小于 2.5×10^{-6} ,占 76.7%。这表明国产高分辨飞

行时间质谱仪在化合物精确分子质量测试中具有较高的准确度,可以很好地区分不同元素组成且质量数相近的化合物。

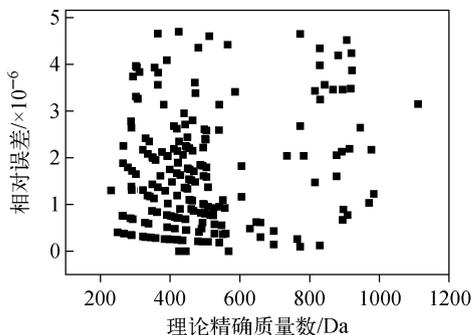


图 8 202 种化合物的相对误差分布图

Fig. 8 Relative error distribution of 202 detected compounds

为了进一步验证国产高分辨质谱仪测试的准确性,本研究采用API-TOF MS 10000电喷

雾高分辨飞行时间质谱仪与美国 AB Sciex 公司的 QSTAR Elite 型 Q/TOF 高分辨串联质谱仪,分别对抗癌药马来酸阿法替尼和降糖药利格列汀杂质进行高分辨质谱分析,结果示于图 9 和图 10。对比实验结果发现,两款仪器的分辨率均为 10 000,由 QSTAR Elite 和 API-TOF MS 10000 测试得到的马来酸阿法替尼和利格列汀杂质的准确质量数与理论准确质量数之间的相对误差分别为 3.65×10^{-6} 、 1.74×10^{-6} 和 1.03×10^{-6} 、 1.56×10^{-6} ,均小于 5×10^{-6} 。另外, QSTAR Elite 和 API-TOF MS 10000 测试得到的马来酸阿法替尼和利格列汀杂质的准确质量数之间的相对误差分别为 2.47×10^{-6} 和 3.13×10^{-6} 。由此可以判断,国产高分辨飞行时间质谱仪与国际同类仪器对药物分子准确质量数的测试结果无显著差异,都可为药物分子结构鉴定提供可靠信息。

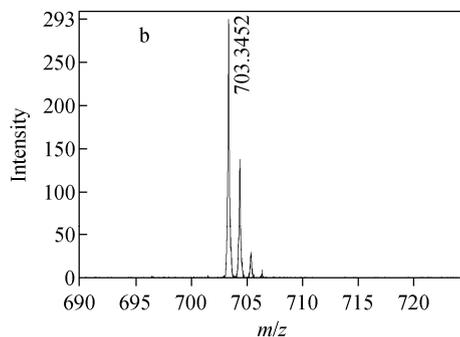
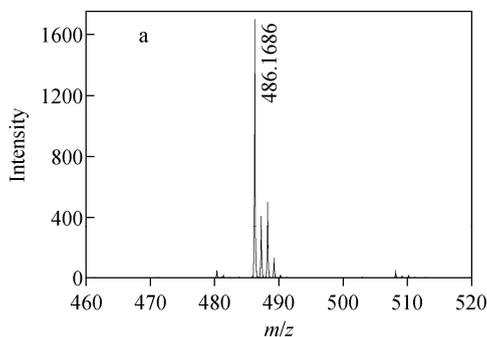


图 9 马来酸阿法替尼(a)和利格列汀杂质(b)的 QSTAR Elite 高分辨质谱图

Fig. 9 QSTAR Elite high resolution mass spectrums of afatinib dimaleate (a) and linagliptin impurity (b)

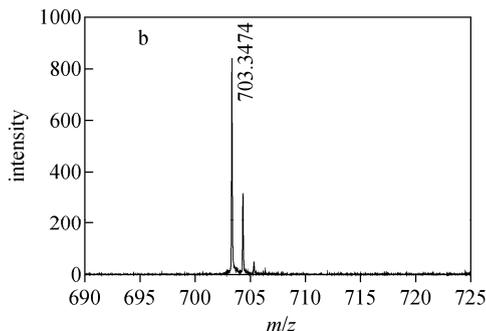
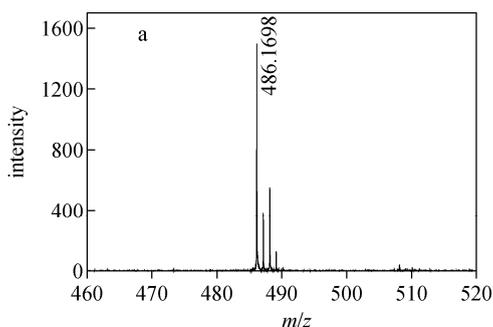


图 10 马来酸阿法替尼(a)和利格列汀杂质(b)的 API-TOF MS 10000 高分辨质谱图

Fig. 10 API-TOF MS 10000 high resolution mass spectrums of afatinib dimaleate (a) and linagliptin impurity (b)

3 结论

本研究采用的国产 API-TOF MS 10000 高分辨飞行时间质谱仪具有正、负离子两种检测模式,可对化合物进行低分辨和高分辨的质谱测试。该仪器可以测定各种类型的小分子天然产物或合成物,也可以测定大分子蛋白质,适用于多种药物结构的解析。此外,该质谱仪具有同位素遵从性强的优点,高分辨测试结果具有较高的准确度,所有样品的测定准确质量数与理论质量数的相对误差都能控制在 5×10^{-6} 以内。综上,API-TOF MS 10000 质谱仪能够提供准确的分子质量和分子式信息,是药物分子结构解析鉴定的重要工具,在新药研发领域具有较好的应用前景。

参考文献:

- [1] WILLIAMSON L N, BARTLETT M G. Quantitative gas chromatography/time-of-flight mass spectrometry: A review[J]. *Biomedical Chromatography*, 2007, 21(7): 664-669.
- [2] 郭长娟,黄正旭,高伟,等. 大气压离子源真空接口的研制及其在电喷雾电离飞行时间质谱仪上的应用[J]. *分析仪器*, 2007, (2): 17-21.
GUO Changjuan, HUANG Zhengxu, GAO Wei, et al. Design of an atmospheric pressure ionization vacuum interface and its application on electrospray ionization time-of-flight mass spectrometer[J]. *Analytical Instrumentation*, 2007, (2): 17-21(in Chinese).
- [3] 贾韦韬,许国宾,姚均,等. 高效液相色谱检测器——高分辨飞行时间质谱仪的研制[J]. *质谱学报*, 2006, 27(3): 129-134.
JIA Weitao, XU Guobin, YAO Jun, et al. Development of TOF-MS used as the detector of HPLC[J]. *Journal of Chinese Mass Spectrometry Society*, 2006, 27(3): 129-134(in Chinese).
- [4] 莫婷,胡帆,朱辉,等. 台式大气压离子源飞行时间质谱仪的研制及性能表征[J]. *分析测试学报*, 2014, 33(3): 307-312.
MO Ting, HU Fan, ZHU Hui, et al. Development and characterization of a desktop time-of-flight mass spectrometer with atmospheric pressure ionization[J]. *Journal of Instrumental Analysis*, 2014, 33(3): 307-312(in Chinese).
- [5] 胡长平,李元建. 吴茱萸碱和吴茱萸次碱的药理学研究进展[J]. *中国药理学通报*, 2003, 19(10): 1 084-1 087.
HU Changping, LI Yuanjian. Research progress in pharmacological actions of evodiamine and rutaecarpine[J]. *Chinese Pharmacological Bulletin*, 2003, 19(10): 1 084-1 087(in Chinese).
- [6] 郭长娟,黄正旭,陈华勇,等. 飞行时间质谱仪国内研究状况及发展趋势[J]. *现代仪器*, 2007, (4): 23-26.
GUO Changjuan, HUANG Zhengxu, CHEN Huayong, et al. The development and status of domestic time-of-flight mass spectrometer [J]. *Modern Instruments*, 2007, (4): 23-26(in Chinese).
- [7] 杭纬,杨芃原,杨成隆,等. 瞬短脉冲辉光放电飞行时间质谱仪[J]. *质谱学报*, 1995, 16(3): 9-14.
HANG Wei, YANG Pengyuan, YANG Chenglong, et al. Micro-second pulsed glow discharge time-of-flight mass spectrometer[J]. *Journal of Chinese Mass Spectrometry Society*, 1995, 16(3): 9-14(in Chinese).
- [8] GUILHAUS M. Principles and instrumentation in time-of-flight mass spectrometry[J]. *J Mass Spectrom*, 1995, 30(11): 1 519-1 532.
- [9] WANG Y. Needs for new plant-derived pharmaceuticals in the postgenome era: An industrial view in drug research and development[J]. *Phytochemistry Reviews*, 2008, 7(3): 395-406.
- [10] 陈彬,孔继烈. 天然产物结构分析中质谱与核磁共振技术应用新进展[J]. *化学进展*, 2004, 16(6): 863-870.
CHEN Bin, KONG Jilie. MS and NMR technologies progress in the analysis of natural products [J]. *Progress in Chemistry*, 2004, 16(6): 863-870(in Chinese).
- [11] 尚慧杰. 中药新药开发中应注意的问题研究[J]. *亚太传统医药*, 2014, 10(2): 56-57.
SHANG Huijie. Study on matters needing attention in the development of new drug of TCM[J]. *Asia-Pacific Traditional Medicine*, 2014, 10(2): 56-57(in Chinese).
- [12] ZHAO Y, KANG L, YU H, et al. Structure characterization and identification of steroidal saponins from the rhizomes of *Anemarrhena as-*

- phodeloides by ultra performance liquid chromatography and hybrid quadrupole time-of-flight mass spectrometry[J]. *International Journal of Mass Spectrometry*, 2013, 341/342(5): 7-17.
- [13] HOFFMANN E D, CHARETTE J J, STROOBANT V, et al. Mass spectrometry principles and applications[M]. England: John Wiley & Sons Ltd, 2001.
- [14] LIAO W, DRAPER W M, PERERA S K. Identification of unknowns in atmospheric pressure ionization mass spectrometry using a mass to structure search engine[J]. *Analytical Chemistry*, 2008, 80(20): 7 765-7 777.
- [15] 梁乾德,王红霞,李卫华,等. 直接输注电喷雾电离四极杆飞行时间质谱在十六种中药来源化合物定性分析中的应用[J]. *质谱学报*, 2004, 25(4):209-216.
- LIANG Qiande, WANG Hongxia, LI Weihua, et al. Application of direct infusion electrospray ionization quadrupole time-of-flight mass spectrometry in qualitative analysis of sixteen compounds from traditional chinese medicine[J]. *Journal of Chinese Mass Spectrometry Society*, 2004, 25(4): 209-216(in Chinese).
- [16] KEBARLE P, TANG L. From ions in solution to ions in the gas phase—the mechanism of electrospray mass spectrometry[J]. *Analytical Chemistry*, 1993, 65(22): 972A-986A.
- [17] 李健,于淼,高世勇,等. 石蒜科植物中生物碱的药理作用研究[J]. *哈尔滨商业大学学报:自然科学版*, 2014, 30(2):168-171.
- LI Jian, YU Miao, GAO Shiyong, et al. Research on pharmacological effects of alkaloids from Amaryllidaceae[J]. *Journal of Harbin University of Commerce: Natural Sciences Edition*, 2014, 30(2): 168-171(in Chinese).
- [18] LAMORAL-THEYS D, ANDOLFI A, van GOIETSENOVEN G, et al. Lycorine, the main phenanthridine *Amaryllidaceae* alkaloid, exhibits significant antitumor activity in cancer cells that display resistance to proapoptotic stimuli: An investigation of structure-activity relationship and mechanistic insight[J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2009, 52(20): 6 244-6 256.
- [19] 张志辉,邓安珺,于金倩,等. 黄连碱药理活性研究进展[J]. *中国中药杂志*, 2013, 38(17):2 750-2 754.
- ZHANG Zhihui, DENG Anjun, YU Jinqian, et al. Advance in studies on pharmacological activity of coptisine hydrochloride[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2013, 38(17): 2 750-2 754(in Chinese).
- [20] ZHANG Z H, ZHANG H J, DENG A J, et al. Synthesis and structure: Activity relationships of quaternary coptisine derivatives as potential anti-ulcerative colitis agents[J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2015, 58(18): 7 557-7 571.