

· 基础研究 ·

胆类中药体内代谢产物甘氨酸胆酸硫酸盐
同分异构体的区分[△]

张珂, 李玮, 王艳敏, 龚兴成, 曹丽波, 宋月林, 宋青青*, 屠鹏飞*

北京中医药大学 中药学院 中药现代研究中心, 北京 100029

【摘要】 目的: 通过在线能量分辨质谱法 (Online ER-MS) 快速区分胆类中药在体内的代谢产物甘氨酸胆酸硫酸盐同分异构体。**方法:** 采用高效液相色谱-质谱法 (HPLC-MS) 采集 3 个甘氨酸胆酸硫酸盐异构体甘氨酸熊去氧胆酸-3-磺酸盐 (GUDCA-3-S)、甘氨酸鹅去氧胆酸-3-磺酸盐 (GCDCA-3-S)、甘氨酸去氧胆酸-3-磺酸盐 (GDCA-3-S) 的高分辨多级质谱信息, 推导质谱裂解途径并归属各碎片离子, 构建候选离子对 m/z 528.3→528.3、528.3→448.3、528.3→404.3、528.3→386.3、528.3→330.2、528.3→97.0 和 528.3→74.0, 每个候选离子对进一步衍生 1 组拟离子对 (PITs), 对应 1 组在 -5 ~ -180 eV 梯度变化 (步长为 1 eV) 的碰撞能; 通过 Online ER-MS 采集所有拟离子对质谱响应, 采用高斯曲线拟合每一组拟离子对的响应值, 构建裂解曲线组, 进而在同分异构体间比较同一离子对的裂解曲线。**结果:** 3 个同分异构体的 MS¹ 和 MS² 基本一致, 难以区分。各组拟离子对的响应值均呈现高斯分布。同一化合物的不同候选离子对呈现出不同的裂解曲线, 同分异构体的相同离子对的裂解曲线也存在差异。**结论:** 利用 Online ER-MS 可以实现甘氨酸胆酸硫酸盐同分异构体的快速、有效区分, 为胆类中药体内药效物质和作用机制的阐明提供参考。

【关键词】 胆类中药; 在线能量分辨质谱; 甘氨酸胆酸硫酸盐; 同分异构体; 裂解曲线组

【中图分类号】 R284 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1673-4890(2021)11-1883-06

doi:10.13313/j.issn.1673-4890.20210324003

Differentiation of Isomers of Glycine-conjugated Bile Acid Sulfates—*In vivo* Metabolites of Animal Gallbladder-derived Chinese Medicine

ZHANG Ke, LI Wei, WANG Yan-min, GONG Xing-cheng, CAO Li-bo, SONG Yue-lin,

SONG Qing-qing*, TU Peng-fei*

Modern Research Center for Traditional Chinese Medicine, School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

【Abstract】 Objective: To differentiate glycine-conjugated bile acid sulfate isomers, the *in vivo* metabolites of animal gallbladder-derived Chinese medicine, by online energy-resolved mass spectrometry (Online ER-MS). **Methods:** high-performance liquid chromatography-mass spectrometry was employed to acquire the accurate m/z values of precursor and product ions of three glycine bile acid sulfates isomers, namely, glyoursodeoxycholic acid-3-sulfate, glyochenodeoxycholic acid-3-sulfate, and glycodeoxycholic acid-3-sulfate, and then, the mass fragmentation patterns were analyzed, accompanied with ion assignment. Seven ion transition candidates were constructed as m/z 528.3→528.3, 528.3→448.3, 528.3→404.3, 528.3→386.3, 528.3→330.2, 528.3→97.0, and 528.3→74.0, and each afterwards derived a set of pseudo-ion transitions (PITs), corresponding to a series of progressive collision energies from -5 to -180 eV (step size: 1 eV). Mass responses of all PITs were recorded via online ER-MS, and corresponding breakdown graph sets were developed by Gaussian curve fitting. The breakdown graph of the same ion pair was compared between isomers. **Results:** The MS¹ and MS² data of three isomers were basically the same, which failed to differentiate them. The mass response of each set of PITs

[△] **【基金项目】** 国家自然科学基金项目 (81973444, 82003911, 81773875)

* **【通信作者】** 宋青青, 讲师, 研究方向: 中药质量评价和药效物质基础; E-mail: song_qingq@163.com
屠鹏飞, 教授, 研究方向: 中药活性成分与新药研究及中药质量分析; E-mail: pengfeitu@163.com

took on Gaussian distribution. Different ion transitions of the same compound showed different breakdown graphs, so did the same ion pairs of isomers. **Conclusion:** Online ER-MS is a promising method to facilitate rapid and efficient isomer identification, and provides reliable information for clarifying the pharmacodynamic substances and mechanism of animal gallbladder-derived Chinese medicine.

[Keywords] animal gallbladder-derived Chinese medicine; online energy-resolved mass spectrometry; glycine-conjugated bile acid sulfates; isomer; breakdown graph set

胆类中药(如熊胆、蛇胆、牛黄等)多为名贵中药,具有清肝明目、利胆通肠、解毒消肿之功效,常用于胆结石等的临床治疗,疗效确切^[1-3]。胆汁酸为胆类中药的主要药效成分。作为重要的结合型胆汁酸,甘氨酸在胆类中药中广泛分布,且同分异构体较多,如甘氨酸熊去氧胆酸(GUDCA)、甘氨酸去氧胆酸(GCDCA)、甘氨酸去氧胆酸(GDCA)等。甘氨酸胆酸硫酸盐为甘氨酸胆酸体内主要代谢产物类型,也广泛存在同分异构体。研究表明,体内胆酸硫酸盐是胆汁淤积的潜在病理标志物群^[4],胆汁淤积属于中医理论的黄疸范畴。因此,准确鉴定甘氨酸胆酸硫酸盐化学结构不仅有利于胆类中药体内药效物质的阐明,也有助于黄疸的病理进程及药物治疗效果的精确评估。胆汁酸类成分同分异构体的高分辨多级质谱图几乎一致,常规液相色谱-质谱法(LC-MS)也难以实现这些同分异构体的有效区分。本课题组前期通过构建在线能量分辨质谱法(Online ER-MS),采集某个离子对在不同碰撞能量下的响应值,进一步拟合裂解曲线(breakdown graph),获得相应的最佳碰撞能(OCE),实现了部分同分异构体的区分^[5-8]。然而,仅通过单一离子对的OCE值区分同分异构体过于片面,无法提供各同分异构体碎片离子的整体情况。因此,本研究以甘氨酸熊去氧胆酸-3-磺酸盐(GUDCA-3-S)、甘氨酸去氧胆酸-3-磺酸盐(GCDCA-3-S)、甘氨酸去氧胆酸-3-磺酸盐(GDCA-3-S)为研究对象,利用Online ER-MS策略研究MS²图谱中主要离子(包括母离子)的丰度随碰撞能升高的变化趋势,构建裂解曲线组(breakdown graph set),全面深入分析甘氨酸胆酸硫酸盐同分异构体多级质谱行为的差异,以期胆类中药体内代谢产物的准确阐明提供科学依据,同时也为基于LC-MS的同分异构体快速区分提供有效的方法。

1 材料

1.1 试剂

对照品 GUDCA-3-S (批号: IR-15693)、

GCDCA-3-S (批号: IR-15685) 及 GDCA-3-S (批号: IR-15689) 均购自上海甄准生物科技有限公司,以上对照品纯度经高效液相色谱法(HPLC)检测均大于98%;质谱级乙腈、甲酸和甲酸铵均购自美国 Thermo-Fisher 公司;二甲基亚砜(DMSO)购自美国 Sigma 公司;水为实验室自制 Milli-Q 超纯水(18.2 M Ω ·cm)。

1.2 仪器

LC-20AD 型分析型高效液相色谱仪(包括二元高压梯度泵、真空脱气机、自动进样器、柱温箱及控制器,日本岛津公司);ACQUITY UPLC HSS T3 型色谱柱(100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.8 μ m, 美国 Waters 公司);Tripe TOF 6600⁺型高分辨质谱仪和 Qtrap 5500 型质谱仪(美国 Sciex 公司);Milli-Q 型超纯水净化系统(美国 Millipore 公司);ME204 型电子分析天平(瑞士 Mettler Toledo 公司,精确度为0.1 mg)。

2 方法

2.1 对照品溶液的配制

精密称取对照品 GUDCA-3-S、GCDCA-3-S 及 GDCA-3-S 适量,分别溶于 DMSO 中,配制成质量浓度为 1 mg $\cdot$ mL⁻¹的对照品储备液。吸取各对照品储备液适量,用 50% 乙腈水溶液稀释成 50 μ g $\cdot$ mL⁻¹的混合对照品溶液,待用。

2.2 色谱条件

采用 Acquity UPLC HSS T3 色谱柱(100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.8 μ m),流动相 A 为含 0.05% 甲酸的甲酸铵水溶液(5 $\times$ 10⁻³ mol $\cdot$ L⁻¹),流动相 B 为含 0.1% 甲酸的乙腈,以 34%B 等度洗脱 10 min;柱温为 35 $^{\circ}$ C;流速为 0.25 mL $\cdot$ min⁻¹;进样量为 2 μ L。

2.3 质谱条件

Tripe TOF 6600⁺和 Qtrap 5500 型质谱仪,均配备电喷雾离子源(ESI);气帘气(curtain gas, CUR)压力为 35 psi (1 psi $\approx$ 6.895 kPa);雾化气

(nebulizer gas, GS1) 压力为 55 psi; 辅助气 (auxiliary gas, GS2) 压力为 55 psi; 喷雾电压 (ionspray voltage, IS) 为 -4500 V; 离子化温度为 550 °C。Tripe TOF 6600⁺ 实时动态背景扣除 (DBS) 触发 IDA (information-dependent acquisition) 模式采集二级图谱, MS¹ 及 MS² 采集范围均为 m/z 50~700; 碰撞能量 (CE) 为 -35 eV; 碰撞能量扩展值 (CES) 为 -25 eV; Qtrap 5500 采用多反应监测 (MRM) 模式采集数据。

2.4 在线能量分辨质谱

基于 GUDCA-3-S、GCDCA-3-S 及 GDCA-3-S 的 MS¹ 及 MS² 高分辨信息, 构建 7 对候选离子对, 分别为 m/z 528.3→528.3、528.3→448.3、528.3→404.3、528.3→386.3、528.3→330.2、528.3→97.0、528.3→74.0, 进一步衍生出 7 组拟离子对 (PITs), 分别为 m/z 528.300→528.302、528.300→528.301、528.300→528.301 等; m/z 528.300→448.300、528.300→448.301、528.300→448.302 等; m/z 528.300→404.300、528.300→404.301、528.300→404.302 等; m/z 528.300→386.300、528.300→386.301、528.300→386.302 等; m/z 528.300→330.200、528.300→330.201、528.300→330.202 等; m/z 528.300→97.000、528.300→97.001、528.300→97.002 等; m/z 528.300→74.000、528.300→74.001、528.300→74.002 等。每组拟离子对分别以 1 eV 步长采集 CE 为 -5~-180 eV 的质谱响应。将不同 CE 值下的质谱响应导入 GraphPad Prism 7.0 软件中, 通过 Gaussian 曲线拟合各离子对的裂解曲线, 形成裂解曲线组, 而各拟合曲线顶点对应的碰撞能为 OCE 值。

3 结果

3.1 甘氨酸胆酸硫酸盐的质谱裂解途径

负离子模式下, GUDCA-3-S、GCDCA-3-S 和 GDCA-3-S 的 MS¹ 图谱显示准分子离子峰均为 $[M-H]^-$, 分别为 m/z 528.262 0、528.263 9 和 528.262 7。以 GUDCA-3-S 为例, 归属其二级碎片离子 (图 1)。MS² 图谱中基峰离子信号为 m/z 448.308 6 $[M-H-SO_3]^-$, 表明母离子经 S-O 键断裂中性丢失 SO_3 , 进一步中性丢失 CO_2 和 H_2O , 分别产生碎片离子 m/z 404.313 5 $[M-H-SO_3-CO_2]^-$ 和 386.306 8 $[M-H-$

$SO_3-CO_2-H_2O]^-$ 。碎片离子 m/z 74.025 2 ($NH_2CH_2COO^-$) 和 96.960 3 (HSO_4^-) 分别为结合型胆酸侧链的甘氨酸基团以及磺酸基团断裂产生的特征碎片。结合 MS² 碎片离子信息和文献数据^[4,9-10], 推测 GUDCA-3-S、GCDCA-3-S 和 GDCA-3-S 的质谱裂解途径见图 2。由于胆汁酸母核结构中 7 位羟基相比 12 位羟基更容易发生脱水^[9], 在 GDCA-3-S 未见碎片离子 m/z 386.3。

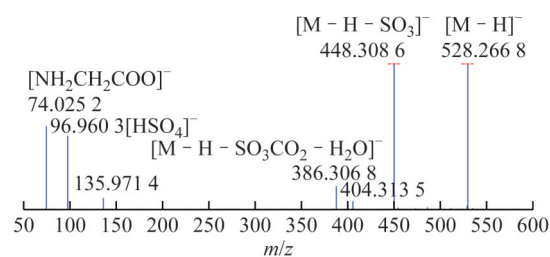


图1 GUDCA-3-S的二级质谱图

3.2 在线能量分辨质谱分析

基于高分辨质谱提供的前体离子和碎片离子信息, 构建了 m/z 528.3→528.3、528.3→448.3、528.3→404.3、528.3→386.3、528.3→330.2、528.3→97.0、528.3→74.0 7 对离子对。其中, GCDCA-3-S 未检出 m/z 528.3→404.3, GDCA-3-S 未检出 m/z 528.3→386.6, m/z 528.3→330.2 仅在 GCDCA-3-S 中检出, 但 3 对离子对响应过低, 不宜选作特征碎片区分同分异构体。

为了进一步探究离子的稳定性及不同化学键解离的能量关系, 考察了目标化合物所有离子对在不同碰撞能下的质谱响应, 通过 Online ER-MS 采集 7 对离子对在不同 CE (-5~-180 eV) 下的响应值, 使用 GraphPad Prism 7.0 软件分别拟合 3 个同分异构体各离子对的裂解曲线。其中, 离子对 m/z 528.3→528.3 的裂解曲线如图 3 所示, GUDCA-3-S、GCDCA-3-S 和 GDCA-3-S 的裂解曲线从 -5 eV 起始, 响应值随 CE 增大而增高, 在 -18~-19 eV 响应达到峰值, 但差异并不明显 (GUDCA-3-S、GCDCA-3-S 和 GDCA-3-S 峰值的 CE 分别为 -18.48、-18.08、-18.39 eV)。在 -19 eV 后响应值随 CE 值增大而逐渐降低, 在 -70 eV 附近前体离子 m/z 528.3 全部解离。这与前期研究发现的离子对 (前体离子 m/z 值与碎片离子相同) 的“S”形裂解曲线不同^[11], 推测与胆酸类成分结构密切相关, 胆酸类

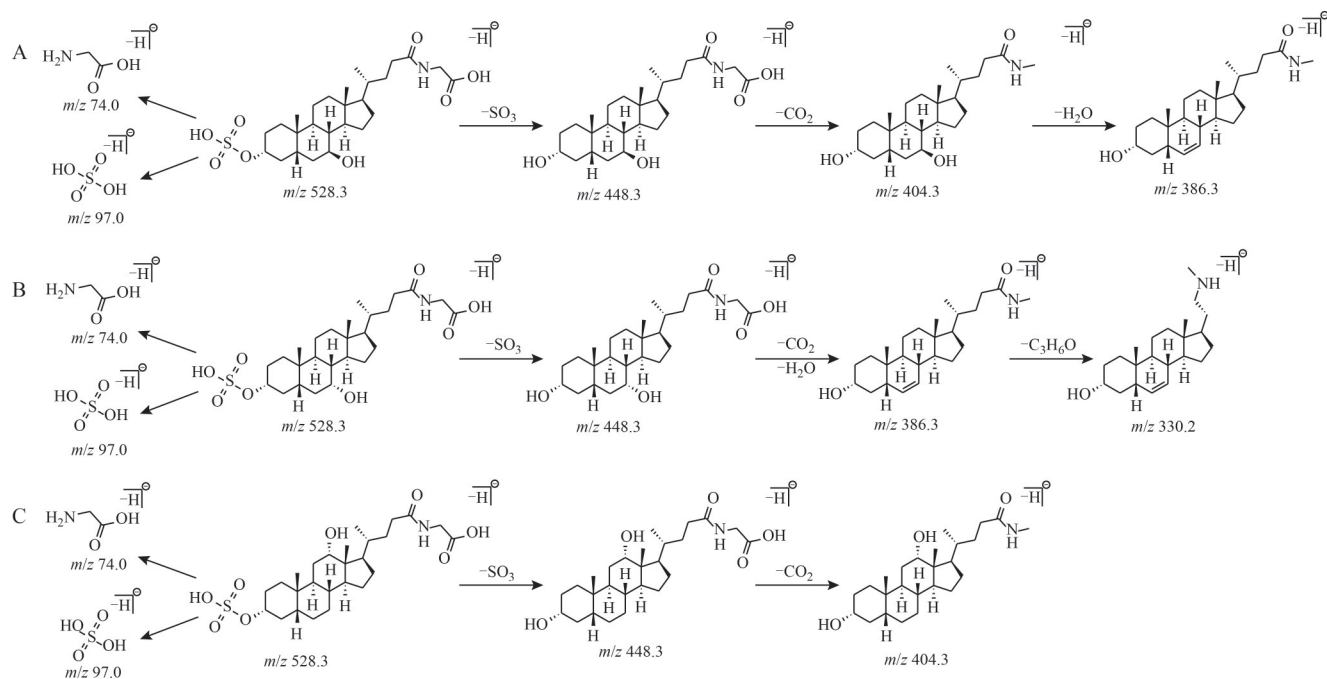


图2 GUDCA-3-S、GCDCA-3-S和GDCA-3-S可能的质谱裂解途径

为甾体类化合物,具有4个紧密连接的脂环构成的刚性疏水骨架,且有不同数量的-OH、-CH₃和-COOH取代基侧链,胆酸离子通过疏水作用和氢键会形成聚集离子,聚集离子与单体离子处于动态平衡^[12]。因此,胆酸类化合物离子化时可能会产生[M-H]⁻、[2M-2H]²⁻、[3M-3H]³⁻等前体离子同时通过Q1,随着CE的增加,[2M-2H]²⁻、[3M-3H]³⁻等前体离子需克服分子间作用力产生[M-H]⁻碎片离子,通过Q3进入检测器;之后随着CE的不断增加,[M-H]⁻离子解离速率大于其生成速率,于是其响应值逐渐下降。

其余各离子对裂解曲线均呈高斯曲线(图4),

计算所得的裂解曲线方程和OCE值见表1。GUDCA-3-S、GCDCA-3-S和GDCA-3-S结构十分相似,仅有1个羟基取代位点和构象存在差异,不同离子对OCE差值仅在1 eV左右。因此,进一步对比离子对在碰撞能为-5~-180 eV的质谱响应比值(图5)。3个同分异构体中离子对m/z 528.3→528.3与m/z 528.3→448.3的质谱响应比值在-30 eV时差异较大,GUDCA-3-S比值为4.83,GCDCA-3-S为3.87,GDCA-3-S为4.08;离子对m/z 528.3→97.0与m/z 528.3→74.0在-100 eV碰撞能下的响应比值有明显差异,分别为2.38、2.76和3.02,可为同分异构体的区分提供参考。

4 讨论

质谱法可提供化合物多级质谱信息用于结构解析,但无法对具有相似质谱行为的同分异构体进行准确鉴定。本课题组前期建立的Online ER-MS通过改变碰撞能量,依据目标离子对OCE与断裂相关化学键的键长、键能关系实现同分异构体的区分。相较于传统能量分辨质谱法^[13],将针泵注射对照品方式转换为与HPLC联用,一方面实现了进样的自动化和高通量,另一方面可以实现不依赖对照品的离子对质谱响应值的获取,更适用

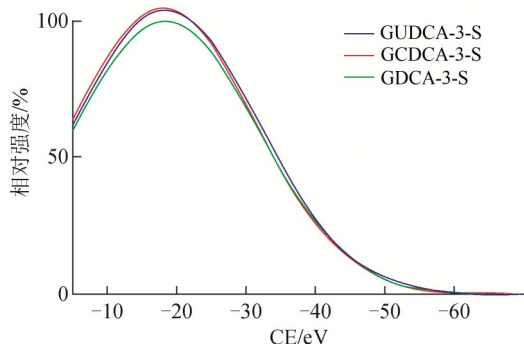


图3 GUDCA-3-S、GCDCA-3-S和GDCA-3-S的离子对m/z 528.3→528.3的裂解曲线

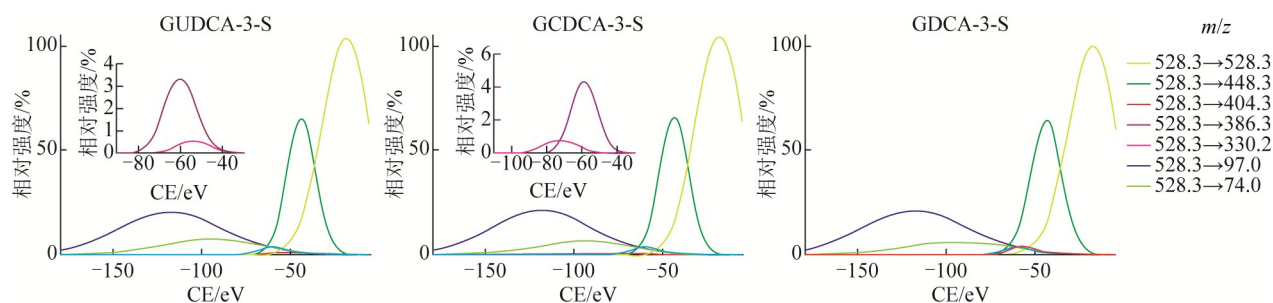
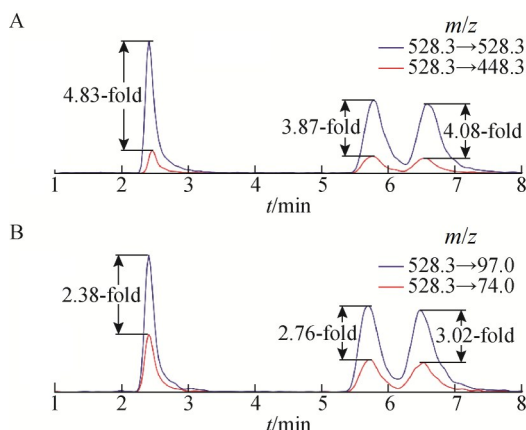


图4 GUDCA-3-S、GCDCA-3-S和GDCA-3-S的裂解曲线

表1 GUDCA-3-S、GCDCA-3-S和GDCA-3-S中各离子对的拟合曲线方程和最佳碰撞能

化合物	离子对 (m/z)	最佳碰撞能/eV	高斯曲线方程
GUDCA-3-S	528.3→528.3	-18.48	$Y=1.04 \text{ EXP} \{-0.5[(X+18.48)/13.33]^2\}$
	528.3→448.3	-43.66	$Y=0.648 \text{ EXP} \{-0.5[(X+43.66)/7.948]^2\}$
	528.3→404.3	-53.42	$Y=0.005 \text{ EXP} \{-0.5[(X+53.42)/7.52]^2\}$
	528.3→386.3	-59.82	$Y=0.032 \text{ EXP} \{-0.5[(X+59.82)/7.57]^2\}$
	528.3→97.0	-117.40	$Y=0.200 \text{ EXP} \{-0.5[(X+117.4)/29.27]^2\}$
	528.3→74.0	-94.31	$Y=0.072 \text{ EXP} \{-0.5[(X+94.31)/28.31]^2\}$
	528.3→528.3	-18.08	$Y=1.045 \text{ EXP} \{-0.5[(X+18.08)/13.2]^2\}$
GCDCA-3-S	528.3→448.3	-43.41	$Y=0.660 \text{ EXP} \{-0.5[(X+43.41)/8.312]^2\}$
	528.3→386.3	-58.70	$Y=0.042 \text{ EXP} \{-0.5[(X+58.7)/7.521]^2\}$
	528.3→330.2	-72.65	$Y=0.007 \text{ EXP} \{-0.5[(X+72.65)/9.915]^2\}$
	528.3→97.0	-118.30	$Y=0.214 \text{ EXP} \{-0.5[(X+118.3)/29.05]^2\}$
	528.3→74.0	-93.21	$Y=0.065 \text{ EXP} \{-0.5[(X+93.21)/28.51]^2\}$
	528.3→528.3	-18.39	$Y=1.001 \text{ EXP} \{-0.5[(X+18.39)/13.31]^2\}$
	528.3→448.3	-44.32	$Y=0.644 \text{ EXP} \{-0.5[(X+44.32)/8.726]^2\}$
GDCA-3-S	528.3→404.3	-57.09	$Y=0.038 \text{ EXP} \{-0.5[(X+57.09)/7.26]^2\}$
	528.3→97.0	-118.50	$Y=0.212 \text{ EXP} \{-0.5[(X+118.5)/29.38]^2\}$
	528.3→74.0	-94.93	$Y=0.059 \text{ EXP} \{-0.5[(X+94.03)/28.41]^2\}$



注：A. m/z 528.3→528.3 与 m/z 528.3→448.3 (-30 eV)；B. m/z 528.3→97.0 与 m/z 528.3→74.0 (-100 eV)。

图5 GUDCA-3-S($t_R=2.4$ min)、GCDCA-3-S($t_R=5.7$ min)和GDCA-3-S($t_R=6.5$ min)的质谱响应比值

于复杂基质中同分异构体的区分鉴定。随着对 Online ER-MS 应用的扩大及对能量和离子对响应关

系的进一步理解,发现分析不同碰撞能下所有子离子质谱响应差异更有利于同分异构体的区分。本研究通过建立主要碎片离子随碰撞能变化的趋势图,即建立了X轴、Y轴、Z轴分别为 m/z 、离子丰度、碰撞能的三维二级质谱图(3D MS² spectrum)。通过三维二级质谱图,可以获得化合物在任何CE值的二级质谱图,为构建化合物全息质谱数据库提供思路^[14]。通过分析大量已知化合物,获得目标离子对的最佳碰撞能,结合量子化学计算,构建定量结构-最佳碰撞能关系模型,可以实现基于LC-MS的化学结构精准鉴定。

本研究采用HPLC-MS采集GUDCA-3-S、GCDCA-3-S和GDCA-3-S的MS¹和MS²离子信息,构建离子对,基于Online ER-MS策略,全面构建各离子对的裂解曲线。研究发现,离子对 m/z 528.3→528.3(Q1=Q3)响应随CE值增大先升高后下降(-18~

-19 eV碰撞能范围内达峰值),推测是由于胆酸类化合物为四环甾体类化合物,分子间的范德华力易导致多分子离子的产生,需要较高的能量破坏 $[2M-2H]^{2-}$ 、 $[3M-3H]^{3-}$ 等前体离子间作用力,进而会生成2倍或者3倍数量的 $[M-H]^{-}$ 。进一步分析-5~-180 eV碰撞能范围内各离子对丰度比值,发现离子对 m/z 528.3 $\rightarrow$ 528.3与 m/z 528.3 $\rightarrow$ 448.3、 m/z 528.3 $\rightarrow$ 97.0与 m/z 528.3 $\rightarrow$ 74.0的质谱响应比值的差异可为同分异构体的区分提供参考。本研究通过深入比较GUDCA-3-S、GCDCA-3-S和GDCA-3-S在不同碰撞能下的质谱行为,建立裂解曲线组,实现了甘氨胆酸硫酸盐同分异构体的区分,为准确阐明胆类中药体内代谢产物及进一步揭示其在体内的药效物质和作用机制提供参考。

参考文献

- [1] 李炎桂,王海军,贾赞,等. 动物胆类中药化学成分研究概述[J]. 动物医学进展,2019,40(7):115-119.
- [2] 戚万毅. 兔胆粉的药理作用研究[D]. 长春:吉林农业大学,2019.
- [3] 毕丹,宋月林,张梁,等. 鹅胆的化学成分研究[J]. 中草药,2009,40(10):1543-1545.
- [4] LIN M, CHEN X, WANG Z, et al. Global profiling and identification of bile acids by multi-dimensional data mining to reveal a way of eliminating abnormal bile acids [J]. Anal Chim Acta,2020,1132:74-82.
- [5] CAO Y, CHAI C, CHANG A, et al. Optimal collision energy is an eligible molecular descriptor to boost structural annotation: An application for chlorogenic acid derivatives-focused chemical profiling[J]. J Chromatogr A, 2020,1609:460515.
- [6] SONG Q, LI J, HUO H, et al. Retention time and optimal collision energy advance structural annotation relied on LC-MS/MS: An application in metabolite identification of an antidementia agent namely echinacoside [J]. Anal Chem, 2019,91(23):15040-15048.
- [7] GUAN P W, SONG Q Q, LI T, et al. Confirmative structural annotation for metabolites of (R)-7, 3'-dihydroxy-4'-methoxy-8-methylflavane, a natural sweet taste modulator, by liquid chromatography-three-dimensional mass spectrometry [J]. J Agric Food Chem, 2020, 68 (44) : 12454-12466.
- [8] KE Z, TING L, XING-CHENG G, et al. Online energy-resolved MS boosts the potential of LC-MS towards metabolite characterization of salidroside and tyrosol [J]. Anal Methods,2020,12(42):5120-5127.
- [9] 曹妍,宋青青,李军,等. 牦牛胆中胆汁酸类化学成分分析[J]. 中国中药杂志,2019,44(12):2538-2543.
- [10] LAN K, SU M, XIE G, et al. Key role for the 12-hydroxy group in the negative ion fragmentation of unconjugated C24 bile acids[J]. Anal Chem,2016,88(14):7041-7048.
- [11] XU X, LI W, LI T, et al. Direct infusion-three-dimensional-mass spectrometry enables rapid chemome comparison among herbal medicines [J]. Anal Chem, 2020,92(11):7646-7656.
- [12] PÁRTAY L B, JEDLOVSZKY P, SEGA M. Molecular aggregates in aqueous solutions of bile acid salts. Molecular dynamics simulation study[J]. J Phys Chem B, 2007,111(33):9886-9896.
- [13] HERNANDEZ J, MÜLLER A, JAISWAL R, et al. Energy resolved mass spectrometry of chlorogenic acids and its application to isomer quantification by direct infusion tandem mass spectrometry[J]. Phytochem Anal, 2018, 29 (4):406-412.
- [14] ZHANG K, LIU W, SONG Q, et al. Integrated strategy drives direct infusion-tandem mass spectrometry as an eligible tool for shotgun pseudo-targeted metabolomics of medicinal plants[J]. Anal Chem,2021,93(4):2541-2550.

(收稿日期: 2021-03-24 编辑: 田苗)