

doi: 10.12452/j.fxcxb.250304144

基于UPLC-Q-TOF-MS/MS与自动解析算法的 3种抗病毒药物快速筛检

李奕晓¹, 陈苏微¹, 周 淳⁴, 胡 坪¹, 肖 雪^{2,3*}, 章弘扬^{1,4*}

(1. 华东理工大学 化学与分子工程学院, 上海 200237; 2. 广东药科大学 广东省代谢病中西医结合研究中心(中医药研究所), 广东 广州 510006; 3. 国家药品监督管理局药品快速检验技术重点实验室(广东省药品检验所), 广东 广州 510663; 4. 上海甘泓生物医学科技有限公司, 上海 200131)

摘要: 该研究基于超高效液相色谱-四极杆-飞行时间串联质谱(UPLC-Q-TOF-MS/MS)技术建立了奈玛特韦、利托纳韦和奥司他韦的快速分析方法, 对上述3种抗病毒药物进行了二级质谱碎裂机理精细分析。通过机器学习构建的自动解析算法实现了标样非依赖性鉴定, 即使在血清1%加标水平下仍有100%检出率, 对低丰度碎片离子表现出足够的识别能力。在模型测试中, 该系统能有效区分目标化合物与基质干扰物, 展现出良好的特异性。采用该方法成功从实际药品中分离鉴定出奈玛特韦、利托纳韦和奥司他韦, 匹配得分均高于85。该研究为抗病毒药物质量监控提供了新思路和技术支持。

关键词: 抗病毒药物; 质量监控; 液质联用; 裂解机理; 机器学习; 模型测试

中图分类号: O657.7; R914.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-4957(2025)12-2462-08

Screening and Detection of Three Antiviral Drugs Based on UPLC-Q-TOF-MS/MS and Automatic Interpretation Algorithm

LI Yi-xiao¹, CHEN Su-wei¹, ZHOU Chun⁴, HU Ping¹, XIAO Xue^{2,3*}, ZHANG Hong-yang^{1,4*}

(1. School of Chemistry and Molecular Engineering, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China; 2. Guangdong Metabolic Disease Research Center of Integrated Chinese and Western Medicine (Institute of Traditional Chinese Medicine), Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China; 3. NMPA Key Laboratory for Rapid Testing Technology of Drugs (Guangdong Institute for Drug Control), Guangzhou 510663, China; 4. Shanghai Ganhong Biomedical Technology Co., Ltd., Shanghai 200131, China)

Abstract: This study developed a method for rapid analysis of nirmatrelvir, ritonavir and oseltamivir based on ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole-time-of-flight tandem mass spectrometry (UPLC-Q-TOF-MS/MS) technique. The MS/MS fragmentation mechanisms for these three antiviral drugs were studied in detail. An automatic interpretation algorithm built by machine learning enables standard-independent identification, with 100% detection rate even at 1% spiked level in serum. It showed sufficient recognition ability for low-abundance fragment ions. The system could effectively distinguish target compounds from matrix interferences. It demonstrated good specificity in the model test. Using this method, nirmatrelvir, ritonavir, and oseltamivir were successfully separated and identified in real drug samples with matching scores all above 85. This study thus provides new ideal and technical support for the quality supervision of antiviral drugs.

Key words: antiviral drugs; quality supervision; LC-MS; fragmentation mechanism; machine learning; model testing

近年来, 流感病毒(IV)、呼吸道合胞病毒(RSV)以及严重急性呼吸系统综合征冠状病毒2型(SARS-CoV-2)等病原体以其高发病率和快速进化的特性, 对公众健康构成严峻威胁^[1]。美国疾病控制

收稿日期: 2025-03-04; 修回日期: 2025-04-12

基金项目: 中国仪器仪表学会科学仪器托举计划项目(CISTJ2024); 国家药品监督管理局药品快速检验技术重点实验室开放课题(KF2022006)

* 通讯作者: 肖 雪, 博士, 副研究员, 研究方向: 中药质量研究、药品快检与过程分析, E-mail: erxiaohappy@163.com

章弘扬, 博士, 副教授, 研究方向: LC-MS复杂体系分析新方法, E-mail: hongyang_zhang@ecust.edu.cn

网络首发时间: 2025-08-04

与预防中心(CDC)数据显示,截至 2025 年 2 月 7 日,流感病例累计报告 2 400 万,死亡病例超 1.3 万。在此背景下,抗病毒药物的研发与应用成为应对病毒性传染病的关键策略。奈玛特韦(Nirmatrelvir)、利托纳韦(Ritonavir)和奥司他韦(Oseltamivir)凭借其独特的作用机理和显著的临床疗效,在抗病毒治疗领域占据重要地位。奈玛特韦是辉瑞公司针对 SARS-CoV-2 研发的一种抗病毒药物,通过与 3C 样蛋白酶(3CL^{pro})结合,阻断对多聚蛋白 pp1a 和 pp1ab 的切割,从而抑制病毒复制,发挥抗病毒作用^[2-3]。利托纳韦能有效抑制细胞色素 P4503A(CYP3A)的代谢,常被用于增加其他抗逆转录病毒药物的血药浓度,例如与奈玛特韦协同治疗 SARS-CoV-2 病毒中重度患者感染^[4-5]。奥司他韦是一种特异性神经氨酸酶抑制剂,可防止宿主细胞释放病毒,被中国国家卫生健康委员会(NHC)列为抗流感首选药物^[6]。因此,建立上述 3 种抗病毒药物成分的高效、准确鉴定方法,对于保障药物质量、优化治疗方案具有重要的现实意义。

超高效液相色谱-四极杆-飞行时间串联质谱(UPLC-Q-TOF-MS/MS)技术凭借其高分辨率、高选择性和快速的优势,在药物分析领域得到了广泛应用^[7-8]。常规质谱鉴定流程严重依赖人工解析和标样比对,效率较低且难以适应高通量筛查需求。随着计算机技术和人工智能的飞速发展,用于质谱数据解析的自定义脚本取得了重大发展^[9-11],极大提高了解析效率和准确度。机器学习作为人工智能的一个重要分支,通过数据训练计算机自动学习规律和模式来完成特定任务。基于该技术,本文开发了一种 Python 算法,以 3 种药物的质谱精细裂解信息训练模型,实现自动提取和注释特征峰,快速准确地识别出奈玛特韦、利托纳韦和奥司他韦 3 种关键成分。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Agilent 1290 超高效液相色谱-6530 四极杆-飞行时间质谱联用仪(美国 Agilent 公司); PA225D 十万分之一精密分析天平(德国 Sartorius 公司); 1 000 μ L 移液枪(德国 Eppendorf 公司); 玛瑙研钵(上海新诺仪器集团有限公司); 0.22 μ m 有机系微孔滤膜; 玻璃自动进样小瓶(美国 Agilent 公司)。

抗病毒组合药—帕罗韦德(Paxlovid, 美国 Pfizer 公司),批号为 GP4885; 3 批某市售仿制药,批号分别为 2203(批次 1)、2215(批次 2)和 2219(批次 3); 奈玛特韦(上海佰世凯化学科技有限公司); 利托纳韦(上海毕合生物化学技术有限公司); 奥司他韦(上海固康生物科技有限公司); 甲醇(HPLC 级,上海百灵威公司); 乙腈(LC-MS 级,美国 Thermo Fisher 公司); 甲酸(HPLC 级,上海阿拉丁生化科技股份有限公司); 屈臣氏蒸馏水。

1.2 标准品及样品溶液制备

取奈玛特韦、利托纳韦、奥司他韦标准品各 1.00 mg,精密称定,均加入 50 mL 甲醇溶解,配制成质量浓度为 20 μ g/mL 的单标溶液。移取以上 3 种单标溶液各 1.5 mL,置于 10 mL PV 管中,配成质量浓度为 6.67 μ g/mL 的混标溶液。分取 1 mL 稀释 2 倍、10 倍、50 倍、100 倍,依次得质量浓度为 3 390、667、133、66.7 ng/mL 的溶液,摇匀后过 0.22 μ m 有机系微孔滤膜。所有标准溶液均置于 -20 $^{\circ}$ C 冻存。

将 Paxlovid 和 3 批某仿制药的主、辅药片依次在玛瑙研钵中研磨成粉,分取样品粉末 1.00 mg,精密称定,置于 15 mL 离心管中,均加入 10 mL 甲醇溶解。摇匀后过 0.22 μ m 有机系微孔滤膜,取续滤液,即得。

取 300 μ L 血清加入 1 200 μ L 甲醇沉淀蛋白,离心后分取 990 μ L 和 900 μ L 上清液,分别加入 10 μ L 和 100 μ L 6.67 μ g/mL 混标液,制成血清加标 1% 和 10% 的溶液,过膜备用(模拟复杂生物基质)。

1.3 UPLC-Q-TOF-MS/MS 条件

色谱柱采用 Waters UPLC BEH C₁₈ 反相柱(2.1 mm $\times$ 50 mm, 1.7 μ m),配有 VanGuard 预柱^[12]; 流动相 A 为 0.1% 甲酸水溶液, B 相为 0.1% 甲酸乙腈,梯度洗脱程序: 0~3 min, 5%~95% A; 3~5 min, 95% A; 流速: 0.3 mL/min; 柱温: 40 $^{\circ}$ C; 进样量: 5 μ L。

一级质谱采用 TOF 全扫描模式,在正模式下进行。条件优化时,比较了不同参数下的信噪比和碎片丰度,最终选择如下质谱参数,以兼顾灵敏度和特征碎片强度。质谱参数:干燥气流速 10 L/min; 干燥气温度 350 $^{\circ}$ C; 雾化气压力 207 kPa; 毛细管电压 3 500 V; Skimmer 电压 65 V; 八极杆射频电压

750 V;毛细管出口电压125 V;质荷比范围设置为 m/z 50~1 000。选择参比溶液的内标离子 m/z 121.050 9和 m/z 922.009 8,进行实时质量校正。二级质谱采用目标二级离子模式(Targeted-MS/MS),碰撞电压为20 eV,采集速率为2 spectra/s,四极杆过滤 m/z 范围设定为Medium水平。

1.4 数据处理

使用Agilent MassHunter 10.0软件提取目标化合物。二级质谱数据以MS Convert软件将其转换为.mzML格式,导入ThermoFisher Mass Frontier 8.1软件预测碎片离子的裂解途径,并使用Chem Draw 20.0软件绘制裂解机理。在Jupyter Notebook上用Python语言创建质谱数据自动解析程序,实现对奈玛特韦、利托纳韦、奥司他韦3种药物成分的快速鉴定。

2 结果与讨论

2.1 质谱裂解机理

按“1.3”参数,采集3种小分子药物标准品的高分辨质谱数据。通过一级质谱精确分子量测定和二级质谱特征碎裂,结合文献报道和Massfrontier数据库预测,对奈玛特韦、利托纳韦、奥司他韦的裂解机理进行推测分析。

2.1.1 奈玛特韦 奈玛特韦的分子式为 $C_{23}H_{32}F_3N_5O_4$,在正模式下形成 $[M+H]^+$ 的准分子离子 m/z 500.247 9。如图1所示,二级质谱主要产生 m/z 68.050 3、473.242 1、319.163 7、291.180 3、110.096 2和182.078 2的特征碎片离子,在其裂解机理图中依次记为A~F(图2)。经碰撞诱导解离后, $[M+H]^+$ 母离子在a键处断裂,2-吡咯酮碎片带电荷,羰基发生酮式和烯醇式转变为中间体A',随后丢失 H_2O 得到碎片离子A(m/z 68.049 5);母离子在b处断裂丢失HCN生成碎片离子B(m/z 473.237 0),在c键处断裂产生碎片离子C(m/z 319.162 8)^[13],随后6,6-二甲基-3-氮杂双环[3.1.0]己烷(以下简称氮杂环)与羰基相连的酰胺键断裂,分别产生碎片离子E(m/z 110.096 4)和中间体F',F'继续丢失CO形成碎片离子F(m/z 182.078 7)^[14];碎片离子D(m/z 291.181 6)的产生方式与E相同,是母离子上d处酰胺键断裂生成的碎片^[15]。

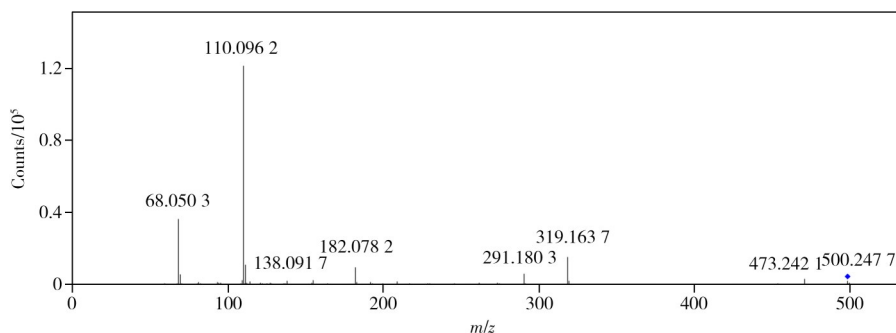


图1 奈玛特韦的高分辨二级质谱图

Fig. 1 High resolution MS/MS spectrum of nirmatrelvir

2.1.2 利托纳韦 利托纳韦的分子式为 $C_{37}H_{48}N_6O_5S_2$,正模式下形成 $[M+H]^+$ 的准分子离子 m/z 721.320 0。如图3所示,二级质谱主要产生 m/z 507.219 8、426.186 7、408.171 9、296.143 3、268.148 5、197.074 4、171.094 9和140.052 4的特征碎片离子,其裂解途径见图4。首先, $[M+H]^+$ 母离子的尿素衍生物上N原子与异丙基相连的N—C键(a键)断裂产生碎片离子A(m/z 507.218 6),进一步发生酰胺键断裂,丢失3-甲基丁醛生成碎片离子D(m/z 426.184 6),随后羟基断裂生成碎片离子E(m/z 408.174 0)^[16];碎片离子B(m/z 268.147 8)是由酮基和异丙基之间的b键裂解形成^[4],随后酰胺键断裂形成碎片离子F(m/z 197.074 3);当母离子在c处的酰胺键断裂时,则会产生的碎片离子C(m/z 296.142 7),其羰基发生酮式和烯醇式互变,会形成噁氮唑酮部分,在肽和蛋白质质谱分析中亦能观察到类似的碎裂模式^[17];随后该噁氮唑酮部分被裂解为碎片离子G(m/z 171.095 0),其中性分子为2-异丙基-4-(N-甲胺基甲基)噻唑,是利托纳韦合成工艺过程的主要中间体,G会进一步丢失甲胺生成碎片离子H(m/z 140.052 8)^[4]。

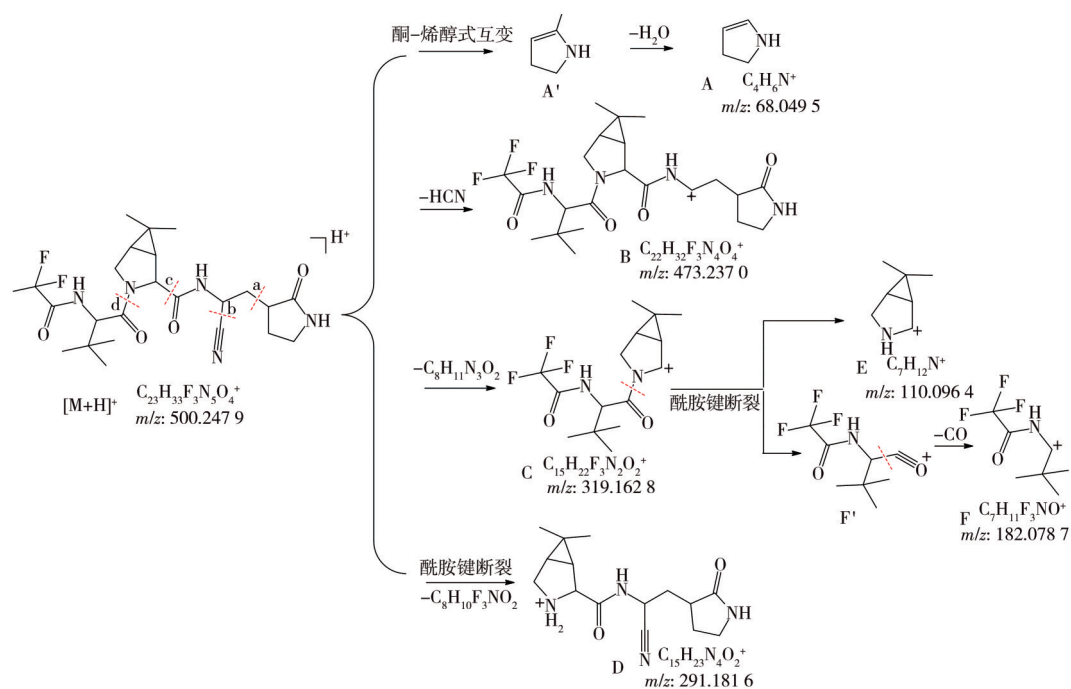


图2 奈玛特韦的质谱裂解机理

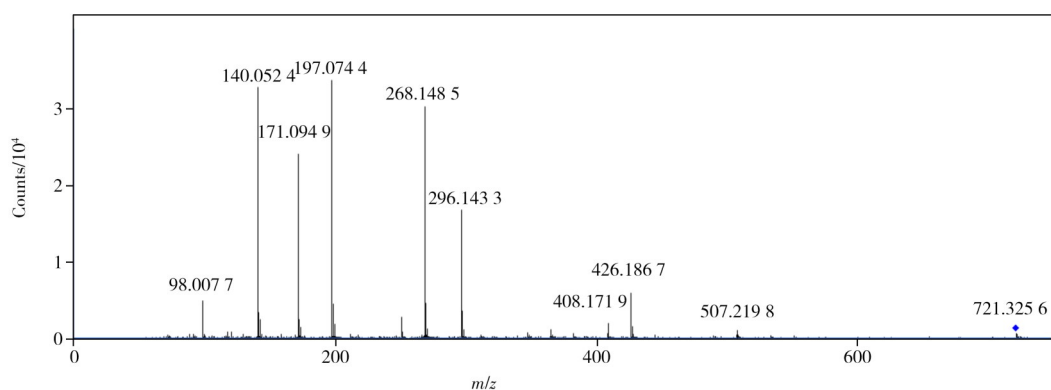
Fig. 2 MS/MS fragmentation mechanism of nirmatrelvir
the figure shows theoretical value of m/z 

图3 利托纳韦的高分辨二级质谱图

Fig. 3 High resolution MS/MS spectrum of ritonavir

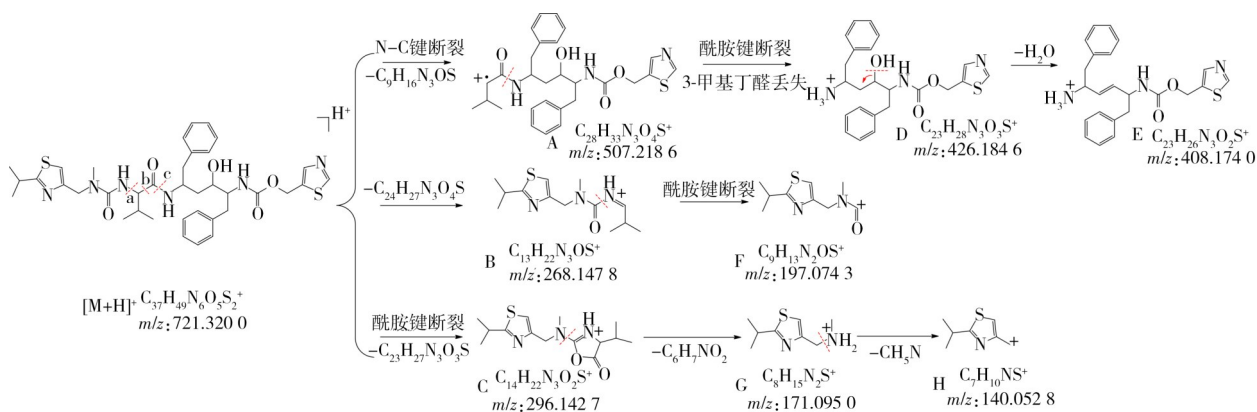


图4 利托纳韦的质谱裂解机理

Fig. 4 MS/MS fragmentation mechanism of ritonavir
the figure shows theoretical value of m/z

2.1.3 奥司他韦 奥司他韦的分子式为 $C_{16}H_{28}N_2O_4$ ，在正模式下形成 $[M+H]^+$ 的准分子离子 m/z 313.212 2。如图 5 所示，二级质谱主要产生 m/z 225.123 4、208.097 8、166.086 1、120.044 6 和 94.065 3 的特征碎片离子，其碎裂机理详见图 6。软电离质谱裂解途径常见 N 原子 β 位的亚甲基通过 β -H 重排，将质子传递给质子亲和势更高的 N 原子，同时形成 $C=C$ 双键。故 $[M+H]^+$ 母离子在戊氧基断裂产生碎片离子 A (m/z 225.123 4) 后，氨基和乙酰胺上的 N 原子发生上述重排，分别生成碎片离子 B (m/z 208.096 8) 和 C (m/z 166.086 3)^[18]；B 的酰胺键发生 β 开裂，得到中间体 E'，且推测 $HN=CH-CH_2$ 可能发生氢重排为 $H_2N-C=CH$ 结构，随后乙氧基发生 i 裂解生成碎片离子 E (m/z 120.044 4)；母离子连续丢失 3-戊醇、乙酰胺、甲酸乙酯后形成碎片离子 D (m/z 94.065 1)^[19-20]。

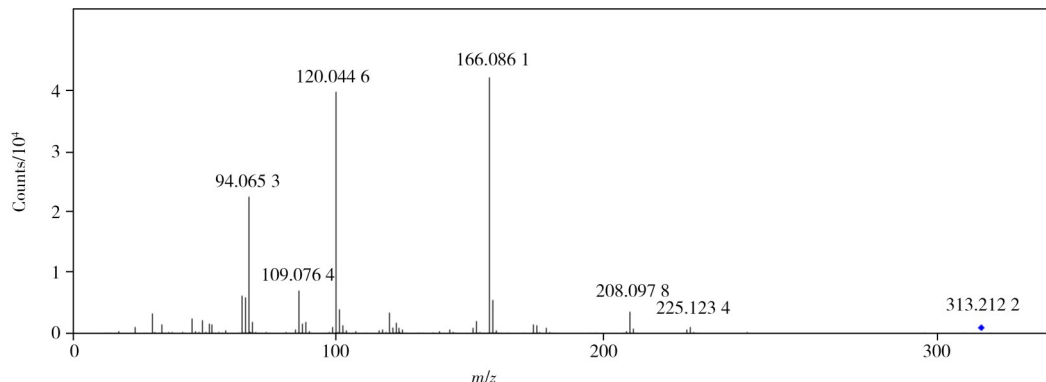


图 5 奥司他韦的高分辨二级质谱图

Fig. 5 High resolution MS/MS spectrum of oseltamivir

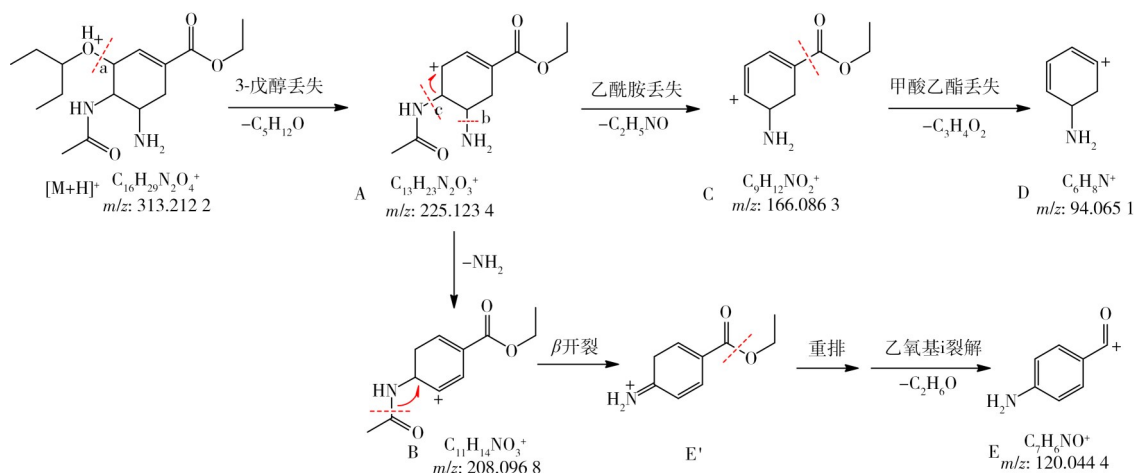


图 6 奥司他韦的质谱裂解机理

Fig. 6 MS/MS fragmentation mechanism of oseltamivir
the figure shows theoretical value of m/z

2.2 质谱数据自动解析算法

2.2.1 模型训练 随机森林(Random forest)是一种集成学方法，常用于分类和回归任务。它由多个决策树(Decision tree)组成，通过组合多个决策树的预测结果来提高模型的准确性和稳定性。本文利用该方法结合质谱精细碎裂信息，开发了不依赖标品的自动解析算法，能在几秒钟内快速准确地鉴定奈玛特韦、利托纳韦和奥司他韦 3 种成分。

在鉴定流程中，首先使用 MS Convert 将质谱源数据(.d)转换为.txt 格式，通过正则表达式提取关键参数，包括母离子 m/z 值(Target)及碎片离子 m/z -强度对，阈值设为 ± 10 ppm，存为 Dataframe 格式。基于 3 种药物的质谱裂解机理，构建了理论二级碎片离子库。使用不同浓度的标准品数据作为训练集(每个浓度平行采样 2 次， $n=10$)进行有监督的多标签分类模型训练，血清基质加标数据为测试集(每个加标浓度平行采样 2 次， $n=4$)。以母离子和理论碎片 m/z 为特征，药物名称和碎片名称为标签，使用随机森林分类器(Random forest classifier)训练模型学习特征与标签之间的映射关系。使用训练好的模型对

测试集进行鉴定, 输出鉴定结果。以实际匹配碎片数目(N_{matched})与理论碎片数目($N_{\text{theoretical}}$)之比(公式 1)计为匹配得分, 反映鉴定覆盖率。使用 Matplotlib 库对结果进行可视化处理, 以实际/理论谱图对应模式呈现以下关键信息: 匹配碎片 m/z 、相对强度、评分和注释。算法工作流程如图 7A 所示。

$$\text{Matching_score} = N_{\text{matched}}/N_{\text{theoretical}} \times 100\% \quad (1)$$

图 7 B~D 分别展示了血清加标 1% 样品的鉴定结果, 所有预期碎片离子均被准确匹配, 包括强度小于 100 的低丰度离子。奈玛特韦和奥司他韦的碎片覆盖率达 100%, 利托纳韦仅 m/z 140.0528 碎片离子缺失, 得分为 87.5。该结果展现了本方法较高的检测灵敏度和较强的抗干扰能力, 能从复杂基质中准确识别目标物的特征碎片离子。

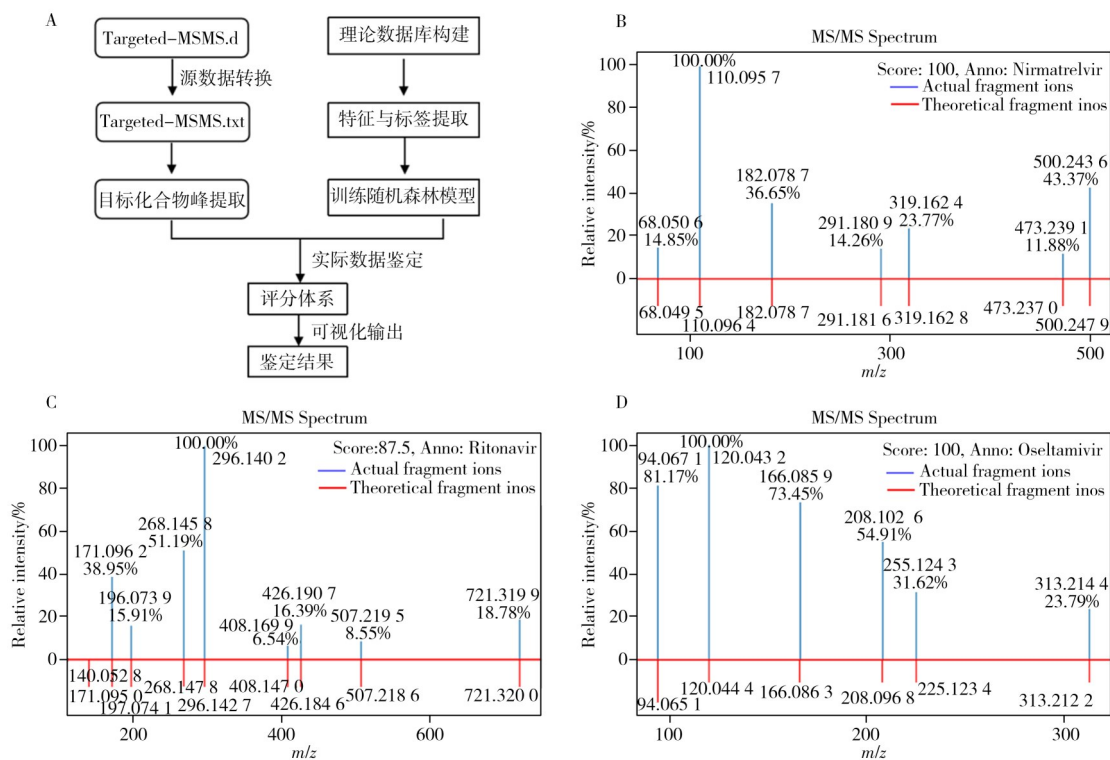


图 7 MS/MS 数据自动解析算法流程(A)和血清加标 1% 样品鉴定结果(B~D)

Fig. 7 Workflow of the automatic interpretation algorithm for MS/MS data (A) and identification results of 1% spiked serum samples (B~D)

2.2.2 模型性能测试 经人工复核, 测试集中所有检测到的碎片离子均被算法准确匹配, 未出现错检或漏检。值得注意的是, 在血清加标样品中提取奥司他韦母离子 m/z 313.2122 (质量容差 ± 10 ppm) 时, 图 8 左图显示 2 个色谱峰 (m/z 313.2151 和 313.2122), 保留时间分别为 1.97 min 和 2.33 min, 而提取其他 2 个目标离子未出现干扰峰。采集这 2 个峰物质的 MS/MS 谱图进行算法鉴定, 匹配分数分别为 0 和 100, 证明前者为基质干扰, 而后者为目标物, 体现了该模型在复杂基质中对质量相近干扰物的特异性鉴别能力。

2.3 实际药品分析

按“1.3”方法采集 Paxlovid 和 3 批市售某仿制药溶液的 LC-MS 数据。如图 8 右图, Paxlovid 主、辅药溶液分别提取到 m/z 500.2479 和 721.3200 的色谱峰, 保留时间分别为 3.15 和 3.56 min, 仿制药辅药在 3.56 min 同样出峰, 而其主药仅在 2.35 min 处提取到 m/z 313.2122 的色谱峰。各药品二级质谱数据的自动解析结果(表 1)显示, Paxlovid 中鉴定出奈玛特韦和利托纳韦, 3 批仿制药的主药中均只有奥司他韦, 与其宣称的有效成分严重不符。

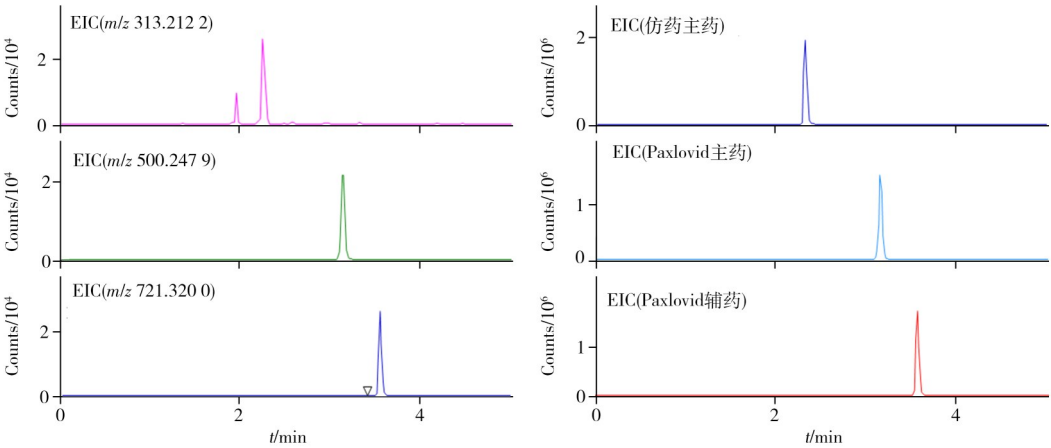


图 8 血清 10%加标溶液(左)和两种药品主、辅药溶液(右)的提取离子流图

Fig. 8 Extracted ion chromatograms(EIC) of 10% spiked serum solution(left) and the main and auxiliary drug solutions from two pharmaceutical products(right)

表 1 Paxlovid 和市售某仿制药的 MS/MS 数据及自动解析结果

Table 1 MS/MS data and automatic interpretation results of Paxlovid and a marketed generic drug

Target ion(m/z)	RT/min	MS/MS fragment ion(m/z)	I. D.	Score	Sample source
500. 247 9	3. 15	68. 049 9, 110. 096 2, 182. 077 4, 291. 181 7, 319. 161 6, 500. 245 4	奈玛特韦	100	Paxlovid 主药
721. 320 0	3. 56	140. 052 6, 171. 094 2, 197. 073 5, 268. 147 7, 296. 141 8, 408. 174, 426. 182 9, 507. 217 9, 721. 325 2	利托纳韦	100	Paxlovid 辅药
313. 212 2	2. 35	94. 065 7, 120. 044 5, 166. 086 3, 208. 097, 225. 123 5, 313. 211 8	奥司他韦	100	仿药主药(批次 1)
721. 320 0	3. 56	140. 053 1, 171. 098 1, 268. 144 7, 296. 143 9, 408. 175 1, 426. 184 7, 507. 218 8, 721. 319 5	利托纳韦	87. 5	仿药辅药(批次 1)
313. 212 2	2. 33	94. 065 1, 120. 043 8, 166. 085 6, 208. 095 8, 225. 122 7, 313. 211 6	奥司他韦	100	仿药主药(批次 2)
721. 320 0	3. 55	140. 052 3, 171. 095 5, 197. 072 4, 268. 147 8, 296. 145 9, 408. 173 6, 426. 182 2, 721. 318 9	利托纳韦	87. 5	仿药辅药(批次 2)
313. 212 2	2. 32	94. 065 0, 120. 044 0, 166. 085 5, 208. 096 0, 225. 122 3, 313. 213 4	奥司他韦	100	仿药主药(批次 3)
721. 320 0	3. 57	140. 054 2, 171. 094 0, 197. 074 3, 268. 148 7, 296. 142 5, 408. 174 1, 426. 184 3, 507. 219 3, 721. 320 4	利托纳韦	100	仿药辅药(批次 3)

3 结 论

本研究建立了快速检测 3 种抗病毒药物成分的 UPLC-Q-TOF-MS/MS 方法,总结了奈玛特韦、利托纳韦和奥司他韦的质谱裂解规律,并用于训练机器学习模型,开发了 MS/MS 数据自动解析算法,实现了标品非依赖性的快速鉴定。所建方法对血清 1%加标样本中的低丰度特征碎片离子仍能准确识别,且对质量相近干扰物具有特异性鉴别能力。通过该方法成功检出 Paxlovid 中的有效成分,并准确判别 3 批仿制药主药中仅含奥司他韦,不含其宣称的奈玛特韦成分。当前模型虽限于上述 3 种药物,但其模块化设计可通过迁移学习拓展至其他抗病毒药物的鉴定,为其质量监管和临床用药安全提供更全面的技术保障。

参考文献:

[1] De Jesus-Gonzalez L A, Leon-Juarez M, Lira-Hernandez F I, Rivas-Santiago B, Velazquez-Cervantes M A, Mendez-Delgado I M, Macias-Guerrero D I, Hernandez-Castillo J, Hernandez-Rodriguez X, Calderon-Sandate D N, Mata-Martinez W S, Reyes-Ruiz J M, Osuna-Ramos J F, Garcia-Herrera A C. *Pathogens*, **2024**, 14(1): 20.

[2] Li J, Lin C, Zhou X, Zhong F, Zeng P, Yang Y, Zhang Y, Yu B, Fan X, McCormick P J, Fu R, Fu Y, Jiang H, Zhang J. *J. Virol.*, **2022**, 96(8): e0201321.

[3] Vankadara S, Dawson M D, Fong J Y, Oh Q Y, Ang Q A, Liu B, Chang H Y, Koh J, Koh X, Tan Q W, Joy J, Chia C S B. *ACS Med. Chem. Lett.*, **2022**, 13(8): 1345-1350.

[4] Rao R N, Ramachandra B, Vali R M, Raju S S. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **2010**, 53(4): 833-842.

[5] Sagawa K, Lin J, Jaini R, Di L. *Pharm. Res.*, **2023**, 40(8): 1927-1938.

- [6] Li Q Q, Wang B, Wu Z L, Jia F. *Chin. J. Mod. Appl. Pharm.* (李青青, 王博, 吴中礼, 贾飞. 中国现代应用药学), **2022**, 39(15): 1974–1978.
- [7] D'Ovidio C, Locatelli M, Perrucci M, Ciriolo L, Furton K G, Gazioglu I, Kabir A, Merone G M, De Grazia U, Ali I, Catena A M, Treglia M, Marsella L T, Savini F. *Molecules*, **2023**, 28(5): 2127.
- [8] Malarvannan M, Ravichandiran V, Paul D. *J. Chromatogr. A*, **2024**, 1732: 465226.
- [9] Vlnieska V, Khanda A, Gilshtein E, Beltran J, Heier J, Kunka D. *Polymers*, **2024**, 16: 1771.
- [10] Bald T, Barth J, Niehues A, Specht M, Hippler M, Fufezan C. *Bioinformatics*, **2012**, 28(7): 1052–1053.
- [11] Strauss M T, Bludau I, Zeng W F, Voytik E, Ammar C, Schessner J P, Ilango R, Gill M, Meier F, Willems S, Mann M. *Nat. Commun.*, **2024**, 15(1): 2168.
- [12] Yu M, Liu A, Liu S, Wu X, Zhang X, Li H, Wang H. *Bioanalysis*, **2023**, 15(24): 1489–1501.
- [13] Zhou C J, Liu Y N, Wang A, Wu H, Xu R A, Zhang Q. *Heliyon*, **2024**, 10(11): e32187.
- [14] Martens-Lobenhoffer J, Boger C R, Kielstein J, Bode-Bo S M. *J. Chromatogr. B*, **2022**, 1212: 123510.
- [15] Kumar M A, Sundararajan R. *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **2024**, 38(20): e9896.
- [16] Gehrig A K, Mikus G, Haefeli W E, Burhenne J. *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **2007**, 21(16): 2704–2716.
- [17] Wysocki V H, Resing K A, Zhang Q, Cheng G. *Methods*, **2005**, 35(3): 211–222.
- [18] Gupta A, Guttikar S, Shrivastav P S, Sanyal M. *J. Pharm. Anal.*, **2013**, 3(3): 149–160.
- [19] Yao B Y, Guo Y Q, Xie Q F, Jiang M H, Sun F Z, Zhao Y P, Tan G Y, Sun J X, Huang F F, Song X Z, You J S. *J. Mass Spectrom.*, **2022**, 57(12): e4899.
- [20] Huang M F, Lin Y R, Chang Y T, Shiue Y L, Liang S S. *J. Chromatogr. B*, **2018**, 1087: 23–28.

(责任编辑: 丁 岩)