

质量分析

环形离子淌度质谱在套索多肽类复杂
药物拓扑异构体分析中的应用*朱绍洲¹, 樊丽姣¹, 张拓², 孙葭北¹, 姚静¹, 黄海伟^{1**}, 张庆生^{1**}

(1. 中国食品药品检定研究院, 北京 102629; 2. 沃特世科技(北京)有限公司, 北京 102600)

摘要 目的: 探究高分辨环形离子淌度质谱(Cyclic IMS)检测套索多肽类复杂药物构象(拓扑异构体)的可行性及潜在应用。**方法:** 以 Mccj25 及 Rubrinodin 套索多肽为药物分析模型, 将 2 种化合物分别于 0、50、80 °C 处理 4 h, 采用高分辨 Cyclic IMS 直接进样的方式对样品进行分离、检测。**结果:** 2 种模型药物在 3 个温度下呈现不同的拓扑结构变化, Mccj25 在 3 个温度下构象未发生明显变化, 具有较稳定的拓扑结构, 而 Rubrinodin 在 3 个温度下构象发生了明显变化; 采用 Cyclic IMS 中的环形淌度可精准识别复杂药物的折叠、解体等构象变化。**结论:** Cyclic IMS 可对复杂药物的构象(拓扑异构体)进行精准分析, 可识别药物微小的构象变化, 方法可操作性强, 重现性较好, 准确度高, 可用于复杂药物的构象测定及质量控制。

关键词: 环形离子淌度质谱; 套索多肽; 构象分析; 拓扑异构体; 质谱成像; 质量控制

中图分类号: R 917 文献标识码: A 文章编号: 0254 - 1793(2024)11 - 1997 - 07

doi: 10. 16155/j. 0254 - 1793. 2024 - 0112

Application of cyclic ion mobility mass spectrometry for
conformational analysis of lasso peptide - type complex drugs*ZHU Shao - zhou¹, FAN Li - jiao¹, ZHANG Tuo², SUN Jia - bei¹,
YAO Jing¹, HUANG Hai - wei^{1**}, ZHANG Qing - sheng^{1**}

(1. National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 102629, China; 2. Waters Technologies (Beijing) Co., Ltd., Beijing 102600, China)

Abstract Objective: To explore the feasibility and potential applications of high - resolution cyclic ion mobility separation mass spectrometry (Cyclic IMS) for detecting the conformations (topological isomers) of complex medicines. **Methods:** Using MccJ25 and Rubrinodin lasso peptides as models, the compounds were subjected to heat treatment at 0, 50, and 80 °C for 4 h, respectively. The samples were then directly injected for separation and detection using high - resolution Cyclic IMS. **Results:** The two model compounds exhibited different topological structural changes at three temperatures tested. MccJ25 showed no significant conformational changes and exhibited a relatively stable topological structure across all temperatures. In contrast, Rubrinodin demonstrated

* 国家药品监督管理局化学药品质量研究与评价重点实验室学科建设基金项目(2023HYZX02); 药品监管科学全国重点实验室基金项目(2023SKLDRS0109); 国家药品监督管理局药品监督科学体系建设重点项目(RS2024H005)

** 通信作者 黄海伟 Tel: (010)53851607; E - mail: huanghw@nifdc.org.cn

张庆生 Tel: (010)53851375; E - mail: zqs@nifdc.org.cn

第一作者 Tel: (010)53851506; E - mail: zhushaozhou@126.com

significant conformational changes at each temperature. The cyclic ion mobility cell in Cyclic IMS was able to accurately identify conformational changes, such as folding and unfolding, in the complex drugs. **Conclusion:** Cyclic IMS can precisely analyze the conformation (topological isomers) of complex drugs, detect small conformational changes, and offers strong operability, good reproducibility, and high accuracy. It holds potential for use in the conformational determination and quality control of complex drug molecules.

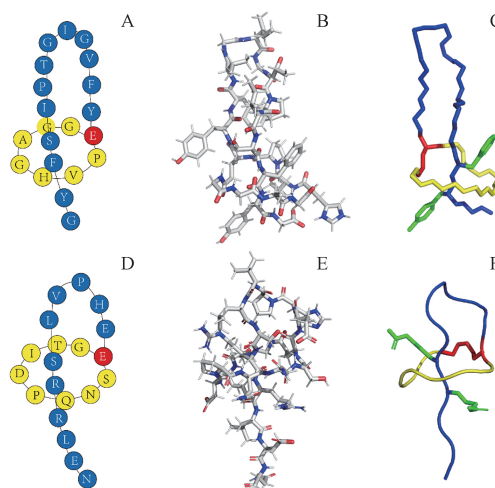
Keywords: cyclic ion mobility mass spectrometry; lasso peptides; conformational analysis; topological isomers; mass spectrometry imaging; quality control

离子淌度质谱是近年来飞速发展的一种新型质谱技术,依靠离子在电场中不同的迁移率,可以实现药物的高精度分离与检测^[1]。环形离子淌度质谱(Cyclic IMS)是在传统线性离子淌度的基础上进一步升级的产品,通过增加紧凑型的环形离子导向装置,Cyclic IMS可以控制离子进行一圈或多圈的淌度分离,从而大大提高药物分离分析的分辨率^[2-3]。随着分辨率的大幅提高,Cyclic IMS可以广泛应用于分离小分子药物的顺反异构、非对映异构、对映异构体及大分子的拓扑异构体等,可以帮助研究人员更好地理解化合物的结构、构象等特征^[2]。

复杂大分子药物是近年来创新医药领域发展迅速的一类分支,包括多肽、多肽-小分子偶联药物、单克隆抗体、蛋白质药物、核酸药物等,在治疗肿瘤、感染、自身免疫病、代谢疾病等领域发挥着越来越重要的作用^[4]。该类药物往往具有副作用低,特异性强,生物活性高等优点,但同时也有结构复杂,稳定性低,易变性等缺点^[5]。这类药物的高级结构对药物生物活性起到至关重要的作用,也是考察药物质量可控性需要重点关注的领域^[6]。各国药典都对大分子药物的质量控制进行了相关描述,包括一级结构、高级结构、生物活性等维度进行结构确认,确保产品的有效性和安全性,相关的技术手段涉及圆二色谱法、差示扫描量热法、傅里叶变换红外光谱法、X射线晶体衍射、核磁共振等^[7]。与小分子药物不同,大分子药物的结构分析往往较为复杂,同时其变质过程往往还涉及到自身微小构象的变化,这些变质属性很难被传统分析方法精准识别,给药品的质量控制及监管带来了非常大的挑战,亟需开发新的质量控制方法。如何利用前沿分析技术如离子淌度质谱等对这类药物进行质量分析也逐渐成为近年来的研究热点^[8-10]。

套索多肽是一类来源于微生物的核糖体合成并

翻译后修饰的多肽类天然药物,具有广泛的生物活性,如抗肿瘤、抗菌及受体拮抗剂等^[11]。套索多肽具有独特的套索拓扑3D结构,其N端通常由7~9个氨基酸通过N端氨基酸的 α -氨基与天冬氨酸或谷氨酸的羧酸侧链形成大环内酰胺,C端多肽尾巴通过穿入N端的大环内酰胺从而形成互锁套索样结构(图1)^[12]。这种独特的套索结构使这类分子具有良好的稳定性并被应用于药物支架设计^[11]。例如,Microcin J25套索多肽已被开发用于展示RGD(Arg-Gly-Asp)肽,用于特异性识别在癌细胞中过表达的 $\alpha_v\beta_3$ 整合素^[13]。此外,美国初创药物公司Lassogen已获得450万美元种子轮融资,致力于研究套索多肽作为开发新药的一种方法。这类药物介于小分子化学药与大分子生物药之间,具有独特的化学性质及拓扑结构,一旦上市,将给相关药物的质量控制带来挑战。



A, D. 结构示意图(schematic representation of the structure) B, E. 结构式(structure colored by elements) C, F. 锁套结构(lasso fold)

图1 Mccj25 (A, B, C) 及 Rubrinodin (D, E, F) 套索多肽的结构式
Fig. 1 Structures of Mccj25 (A, B, C) and Rubrinodin (D, E, F) lasso peptides

本文以 Mccj25 套索多肽及 Rubrinodin 套索多肽为模型^[14-15],采用 Cyclic IMS 对 2 种化合物的拓扑结构进行研究。通过对 2 种化合物进行不同的热处理,通过环形离子淌度直接进样的方式,考察此类药物在热处理变性条件下微小的构型变化,相关分析技术的开发为具有复杂拓扑结构药物的质量控制提供了新方法参考。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

UltiMate 3000 高效液相色谱仪(Thermo Fisher Scientific 公司); Select Series Cyclic IMS 环形离子淌度质谱仪(Waters Technologies 公司)。

1.2 试剂

Mccj25 套索多肽(5 mg)与 Rubrinodin 套索多肽(5 mg)均为中国食品药品检定研究院抗肿瘤和放射性药品室自制。三氟乙酸为色谱纯(购自 Sigma - Aldrich);甲醇、乙腈均为色谱纯(购自百灵威科技有限公司)。

2 色谱-质谱条件

2.1 色谱条件

采用资生堂 CAPCELL CORE C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 2.7 μm) 色谱柱,流动相为 0.1% 三氟乙酸水溶液(A) - 0.1% 三氟乙酸乙腈溶液(B),梯度洗脱(0~2 min, 10%B; 2~15 min, 10%B→50%B; 15~25 min, 50%B→95%B; 25~30 min, 95%B; 30~31 min, 95%B→10%B; 31~35 min, 10%B),流速 1 mL·min⁻¹,紫外检测波长 220 nm,柱温 30 °C,进样量 10 μL。

2.2 质谱条件

采用电喷雾正离子化,碰撞能量 6 eV,碰撞能量转移 4 eV,四极杆质量驻留时间 10 ms,毛细管电压 50 V,脱溶剂气流量 9 L·min⁻¹,脱溶剂温度 450 °C,扫描范围 m/z 50~2 000。Cyclic IMS 参数见表 1。

3 方法与结果

3.1 高效液相色谱热处理对 Mccj25 及 Rubrinodin 套索多肽构象的影响

传统高效液相色谱方法可以对大分子药物构象进行分离分析。本文选用结构较为稳定的 Mccj25 套索多肽及结构相对不稳定的 Rubrinodin 套索多肽作为分析模型进行研究。精密称取 Mccj25 套索多肽及 Rubrinodin 套索多肽各约 1 mg,置 2 mL 离心管中,用 50% 甲醇 1 mL 溶解,制成约 1 mg·mL⁻¹的套索多肽溶液各 3 份,分别置 0、50、80 °C 金属浴处理 4 h,

表 1 Mccj25 和 Rubrinodin 的 Cyclic IMS 参数

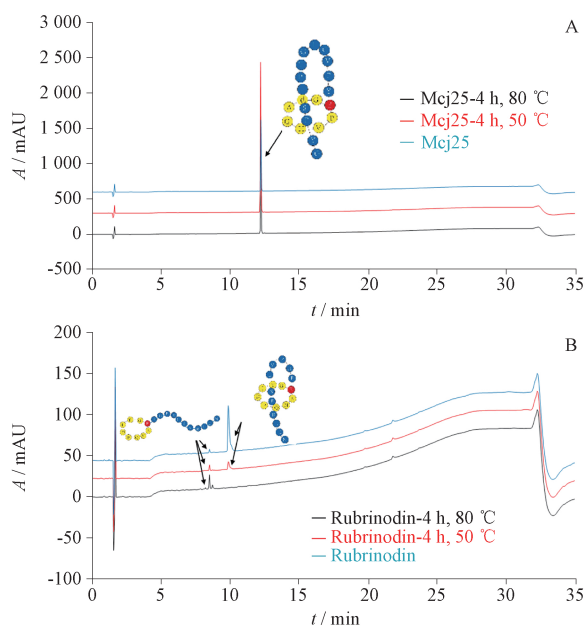
Tab. 1 Parameters of Cyclic IMS for Mccj25 and Rubrinodin

样品 (sample)	Mccj25	Rubrinodin
ADC 采样频率(ADC sample frequency)/GHz	7.2	7.2
ADC 推杆周期(ADC pusher period)/μs	85	85
前体(precursor) m/z	1 065	795
IMS 周期启动延迟(IMS cycle start delay)/ms	1 108	811
四极杆模式(quad mode)	8 000	8 000
SID 模式(SID mode)	CID	CID
TOF 模式(TOF mode)	ESI	ESI
扫描时间(scan time)/s	1.030 8	1.033 7
循环时间(cycle time)/s	1.036	1.039

将样品稀释 10 倍后转移至进样小瓶并进行液相色谱梯度洗脱分析。如图 2 - A 所示, Mccj25 在 3 个温度处理后,在液相色谱图上均呈现单一色谱峰(保留时间约为 12.1 min),表明 Mccj25 套索多肽的构象在高温处理条件下未发生明显变化。与之相反, Rubrinodin 呈现出明显不同的变化(图 2 - B):在 0 °C 处理条件下, Rubrinodin 在 10.0 min 处呈现单一主峰,在约 8.5 min 处有少量拓扑异构体产生。这些异构体主要是 Rubrinodin 在生产制备纯化过程产生的^[14]; Rubrinodin 在 50 °C 处理 4 h 后,大部分套索结构发生解折叠,产生新的伸展态的 Rubrinodin(保留时间约 8.5 min); Rubrinodin 在 80 °C 处理 4 h 后,液相色谱结果显示折叠态的 Rubrinodin 已完全转化为伸展态的多肽。高效液相色谱分析结果初步证明了 Mccj25 套索多肽相对稳定,在热处理条件下保持构象稳定,而 Rubrinodin 套索多肽在热处理条件下发生了明显的构象变化,推测套索多肽的 C 端尾巴从 N 端内酰胺大环中挣脱出来,形成伸展态多肽,此结论与文献[14]结论相符。

3.2 Mccj25 及 Rubrinodin 套索多肽 TOF 质谱分析

采用直接进样的方式对经过热处理的 2 种套索多肽进行高分辨 Cyclic IMS 分析。首先对 Mccj25 在 80 °C 热处理 4 h 的样品进行质谱全扫描分析,发现 Mccj25 在质谱中显示出一系列带有不同钠离子的准分子离子峰,其中观测到的 Mccj25 $[M + 2H + Na]^{3+}$ 离子 m/z 为 1 065.071,与理论预测值($[M + 2H]^{2+}$ m/z 1 054.018)相符(图 3 - A)。对 Rubrinodin 在 50 °C 处理 4 h 的样品进行质谱全扫描分析,发现 Rubrinodin 在质谱中同样显示出一系列带有不同钠离子的准分子离子峰,证明不同套索多肽在直接



A. Mccj25 B. Rubrinodin

图2 HPLC法检测不同温度处理后套索多肽的构象

Fig. 2 HPLC to detect the conformation of lasso peptides under different temperature treatments

进样时带有不同数量钠离子是普遍现象。其中,观测到 Rubrinodin $[M + 3H + 5Na]^{8+}$ 离子 m/z 为 795.049,与预测值 ($[M + 3H]^{3+}$ m/z 758.381) 相符。

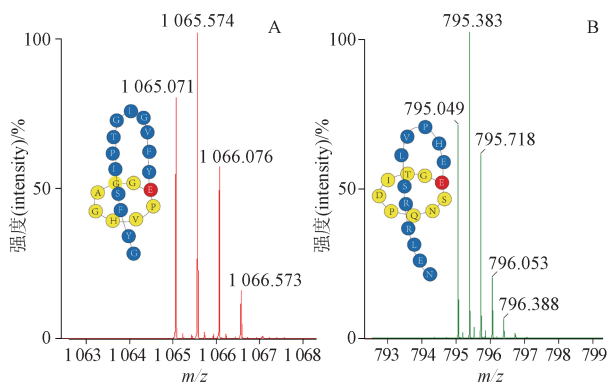


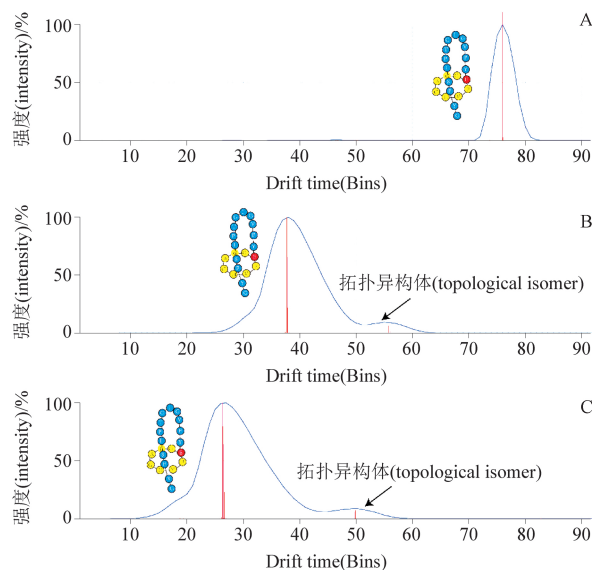
图3 质谱分析 Mccj25 (A) 及 Rubrinodin (B) 套索多肽的相对分子质量

Fig. 3 Mass spectrometry analysis of the relative molecular mass of Mccj25 (A) and Rubrinodin (B) lasso peptides

3.3 Mccj25 及 Rubrinodin 套索多肽构象 Cyclic IMS 构象分析

3.3.1 Mccj25 套索多肽 Cyclic IMS 条件考察 由于 Cyclic IMS 质谱采用环形淌度池,在测量时可以通过电场对离子的控制,实现离子在淌度池中运行较

多的圈数,从而实现最优的分离效果。首先对 Mccj25 套索多肽进行分析,通过考察不同准分子离子峰,最终选择 Mccj25 的 $[M + 2H + Na]^{3+}$ 进行优化。如图 4 所示, Mccj25 通过环形淌度池 1 圈时,仅呈现单一质谱峰,这与 HPLC 的分析结果一致,显示 Mccj25 具有较为稳定的构象结构;将离子淌度条件提高到 7 圈时, Mccj25 中有少量的拓扑异构体得到分离,从化学角度分析, Mccj25 利用 19 位的苯丙氨酸和 20 位的酪氨酸为锁扣结构,结构极为稳定,但由于 Mccj25 套索含有 2 个脯氨酸,导致其有少量不同构象的套索多肽产生,在之前的研究中,已经有报告证明 Mccj25 套索多肽有 Pro7/Pro16 的顺式/反式异构化现象^[16];进一步将离子淌度条件增加到 9 圈,发现 2 个拓扑异构体的分离度进一步增加。此实验证明,即使像 Mccj25 这种极其稳定的套索结构,其在溶液中也并非具有完全的构象均一性。Cyclic IMS 提供了一种强大的分析工具,可以精准地将这些微少拓扑异构体分离分析出来。通过优化,最终选择运行 7 圈这个条件继续研究,探索 Mccj25 在热稳定性样品中的构象变化。



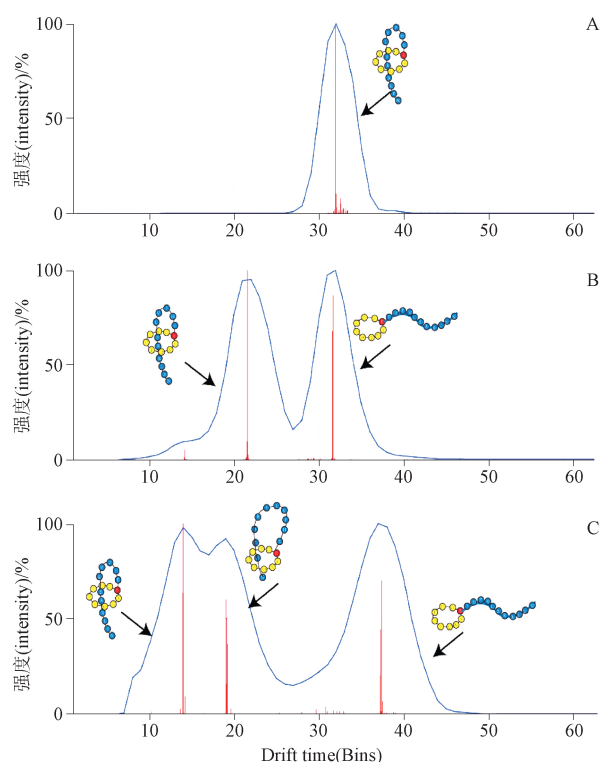
A. 1 圈 (one pass) B. 7 圈 (seven passes) C. 9 圈 (nine passes)

图4 圈数对 Mccj25 离子淌度分离的影响

Fig. 4 Influence of passes on the separation of Mccj25 topological isomers

3.3.2 Rubrinodin 套索多肽 Cyclic IMS 条件考察 采用同样的考察策略,取 50 °C 处理 4 h 的 Rubrinodin 套索多肽,选择 $[M + 3H + 5Na]^{8+}$ m/z 795.049 的准

分子离子峰进行环形离子淌度分析。如图 5 所示,当离子淌度条件为 1 圈时,同样仅呈现单一质谱峰;当离子淌度条件提高到 5 圈时,可以明显看到 Rubrinodin 已经分裂成双组分,推测其一为折叠态的套索多肽,另一为伸展态的多肽,与液相色谱结果一致;当进一步将离子淌度条件提高到 11 圈时,可以看到之前推测为单一构象的折叠态套索多肽进一步分裂成 2 个峰,证实 Rubrinodin 套索多肽在 50 °C 变性过程中还产生了其他位置的拓扑异构体,推测其为 C 端尾巴未完全脱离 N 端大环内酰胺的中间态。通过高分辨的 Cyclic IMS,证实 Rubrinodin 套索多肽在解折叠过程中产生了不同构象,并可分步精准监测,这种独特的分析方法为相关复杂药物的分析提供了一种可选方法。通过优化,最终选择运行 11 圈作为进一步分析 Rubrinodin 热稳定性行为的分析条件。



A. 1 圈 (1 pass) B. 5 圈 (five passes) C. 11 圈 (eleven passes)

图 5 圈数对 Rubrinodin 离子淌度分离的影响

Fig. 5 Influence of passes on the separation of Rubrinodin topological isomers

3.3.3 Mccj25 套索多肽不同温度处理后构象分析 如图 6 所示, Mccj25 在 0、50、80 °C 3 个条件下分别处理 4 h 后, 在环形离子淌度池中运行 7 圈, 其

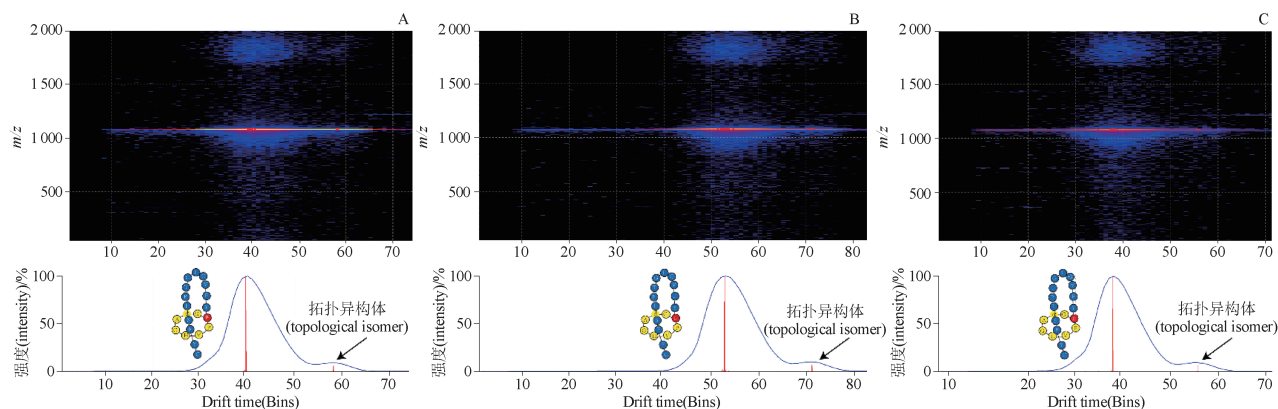
构象分布基本没有变化。实验证明 Mccj25 具有非常好的热稳定性, 同时证明了天然纯化的 Mccj25 套索多肽存在少量的拓扑异构体。对测定样品进行成像分析, 结果 Mccj25 套索多肽在 3 个温度下表现一致, 再次证明了套索多肽有良好的锁扣结构 (具有大分子排阻的侧链), 可为套索提供优越的热稳定性。

3.3.4 Rubrinodin 套索多肽不同温度处理后构象分析 与 Mccj25 采用酪氨酸为锁扣结构不同, Rubrinodin 采用侧链相对较小的精氨酸为锁扣, 同时 Rubrinodin 的 N 端大环由 9 个氨基酸组成。这种大环套索叠加较小的锁扣氨基酸, 使得 Rubrinodin 热稳定性较差。如图 7 - A 所示, Rubrinodin 在 0 °C 时, Cyclic IMS 显示其仍有 3 个拓扑异构体。在之前液相色谱分析中, 已经观察到少量完全伸展态的多肽 (保留时间 8.5 min)。出乎意料的是, 在液相色谱图中为单一色谱峰的套索多肽 (保留时间 10.0 min) 混有部分拓扑异构体, 提示在 Rubrinodin 的纯化或者保存过程中, 已有部分套索多肽在拓扑结构上发生了变质, 而这种变质是常规液相色谱无法检测到的。Rubrinodin 在 50 °C 处理 4 h 后 (图 7 - B), 可以明显看到套索已变成 3 个构象的混合物, 完全伸展及解折叠中间态的套索多肽比例显著增加。Rubrinodin 套索多肽在 80 °C 处理 4 h 后 (图 7 - C), 大部分套索多肽已经完全转化成伸展态。对测定样品进行成像分析, 结果证明 Rubrinodin 套索多肽在 3 个温度下经历了明显的分步构象变化。

4 讨论

传统小分子药物质量控制主要集中在有关物质的检测, 涉及同分异构体、降解杂质等^[17]。通过传统的高效液相色谱结合色谱柱等手段, 可对相关杂质进行有效控制^[18]。随着药物不断向中分子、大分子药物发展, 涉及药物拓扑异构体的杂质给药品质量监管带来了更多挑战。在众多复杂药物的设计过程中, 药物的空间拓扑结构对药物的生物活性至关重要, 例如各种抗体及多肽类靶向药物^[19], 在构象上发生变质往往难以检测, 潜在的生物危害难以察觉, 还大大降低了药物的生物活性, 亟需开发新的分析方法对此类杂质进行检测^[20]。

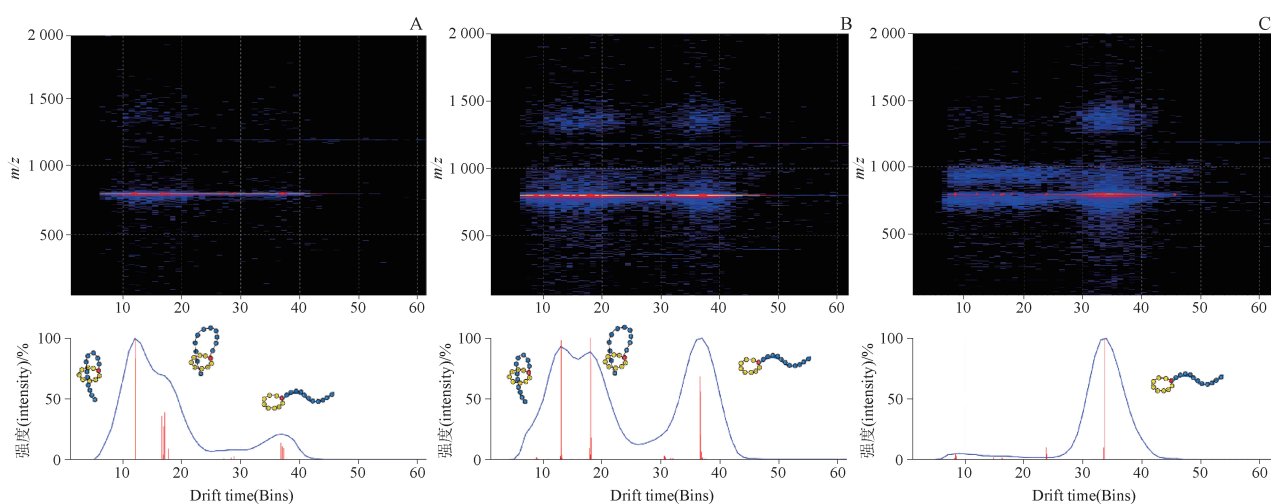
本文以 Mccj25 套索多肽及 Rubrinodin 套索多肽为模型, 探究了复杂药物拓扑异构体的定性分析方法。以 Rubrinodin 套索多肽为例, 当此类分子经历了



A. 0 °C 处理 4 h (process at 0 °C for 4 h) B. 50 °C 处理 4 h (process at 50 °C for 4 h) C. 80 °C 处理 4 h (process at 80 °C for 4 h)

图 6 温度对 Mccj25 套索多肽构象的影响

Fig. 6 Effect of temperature on the conformation of Mccj25 lasso peptide



A. 0 °C 处理 4 h (process at 0 °C for 4 h) B. 50 °C 处理 4 h (process at 50 °C for 4 h) C. 80 °C 处理 4 h (process at 80 °C for 4 h)

图 7 温度对 Rubrinodin 套索多肽构象的影响

Fig. 7 Effect of temperature on the conformation of Rubrinodin lasso peptide

较大的构象变化时(如折叠态变为完全伸展态),高效液相色谱结合色谱柱可进行有效地分离及分析;当药物经历微小构象变化时,高效液相色谱已无法精准判断样品的变质情况,在液相色谱图上显示为色谱纯的 Rubrinodin 样品在 Cyclic IMS 中呈现出多种构象的混合物。在 Rubrinodin 热处理过程中,可以通过环形离子淌度技术精准地观测到样品的解折叠中间态及伸展态的变化,Cyclic IMS 为复杂药物在拓扑维度上的质量控制提供了强大的分析手段。

在 Mccj25 套索多肽的分析过程中发现,即使 Mccj25 是相对较为稳定的骨架结构,在 Cyclic IMS 中仍能观测到小部分拓扑异构体的存在,揭示了其结构的复杂性。提示在开发类似具有拓扑空间结构

的药品时,需要同时关注此类分子的拓扑结构均一性。

参考文献

- [1] DODDS JN, BAKER ES. Ion mobility spectrometry: fundamental concepts, instrumentation, applications, and the road ahead[J]. *J Am Soc Mass Spectrom*, 2019, 30(11):2185
- [2] GILES K, UJMA J, WILDGOOSE J, *et al.* A cyclic ion mobility – mass spectrometry system[J]. *Anal Chem*, 2019, 91(13):8564
- [3] UJMA J, ROPARTZ D, GILES K, *et al.* Cyclic ion mobility mass spectrometry distinguishes anomers and open – ring forms of pentasaccharides[J]. *J Am Soc Mass Spectrom*, 2019, 30(6):1028
- [4] TORCHILIN V. Tumor delivery of macromolecular drugs based on the EPR effect[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2011, 63(3):131
- [5] MAEDA H. Macromolecular therapeutics in cancer treatment: the

- EPR effect and beyond[J]. *J Controlled Release*, 2012, 164(2): 138
- [6] JAKES C, MILLAN – MARTIN S, CARILLO S, *et al.* Tracking the behavior of monoclonal antibody product quality attributes using a multi – attribute method workflow [J]. *J Am Soc Mass Spectrom*, 2021, 32(8):1998
- [7] HAO Z, MOORE B, REN C, *et al.* Multi – attribute method performance profile for quality control of monoclonal antibody therapeutics[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2021, 205:114330
- [8] HIGTON D, PALMER ME, VISSERS JPC, *et al.* Use of cyclic ion mobility spectrometry (cIM) – mass spectrometry to study the intramolecular transacylation of diclofenac acyl glucuronide [J]. *Anal Chem*, 2021, 93(20):7413
- [9] RUGER CP, LE MAITRE J, MAILLARD J, *et al.* Exploring complex mixtures by cyclic ion mobility high – resolution mass spectrometry: application toward petroleum [J]. *Anal Chem*, 2021, 93(14):5872
- [10] SHARON EM, HENDERSON LW, CLEMMER DE. Resolving hidden solution conformations of hemoglobin using IMS – IMS on a cyclic instrument[J]. *J Am Soc Mass Spectrom*, 2023, 34(8):1559
- [11] HEGEMANN JD, ZIMMERMANN M, XIE X, *et al.* Lasso peptides: an intriguing class of bacterial natural products [J]. *Acc Chem Res*, 2015, 48(7):1909
- [12] MAKSIMOV MO, PAN SJ, JAMES LINK A. Lasso peptides: structure, function, biosynthesis, and engineering [J]. *Nat Prod Rep*, 2012, 29(9):996
- [13] KNAPPE TA, MANZENRIEDER F, MAS – MORUNO C, *et al.* Introducing lasso peptides as molecular scaffolds for drug design: engineering of an integrin antagonist [J]. *Angew Chem (Int Ed Engl)*, 2011, 50(37):8714
- [14] XIU H, WANG M, FAGE CD, *et al.* Discovery and characterization of rubrinodin provide clues into the evolution of lasso peptides [J]. *Biochemistry*, 2022, 61(7):595
- [15] BAYRO MJ, MUKHOPADHYAY J, SWAPNA GVT, *et al.* Structure of antibacterial peptide microcin J25: a 21 – residue lariet protoknot [J]. *J Am Chem Soc*, 2003, 125(41):12382
- [16] JEANNE DIT FOUQUE J, HEGEMANN JD, ZIRAH S, *et al.* Evidence of *cis/trans* – isomerization at Pro7/Pro16 in the lasso peptide microcin J25 [J]. *J Am Soc Mass Spectrom*, 2019, 30(6):1038
- [17] LIANG YX, XIE P, CHAN K. Quality control of herbal medicines [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2004, 812(1–2):53
- [18] JIANG Y, DAVID B, TU P, *et al.* Recent analytical approaches in quality control of traditional Chinese medicines—a review [J]. *Anal Chim Acta*, 2010, 657(1):9
- [19] LI W, PRABAKARAN P, CHEN W, *et al.* Antibody aggregation: Insights from sequence and structure [J]. *Antibodies*, 2016, 5(3):19
- [20] ROBINSON CJ, JONES C. Quality control and analytical techniques for biopharmaceuticals [J]. *Bioanalysis*, 2011, 3(1):81

(本文于2024年2月23日收到)