

## 使用木尖喷雾和直接电离质谱对比分析制附子中乌头碱类生物碱

卢佳杰<sup>1</sup>, 闫静<sup>1\*</sup>, 许庆轩<sup>2\*</sup>

(1. 黑龙江中医药大学, 黑龙江 哈尔滨 150040; 2. 黑龙江大学, 黑龙江 哈尔滨 150081)

**摘要:** 采用直接电离技术和木尖喷雾电离技术检测中药材制附子, 建立快速、简便分析其中乌头碱类生物碱的方法。将制附子用水浸湿的滤纸包裹过夜, 剪成三角形, 滴加不同溶剂, 分别用于直接电离质谱和木尖喷雾质谱系统检测。结果表明, 这两种质谱分析方法不经过复杂的前处理过程, 均能快速检测制附子中的生物碱, 效果好于传统的毛细管电喷雾质谱分析方法。两种分析方法对比, 除了以二氯甲烷为溶剂时, 直接电离质谱分析的效果都好于木尖喷雾质谱。在不同极性的溶剂条件下, 能选择性地检测出不同种类的生物碱。本实验为制附子成分分析提供了一种快速的质谱方法, 从而为其种植、储存、炮制、配伍、品质的研究提供方法。

**关键词:** 电喷雾质谱; 木尖喷雾; 直接电离; 制附子; 生物碱

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2019)07-1271-06

## Comparative analysis of aconitine alkaloids in aconite tuber using direct ionization and wooden tip spray mass spectrometry

LU Jia-jie<sup>1</sup>, YAN Jing<sup>1\*</sup>, XU Qing-xuan<sup>2\*</sup>

(1. Heilongjiang University of Traditional Chinese Medicine, Harbin 150040, China;

2. Heilongjiang University, Harbin 150081, China)

**Abstract:** In this manuscript, a rapid and simple analysis method for aconitine alkaloids was established. The method was based on the use of direct ionization and wooden tip spray ionization technology to detect the aconite. The aconite tuber slices were wrapped with wet filter paper overnight, cut into triangles, and extracted with a few solvents for direct ionization and wooden tip spray mass spectrometry. The results showed that alkaloids in aconite tuber can be rapid detected by two mass spectrometric methods without tedious sample pretreatment. Both methods are superior to that of traditional capillary electrospray ionization mass spectrometry (ESI-MS). The direct ionization MS is better than the wooden tip spray MS for analysis of aconite except under the condition of methylene chloride as extract or spray solvent. Different types of alkaloids in aconite tuber can be selectively detected when different solvents are used. The experiments provide a rapid and no pretreatment MS spectrometric method for analysis of alkaloids in aconite. These sample methods are important for research on aspects of plant varieties, storage, prescription compatibility, and quality control of aconite.

**Key words:** ESI-MS; wooden tip spray; direct ionization; aconite tuber; aconitine alkaloids

电喷雾质谱 (electrospray ionization mass spectrometry, ESI-MS)<sup>[1,2]</sup>能够分析多种化合物, 尤其是不

易挥发、热不稳定的合成及生物聚合物, 在各个领域得到广泛应用<sup>[3-5]</sup>。但是传统的电喷雾质谱使用毛细管作为样品溶液的承载和喷雾装置, 因此和其他质谱电离技术一样需要复杂的样品前处理, 否则会产生严重的基质干扰和目标化合物的电离抑制, 并且基质复杂的样品还可能导致喷雾毛细管堵塞以及离子源的

收稿日期: 2019-02-24; 修回日期: 2019-04-23.

基金项目: 黑龙江省自然科学基金资助项目 (B2018011).

\*通讯作者 Tel: 13214615962, E-mail: yanjing\_002@163.com;

Tel: 13895713386, E-mail: xuqx@hlju.edu.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2019-0131

污染。2004年 Cooks等<sup>[6,7]</sup>提出的原位电离 (ambient ionization) 技术成为最受欢迎的质谱分析方法, 它可以在大气压环境下, 直接对没有经过前处理或前处理很少的样品进行检测。

近年来, 基于对ESI技术的改进, 出现了用尖的固体作为基体的新型电喷雾 (solid-substrate ESI) 方法, 如探针电喷雾 (probe electrospray ionization, PESI)<sup>[8,9]</sup>、纸喷雾 (paper spray ionization)<sup>[10]</sup>、木尖喷雾 (wooden tip spray)<sup>[11-13]</sup>。作为新的以固体为基体的电喷雾方法, 木尖喷雾可直接分析液体、粉末和提取物等复杂样品。该方法使用牙签的尖端蘸取样品, 放置在质谱仪入口处, 对样品施加高电压, 从而诱发电喷雾。与金属探针相比, 木制尖端的亲水性和表面多孔性能降低电喷雾溶剂的扩散和蒸发, 从而延长了信号持续时间, 并且木质本身具有分离作用, 能更准确的检测出目标化合物<sup>[14]</sup>。另外, 用于木尖喷雾的牙签是一次性的, 从而可以减少交叉污染和记忆效应。木尖喷雾已成功应用于快速鉴定和区分草本植物物种<sup>[15]</sup>, 并有研究表明, 木尖喷雾也可用于生物流体中药物的定量分析<sup>[16]</sup>。

木尖喷雾的成功应用, 促进了以固体样品本身用作诱导电喷雾的基体的广泛研究。包括组织喷雾 (tissue spray)<sup>[17]</sup>、叶片喷雾 (leaf spray)<sup>[18,19]</sup>和直接电离 (direct ionization)<sup>[20]</sup>。这三种电离方式十分相似, 都是将样品组织剪成小三角形, 滴加溶剂并施加高电压, 在组织尖端形成喷雾, 样品离子进入质谱入口被检测。这些方法适用于在不需要前处理的条件下对各种生物组织直接分析, 不仅能检测样品表面化合物, 还可在剪切处检测到其内部化合物。并且这类方法可以简单快速地萃取样品, 对固体样品进行原位分析, 因此减少样品转移, 增加了样品通量。以样品本身作为喷雾基体的电离方法已成功应用于植物组织 (黄连、五味子、何首乌、灵芝、人参等) 的鉴定鉴别及动物组织的检测<sup>[21,22]</sup>。

制附子为毛茛科植物乌头 (*Aconitum carmichaeli* Debx) 的子根的加工品, 其功能为回阳救逆、补火助阳、散寒止痛、用于亡阳虚脱、胸痹心痛和寒湿痹痛等症<sup>[23]</sup>。制附子中的有效成分为乌头碱类生物碱, 由于制附子中生物碱含量较低, 而基质又很复杂, 因此传统分析需要在复杂的前处理后才能用于电喷雾质谱检测, 前处理过程一般包括提取、浓缩、除蛋白、萃取等多个步骤<sup>[24,25]</sup>。由此可以看出, 这种分析方法尽管取得了非常好的效果, 但是分析步骤多、时间长、工作量大、使用的溶剂量大, 而且生物碱经过复杂的前处理可能发生复杂的化学反应, 导致分析结果和真实情况产生偏差。所以需要建立一种不需要复杂前处理就可以快速检测生物碱的方法。

由于木尖喷雾和直接电离技术不需要复杂的前处理, 分析结果能够真实反应样品中的生物碱分布, 提高了分析速度, 减少了工作量。因此, 本文将采用木尖喷雾和直接电离技术, 以不同溶剂进行萃取, 建立一种不需要复杂前处理、快速的、高效的原位电离质谱方法直接分析制附子中的生物碱。

## 材料与方法

**仪器** LCQ Fleet 离子阱质谱仪 (Thermo Fisher Scientific 公司); 超纯水器 (Milli-Q<sup>®</sup> Academic); 牙签 (购买于本地超市), 毛竹材质。

**药品与试剂** 甲醇、乙腈 (色谱纯, Fisher 公司); 石油醚 (分析纯, 天津市富宇精细化工有限公司); 冰乙酸 (分析纯, 天津市耀华化学试剂有限责任公司); 二氯甲烷 (分析纯, 天津市科密欧化学试剂有限责任公司); 中药制附子为乌头 (*Aconitum carmichaeli* Debx) 侧根的炮制品, 购自哈尔滨金天诚药房。

**配制溶剂** 分别配制 1% 乙酸甲醇溶液、1% 乙酸乙腈溶液、1% 乙酸水溶液、1% 乙酸丙酮溶液、1% 乙酸石油醚溶液、1% 乙酸二氯甲烷溶液。

**电喷雾的样品制备** 取干制附子 20 g 碾碎, 加入含 1% 乙酸甲醇溶液 80 mL, 超声提取 30 min, 取上清液 2 mL, 用 4.5 μm 膜过滤, 用于 ESI-MS 分析。

**木尖喷雾的样品制备** 滤纸用水浸湿, 包裹干的制附子过夜, 在浸软的制附子上滴加溶剂。使用牙签沾取少量样品溶液, 将牙签置于质谱仪入口处, 牙签的尖端指向质谱仪入口, 尖端与质谱仪入口的距离约为 5 mm, 通过电夹将质谱仪高电压施加在牙签上, 滴加溶剂, 接通电源, 打开质谱扫描。

**直接电离的样品制备** 滤纸用水浸湿, 包裹干的制附子过夜。将浸软的制附子剪成小三角形, 放置在质谱仪入口前方, 制附子的尖端距离质谱仪入口约为 5 mm, 滴加溶剂, 用电夹接通电压, 打开质谱扫描。

**质谱条件** Spray Voltage: 5.00 kV; Capillary Temp: 200 °C; Capillary Voltage: 70 V; Tube Lens: 75 V; 正离子模式; 扫描方式为全扫描; 质量扫描范围  $m/z$  200~1 000。

## 结果与讨论

### 1 传统电喷雾质谱方法检测制附子

制附子中已知生物碱包括双酯型生物碱、单酯型生物碱和脂类生物碱, 其中双酯型生物碱主要为次乌头碱 (hypoaconitine, HA)、去氧乌头碱 (deoxyaconitine, DA)、中乌头碱 (mesaconitine, MA)、乌头碱 (aconitine, AC)、10-OH-乌头碱 (10-OH-AC) 和 10-OH-中乌头

碱 (10-OH-MA)。单酯型生物碱由相应的双酯型生物碱通过 C-8 酯键水解而成, 分别为苯甲酰次乌头原碱 (benzoylhypaconine, BH)、苯甲酰脱氧乌头原碱 (benzoyldeoxyaconine, BD)、苯甲酰中乌头原碱 (benzoylmesaconine, BM) 和苯甲酰乌头原碱 (benzoylaconine, BA)。脂类生物碱由双酯型生物碱的 C8 位乙酰基被油酸、亚油酸、亚麻酸或棕榈酸等长链脂肪酸取代后形成, 相对分子质量大, 存在同分异构体现象, 需进行串联质谱分析才可以确定结构<sup>[26-30]</sup>。它们的结构十分相似, 差别仅在于 N 原子连接 CH<sub>3</sub> 或 C<sub>2</sub>H<sub>5</sub> 以及 C3 和 C10 位置是 H 或 OH。表 1 为常见 3 种生物碱的结构及相对分子质量。

图 1 为电喷雾检测制附子的质谱图。如图 1 所示, 传统电喷雾质谱只检测到质子化的 BH, 未检测出其他生物碱, 而且信号强度较低, 质谱背景峰为基峰。由此可知, 用传统电喷雾质谱, 生物碱类化合物虽被检测到, 但种类少而且信号强度低。这是由于毛细管电喷

雾不具有选择性, 目标化合物和基质均被气化电离, 基质干扰、电离抑制很严重。故采用木尖喷雾和直接电离质谱, 以不同溶剂来选择性地检测制附子中的生物碱。

## 2 不同极性提取溶剂对木尖喷雾和直接电离检测制附子的影响

以 1% 乙酸甲醇溶液为溶剂, 使用木尖喷雾检测制附子, 在大约 0.3 min 时, 扫描信号中断, 在 0.4 min 又重新开始。其原因为木尖承载的样品量少, 喷雾时间短, 滴加一次溶剂只持续喷雾到 0.3 min, 在 0.4 min 时, 手动滴加甲醇乙酸混合溶剂 2 滴, 之后又产生喷雾, 每次喷雾持续时间约为 0.25 min。图 2 为直接电离检测制附子产生的总离子流图, 可以看出, 直接电离检测样品的喷雾时间更长, 约为 0.6 min, 而且信号更稳定。由实验可知, 在木尖喷雾过程中, 由于木尖承载的样品量少且溶剂易挥发, 所以需要在喷雾过程中向木尖上滴加溶剂, 而直接电离则不需要滴加溶剂。这是

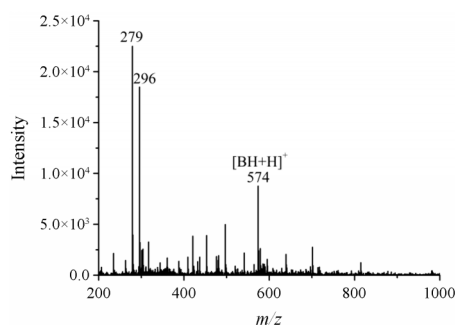


Figure 1 The ESI mass spectrum of methanol extraction of the aconite

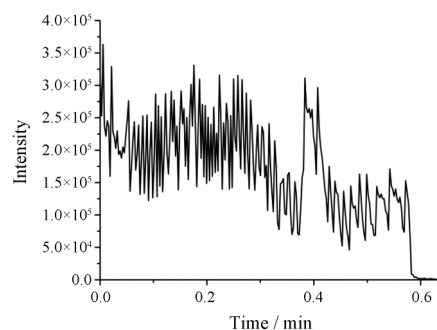
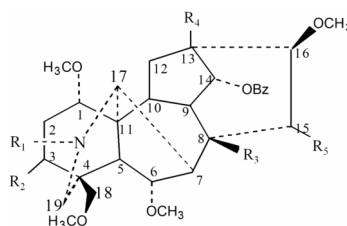


Figure 2 The ESI TIC of the aconite by direct ionization MS with methanol containing 1% acetic acid

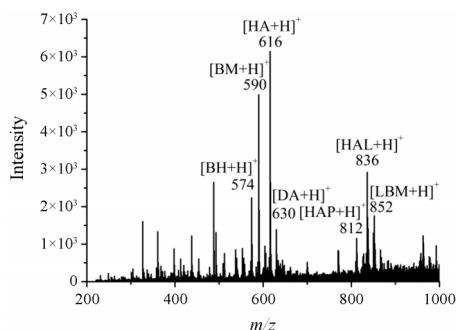
Table 1 The structure of some known aconitum alkaloids in aconite tuber

R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	Aconitine	m/z [M+H] <sup>+</sup>
C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	CH <sub>3</sub>	OAc	H	H	Hypaconitine (HA)	616
C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	OAc	H	H	Deoxyaconitine (DA)	630
C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	CH <sub>3</sub>	OAc	H	OH	Mesaconitine (MA)	632
C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	OAc	H	OH	Aconitine (AC)	646
C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	CH <sub>3</sub>	OAc	OH	OH	10-OH-Mesaconitine	648
C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	OAc	OH	OH	10-OH-Aconitine	662
C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	CH <sub>3</sub>	OH	H	OH	Benzoylmesaconine (BM)	590
C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	OH	H	H	Benzoyldeoxyaconine (BD)	588
C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	CH <sub>3</sub>	OH	H	H	Benzoylhypaconine (BH)	574
C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	OH	H	OH	Benzoylaconine (BA)	604
CH <sub>3</sub>	H	OPal	OH	OH	Benzoylhypaconine-8-palmitate (HAP)	812
CH <sub>3</sub>	H	OLino	OH	OH	Benzoylhypaconine-8-linoleate (HAL)	836
CH <sub>3</sub>	OH	OLino	OH	OH	Benzoylmesaconine-8-linoleate (LBM)	852



因为直接电离所分析的样品量大,并且制附子中含有大量淀粉,容易吸附溶剂,减少溶剂挥发,从而延长样品喷雾时间。

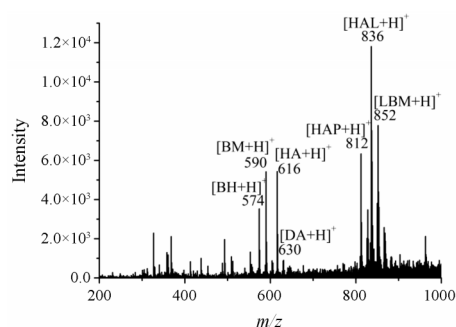
在1%乙酸甲醇溶剂下使用木尖喷雾检测制附子,在木尖喷雾中检测到HA、BM、BH,这些为双酯型和单酯型生物碱。图3为直接电离的质谱图,除了检测到HA、BM、BH,还检测到DA和脂类生物碱。由于脂类生物碱存在同分异构现象,需要串联质谱才能确定其结构,使用文献方法<sup>[31,32]</sup>通过串联质谱分析确定 $m/z$  812、 $m/z$  836、 $m/z$  852分别对应8-棕榈酰苯甲酰次乌头原碱(HAP)、8-亚油酰苯甲酰次乌头原碱(HAL)和8-亚油酰苯甲酰中乌头原碱(LBM)。两者相比较,直接电离不仅检测到更多生物碱类化合物,而且信号强度要高于木尖喷雾。重要的是直接电离喷雾时间长,有利于串联质谱分析,进行脂类生物碱的定性。



**Figure 3** The ESI mass spectra of the aconite by direct ionization MS with methanol containing 1% acetic acid

以1%乙酸乙腈作溶剂,使用木尖喷雾和直接电离检测制附子。对比可以发现,在700~1000的相对分子质量区,直接电离质谱图比木尖喷雾质谱图所得的杂峰更少,能够检测到脂类生物碱,并且信号更强。说明用乙腈作溶剂的情况下,直接电离检测制附子的效果明显好于木尖喷雾。

以1%乙酸水作为溶剂,使用木尖喷雾和直接电离分析制附子。木尖喷雾检测到了HA、BM、BH,但在700~1000区域出现大量杂峰。直接电离(图4)不仅检测到了HA、BM、BH和DA等单酯型、双酯型生物碱,还检测到了HAP、HAL、LBM等脂类生物碱,并且脂类生物碱的质谱峰为质谱的基峰。和木尖喷雾相比,直接电离的质谱图所得杂峰更少,检测到的脂类生物碱更多并且信号强度更高。与甲醇和乙腈溶剂相比,以水作溶剂两种电离技术在大的相对分子质量区的信号强度均变强,原因是因为使用水做溶剂时,脂溶性生物碱的溶解度小,表面活性强,容易被气化电离。因此可以看出,用1%乙酸水作溶剂时,脂类生物碱更



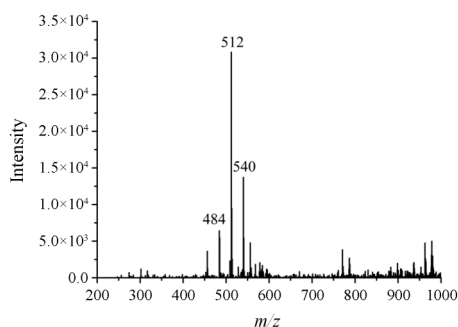
**Figure 4** The ESI mass spectra of the aconite by direct ionization MS with water containing 1% acetic acid

容易被检测。

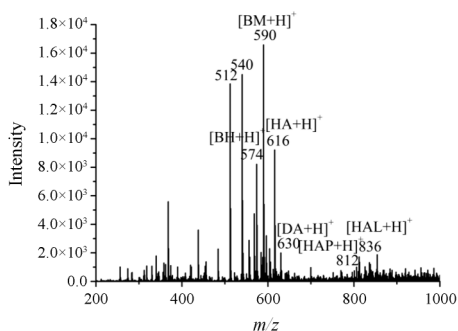
以1%乙酸丙酮作溶剂,使用木尖喷雾和直接电离分析制附子。直接电离质谱图可以发现,在丙酮溶剂下,直接电离检测的生物碱种类比木尖喷雾检测的生物碱种类更多,且所产生的杂峰更少,信号强度更高。说明在1%乙酸丙酮作溶剂时,直接电离能够检测脂类生物碱,且在信号强度上直接电离技术要好于木尖喷雾电离技术。

石油醚为弱极性溶剂,它的表面张力小,导电能力弱,不利于形成电喷雾。通过加入甲酸或乙酸可以改善其导电能力,提高表面张力。用1%乙酸石油醚作为溶剂,使用木尖喷雾和直接电离分析制附子。由两图可知,在石油醚溶剂下,第一次出现了 $m/z$  512和 $m/z$  540质谱峰。其中 $m/z$  512分子是HA通过水解反应脱掉了苯甲酰基形成的化合物; $m/z$  540分子为AC通过热解反应脱去苯甲酰基所形成的化合物,这两种物质均是在制附子炮制过程中产生的。由此证明,该技术可以用于监测中药炮制对药物中化合物变化的影响。两图均以 $m/z$  512为基峰, $m/z$  540次之,说明在此条件下,这两种物质最容易被检测到。这是因为乌头类生物碱中小分子生物碱的极性较强,在弱极性溶剂中表面活性强,因此所得信号较强。该实验证明,在不同极性的溶剂下,可以检测出不同种类的生物碱,实现了目标样品的选择性。实验者可根据不同的目标化合物,选择不同极性的溶剂。两图相比可知,直接电离(图5)信号强度要远高于木尖喷雾,并且出现了数量级的差距。说明在石油醚溶剂下,直接电离的检测效果好于木尖喷雾的检测效果。

以1%乙酸二氯甲烷作为溶剂,使用木尖喷雾和直接电离分析制附子。如图6所示,木尖喷雾检测出HA、BM、BH、脂类生物碱和两种炮制产物,其中 $m/z$  512和 $m/z$  540峰相对丰度较高。直接电离质谱图中,两种炮制产物也为主要质谱峰,但只检测到少量的单酯型生物碱,而且信号强度较低。由此可知,在该溶剂



**Figure 5** The ESI mass spectra of the aconite by direct ionization with petroleum ether containing 1% acetic acid



**Figure 6** The ESI mass spectra of the aconite by wooden tip spray with dichloromethane containing 1% acetic acid

条件下,木尖喷雾检测到生物碱的种类比直接电离检测的生物碱种类更全面。以二氯甲烷为溶剂,产生了跟以上实验不同的情况,第一次出现木尖喷雾的检测效果更好。这是因为二氯甲烷的挥发性强,且表面张力小,在直接电离过程中不容易形成泰勒锥(Taylor cone),而木尖喷雾的基体(牙签)比较尖,形成泰勒锥所需要的样品溶液量少,因此信号较强。该实验说明,不同溶剂下,两种电离技术效果不同,直接电离适合挥发速度相对较慢的溶剂,木尖喷雾在溶剂挥发速度很快时依旧可以检测出样品中的化合物。

在不同溶剂下对比直接电离检测制附子的质谱图,可以看出,溶剂的极性不同可以选择性的萃取电离出不同的化合物。在极性大的溶剂条件下,小极性的分子(如脂类生物碱)更容易被电离;在极性小的溶剂条件下,大极性的分子(如生物碱的水解或热解产物)表面活性更强,更易被电离。

实验结果表明,木尖喷雾和直接电离的信号强度均好于传统电喷雾质谱,这是因为这两种电离技术具有选择性,能够克服基质干扰,减小电离抑制。在木尖喷雾和直接电离对比分析中,木尖喷雾承载的样品量少,除了在二氯甲烷为溶剂时,检测效果都不如直接电离;其次,木尖喷雾的喷雾时间短,不利于串联质谱分析,因此对于脂类生物碱的定性比较困难。而直接电

离技术不仅检测效果大多好于木尖喷雾,且喷雾时间长,有利于串联质谱分析,适合对脂类生物碱定性。这两种电离技术效果主要取决于目标化合物的表面活性,通过调整溶剂极性,可以选择性地检测制附子中的生物碱。

## 结论

本文所建立的质谱学方法可排除制附子中复杂成分的干扰,直接检测出其中的目标化合物,具有简单、快速、高通量、专属性好等特点,适合对中药材进行原位直接分析。本实验研究充分说明了直接电离和木尖喷雾检测制附子的优缺点,并提供了不同溶剂对不同种类生物碱分析的影响,为中药制附子质量控制和炮制过程研究提供了非常简便的方法。

## References

- [1] Fenn JB, Mann M, Meng CK, et al. Electrospray ionization for mass spectrometry of large biomolecules [J]. *Science*, 1989, 246: 64-71.
- [2] Fenn JB, Mann M, Meng CK, et al. Electrospray ionization-principles and practice [J]. *Mass Spectrom Rev*, 1990, 9: 37-70.
- [3] Camilleri P, Haskins NJ, New AP, et al. Analysing the complexation of amino acids and peptides with  $\beta$ -cyclodextrin using electrospray ionization mass spectrometry [J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 1993, 7: 949-952.
- [4] Null AP, Benson LM, Muddiman DC. Enzymatic strategies for the characterization of nucleic acids by electrospray ionization mass spectrometry [J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2003, 17: 2699-2706.
- [5] Bateman AP, Walser ML, Desyaterik Y, et al. The effect of solvent on the analysis of secondary organic aerosol using electrospray ionization mass spectrometry [J]. *Environ Sci Technol*, 2008, 42: 7341-7346.
- [6] Cooks RG, Ouyang Z, Takats Z, et al. Detection technologies. ambient mass spectrometry [J]. *Science*, 2006, 311: 1566-1570.
- [7] Takats Z, Wiseman JM, Gologan B, et al. Mass spectrometry sampling under ambient conditions with desorption electrospray ionization [J]. *Science*, 2004, 306: 471-473.
- [8] Hiraoka K, Nishidate K, Mori K, et al. Development of probe electrospray using a solid needle [J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2007, 21: 3139-3144.
- [9] Mandal MK, Chen LC, Zhan Y, et al. Detection of protein from detergent solutions by probe electrospray ionization mass spectrometry (PESI-MS) [J]. *J Mass Spectrom*, 2011, 46: 967-975.
- [10] Wang H, Liu JJ, Cooks RG, et al. Paper spray for direct analysis of complex mixtures using mass spectrometry [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2010, 49: 877-880.
- [11] Hu B, So PK, Yao ZP. Electrospray ionization with aluminum

- foil: a versatile mass spectrometric technique [J]. *Anal Chim Acta*, 2014, 817: 1-8.
- [12] Yang Y, Deng J, Yao ZP. Field-induced wooden-tip electrospray ionization mass spectrometry for high-throughput analysis of herbal medicines [J]. *Anal Chim Acta*, 2015, 887: 127-137.
- [13] Yang Y, Deng J. Internal standard mass spectrum fingerprint: a novel strategy for rapid assessing the quality of Shuang-Huang-Lian oral liquid using wooden-tip electrospray ionization mass spectrometry [J]. *Anal Chim Acta*, 2014, 837: 83-92.
- [14] Hu B, So PK, Yao ZP. Analytical properties of solid-substrate electrospray ionization mass spectrometry [J]. *J Am Soc Mass Spectrom*, 2013, 24: 57-65.
- [15] Xin GZ, Hu B, Shi ZQ, et al. Rapid identification of plant materials by wooden-tip electrospray ionization mass spectrometry and a strategy to differentiate the bulbs of *Fritillaria* [J]. *Anal Chim Acta*, 2014, 820: 84-91.
- [16] So PK, Ng TT, Wang H, et al. Rapid detection and quantitation of ketamine and norketamine in urine and oral fluid by wooden-tip electrospray ionization mass spectrometry [J]. *Analyst*, 2013, 138: 2239-2243.
- [17] Chan SL, Wong MY, Tang HW, et al. Tissue-spray ionization mass spectrometry for raw herb analysis [J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2011, 25: 2837-2843.
- [18] Liu J, Wang H, Cooks RG, et al. Leaf spray: direct chemical analysis of plant material and living plants by mass spectrometry [J]. *Anal Chem*, 2011, 83: 7608-7613.
- [19] Tadjimukhamedov FK, Huang G, Ouyang Z, et al. Rapid detection of urushiol allergens of *Toxicodendron genus* using leaf spray mass spectrometry [J]. *Analyst*, 2012, 137: 1082-1084.
- [20] Hu B, Lai YH, So PK, et al. Direct ionization of biological tissue for mass spectrometric analysis [J]. *Analyst*, 2012, 137: 3613-3619.
- [21] Wong HY, Wong MY, Hu B, et al. Rapid differentiation of *Ganoderma* species by direct ionization mass spectrometry [J]. *Anal Chim Acta*, 2015, 999: 99-106.
- [22] Zhang JI, Li X, Ouyang Z, et al. Direct analysis of steviol glycosides from *Stevia* leaves by ambient ionization mass spectrometry performed on whole leaves [J]. *Analyst*, 2012, 137: 3091-3098.
- [23] Chinese Pharmacopoeia Committee. Pharmacopoeia of the People's Republic of China (中华人民共和国药典) [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2015: 191.
- [24] Wang Y, Liu ZQ, Song FR, et al. Study on the combination principles about aconite roots by electrospray ionization mass spectrometry [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2003, 38: 451-454.
- [25] Yue H, Pi ZF, Song FR, et al. Analysis of aconite alkaloids in the combination of *Radix Aconiti Lateralis Preparata* with different herbs by ESI-MS spectrometry [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2007, 42: 201-205.
- [26] Rapoport H. The alkaloids: chemistry and physiology [J]. *Am J Med Sci*, 1971, 241: 637-638.
- [27] Bai Y, Desai HK, Pelletier SW. Long-chain fatty acid esters of some norditerpenoid alkaloids [J]. *J Nat Prod*, 1994, 57: 963-970.
- [28] Fang S, Hao C, Sun W, et al. Rapid analysis of steroidal saponin mixture using electrospray ionization mass spectrometry combined with sequential tandem mass spectrometry [J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 1998, 12: 589-594.
- [29] Sun W, Song F, Cui M, et al. Simultaneous determination of lipo-alkaloids extracted from *Aconitum carmiechaeli* using electrospray ionization mass spectrometry and multiple tandem mass spectrometry [J]. *Planta Med*, 1999, 65: 432-436.
- [30] Wang Y, Liu Z, Song F, et al. Electrospray ionization tandem mass spectrometric study of the aconitines in the roots of aconite [J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2010, 16: 2075-2082.
- [31] Xu Q, Wang Y, Liu C, et al. Structure identification of five unknown dilipo-alkaloids extracted from processed tuber of *Aconitum carmiechaeli* by electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. *Anal Sci*, 2003, 19: 1599-1603.
- [32] Wang Y, Shi L, Song F, et al. Exploring the ester-exchange reactions of diester-diterpenoid alkaloids in the aconite decoction process by electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2003, 17: 279-284.