

质谱法在药物立体异构体区分中的应用及发展

汪亚丽, 王 鹭, 曾 苏, 康 玉

(浙江大学药学院药物代谢和药物分析研究所, 浙江 杭州 310058)

摘要: 质谱法广泛应用于化学、生命科学、药学等领域, 能够提供分子质量信息, 有助于未知物结构的解析, 具有分辨率高、信息量大、样品用量少、灵敏快速等优点, 在测定有机化合物精确分子质量、结构解析、反应机理等方面发挥着重要的作用。手性药物是药学领域的一个研究热点, 近年来质谱法逐渐被用于药物手性杂质区分中, 而且随着质谱技术的不断发展和改进, 其在手性区分和分析中越来越受关注。本工作主要介绍了质谱法在手性药物立体异构体杂质分析中的应用及发展历程, 阐述了各类质谱技术用于手性异构体分析的原理和特点, 其中详细举例介绍了质谱动力学方法和离子淌度质谱方法在手性杂质分析中的应用。通过对比分析目前已有的各类手性分析方法的优缺点, 说明利用质谱法实现手性异构体的区分和定量测定具有明显的优势。质谱法用于药物手性异构体的分离具有快速、不需要复杂的样品前处理和昂贵的手性柱等特点, 极大地提高了手性药物分析的效率和准确度。随着质谱分析技术的迅速发展, 质谱法将在多手性中心药物的手性杂质分离和生物大分子分析(如多糖、多肽)等领域发挥巨大潜能。

关键词: 手性分子; 质谱法; 立体异构体杂质

中图分类号: O657. 63

文献标志码: A

文章编号: 1004-2997(2017)04-0400-10

doi: 10. 7538/zpxb. 2016. 0202

Application and Development of Mass Spectrometry in Drug Stereoisomer Separation

WANG Ya-li, WANG Lu, ZENG Su, KANG Yu

(Institute of Drug Metabolism and Pharmaceutical Analysis,
Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

Abstract: Mass spectrometry (MS) is a kind of analytical method widely used in chemistry, life science, medicine and other fields. This method can provide information on molecular weight and is very helpful to structure analysis of unknown substance. It has advantages of high resolution, informative, less dosage of samples, sensitive, rapid, etc. MS plays an important role in the determination of accurate molecular weight of organic compounds, its structural analysis and the reaction mechanism research. As

收稿日期: 2016-12-16; 修回日期: 2017-03-06

基金项目: 国家自然科学基金重点项目(81230080)资助

作者简介: 汪亚丽(1991—), 女(汉族), 湖北咸宁人, 硕士研究生, 药物分析专业。E-mail: 21519009@zju.edu.cn

通信作者: 康 玉(1984—), 女(汉族), 甘肃兰州人, 副教授, 从事计算机辅助药物分析研究。E-mail: yukang@zju.edu.cn

chiral drugs separation is a hot research topic in the field of medicine, MS has also been gradually applied to the distinction between the chiral impurities in recent years. With the continuous development of MS technology, it has obtained more and more attention in the analysis of chiral drug. This paper mainly reviewed the application and development history of MS in drug stereoisomer analysis of late years. The primary chiral MS methods in the current state come down to four categories, such as host-guest (H-G) method, ion/molecule (equilibrium) reactions, collision-induced dissociation (CID) and ion mobility mass spectrometry (IMS). The collision-induced dissociation (CID) of diastereomeric complex can be subdivided into three types for kinetic method (KM), fixed ligand kinetic method and chiral recognition ratio method (CR). All these MS methods were introduced considering their stereoisomer analysis principle and characteristics in this review. Examples were taken to make detailed instructions of the applications and advantages of the KM and IMS, which are two most popular MS methods said above. It has been widely accepted that mass spectrometry techniques have obvious advantages in separation and quantitative determination of stereoisomers owing to their high speed, accuracy and sensitivity. In conclusion, MS does not need complicated sample preparation and expensive chiral column when used to the optical impurities separation of chiral drugs, which greatly enhances the efficiency and accuracy in analysis of drug stereoisomers. The development of the mass spectrometry techniques would greatly promote the cutting-edge investigation and analysis of chiral impurities separation of drugs with multichiral centers and complicated conformation (such as polysaccharide, peptide) in the future.

Key words: chiral molecules; mass spectrometry; separation of stereoisomers

化合物的手性是自然界普遍存在的特征,生物体内核酸、蛋白质以及多糖等都具有与其功能相适应的手性结构。分子的手性特点导致具有相同一级结构化合物的空间构象各异。药物在体内的吸收和代谢与其立体构象有着密切联系,具有不同对映体的手性药物进入生物体内后受立体选择性控制,其手性异构体的代谢途径和药理作用常常各不相同,生物活性和药效也不同,毒副作用也存在显著差异^[1-3]。目前临床使用的药物超过半数的手性药物,其中大多数是消旋体的形式,随着人们对药物的药理作用及代谢研究的深入,药物的手性特点引起了极大的关注,药物立体异构体的研究已经成为医药领域的热点和各制药公司追求的新目标。在新药研发中,手性药物所占比例逐年增加,据统计,2008~2013 年全美销售的小分子治疗药物中,8 种手性药物长期占据前 10 名的位置^[2]。此外,根据美国 FDA 官方统计数据显示,2010 年 1 月~2014 年 12

月,新上市的 127 种小分子治疗药物中,手性药物多达 81 种,占总量的 64%,所占比例最大,在这 81 种新型手性分子药物中,绝大多数为单一对映体药物^[3-4]。

根据 2015 版《中国药典》中药品杂质分析指导原则的相关规定,在单一对映体药物中可能共存的其他对映体应作为杂质进行检测,对于表观含量在 0.1% 及以上的杂质,以及表观含量在 0.1% 以下的具有强烈生物作用的杂质或毒性杂质,应予以定性或确证结构。在药物手性杂质分离方法上,传统的旋光法在灵敏度、精确度或可靠性等方面都难以满足现代立体化学研究的要求。为了检测手性药物的光学纯度,研究纯手性药物的生物活性及其体内过程,有必要研发更加快速、准确、灵敏、简便的手性分子分析方法。

1 手性分子分离方法研究进展

为满足手性化合物研究的需要,各种高灵

敏度、高精确度和高可靠性的方法得到迅速发展,如核磁共振法(NMR)、色谱法、电泳法等。这些广谱分析检测技术具有高分辨率和高准确度的特点,但也存在操作复杂、适用范围有限等缺点^[5],其优缺点比较情况列于表 1。近年来,质谱作为一种快速、准确、操作简单的高通量分

析方法,也开始被应用于同分异构体的分离^[6],特别是针对手性异构体的分析和定量测定,目前已有多种有效的质谱法,如对映体标记法(enantiomer-labeled method)、离子-分子反应法(ion-molecule reaction)、动力学方法(kinetic method)^[2,7-8]等。

表 1 常用的手性分析方法优缺点比较		
Table 1 Comparison of the advantages and disadvantages of commonly used chiral analysis methods		
方法 Methods	优点 Advantages	缺点 Disadvantages
串联质谱法(MS ⁿ)	灵敏度高、快速、专属性强、分析数据和图谱简便(只需比较目标峰的丰度);在真空状态下分析样品,能够避免溶剂的影响,样品用量少,不需要复杂的样品前处理,抗杂质干扰 ^[9] 。	样品需离子化,不能直接提供详细的结构信息,对分析物结构有破坏 ^[9] 。
核磁共振法(NMR)	不需样品裂解,分析小分子(<500 u)速度较快,能够提供化合物官能团连接信息,可直接分析溶剂中的样品 ^[9] 。	分析物需分离提纯,不能分析混合物,大分子难以检测,需大量样品 ^[9] 。
X 射线晶体衍射 (X-ray crystallography)	不需样品裂解,能直接提供原子水平的结构信息 ^[9] 。	分析物需纯化结晶,耗时,数据处理复杂,X 射线可能会影响分析物结构 ^[9] 。
圆二色谱法(CD)	不需样品裂解,能够快速确定分析物的构型,甚至以皮秒的速度确定互变的结构 ^[9] 。	不能分析混合物,所需样品浓度较高(约 0.5 g/L),不能提供特定的原子结构信息 ^[9] 。
液相色谱法(LC)	快速、灵敏、分离度高、成本低 ^[2] 。	手性色谱柱昂贵,液相色谱和质谱两部分难以兼容,流动相的选择受限,分析时间长 ^[2] 。
气相色谱法(GC)	能对手性物质有效地分离和定量分析。	只适用于一些有挥发性、高温稳定的化合物 ^[2] 。
超临界流体色谱法(SFC)	速度较快、高效,流动相价廉易获取,可与多数检测器兼容,适用于不耐热、非挥发性、极性小的化合物及高聚物 ^[2] 。	仪器复杂,不易操作。
毛细管电泳法(CE)	适用范围较广,所需样品较少 ^[2] 。	分离度、重复性和灵敏度受限,受溶液电解质影响较大,会产生离子对抑制、易污染 ^[2] 。

2 质谱法用于手性异构体分离研究的发展历程

过去,质谱通常被认为只能提供分子质量信息,手性药物因具有相同的分子质量,而无法通过质谱区分。然而,随着人们对手性区分机理的不断研究,手性分析技术得到了快速发展,质谱法在手性杂质分析中也开始受到重视。由于各种成熟的离子化技术的出现,如电喷雾电离(ESI)、大气压化学电离(APCI)、大气压光学电离(APPI)、基质辅助激光解吸电离(MALDI)、超声喷雾电离(SSI)等,使生物分子无论是在液

相还是固相中均能被有效地离子化,从而进一步提高了质谱分析的灵敏度和特异性^[2,9-12]。各种新型质谱仪和新的质谱分析技术不断问世,使质谱法在手性分析领域发挥越来越重要的作用。

质谱法进行手性区分的发展历程主要表现为:1) 离子化方式改变,提高了质谱分析的灵敏度和特异性。进行手性识别的质谱离子化方式由化学电离(CI)等传统的电离方式逐渐发展为软电离方式,使得利用碰撞诱导解吸(CID)、气相的分子/离子交换反应以及动力学方法进

行手性区分成为可能,同时也使产生手性差别的条件更为宽松、方式更为多样、应用更为广泛^[13-14];2) 直接利用质谱技术进行手性识别,已由单纯的手性区分、绝对构型的测定逐渐发展为手性药物对映体的定量测定和手性药物光学纯度的测定。质谱法直接进行手性区分具有快速、灵敏度高、专属性强等优点,并且不需要复杂的样品前处理或样品衍生化,待测物的性质也不会受到溶剂的干扰,因此有望在快速高通量的手性药物质量控制方面发挥作用。

目前,采用质谱法区分对映异构体主要分为两类。一类是质谱与其他有手性分离能力的仪器结合的串联质谱技术,为手性分析提供了高灵敏度和高准确度的检测系统,如色谱或者毛细管电泳与质谱联用技术。另一类则是单独使用质谱进行手性区分。根据不同的对映体分离机理,目前可将手性质谱法分为以下4种类型^[1]。

2.1 主-客体法

主-客体法(host-guest method)的原理是基于非对映异构体的形成,但是它并不检测非对映异构体之间的性质,而仅仅是使用单极杆质谱记录通过主-客体相互作用产生的非对映异构体的相对丰度。

2.2 离子/分子反应法

离子/分子反应法(ion/molecule (equilibrium) reactions)是在主-客体法的基础上根据

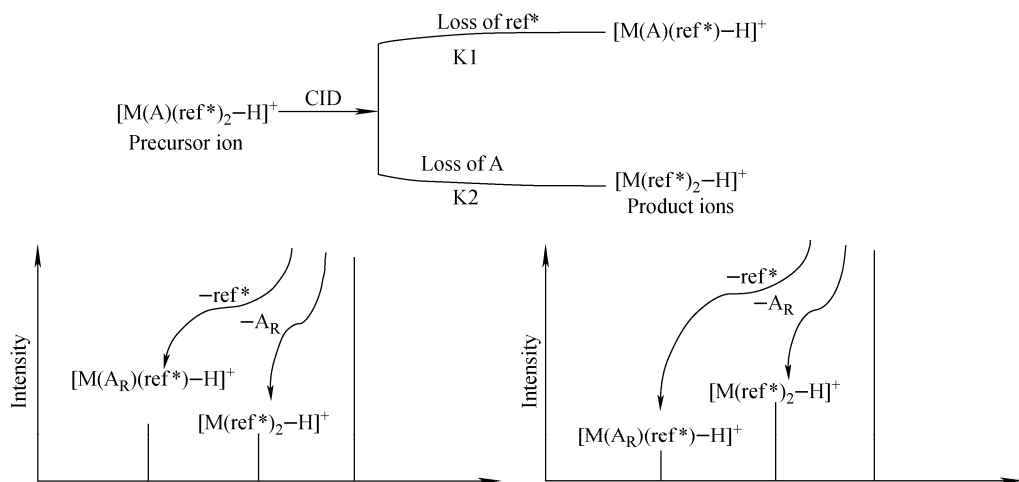
手性异构体存在反应速率的差异这一特性实现手性区分。

2.3 非对映异构体配合物解离法

非对映异构体配合物解离法(collision-induced dissociation of diastereomeric complex)是针对手性分子(A_R 或 A_S)和手性配体(ref)形成的非对映异构体配合物,无法在单级质谱上实现区分的问题,以串联质谱的碰撞诱导裂解(CID)为基础而建立的,是目前比较新且应用最为广泛的质谱手性分析方法。非对映异构体配合物解离法又分为3种类型:动力学方法(kinetic method, KM)、固定配体动力学方法(fixed ligand kinetic method)、手性比值区分法(chiral recognition ratio method, CR)。

质谱动力学方法由 Cooks^[13,15-20]建立,最初应用于气体酸碱度和质子亲合势的测定,后来也应用于电子亲合能、电离能、金属离子与生物分子亲合力、异裂键离解能的测定。KM法的最大优点是具有较高的灵敏度,甚至可以检测到由同位素取代引起的热化学数值的细微变化。由于其操作简单、谱图及结果分析直观,因此应用较为广泛。

KM法的原理示于图1。这种方法用于手性异构体分离时,一般采用过渡态二价金属阳离子(M)与手性参比物(ref*)及手性分析物(A_R :R构型对映体, A_S :S构型对映体)形成三元四配位配合物离子(其中1个配体分子提供



注:M. 过渡态二价金属阳离子;ref*. 手性配体;A. 手性分析物

图1 质谱动力学方法原理

Fig. 1 Principle of the MS kinetic method

2个配原子,而另2个配体分子分别提供1个配原子)。三元配合物通过碰撞诱导解离(CID)使其裂解生成二元四配位配合物离子(每个配体分子提供2个配原子),由于对映体之间的空间构型不同,它在二元配合物离子中结合的牢固程度也不同,即所需的解离能量大小不同,在质谱图上裂解产物的离子丰度不同,据此可对样品的手性进行识别。

在一定的碰撞能量下,母离子 $[M(A)(\text{ref}^*)_2]^{2+}$ 竞争性丢失一分子配体和分析样品,二级质谱中产生相应子离子 $[M(A)(\text{ref}^*)_2 - H]^+$ 及 $[M(\text{ref}^*)_2 - H]^+$,手性选择性的的大小取决于 $[M(A_R)(\text{ref}^*)_2 - H]^+$ 和 $[M(A_S)(\text{ref}^*)_2 - H]^+$ 两种配合物离子的自由能差值 $\Delta(\Delta G)_{\text{chiral}}$ 。

定义手性选择性为:

$$R_{\text{chiral}} = R_R/R_S = \frac{[M(A)_R(\text{ref}^*)_2 - H]^+}{[M(\text{ref}^*)_2 - H]^+} / \frac{[M(A)_S(\text{ref}^*)_2 - H]^+}{[M(\text{ref}^*)_2 - H]^+}$$

其中, R_R 、 R_S 分别是被测物为R、S构型时,碰撞诱导解离所得到的两种离子丰度比,当 $R_{\text{chiral}} = 1$ 时,表明没有手性识别能力, R_{chiral} 值与1相差越远则表明手性识别能力越强。通过对映体过量比值法绘制标准曲线,可以实现手性异构体的定量检测。

质谱动力学方法具有分析样品不需提纯、操作简单、快速、灵敏、准确等优点,可用于分析异构体仅过量百分之几的混合样品,特别适用

于其他衍生化法或色谱分离法无效的情况。

2.4 离子淌度质谱法

离子淌度质谱法(ion mobility mass spectrometry, IMS)^[21-27]是在气相中根据离子的大小和形状实现区分,类似于毛细管电泳,是一种气相分析方法。该方法可在大气压下实现广谱快速现场检测,也称为离子迁移质谱或者大气压下质谱,其原理示于图2。离子淌度质谱由离子源、离子淌度池和质量分析器组成,利用不同物质离子在电场作用下运动行为的差别对其进行分离检测,手性分子与特定的配体及金属离子形成配合物,由于立体构型的差异,不同异构体形成的配合物在相同电场下与碰撞气的碰撞截面(collision cross section, CCS, Ω)和运动行为产生差异,据此区分同分异构体。根据离子淌度池的结构与原理,又可分为漂移时间离子淌度质谱、行波离子淌度质谱、吸入离子淌度质谱、场不对称离子淌度质谱四类。

离子淌度质谱能增强对具有多个手性中心物质的分析能力,在手性分析方面具有很大的发展潜能。近年来,离子淌度质谱作为一项新兴的质谱分析技术,在手性分子分离中受到重视。如Mie等^[28]利用场不对称离子淌度质谱分离和分析特布他林对映体,以二价金属离子为中心,小分子氨基酸为手性配体,与特布他林样品形成三元复合物 $[M^{\text{II}}(A_R \text{ or } A_S)(\text{ref})^2 - H]^+$,离子化后形成非对映体复合物。当金属离子和

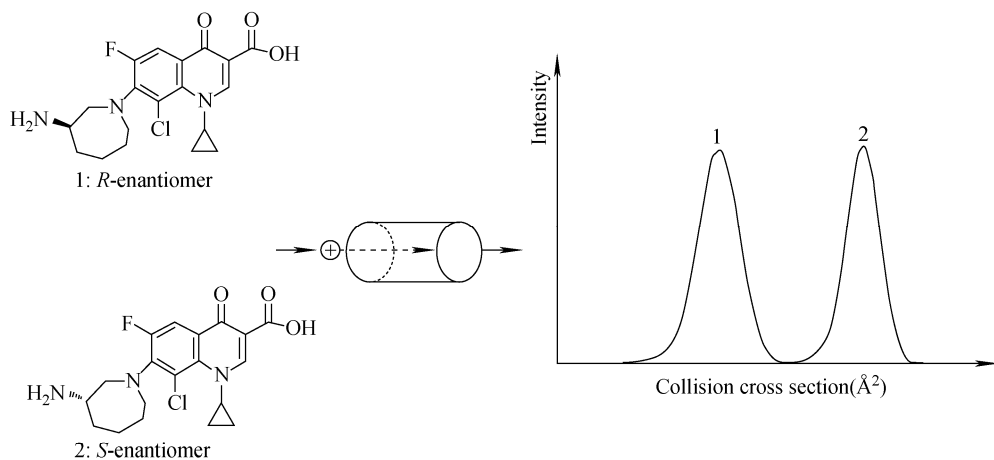


图2 离子淌度质谱法原理

Fig. 2 Principle of ion mobility mass spectrometry

小分子配合物选择恰当时,对映体复合物在质谱上得以区分。已有研究表明^[29],运用场不对称离子淌度质谱能够实现邻、间、对-苯二甲酸异构体的基线分离。该方法同样可以用于定量检测,在该研究中特布他林对映体的检测限可达 0.1%,与 HPLC 和 CE 相比,场不对称离子淌度质谱检测限更低、样品分析时间更短^[30]。为了提高分离效率,离子淌度质谱技术不断地被改善。2012 年, Holness 等^[22]提出在离子淌度池的碰撞气体中加入一定量的手性气体,可以明显地改善手性异构体的分离度。根据他们的研究,加入一定量的正辛醇可使麻黄碱和伪麻黄碱在漂移管中的分离度达到 1.34。

3 质谱法在手性药物分离中的应用及发展前景

目前,对于质谱法在手性物质分离中的研究主要集中在一些小分子手性化合物的分析,如单糖^[31-32]、小分子手性氨基酸^[33-40]、小分子羧酸^[41-42]、手性醇类^[43]以及单个手性中心的药物^[44-45]。随着质谱分析技术的发展,特别是离子淌度质谱的出现,增强了对具有多个手性中心物质的分析能力,大大拓展了质谱法的适用范围^[46-50]。近两年,该方法在对其他结构复杂,具有多个手性中心药物的研究逐渐增多,如利用漂移时间离子淌度质谱对(R,S)-麻黄碱和(S,S)-伪麻黄碱进行分离^[22],以及利用质谱动力学方法实现对抗多重耐药性革兰氏阴性菌的抗生素 GSK2251052A 与其 R 构型杂质的分离^[46]。

另外,质谱法在生物大分子结构分析中的应用也越来越受关注,结合 MALDI 方法能够对蛋白质、蛋白质复合物及多聚核苷酸等生物分子进行结构分析^[51-52]。多糖是生物体内普遍存在的一类聚合物,在生物体的结构和功能中发挥着重要作用,由于多糖碳链分支多,连接的单糖单元多存在手性中心,使得多糖结构的测定比多肽和多聚核苷酸更困难。常用的分析方法并不能满足要求,如 NMR,虽然能够提供糖苷键的连接信息,但是该方法需要大量样品,且不能检测出微量存在的

异构体杂质。随着离子淌度质谱的出现,使单糖手性异构体的分离和检测成为可能。已有研究表明^[14,16,40],利用离子淌度质谱可有效地分离手性单糖的同分异构体及手性异构体,是一种分析复杂多糖结构的有效方法,与 HPLC 和 CE 相比,检测限更低,可达 0.1%,样品分析时间更短。通过该方法检测连续单糖的结构,有望实现对生物大分子多糖碳链的结构测定。

质谱法用于手性分子的分离是在加入手性配体形成非对映体配合物的基础上进行的,受特定手性配体和配位金属离子的影响,其应用具有一定的局限性。筛选或者合成适合的配体对提高方法的准确性和改善手性异构体之间的分离度非常重要。针对配体的筛选和优化,有人提出“手性变形”的概念,即在质谱非对映异构体配合物解离法中,通过改变配体的大小和配位功能,使配体能够更好地与手性分子结合,从而增大方法的手性识别能力和分离度^[53]。随着质谱法的不断改进和发展,该方法在立体异构体分离中的研究和应用也越来越多,具体情况列于表 2。

虽然质谱技术发展迅速,在药物分析领域应用越来越广,但是该方法仍有一些亟待解决的问题。如:检测灵敏度仍需提高;需要筛选适合的配体;目前的研究大部分是针对单个手性中心的分子,对于具有多个手性异构体的多手性中心分子或一些生物大分子的研究尚少^[55];利用各种质谱方法虽然能够较好地分离手性分子的非对映异构体,但是在对映异构体之间的区分度还有待提高。因此,进一步提高方法的实用性,发展质谱技术在复杂基质中的手性识别新方法^[56-58],是一项具有挑战性的研究工作。

综上,质谱法作为一种新兴的手性分析技术,随着其在药物分析领域应用的逐渐拓展,该方法已显现出对手性药物立体异构体分析的独特优势,在手性分析方面具有很大的发展潜能。随着对质谱法的适用性和定量分析方面的深入研究,该方法有望成为一项重要的手性分析技术,为手性分子立体异构体区分的研究提供新的方向和发展空间。

表 2 质谱法在手性分子立体异构体区分中的应用

Table 2 Applications of mass spectrometry in chiral molecules stereoisomer distinguish

分析方法 Analytical methods	应用 Applications	文献来源 References
MS/MS	通过比较二级子离子丰度对葡萄糖、果糖的立体异构体进行分离。	Yuan 等 ^[6]
	以 3-(叔丁基羰基)苯丙氨酸类化合物为配体,分离缬氨酸、亮氨酸等 19 种常见氨基酸的手性异构体。	Yao 等 ^[11]
MS, 离子/分子反应法	以 β -环糊精为配体,分离丙氨酸、天冬氨酸、半胱氨酸等小分子氨基酸的立体异构体。	Grigorean 等 ^[8]
MS, 动力学方法	利用二价 Cu 离子配位,分离酪氨酸和脯氨酸的手性异构体。	Tao 等 ^[7]
	在 Cu 离子配位的基础上,筛选小分子氨基酸作为手性配体,分离多巴胺、去甲肾上腺素、普萘洛尔、麻黄碱等药物的手性异构体。	Tao 等 ^[10]
	在含有丝氨酸、丙氨酸、脯氨酸等多种氨基酸的混合物中,以 Cu 离子为配位中心,进行手性分离。	Wu 等 ^[13]
	β -羟基酸与二价金属离子 Ni 和苯丙氨酸形成三元络合物在质谱动力学方法下进行手性异构体的分离。	Wu 等 ^[15]
	Ni 和 Cu 离子作为配位中心,小分子氨基酸和一些氨基酸衍生物互为配体进行手性异构体之间的区分。	Hyrylainen 等 ^[34]
	在质谱动力学方法下利用 Cu 和小分子氨基酸对一些低聚糖,如二糖及其异构体进行结构分析。	Major 等 ^[47]
	对映异构体 D-, L-苯基甘氨酸混合物在质谱动力学方法中的分离和定量。	Li 等 ^[33]
	利用金属离子和小分子氨基酸和蔗糖形成三元配位络合物,在异构体混合物中对蔗糖各构型结构的分析和定量。	Fouquet 等 ^[32]
	质谱动力学方法对化学合成药 Flindokalner 进行手性杂质的分离和定量分析。	Young 等 ^[45]
MS, 固定配体动力学方法	质谱动力学方法实现对抗多重耐药性革兰氏阴性菌的抗生素 GSK2251052A 与其 R 构型杂质的分离。	Wu 等 ^[46]
	选择 Cu 离子及小分子氨基酸为配体对多糖大分子中的小分子戊糖进行手性和非手性异构体的结构测定。	Nagy 等 ^[14]
	质谱固定配体法实现己糖所有对映体和非对映体的结构测定和分离。	Nagy 等 ^[31]
离子淌度质谱(IMS)	选择固定配体邻二氮菲和手性配体苯丙氨酸、脯氨酸络合 Cu 离子分析测定多巴胺的手性杂质。	Lee 等 ^[44]
	麻黄碱及其立体异构体伪麻黄碱在离子淌度质谱下,以小分子醇作配体实现分离。	Holness 等 ^[22]
手性离子淌度质谱(CIMS)	离子淌度质谱应用于多肽分子中单个 D-氨基酸结构确认和位置检测。	Jia 等 ^[54]
	以正丁醇为手性配体从消旋体混合物中分离阿替洛尔、青霉素、丝氨酸、蛋氨酸等手性分子的对映异构体。	Dwivedi 等 ^[23]
场不对称离子淌度质谱(FAIMS)	利用场不对称离子淌度质谱分离特布他林对映体,以二价金属离子为中心,小分子氨基酸为手性配体。	Mie 等 ^[28]
	场不对称离子淌度质谱法在天冬氨酸、丝氨酸等 6 种常见氨基酸立体异构体分离中的应用。	Mie 等 ^[30]

参考文献:

- [1] 曾苏. 手性药理学与手性药物分析[M]. 北京: 科学出版社, 2009.
- [2] AWAD H, ELANEED A. Enantioselectivity of mass spectrometry: challenges and promises[J]. *Mass Spectrometry Reviews*, 2013, 32(6): 466-483.
- [3] SHEN Z W, LV C, ZENG S. Significance and challenges of stereoselectivity assessing methods in drug metabolism[J]. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 2016, 6(1): 1-10.
- [4] U. S. Food and Drug Administration. Compilation prepared by U. S. department of health and human services, 2011-2014[EB/OL]. [2016-12-01]. <http://www.fda.gov/Drugs/DevelopmentApprovalProcess/DrugInnovation/default.html>.
- [5] MURPHY R C, GASKELL S J. New applications of mass spectrometry in lipid analysis[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2011, 286(286): 25 427-25 433.
- [6] YUAN H, LIU L, GU J, et al. Distinguishing isomeric aldohexose-ketohexose disaccharides by electrospray ionization mass spectrometry in positive mode[J]. *Rapid Communication of Mass Spectrometry*, 2015, 29(22): 2 167-2 174.
- [7] TAO W A, ZHANG D X, WANG F, et al. Kinetic resolution of *D*, *L*-amino acids based on gas-phase dissociation of copper(II) complexes[J]. *Analytical Chemistry*, 1999, 71(19): 4 427-4 429.
- [8] GRIGOREAN G, RAMIREZ J, AHN S H, et al. A mass spectrometry method for the determination of enantiomeric excess in mixtures of *D*, *L*-amino acids[J]. *Analytical Chemistry*, 2000, 72(18): 4 275-4 281.
- [9] LANUCARA F, HOLMAN S W, GRAY C J, et al. The power of ion mobility-mass for structural characterization and the study of conformational dynamics[J]. *Nature Chemistry*, 2014, (6): 281-294.
- [10] TAO W A, GOZZO F C, COOKS R G. Mass spectrometric quantitation of chiral drugs by the kinetic method[J]. *Analytical Chemistry*, 2001, 73(8): 1 692-1 698.
- [11] YAO Z P, WAN T S, KWONG K P, et al. Chiral analysis by electrospray ionization mass spectrometry/mass spectrometry. 1. Chiral recognition of 19 common amino acids[J]. *Analytical Chemistry*, 2000, 72(21): 5 383-5 393.
- [12] YAO Z P, WAN T S, KWONG K P, et al. Chiral analysis by electrospray ionization mass spectrometry/mass spectrometry. 2. Determination of enantiomeric excess of amino acids[J]. *Analytical Chemistry*, 2000, 72(21): 5 394-5 401.
- [13] WU L M, ANDY T W, COOKS R G. Kinetic method for the simultaneous chiral analysis of different amino acids in mixtures[J]. *Journal of Mass Spectrometry*, 2003, 38(4): 386-393.
- [14] NAGY G, POHL N L. Monosaccharide identification as a first step toward de novo carbohydrate sequencing: mass spectrometry strategy for the identification and differentiation of diastereomeric and enantiomeric pentose isomers[J]. *Analytical Chemistry*, 2015, 87(8): 4 566-4 571.
- [15] WU L M, TAO W A, COOKS R G. Ligand and metal-ion effects in metal-ion clusters used for chiral analysis of α -hydroxy acids by the kinetic method[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2002, 373(7): 618-627.
- [16] CHA H R, KIM J, KUMAR A P, et al. Mass spectrometric discrimination and quantification of *D/L*-amino acids using a kinetic method through online derivatization[J]. *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 2015, 36(4): 1 254-1 257.
- [17] BAIN R M, YAN X, RAAB S A, et al. On-line chiral analysis using the kinetic method[J]. *Analyst*, 2016, 141(8): 2 441-2 446.
- [18] YOUNG B L, COOKS R G. Improvements in quantitative chiral determinations using the mass spectrometric kinetic method[J]. *International Journal of Mass Spectrometry*, 2007, 267(1/2/3): 199-204.
- [19] KONG X. Chiral differentiation of amino acids by the kinetic method by Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry via a different dissociation pathway[J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2012, 26(7): 870-873.
- [20] LI M, LI H M, XIONG X C, et al. Theory and application of mass spectrometric kinetic method[J]. *Journal of Chinese Mass Spectrometry Society*, 2012, 33(4): 202-207.
- [21] HOFMANN J, HAHM H S, SEEBERGER P H, et al. Identification of carbohydrate anomers using ion mobility-mass spectrometry[J]. *Nature*, 2015, 526(7 572): 241-244.
- [22] HOLNESS H K, JAMAL A, MEBEL A, et al.

- Separation mechanism of chiral impurities, ephedrine and pseudoephedrine, found in amphetamine-type substances using a chiral modifiers in the gas phase[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2012, 404(8): 2 407-2 416.
- [23] DWIVEDI P, WU C, MATZ L M, et al. Gas phase chiral separations by ion mobility spectrometry[J]. *Analytical Chemistry*, 2007, 78(24): 8 200-8 206.
- [24] 成舒乔, 陈民辉, 曹玲, 等. 离子迁移谱及其应用进展[J]. *药物分析杂志*, 2012, 32(5): 912-918. CHENG Shuqiao, CHEN Minhui, CAO Ling, et al. The ion mobility-mass spectrometry and its application progress[J]. *Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis*, 2012, 32(5): 912-918 (in Chinese).
- [25] FERNANDEZ-MAESTRE R, MEZA-MORELOS D, WU C. Deprotonation effect of tetrahydrofuran-2-carbonitrile buffer gas dopant in ion mobility spectrometry[J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2016, 30(11): 1 332-1 338.
- [26] GHAEMI E, ALIZADEH N. Nanoclusters formation in ion mobility spectrometry and change separation selectivity of picoline isomers[J]. *International Journal for Ion Mobility Spectrometry*, 2014, 17(3): 117-124.
- [27] DOMALAIN V, TOGNETTI V, HUBERTROUX M, et al. Role of cationization and multimers formation for diastereomers differentiation by ion mobility-mass spectrometry[J]. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 2013, 24(9): 1 437-1 445.
- [28] MIE A, RAY A, AXELSSON B O, et al. Terbutaline enantiomer separation and quantification by complexation and field asymmetric ion mobility spectrometry tandem mass spectrometry[J]. *Analytical Chemistry*, 2008, 80(11): 4 133-4 140.
- [29] BARNETT D A, PURVES R W, ELLS B, et al. Separation of *o*-, *m*- and *p*-phthalic acids by high-field asymmetric waveform ion mobility spectrometry (FAIMS) using mixed carrier gases [J]. *Journal of Mass Spectrometry*, 2000, 35(8): 976-980.
- [30] MIE A, JÖRNTÉN-KARLSSON M, AXELSSON B-O, et al. Enantiomer separation of amino acids by complexation with chiral reference compounds and high-field asymmetric wave form ion mobility spectrometry: preliminary results and possible limitations [J]. *Analytical Chemistry*, 2007, 79(7): 2 850-2 858.
- [31] NAGY G, POHL N L. Complete hexose isomer identification with mass spectrometry[J]. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 2015, 26(4): 677-685.
- [32] FOUQUET T, CHARLES L. Distinction and quantitation of sugar isomers in ternary mixtures using the kinetic method [J]. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 2010, 21(1): 60-67.
- [33] LI M, LIU Z Q, CHEN H W, et al. Chiral quantification of *D*-, *L*-phenylglycine mixture using mass spectrometric kinetic method[J]. *Journal of Mass Spectrometry*, 2005, 40(8): 1 072-1 075.
- [34] HYYRYLÄINEN A R M, PAKARINEN J M, FÜLÖP F, et al. Diastereo chemical differentiation of some cyclic and bicyclic β -amino acids, via the kinetic method[J]. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 2009, 20(1): 34-41.
- [35] BERKECZ R, HYYRYLÄINEN A R M, FÜLÖP F, et al. Chiral discrimination of β -3-homo-amino acids using the kinetic method[J]. *Journal of Mass Spectrometry*, 2010, 45(11): 1 312-1 319.
- [36] TAO W A, ZHANG D X. Copper(II)-assisted enantiomeric analysis of *D*, *L*-amino acids using the kinetic method: chiral recognition and quantification in the gas phase [J]. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 2013, 24(10): 10 598-10 609.
- [37] HYYRYLÄINEN A R, PAKARINEN J M, FORRÓ E, et al. Chiral differentiation of some cyclic β -amino acids by kinetic and fixed ligand methods[J]. *Journal of Mass Spectrometry*, 2010, 45(2): 198-204.
- [38] KARTHIKRAJ R, PRABHAKAR S, VAIRAMANANI M. Differentiation of enantiomeric drugs by iodo-substituted *L*-amino acid references under electrospray ionization mass spectrometric conditions[J]. *Rapid Communication of Mass Spectrometry*, 2012, 26(11): 1 385-1 391.
- [39] FLEISCHER H, THUROW K. Fast mass spectrometry-based enantiomeric excess determination of proteinogenic amino acids[J]. *Amino Acids*, 2013, 44(3): 1 039-1 051.
- [40] DOMALAIN V, HUBERTROUX M, TOGNETTI

- V, et al. Enantiomeric differentiation of aromatic amino acids using traveling wave ion mobility-mass spectrometry[J]. *Chemical Science*, 2014, 5(8): 3 234-3 239.
- [41] JOYCE L A, MAYNOR M S, DRAGNA J M, et al. A simple method for the determination of enantiomeric excess and identity of chiral carboxylic acids[J]. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 2011, 133 (34): 13 746-13 752.
- [42] JIN H, THANGADURAI T D, JO S C, et al. On-line chiral analysis of benzylmercapturic acid and phenylmercapturic acid in human urine using UPLC-Q TOF mass spectrometry with the kinetic method[J]. *Microchemical Journal*, 2012, 103 (1): 170-176.
- [43] KARTHIKRAJ R, CHITUMALLA R K, BHANUPRAKASH K, et al. Enantiomeric differentiation of β -amino alcohols under electrospray ionization mass spectrometric conditions[J]. *Journal of Mass Spectrometry*, 2014, 49 (1): 108-116.
- [44] LEE M K, KUMAR A P, JIN D, et al. Determination of enantiomeric compositions of DOPA by tandem mass spectrometry using the kinetic method with fixed ligands[J]. *Rapid Communication of Mass Spectrometry*, 2008, 22(7): 909-915.
- [45] YOUNG B L, COOKS R G, MADDEN M C, et al. Chiral purity assay for Flindokalner using tandem mass spectrometry: method development, validation, and bench-marking[J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2007, 43(5): 1 602-1 608.
- [46] WU L M, VOGT F G, LIU D Q. Flow-injection MS/MS for gas-phase chiral recognition and enantiomeric quantitation of a novel boron-containing antibiotic (GSK2251052A) by the mass spectrometric kinetic method[J]. *Analytical Chemistry*, 2013, 85(10): 4 869-4 874.
- [47] MAJOR M, FOUQUET T, CHARLES L. Isomeric distinction of small oligosaccharides: a bottom-up approach using the kinetic method[J]. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 2011, 22(7): 1 252-1 259.
- [48] FERNÁNDEZ-MAESTRE R, WU C, JR H H. Buffer gas modifiers effect resolution in ion mobility spectrometry through selective ion-molecule clustering reactions[J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2012, 26 (19): 2 211-2 223.
- [49] CHEN K, JIN H, LI Y, et al. Isomeric quantification of *O*-diglycosyl flavonoids by a complex-free kinetic method using ESI/Q TOF mass spectrometry[J]. *Microchemical Journal*, 2014, 117 (21): 46-51.
- [50] LEE H H, HONG A, CHO Y, et al. Structural characterization of anticancer drug paclitaxel and its metabolites using ion mobility mass spectrometry and tandem mass spectrometry[J]. *Journal of The American Society for Mass Spectrometry*, 2016, 27(2): 1-10.
- [51] WRIGHT S, MCINTOSH A I. Method and system for monitoring biomolecule separations by mass spectrometry. US20160003787[P]. 2016.
- [52] ENDERS J R, MCLEAN J A. Chiral and structural analysis of biomolecules using mass spectrometry and ion mobility-mass spectrometry[J]. *Chirality*, 2009, 21(1e): E253-E264.
- [53] WU L M, MEURER E C, COOKS R G. Chiral morphing and enantiomeric quantification in mixtures by mass spectrometry[J]. *Analytical Chemistry*, 2004, 76(3): 663-671.
- [54] JIA C X, LIETZ C B, YU Q, et al. Site-specific characterization of *D*-amino acid containing peptide epimers by ion mobility spectrometry[J]. *Analytical Chemistry*, 2014, 86(6): 2 972-2 981.
- [55] WU L M, VOGT F G. A review of recent advances in mass spectrometric methods for gas-phase chiral analysis of pharmaceutical and biological compounds [J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2012, 69(69): 133-147.
- [56] ANTUNES N J, CAVALLI R C, MARQUES M P, et al. Stereoselective determination of metoprololandits metabolite α -hydroxy metoprolol in plasma by LC-MS/MS: application to pharmacokinetics during pregnancy[J]. *Chirality*, 2013, 25(1): 1-7.
- [57] NAKANO Y, KONYA Y, TANIGUCHI M, et al. Development of a liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for quantitative analysis of trace *D*-amino acids[J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2016.
- [58] WANG L, CHAI Y, NI Z, et al. Qualitative and quantitative analysis of enantiomers by mass spectrometry: application of a simple chiral chloride probe via rapid in-situ reaction[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2014, (809): 104-108.