

## 头孢菌素类抗生素的电喷雾多级串联质谱分析

李惠琳, 邢俊鹏, 刘志强\*, 刘淑莹

(中国科学院长春应用化学研究所 长春质谱中心, 吉林 长春 130022)

**摘要:**采用电喷雾多级串联质谱技术,对头孢呋辛、头孢噻吩钠、头孢硫脒、头孢噻利、头孢西丁钠五种头孢菌素类抗生素进行了系统研究,总结了该类化合物的电喷雾质谱特征断裂机理。该类化合物在电喷雾正离子或负离子模式下,均发生 C-3 位侧链 C-X(X=O、N、S)键的特征断裂,为头孢菌素类抗生素化合物结构鉴定提供了新方法。在负离子模式下,头孢呋辛二级质谱中  $\beta$ -内酰胺环发生开环断裂,与文献结果一致;在电喷雾正离子模式下,头孢噻吩钠、头孢噻利、头孢西丁钠多级串联质谱中均失去 C-7 位侧链上一分子 CO。

**关键词:**头孢菌素类抗生素;电喷雾多级串联质谱;断裂机理

**中图分类号:** O657.63; R917 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-2997(2005)04-198-05

## Analysis of Cephalosporins by Electrospray Ionization Multi-stage Tandem Mass Spectrometry

LI Hui-lin, XING Jun-peng, LIU Zhi-qiang\*, LIU Shu-ying

(Changchun Center of Mass Spectrometry, Changchun Institute of Applied Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Changchun 130022, China)

**Abstract:** Electrospray ionization multi-stage tandem mass spectrometry (ESI-MS<sup>n</sup>) is applied to analysis of five cephalosporins, including cefuroxime, cefalotin sodium, cefathiamidine, cefoselis and ceftiofur sodium, which are one classes of antibiotics widely used in the prevention and treatment of infectious diseases in the recent years. And their fragmentation pathways are described. The cleavage of C-X (X = O, N and S) in the site of C-3 is the characteristic fragmentation pathway of cephalosporins, both in the negative and positive ion mode. Additionally, in the MS<sup>2</sup> spectra of negative ion mode of cefuroxime,  $\beta$ -lactam cleaves between C6-7 and C8-N1 which is the same as reference papers described. In the MS<sup>n</sup> spectra of positive ion mode of cefuroxime, cefalotin sodium, cefoselis and ceftiofur sodium, a neutral loss of CO happens at the side chain of C-7.

**Key words:** cephalosporins; electrospray ionization multi-stage tandem mass spectrometry; fragmentation pathway

头孢菌素类(cephalosporins)抗生素是近年来发展较快的一类抗细菌抗生素,具有抗菌谱广、抗菌作用强、耐青霉素酶、临床疗效高、毒性

低、过敏反应较青霉素少等优点,在抗感染药物中占有重要地位。头孢菌素类抗生素母核结构是四元  $\beta$ -内酰胺环与六元噻嗪环组合而成。

收稿日期:2005-03-14;修回日期:2005-07-06

基金项目:国家自然科学基金资助项目(20173057, 20273067)。

作者简介:李惠琳(1978~),女(汉族),学士,从事天然药物化学与有机质谱学研究。E-mail: lhl@ciac.jl.cn

\*通讯作者:刘志强(1962~),男(汉族),博士,研究员,博士生导师,从事天然药物化学与有机质谱学研究。E-mail: liuzq@ciac.jl.cn

通过抑制细菌细胞壁的合成而起杀菌作用<sup>[1-3]</sup>。

A. F. Casy 等<sup>[4]</sup>及 Kobayashi K 等<sup>[5]</sup>采用快原子轰击质谱 (FAB-MS) 方法对头孢菌素类质谱断裂规律进行了研究, 但由于 FAB 质谱的灵敏度较电喷雾质谱 (ESI-MS) 低, 在研究中存在一定的局限性。王玲等<sup>[6]</sup>采用电喷雾四极杆飞行时间质谱对 C-3 位侧链为甲基的三种头孢类药物进行了研究, 给出了一些特征质谱裂解规律。利用 ESI-MS 的“软电离”性质, 可以简便、快速地获得小分子化合物的分子质量信息, 并通过串联质谱的碎片信息对其结构进行确认。本工作采用电喷雾多级串联质谱 (ESI-MS<sup>n</sup>) 技术, 提出头孢菌素类抗生素的电喷雾质谱断裂机理<sup>[4,6,7-9]</sup>, 建立头孢菌素类抗生素化合物结构鉴定的新方法。

## 1 实验部分

### 1.1 主要仪器及条件

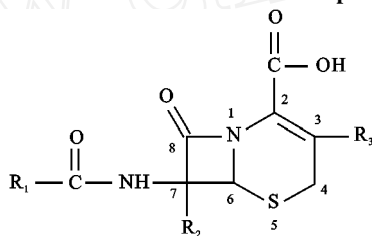
Finnigan LCQ™ 电喷雾质谱仪: 美国菲尼根 (Finnigan) 公司产品; 质量扫描范围  $m/z$  50 ~ 1 000; 喷雾电压 5.0 kV; 金属毛细管温度 180 °C; 以氦气为壳气; 流动注射泵进样, 流速 5  $\mu\text{L}/\text{min}$ ; 碰撞气为氦气, 碰撞能量 20% ~ 30%; 样品溶于甲醇, 过 0.45  $\mu\text{m}$  的滤膜。

### 1.2 样品及主要试剂

头孢菌素类抗生素头孢呋辛、头孢噻吩钠、头孢硫脒、头孢噻利、头孢西丁钠购于吉林大药房, 其结构示于表 1。甲醇为色谱纯。

表 1 五种头孢菌素类抗生素的化学结构

Table 1 Geometric structures of five cephalosporins



名称 Name	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
头孢呋辛 cefuroxime		- H	
头孢噻吩钠 cefalotin sodium		- H	
头孢硫脒 cefathiamidine		- H	
头孢噻利 cefoselis		- H	
头孢西丁钠 cefoxitin sodium		- OCH <sub>3</sub>	

注: 其中头孢噻吩钠及头孢西丁钠结构式中 2 位取代基为 -COONa。

## 2 结果与讨论

### 2.1 头孢呋辛电喷雾多级串联质谱研究

在负离子模式下,头孢呋辛主要以  $[M - H]^-$  和  $[2M - H]^-$  离子形式存在。图 2 为  $[M - H]^-$  离子  $m/z$  423 的二级串联质谱图及其断裂规律示意图。质谱数据表明,  $m/z$  423 离子在二级质谱中发生断裂,生成三个主要的特征离子  $m/z$  362、318、207。 $m/z$  362 离子是由  $m/z$  423 前体离子其 C-3 位侧链上 C-O 键发生断裂,失去中性分子  $NH_2COOH$  而生成,此断裂是该类化合物的特征断裂; $m/z$  318 离子则是由  $m/z$  423 前体离子在失去中性分子  $NH_2COOH$  的同时,在 C-2 位失去中性分子  $CO_2$  而生成;而  $m/z$  207 离子则是由  $m/z$  423 前体离子的  $\beta$ -内酰胺环发生开环断裂,失去噻嗪环及其侧链而生成。

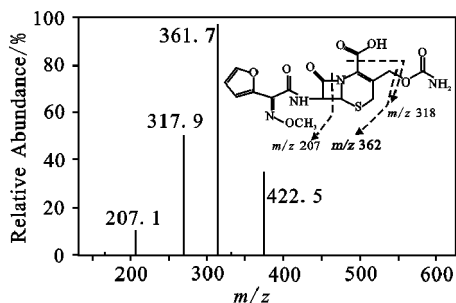


图 2 头孢呋辛  $[M - H]^-$  离子  $m/z$  423 电喷雾二级串联质谱图

Fig. 2  $MS^2$  spectrum of  $[M - H]^-$  ions of cefuroxime

### 2.2 头孢噻吩钠电喷雾多级串联质谱研究

在电喷雾正离子模式下,头孢噻吩钠以  $[M + H]^+$  离子  $m/z$  419 形式存在。其多级串联质谱图示于图 3a 和图 3b。在二级串联质谱中(图 3a),观察到了  $m/z$  359 和  $m/z$  315 离子,  $m/z$  359 离子是由  $m/z$  419 离子在 C-3 位 C-O 键断裂生成的;  $m/z$  315 离子是由  $m/z$  419 离子在 C-3 位 C-O 键断裂的同时在 C-2 位失去中性分子  $CO_2$  生成的。在三级串联质谱中(图 3b),  $m/z$  359 离子进一步断裂生成 2 个主要的特征离子  $m/z$  315、331。其中,  $m/z$  315 离子是由  $m/z$  359 离子 C-2 侧链发生断裂,失去中性分子  $CO_2$  而生成;  $m/z$  331 离子是由  $m/z$  359 离子失去中性分子  $CO$  而生成(具体断裂位点如图 3b 中粗黑线所示)。

### 2.3 头孢硫脒电喷雾多级串联质谱研究

头孢硫脒仅在电喷雾正离子模式下获得其分子离子  $[M + H]^+$ , 且具有较高的灵敏度。其二级串联质谱图及其断裂规律示于图 4。由图 4

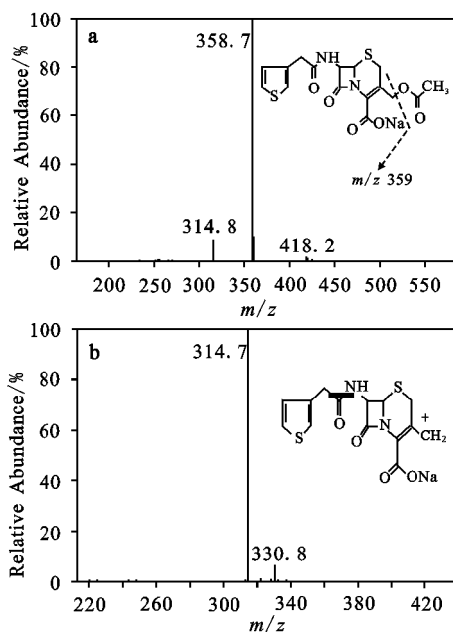


图 3 头孢噻吩钠  $[M + H]^+$  离子电喷雾串联质谱图(a)二级串联(b)三级串联  
Fig. 3 (a)  $MS^2$  and (b)  $MS^3$  spectra of  $[M + H]^+$  ions of cefalotin sodium

可知,  $m/z$  473 前体离子发生断裂,生成  $m/z$  201 离子以及  $m/z$  413、275 离子。其中,  $m/z$  201 离子是由  $m/z$  473 前体离子 C-7 位侧链上的酰胺键断裂生成;  $m/z$  413 离子则是  $m/z$  473 离子其 C-3 位 C-O 键断裂,失去中性分子  $CH_3COOH$  而生成;  $m/z$  275 离子是由  $m/z$  473 离子在失去 C-7 位侧链上中性分子  $(CH_3)_2C = NH$  的同时,噻嗪环中 N1-C2 和 C3-C4 两键发生断裂而生成。

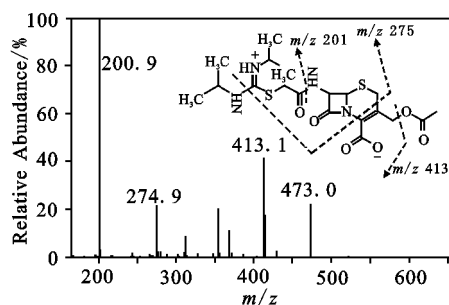


图 4 头孢硫脒  $[M + H]^+$  离子电喷雾二级串联质谱图

Fig. 4  $MS^2$  spectrum of  $[M + H]^+$  ions of cefathiamidine

### 2.4 头孢噻利电喷雾多级串联质谱研究

在电喷雾正离子模式下,头孢噻利以  $[M + H]^+$  离子  $m/z$  523 形式存在。对其进行了多级

串联质谱研究, 结果示于图 5a 和图 5b。在图 5a 中只观察到了一个  $m/z$  396 离子, 它是由  $m/z$  523 离子在 C-3 位 C-N 键断裂生成。在三级串联质谱中(图 5b),  $m/z$  396 离子进一步断裂生成四个主要的特征离子  $m/z$  352、324、277、241。其中,  $m/z$  352 离子是由  $m/z$  396 离子 C-2 侧链发生断裂, 失去中性分子  $\text{CO}_2$  而生成;  $m/z$  324 离子是由  $m/z$  396 离子同时失去中性分子  $\text{CO}$  及  $\text{CO}_2$  而生成的(具体断裂位点如图 5b 中粗黑线所示); 而  $m/z$  277 离子则是由  $m/z$  396 离子 C-2 侧链发生断裂, 同时, C-7 位侧链上的环发生断裂而生成;  $m/z$  241 离子是由  $m/z$  396 离子 C-7 侧链上与酰胺键邻位的 C-C 键发生断裂而生成。

### 2.5 头孢西丁钠电喷雾多级串联质谱研究

头孢西丁钠在电喷雾正离子模式下以  $[\text{M} + \text{H}]^+$  离子形式存在。其  $[\text{M} + \text{H}]^+$  离子  $m/z$  450 的二级、三级串联质谱图及其断裂方式示于图 6a 和图 6b。图 6a 中, 主要观察到了一个离子  $m/z$  389, 它仍然是该类化合物的特征断裂, 即由  $m/z$  450 前体离子在 C-3 位 C-O 键断裂而生成的。在三级串联质谱中(图 6b),  $m/z$  389 离子进一步断裂生成三个主要的特征离子  $m/z$

361、345、266。其中, 离子  $m/z$  361 是由  $m/z$  389 离子失去 C-7 位侧链上一分子  $\text{CO}$  而生成;  $m/z$  345 离子是由  $m/z$  389 离子在 C-2 位上, 失去一分子  $\text{CO}_2$  而生成的, 而  $m/z$  266 是由  $m/z$  389 离子 C-7 位侧链酰胺键发生断裂而生成。

## 3 结 论

对头孢呋辛、头孢噻吩钠、头孢硫脒、头孢噻利、头孢西丁钠五种头孢菌素类抗生素化合物进行了电喷雾多级串联质谱分析研究。其中头孢呋辛在负离子模式下, 获得了灵敏度较高的电喷雾质谱信息; 而头孢噻吩钠、头孢硫脒、头孢噻利、头孢西丁钠四种化合物则在正离子模式下, 获得理想的电喷雾质谱分析结果。另外, 在正离子或负离子模式下, 各化合物在二级串联质谱中均发生 C-3 位侧链 C-X (X = O、N、S) 键的断裂, 这是该类化合物的质谱断裂特征, 可能是由于 C-3 位所连的杂原子的诱导及供(吸)电子特性, 使其电子云发生偏移, 致使 C-X 键易于断裂造成的。此外, 在负离子模式下, 头孢呋辛二级质谱中 - 内酰胺环发生开环断裂; 在电喷雾正离子模式下, 头孢噻吩钠、头孢噻利、头孢西丁钠多级串联质谱中均失去 C-7 位侧链上一分子  $\text{CO}$ 。

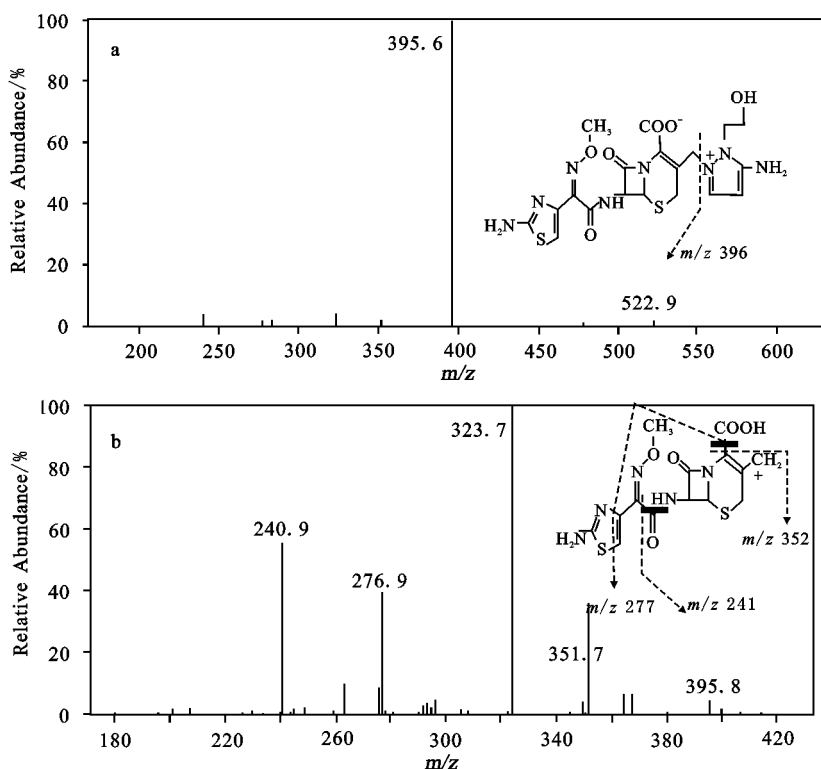


图 5 孢噻利  $[\text{M} + \text{H}]^+$  离子电喷雾串联质谱图 (a) 二级串联 (b) 三级串联

Fig. 5 (a) MS<sup>2</sup> and (b) MS<sup>3</sup> spectra of  $[\text{M} + \text{H}]^+$  ions of cefoselis

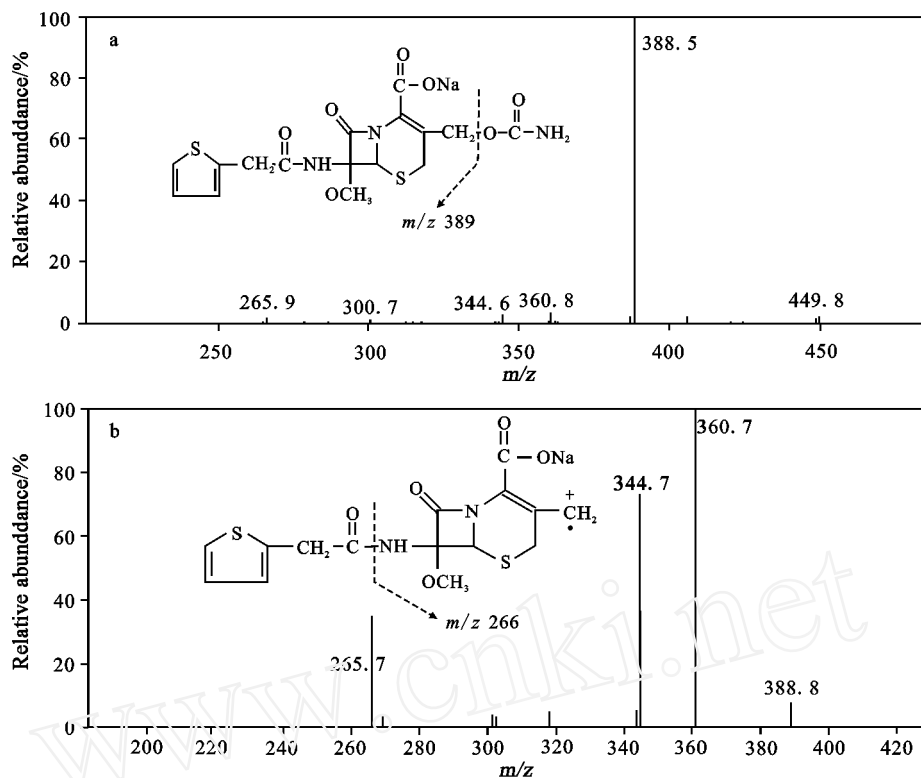


图 6 孢西丁钠  $[M+H]^+$  离子电喷雾串联质谱图(a)二级串联 (b)三级串联

Fig. 6 (a) MS<sup>2</sup> and (b) MS<sup>3</sup> spectra of  $[M+H]^+$  ions of cefoxitin sodium

### 参考文献:

- [1] 赵瑞祥. 头孢菌素类抗生素临床应用与进展[J]. 军队医药, 2002, 12(1): 56~57.
- [2] 郑虎. 药物化学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002. 302~311.
- [3] 王军臣, 刘君红. 头孢菌素类药物的合理应用[J]. 中华今日医学杂志, 2003, 3(16): 87~88.
- [4] Casy AF, Cryer C, Ominde EMA. Mass Spectrometry of  $\beta$ -Lactam Antibiotics with Special Reference to Ionization by Fast Atom Bombardment (FAB) [J]. J Pharmaceut Biomed, 1989, 7(10): 1121-1157.
- [5] Kobayashi K, Sato K, Mizuna Y, et al. Capillary High-performance Liquid Chromatography-Fast Atom Bombardment Mass Spectrometry of 24 Cephem Antibiotics [J]. J Chromatography B, 1996, 677: 275-290.
- [6] 王玲, 王英武, 陈刚, 等. 用电喷雾四极杆飞行时间质谱研究头孢类药物的质谱裂解规律[J]. 吉林大学学报(理学版), 2003, 41(1): 117~119.
- [7] 窦建鹏, 刘志强, 刘淑莹. 脱水淫羊藿素的电喷雾多级串联质谱研究[J]. 分析化学, 2003, 31(12): 1433~1436.
- [8] Andreas FL, Morrie C, Neil F, et al. Fragmentation Patterns of Selected Ergot Alkaloids by Electrospray Ionization Tandem Quadrupole Mass Spectrometry [J]. J Mass Spectrom, 2004, 39: 1275-1286.
- [9] Wang DW, Liu ZQ, Guo MQ, et al. Structural Elucidation and Identification of Alkaloids in Rhizoma Coptidis by Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry [J]. J Mass Spectrom, 2004, 39: 1356-1365.