

# 碳青霉烯类抗生素的电喷雾质谱裂解规律分析

王晓雪\*, 赫军, 崔刚, 李鹏梅, 孔维华, 张相林, 赵铁\*(卫生部中日友好医院药学部, 北京 100029)

中图分类号 R914 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)45-4294-03  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.45.22

**摘要** 目的:研究碳青霉烯类抗生素的质谱(MS)裂解特征,探讨该类化合物的MS裂解规律。方法:正离子检测模式下,利用电喷雾三重四级杆MS对4种碳青霉烯类抗生素(亚胺培南、美罗培南、帕尼培南、比阿培南)的[M+H]<sup>+</sup>离子,以及由其产生的特征碎片离子进行MS/MS及准MS/MS/MS分析。结果:正离子检测模式下,碳青霉烯类抗生素主要以[M+H]<sup>+</sup>准分子离子形式存在;其裂解行为是离子[M+H]<sup>+</sup>主要发生四元环裂解反应、脱羧基反应及碳-硫键的裂解反应,产生相应的特征子离子C、D、G、H。结论:该方法可获得碳青霉烯类抗生素的多级MS信息;依靠MS裂解规律,可以对其类似物、衍生物及代谢物进行快速定性鉴别,并为其定量分析提供有力的理论依据。

**关键词** 碳青霉烯类抗生素;亚胺培南;美罗培南;帕尼培南;比阿培南;电喷雾质谱;裂解规律

## Analysis of Electrospray Mass Spectrum Fragmentation Regularity of Carbapenem Antibiotics

WANG Xiao-xue, HE Jun, CUI Gang, LI Peng-mei, KONG Wei-hua, ZHANG Xiang-lin, ZHAO Tie (Dept. of Pharmacy, China-Japan Friendship Hospital, Beijing 100029, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To study the mass spectrum (MS) fragmentation characteristics of carbapenem antibiotics, and to investigate the MS fragmentation regularity of the compound. METHODS: In positive mode, electrospray triple-quadrupole MS was used to analyze 4 carbapenem compound as [M+H]<sup>+</sup> of imipenem, meropenem, panipenem and biapenem; characteristic fragment ions were analyzed with MS/MS mode and pseudo-MS/MS/MS mode. RESULTS: Carbapenem antibiotics showed good responses in positive-ion electrospray mass spectrometry as [M+H]<sup>+</sup> ions. The fragmentation behavior mainly were tetra-atomic ring fragmentation reaction, and decarboxylation reaction and carbon-sulphur bond fragmentation reaction of [M+H]<sup>+</sup> ions. Characteristic daughter ion C, D, G and H were obtained. CONCLUSIONS: The method can obtain multiple MS information of carbapenem antibiotics, and rapidly identify analogue, derivative and metabolite qualitatively. It provide strong theory evidence for qualitative analysis.

**KEYWORDS** Carbapenem antibiotics; Imipenem; Meropenem; Panipenem; Biapenem; Electrospray mass spectrometry; Fragmentation regularity

碳青霉烯类抗生素(Carbapenem antibiotics)对革兰阳性菌、革兰阴性菌以及厌氧菌等均有良好的抗菌活性,具有抗菌谱广、抗菌活性强、对β-内酰胺酶高度稳定的特点。临床上广泛用于各种严重细菌感染的疾病的治疗,尤其是混合型细菌感染和耐药菌感染,是目前最重要的一类抗感染药物<sup>[1]</sup>。

电喷雾质谱(ESI-MS)作为一种软电离技术,既可测定化合物的相对分子质量,又能获得较为丰富的结构信息,在医药领域的应用较为广泛,尤其适用于研究化合物在MS中的裂解规律<sup>[2-6]</sup>。碳青霉烯类化合物的结构含有多个伯胺或仲胺基团,在MS正离子检测模式下具有较强的离子响应。目前仅有对美罗培南裂解行为的MS分析<sup>[7]</sup>,未见对碳青霉烯类抗生素MS裂解规律的系统总结。因此本试验对4种母核相同、结构相似的碳青霉烯类抗生素(亚胺培南、美罗培南、比阿培南、帕尼培南)进行ESI-MS<sup>+</sup>分析,并对相关特征离子进行了深入研

究,归纳总结其MS裂解规律,旨在为其他碳青霉烯类化合物及其代谢物、衍生物的结构解析和定量分析提供科学依据。

4种碳青霉烯类抗生素化学结构如图1所示。

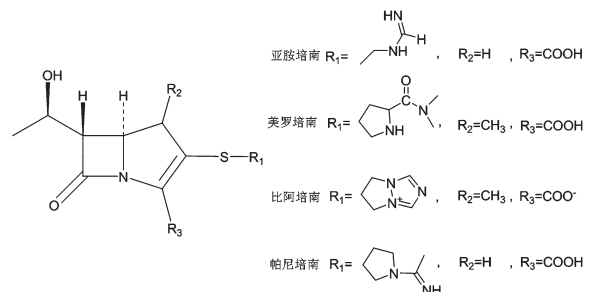


图1 4种碳青霉烯类抗生素的化学结构式  
Fig 1 Structures of 4 carbapenems antibiotics

## 1 材料

### 1.1 仪器

Acquity超高效液相色谱(UPLC)仪、Quattro Premier XE三重四级杆MS仪、电喷雾离子化源(ESI)及Masslynx4.1数据

\* 药师,博士。研究方向:药物有关物质及代谢。电话:010-84205563。E-mail:67671218@qq.com

# 通信作者:副主任药师。研究方向:质谱裂解规律。电话:010-84205248。E-mail:tiezhao@qq.com

处理系统(美国 Waters 公司); Milli-Q Advantage A10 超纯水机(美国 Millipore 公司)。

## 1.2 药品与试剂

亚胺培南对照品(美国默沙东公司,纯度:95%);美罗培南对照品(批号:130506-200702,纯度:98%)、比阿培南对照品(批号:130578-200901,纯度:95%)均来源于中国食品药品检定研究院;帕尼培南对照品(日本第一三共制药公司,纯度:95%);甲酸、乙腈均为色谱纯,水为超纯水。

## 2 方法

### 2.1 MS 条件

正负离子检测模式的 ESI 电离;毛细管电压:3.0 kV;锥孔电压:25 V;离子源温度:350 °C;脱溶剂气(N<sub>2</sub>)流速:600 L/h;锥孔反吹气流速:30 L/h;采用全扫描及子离子扫描方式;扫描范围质荷比(*m/z*)50~800;碰撞能量 15~30 eV。此外,三级 MS(MS/MS/MS)的采集是通过调节源内碰撞诱导解离在 20~40 V 范围内,全扫描方式下观察子离子裂解丰度,之后选择响应稳定的子离子进行 MS/MS 分析,采用子离子扫描方式,从而获取准 MS/MS/MS 谱。

### 2.2 分析方法

待测物的 ESI-MS<sup>n</sup> 分析方法:分别用去离子水将 4 种碳青霉烯类抗生素制备成质量浓度为 10 μg/ml 的溶液。各取上述溶液 250 μl,蠕动泵分别进样,流速为 10 μl/min。经由三通与 UPLC 仪(进样器)相连,流动相为乙腈-0.1% 甲酸水溶液(20:80),流速为 0.2 ml/min。

## 3 结果与分析

正离子检测模式下,将 4 种抗生素分别经过 MS 谱扫描,发现该类碳青霉烯类抗生素多以[M+H]<sup>+</sup>准分子离子峰存在,分别为 *m/z* 300(亚胺培南)、*m/z* 384(美罗培南)、*m/z* 340(帕尼培南)、*m/z* 351(比阿培南)。为了明确该类抗生素的 MS 裂解方式,探讨其 MS 裂解规律与结构的相关性,分别对上述抗生素的[M+H]<sup>+</sup>离子进行 MS/MS 谱测定,获得了相应子离子及相对丰度,详见表 1(注:表中括号内数据为相对丰度)。

表 1 4 种碳青霉烯类抗生素的 (+)-ESI-MS/MS 谱图的主要子离子 *m/z* 及相对丰度

Tab 1 Principal daughter ion and abundance of (+)-ESI-MS/MS spectrum of 4 carbapenems antibiotics

抗生素	[M+H] <sup>+</sup>	A, [M+H-18] <sup>+</sup>	B, [M+H-86] <sup>+</sup>	C, [M+H-130] <sup>+</sup>	D, [M+H-44] <sup>+</sup>	E, [M+H-62] <sup>+</sup>	F, [M+H-72] <sup>+</sup>	G, SR <sub>1</sub> <sup>+</sup>	H, R <sub>1</sub> <sup>+</sup>
亚胺培南	300	282(10)	214(20)	170(100)	256(8)	238(3)	228(3)	103(45)	71(2)
美罗培南	384	366(5)	298(20)	254(50)	340(30)	322(4)	312(5)	173(22)	141(100)
帕尼培南	340	322(2)	254(8)	210(90)	296(12)	278(3)	268(4)	143(20)	111(85)
比阿培南	351		265(30)		307(4)				110(100)

从表 1 可以看出,各抗生素在该采集条件下,可获得较为丰富的碎片离子信息。其中,此类抗生素的[M+H]<sup>+</sup>离子分别与离子 A、B、C、D、E、F 相差 18、86、130、44、62、72 Da,提示此类裂解规律可能与该类抗生素具有相似的母环结构有关。

本文以美罗培南为例,阐明碳青霉烯类抗生素的主要裂解途径。正离子检测模式下,美罗培南[M+H]<sup>+</sup>离子(*m/z* 384)的 MS/MS 谱图见图 2。

图 2 展示了美罗培南的[M+H]<sup>+</sup>准分子离子的 MS/MS 扫描

谱,其中离子 *m/z* 340(离子 D)、*m/z* 254(离子 C)、*m/z* 141(离子 H)及 *m/z* 68 相对丰度较高。

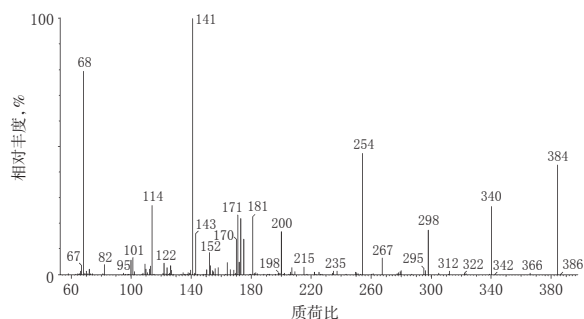


图 2 美罗培南[M+H]<sup>+</sup>离子(*m/z* 384)的 MS/MS 谱图

Fig 2 MS/MS spectrum of [M+H]<sup>+</sup> ion (*m/z* 384) for meropenem

美罗培南[M+H]<sup>+</sup>的可能裂解途径见图 3。

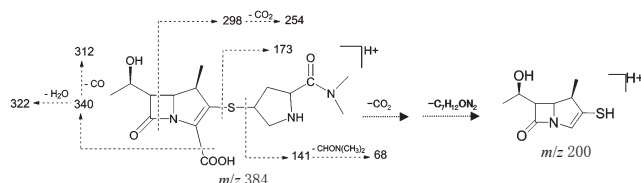


图 3 美罗培南[M+H]<sup>+</sup>离子(*m/z* 384)的电喷雾 MS 裂解途径  
Fig 3 Electrospray MS fragmentation diagrammatic sketch of [M+H]<sup>+</sup> ion (*m/z* 384) for meropenem

对 MS/MS 谱中的主要离子进行裂解途径推测:由图 3 可以看出,子离子 *m/z* 340 与准分子离子 *m/z* 384 相比减少了 44 Da,可能是发生分子内重排反应后中性丢失了 1 分子 CO<sub>2</sub>所致;对该离子进行准 MS/MS/MS 扫描后,产生三级离子 *m/z* 322 和 *m/z* 312,分别相差 18、28 Da,推测为离子 *m/z* 340 分别脱去 1 分子 H<sub>2</sub>O 和 CO 所得;离子 *m/z* 298 与准分子离子 *m/z* 384 相比减少了 86 Da,推测为后者发生电子麦氏重排裂解反应导致环裂解而产生的。

此类环裂解反应较为典型,除亚胺培南、帕尼培南与比阿培南等碳青霉烯类抗生素均会发生该反应外,具有噻唑环的青霉烯类抗生素也会发生相同的环裂解反应<sup>[8-12]</sup>;此外,离子 *m/z* 298 的准 MS/MS/MS 谱会产生子离子 *m/z* 254,二者相差 44 Da,推测为离子 *m/z* 298 发生分子内重排丢失 1 分子 CO<sub>2</sub>所致;经过准 MS/MS/MS 谱分析发现,离子 *m/z* 200 是由离子 *m/z* 340 产生,推测为后者首先发生脱羧反应,之后发生碳-硫键的裂解反应而产生的;同时,碳-硫键的裂解反应还可形成离子 *m/z* 173;丰度最高的离子 *m/z* 141 是由正电荷引发的诱导裂解反应导致碳-硫键发生断裂而产生的。除亚胺培南外,其余抗生素的 MS/MS 谱均显示离子 H 相对丰度较高;该离子的准 MS/MS/MS 谱会产生离子 *m/z* 68,相差 73 Da,应为前者脱去 1 分子 CHON(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>所形成的。通过对 4 种碳青霉烯类抗生素的 MS 谱、MS/MS 谱及准 MS/MS/MS 谱分析,可总结出碳青霉烯类化合物的主要裂解规律,如图 4 所示。

图 4 展示了该类抗生素的主要裂解机制。此类抗生素可发生裂解途径为:(1)取代基 R<sub>1</sub>与β-内酰胺环之间碳-硫键的不同方向断裂会分别产生离子 G 和 H。基于取代基 R<sub>1</sub>形成离子

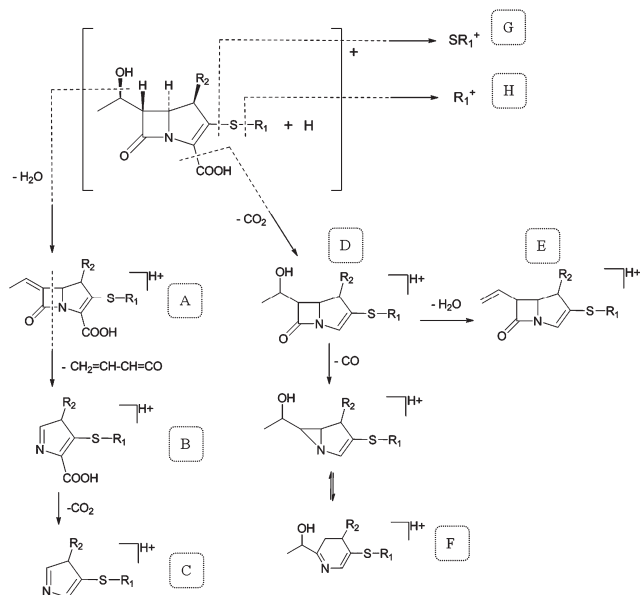


图4 碳青霉烯类抗生素的电喷雾MS裂解规律

Fig 4 Diagrammatic sketch for electrospray MS fragmentation regularity of carbapenems antibiotics

的稳定性不同,会导致二者的相对丰度不同。(2)四元内酰胺环的支链乙基上碳-氧键会发生裂解反应,丢失1分子H<sub>2</sub>O(分子质量18 Da),形成离子A;该离子随后脱去1分子CH<sub>2</sub>CHCHCO(分子质量:68 Da)形成离子B。值得注意的是,在青霉烯类抗生素的裂解中,准分子离子直接发生四元环裂解反应,中性丢失1分子CH<sub>2</sub>CH(OH)CHCO(分子质量:86 Da)获得离子B<sup>[9,12]</sup>。而碳青霉烯类首先经过支链的脱水反应(减少18 Da)产生离子A,之后发生四元环裂解反应(减少68 Da)得到离子B。虽然最终所获得的结果相同,但是碳青霉烯类与青霉烯类的裂解机制存在区别;离子B随后脱去1分子CO<sub>2</sub>(分子质量44 Da)生成相对丰度较高的离子C。(3)此外,内酰胺环分子内的重排会发生脱羧基反应,丢失1分子CO<sub>2</sub>形成离子D;经过准MS/MS/MS谱的测定,发现离子D会生成相对丰度较低的离子E和F。

#### 4 结语

本研究首次利用电喷雾三重四级杆MS仪,通过MS/MS扫描方式结合准MS/MS/MS采集方法,对4种碳青霉烯类抗生素的裂解规律进行了研究。发现该类抗生素在正离子检测模式下,主要以[M+H]<sup>+</sup>准分子离子峰形式存在;经过MS/MS谱及准MS/MS/MS谱的测定结果显示,主要发生丢失1分子H<sub>2</sub>O之后的四元环裂解反应、脱羧基反应及碳-硫键的裂解反应,产生相应的特征离子C、D、G、H。

综上,该方法可获得碳青霉烯类抗生素的多级MS信息,依靠MS裂解规律,可以对其类似物、衍生物及代谢物进行快速定性鉴别,并为其定量分析提供有力的理论依据。

#### 参考文献

[1] El-Gamal MI, Oh CH. Current status of carbapenem anti-

biotics[J]. *Curr Top Med Chem*, 2010, 10(18):1 882.

- [2] 王晓雪,赵铁,赫军,等.UPLC-ESI-MS法分析美罗培南的降解产物[J]. *中国药房*, 2014, 25(25):2 354.
- [3] Mishra E, Worlinsky JL, Brückner C, et al. MS/MS fragmentation behavior study of meso-phenylporphyrinoids containing nonpyrrolic heterocycles and meso-thienyl-substituted porphyrins[J]. *J Am Soc Mass Spectrom*, 2014, 25(1):18.
- [4] Bijlsma L, Sancho JV, Hernández F, et al. Fragmentation pathways of drugs of abuse and their metabolites based on QTOF MS/MS and MSE accurate-mass spectra[J]. *J Mass Spectrom*, 2011, 46(9):865.
- [5] Liu Y, He JM, Zhang RP, et al. Study of the characteristic fragmentation behavior of hydroquinone glycosides by electrospray ionization tandem mass spectrometry with optimization of collision energy[J]. *J Mass Spectrom*, 2009, 44(8):1 182.
- [6] Holcapek M, Kolárová L, Nobilis M. High-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry in the identification and determination of phase I and phase II drug metabolites[J]. *Anal Bioanal Chem*, 2008, 391(1):59.
- [7] Sun CR, Wu JM, Pan YJ. Characterization of novel hydrolysis products of carbapenems by electrospray ionization mass spectrometry[J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2009, 23(19):3 205.
- [8] Gower OL. Fast atom bombardment mass spectrometry of β-lactam antibiotic[J]. *International Journal of Mass Spectrometry and Ion Physics*, 1983, 46:431.
- [9] Das PR, Pramanik BN, Girijavallabhan VM, et al. Isomer differentiation and structural characterization of penem β-lactam antibiotics by mass-analyzed ion kinetic energy spectrometry[J]. *Organic Mass Spectrometry*, 1991, 26(8):703.
- [10] Casy AF, Cryer C, Ominde EMA. Mass spectrometry of β-lactam antibiotics with special reference to ionization by fast atom bombardment (FAB)[J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 1989, 7(10):1 121.
- [11] Borders DB, Carter GT, Hargreaves RT, et al. Recent applications of mass spectrometry to antibiotic research[J]. *Mass Spectrometry Reviews*, 1985, 4(3):295.
- [12] Triolo A, Bonelli B. Structural characterization of a new class of penem β-lactam antibiotics by triple quadrupole tandem mass spectrometry[J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 1995, 9(8):707.

(收稿日期:2014-03-25 修回日期:2014-07-14)