

# 表面解吸常压化学电离串联质谱快速检测粉末状抗生素药品\*

陈荣<sup>1</sup>, 杨水平<sup>1</sup>, 申屠静灵<sup>3</sup>, 李建强<sup>†\*</sup>, 张丽丽<sup>2</sup>, 郇延富<sup>2\*\*</sup>

(1. 东华理工大学化学生物与材料科学学院, 抚州 344000

2 吉林大学化学学院, 长春 130023 3 台州出入境检验检疫局, 台州 318000)

**摘要** 目的: 建立快速检测粉末状抗生素药品的方法。方法: 将自制表面解吸常压化学电离 (SDAPCI) 源耦合到线性离子阱质谱仪中, 在无需样品预处理的前提下, 以潮湿空气作为试剂, 通过电晕放电产生大量试剂离子 (即活性质子), 对市售粉末状阿莫西林、诺氟沙星、罗红霉素及头孢拉定等常见抗生素药物的活性成分直接进行串联质谱检测。结果: 方法具有较高的灵敏度, 对诺氟沙星等抗生素的检测限为  $8 \times 10^{-13} \text{ g} \cdot \text{cm}^{-2}$ , 能够直接用于诺氟沙星药品光解产物的检测与鉴定。结论: 单个样品的分析时间不到 1 min 可广泛用于粉末状药品活性成分与痕量杂质的快速检测。

**关键词:** 表面解吸常压化学电离; 串联质谱; 粉末; 抗生素; 快速检测

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(2009)10-1628-08

## Rapid detection of powdered antibiotics by surface desorption atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry\*

CHEN Rong<sup>1</sup>, YANG Shuiping<sup>1</sup>, SHENTU Jingling<sup>3</sup>,  
LI Jianqiang<sup>†\*</sup>, ZHANG Lili<sup>2</sup>, HUAN Yanfu<sup>2\*\*</sup>

(1. College of Biochemistry and Material Science East China Institute of Technology, Fuzhou 344000, China; 2. College of Chemistry,

Jilin University, Changchun 130023, China; 3. Taizhou Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau of Taizhou, Taizhou 318000, China)

**Abstract Objective** To establish a novel method for the rapid determination of powdered antibiotics. **Methods** A novel method using a homemade surface desorption atmospheric pressure chemical ionization (SDAPCI) source coupled to a linear ion trap mass spectrometer was developed for direct detection of various active constituents such as amoxicillin, norfloxacin, roxithromycin in powdered pharmaceutical preparations. In the SDAPCI source, corona discharged was employed to generate the primary reagent ions using ambient moisture in the air for chemical ionization of analytes in ambient conditions. Photolysis products of norfloxacin were rapidly detected and identified using tandem mass spectrometry. **Results** The detection limit was  $8 \times 10^{-13} \text{ g} \cdot \text{cm}^{-2}$  for tested antibiotics. A single sample analysis was completed in less than 1 min. **Conclusion:** The data showed that multiple stage SDAPCI mass spectrometry is a useful tool for fast detection of active ingredients and trace impurities in powdered medicines.

**Key words** surface desorption atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry; tandem mass spectrometry; powdered sample; antibiotics; rapid analysis

抗生素在医院中的使用率均达到 50% 左右<sup>[1,2]</sup>, 是应用最广泛的药物之一<sup>[3]</sup>。抗生素的大量应用, 使其成为非法药品的假冒对象。针对近年不合格抗生素占总抽检批数 16.7% ~ 30%<sup>[4,5]</sup> 的现状, 药品监督管理部门为严格控制药品质量, 严厉打击假劣药品, 切实保障用药安全, 提出需要大幅度提高药品检验速度、加大检验量、扩大检验范围。

在抗生素分析检测中, 目前常用的方法有微生物检定法<sup>[6]</sup>、光谱法 (包括荧光分析法<sup>[7,8]</sup>、紫外可见吸收光谱法<sup>[9]</sup>)、色谱法 [包括高效液相色谱 (HPLC)<sup>[10]</sup>、气相色谱 (GC)<sup>[11]</sup>、毛细管电泳法 (CE)<sup>[12]</sup>] 及色谱联用技术<sup>[13,14]</sup> 等。微生物检定法无需对抗生素的多种活性成分进行分离, 可体现药品的医疗价值, 但是也存在步骤烦琐、成本高、误差

\* 科技部创新基金 (No. 2008 MC04000); 国家自然科学基金 (No. 20505003); 江西省科技支撑项目

\*\* 通讯作者 李建强 Tel 13807948076 E-mail jql703@163.com

郇延富 Tel 13504326897 E-mail yhfua@jlu.edu.cn

大等缺点<sup>[6]</sup>。荧光法选择性好、动态线性范围宽,灵敏度比分光光度法高 1 个数量级。但由于不是所有物质都产生荧光,使其使用受到了限制。紫外可见吸收光谱法是药物分析中的常用方法<sup>[9]</sup>,但灵敏度不高,干扰因素较多。色谱法先分离后检测,具有灵敏、准确等优点。由于大量药物是极性较大的化合物,仅有约 20% 的药物可用 GC 分析,其中多数还必须经过衍生化步骤。LC 可以直接分析不挥发性化合物、极性化合物、热不稳定化合物和某些大分子化合物(包括蛋白、多肽、多糖、多聚物等),适用范围广<sup>[15]</sup>。CE 技术的优点是样品用量少,高精度,分析速度快,低费用。但由于样品体积小,要求有灵敏的检测方法,如激光诱导荧光技术(LIF),而 LIF 是一项相对昂贵的检测装置。液质联用(LC-MS)技术<sup>[16-17]</sup>在抗生素类物质的检测中有着广泛的应用。但样品需要溶解、萃取等多步预处理过程,难以适应药品的快速分析。此外,无损伤检测技术如近红外(NIR)药物分析虽然具有分析速度快的优点,但它是一种相对测量技术,其分析结果的可靠性对相应模型和实验条件、数据处理方法等的依赖性很大<sup>[18]</sup>;其次,由于 NIR 谱区为分子倍频与合频的振动光谱,信号弱,谱峰重叠严重,所以目前还仅能用于常量分析,被测定组分的量一般应大于样品重量的 0.1%。

质谱法是同时具有高灵敏度和高特异性的普适性分析方法。近年来,随着各种无需样品预处理的离子化技术的出现,如 DESI<sup>[19-21]</sup>、EESI<sup>[22-26]</sup>、SDAPCI<sup>[27-31]</sup>、DART<sup>[26,32]</sup>等,能实现对样品的快速检测。EESI(或 ND-EESI)能直接对液体、块状固体和气体等样品进行检测,不需预处理,但高速载气流的使用,不适合用于粉末样品的直接检测。DESI 及 DART 离子源虽然适用于固体表面的直接解吸,但 DESI 要使用到溶剂和很强的气流,DART 虽然不使用到有毒溶剂,但也需要较强的惰性气体流<sup>[23]</sup>,故均不适用于粉末药品的检测。SDAPCI 采用针尖电晕放电产生大量的初级离子,在常压下对样品表面的痕量待测物进行解吸化学电离,灵敏度较高。对于粉末样品的检测,可以关闭 SDAPCI 离子源的载气,主要以空气中的水分作为电离试剂,从而实现粉末样品的无污染快速检测。

本文将自制 SDAPCI 电离源耦合到 LTQ XL 增强型线性离子阱质谱仪中,在无需样品预处理的情况下,获得了阿莫西林、诺氟沙星、罗红霉素及头孢拉定 4 种粉末状抗生素药物的一级质谱,考察了活

性成分在二级质谱和三级质谱中的特征碎裂方式,并对诺氟沙星药品的光解产物进行了串联质谱检测,建立了采用 SDAPCI-MS 进行药品检测的快速方法。目前关于抗生素测定方法报道较多。但采用 SDAPCI 电离源对粉末状抗生素的快速测定方法作者未见文献报道。

## 1 仪器和试剂

表面解吸常压化学电离(SDAPCI)离子源:实验室自制<sup>[27-31]</sup>。LTQ XL 增强型线性离子阱质谱仪(美国 Finnigan 公司);药品阿莫西林胶囊(规格 0.25 g)、诺氟沙星胶囊(规格 0.1 g)、头孢拉定胶囊(规格 0.25 g)及罗红霉素胶囊(规格 0.15 g)全部为市售产品。

## 2 实验方法

质谱仪采用正离子检测模式,离子透镜电压由 LTQ 仪器自动优化,其他条件为 LTQ 缺省条件。将样品放在样品盘内,以潮湿空气作溶剂,放电针电压 3.0 kV,放电针尖至质谱入口毛细管的距离为 10 mm,采用潮湿空气(相对湿度 60%<sup>[27]</sup>)为试剂,药品表面离放电针尖端距离为 2 mm,碰撞诱导裂解(CID)的碰撞能量为 20%~30%,进样毛细管温度为 275 °C,喷雾针与样品表面的角度及样品表面与质谱入口的角度分别为 40°,10°。所有的一级质谱图的收集时间为 30 s 而且无需差减背景信号。

取出胶囊内容物作为检测样品,无需任何烦琐处理,直接放置在铺垫了滤纸的样品盘中<sup>[33]</sup>,抹平,表面平铺面积 1 cm<sup>2</sup>,放电针每次处在样品的同一位置,角度固定,即可进行检测。

## 3 结果与讨论

抗生素是指在一定浓度下对病原体有抑制和杀灭作用的化学物质,主要有青霉素(如阿莫西林)、喹诺酮类(如诺氟沙星)、大环内酯类(如罗红霉素)、头孢菌素类(如头孢拉定)、四环素类、氨基糖苷类及磺胺类等种类,广泛用于治疗呼吸系统、消化道、皮肤组织、泌尿系统及五官等各类系统的细菌感染。各类抗生素临床使用以头孢菌素类、青霉素类、喹诺酮类和大环内酯类最为常用<sup>[34-37]</sup>,而价格较低的胶囊装粉末类药品更容易成为假冒对象。为此,对阿莫西林、诺氟沙星、罗红霉素及头孢拉定这 4 种常用药的胶囊剂型快速检测显得尤为必要。

### 3.1 阿莫西林的质谱分析

在实验条件下,阿莫西林胶囊剂型获得的 SDAPCI-MS 谱图如图 1 所示。

阿莫西林胶囊的主要活性成分是阿莫西林,即

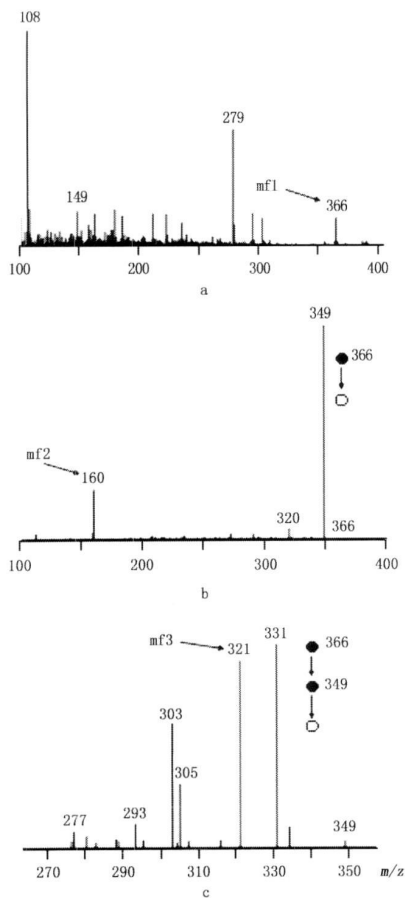


图 1 阿莫西林胶囊剂型的 SDAPCI 谱图

Fig 1 SDAPCI mass spectra of amoxicillin capsule

a 阿莫西林胶囊 SDAPCI-MS 谱图 (mass spectrum of amoxicillin capsule)

b  $m/z$  366 离子二级质谱 ( $MS^2$  spectrum of  $m/z$  366)

c  $m/z$  366 离子三级质谱 ( $MS^3$  spectrum of  $m/z$  366)

(2S, 5R, 6R) - 3,3-二甲基-6-[(R)-(-)-2-氨基-2-(4-羟基苯基)乙酰氨基]-7-氧代-4-硫杂-1-氮杂双环[3.2.0]庚烷-2-甲酸三水合物 ( $M_r$  365)。其中有一氨基是裸露的,易质子化而形成正离子  $[M+H]^+$ , 结构如图 7-mf1 所示。在图 1-a 中, 可看到明显的质子化的阿莫西林准分子离子信号  $m/z$  366。此外, 图谱中还出现了其他的离子信号  $m/z$  279, 149, 108。通过空白实验测定, 这些离子信号中  $m/z$  279 可能是邻苯二甲酸酯,  $m/z$  149 可能是其碎片离子<sup>[38]</sup>;  $m/z$  108 离子可能来自滤纸中的杂质, 由于与实验目的相关性小, 本实验不深入探讨。为进一步确认所获得的阿莫西林准分子离子的结构, 以  $m/z$  366 为母离子做二级质谱, 获得二级质谱如图 1-b 所示。在二级质谱中, 母离子  $m/z$  366 主要的碎片离子为  $m/z$  349, 160, 320。其中  $m/z$  349 是母核脱去一中性分子  $NH_3$  所形成的碎片离子。由于  $NH_3$  脱落后, 其上所带正电

荷转移, 使与之相连的 C 成为碳正离子, 而与碳正离子相连的苯环能较好地稳定该碳正离子, 因此  $m/z$  349 碎片离子有很高的丰度。 $m/z$  320 应该是母离子失去中性甲酸所致,  $m/z$  160 是母核在 C(6)-C(5) 和 C(7)-N(1) 处断裂生成的碎片离子, 其可能结构如图 7-mf2 所示。以上质谱数据与文献 [39] 中采用液质联用技术所得结果相一致。选择二级质谱中的基峰  $m/z$  349 进行 CID 实验, 获得三级质谱如图 1-c 所示, 主要生成碎片离子  $m/z$  331, 321, 303, 305, 293, 277。其中, 离子  $m/z$  331 是由  $m/z$  349 离子失去一分子  $H_2O$  生成;  $m/z$  321 由  $m/z$  349 离子脱去 CO 形成的产物, 其可能结构如图 7-mf3 所示;  $m/z$  303 离子是丢失  $HCOOH$  所得; 离子  $m/z$  305 是由  $m/z$  349 离子脱 -COO 所致; 离子  $m/z$  293 是由  $m/z$  349 离子脱 CO 及  $C_2H_4$  后的碎片; 离子  $m/z$  277 是由  $m/z$  349 离子脱 -COO 及 CO 所得。因此, 这些数据能够充分确认母离子的结构, 从而确认图 1-a 中所获得的信号  $m/z$  366 为阿莫西林的质子化准分子离子, 也表明 SDAPCI-MS 能够顺利检测到阿莫西林胶囊中的有效成分。

### 3.2 诺氟沙星质谱分析

在实验条件下, 诺氟沙星胶囊获得的 SDAPCI-MS 谱图如图 2 所示。胶囊的主要活性成分是诺氟沙星, 即 1-乙基-6-氟-1,4-二氢-4-氧代-7-(1-哌嗪基)-3-喹啉羧酸 ( $M_r$  319)。诺氟沙星呈酸碱两性, 在正离子检测模式下可质子化形成准分子离子  $[M+H]^+$  (结构如图 7-mf4 所示)。在图 2-a 中, 可看到明显的质子化的诺氟沙星准分子离子信号  $m/z$  320。为进一步确证所获得的诺氟沙星准分子离子的结构, 以  $m/z$  320 为母离子做二级质谱, 获得二级质谱如图 2-b 所示。从图 2-b 中可看出产生的主要碎片为  $m/z$  302, 276, 256, 233。其中  $m/z$  302 是母离子脱去一分子  $H_2O$  所形成的碎片离子;  $m/z$  276 可能是母离子脱羧或脱羧后哌嗪环断裂发生结构重排后所得到的碎片离子;  $m/z$  256 是母离子脱羧后再丢失 HF 分子所致, 丰度较低;  $m/z$  233 则是由母离子脱羧后, 哌嗪环断裂重排并失去  $C_2H_5N$  所得到的产物离子。所得质谱数据与 Ballesteros O. 等<sup>[40]</sup> 采用 LC-ESI-MS 技术所得的结论相一致。

考虑到产品在室温下虽然相对稳定, 但光照分解, 可分别降解为 1-乙基-6-氟-1,4-二氢-4-氧代-7-乙二胺-3-喹啉羧酸 ( $M_r$  293)、1-乙基-6-氟-4-氧代-7-氨基-3-喹啉羧酸 ( $M_r$

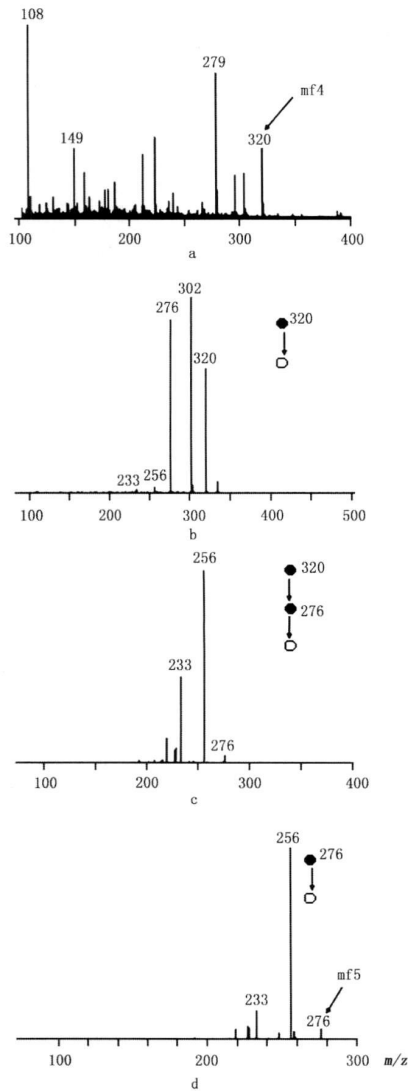


图 2 诺氟沙星胶囊剂型的 SDAPCI-MS 谱图

Fig 2 SDAPCI mass spectra of norfloxacin capsule

a 诺氟沙星胶囊的一级质谱 (mass spectrum of norfloxacin capsule)

b  $m/z$  320 离子的二级质谱 ( $MS^2$  spectrum of  $m/z$  320)

c  $m/z$  320 离子的三级质谱 ( $MS^3$  spectrum of  $m/z$  320)

d  $m/z$  276 离子的二级质谱 ( $MS^2$  spectrum of  $m/z$  276)

250) 和 1-乙基-6-氟-4-氧代-7-(1-哌嗪基)-喹啉 ( $M_r$  275), 其结构式分别如图 7-m f16, m f17, m f18 所示。

化合物 m f16 及 m f17 是诺氟沙星的 7 位哌嗪环断裂后的产物, 而 m f18 是诺氟沙星 3 位脱羧。根据诺氟沙星构效关系可知, 其结构上的氧和羧基是诺氟沙星药物活性所不可缺少的, 而且诺氟沙星在 7 位引入取代基, 其药物活性增强, 且取代基对活性影响程度为哌嗪基 > 二甲氨基 > 甲基 > 卤素 > 氢, 可见分解产物的生成影响产品药效。诺氟沙星二级质谱中生成的  $m/z$  276 离子碎片中, 其只脱羧的这部

分子结构与分解产物 1-乙基-6-氟-4-氧代-7-(1-哌嗪基)-喹啉结构相同, 如果对其 CID 后产生的碎片离子相同, 则可认为样品存在分解产物 1-乙基-6-氟-4-氧代-7-(1-哌嗪基)-喹啉, 故选中二级质谱中产生的  $m/z$  276 子离子及一级质谱中的  $m/z$  276 离子进行 CID 实验 (碰撞能量 25%), 其裂解图谱分别如图 2-c, 2-d 所示。从图 2-c, 2-d 中可看出两者产生的主要碎片均为  $m/z$  233, 256, 其中  $m/z$  233 是由于母离子哌嗪环断裂发生结构重排后脱去  $C_2H_5N$  所得到的产物离子;  $m/z$  256 是由于母离子丢失 HF 分子所得。对照图 2-c 与图 2-d 中的  $m/z$  233 离子丰度, 前者丰度更大。这可能是由于在诺氟沙星  $m/z$  320 离子产生的碎片离子  $m/z$  176 中, 存在 2 种结构, 其中一种结构和分解产物相同, 而另一种结构是脱羧后哌嗪环断裂发生结构重排所致, 后一种结构相比前一种结构脱去  $C_2H_5N$  所需能量更低。因此, 诺氟沙星三级质谱中产生的  $m/z$  233 离子丰度比降解产物  $m/z$  276 碎片离子丰度要高。这进一步说明该样品中存在降解产物 1-乙基-6-氟-4-氧代-7-(1-哌嗪基)-喹啉。

为确定另外 2 种光降解产物的存在, 分别对离子  $m/z$  294, 265 进行二级质谱检测。图 3 显示  $m/z$  294 离子 (其可能的结构如图 7-m f6 所示) 产生的主要碎片为  $m/z$  276 (脱水)、 $m/z$  250 (脱羧)、 $m/z$  238 (脱 CO 及  $C_2H_4$ )、 $m/z$  266 (脱 CO)、 $m/z$  274 (脱 HF 分子)、 $m/z$  277 (脱  $NH_3$ ); 图 4 显示离子  $m/z$  251 (其可能的结构如图 7-m f7 所示) 产生的主要碎片为  $m/z$  233 (脱水)、 $m/z$  223 (脱 CO)、 $m/z$  195 (脱 CO 及  $C_2H_4$ ), 此外还有些低相对丰度的碎片离子  $m/z$  231 (脱 HF 分子) 和  $m/z$  234 (脱  $NH_3$ ), 而  $m/z$  269 可能是  $m/z$  251 与水作用所产生的水合离子。考虑到这 2 种降解产物结构相似, 应该具有相似的裂解规律, 将图 3, 4 中碎片峰进行比对, 两者裂解方式基本相同。在相同碰撞能量作用下,  $m/z$  294 离子产生的脱  $NH_3$  离子碎片丰度较  $m/z$  251 中产生的相同碎片离子丰度更弱, 主要是由于与  $-NH_3^+$  基团相连的苯环对其起到了稳定作用。图 3, 4 中分别出现的  $m/z$  252, 209 虽然裂解途径不明, 但均为脱去相同相对分子质量为 42 的物质, 且采用相同能量进行 CID 实验时, 所得到的这 2 种离子的相对丰度增减规律相同, 由此可见产品中存在着上述图 7-m f17, m f18 中所示的 2 种分解产物。因此, 这些数据能够充分确认图 2-a 中所获得的信号  $m/z$

320为诺氟沙星的质子化准分子离子,并能确定诺氟沙星中降解产物的存在,同时也表明SDAPCI-MS能够顺利检测到诺氟沙星胶囊中的有效成分及降解产物。

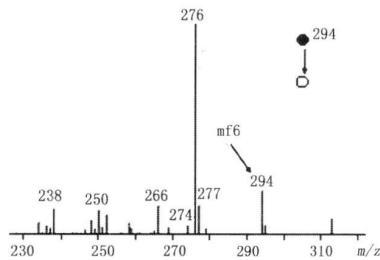


图3 离子  $m/z$  294的二级质谱图

Fig 3 MS<sup>2</sup> spectrum of  $m/z$  294

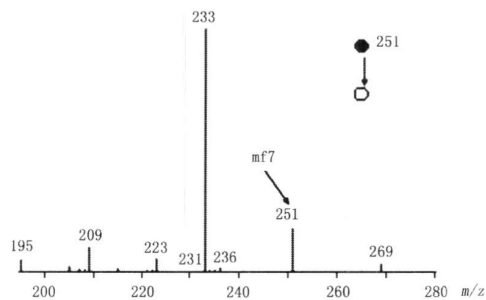


图4 离子  $m/z$  251的二级质谱图

Fig 4 MS<sup>2</sup> spectrum of  $m/z$  251

### 3.3 头孢拉定质谱分析

在实验条件下,头孢拉定胶囊获得的SDAPCI-MS谱图如图5所示。

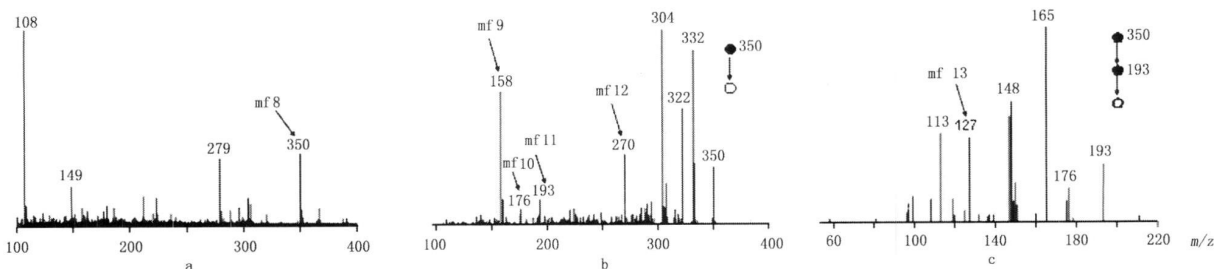


图5 头孢拉定胶囊剂型的SDAPCI-MS谱图

Fig 5 SDAPCI mass spectra of cefradine capsule

a 头孢拉定胶囊的一级质谱图 (mass spectrum of cefradine capsule)

b  $m/z$  350离子的二级质谱图 (MS<sup>2</sup> spectrum of cefradine at  $m/z$  350)

c  $m/z$  350的离子三级质谱图 (MS<sup>3</sup> spectrum of cefradine at  $m/z$  350)

头孢拉定胶囊的活性成分主要是头孢拉定,即(*R*, *R*)-7[(*R*)-2-氨基-2-(1,4-环己烯基)乙酰氨基]-3-甲基-8-氧代-5-硫杂-1-氮杂双环[4.2.0]辛-2-烯-2-羧酸(*M*, 349),由于含裸露的氨基,易生成准分子离子 $[M+H]^+$ ,其结构如图7-mf8所示。在图5-a中,可看到明显的离子信号 $m/z$  350。对离子 $m/z$  350进行二级质谱检测,获得二级质谱如图5-b所示,主要产生的碎片离子有 $m/z$  333, 332, 304, 270, 193, 176, 158,其中 $m/z$  333由准分子离子 $[M+H]^+$ 失去 $NH_3$ 所致; $m/z$  332由准分子离子失去水所得; $m/z$  304是准分子离子脱 $SCH_2$ 所得; $m/z$  270是准分子离子失去支链上的六元环所得(结构如图7-mf12所示); $\beta$ -内酰胺结构不太稳定,在C(6)-C(7)和C(8)-N(1)键处易于断裂,形成 $m/z$  193(结构如图7-mf11所示)及 $m/z$  158(结构如图7-mf9所示); $m/z$  193进一步失去中性碎片 $NH_3$ ,形成 $m/z$  176(结构如图7-mf10所示)。质谱检测结果与王玲等<sup>[41]</sup>在文献中报道的采用电喷雾四极杆飞行时

间质谱所得的主要碎片如: $m/z$  158, 176, 193, 333相一致,且具有更丰富的碎片信息。此外,选择二级质谱中的 $m/z$  193进行CID实验,所得碎片离子主要是 $m/z$  165, 176, 148, 127, 113(如图5-c所示)。其中 $m/z$  165是 $m/z$  193离子脱CO所得; $m/z$  176是 $m/z$  193离子脱一分子 $NH_3$ 所致; $m/z$  148是 $m/z$  193离子脱CO和 $NH_3$ 所致; $m/z$  127是 $m/z$  193离子环断裂脱去 $C_5H_6$ 所致; $m/z$  113是 $m/z$  193离子失去六元环后产生的碎片离子(结构如图7-mf13所示)。这些数据能够充分确认母离子的结构,从而确认图5-a中所获得的信号 $m/z$  350为头孢拉定的质子化准分子离子,也表明SDAPCI-MS能够顺利检测到头孢拉定胶囊中的有效成分。

3.4 罗红霉素质谱分析 在实验条件下,罗红霉素胶囊( $C_{41}H_{76}N_2O_{15}$ , *M*, 837)获得的DAPCI-MS谱图如图6所示。从图6-a中可看到2个具显著相对丰度的相邻的离子峰,分别为 $m/z$  838和837,其中 $m/z$  838为质子化的准分子离子的 $[M+H]^+$ (结构如图7-mf14所示), $m/z$  837为自由基正离

子 ( $M^+$ )。2种信号离子同时出现,主要是由于罗红霉素的 N 被其他基团所包围,从而表现出相对较低的质子亲和力。在二级质谱中,  $m/z$  838 主要是克拉定糖的 C1 位上的 C-O 键断裂而得到碎片离子  $m/z$  680(其可能结构如图 7- mf15 所示), 该碎片再次丢失一分子  $H_2O$  而得到碎片  $m/z$  662 碎片  $m/z$

820 是母离子脱水所致(如图 6- b 所示)。其碎片信息与文献报道的结果<sup>[39, 42]</sup>相一致。因此, 这些数据能够充分确认母离子的结构, 从而确认图 6- a 中所获得的信号  $m/z$  838 为罗红霉素的质子化准分子离子, 也表明 SDAPCI- MS 能够顺利检测到罗红霉素胶囊中的有效成分。

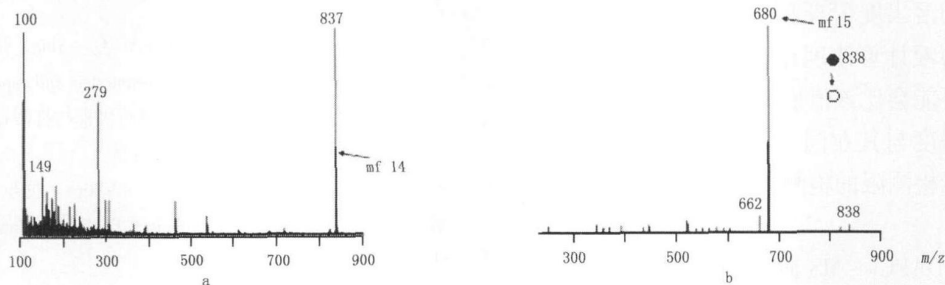


图 6 罗红霉素胶囊剂型的 SDAPCI-MS 质谱图

Fig 6 SDAPCI mass spectra of roxithomyacin capsule

A. 罗红霉素胶囊的一级质谱图(mass spectrum of roxithomyacin capsule) B.  $m/z$  838 离子的二级质谱图( $MS^2$  spectrum of roxithomyacin at  $m/z$  838)

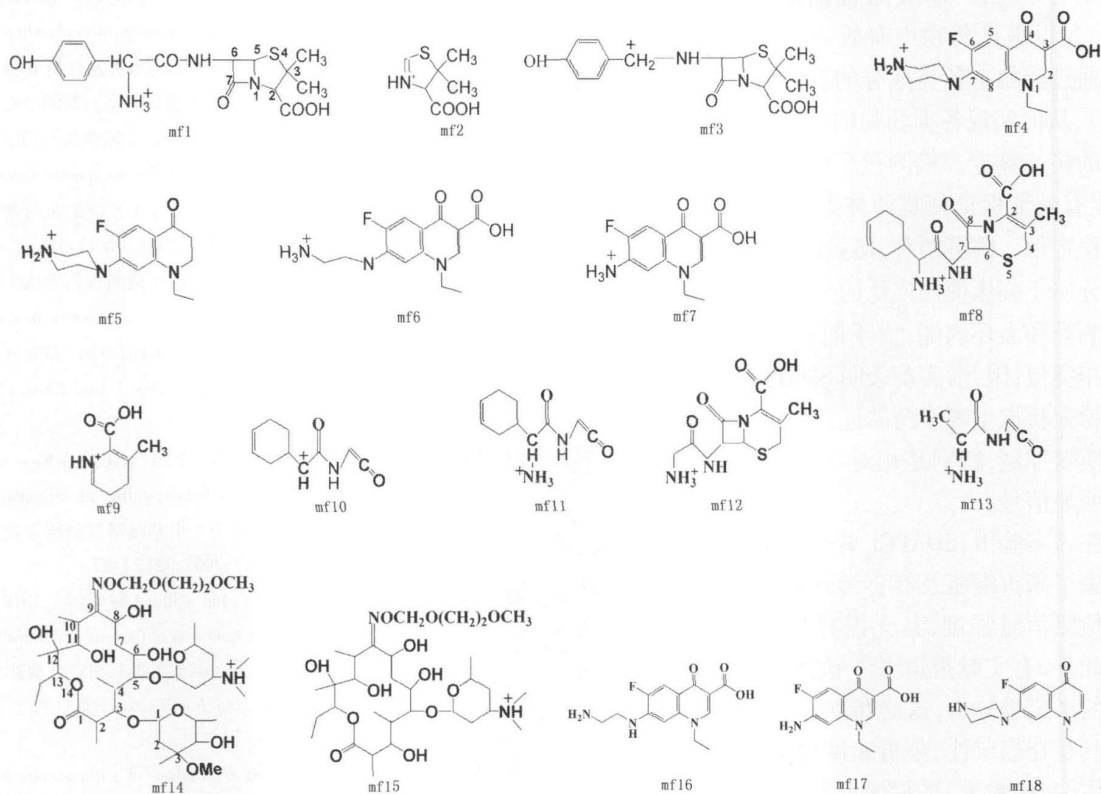


图 7 阿莫西林、诺氟沙星、头孢拉定及罗红霉素的相关离子及降解产物结构

Fig 7 Chemical structures of the ions and degradation products of amoxicillin, norfloxacin, cefradine and roxithomyacin studied

### 3.5 分析速度与检测限

LTQ 线性离子阱质谱仪全谱扫描的最短时间为 0.001 ms 为提高检测灵敏度和信号稳定性, 本文设定扫描时间为 100 ms C/D 碰撞解离时间为 30 ms 即使对每个样品进行串联质谱研究, 单个样品

的质谱测定时间 < 1 s 因此本文所建立的无需样品预处理的 DAPCI- MS 特别适合对批量抗生物样品进行快速检测。

将诺氟沙星胶囊中的内容物用醋酸溶解, 以诺氟沙星标示重量 0.1 g 为依据, 稀释至不同浓度, 每

次取不同浓度的溶液 20  $\mu\text{L}$  滴加在滤纸上, 液滴占据面积为  $1\text{ cm}^2$ , 以  $SN = 3$  时的浓度为检测限计算依据, 实验表明当诺氟沙星的质量浓度低至  $3.2\text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$  时,  $m/z$  320 的离子信号强度平均为 2340 空白的标准偏差为  $9.88 (n = 20)$ , 由此计算诺氟沙星的检测限为  $8 \times 10^{-13}\text{ g} \cdot \text{cm}^{-2}$ 。由于诺氟沙星胶囊内的有效成分的溶出度 75% 即符合规定, 这可能造成后期配制的溶液计算浓度比实际浓度偏高, 故本实验的检测限可能会比该值更低。考虑到其他抗生素的检测信号强度与其在同一数量级, 故对其他抗生素没做进一步检测限的检测。

#### 4 结语

首次应用 SDAPCI-MS 研究了阿莫西林、诺氟沙星、罗红霉素和头孢拉定 4 种常用抗生素的活性化学成分, 并用串联质谱进行了鉴定, 确定了其裂解方式, 并对易发生光降解的诺氟沙星进行了分解产物的定性检测。方法的检测限为  $8 \times 10^{-13}\text{ g} \cdot \text{cm}^{-2}$ , 足以满足药物中有效成分及杂质的检出, 并有望通过药物中各类成分的有效检出 (即特征图谱测定), 从而实现各类药物的生产厂家、生产工艺和批号的快速鉴定。检测过程中, 不需要水或其他试剂, 能有效地保证阿莫西林等对 pH、水及热敏感药物的稳定性。阿莫西林、诺氟沙星、头孢拉定和罗红霉素分属于临床使用广泛的头孢菌素类、青霉素类、喹诺酮类和大环内酯, 由于同系列产物的质谱裂解行为为相类似, 因此, 实验表明 SDAPCI-MS 能够用于该类粉末状抗生素类药品进行快速检测其真伪及有效的质量控制, 特别是相对一些含裸露氨基的抗生素有明显信号。

在该实验中, SDAPCI 离子源没采用溶剂载气, 在省去了笨重钢瓶及有毒溶剂的同时, 仍保持着良好的检测信号强度, 且无需样品预处理, 分析速度快。此外, 有文献报道<sup>[27, 30]</sup>该离子源能有效地实现物质的半定量分析, 这必将在有着无污染, 无毒, 不影响其存在稳定性, 分析速度快等要求的各种形状的物体 (包括粉末) 的检测上发挥重要作用。

#### 参考文献

- LIM ing- cheng (李明成), WANG Li- xia (王立霞), LI Su- huan (李素环), *et al* Survey on bacterial resistance and antibiotics usage among paediatrics (儿科抗生素使用现状及细菌耐药性监测). *China Public Health* (中国公共卫生), 2007, 23(6): 651
- LU Ping (刘萍). Antibiotics treatment among senile hospitalized patients over 70 (老年住院患者抗生素使用分析). *Chin J Nosocomiol* (中华医院感染学杂志), 2005, 15(2): 184
- GENG Dan (耿旦), HUANG Zu- gui (黄祖贵), WENG Sheng (翁升). Analysis of antibacterials used in our hospital during 2003 ~ 2005 (我院 2003 年 ~ 2005 年抗感染药物利用分析). *China Pharm* (中国药房), 2006, 17(17): 1313
- GENG Jin- jun (耿敬军). Improving selective examination level and realizing hitting counterfeit and inferior goods goals (提高药品抽检水平实现打假治劣目标). *China Food Drug Adm* (中国食品药品监管), 2005, 6: 48
- ZHAO Shen- cheng (赵盛忱), ZHANG Qi- xing (张启兴), LI Li (李莉), *et al* A study of hitting counterfeit and rapid detection of drugs used in country (农村基层用药快检与打假探析). *Chin Pharm Aff* (中国药事), 2005, 19(2): 73
- ZHANG Zhi (张治). Detection of Antibiotics (抗生素药品检验). Beijing (北京): People's Medical Publishing House (人民卫生出版社), 1987. 1
- OUYANG Yao- guo (欧阳耀国), CAI Wei- ping (蔡维平), XIE Qiang (谢蔷), *et al* Determination of cephalexin by photochemical fluorimetry (光化学荧光分析法测定头孢氨苄的研究). *Chin J Anal Chem* (分析化学), 1994, 22(12): 1211
- YANG Mei (杨梅), ZHANG Wen- wei (张文伟), ZHOU Dan- hong (周丹红), *et al* Rapid determination of cephadrine in capsules by fluorescence spectrometry (荧光法快速分析胶囊中的头孢拉定含量). *Chin J Anal Lab* (分析实验室), 2000, 19(1): 66
- ZHENG Jian (郑健), CHEN Huan- wen (陈焕文), LIU Hong- wei (刘宏伟), *et al* Application of UV- vis spectrophotometry in pharmaceuticals analysis (紫外-可见分光光度法在药物分析中的应用). *J Anal Sci* (分析实验室), 2002, 18(4): 158
- LI Yan- wen (李彦文), MO Ce- hui (莫测辉), ZHAO Na (赵娜), *et al* Determination of sulfonamides antibiotics in water and soil using high performance liquid chromatography (高效液相色谱法测定水和土壤中磺胺类抗生素). *Chin J Anal Chem* (分析化学), 2008, 36(7): 954
- HE Huan- hua (贺焕华), YU Pei (于沛), HUANG Ke- nan (黄克难). Determination of N- methylpyrrolidine in cefepime by GC (气相色谱法测定头孢吡肟中 N-甲基吡咯烷杂质含量). *Chin J Antibiot* (中国抗生素杂志), 2007, 32(2): 87
- BAO Li- ying (包丽颖), GU Jun- ling (顾峻岭), CHE Bao- quan (车宝泉). Quantitative analysis of four antibiotics by high performance capillary electrophoresis (高效毛细管电泳法对 4 种抗生素的定量分析). *J Beijing Inst Technol* (北京理工大学学报), 2001, 21(2): 270
- Yuziak N, Ozden T, Eren S *et al* Analysis of azithromycin in human plasma by LC-MS-MS. *Chromatogr Suppl* 2007, 66: 115
- Efkemann S, Feldhusen E. Triple- quadrupole LC-MS-MS for quantitative determination of nitrofurantoin metabolites in complex food matrices. *Anal Bioanal Chem*, 2004, 378: 842
- Gros M, Petrovic M, Barcelo D. Multi- residue analytical methods using LC- tandem MS for the determination of pharmaceuticals in environmental and wastewater samples: a review. *Anal Bioanal Chem*, 2006, 386: 941
- Hao CY, Lissimore L, Nguyen B *et al* Determination of pharmaceuticals in environmental waters by liquid chromatography/electrospray

- ionization/tandem mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem*, 2006, 384: 505
- 17 Senta I Terzic S, Ahel M. Simultaneous determination of sulfonamides, fluoroquinolones, macrolides and trimethoprim in wastewater and river water by LC-tandem-MS. *Chromatographia*, 2008, 68(9): 747
  - 18 FENG Yan-chun (冯艳春), HU Chang-qin (胡昌勤). Application of a near IR method in pharmaceuticals analysis (近红外光谱法在药物分析中的应用). *Chin Pharm Aff* (中国药事), 2003, 17(5): 312
  - 19 CHEN Huan-wen (陈焕文), LIM ing (李明), ZHOU Jian-guang (周建光), et al Desorption electrospray ionization mass spectrometry for direct analysis of clinic urine samples (电喷雾解吸电离质谱法用于临床尿样的直接分析). *Chin J Chin Univ* (高等学校化学学报), 2006 27(8): 1439
  - 20 Chen HW, Pan ZZ, Talaty N, et al Combining desorption electrospray ionization mass spectrometry and nuclear magnetic resonance for differential metabolomics without sample preparation. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2006 20: 1577
  - 21 Chen HW, Li M, Jin W, et al Detection of serine octamer by desorption electrospray ionization mass spectrometry in resultant mixture of aspartic acid exposed to sunshine under natural conditions. *Chin Res Chin Univ*, 2007, 23(6): 650
  - 22 Chen HW, Zenobi R. Neutral desorption sampling of biological surfaces for rapid chemical characterization by extractive electrospray ionization mass spectrometry. *Nat Prot*, 2008, 3(9): 1467
  - 23 Zhu L, Gerardo G, Chen HW, et al Real-time on-line monitoring of organic chemical reactions using extractive electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2008, 22: 2993
  - 24 Ching in K, Gomez G, Chen HW, et al Rapid classification of perfumes by extractive electrospray ionization mass spectrometry (EESI-MS). *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2008, 22: 2009
  - 25 Zhu L, Gomez G, Chen HW, et al Rapid detection of melamine in untreated milk and wheat gluten by ultrasound-assisted extractive electrospray ionization mass spectrometry (EESI-MS). *Chin Commun*, 2009 DOI 10. 1039/b818541 g
  - 26 Zhou ZQ, Jin M, Ding JH, et al Rapid detection of atrazine and its metabolite in raw urine by extractive electrospray ionization mass spectrometry. *Metabolomics*, 2007, 2(3): 101
  - 27 Chen H W, Zheng J Zhang X, et al Surface desorption atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry for direct ambient sample analysis without toxic chemical contamination. *J Mass Spectrom*, 2007, 42: 1045
  - 28 Chen HW, Liang HZ, Ding JH, et al Rapid differentiation of tea products by surface desorption atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry. *J Agric Food Chem*, 2007, 55(25): 10093
  - 29 LIANG Hua-zheng (梁华正), CHEN Huan-wen (陈焕文). Rapid fingerprinting of tea products by surface desorption atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry (表面解吸常压化学电离质谱法快速测定茶叶化学指纹图谱). *Chin J Appl Chem* (应用化学), 2008 25(5): 519
  - 30 Yang SP, Ding JH, Zheng J et al Detection of melamine in milk products by surface desorption atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry. *Anal Chem*, 2009, 81(7): 2426
  - 31 YANG Shui-ping (杨水平), CHEN Huan-wen (陈焕文), YANG Yu-lin (杨宇玲), et al Imaging melamine in egg samples by surface desorption atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry (鸡蛋中三聚氰胺的表面解吸常压化学电离串联质谱法成像). *Chin J Anal Chem* (分析化学), 2009, 37(3): 315
  - 32 Chen HW, Sun YP, Wormann A, et al Differentiation of maturity and quality of fruit using noninvasive extractive electrospray ionization quadrupole time-of-flight mass spectrometry. *Anal Chem*, 2007, 79(4): 1447
  - 33 CHEN Huan-wen (陈焕文), LAI Jin-hu (赖劲虎), ZHOU Yu-fen (周瑜芬), et al Instrumentation and characterization of surface desorption atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry (表面解吸常压化学电离源的研制及应用). *Chin J Anal Chem* (分析化学), 2007, 35(8): 1233
  - 34 LI Dong-sheng (李东生), WU Zu-shuai (吴祖帅). Analysis of antibiotic for children-patients in our hospital (我院儿科住院病人抗生素使用情况调查). *J Pediatr Pharm* (儿科医学杂志), 2007, 13(4): 31
  - 35 SHEN Hong (沈鸿), WANG Hong-bing (王洪兵). Analysis of antibacterials used and clinical survey of 379 inpatients undergoing infection surgery in hospital (外科住院患者医院感染 379 例临床调查及抗生素使用分析). *Pract Pharm Clin Remed* (实用药物与临床), 2006, 9(5): 312
  - 36 Biyani N, G risan- Soen G, Steinbok P, et al Prophylactic antibiotics in pediatric shunt surgery. *Child Nerv Syst* 2006 22: 1465
  - 37 Piscitelli SC, Rodvold KA. Drug Interactions in Infectious Diseases. Totowa, New Jersey: Humana Press, 2005. 255
  - 38 Ching in K, Chen HW, Gerardo G, et al Detection of diethyl phthalate in perfumes by extractive electrospray ionization mass spectrometry. *Anal Chem*, 2009 DOI 10. 1021/ac801572d
  - 39 Diaz-Cruz MS, Barcelo D. Determination of antimicrobial residues and metabolites in the aquatic environment by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem*, 2006 386: 973
  - 40 Ballesteros O, Sanz-Nebot V, Navalon A, et al Determination of a series of quinolone antibiotic using liquid chromatography-mass spectrometry. *Chromatographia*, 2004 59(5): 543
  - 41 WANG Ling (王玲), WANG Ying-wu (王英武), CHEN Gang (陈刚), et al Fragmentation regularities of cephalosporin drugs by means of electrospray ionization quadrupole time-of-flight mass spectrometry (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 Jilin Univ* (吉林大学学报), 2003, 41(1): 117
  - 42 HU Shou-gang (胡守刚), GUO Yin-long (郭寅龙), LÜ Long (吕龙). Study of erythromycin antibiotics by self-chemical ionization mass spectrometry (红霉素类抗生素的自身化学电离质谱研究). *Chin J Org Chem* (有机化学), 2000 2(5): 778

(本文于 2009 年 4 月 28 日收到)