

甲磺酸多黏菌素 E₂ 组分的色谱分离 及质谱裂解规律研究

刘 丹^{1,2}, 李 亮², 刘 彩², 陈笑艳², 钟大放²

(1. 南昌大学药学院, 江西 南昌 330006;

2. 中国科学院上海药物研究所药物代谢研究中心, 上海 201203)

摘要:甲磺酸多黏菌素 E₂ 是多黏菌素 E₂ 的前药, 对多药耐药的革兰氏阴性菌引起的感染有效, 临床拟用于抗感染治疗。采用超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱(UPLC-Q-TOF MS)联用技术, 电喷雾电离负离子(ESI⁻)模式, 建立了色谱分离、质谱检测的方法, 对不同数目甲磺酸基团取代的多黏菌素 E₂ 进行碰撞诱导解离(CID)研究, 推测其质谱裂解规律。结果表明: 不同数目甲磺酸基团取代的多黏菌素 E₂ 的准分子离子均为带双电荷的[M-2H]²⁻离子; 对[M-2H]²⁻离子碰撞裂解, 主要为中性丢失 CH₂SO₃、H₂SO₃、SO₂、CH₃CHO, 未发现酰胺键的断裂。该结果可为进一步研究甲磺酸多黏菌素 E₂ 及结构类似物的质谱裂解规律提供基础, 同时也对甲磺酸多黏菌素 E 的定量分析和药动学研究有参考作用。

关键词:超高效液相色谱-电喷雾-四极杆-飞行时间质谱(UPLC-Q-TOF MS); 甲磺酸多黏菌素 E₂; 色谱分离; 裂解规律

中图分类号: O657.63

文献标志码: A

文章编号: 1004-2997(2018)06-0653-10

doi: 10.7538/zpzb.2017.0175

Chromatographic Separation and Fragmentation Mechanism in Electrospray Ionization Mass Spectrometry for Colistin B Methanesulfonate

LIU Dan^{1,2}, LI Liang², LIU Cai², CHEN Xiao-yan², ZHONG Da-fang²

(1. College of Pharmacy, Nanchang University, Nanchang 330006, China;

2. Center for Drug Metabolism and Pharmacokinetics, Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201203, China)

Abstract: Colistin is a kind of polypeptide antibiotic, which is used for the treatment of infection caused by gram-negative bacteria. The market colistin is usually the mixture of colistin A and colistin B, and these two components show similar antibiotic activity. However, it was reported that colistin A causes much more damage to kidney than colis-

收稿日期: 2017-11-07; 修回日期: 2018-02-09

基金项目: 国家自然科学基金(81521005)资助

作者简介: 刘 丹(1992—), 女(汉族), 甘肃人, 硕士研究生, 药物分析专业。E-mail: 15900476086@163.com

通信作者: 钟大放(1957—), 男(汉族), 吉林人, 研究员, 从事药代动力学研究。E-mail: dfzhong@simm.ac.cn

网络出版时间: 2018-05-14; 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2979.TH.20180511.1543.006.html>

tin B. In addition, colistin methanesulfonate is inactive prodrug of colistin, which is metabolized to colistin *in vivo* to kill bacteria. Colistin B methanesulfonate is a safer and more active drug compared with the mixture. There are many researches about colistin and colistin methanesulfonate. However, most of researches for colistin methanesulfonate are indirect. It is necessary to develop a method to directly study colistin B methanesulfonate. In this study, ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole-time-of-flight mass spectrometry (UPLC-Q-TOF MS) was used to study colistin B methanesulfonate. Acquity UPLC HSS T3 column (100 mm×2.1 mm×1.8 μm) and gradient elution were selected for better separation of colistin B with different numbers of methanesulfonic acid groups. The mass detection method for analysis of collision induced dissociation (CID) of colistin B with different numbers of methanesulfonic acid groups and deducing the possible fragmentation pathways was established. It was concluded that the retention time of colistin B with different numbers of methanesulfonic acid groups depended on the number of methanesulfonic acid groups. The more numbers of methanesulfonic acid groups were, the shorter retention time was. In addition, colistin B with different numbers of methanesulfonic acid groups could be separated well through gradient elution but isomers of the same number of methanesulfonic acid groups couldn't be separated well because of the similar property of these isomers. It was revealed that colistin B with different numbers of methanesulfonic acid groups all had double charge quasi-molecular ion peak $[M-2H]^{2-}$. CID research showed that CH_2SO_3 , H_2SO_3 , SO_2 , CH_3CHO were the main neutral fragments without any amide bonds cleavage. This study provides a reference for the further study of the mass spectrometry of colistin B methanesulfonate and its derivatives, and also has a reference for the quantitative analysis and pharmacokinetic study of colistin B methanesulfonate.

Key words: ultra-high performance liquid chromatography-electrospray-quadrupole-time-of-flight mass spectrometry (UPLC-Q-TOF MS); colistin B methanesulfonate; chromatographic separation; fragmentation mechanism

多黏菌素 E(colistin)自 1950 年被发现后一直是多黏菌素类抗生素中重要的一种,但在 20 世纪 70 年代,由于其具有较高的肾毒性和神经毒性而被撤市,随后发现其对革兰氏阴性菌及泛耐药引起的感染有较强的作用。近年来,随着抗菌药物、免疫抑制剂的广泛应用,细菌的耐药性不断增强,多药耐药菌迅速增加,老药多黏菌素成为抗多药耐药菌的最后防线,引起了研究者的关注^[1]。但有研究^[2]发现,带有 MCR-1 基因的细菌也表现出了对多黏菌素的耐药性,这提示我们要更加关注对多黏菌素类抗生素的研究及使用。

目前市售的多黏菌素 E 主要有硫酸多黏菌素 E 和甲磺酸多黏菌素 E 两种,且均为多黏菌素 E₁ (Colistin A) 和多黏菌素 E₂ (Colistin

B) 的混合物^[3]。有文献^[4]报道,多黏菌素 E₁ 和多黏菌素 E₂ 在抑菌活性上无明显差别,但二者混合物比单一成分的活性低,主要是因为二者会相互竞争血浆蛋白结合位点,影响游离药物浓度,进而影响药动学性质,同时还发现多黏菌素 E₁ 对肾脏的毒性比多黏菌素 E₂ 严重^[5]。基于此,正大天晴药业集团股份有限公司研制开发了甲磺酸多黏菌素 E(甲磺酸多黏菌素 E₁ 和甲磺酸多黏菌素 E₂ 混合物)中的单一成分甲磺酸多黏菌素 E₂,即用甲磺酸基团取代多黏菌素 E₂ 的 5 个碱性氨基,二者结构示于图 1。甲磺酸多黏菌素 E₂ 是多黏菌素 E₂ 的非活性前药,几乎不被胃肠道吸收,主要通过肌肉注射或静脉注射给药,进入人体后能够代谢为多黏菌素 E₂ 而发挥杀菌作用。

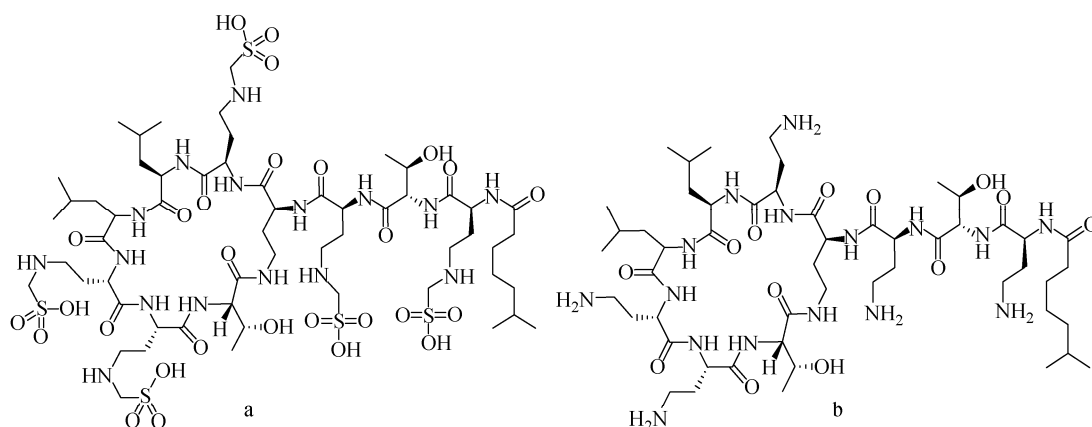
图1 甲磺酸多黏菌素 E₂ (a)和多黏菌素 E₂ (b)的结构式

Fig. 1 Structures of colistin B methanesulfonate (a) and colistin B (b)

目前,对多黏菌素 E 和甲磺酸多黏菌素 E 的质谱定量研究已有报道^[6-10],如, Mercier 等^[6]建立了 HILIC-MS/MS 法同时测定人血浆中的多黏菌素 E₁ 和多黏菌素 E₂ 及其前药甲磺酸多黏菌素 E₁ 和多黏菌素 E₂; Zhao 等^[7]建立了 UHPLC-MS/MS 法测定人血浆及尿液中的多黏菌素 E 及甲磺酸多黏菌素 E 等。但二者对于甲磺酸多黏菌素 E 均是间接定量,分别测得体内代谢产生多黏菌素 E 的浓度和体内代谢加体外水解产生多黏菌素 E 的总浓度,即可计算出体内的甲磺酸多黏菌素 E 的浓度^[11]。Ma 等^[12]在多黏菌素 E 的定量研究中选择 ESI⁺ 检测模式,分析了多黏菌素 E 的一级和二级质谱片段,发现主要的断裂方式是肽键断裂。甲磺酸多黏菌素 E 作为多黏菌素 E 的前药,研究其体内代谢过程具有重要意义,但目前尚未见对前药甲磺酸多黏菌素 E 进行直接测定或者对其色谱保留和质谱裂解规律进行研究的报道。

本实验拟对甲磺酸多黏菌素 E₂ 进行质谱 ESI⁻ 模式下的裂解分析,以获得丰富的碎片离子结构信息,通过分析推测甲磺酸多黏菌素 E₂ 的质谱裂解规律,旨在为甲磺酸多黏菌素 E₂ 及其类似物的快速结构解析、定量分析和药动学研究提供支持。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Acquity UPLC 系统:配备二元输液泵、自动进样器、柱温箱、脱气机和 TUV 紫外检测

器,美国 Waters 公司产品;Triple TOF 5600+ 型四极杆-飞行时间串联质谱仪(配有电喷雾电离源和 CDS 自动校正系统)、PeakViewTM 软件:均为美国 AB Sciex 公司产品。

甲磺酸多黏菌素 E₂ 钠盐原料药(批号:160225115):由正大天晴药业集团股份有限公司提供;乙腈(色谱纯):德国 Merck 公司产品;氨水(分析纯):国药集团化学试剂有限公司产品;超纯水:美国 Millipore 公司产品。

1.2 色谱条件

Acquity UPLC HSS T3 色谱柱(100 mm × 2.1 mm × 1.8 μm);流动相:5 mmol/L 醋酸铵(含 0.001% 氨水)(A)-乙腈(B);流速 0.4 mL/min;检测波长 254 nm;柱温 45 °C;进样量 5 μL;梯度洗脱:0~1 min(5% B),1~7 min(5%~40% B),7~9 min(40%~70% B),9~11 min(70%~90% B),11~12 min(90% B),12~14 min(90%~5% B),14~17 min(5% B)。

1.3 质谱条件

电喷雾电离源(ESI),负离子扫描(高灵敏度模式)方式检测;GAS1:55,GAS2:50,Curtain GAS:35;源温度 400 °C;离子喷雾电压(ISVF)-4 500 V;去簇电压-80 V;一级全扫描时碰撞能量为-8 eV;产物离子扫描时碰撞能量分别为(-25 ± 5) eV(二甲磺酸多黏菌素 E₂),(-15 ± 5) eV(三、四甲磺酸多黏菌素 E₂),(-8 ± 5) eV(五、六甲磺酸多黏菌素 E₂);质量扫描范围 m/z 80~1 500;采用自动校正系统(CDS)外标法校正质量数。

1.4 样品溶液制备

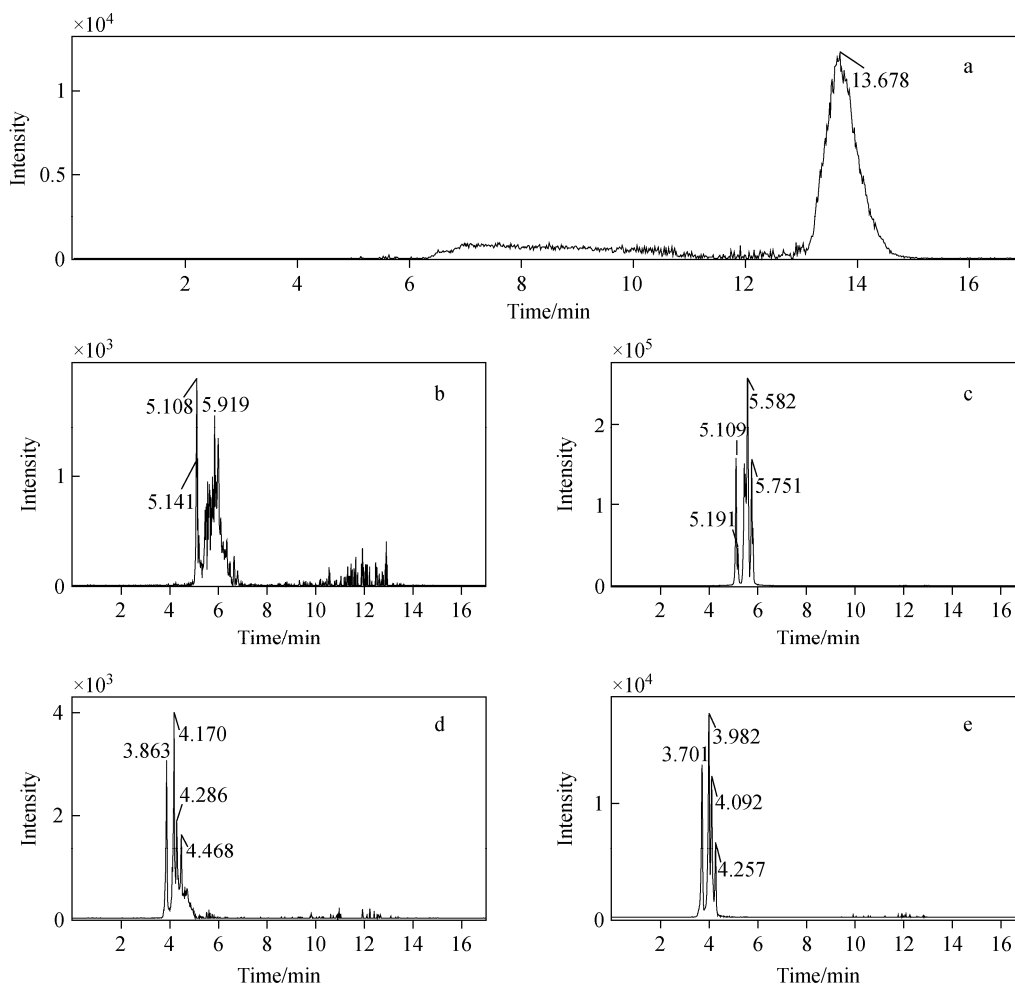
取规格为 150 mg(以多黏菌素 E₂ 计)的注射用甲磺酸多黏菌素 E₂ 钠盐,加入一定体积纯水定量转移,得 25 g/L 的储备液;用纯水稀释储备液,配制成 100 mg/L 的工作溶液作为测试溶液。储备液及工作溶液均于 -20 °C 保存。

2 结果与讨论

2.1 色谱分离

甲磺酸多黏菌素 E₂ 原料药为混合物,含有不同数目甲磺酸基团以及不同位置修饰的多黏菌素 E₂ 组分,各组分之间可通过极性不同或取代基位置不同得以分离。本实验比较了乙腈-水、乙腈-5 mmol/L 醋酸铵水溶液、乙腈-5 mmol/L

醋酸铵水溶液(含 0.001% 氨水)、甲醇-5 mmol/L 醋酸铵水溶液(含 0.001% 氨水)体系作为流动相时,对甲磺酸多黏菌素 E₂ 混合物的色谱分离行为和离子化响应的影响。结果表明,选取乙腈-5 mmol/L 醋酸铵水溶液(含 0.001% 氨水)为流动相时,色谱峰的峰形尖锐对称,分离度及离子化效果均较好。因此,本实验选择该溶液作为流动相。各组分的保留时间随着甲磺酸取代基数目的减少(极性减弱)而增加,但具有相同甲磺酸取代基数目的位置异构体较难实现完全分离。实验检测到的甲磺酸多黏菌素 E₂ 组分的色谱图示于图 2,未检测到单取代的甲磺酸多黏菌素 E₂(因此后文未对其分析)。



注:a. 二甲磺酸多黏菌素 E₂; b. 三甲磺酸多黏菌素 E₂; c. 四甲磺酸多黏菌素 E₂; d. 五甲磺酸多黏菌素 E₂; e. 六甲磺酸多黏菌素 E₂

图 2 不同数目甲磺酸基团取代的多黏菌素 E₂ 的色谱图

Fig. 2 Chromatograms of colistin B with different numbers of methanesulfonic acid groups

2.2 质谱裂解

本实验选择的电喷雾电离是一种软电离技术,易于得到目标物的相对分子质量信息。通过 ESI 一级质谱产生的准分子离子得到物质的分子质量信息,碰撞诱导解离(CID)技术可以使准分子离子发生碎裂,从而得到化合物的结构信息^[13]。

2.2.1 一级质谱全扫描分析 采用电喷雾离子源,在负离子检测方式下对 5 种不同数目甲磺酸基团取代的多黏菌素 E₂ 进行质谱分析。结果发现,均能检测到很强的双电荷准分子离子峰 $[M-2H]^{2-}$, 六甲磺酸、五甲磺酸、四

甲磺酸、三甲磺酸、二甲磺酸多黏菌素 E₂ 的 $[M-2H]^{2-}$ 分别为 m/z 858.291、811.296、764.312、717.327、670.344。这可能是因为甲磺酸多黏菌素 E₂ 的分子质量较大,较大的分子结构有利于电子分散,在负离子模式下,化合物多个位点的电子亲和势较低,容易电离多个氢产生多电荷离子。

2.2.2 二级质谱分析 为了研究分子结构与裂解途径之间的关系,通过碰撞诱导解离对不同数目甲磺酸基团取代的多黏菌素 E₂ 的 $[M-2H]^{2-}$ 准分子离子峰进行二级质谱分析,所得碎片离子信息列于表 1,二级质谱图示于图 3。

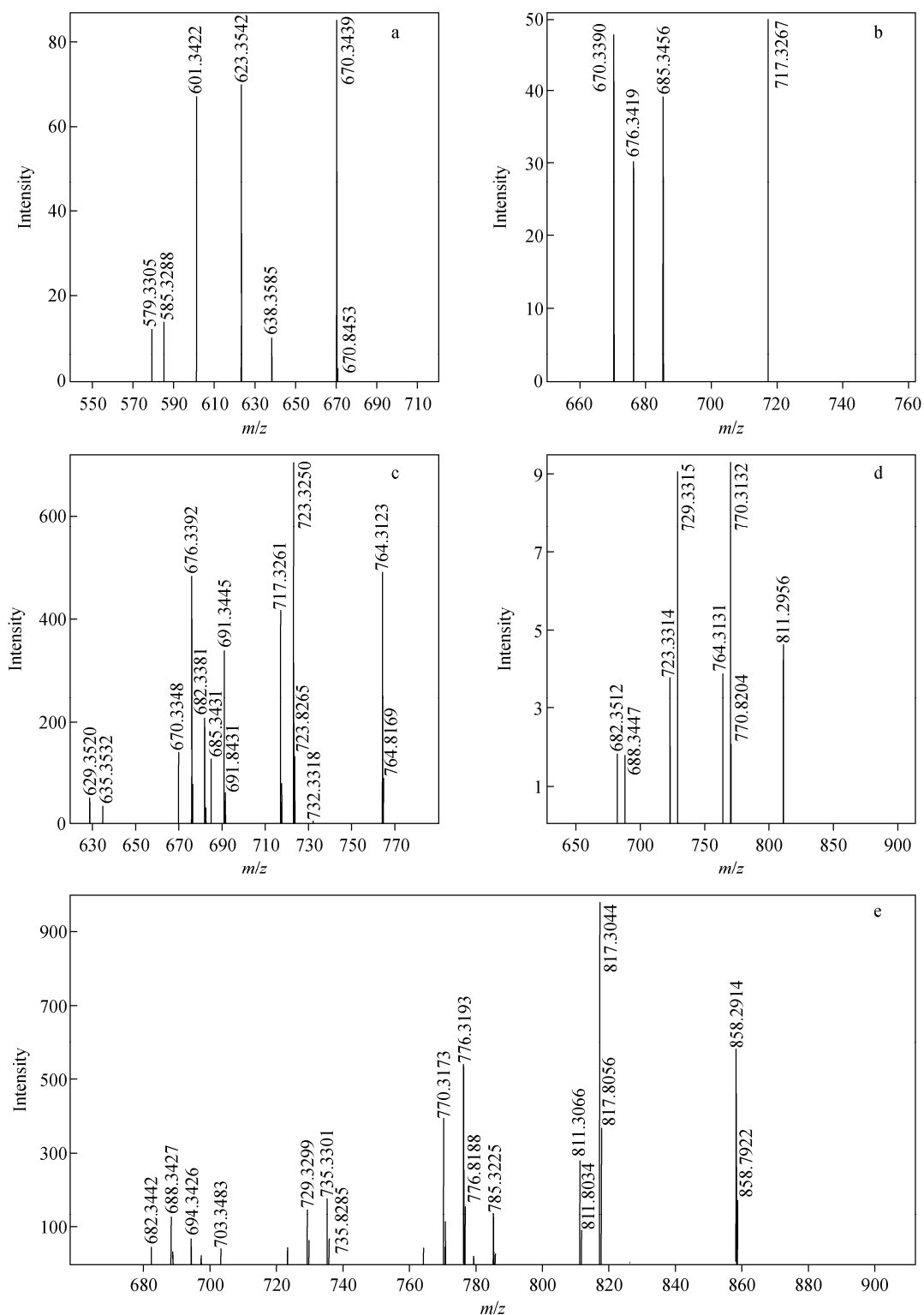
表 1 甲磺酸多黏菌素 E₂ 组分的高分辨质谱数据

Table 1 Accurate mass data of colistin B with different numbers of methanesulfonic acid groups

组分 Compound	分子式 Molecular formula	$[M-2H]^{2-}$ (m/z)	误差 Error/ 10^{-6}	碎片离子 Fragment ion (m/z)
二甲磺酸多黏菌素 E ₂	C ₅₄ H ₁₀₂ N ₁₆ O ₁₉ S ₂	670.3439	5.5	638.3538, 623.3542, 601.3422, 585.3288, 579.3305
三甲磺酸多黏菌素 E ₂	C ₅₅ H ₁₀₄ N ₁₆ O ₂₂ S ₃	717.3267	0.4	685.3456, 676.3419, 670.3390
四甲磺酸多黏菌素 E ₂	C ₅₆ H ₁₀₆ N ₁₆ O ₂₅ S ₄	764.3123	-0.4	732.3318, 723.3250, 717.3261, 691.3445, 685.3431, 682.3381, 676.3392, 670.3348, 635.3532, 629.3520
五甲磺酸多黏菌素 E ₂	C ₅₇ H ₁₀₈ N ₁₆ O ₂₈ S ₅	811.2956	-3.9	770.3132, 764.3131, 729.3315, 723.3314, 688.3447, 682.3512
六甲磺酸多黏菌素 E ₂	C ₅₈ H ₁₁₀ N ₁₆ O ₃₁ S ₆	858.2914	7.3	817.3044, 811.3066, 785.3225, 776.3193, 770.3173, 735.3301, 729.3299, 703.3483, 694.3426, 688.3427, 682.3442

六甲磺酸多黏菌素 E₂ 的准分子离子 $[M-2H]^{2-}$ 为 m/z 858.291, 通过 CID 解离分析,得到了 m/z 858.291 4、817.304 4、811.306 6、785.322 5、776.319 3、770.317 3、735.330 1、729.329 9、703.348 3、694.342 6、688.342 7、682.344 2 一系列质谱峰(图 3e)。其中 m/z 858.291 4 与 m/z 817.304 4, m/z 817.304 4 与 m/z 776.319 3, m/z 776.319 3 与 m/z 735.330 1, m/z 735.330 1 与 m/z 694.342 6 相比均相差 40.985(± 0.003), 考虑到碎片为双电荷离子,即在结构上相差 81.970, 推测是甲磺酸基团上的 C—S 键断裂,中性丢失一分子 H₂SO₃, 此种断裂方式文献^[14]中已有报道,

主要是通过五元环过渡态发生重排反应形成了亚胺结构。相似的裂解方式也存在于含有磺酸基团的结构中,通过六元环过渡态发生重排反应而断裂^[15];此外,发现 m/z 858.291 4 与 m/z 811.306 6, m/z 817.304 4 与 m/z 770.317 3, m/z 776.319 3 与 m/z 729.329 9, m/z 735.330 1 与 m/z 688.342 7, m/z 729.329 9 与 m/z 682.344 2 相比均相差 46.986(± 0.001), 因为碎片为双电荷离子,所以质量相差 93.972, 推测是甲磺酸基团上亚甲基与相连的仲胺发生 C—N 键断裂,中性丢失 CH₂SO₃。该中性丢失可能是环状结构,其形成的原因可能是亚甲基碳原子连有 2 个吸电子基团,带有部分正电荷,容易被甲



注:a. 二甲磺酸多黏菌素 E₂; b. 三甲磺酸多黏菌素 E₂; c. 四甲磺酸多黏菌素 E₂;

d. 五甲磺酸多黏菌素 E₂; e. 六甲磺酸多黏菌素 E₂

图3 不同数目甲磺酸基团取代的多黏菌素 E₂[M-2H]²⁻ 离子的 ESI-MS² 谱图

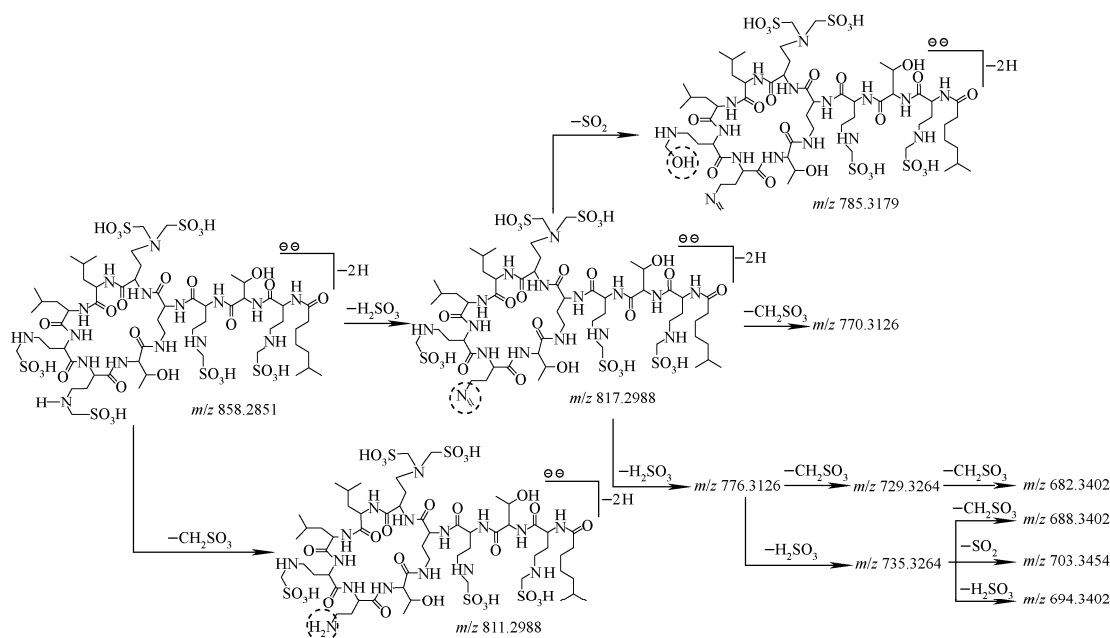
Fig. 3 ESI-MS² of [M-2H]²⁻ ions of colistin B with different numbers of methanesulfonic acid groups

磺酸羟基进攻而形成环氧结构。这种断裂方式与 Bianco 等^[16]报道的硫代葡萄糖苷的断裂方式类似。除以上两种裂解方式外,还发现 m/z 817.304 4 与 m/z 785.322 5, m/z 735.330 1 与 m/z 703.348 3 相比相差 31.980 (± 0.001), 因为碎片为双电荷离子, 所以质量相差 63.960, 推测为磺酸基上羟基迁移造成中性丢失一分子 SO_2 。Ben-Ari 等^[17]在 2005 年曾报道苯磺酸类结构在 CID 中可以发生二氧化硫的丢失; 2008 年, Sun 等^[18]报道了芳基磺酸类结构在负离子模式下可以通过重排发生二氧化硫的中性丢失。因此, 甲磺酸多黏菌素 E₂ 中性丢失 SO_2 可能也是通过这种重排消除的方式发生的, 其裂解途径示于图 4 (断裂过程图只以分子离子的其中一种可能取代情况发生断裂的过程示意, 后文相同)。

五甲磺酸多黏菌素 E₂ 的准分子离子 $[\text{M}-2\text{H}]^{2-}$ 为 m/z 811.296, 通过 CID 解离分析, 得到了 m/z 811.295 6、770.313 2、764.313 1、729.331 5、723.331 4、688.344 7、682.351 2 一系列碎片离子(图 3d)。其中 m/z 811.295 6 与 m/z 770.313 2, m/z 770.313 2 与 m/z 729.331 5,

m/z 729.331 5 与 m/z 688.344 7 均相差 40.985 (± 0.003), 如前所述, 推测五甲磺酸多黏菌素 E₂ 是甲磺酸基团上的 C—S 键断裂, 中性丢失 H_2SO_3 ; m/z 811.295 6 与 m/z 764.313 1, m/z 770.313 2 与 m/z 723.331 4, m/z 729.331 5 与 m/z 682.351 2 均相差 46.986 (± 0.001), 推测是甲磺酸基团上亚甲基与相连的仲胺发生 C—N 键断裂, 中性丢失 CH_2SO_3 。

四甲磺酸多黏菌素 E₂ 的准分子离子 $[\text{M}-2\text{H}]^{2-}$ 为 m/z 764.312, 通过 CID 解离分析, 得到了 m/z 764.312 3、732.331 8、723.325 0、717.326 1、691.344 5、685.343 1、682.338 1、676.339 2、670.334 8、635.353 2、629.352 0 一系列碎片离子(图 3c)。其中 m/z 764.312 3 与 m/z 723.325 0, m/z 732.331 8 与 m/z 691.344 5, m/z 723.325 0 与 m/z 682.338 1, m/z 676.339 2 与 m/z 635.353 2, m/z 670.334 8 与 m/z 629.352 0 均相差 40.985 (± 0.003), 如前所述, 推测是甲磺酸基团上的 C—S 键断裂, 中性丢失 H_2SO_3 ; m/z 764.312 3 与 m/z 717.326 1, m/z 717.326 1 与 m/z 670.334 8, m/z 732.331 8 与 m/z 685.343 1, m/z 723.325 0 与 m/z 676.339 2 均相



注: 断裂图中质荷比 (m/z) 数值为理论值, 以下同

图 4 六甲磺酸多黏菌素 E₂ 的 $[\text{M}-2\text{H}]^{2-}$ 离子可能的 ESI-MS² 断裂方式

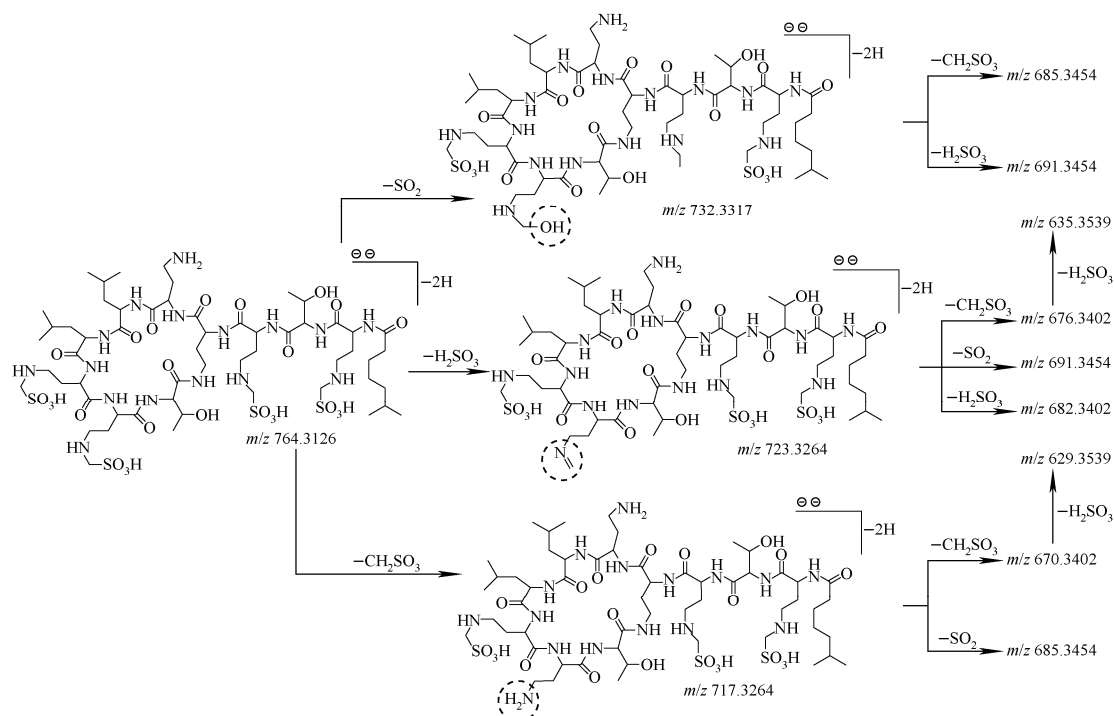
Fig. 4 Proposed fragmentation pathways of $[\text{M}-2\text{H}]^{2-}$ of colistin B with six methanesulfonic acid groups in ESI-MS²

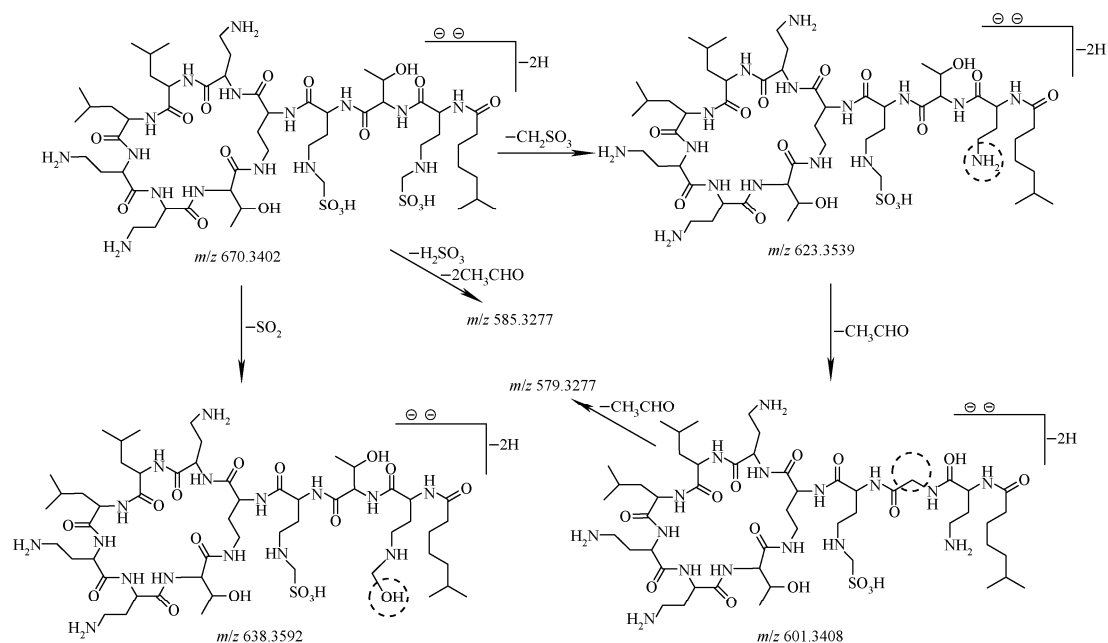
差 46.986(± 0.001),与六甲磺酸多黏菌素 E₂ 类似,推测是甲磺酸基团上亚甲基与相连的仲胺发生 C—N 键断裂,中性丢失 CH₂SO₃; m/z 764.312 3 与 m/z 732.331 8 相差 31.980 (± 0.001),推测为磺酸基上羟基迁移导致中性丢失一分子 SO₂,可能的裂解途径示于图 5。

三甲磺酸多黏菌素 E₂ 的准分子离子 $[M-2H]^{2-}$ 为 m/z 717.327,通过 CID 解离产生的碎片离子相对较少,得到了 m/z 717.326 7、685.345 6、676.341 9、670.339 0 碎片离子(图 3b)。其中 m/z 717.326 7 与 m/z 676.341 9 相差 40.985(± 0.003),推测是甲磺酸基团上的 C—S 键断裂,中性丢失 H₂SO₃; m/z 717.326 7 与 m/z 670.339 0 相差 46.986(± 0.001),推测是甲磺酸基团上亚甲基与相连的仲胺发生 C—N 键断裂,中性丢失 CH₂SO₃; m/z 717.326 7 与 m/z 685.345 6 相差 31.980(± 0.001),推测为磺酸基上羟基迁移导致中性丢失一分子 SO₂。

二甲磺酸多黏菌素 E₂ 的准分子离子 $[M-$

2H]²⁻ 为 m/z 670.344,通过 CID 解离分析,得到了 m/z 670.343 9、638.358 5、623.354 2、601.342 2、585.328 8、579.330 5 等碎片离子(图 3a)。其中, m/z 670.343 9 与 m/z 623.354 2 相差 46.986(± 0.001),推测是甲磺酸基团上亚甲基与相连的仲胺发生 C—N 键断裂,中性丢失 CH₂SO₃; m/z 670.343 9 与 m/z 638.358 5 相差 31.980(± 0.001),推测为磺酸基上羟基迁移导致中性丢失一分子 SO₂; m/z 623.354 2 与 m/z 601.342 2、 m/z 601.342 2 与 m/z 579.330 5 相差 22.013(± 0.001),双电荷情况下即分子量相差 44.026,推测为羟基 α 位 C—C 键断裂导致中性丢失一分子 CH₃CHO;甲磺酸多黏菌素 E₂ 含有 2 个苏氨酸片段,在 CID 中也会发生中性丢失乙醛,其消除机理是通过形成六元环过渡态发生的,该机理在 Wang 等^[19-20] 文献中已报道。 m/z 670.343 9 与 m/z 585.328 8 相差 85.015,推测为准分子离子 $[M-2H]^{2-}$ 中性丢失一分子 H₂SO₃ 和二分子 CH₃CHO 产生的碎片,可能的裂解途径示于图 6。



图6 二甲磺酸多黏菌素 E₂ 的[M-2H]²⁻ 离子可能的 ESI-MS² 断裂方式Fig. 6 Proposed fragmentation pathways of [M-2H]²⁻ of colistin B with two methanesulfonic acid groups in ESI-MS²

3 结论

本实验采用超高效液相色谱-串联四极杆飞行时间质谱技术对不同数目甲磺酸基团取代的多黏菌素 E₂ 进行了色谱分离以及质谱分析,对前药甲磺酸多黏菌素 E₂ 的色谱和质谱行为进行了研究。在 ESI 负离子模式下,不同数目甲磺酸基团取代的多黏菌素 E₂ 的一级质谱特征信号均为 [M-2H]²⁻。通过分析其二级质谱裂解途径,未发现酰胺键断裂的方式,主要为中性丢失 CH₂SO₃、H₂SO₃、SO₂、CH₃CHO,与文献^[12]报道的 ESI⁺ 质谱裂解明显不同。几种不同数目甲磺酸基团取代的多黏菌素 E₂ 的质谱裂解方式基本类似,但中性丢失的分子略有不同,这与甲磺酸基团取代数目有关。当甲磺酸基团取代个数较多时,易发生 C-S 键和 C-N 键断裂,以中性丢失 H₂SO₃、CH₂SO₃ 和 SO₂ 为主;当甲磺酸基团取代个数较少时,可发生 C-C 键断裂,出现中性丢失 CH₃CHO 的情况,且以中性丢失 SO₂ 和 CH₃CHO 为主。此实验可为进一步研究甲磺酸多黏菌素 E₂ 及结构类似物质的质谱裂解规律提供基础,对甲磺酸多黏菌素 E₂ 的快速筛选鉴别、定量分析和药动学研究有参考价值。

致谢:感谢正大天晴药业集团股份有限公司为本研究提供的甲磺酸多黏菌素 E₂ 原料药。

参考文献:

- [1] SATLIN M J, JENKINS S G. 151-Polymyxins[J]. Infectious Diseases, 2017, (2): 1 285-1 288.
- [2] 王秀娜,张会敏,孙坚,等. 多黏菌素耐药 MCR-1: 公共卫生领域的新挑战[J]. 科学通报,2017,62 (10):1 018-1 029.
WANG Xiuna, ZHANG Huimin, SUN Jian, et al. MCR-1 colistin resistance: a new challenge to global public health[J]. Chinese Science Bulletin, 2017, 62(10): 1 018-1 029(in Chinese).
- [3] NATION R L, LI J. Colistin in the 21st century [J]. Current Opinion Infectious Diseases, 2009, 22(6): 535-543.
- [4] SIVANESAN S, ROBERTS K, WANG J P, et al. Pharmacokinetics of the individual major components of polymyxin B and colistin in rats[J]. Journal of Natural Products, 2017, 80(1): 225-229.
- [5] FDA. Colistimethate (marketed as Coly-Mycin M and generic products)[EB/OL]. (2007-06-28) [2013-08-14]. <https://wayback.archive-it.org/7993/20170722190752/https://www.fda.gov/Drugs/DrugSafety/PostmarketDrugSafetyInformati->

- onforPatientsandProv-iders/ucm124896.htm.
- [6] MERCIER T, TISSOT F, GARDIOL C, et al. High-throughput hydrophilic interaction chromatography coupled to tandem mass spectrometry for the optimized quantification of the anti-Gram-negatives antibiotic colistin A/B and its pro-drug colistimethate[J]. *Journal of Chromatography A*, 2014, 1 369(2): 52-63.
- [7] ZHAO M, WU X J, FAN Y X, et al. Development and validation of a UHPLC-MS/MS assay for colistin methanesulphonate (CMS) and colistin in human plasma and urine using weak-cation exchange solid-phase extraction[J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2016, (124): 303-308.
- [8] CHENG C, LIU S R, XIAO D Q, et al. LC-MS/MS method development and validation for the determination of polymyxins and vancomycin in rat plasma[J]. *Journal of Chromatography B*, 2010, 878(28): 2 831-2 838.
- [9] TSAI I L, SUN H Y, CHEN G Y, et al. Simultaneous quantification of antimicrobial agents for multidrug-resistant bacterial infections in human plasma by ultra-high-pressure liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Talanta*, 2013, 116(22): 593-603.
- [10] ZHAO M, CAO Y R, GUO B N, et al. LC-MS/MS determination of colistin in Mueller-Hinton broth for in vitro pharmacodynamic studies[J]. *Journal of Antibiotics*, 2014, 67(12): 825-829.
- [11] MIZUYACHI K, HARA K, WAKAMATSU A, et al. Safety and pharmacokinetic evaluation of intravenous colistin methanesulfonate sodium in Japanese healthy male subjects[J]. *Current Medical Research & Opinion*, 2011, 27(12): 2 261-2 270.
- [12] MA Z, WANG J P, GERBER J P, et al. Determination of colistin in human plasma, urine and other biological samples using LC-MS/MS[J]. *Journal of Chromatography B*, 2008, 862(1/2): 205-212.
- [13] 王光辉,熊少祥. 有机质谱解析[M]. 北京:化学工业出版社,2005.
- [14] JARIWALA F B, WOOD R E, NISHSHANKA U, et al. Formation of the bisulfite anion (HSO_3^- , m/z 81) upon collision-induced dissociation of anions derived from organic sulfonic acids[J]. *Journal of Mass Spectrometry*, 2012, 47(4): 529-538.
- [15] BIALECKI J B, RUZICKA J, WEISBECKER C S, et al. Collision-induced dissociation mass spectra of glucosinolate anions[J]. *Journal of Mass Spectrometry*, 2010, 45(3): 272-283.
- [16] BIANCO G, LELARIO F, BATTISTA F G, et al. Identification of glucosinolates in capers by LC-ESI-hybrid linear ion trap with Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry (LC-ESI-LTQ-FTICR MS) and infrared multiphoton dissociation[J]. *Journal of Mass Spectrometry*, 2012, 47(9): 1 160-1 169.
- [17] BEN-ARI J, ETINGER A, WEISZ A, et al. Hydrogen-shift isomerism: mass spectrometry of isomeric benzenesulfonate and 2-, 3- and 4-dehydrobenzenesulfonic acid anions in the gas phase[J]. *Journal of Mass Spectrometry*, 2005, 40(8): 1 064-1 071.
- [18] SUN M J, DAI W N, LIU D Q. Fragmentation of aromatic sulfonamides in electrospray ionization mass spectrometry: elimination of SO_2 via rearrangement[J]. *Journal of Mass Spectrometry*, 2008, 43(3): 383-393.
- [19] 王慧心. 钠离子化肽在电喷雾质谱低能量碰撞下碎裂规律的研究[D]. 长春:吉林大学,2015.
- [20] WANG H X, WANG B, WEI Z L, et al. Characteristic neutral loss of CH_3CHO from Thr-containing sodium-associated peptides[J]. *Journal of Mass Spectrometry*, 2014, 50(3): 488-494.