

邻苯二甲酸为基质用于基质辅助激光解吸/电离飞行时间质谱测定小分子物质

刘海龙¹, 黄鹤勇²

(1. 南京师范大学生命科学学院, 江苏 南京 210023)
(2. 南京师范大学分析测试中心, 江苏 南京 210023)

[摘要] 以邻苯二甲酸为基质对多巴胺(153.08 Da)进行基质辅助激光解吸/电离飞行时间质谱(MALDI TOF-TOF MS)分析. 结果表明, 邻苯二甲酸作为基质可以有效解吸电离多巴胺, 基质干扰峰明显减少, 产生出了分辨率高、离子信号强、信噪比(S/N)高的质谱图, 不仅准确测定了多巴胺的相对分子质量, 完成了对其定性研究, 还找到了一种适合小分子分析而且来源广泛的基质材料.

[关键词] 基质辅助激光解吸/电离飞行时间质谱, 多巴胺, 基质, 邻苯二甲酸

[中图分类号] O657.63 [文献标志码] A [文章编号] 1001-4616(2013)03-0057-04

Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry Using Phthalic Acid Matrix for Small Molecule Analysis

Liu Hailong¹, Huang Heyong²

(1. School of Life Science, Nanjing Normal University, Nanjing 210023, China)
(2. Analysis and Testing Center, Nanjing Normal University, Nanjing 210023, China)

Abstract: Phthalic acid was studied as matrices for determination of dopamine (153.08 Da) samples by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI TOF-TOF MS) method. This matrix material displayed at least two advantages. First, it was possible to avoid low mass chemical noise arising from the matrix in positive-ion mode. Second, phthalic acid could be used conventionally due to the low cost. The MALDI-TOF-MS analysis of dopamine demonstrated that the matrix material based on phthalic acid yielded spectra with minimal chemical noise and good analysis signal intensity. The present method can be readily applied to obtain the low background noise MALDI-TOF mass spectra of small molecules compounds.

Key words: matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF-TOF MS), dopamine, matrix, Phthalic acid

基质辅助激光解吸质谱法(MALDI MS)自1985年首次被报道以来,由于其灵敏度高、操作简单方便,已经广泛应用于生物大分子以及聚合物的研究中^[1,2]. 然而,因为基质峰的干扰,这种技术目前只能用于大分子量(>1 000 Da)样品的分析^[3]. 应用领域尚未广泛扩展到小分子量(<500 Da)样品的研究中^[4,5]. 为了能够实现MALDI在低分子量端的应用,必须找到一种合适的基质用以提高MALDI的电离效率和分析灵敏度来避免基质峰的干扰. 目前,广泛应用于MALDI的基质主要有 α -氰基-4-羟基肉桂酸(CHCA)和2,5-二羟基苯甲酸(2,5-DHB)的衍生物. 但这两类衍生物作为基质,在低分子量端的基质干扰峰严重影响了目标小分子的研究. 已经有文献报道无机纳米颗粒可用于小分子测量的基质,但纳米颗粒作为基质价格比较昂贵,很难像有机分子一样来源广泛且价格低廉^[6-8]. 最近,我们实验小组发现邻苯二甲酸作为基质可以用作小分子的测量,而且来源广泛,基质干扰峰比较少,是一种用于小分子测量的理想基质.

收稿日期:2013-02-25.
基金项目:江苏省科技基础研究基金(bm2007132).
通讯联系人:刘海龙,助理实验师,研究方向:生物质谱分析. E-mail: lhl7083609@163.com

多巴胺(dopamine, 153.08 Da)作为一种重要的神经递质在生物体的中枢神经系统内发挥着重要的作用,其含量水平与一些常见疾病如帕金森氏症及精神分裂症等都有密切的联系^[9,10]. 因此,在生物体内,多巴胺的定性研究极具生物学意义. 本文以邻苯二甲酸作为基质用于 MALDI 测定多巴胺,取得了良好的实验效果.

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Ultraflexextreme 型基质辅助激光解析电离飞行时间质谱仪(MALDI TOF/TOF 美国 BRUKER 公司). Cary 5000 型紫外/可见/近红外分光光度计(美国,瓦里安公司). 多巴胺(dopamine, 153.08 Da)、邻苯二甲酸(Phthalic acid)、MALDI 基质 α -氰基-4-羟基肉桂酸(CHCA)均购自 Sigma 公司. 水为二次蒸馏去离子水.

1.2 样品制备

将多巴胺样品用二次蒸馏水配制成 20 mmol/L 的溶液. 邻苯二甲酸溶液为水的饱和溶液. CHCA 用 TA85(85:15(*v/v*)乙腈:三氟乙酸 0.1% 水溶液)配制为 0.7 mg/mL 的溶液. 样品和基质各 0.5 μ L 混合均匀后,取 0.5 μ L 混合液滴加到样品靶上,室温干燥后,将样品靶送入离子源进行测定.

1.3 质谱条件

激光器采用 Smartbeam laser,加速电压 25 kV,分子量相对误差值<500 ppm,反射正离子模式检测. 质谱图为 500 次激光扫描的累加图.

2 结果与讨论

2.1 不同基质材料的紫外吸收光谱

图 1 是两种不同基质的 UV-vis 图谱. 由图可见,CHCA 的紫外吸收峰在 327 nm,而邻苯二甲酸在此处也有较强的吸收. 材料的紫外强吸收是其能够作为 MALDI 基质的必要条件. 因为只有在紫外波长范围内有强吸收的物质,才能有效地吸收激光器发出的激光使样品得到解离形成离子,从而使得样品产生较强的峰信号,得到较好的分析物图谱^[11].

2.2 不同基质材料分析多巴胺的质谱图

图 2 中(a)是未加任何基质的多巴胺的质谱图,从图中可以看出该类化合物在不加基质的情况下不能吸收激光并离子化产生分子离子峰,实验中证实的这一点和理论上完全一致. 图(b)和(c)是分别以 CHCA、邻苯二甲酸为基质的多巴胺的质谱图. 在(b)中像 171.94(*S/N*=41.6)、189.95(*S/N*=14.8)、211.96(*S/N*=42.2)等这些非常明显的 CHCA 基质峰以及一些未知的化学噪音峰很明显地干扰了样品分子多巴胺的阳离子峰 154.049^[12];而在图(c)中则只有多巴胺阳离子峰 154.049,以及很少的化学噪音. 与常规基质 CHCA 相比,邻苯二甲酸作为基质明显地减少了基质峰和化学噪音背景的干扰,从而扩大了 MALDI 在低分子量端的应用范围.

3 机理探讨

邻苯二甲酸作为基质测定多巴胺有比较好的效果,可能与它的分子结构密切相关. 与 CHCA 相似,其结构中均存在苯环连接一个羟基(氨基或羧基)从而形成一个新的共轭结构. 这些都有利于增大和增强基质与样品分子的接触面和相互作用,使基质能更全面、均匀地包埋多巴胺,易形成使之解吸电离的基质-样品结晶. 在解吸电离过程中基质和样品更易发生质子转移,使样品离子化. 而邻苯二甲酸与 CHCA 所不同的是它的两个羧基端可能更容易与多巴胺的羟基或者氨基端结合,使其离子化更强.

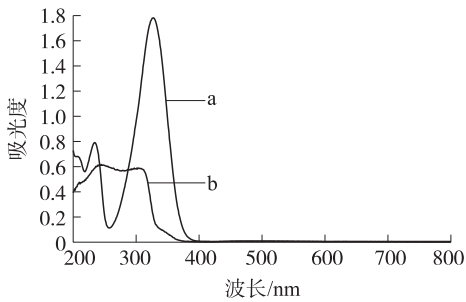


图 1 不同基质材料的 UV-vis 图
Fig. 1 UV-vis spectra of CHCA(a) and Phthalic acid(b)

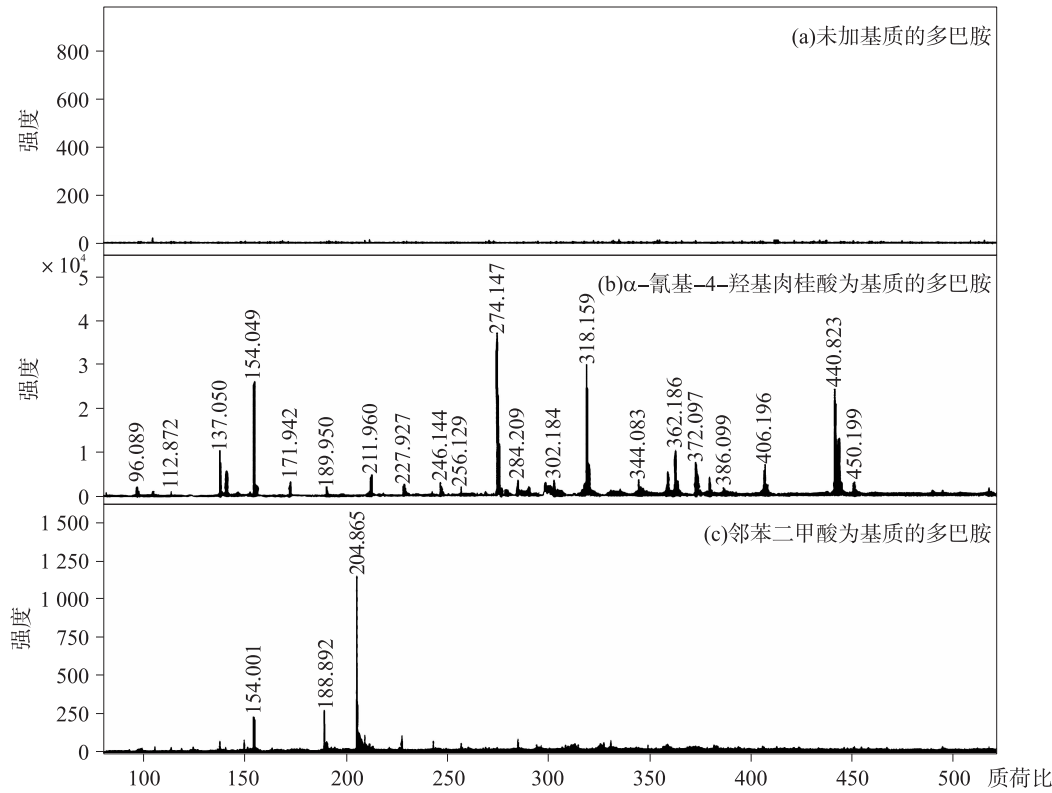


图 2 不同基质条件下的质谱图
Fig. 2 The MALDI mass spectrum of dopamine

4 结论

采用邻苯二甲酸作为基质,利用 MALDI TOF-TOF MS 法对小分子(多巴胺)进行定性研究,与常规基质 CHCA 相比,基质离子干扰比较少,且能够得到信噪比较高的质谱图;邻苯二甲酸来源广泛,价格较低,是一种理想的基质材料,对扩展 MALDI TOF-TOF MS 的应用领域具有很高价值。

[参考文献]

[1] Michael K,Doris B,Franz H. Influence of the wavelength in high irradiance ultraviolet laser desorption mass spectrometry of organic molecules[J]. Anal Chem,1985,57(14) :2 935–2 939.
[2] Tanaka K,Waki H,Ido Y,et al. Protein and polymer analyses up to m/z 100 000 by laser ionization time-of-flight mass spectrometry[J]. Rapid Commun Mass Spectrom,1988,2(8) :151–153.
[3] Karas M, Bahr U, Ingendoh A, et al. Principles and applications of matrix-assisted UV laser desorption/ionization mass spectrometry[J]. Anal Chim Acta,1990,241(2) :175–185.
[4] McCombie G, Knochenmuss R. Small-molecule MALDI using the matrix suppression effect to reduce or eliminate matrix background interferences[J]. Anal Chem,2004,76(17) :4 990–4 997.
[5] Tammy L,Jens O, Dietrich A V. An experimental comparison of electrospray ion-trap and matrix-assisted laser desorption/ionization post-source decay mass spectra for the characterization of small drug molecules[J]. Rapid Commun Mass Spectrom, 2001,15(8) :608–614.
[6] Zhou X S,John J T,Claudia A,et al. Porous silicon as a versatile platform for laser desorption/ionization mass spectrometry [J]. Anal Chem,2001,73(3) :612–619.
[7] Chang S L, Ji H L,Kyoung K K,et al. Laser desorption/ionization-mass spectrometry using mesoporous silicate as matrix for the analysis of various molecules[J]. Biotechnol Bioprocesses Eng,2007,12(2) :174–179.
[8] Chang S L, Kyoung K K, June H K, et al. Analysis of small molecules by desorption/ionization on mesoporous silicate (DIOM) -mass spectrometry(MS) [J]. Microporous Mesoporous Mater,2007,98(1) :200–207.

[9] Kienast T, Heinz A. Dopamine and the diseased brain, CNS neurol[J]. Disord; Drug Targets, 2006, 5(1): 109–131.

[10] Ressler K, Nemeroff C B. Role of serotonergic noradrenergic systems in the pathophysiology of depression and anxiety disorders, depress[J]. Anxiety, 2000, 12(1): 2–19

[11] Conor P M, Sreenivasa R A, Waldemar G, et al. Modified silica-containing matrices towards the MALDI-TOF-MS detection of small molecules[J]. International Journal of Mass Spectrometry Journal, 2011, 308(2/3): 311–315.

[12] Michael D, Andy J T, Hari N. Controlling matrix suppression for matrix-assisted laser desorption/ionization analysis of small molecules[J]. Rapid Commun Mass Spectrom, 2004, 18(17): 1 885–1 888.

[责任编辑:顾晓天]

(上接第 56 页)

[4] 王新军,王慰. 米力农的合成工艺研究[J]. 中国新技术新产品, 2012(21): 145–146.

[5] 黄震华,朱雅琴. 米力农和多巴酚丁胺治疗重度心力衰竭的疗效比较[J]. 中华现代医学与临床, 2007, 6(5): 627–629.

[6] Ozaw A T. Thermal Analysis-review and prospect[J]. Thermochim Acta, 2000, 355: 35– 42.

[7] Peter D. Drug carries in medical and biology[J]. Mol Pharmaceutics, 2004, 1(6): 395–398.

[8] Hiroaki Ohno, Mitsuaki Okumura. Samarium(II)-promoted radical spirocyclization onto an aromatic ring[J]. Org Chem, 2003, 68(20): 7 722–7 732.

[9] Chen Feixiong, Zhou Cairong, Li Guopeng. Study on thermal decomposition and the non-isothermal decomposition kinetics of glyphosate[J]. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 2012, 109: 1 457–1 462.

[10] Wang Shaoxu, Zhao Zhe, Tan Zhicheng, et al. Thermal stability and kinetics of thermal decomposition for protonamid[J]. Acta Physico-Chimica Sinica, 2007, 23(9): 1459.

[11] Nopsiri Chaiyo, Rangson Muanghlua, Surasak Niemcharoen, et al. Non-isothermal kinetics of the thermal decomposition of sodium oxalate Na₂C₂O₄[J]. J Therm Anal Calorim, 2012, 107: 1 023–1 029.

[12] 刘文峰,林木良. 热重法在药品稳定性及预测存放期上的应用[J]. 广东化工, 2004(1): 6–8.

[责任编辑:顾晓天]