

大分子对基体辅助激光质谱中基体的光谱影响*

邵伟艳 祝亚非 颜星中 黎军 钟世舟**

(中山大学测试中心, 广州510275)

摘要 紫杉醇 (Taxol) 等天然大分子加入基体辅助激光解吸电离飞行时间质谱 (MALDI-TOF-MS) 的基体溶液中, 基体的吸收光谱没有峰移, 但某些吸收带的吸光度却随大分子的大小, 溶剂体系的改变而有所变化. 其中 Taxol对基体对硝基苯胺 (PNA) 的吸收光谱影响最大, $\Delta\lambda$ 达 $6.44 \times 10^{-4} \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$. 表明基体的能量状态没有改变, 其跃迁偶极矩却发生了变化. 这一现象从溶液中分子的簇集倾向及溶剂笼效应得到了解释.

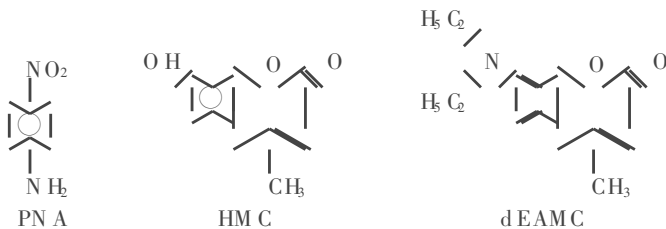
关键词 天然大分子, 基体, 光谱, 分子簇集

分类号 O 629. 61, O 626. 42

有机溶液是一个复杂的系统, 溶质的二聚和多聚, 以及溶剂笼效应等早为人们所熟悉^[1]. 基体辅助激光解吸电离飞行时间质谱 (MALDI-TOF-MS) 技术, 主要用于测量蛋白质及多肽等生物大分子的相对分子质量^[2]. 为了探讨 MALDI-TOF-MS中基体所起的特殊作用和激光解吸电离的机制, 以及溶液体系的基本物理化学行为, 本工作研究了光活性天然大分子对几种基体 (对硝基苯胺等) 光谱的影响. 发现加入天然大分子能增强基体的吸收和发射光谱的谱带强度, 但吸收峰和发射峰没有发生位移. 即可增加基体在质谱中对激光的吸收强度, 从而增强待测大分子的离子丰度, 提高其测定的灵敏度. 这可由溶液系统中分子的簇集倾向和溶剂笼效应解释.

1 材料与方法

天然大分子: 抗癌药 Taxol (I), Taxayuntin F (II), 10-deacetyl-7-epi-taxol (III), 均是云南红豆杉树皮中的提取物. 水稻 CPSLO-1 叶片的 DNA, 中山大学生命科学院分子遗传室提供. 基体 PNA, HMC, dEAMC, AR试剂, 使用前经重结晶. 岛津 UV240 (日本) 紫外可见分光光度计, RF500荧光光度计.



在 MeCN/H₂O 溶剂中, 分别将 $2.34 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 DNA $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 加到 PNA $5.8 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 基体中, 记录基体和大分子加入到基体中的紫外可见光谱和荧光光谱

* 收稿日期: 1998-01-05 邵伟艳, 女, 24岁, 研究生 ** 通讯联系人

(表 1).

同样按表 1 的设计记录大分子加入到 HMC 和 dEAMC 的 MeCN/H₂O 和乙醇溶剂中的紫外光谱 (表 2).

表 1 在 MeCN/H₂O 溶剂中大分子对 PNA 的紫外-可见光谱和荧光光谱的影响Tab. 1 Effect of natural macromolecules on the UV-Vis and FL spectra of PNA in MeCN/H₂O solvent system

化合物	<i>A</i>	λ_{\max} nm	$\frac{X_{\max} \times 10^{-3}}{(L \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1})}$	λ_{em} nm	λ_{ex} nm
PNA	0.427	378	7.356	342.6, 420.8, 425.6, 430.8	582.3, 606.9, 590.5
PNA+ I	0.800	378	13.80	342.6, 422.0, 426.4, 433.6	594.6, 611.0, 586.4
PNA+ DNA	0.505	378	8.708	350.0, 433.3, 440.5, 447.6, 452.4	

表 2 在 MeCN/H₂O 和乙醇系统中大分子对 HMC 和 dEAMC 的紫外光谱影响Tab. 2 Effect of natural macromolecules on the UV-Vis spectra of HMC and dEAMC in MeCN/H₂O and EtOH solvent systems

系统	化合物	<i>A</i> _{max}	λ_{\max} nm	$\frac{X_{\max} \times 10^{-3}}{(L \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1})}$	<i>A</i> ₂	λ_2 nm	$\frac{X_2 \times 10^{-3}}{(L \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1})}$
MeCN ¹⁾ H ₂ O	HMC	2.040	322	8.980	0.813	370	3.580
	HMC+ I	2.040	322	8.980	1.067	370	4.690
	dEAMC	2.880	362	16.94	0.480	265	2.824
	dEAMC+ I	2.899	362	17.03	0.550	265	3.228
EtOH ²⁾	HMC	0.160	325	17.60	0.076	284	8.360
	HMC+ II	0.155	325	17.05	0.053	270	5.800
	HMC+ III	0.155	325	17.05			

1) $c(\text{HMC}) = 22.72 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; $c(\text{dEAMC}) = 22.72 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; $c(\text{I}) = 1.172 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; 2) $c(\text{HMC}) = 9.09 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$; $c(\text{II}) = 1.972 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; $c(\text{III}) = 2.542 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$

2 结果与讨论

从表 1, 2 看出, 相同浓度的基体溶液加入不同旋光性天然大分子后, 吸收和发射光谱的峰位置并没有发生改变, 而某些波段的吸收强度却发生变化. 表明旋光性大分子的加入没有影响基体的能量状态, 却改变了电子的跃迁几率, 也就是光谱的振子强度和跃迁偶极矩发生变化^[3].

2.1 大分子物质对 PNA 的光谱影响 以 MeCN/H₂O 为溶剂的 PNA 溶液中加入 I 和 DNA 后, PNA 的 UV-Vis 光谱的 *A* 有不同程度的增大, 加入 I 后 *A* 由 0.427 增加到 0.800, 加入 DNA 后 *A* 增加到 0.505. 这是由于 H₂O 和 MeCN 互溶度很大, 混合溶剂中存在类似纯水的簇集结构, 整个体系由有序结合的整齐晶格区和通过氢键形成的无序排列区组成^[4]. 由于偶极-偶极相互作用, PNA 在该体系中呈现较为有序的状态. 加入大分子物质后, 破坏了整个溶液体系的有序性, H₂O 和 MeCN 将以不同比例重新参与 DNA 和 I 的选择性溶剂化作用. PNA 也会与 DNA+I 作用, 但化合物的 λ_{\max} 并没有发生改变, 即二者的相互作用没有改变 $\pi\pi^*$, $n\pi^*$ 跃迁的能级大小, 也没有发生电荷转移跃迁, 这样 PNA 只能作为溶剂化层的一部分参与大分子的溶剂化, 破坏了整个溶液原来的有序结构, 无序性增加. 在 PNA+DNA 和 PNA+I 的 2 个体系中, 由于 DNA 分子比 I 大, 前一体系溶剂化层中 PNA

的数量比后一体系的多,其无序性增大程度比后一体系的小,所以加入 DNA 对 A 的影响比加入 I 的小,即加入 I 后 A 增大程度比加入 DNA 为大。

荧光发射光谱与紫外可见光谱的变化特点一致。加入 I 后荧光强度增大,但加入 DNA 后发射光谱峰明显裂分为四重峰,说明生物大分子对基体的光谱行为有较为特殊的影响,有待进一步的探讨。

2.2 I 对基体 HMC 和 dEAMC 吸收光谱的影响 I 使 HMC 的吸收增大程度比 dEAMC 强(见表 2)。由于 HMC 分子中有 1 个 OH, MeCN/H₂O 体系对它的选择性溶剂化作用较大,即溶剂笼作用较大。加入 I 后,同样破坏了原来溶剂体系的结构。基体 MeCN 和 H₂O 又参与 I 的溶剂化,由于 I 的 M 较小,溶剂化层中的 HMC 也较少,所以溶液中 HMC 的混乱度明显增加,引起它的 $n\pi^*$ 跃迁几率相应增大。而 dEAMC 极性较小,其溶剂笼基本由 MeCN 构成,当加入 I 后,它有可能与 I 的疏水部分发生憎水缔合,形成了某种簇集结构。此时整个溶液中基体的有序性变化不大,因而吸光度也变化不大。

2.3 不同溶剂体系和天然大分子的加入对基体吸收光谱的影响 用乙醇为溶剂后,加入紫杉醇类物质使 A 减小 ($\Delta A = 0.023$),且苯环的 B 带发生小的蓝移 ($\Delta\lambda = 14 \text{ nm}$)。这是由于乙醇不像水那样有很好的簇集结构,对 HMC 就不能形成很强的笼效应,因而在乙醇溶液中基体的有序性不高,当加入大分子 II 或 III 后,乙醇和香豆素都参与其溶剂化作用,溶剂化层中的香豆素有序性增加,导致整个溶液中香豆素有序性增加,使 A 下降,且发生蓝移。同样,用乙醇/H₂O ($V(\text{乙醇}):V(\text{H}_2\text{O})$ 为 1:1) 溶剂时,加入 I,基体 A 的变化情况和 MeCN/H₂O 类似,均能引起 A 增大。由此可见 2 种溶剂体系对基体有相似的作用。

参 考 文 献

- 1 Jang X K, Ji G Z. Shape and aggregating tendency. The aggregating behavior of eight esters of eight-carbon carboxylic acid. *J Am Chem*, 1995, 117: 12679
- 2 Karas M, Hillenkamp F. Laser desorption ionization of protons with molecular masses exceeding 10 000 Daltons. *Anal Chem*, 1988, 60: 2299
- 3 Turro N J. 现代分子光化学. 姚绍明等译. 北京: 科学出版社, 1987. 83~ 168
- 4 Horne R A. Survey of progress in chemistry. 1968. 1

The Effect of Natural Macromolecules on the Spectra of MALDI-TOF-MS Matrixes

Shao Weiyan* Zhu Yafei Yan Xingzhong Li Jun Zhong Shizhou

Abstract The UV-Visible and fluorescent spectra of some matrix solutions with natural macromolecules had no shift, while absorption of some bands in these spectra increased or decreased along with the size of the macromolecule, and the change of solvent system. It was preliminarily intergreted with the aggregating tendency of matrixes and solvent cage effect in the solution.

Keywords natural macromolecule, matrix, spectrum molecular aggregation

* Instrumentation Analysis & Research Center, Zhongshan University, Guangzhou 510275, China