

# 肌苷的碱基 N<sup>1</sup>-位糖基化衍生物的 基质辅助激光解吸飞行时间质谱研究\*

张建伟 闵吉梅 关 注 张礼和\*

(北京医科大学药学院 北京 100083)

彭嘉柔 孙徐林

(北京医科大学医药卫生分析中心 北京 100083)

**[摘要]** 环腺苷二磷酸核糖(cADPR)是一种重要的核苷酸衍生物,最近广泛地研究报道 cADPR 是 Ca<sup>2+</sup> 释放的激活剂。本文对 cADPR 的重要中间体肌苷的碱基 N<sup>1</sup>-位糖基化衍生物进行了基质辅助激光解吸飞行时间质谱测定,证明了所合成核苷化合物的正确性,相对误差小于 0.1%。

**关键词:** 肌苷 N<sup>1</sup>-核糖肌苷 基质辅助激光解吸飞行时间质谱

基质辅助激光解吸电离等新的解吸电离技术的发展使质谱在许多种类化合物的分析方面有了重大突破<sup>[1]</sup>。已越来越广泛地应用在蛋白质、多肽、核酸<sup>[2,3]</sup>、低聚糖等的研究。基质辅助激光解吸飞行时间质谱(MALDI-TOFMS)可测量的质量范围宽,灵敏度极高,仅需 fmol- pmol 样品量即可获得谱图,分析时间短,以质子化的分子离子占优势,谱图易于解析。

环腺苷二磷酸核糖(cADPR)是近来发现的一类内源性的活性物质,最近广泛地研究报道 cADPR 是 Ca<sup>2+</sup> 释放的激活剂,因而 cADPR 做为重要的核苷酸衍生物引起了人们极大的关注<sup>[4]</sup>。我们对做为 cADPR 的重要中间体肌苷的碱基 N<sup>1</sup>-位核糖基化衍生物进行了合成,除了得到目的物外,还得到了 N<sup>1</sup>-位酰基化产物。采用 FABMS 进行分子量测定时,由于 N<sup>1</sup>-位酰键易断裂,得不到分子量信息,无法对所合成的化合物的结构得出正确的判断。将基质辅助激光解吸飞行时间质谱应用在肌苷碱基 N<sup>1</sup>-位取代的衍生物分子量测定上得到了较满意的结果,证明了所合成核苷化合物的正确性。

1998—09—17 收

\* 国家自然科学基金资助项目(29632060)

\*\* 联系人

## 1 实验部分

### 1.1 试剂

#### 1.1.1 样品来源

4 个样品均由本实验室自己合成

#### 1.1.2 基质

芥子酸 Sinapinic acid, 采用 HP 公司标准溶液

#### 1.1.3 质量校正标准

HP—G2052 蛋白标准样品

### 1.2 样品制备

约 0.1mg 核苷样品溶于 100 $\mu$ l 的高纯甲醇中, 配制成溶液, 取 5 $\mu$ l 与等体积基质溶液混匀, 取约 1 $\mu$ l 加到进样靶心, 真空干燥结晶。

### 1.3 仪器

LD I—1700 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱仪(美国 Linear Scientific 公司), 氮激光器, 波长 337nm, 脉冲宽度 3ns, 30KV 加速电压。激光能量在 1—10 $\mu$ J 范围调节, 质谱图约为 50 次单次扫描的累加。样品测试前仪器用 HP—G2052 蛋白标样作质量校正。

## 2 结果与讨论

化合物结构如图 1, 质谱结果见表 1, 化合物 2 和化合物 3 的 MALDI—TDF 质谱图如图 2 所示, 其中纵坐标为相对丰度(D), 横坐标为质量数。

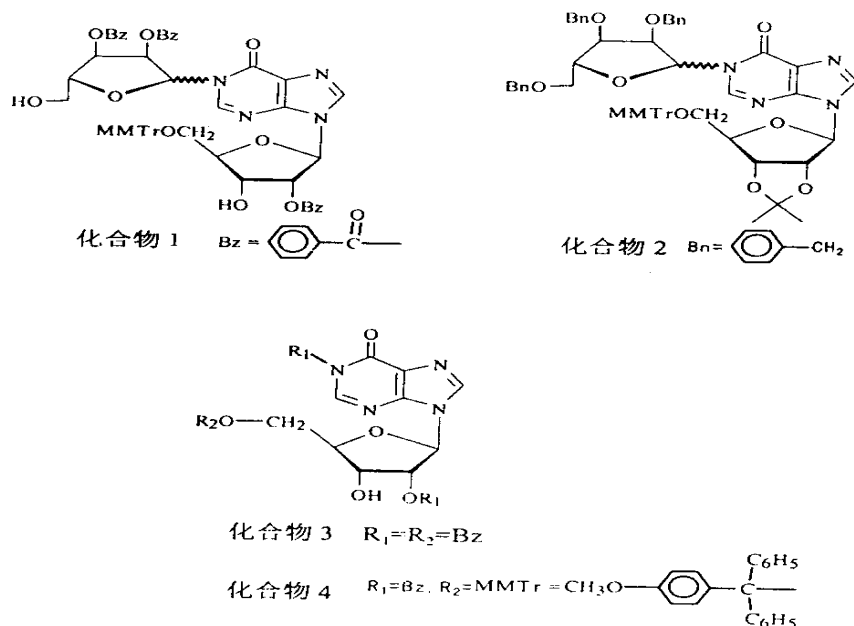


图 1 化合物结构

表 1 化合物质谱数据

| 化合物 | 理论值                    | 测量值  |
|-----|------------------------|------|
| 1   | 1023(M + K)            | 1023 |
|     | 1007(M + Na)           | 1007 |
| 2   | 1965(2M + H)           | 1965 |
|     | 1044(M + K + Na)       | 1044 |
|     | 823(M - 2Bn + Na)      | 823  |
|     | 807(M - BnO - Bn + Na) | 807  |
| 3   | 1222(2M + K + Na)      | 1222 |
|     | 642(M + K + Na)        | 642  |
|     | 580(M)                 | 580  |
| 4   | 1542(2M + 2Na)         | 1542 |
|     | 1519(2M + Na)          | 1520 |
|     | 1497(2M + H)           | 1497 |
|     | 748(M)                 | 748  |

化合物 1 和化合物 2 的 N<sup>1</sup>-位与核糖基成甙, 用 FAB/MS 进行分子量测量得到的是 N<sup>1</sup>-位甙键断裂的碎片峰, 可能是由于甙键不稳定, 在 FAB/MS 测量条件下发生断裂, 因此, 得不到分子量信息。而用基质辅助激光解吸飞行时间质谱进行分子量测量得到了较满意的结果。用基质辅助激光解吸飞行时间质谱一般不易出现碎片峰, 而在化合物 2 中有碎片峰出现, 可能是由于样品浓度小, 使得每个分子所受到的激光辐射强度相对较大所致。裂解峰的出现, 可以提供更多的样品结构或裂解方面的信息, 更进一步证明了化合物 2 的结构正确性。

质谱数据表明此类化合物很容易与 K 或 Na 离子加合。化合物 1 和化合物 2 无分子离子峰出现, 而是以准分子离子峰形式出现。化合物 1 以 1007(M + Na) 和 1023(M + K) 离子峰出现, 化合物 2 以 1044(M + K + Na) 离子峰出现。N<sup>1</sup>-位由酰基取代时可出现分子离子峰。化合物 3 和化合物 4 分别以 580 和 748 分子离子峰出现。

质谱图表明此类化合物在质谱仪中容易发生聚合, 出现二聚体的准离子峰。二聚体的准离子峰化合物 2 为 1965(2M + H), 化合物 3 为 1222(2M + K + Na), 化合物 4 为 1497(2M + H), 1519(2M + Na) 和 1542(2M + 2Na)。

通过以上对质谱数据的分析, 对我们今后解析核苷类化合物正确判断分子离子峰具有重要的帮助。由于二聚体的准离子峰容易出现, 在进行未知物分子量测量时不应把二聚体的准离子峰误认为离子峰, 从而得不出正确的结论。

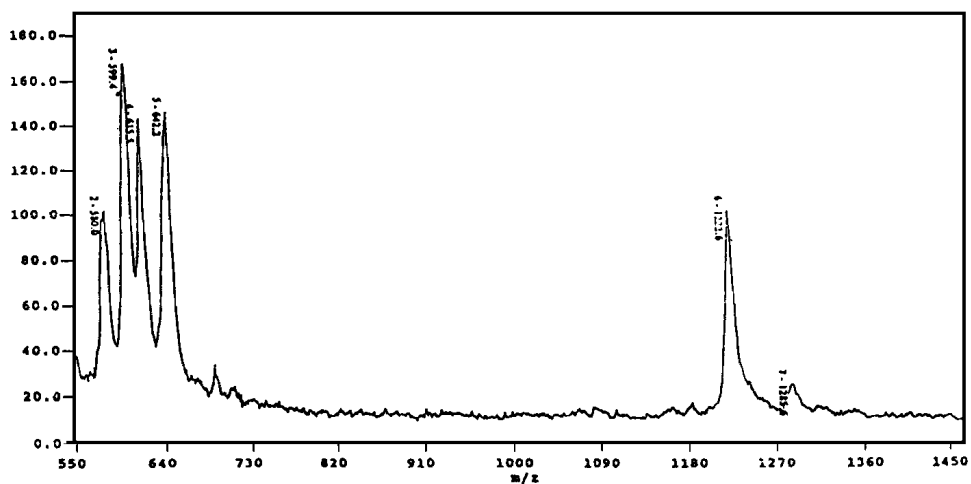
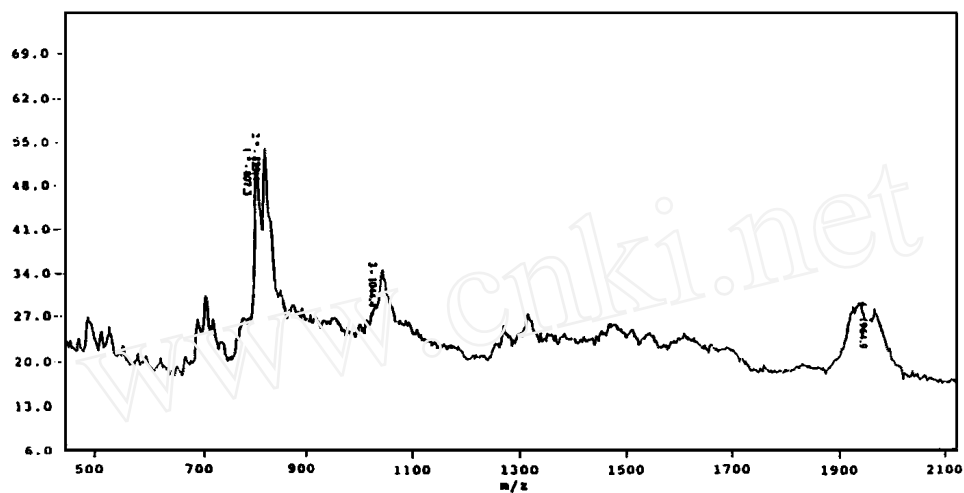


图 2 化合物 2 和化合物 3 的 MALDI-TOF-MS 图

### 参 考 文 献

- 1 彭嘉柔, 孙徐林, 于亭, 彭师奇. 质谱学报, 1997, 18(1), 28
- 2 Mass Spectrometry Reviews 1996, 15, 67
- 3 Anal Chem. 1994, 66, 1637
- 4 Hon Cheung Lee, Elena Zocchi, Lucrezia Guida et al Biochemical and Biophysical Research Communications, 1993, Vol 19, No 2: 639- 645

# The Investigation of MALDI-TOFMS of N<sup>1</sup>-Glycosylinosines

Zhang Jianwei, Min Jinei, Guan Zhu, Zhang Lihong  
(School of Pharmaceutical Sciences, Beijing Medical University,

Beijing 100083, China)

Peng Jiarou, Sun Xulin

(Medical and Healthy Analytical Center, Beijing Medical University,  
Beijing 100083, China)

Received 1998-09-17

## Abstract

Cyclic adenosine diphosphoribose (cADPR), an important derivative of nucleic acids, is a potent calcium releasing agent postulated to be a new second messenger. By the use of laser desorption/ionization mass spectrometry N<sup>1</sup>-glycosylinosines which are an important intermediate of cyclic adenosine diphosphoribose (cADPR) were analyzed with satisfying results. Under laser radiation the fragmentation cause of N<sup>1</sup>-glycosylinosines was discussed.

Key Words: laser desorption/ionization, time-of-flight, N<sup>1</sup>-alkylinosines