

金属血卟啉络合物的 四甲基硅烷/甲烷的化学电离质谱

黄韵萍 张炜 陈培青 胡耀铭 林子森
(复旦大学分析测试中心 上海 200433)

[摘要] 本文以四甲基硅烷/甲烷混合反应气,采用 DEP 技术,测定 12 个金属血卟啉络合物的解吸化学电离质谱。通过分子离子 MH^+ ,加合离子 $(M+73)^+$,以及吡咯环碎片离子可获得丰富的结构信息。

关键词: 金属血卟啉络合物 解吸化学电离质谱 四甲基硅烷 甲烷

金属卟啉络合物遍布于自然界,人与动物所赖以生存的血球蛋白和肌红蛋白,其中就含有铁卟啉络合物;绿色植物所藉以进行光合作用的各种叶绿素,都是镁卟啉衍生物;地壳中石油卟啉的生物标记化合物,则为镍卟啉、钒卟啉、铜卟啉、镓卟啉和锰卟啉等种类繁多的金属卟啉络合物。由于此类金属卟啉络合物在生命科学和能源科学上的重要性,对其结构分析的方法学研究一直是世界上所关注的课题。

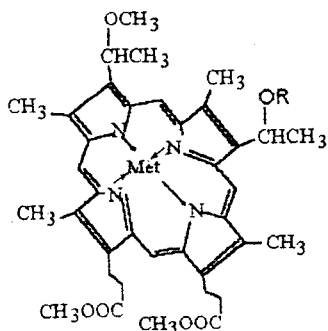


图 1 金属血卟啉络合物的结构式
R=H 或 CH_3
Met=Co, Ni, Cu, Zn, Ag, Al, Hg, Pb

目前,研究卟啉类化合物应用最普遍的是快原子轰击质谱^[1-3]和解吸化学电离质谱^[4,5]两种方法。近年来,激光解吸傅立叶变换质谱^[6]和²⁵²Cf 等离子体解吸质谱^[7]等方法也应用于金属卟啉络合物的结构解析,但尚未普及。然而,由于金属血卟啉络合物挥发度低,热稳定性差,卟啉母核又具有高度共轭结构体系,采用电子轰击或快原子轰击质谱所获得的结构信息很少,而且快原子轰击质谱的碎片离子峰往往被基质所干扰。因此,现常用的质谱方法尚不能取得令人满意的结果。

解吸化学电离质谱在卟啉研究工作中取得了较好的结果,为获得更多的结构信息,仍致力寻找更合适的反应气。在金属卟啉络合物的解吸化学电离质谱研究工作中,Sundaraman 等^[8]首先用氢气化学电离技术,测定了 Cu、Ni、V 等金属卟啉络合物的质谱。本文在原工作基础上,即分别以甲烷和氢气为反应气,采用直接

爆热技术(DEP)测定了 13 个金属血卟啉络合物的质谱^[9],现以四甲基硅烷/甲烷为混合反应气,采用 DEP 技术,测定 12 个金属血卟啉络合物的解吸化学电离质谱。

1 实验部分

1.1 样品

本文采用的实验样品经 NMR、IR、MS 和元素分析确证,其结构式如图 1 所示,其分子结构数据列于表 1。

表 1 金属血卟啉络合物的分子结构数据

NO.	络合物	R	Metal	MW
1	Co-HPTME	CH ₃	Co(I)	711
2	Cu-HPTME	CH ₃	Cu(I)	715
3	Zn-HPTME	CH ₃	Zn(I)	716
4	AlCl-HPTME	CH ₃	Cl-Al(II)	714
5	Pb-HPTME	CH ₃	Pb(I)	860
6	Co-HP	H	Co(I)	697
7	Ni-HP	H	Ni(I)	696
8	Cu-HP	H	Cu(I)	701
9	Zn-HP	H	Zn(I)	702
10	Ag-HP	H	Ag(I)	745
11	Hg-HP	H	Hg(I)	840
12	Pb-HP	H	Pb(I)	846

1.2 测定方法

1.2.1 仪器: Finnigan 4510 型质谱仪。

1.2.2 实验条件: 发射电子能量 40eV, 电子倍增管电压 1230V; DEP 进样杆铼丝电流 0~920mA, 加热速率 50mA/sec; 反应气为四甲基硅烷(TMS)/甲烷(CH₄), 压力比 40.0 Pa/46.7 Pa; 甲烷纯度 99.99%; 四甲基硅烷为核磁参比试剂级(北京化工厂生产)。

1.2.3 实验过程: 先将金属血卟啉络合物样品溶于氯仿, 然后点滴在直接爆热进样器的铼丝上, 待溶剂挥发后, 将点样的进样杆送入预先调整好 TMS/CH₄ 压力比的离子源内, 起动采集系统, 直至进样器铼丝加热到预定温度为止, 采集到的实验数据由 Finnigan IncoS 数据系统处理, 并给出质谱结果。

2 结果与讨论

2.1 混合反应气 TMS/CH₄ 的化学电离质谱的特点

金属血卟啉络合物的 DEP-TMS/CH₄-CIMS 显示[M+1]⁺或[M+73]⁺丰度较高, 图谱简单, 且[M+1]⁺和[M+73]⁺离子峰成对出现; 具有甲烷谱特征峰[M+15]⁺、[M+29]⁺; 分子离子失去中性小分子后再形成加合离子, 或者[M+73]⁺加合离子失去中性小分子 H₂O、CH₃OH 等, 产生拟分子离子, 都便于判断分子量; 在化学电离过程中, 质子

化反应和加合反应是同时进行的竞争反应,相对而言,质子化反应更占优势;进行加合反应的三甲硅基离子 $\text{Me}_3\text{Si}^+(m/z73)$ 具有选择性。

实验结果表明, TMS/CH_4 混合反应气比单纯应用 TMS 反应气有更高的总离子流强度,而单一的四甲基硅烷反应气则不产生 $[\text{M}+73]^+$ 加合离子。与单一应用 CH_4 反应气,由甲烷谱确定分子量的方法相比, $\text{DEP-TMS}/\text{CH}_4$ -CIMS 谱图更显其优越性,可借助 $[\text{M}+1]^+$ 和 $[\text{M}+73]^+$ 的 m/z 相差 72 的成对离子,较容易地定出分子量。

表 2 DEP-TMS/ CH_4 -CIMS 测定的 12 个金属血卟啉络合物的加合离子丰度

NO.	络合物	$[\text{M}+1]^+$	$[\text{M}+\text{CH}_3]^+$	$[\text{M}+\text{C}_2\text{H}_5]^+$	$[\text{M}+\text{C}_3\text{H}_7]^+$	$[\text{M}+\text{Me}_3\text{Si}]^+$
1	Co-HPTME	100	3	—	2	25
2	Cu-HPTME	100	—	2	3	36
3	Zn-HPTME	100	1	2	2	28
4	AlCl-HPTME	—	—	—	—	1
5	Pb-HPTME	1	—	—	—	0.1
6	Co-HP	7	—	—	3	4
7	Ni-HP	30	7	—	10	10
8	Cu-HP	100	10	9	4	38
9	Zn-HP	100	6	4	5	7
10	Ag-HP	—	—	—	—	—
11	Hg-HP	—	—	—	—	—
12	Pb-HP	1	—	—	—	—

根据 12 个金属血卟啉络合物的 DEP-TMS/ CH_4 -CIMS 质谱数据,将实验测得的加合离子的结果汇总于表 2 中。从表 2 可以看出,金属血卟啉络合物的化学电离质谱图中,既具有以 $[\text{M}+1]^+$ 、 $[\text{M}+\text{CH}_3]^+$ 、 $[\text{M}+\text{C}_2\text{H}_5]^+$ 等加合离子为代表的甲烷谱的特征,又具有以和 $[\text{M}+\text{Me}_3\text{Si}]^+$ 加合离子为代表的四甲基硅烷谱的特征。显然 TMS/CH_4 混合反应气兼具质子化反应和基团加合反应双重作用。

相对而言,甲烷是较好的质子源,因其质子亲合能(568kJ/mol)远小于四甲基硅烷(945kJ/mol),有利于络合物的质子化反应;而四甲基硅烷比甲烷具有较低的电离能(Me_3Si 为 944kJ/mol, CH_4 为 1223kJ/mol,相差 279kJ/mol),而且电离后失去 1 个电子的 $\text{Me}_3\text{Si}^{\cdot+}$ 具有进一步失去 1 个甲基的强烈倾向,生成的 Me_3Si^+ 是一个较强的 Lewis 酸,容易与具有孤对电子的氮、氧、硫等杂原子发生 Lewis 酸碱反应,生成基团加合产物 $[\text{M}+73]^+$ 。另据报道, $[\text{Me}_3\text{Si}]^+$ 离子易与源内的水生成 $\text{Me}_3\text{SiOH}_2^+$,是个很好的质子化试剂^[10]。

显而易见,质子化反应和基团加合反应都能提供更多的结构信息。金属血卟啉络合物在离子源内发生质子化反应和氢化反应,致使原先不饱和的母核得到饱和,便会发生 $[\text{M}+n\text{H}]^+$ 离子的裂解,产生较高丰度的单、双、三吡咯环的离子峰,不仅能提供金属血卟啉络合物母核 4 个吡咯环序列的信息,而且可获知各个吡咯环上取代基的性质和位置^[5,11]。

此举克服了常规电子轰击质谱不能提供母核的吡咯环及其取代基结构信息的障碍。

在离子源内,由于三甲硅基离子与金属血卟啉络合物的作用,生成了基团加合离子 $[M+Me_3Si]^+$,使金属血卟啉分子的挥发度有所增加。 Me_3Si^+ 离子进行加合反应时具有较强的选择性^[12]。对于具有多个官能团的化合物,加合反应只发生在最可能的位置(即碱性最强的位置)上。对于不含金属的血卟啉配体 HPTME($R=CH_3$)和 HP($R=H$),被认为碱性最强的位置是在卟啉母核的 4 个氮原子上^[13]。根据质子亲和能的数据,母核外取代

基 $-CH_2CH_2COOCH_3$, $- \overset{CH_3}{\underset{|}{CHOH}}$, $- \overset{CH_3}{\underset{|}{CHOCH}}$ 的碱性都不如母核中的氮原子。但是,对于金属血卟啉络合物来说,情况就大不相同了。当母核中 4 个氮原子和金属有强的螯合作用, Me_3Si^+ 离子在加合反应时就不可能在这 4 个氮原子的位置,而是在金属血卟啉母核外围取代基的氧原子上。而当螯合作用较弱时,则先丢失金属,“游离”的氮原子可能再与 Me_3Si^+ 进行加合。

2.2 金属血卟啉结构与中性丢失行为的关系

失去稳定的中性小分子 H_2O 和 CH_3OH 等是金属血卟啉络合物的 DEP-TMS/ CH_4 -CIMS 谱的一个重要特点。表 3 列出了 12 个金属血卟啉的中性丢失行为。从表 3 可以看出,由于 Met-HPTME 的母核上存在 2 个苄基型甲氧基,在质谱中出现了丢失 CH_3OH 中性小分子的 $[MH+CH_3OH]^+$ 、 $[M+Me_3Si-CH_3OH]^+$ 离子峰;而 Met-HP 的母核上存在 1 个苄基型甲氧基和 1 个活泼羟基,故在质谱中出现失去中性小分子 H_2O 和 CH_3OH 的 $[MH-H_2O]^+$ 、 $[MH-CH_3OH]^+$ 、 $[M+Me_3Si-H_2O]^+$ 、 $[M+Me_3Si-CH_3OH]^+$ 、 $[MH-H_2O-CH_3OH]^+$ 、 $[M+Me_3Si-H_2O-CH_3OH]^+$ 离子峰,而且它们的丰度都不低。此外还有丢失金属的行为 $[MH-Met]^+$ 。这些中性丢失行为不仅与作为配体的卟啉的种类有关,还与金属有关。一般认为分子是先质子化然后中性丢失的。但对于加合离子的中性丢失行为来说,其来源有二:一部分由分子离子失去中性分子 H_2O 、 CH_3OH 等后的初级碎片与 Me_3Si^+ 进行加合;另一部分则来源于加合离子 $[M+Me_3Si]^+$ 失去小分子 H_2O 和 CH_3OH 等。这已从总离子色谱得到证实^[14]。

表 3 12 个金属血卟啉络合物的 DEP-TMS/ CH_4 -CIMS 谱图中的中性丢失行为

No.	络合物	MH-Met	MH-H ₂ O	MH-CH ₃ OH	MH-H ₂ O	M+Me ₃ Si	M+Me ₃ Si	M+Me ₃ Si
					-CH ₃ OH	H ₂ O	-CH ₃ OH	-H ₂ O-CH ₃ OH
1	Co-HPTME	18	—	70	—	—	2	—
2	Cu-HPTME	32	—	50	—	—	3	—
3	Zn-HPTME	2	—	60	—	—	2	—
4	AlCl-HPTME	6	—	—	—	—	—	—
5	Pb-HPTME	4	—	1	—	—	—	—
6	Co-HP	—	69	12	100	7	3	6
7	Ni-HP	—	19	34	18	21	10	42
8	Cu-HP	—	75	31	38	20	4	9
9	Zn-HP	—	78	53	41	8	5	4
10	Ag-HP	20	—	—	—	—	—	—
11	Hg-HP	100	—	—	—	—	—	—
12	Pb-HP	1	—	1	1	—	—	—

注:表中数字表示各种中性丢失后离子的相对丰度

从失去中性小分子的能力来看, Met-HP 样品系列失去 H_2O 和 CH_3OH 的趋势都很强, 不仅 $[\text{MH}-\text{H}_2\text{O}]^+$ 、 $[\text{MH}-\text{CH}_3\text{OH}]^+$ 、 $[\text{M}+\text{Me}_3\text{Si}-\text{H}_2\text{O}]^+$ 、 $[\text{M}+\text{Me}_3\text{Si}-\text{CH}_3\text{OH}]^+$ 离子丰度很高, 而且 $[\text{MH}-\text{H}_2\text{O}-\text{CH}_3\text{OH}]^+$ 、 $[\text{M}+\text{Me}_3\text{Si}-\text{H}_2\text{O}-\text{CH}_3\text{OH}]^+$ 的离子信号也很强。然而, Met-HPTME 样品系列只失去一个 CH_3OH 分子的趋势很强; $[\text{MH}-\text{CH}_3\text{OH}]^+$ 的丰度为 50~70%, $[\text{M}+\text{Me}_3\text{Si}-\text{CH}_3\text{OH}]^+$ 丰度为 2~3%。从质谱图上几乎未观察到 $[\text{MH}-64]^+$ 和 $[\text{M}+\text{Me}_3\text{Si}-64]^+$ 的信号, 所以失去两个 CH_3OH 分子的可能性几乎为零。

从丢失金属的趋势来看, Met-HPTME 比 Met-HP 更易失去 Met。Met-HPTME 的质谱图上可以观察到明显的 $[\text{MH}-\text{Met}]^+$ 的离子峰信号(相对丰度 2~32%), 而 Met-HP 样品系列, 除 Ag、Hg 络合物外, 几乎都未出现 $[\text{MH}-\text{Met}]^+$ 信号。这说明在气相状态下, Met-HPTME 的络合键比 Met-HP 的更易解离, 即配体 HPTME 的络合能力明显小于 HP。

络合金属的不同, 对络合物的质谱行为也有重要影响。根据金属的一些性质(见表 4) 和 $[\text{M}-\text{Met}]^+$ 丰度的高低, 可判断金属丢失的难易程度, 即可知络合能力的大小。对于同处于第三周期的副族元素 Co、Ni、Cu、Zn, 它们的离子半径非常相近, 因而在离子源内的气相反应行为也很相近。由于这些金属的半径较小, 可嵌入配体的处于同一平面内的 4 个 N 的当中, 与之形成螯合物结构, 而且与其中的 2 个 N 之间形成既满足配位数又满足电价的键, 这是一种被称为内配盐的螯合物, 具有特殊的稳定性, 因而在离子源内, 金属 Met 不易失去, 即使是在形成基团加合产物 $[\text{M}+73]^+$ 后, Met 也不易失去, 从质谱图上没有观察到 $[\text{M}+73-\text{Met}]^+$ 的信号。这一点可能表明, 或许加合反应不是发生在 4 个氮原子的位置上, 更可能是发生在母核外围取代基的氧原子上。

表 4 金属元素的一些性质

金属元素	Co	Ni	Cu	Zn	Al	Ag	Hg	Pb
离子半径(pm)	72	70	72	74	50	126	110	120
价电子层结构	$3d^7 4s^2$	$3d^8 4s^2$	$3d^{10} 4s^1$	$3d^{10} 4s^2$	$3s^2 3p^1$	$4d^{10} 5s^1$	$5d^{10} 6s^2$	$6s^2 6p^2$

Al 是主族元素, 没有空的 d 轨道, 而且有轴向配体 Cl 的存在, 使得 $\text{AlCl}-\text{HPTME}$ 的络合物稳定性变差。Ag、Hg、Pb 三种元素的离子半径较大, 不能嵌入配体 4 个氮原子的中心, 而只能在这个氮原子平面的一侧进行配位, 因而金属极易失去, 所以在质谱图上未观察到准分子离子 $[\text{M}+1]^+$ 和加合离子 $[\text{M}+73]^+$ 等。另一方面, 这些不稳定的络合物失去金属后的初级碎片离子, 却仍可发生氢化反应、加合反应和丢失中性小分子, 其质谱行为雷同于配体 HPTME 和 $\text{HP}^{[14]}$ 。

2.3 完整的分子结构信息

金属血卟啉络合物的 DEP-TMS/ CH_4 -CIMS 谱图, 从低质量区到高质量区, 大致可分成: 单、双、三吡咯碎片区, 中性丢失区, 分子离子和加合离子区。据此, 不仅可确定母核外围取代基, 而且可确定母核内 4 个吡咯环序列, 还可确定金属血卟啉络合物分子量等完

整的分子结构信息。

因为 TMS/CH₄ 混合反应气在质谱条件下易形成 Me₃Si⁺ (*m/z*73)、MeSiOH₂⁺ (*m/z*91)、Me₂Si⁺ (*m/z*131)、Me₂SiCH₂⁺ (*m/z*145)、Me₃Si₂⁺ (*m/z*161) 等离子^[10], 往往与单吡咯离子峰 (*m/z* 一般小于 200) 叠合, 为了有效进行重要离子峰的结构解析, 故应用 *m/z* 200 以后的质谱, 从而具有双、三吡咯区和高质量区的离子丰度很强, 可提供更多结构信息的优点。

从总离子色谱图来看, 包括两个明显隔开的离子峰, 其中一个峰, 主要给出单、双、三吡咯碎片离子信息, 另一个峰, 主要给出分子离子和加合离子, 以及丢失中性小分子后的碎片离子信息, 因而可以利用总离子色谱独具不同代表性的两张质谱图来完整解析一个络合物的结构。

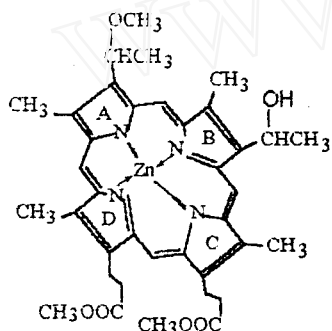
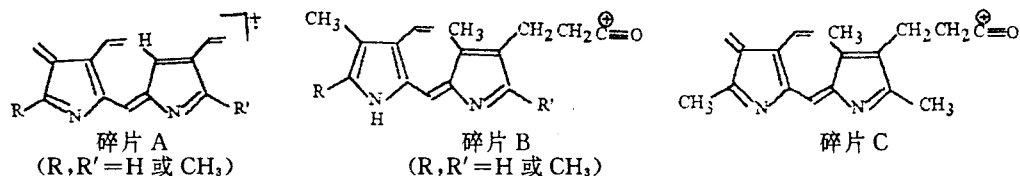


图 2 Zn-HP 的 4 个吡咯环位置的定义

由于质子化剂 CH₄ 和 (CH₃)₃SiOH₂⁺ 的存在, 使金属血卟啉络合物倾向发生质子化反应和氢化反应, 其结果是, 一方面使卟啉核被饱和更容易裂解成单、双、三吡咯碎片离子, 这些高丰度的离子易于确定吡咯环序列; 另一方面, 许多碎片离子加若干个氢以后形成簇状峰 (当然, 在高质量区, 金属同位素的复杂性也是呈现簇状质谱峰的一个原因)。

下面详细讨论 Zn-HP 的 DEP-TMS/CH₄ 的化学电离质谱行为。图 2 给出定义 Zn-HP 的 4 个吡咯环位置序列。Zn-HP 的 DEP-TMS/CH₄-CIMS 谱图如图 3 所示。

图 3a 中, *m/z*208、222、236 对应于双吡咯环碎片 A, 是由 AB 双吡咯环失去靠近中心的 β 位甲基产生的共轭双吡咯特征^[15]。

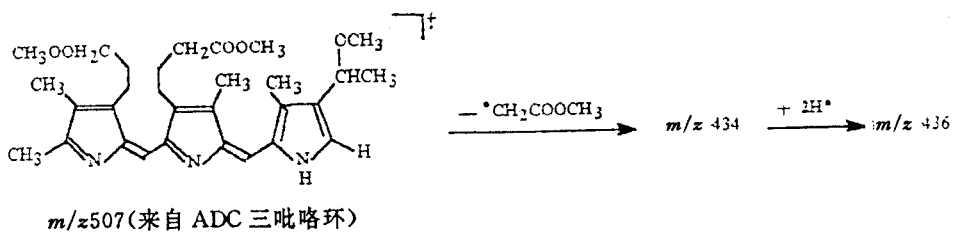


*m/z*253、267、281 对应于双吡咯环碎片 B, 是由 BC 双吡咯环失去中性分子 H₂O 和 CH₃O· 基所成, 或 AD 双吡咯环失去中性分子 CH₃OH 和 CH₃O· 基所成;

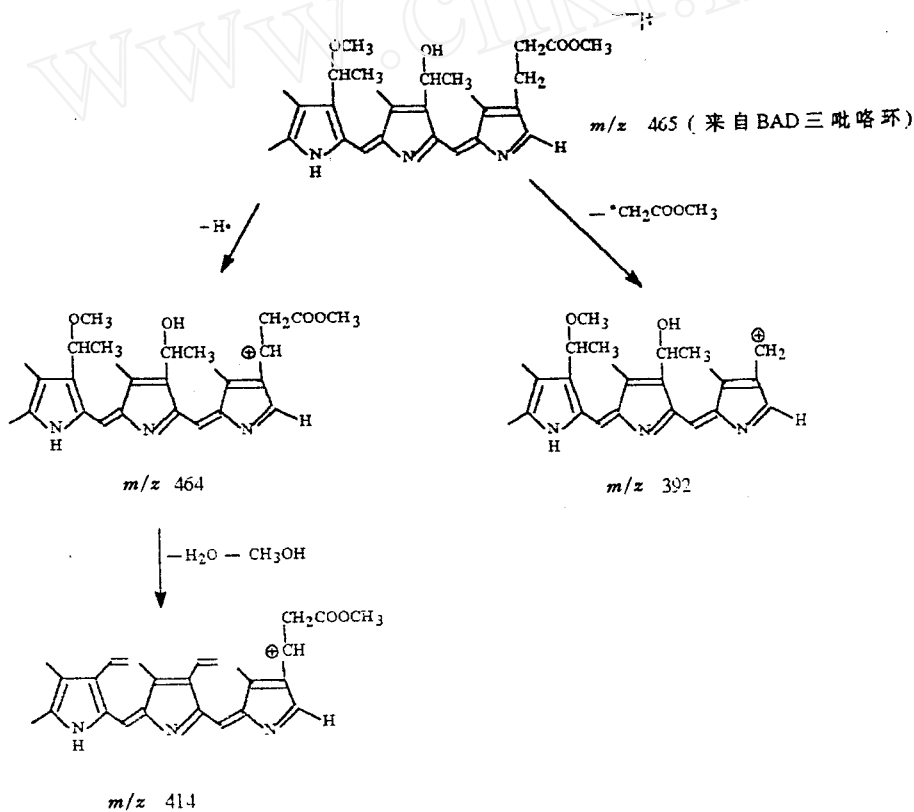
*m/z*279 对应于双吡咯环碎片 C, 是由 BC 或 AD 双吡咯环产生的共轭双吡咯特征离子;

*m/z*352 比较独特, 是分子加 2 个质子后得到的双电荷离子 (M+2H)²⁺ (*m/z* = 704/2);

*m/z*392、414、434、434、464 等是三吡咯环的碎片离子, 其来源分别见式(1)、式(2)。



式(1)



式(2)

由以上对双、三吡咯环的碎片离子的分析,就可以得出 4 个吡咯环的序列的信息。

从图 3b 高质量区,可以看出丰度较强的拟分子离子峰、分子离子峰、准分子离子峰及分子加合离子峰等,将它们的裂解过程表达如式(3)。

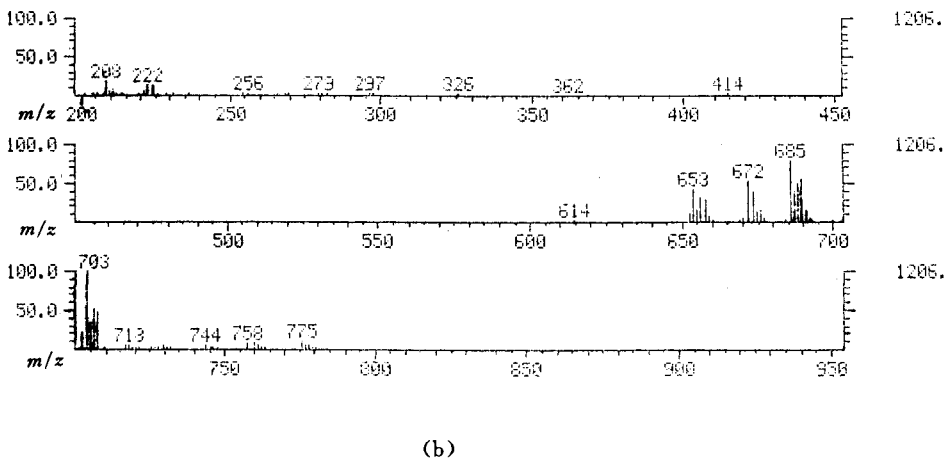
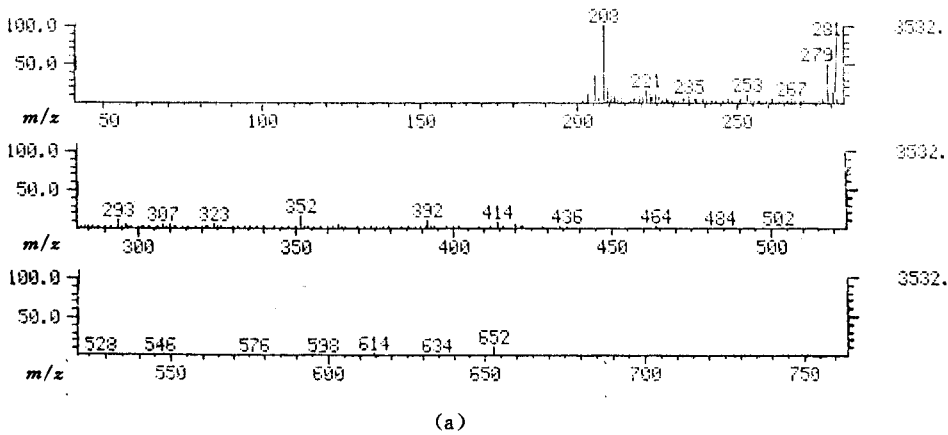
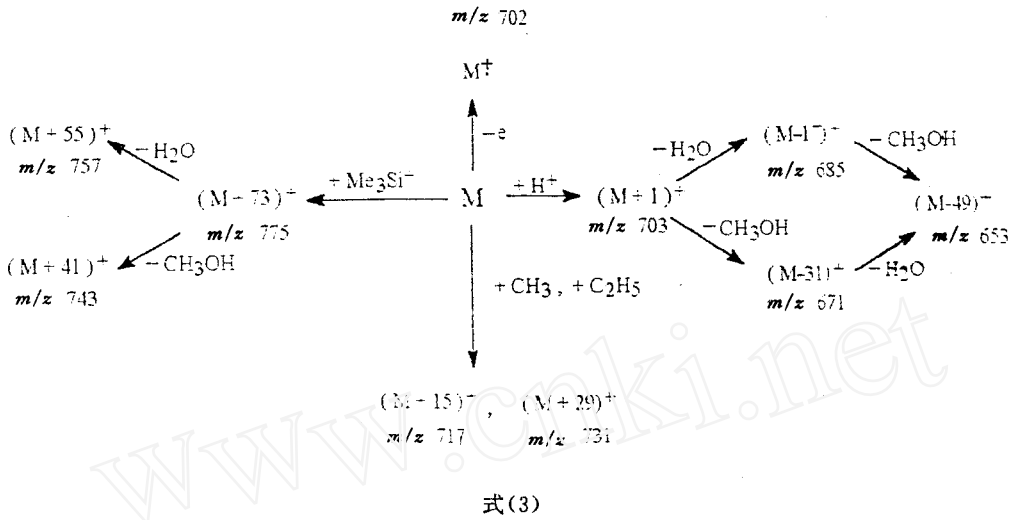


图 3 Zn-HP 的 DEP-TMS/CH₄-CIMS 谱图

本文测定的样品由第二军医大学许德余教授提供,特此致谢。

参 考 文 献

- 1 Zhang Meiyi, Liang Xiyun, Chen Yuyi *et al.* Anal Chem, 1984, 56:2288
- 2 Kurlansik L, Williams T J, Strong J M *et al.* Biomedical Mass Spectrum, 1984, 11(9):475
- 3 Rubino F M, Mascaro P, Banfi S *et al.* Org Mass Spectrum, 1991, 26:161
- 4 Forest E, Marchon J C, Ulrich J *et al.* Inorg Chem, 1986, 25:3570
- 5 Van Berkel G J, Glish G L, McLuckey S A *et al.* J Am Chem Soc, 1989, 111:6027
- 6 Castoro J A, Nuwaysir L M, James C F *et al.* Anal Chem, 1992, 64:2239
- 7 Lindsey J S, Chaudhary T, Chait B T. Anal Chem, 1992, 64:2804
- 8 Sundaraman P *et al.* Anal Chem, 1984, 56:2552
- 9 柴春华. 复旦大学硕士论文, 1990
- 10 Odiorne T J, Harvey D J, Vouros P. J Org Chem, 1973, 38:4274
- 11 Van Berkel G J, Glish G L, McLuckey S A *et al.* Anal Chem, 1990, 62:786
- 12 Stillwell R N, Carroll D I, Nowlin J G *et al.* Anal Chem, 1983, 55:1313
- 13 林子森, 韩百平, 陈培青等. 质谱学报, 1989, 10(1):7
- 14 韩百平. 复旦大学硕士论文, 1989
- 15 Jackson A H, Kenner G W, Budzikiewicz H *et al.* Tetrahedron, 1967, 23:603

DEP-TMS/CH₄-CI Mass Spectrometry of Metallohematoporphyrin Complexes

Huang Yunping, Zhang Wei, Chen Peiqing, Hu Yaoming, Lin Zisen
(Center of Analysis and Measurement, Fudan University, Shanghai 200433, Chian)

Received 1994-05-16

Abstract

Desorption chemical ionization mass spectrometry of twelve metallohematoporphyrin complexes has been investigated under DEP condition using mixture of tetramethylsilane and methane as reagent gas. Much structure information is obtained on the base of the molecular ion MH^+ , the additive ions $[M+73]^+$ and the pyrrolic fragment ions.

Key Words: metallohematoporphyrin complexes, DEP-TMS/CH₄-CI mass spectrometry, tetramethylsilane, methane