

组氨酸钴氧合配合物二聚体形态的电喷雾串联质谱验证研究

付 佩 符继红 李俊芳 岳 凡 张旭龙 王吉德*

(新疆大学化学化工学院, 乌鲁木齐 830046)

摘要: 电喷雾质谱(ESI-MS)是一种软电离质谱技术,已在配合物的结构和机理的研究中显示了重要的作用。本文根据组氨酸钴(CoL_2)(L=组氨酸)对分子氧活性很高,极易生成双核氧合配合物($\text{CoL}_2\text{-O}_2\text{-CoL}_2$)的特点,采用 ESI-MS 方法研究了组氨酸钴氧合物($\text{CoL}_2\text{-O}_2\text{-CoL}_2$)和组氨酸配合物 ML_2 (M=Cu, Zn)。结果发现,质谱图中在相应于双核氧合配合物的高质荷比端($m/z > \text{ML}_2$), CoL_2 出现质谱峰,而组氨酸配合物 ML_2 (M=Cu, Zn)在质谱图中高质荷比端没有出现质谱峰,只有配合物 ML_2 的相关峰;这个结果证明了文献报道中的双核氧合配合物($\text{CoL}_2\text{-O}_2\text{-CoL}_2$)的存在,根据所得质谱结果,初步研究了组氨酸钴双核氧合配合物和 ML_2 配合物的裂解规律。结果表明,可根据质谱数据中有无二聚体形态,做出 Co 配合物有无吸氧性能的初步判断,因此电喷雾质谱(ESI-MS)可做为研究 Co 配合物氧合反应和表征 Co 氧合配合物的有效分析手段。

关键词: 电喷雾串联质谱; 氧载体; 组氨酸; 钴配合物; 二聚体氧合配合物

中图分类号: O614.81⁺2; O629.71; O657.6 文献标识码: A 文章编号: 1001-4861(2012)07-1360-05

Confirmation of Dinuclear Oxygenated Cobalt-Histidine Complex by Electrospray Tandem Mass Spectrometry

FU Pei FU Ji-Hong LI Jun-Fang YUE Fan ZHANG Xu-Long WANG Ji-De*

(College of Chemistry and Chemical Engineering, Xinjiang University, Urumqi 830046, China)

Abstract: ESI-MS is a kind of soft ionization mass spectrometric technique; it has proved to be a very important technique in the investigations on structures and mechanisms of complexes. In this paper a comparison study was conducted on the oxygenated cobalt complex of histidine (L) and copper/zinc complex of histidine in oxygen atmosphere since according to literatures among histidine complexes only histidine cobalt complex has a very high affinity to dioxygen and easily form a dinuclear oxygenated complexes ($\text{CoL}_2\text{-O}_2\text{-CoL}_2$). The ESI-MS results showed that in mass spectrum, the fragment ions corresponding to the dinuclear oxygenated species in higher m/z range ($m/z > \text{ML}_2$) were observed for CoL_2 while for CuL_2 and ZnL_2 only fragment ions corresponding to ML_2 were observed. These results confirmed the dinuclear oxygenated complexes ($\text{CoL}_2\text{-O}_2\text{-CoL}_2$) existed in the CoL_2 complex reported in literature. The possible fragmentation mechanism of CoL_2 was proposed. Results from this study proved that ESI-MS could be used as a method to estimate preliminarily if a Co(II) complex have the ability of uptaking dioxygen or not, and it could be used as an effective technique to research the oxygenation and characterize oxygenated Co(II) complexes.

Key words: electrospray tandem mass spectrometry; oxygen carrier; histidine; cobalt complex; dinuclear oxygenated complexes

收稿日期: 2011-12-20。收修改稿日期: 2012-02-17。

国家自然科学基金(No.20961010, 21162027);教育部高校博士学位点专项科研基金(No.20096501110001)资助项目。

*通讯联系人。E-mail: awangjd@yahoo.com.cn, Tel: 0991-8582807

0 引言

氧载体是一类可逆吸附分子氧的金属配合物^[1]。在室温下,组氨酸钴配合物(CoL_2)(L =组氨酸)的水溶液显示出良好的可逆吸氧性能^[2-3],在氮气和氧气气氛互换过程中,循环次数可达400多次^[4]。已有文献报道在 CoL_2 的氧合反应中,两分子 CoL_2 吸收一分子的 O_2 生成氧合配合物,氧合配合物中 O_2 以过氧或超氧的形态桥联2个 CoL_2 生成二聚体($\text{CoL}_2\text{-O}_2\text{-CoL}_2$)双核配合物^[1,3],但除固体晶体结构外,目前尚无其它可直接测定溶液的方法予以证实。目前研究配合物氧合性能的测试方法主要有紫外可见分光光度法^[5]、pH电位法^[6]、氧电极法^[7]、量气法^[8-9]、伏安法^[10]、电子自旋共振和红外光谱法^[11]等测试手段。本实验室用电喷雾质谱法研究了配合物氧合性能^[12-13],但用电喷雾质谱法进行类似研究还鲜见文献报道。

早在20世纪80年代,Yamashita和Fenn^[14]就证明了电喷雾质谱是分析各种配合物的一项重要技术。目前,采用串联质谱技术分析金属配合物结构的方法已趋于成熟^[15-18],这为本文研究氧合配合物的结构解析提供了依据。本文采用紫外可见光谱法和氧电极法对 CoL_2 、组氨酸铜(CuL_2)和组氨酸锌(ZnL_2)三体系进行了吸氧性能的测试,确认了 CoL_2 有可逆吸氧性能,而 CuL_2 和 ZnL_2 没有吸氧性能。因此认为,吸氧后可生成双核二聚体的 CoL_2 体系与没有吸氧性能的 CuL_2 和 ZnL_2 体系会有不同的质量分布,其质谱图将显示出明显的特异性差异。本文采用电喷雾串联质谱技术,对 CoL_2 氧合配合物和 CuL_2 、 ZnL_2 配合物进行了比较研究,证实了双核 CoL_2 氧合配合物的存在。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

美国Waters公司ACQUITY UPLC system三重四级杆液相色谱质谱/质谱联用仪;日本岛津UV-2450紫外可见光谱仪;德国WTW公司Oxi 315i/SET氧电极;ELGA公司ULTRA ANMK2超纯水仪。组氨酸(His)、醋酸钴($\text{Co}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)、醋酸铜($\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$)、醋酸锌($\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)、氢氧化钠和盐酸均为分析纯,实验用水为 $18.2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$ 超纯水。

1.2 质谱条件

取适量样品溶于超纯水中,在正离子模式下进

行检测。毛细管电压3.5 kV;离子源温度120℃;脱溶剂气温度450℃;脱溶剂气流量 $400 \text{ L} \cdot \text{h}^{-1}$;锥孔气流量 $50 \text{ L} \cdot \text{h}^{-1}$;锥孔电压30 V;流动相乙腈:水(1:1, V/V);流速 $0.2 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$;扫描范围50~900 amu。脱溶剂气、雾化气和锥孔气为氮气,碰撞气为氩气。

1.3 样品制备

分别称取15.5 mg的组氨酸、12.5 mg的醋酸钴 $\text{Co}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 、10.0 mg醋酸铜 $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 和11.0 mg醋酸锌 $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 分别定容到25 mL容量瓶中。用移液枪各移取2.50 mL组氨酸水溶液和2.50 mL醋酸钴水溶液,再用超纯水稀释至10.00 mL,用NaOH稀溶液调节pH=8左右,将2个水溶液缓慢混匀,充分搅拌,于室温下充分反应。 CuL_2 和 ZnL_2 样品合成方法同上。配体组氨酸也调节其pH=8左右测试。本文选取各配合物在氧气中充分吸氧24 h后的样品为研究对象^[12]。

1.4 氧电极法^[19-20]

先将25 mL浓度为 $0.04 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 组氨酸调节pH=2左右,再加入25 mL浓度为 $0.02 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 醋酸钴溶液。用环己烷覆盖溶液的表面,使溶液与空气隔绝,分别用NaOH和HCl调节溶液pH值(pH=2~11),测定体系pH值的同时,用氧电极测定 CoL_2 溶液中的 O_2 含量,绘制pH- $\text{O}_2/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$ 曲线。 CuL_2 和 ZnL_2 检测方法同上。

1.5 紫外可见光谱法^[19-20]

先将25 mL浓度为 $0.8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 组氨酸调节pH=8左右,在氮气保护下,再加入25 mL浓度为 $0.4 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 醋酸钴溶液。利用蠕动泵分别将氮气、氧气条件下的溶液带到比色皿中进行检测。通过观察两条曲线的吸光度值变化来考察氧合作用的可逆性。 CuL_2 和 ZnL_2 检测方法同上。

2 结果与讨论

2.1 紫外可见光谱法

图1中a为 CoL_2 在 N_2/O_2 交换下的光谱图。曲线1是 CoL_2 在 N_2 下的吸收光谱,曲线2是在 O_2 下的吸收光谱。从图中可见,在 O_2 氛围中 CoL_2 吸收了一定的 O_2 ,产生较大吸收值,表明有氧合配合物生成。再对体系充10 min N_2 ,光谱曲线返回到1',重新充 O_2 后,光谱曲线迅速恢复到2',分别与曲线1、2完全重合。结果表明 CoL_2 氧合配合物具有良好的可逆吸氧性能。 CuL_2 如图1中b所示,有配合物生成,但在交换充 N_2/O_2 后光谱无变化,说明 CuL_2 无吸氧

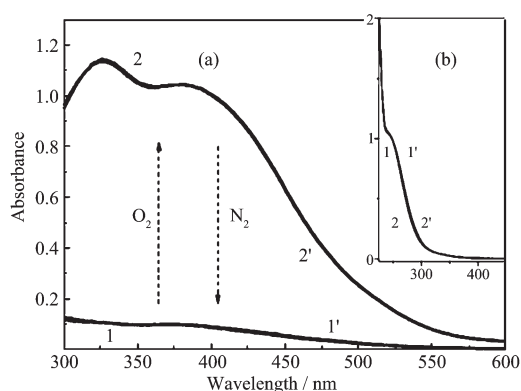
图1 CoL₂ (a)和CuL₂ (b)的 N₂/O₂ 光谱图

Fig.1 Spectrum of CoL₂ (a) and CuL₂ (b) under N₂ and O₂

性能。ZnL₂ 的光谱与 CuL₂ 的光谱结果一致。

2.2 氧电极法

从图2中a可以看出,随pH值从2到11的增大,CoL₂ 溶液中O₂ 含量从pH=6起变化很大,说明O₂ 与CoL₂ 结合生成了氧合配合物,因此溶液中O₂ 含量急剧下降。将pH从11减小到2,得到放氧曲线,吸氧-放氧两条曲线完全重合,说明CoL₂ 有良好的可逆吸氧性能。CuL₂ 氧含量变化曲线如图2中b所示,随pH值变化,溶液中O₂ 浓度没有变化,其吸氧-放氧曲线基本成一条直线。ZnL₂ 的实验结论与CuL₂ 的相同。因此,CoL₂ 具有可逆吸氧性能,而CuL₂ 和ZnL₂ 没有吸氧性能,实验数据与紫外可见光谱法结果完全一致。

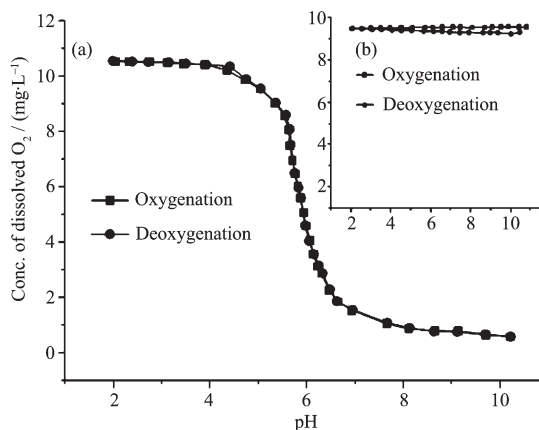
图2 CoL₂(a)和CuL₂(b)溶液中氧含量随pH变化曲线

Fig.2 Relationships between the dissolved dioxygen concentration and the pH value of CoL₂ (a) and CuL₂ (b) solution

2.3 电喷雾质谱法

对不同吸氧时间(如5 min、1、2、12、24、48和72 h等)的CoL₂、CuL₂ 和ZnL₂ 分别进行了质谱测试。结果发现,CoL₂ 在不同的吸氧时间点得到的质谱图是

呈动态变化的^[12],但在吸氧时间为1~24 h时间段得到的质谱图变化不大,主要以氧合形态存在^[4],在质谱高质荷比端得到丰度较高的离子峰。而CuL₂ 和ZnL₂ 在不同吸氧时间得到的各自的谱图基本一致,与吸氧时间的长短没有关系,谱图几乎没有变化。因此,本文选取吸氧24 h后的样品作为研究对象。组氨酸配合物在正离子模式下的峰强度比负离子模式下的峰强度高将近一个数量级,因此,正离子模式更适合组氨酸配合物的质谱研究,具有更高的灵敏度。

2.3.1 组氨酸配体的质谱裂解

组氨酸(L)的分子量为155,图3为组氨酸配体的化学结构式和正离子模式下的全扫描质谱图。碱性条件下的组氨酸产生的一系列碎片离子 m/z 109.77,155.82,177.85,199.86,311.07,333.09和377.03。相应质谱峰分别归属为 $[L+H-HCOOH]^+$ ^[21], $[L+H]^+$, $[L+Na]^+$, $[L-H+2Na]^+$, $[2L+H]^+$, $[2L+Na]^+$ 和 $[3L+H-HCH_2CHNH_2COOH]^+$ 。通过对组氨酸产生的特征碎片离子的分析可以对其结构进行合理和准确的表征,为配合物的结构研究提供了依据。

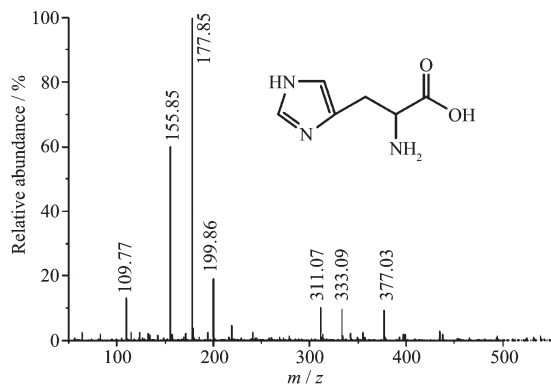


图3 组氨酸配体的化学结构式和全扫描质谱图

Fig.3 Chemical structure and positive ESI fullscan mass spectra of histidine

2.3.2 CoL₂、CuL₂ 和 ZnL₂ 的质谱裂解

图4a、4b和4c分别为CoL₂、CuL₂ 和ZnL₂ 的全扫描质谱图。

从图4a可以看出,在正离子模式下,CoL₂ 产生了一系列碎片离子 m/z 756.83,601.73,389.75,236.72和199.69,相应质谱峰分别归属为 $[Co_2((L-H)_4-2O)_2+Na]^+$, $[Co_2((L-H)_3-HO_2)_2+Na]^+$, $[Co(L-H)_2+Na]^+$, $[Co((L-H)-OH)+H_2O+Na]^+$ 和 $[L-H+2Na]^+$ (表1)。其中 $[Co(L-H)_2+Na]^+$ (m/z 389.75)为CoL₂ 的基峰,是双配体配合物,与文献^[22]中单晶结构报道一致。而质荷比较大的 m/z 756.83和601.73推测为双核氧合配合物,是吸

氧后形成的二聚体氧合形式。 CoL_2 的结构及裂解规律如图 5 所示。

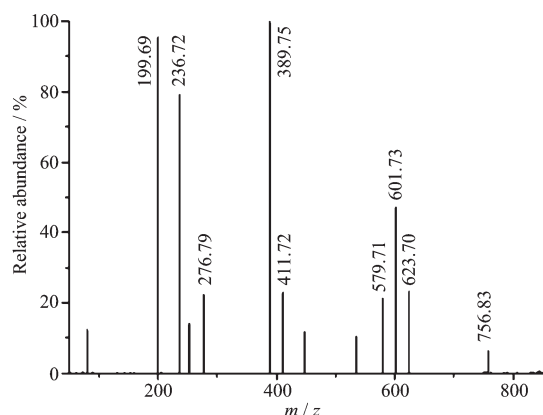


图 4a CoL_2 的全扫描质谱图

Fig.4a Positive ESI fullscan mass spectra of CoL_2

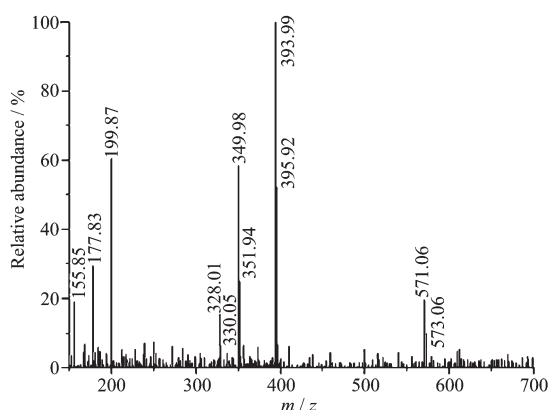


图 4b CuL_2 的全扫描质谱图

Fig.4b Positive ESI fullscan mass spectra of CuL_2

从 CuL_2 (图 4b)和 ZnL_2 (图 4c)的全扫描质谱图可以看出,谱图特征与 CoL_2 谱图相比差异较大,在质谱图的高质荷比端没有出现离子峰,说明没有双核氧合配合物,即无二聚体生成,与 CuL_2 和 ZnL_2 没有吸氧性能的实验结果相符。组成 CuL_2 的铜元素有同位素峰,因此,当碎片中含有一个铜元素时,会出现两峰强度比为 $M/(M+2)$ 为 100%:44.6%的同位素峰,而碎片中含有 2 个铜元素时,会出现三峰强度 $M/$

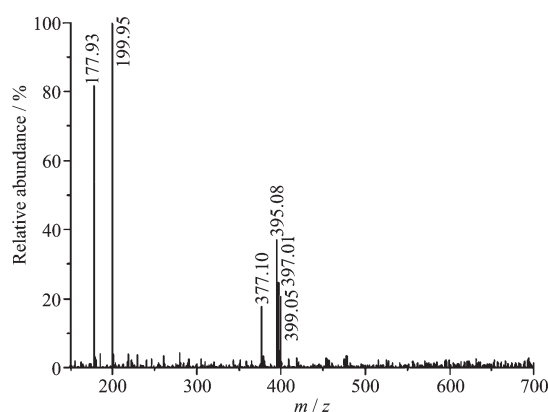


图 4c ZnL_2 的全扫描质谱图

Fig.4c Positive ESI fullscan mass spectra of ZnL_2

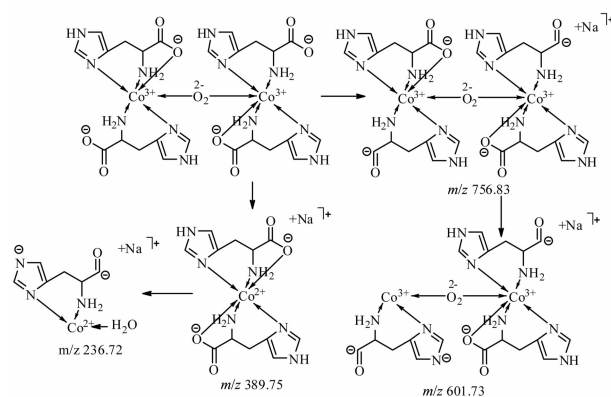


图 5 CoL_2 的裂解机理^[12]

Fig.5 Hypothetical fragmentation pattern of CoL_2

$(M+2)/(M+4)$ 比为 100%:89.1%:19.9%的同位素峰,根据同位素峰的相对强度可以很好的推测碎片离子的元素组成。由此可见图 4b 中 m/z 571.06,393.99,349.98 和 328.01 碎片离子含有一个 Cu 元素,推测其相应结构分别为 $[\text{Cu}(\text{L-H})_3+2\text{Na}]^+$, $[\text{Cu}(\text{L-H})_2+\text{Na}]^+$, $[\text{Cu}(\text{L-H})_2\text{-CO}_2+\text{Na}]^+$ 和 $[\text{Cu}(\text{L-H})_2\text{-CO}_2+\text{H}]^+$ (表 1),其中 $\text{Cu}(\text{L-H})_2$ 的结构形式与文献^[23]中单晶结构报道一致。实验结果表明, CuL_2 氧载体的质谱裂解极易失去中性分子 CO_2 ,从而产生特征峰 m/z 328.01 和 m/z 349.98。碎片离子 m/z 155.85,177.83 和 199.87 为组氨酸配体的离子峰,如图 3 所示。谱图中未出现含有

表 1 正离子模式下配合物 ESI-MS/MS 数据

Table 1 Positive ion ESI-MS/MS data for the complexes

CoL_2 (m/z)	CuL_2 (m/z)	ZnL_2 (m/z)
$[\text{Co}_2((\text{L-H})_4\text{-2O})\text{O}_2+\text{Na}]^+$ 756.83	$[\text{Cu}(\text{L-H})_3+2\text{Na}]^+$ 571.06	$[\text{Zn}(\text{L-H})_2+\text{Na}]^+$ 395.08
$[\text{Co}_2((\text{L-H})_3\text{-HO}_2)\text{O}_2+\text{Na}]^+$ 601.73	$[\text{Cu}(\text{L-H})_2+\text{Na}]^+$ 393.99	$[3\text{L}+\text{H-HCH}_2\text{CHNH}_2\text{COOH}]^+$ 377.10
$[\text{Co}((\text{L-H})\text{-OH})+\text{H}_2\text{O}+\text{Na}]^+$ 389.75	$[\text{Cu}(\text{L-H})_2\text{-CO}_2+\text{Na}]^+$ 349.98	$[\text{L-H}+2\text{Na}]^+$ 199.95
$[\text{Co}((\text{L-H})\text{-OH})+\text{H}_2\text{O}+\text{Na}]^+$ 236.72	$[\text{Cu}(\text{L-H})_2\text{-CO}_2+\text{H}]^+$ 328.01	$[\text{L}+\text{Na}]^+$ 177.93
$[\text{L-H}+2\text{Na}]^+$ 199.69	$[\text{L-H}+2\text{Na}]^+$ 199.87	

2个Cu元素同位素峰,即无氧配合物的二聚体生成。

ZnL₂碎片中如含有一个锌元素时,会出现3个峰强度较高,丰度比为100%:57.4%:38.6%的同位素峰M/(M+2)/(M+4)。而含有2个锌元素时,由于锌具有5个同位素原子,因此会出现一系列的同位素峰,可很好的根据质谱图推测碎片中锌元素的个数。根据同位素峰推测m/z 395.08碎片离子含有一个Zn元素,其相应结构为[Zn(L-H)₂+Na]⁺,表明组氨酸与锌生成了稳定的二配体化合物。Zn(L-H)₂的结构形式与文献^[24]中单晶结构报道一致。碎片离子m/z 177.93, 199.95和377.10为配体的离子峰(表1)。谱图中未出现含有2个Zn元素同位素峰,即无氧配合物的二聚体生成。

在前期的研究中,碎片离子m/z 199.95在谱图中表现出较高的丰度,因此引起关注。对其进行子离子扫描,得到一丢失中性碎片(M=32)的子离子峰(m/z 167),在初期推断其为含O₂分子的碎片峰,但后来发现其在3个配合物和配体的谱图中都表现出较高的丰度,再结合金属元素同位素峰推测,初步判断其结构为[L-H+2Na]⁺。

3 结 论

本文根据紫外可见光谱法和氧电极法对CoL₂、CuL₂和ZnL₂3个体系进行了吸氧性能的测试,确认了CoL₂有可逆吸氧性能,而CuL₂和ZnL₂不具有吸氧性能,故推论三者质谱数据上应有明显差异。因此采用电喷雾串联质谱技术对组氨酸钴氧合物(CoL₂-O₂-CoL₂)和组氨酸配合物ML₂(M=Cu、Zn)进行了研究。结果发现,CoL₂在质谱图中相应于双核氧合配合物的高质荷比端出现了相对丰度较高的碎片峰,证明了双核氧合配合物(CoL₂-O₂-CoL₂)的存在,而未有吸氧性能的组氨酸配合物ML₂则未出现高质荷比的氧合物碎片峰。同时,对3种体系进行了质谱解析,提出了双核氧合配合物和单核配合物可能的裂解过程。结果表明,电喷雾质谱(ESI-MS)可作为研究氧合反应和表征氧合配合物的有效分析手段,可成为判断配合物有无吸氧性能的一种新方法。

参考文献:

[1] Niederhoffer E C, Timmons J H, Martell A E. *Chem. Rev.*, **1984**,**84**(2):137-203

[2] Wang J D, Collange E, Aymes D J, et al. *Bull. Soc. Chim. Fr.*, **1994**,**131**(1):37-44
[3] Simplicio J, Wilkins R G. *J. Am. Chem. Soc.*, **1967**,**89**(24):6092-6095
[4] SONG Na(宋娜). *Thesis for the Master of Xinjiang University* (新疆大学硕士论文). **2010**.
[5] Hayashi Y, Kayatani T, Sugimoto H, et al. *J. Am. Chem. Soc.*, **1995**,**117**:11220-11229
[6] Martell A E, Motekaitis R J. *The Determination and Use of Stability Constants. 2nd Ed.*. New York: VCH, **1992**.
[7] WANG Ji-De(王吉德), WANG Yao(王瑶), ZHANG Yi(张翼), et al. *Chinese J. Appl. Chem. (Yingyong Huaxue)*, **1998**,**15**(2):97-99
[8] Calvin M, Barkelew C H. *J. Am. Chem. Soc.*, **1946**,**68**:2267-2273
[9] Hughes E W, Wilmarth W K, Calvin M. *J. Am. Chem. Soc.*, **1946**,**68**:2273-2278
[10] Jger E G, Knaudt J, Rudolph M, et al. *Chem. Ber.*, **1996**,**129**:1041-1047
[11] Busch D H, Alcock N W. *Chem. Rev.*, **1994**,**94**:585-623
[12] FU Ji-Hong(符继红), LI Jun-Fang(李俊芳), FU Pei(付佩), et al. *Chem. J. Chinese Universities (Gaodeng Xuexiao Huaxue Xuebao)*, **2011**,**32**(7):1483-1487
[13] LI Jun-Fang(李俊芳), FU Ji-Hong(符继红), FU Pei(付佩), et al. *Chinese J. Inorg. Chem. (Wuji Huaxue Xuebao)*, **2011**,**27**(11):2225-2230
[14] Yamashita M, Fenn J B. *J. Phys. Chem.*, **1984**,**88**:4671-4675
[15] WU Wei(吴巍), ZHOU Yi-Han(周奕含), LIU Zhi-Qiang(刘志强), et al. *Chinese J. Anal. Chem. (Fenxi Huaxue)*, **2005**,**33**(5):683-686
[16] Qian R, Guo H, Liao Y X, et al. *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **2006**,**20**(4):589-594
[17] SU Qiang(苏强), LIU Qing-Fei(刘清飞), LIANG Qiong-Lin(梁琼麟), et al. *Chem. J. Chinese Universities (Gaodeng Xuexiao Huaxue Xuebao)*, **2007**,**28**(8):1486-1488
[18] Wang D S, Zhou J, Wang D W, et al. *Tetrahedron Letters*, **2010**,**51**(3):525-528
[19] LEI Hong-Qin(雷红琴). *Thesis for the Master of Xinjiang University* (新疆大学硕士论文). **2010**.
[20] SONG Na(宋娜). *Thesis for the Master of Xinjiang University* (新疆大学硕士论文). **2010**.
[21] QU Chen-Ling(渠琛玲), ZHANG Han-Qi(张寒琦), ZHANG Hua-Rong(张华蓉), et al. *Chem. J. Chinese Universities (Gaodeng Xuexiao Huaxue Xuebao)*, **2008**,**29**(9):1721-1726
[22] Zompa L J. *Acta Cryst.*, **2005**,**E61**:m849-m851
[23] Camerman N, Fawcett J K, Kruck T P A, et al. *J. Am. Chem. Soc.*, **1978**,**100**:2690-2693
[24] Dalosto S D, Calvo R. *J. Phys. Chem. A*, **2001**,**105**:1074-1085