



УДК 547.9:543.51

**ПЛАЗМЕННО-ДЕСОРБЦИОННАЯ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЯ
ПРИРОДНЫХ СОЕДИНЕНИЙ****II*. ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА ДЛЯ АНАЛИЗА НУКЛЕОТИДОВ,
УГЛЕВОДОВ, ЛИПИДОВ И ПИГМЕНТОВ**© 1996 г. Н. А. Резцова[#], М. А. Кулиш, А. Ф. МироновМосковская государственная академия тонкой химической технологии им. М.В. Ломоносова,
117571, Москва, просп. Вернадского, 86

Поступила в редакцию 24.01.95 г.

Обзор посвящен применению плазменно-десорбционной масс-спектрометрии (PD MS) для анализа природных соединений. Рассмотрены результаты исследований пептидов и белков (часть I), нуклеотидов, углеводов, липидов и пигментов. Обзор охватывает литературу с 1982 по 1995 г.

Ключевые слова: плазменно-десорбционная масс-спектрометрия (PD MS), олигонуклеотиды, углеводы, липиды, пигменты.

ОЛИГОНУКЛЕОТИДЫ

Сложность масс-спектрометрического анализа незащищенных олигонуклеотидов заключается в их высокой полярности, обусловленной наличием остатка фосфорной кислоты. Подготовка проб этих соединений обычно осуществляется электрораспылением их водно-органических растворов. При их ионизации интенсивные сигналы ионов $[M + H]^+$ и $[M - H]^-$ удалось зарегистрировать для динуклеотидов (AC, GA) и тринуклеотида AAC [1 - 3]. Имеется сообщение о масс-спектрометрии проб олигонуклеотидов, нанесенных из водных растворов на нитроцеллюлозу [4] и хлорид тридодecilметиламмония [1]. В последнем случае возможность промывки пробы после нанесения вещества в водном растворе позволяет получать более интенсивные сигналы отрицательных ионов, чем при электрораспылении растворов без матрицы [1].

Образование отрицательных фрагментных ионов X и Y олигорибонуклеотидов и олигодезоксирибонуклеотидов происходит при расщеплении

связи C5'-O5' или C3'-O3' [1 - 5] (схема 1). Так, по сигналам этих ионов определена нуклеотидная последовательность соединений GA и AAC [1, 3].

Важной характеристикой олигодезоксирибонуклеотидов является значительная интенсивность пиков фрагментных ионов Y в отличие от ионов X, которые в отдельных случаях могут отсутствовать полностью [4, 5]. Методом PD MS получены ионы $[M - H]^-$ и подтверждена структура тридезоксирибонуклеозиддифосфатов d(GAG), d(AGG), d(GGA), d(GGT), d(GGC), d(CCA), d(CCC), d(AAA), d(TTT), d(GGG) [5] и гексадезоксирибонуклеотида d(TATATA) [4]. В процессе PD олигодезоксирибонуклеотидов частично происходит потеря элементов воды, что приводит к появлению в их масс-спектрах характерных двойных сигналов фрагментных ионов F⁺ и $[F - H_2O]^+$ [5]. По общему виду масс-спектра часто можно также сделать вывод о степени чистоты образца исследуемого олигонуклеотида [4].

Метод PD MS позволяет контролировать образование внутримолекулярных связей и другие изменения в структуре дидезоксирибонуклеотидов при УФ-облучении. Так, d(TT) и образуемые им продукты фотореакций дают ионы в области молекулярных масс и несколько фрагментных ионов. Идентификация этих соединений проведена по фрагментации, характерной для каждого вещества [6].

Анализ полностью или частично защищенных олигонуклеотидов является более простой задачей из-за блокирования полярных групп. Методом PD

Сокращения: MS (mass spectrometry) – масс-спектрометрия, FAB (fast-atom bombardment) – бомбардировка ускоренными атомами, FD (field desorption) – десорбция полем, LD (laser desorption) – лазерная десорбция, PD (plasma desorption) – плазменная десорбция, CI (chemical ionization) – химическая ионизация, TOF (time-of-flight) MS – времяпролетная масс-спектрометрия.

* Часть I. Основные свойства метода и его применение для анализа пептидов и белков (Биоорг. химия. 1996. № 1).

[#] Автор для переписки.



Схема 1.

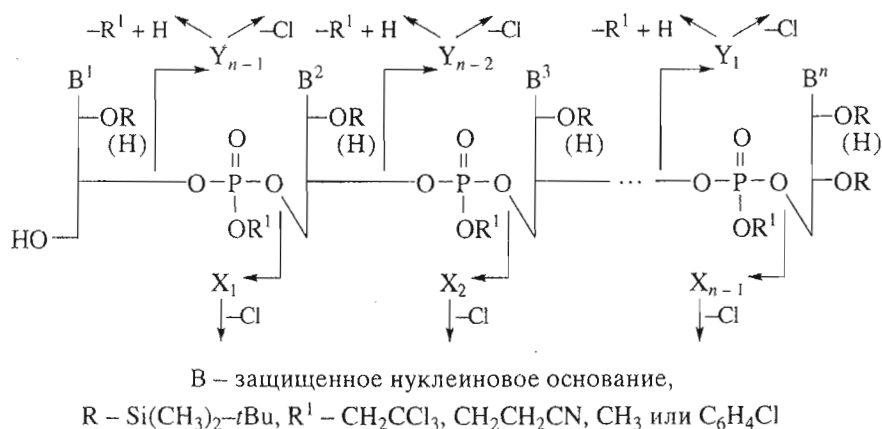


Схема 2 [12, 13].

MS определяют молекулярную массу защищенных олигонуклеотидов и получают информацию о защитных группах. Например, исследованы метилированные олигонуклеотиды: метилфосфонаты d(TTTT), d(AAA), dT₉ [4], d(TTAT) и dT₇ [7]. Подтверждение молекулярной массы проведено по ионам [M + Na]⁺, [M + K]⁺ и [M – H][–], а структурная информация получена по положительным [4] и отрицательным [7] фрагментным ионам.

Молекулярную массу полностью защищенных нуклеотидов определяют по ионам [M + Na]⁺ и [M – H][–] [8 – 13]. Значение молекулярной массы защищенного пентадезоксирибонуклеотида также подтверждалось масс-спектрометрией образца с добавлением иодида цезия, что приводило к появлению сигнала дополнительного иона [M + Cs]⁺ [4]. Спектр положительных и отрицательных ионов защищенных олигонуклеотидов в области молекулярных масс может быть представлен серией сигналов, например [M – H][–], [M – Cl][–], [M + Cl][–], [M – 2Cl][–], [M – R][–], [M – R – Cl][–], R = CH₂CCl₃, CH₂CH₂CN, C₆H₄Cl, CH₃ [12, 13].

При изучении спектров положительных ионов защищенного дидезоксирибонуклеотида обнаружено увеличение выхода ионов [M + Na]⁺ при УФ-облучении образца в процессе подготов-

ки пробы. Такой же эффект достигается электрораспылением раствора с концентрацией 1 М. В этих условиях, очевидно, образуются агрегаты ориентированных молекул нуклеотида, влияющие на его десорбцию и ионизацию [8].

Определение последовательности защищенных нуклеотидов и даже характера некоторых защитных групп обычно проводят по спектру отрицательных ионов (схема 2) [12, 13]. Зарегистрированы также положительные фрагментные ионы, образованные при расщеплении связи C5'–O5' аденина, что позволяет оценить количество этих остатков в молекуле [10].

УГЛЕВОДЫ

В спектрах олигосахаридов и гликоконъюгатов молекулярная масса определяется преимущественно по иону [M + Na]⁺, для увеличения чувствительности можно анализировать также перметилированные и перацетилированные углеводы [14 – 16]. При этом по увеличению молекулярной массы определяют количество модифицированных групп, а усиление фрагментации молекул способствует определению последовательности моносахаридных звеньев [15, 16].

Массы фрагментных ионов свободной (А) и перацетилированной (Б) мальтогептаозы [14]*.

А	Б
$A_i = [M + Na + 29 - \{(7 - i)G + H\}]^+$	$X_i = [M' + Na + 29 - \{(7 - i)G' + CH_3CO\}]^+$
$B_i = [M + Na - H - \{(7 - i)G + H\}]^+$	$Y_i = [M' + Na - 59 - \{(7 - i)G' + CH_3CO\}]^+$
$B'_i = [M + Na + H - \{(7 - i)G + H\}]^+$	$Z_i = [M' + Na - 59 - 16 - \{(7 - i)G' + CH_3CO\}]^+$
$C_i = [M + Na - 17 - \{(7 - i)G + H\}]^+$	$V_i = [M' + H - 17 - \{(7 - i)G' + CH_3CO\}]^+$
$D_i = [M + Na - H - 32 - \{(7 - i)G + H\}]^+$	$W_i = [M' + H - 60 - 17\{(7 - i)G' + CH_3CO\}]^+$
$E_i = [M + Na - 105 - \{(7 - i)G + H\}]^+$	
$F_i = [M + H - 75 - \{(7 - i)G + H\}]^+$	

* M – масса мальтогептаозы, G – масса остатка глюкозы, M' – масса перацетилированной мальтогептаозы, G' – масса перацетилированного остатка глюкозы, $i = 1 - 6$.

Для восстановленной перацетилированной мальтогептаозы применение в качестве матрицы нитроцеллюлозы вызывает увеличение интенсивности сигнала иона $[M + Na]^+$ по сравнению с электрораспылением на миларе [17]. Промывание водой пробы этого вещества, нанесенного на нитроцеллюлозу, уменьшает интенсивность сигнала иона $[M + Na]^+$, что связано с удалением ионов натрия из пробы [14, 17]. При аналогичной процедуре для перацетилированной мальтогептаозы зарегистрировано также изменение структуры фрагментных ионов [14].

Нитроцеллюлоза в качестве матрицы применяется при исследовании частично защищенных и незащищенных аминокликозидных антибиотиков [18].

При анализе мальтогексаозы, мальтогептаозы и их перацетилированных аналогов наблюдают серии сигналов фрагментных ионов, соответствующих последовательному расщеплению гликозидных связей [14, 15, 17]. Для мальтогептаозы это ионы А, В, С, D, E, F, а для перацетилированной мальтогептаозы – W, V, X, Y, Z (таблица) [14]. Ионы F, V, W не содержат натрия.

Олигосахариды, содержащие остатки аминокислот – Gal β -(1-6)-GlcNAc, диацетилхитобиозу, перацетилированную хитобиозу, триацетилхитотриозу, мальтотетраозу и ее перацетилированное производное, – исследовали различными методами MS [16]. Установлено, что фрагментация этих углеводов в условиях PD аналогична их фрагментации при FAB: наблюдается расщепление гликозидных связей, в некоторых случаях с отщеплением воды. При использовании LD MS фрагментные ионы имеют другую структуру [16].

Анализ продуктов ферментной деполимеризации гепарина – натриевых солей олигосахаридов, содержащих от 2 до 6 углеводных остатков, предложено проводить на матрице из хлорида триде-

цилметиламмония, нанесенного на милар [19 - 21]. В этом случае характерными являются сигналы положительных ионов, включающих $n + 1$ катионов тридецилметиламмония, а в спектрах отрицательных ионов содержащих $n - 1$ катионов тридецилметиламмония (n – количество сульфо- и карбоксигрупп олигосахаридов).

Интенсивный ион $[M + Na]^+$, а также фрагментация углеводной части молекулы, наблюдаемая в условиях PD, позволяют определить молекулярную массу и получить структурную информацию о перметилованных или перацетилированных разветвленных олигосахаридах [19], липоолигосахаридах [15, 22], фенольных гликолипидах [22], ганглиозидах [14, 23] и гликопептидолипидах [15, 22, 24].

По аналогичным ионам установлена структура немодифицированных соединений: разветвленного сердечного гликозида дигитонина [25] и липоолигосахаридов [26].

Методом PD MS анализировали 16 низкомолекулярных гликоконъюгатов, образующихся в процессе метаболизма гербицидов. Метод FAB MS оказался менее пригодным для этих целей из-за влияния глицерина, применяемого при подготовке пробы [27].

Нами зарегистрирован масс-спектр синтетического 2,3-дипальмитоил- S -(β -D-галактопиранозил)-1-тиоглицерина [28]. Поскольку в структуре этого соединения имеется остаток галактозы, определение молекулярной массы проводилось по интенсивным сигналам ионов $[M + Na]^+$ и минорным сигналам ионов $[M + H]^+$ и $[2M + Na]^+$ (рис. 1).

Для некоторых гликопептидов и пептидогликанов характерны ионы в области молекулярных масс $[M + H]^+$ и $[M - H]^-$ [15, 30 - 32].

Метод PD MS может быть использован для оценки гетерогенности углеводной части молекулы. Так, было обнаружено присутствие пяти

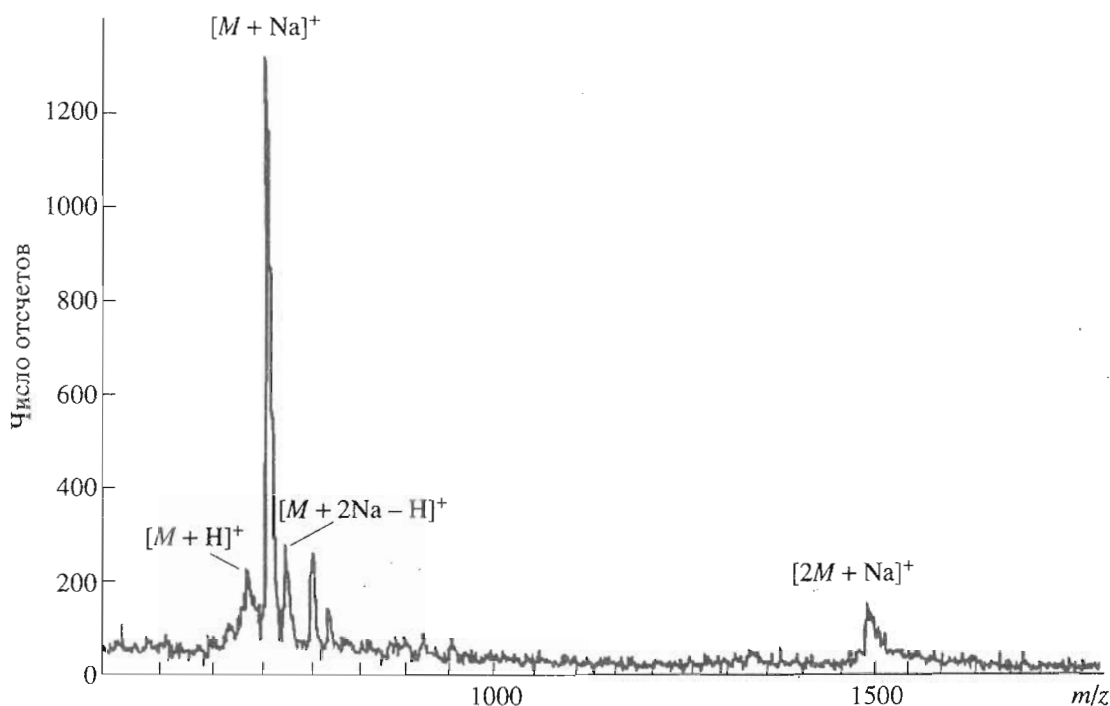


Рис. 1. Масс-спектр 2,3-дипальмитоил-S-(β-D-галактопиранозил)-1-глицерина [28]. Спектр зарегистрирован нами на приборе МС БХ [29].

различных гликопептидов в смеси соединений общей формулы Phe-Asn(GlcNAc-GlcNAc-Man_n)-Glu-Thr-Lys ($n = 5 - 9$) [30].

ЛИПИДЫ

Метод PD MS применяли для подтверждения структуры липидов различных классов: моно-, ди- и триглицеридов, фосфолипидов, гликолипидов, гликофинголипидов, сульфатидов, жирных кислот и их ангидридов, восков, холестерина и его производных.

Для фосфолипидов зарегистрированы ионы $[M + Na]^+$, $[M + 2Na - H]^+$ и ион $[M - H]^-$ [33]. Фрагментные ионы соответствуют отщеплению жирнокислотных остатков, расщеплению связи глицерин-фосфат, а для фосфатидилсерина – также отщеплению остатка серина [33] (схема 3). В области небольших масс зарегистрированы диагностические ионы, такие, как $CH_2=C(CH_3)COOH^+$ или $CH_2=CHN^+(CH_3)_3$. Спектр отрицательных ионов содержит характерные пики, например $[M - CH_3]^-$, $[M - N(CH_3)_3]^-$, $[M - (CH_2CHN(CH_3)_3)]^-$ для фосфатидилхолина и $[M - CH_2CH(NH_3)COOH]^-$ для фосфатидилсерина [33].

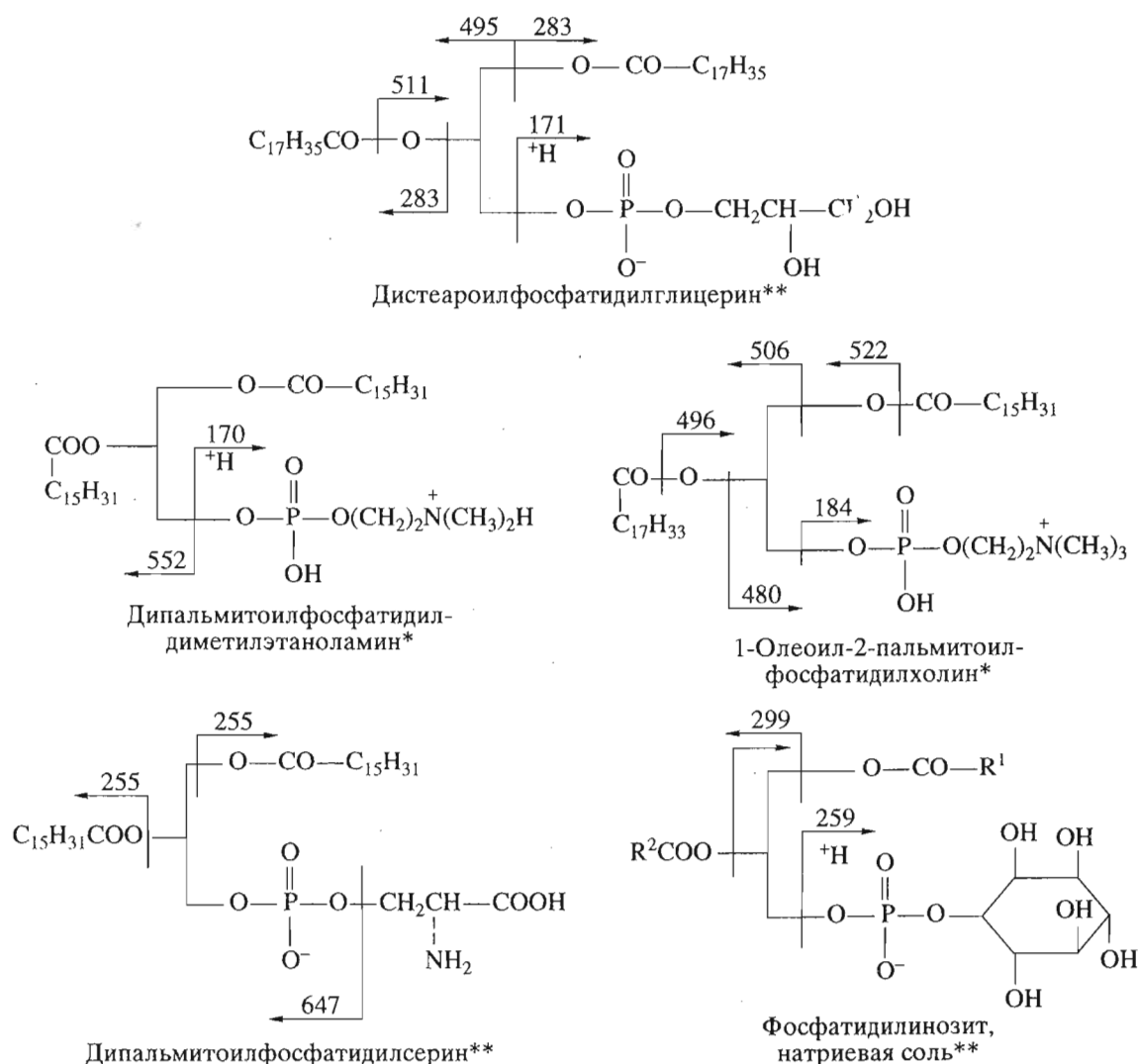
Масс-спектры PD фосфатидилсерина содержат сигналы ионов $[M + 2Na - H]^+$ и $[M - H]^-$ и позволяют определить его молекулярную массу. Определение молекулярной массы этого соединения методами FAB MS и FD MS затруднено [33].

При использовании нитрана в качестве матрицы спектр отрицательных ионов фосфатидилхолина представлен кроме характеристического пика $[M - CH_3]^-$ также сигналом иона $C_{17}H_{35}COO^-$ [34]. При использовании низкомолекулярной нерастворимой в хлороформе матрицы 3-(3-пиридил)акриловой кислоты для анализа фосфатидилхолина зарегистрированы интенсивные ионы $[M + H]^+$ и фрагментные ионы [35].

Метод PD MS широко используется для подтверждения структуры синтетических полярных липидов [36 - 39]. В частности, нами получен масс-спектр бромиды N-гидроксиэтил-N,N-диметил-N-(2,3-диоктадецилокси)пропиламмония [35] (рис. 2).

Для насыщенных жирных кислот общей формулы $CH_3(CH_2)_nCOOH$ характерными пиками в масс-спектрах являются сигналы ионов $[M + H]^+$, карбоксилат-ионов $RCOO^-$ ($[M - H]^-$), а также миорных олигомерных ионов. В случае стеариновой кислоты ($n = 16$) эти ионы $[2M + H]^+$ и $[3M + H]^+$, у миристиновой ($n = 12$) и бегеновой ($n = 20$) кислот – $[2M + H]^+$, $[3M + H]^+$ и $[4M + H]^+$ [40 - 42], а также ионы $[2M - H]^-$. Фрагментные ионы соответствуют отщеплению водорода, этилена или двуокиси углерода, а также образованию иона RCO^+ [40 - 42].

Аналогичные ионы присутствуют в масс-спектрах ненасыщенных жирных кислот. Кроме того, при структурных исследованиях мононенасыщенных жирных кислот могут быть информативными серии фрагментных ионов [42].



Примечание: * – положительные ионы, ** – отрицательные ионы.

Схема 3.

С помощью пленок Ленгмюра–Блоджетта на примере жирных кислот изучена зависимость выхода десорбируемых ионов от толщины пленки. По мере увеличения числа монослоев наблюдалось повышение интенсивности пиков, достигавшее насыщения при толщине пленки в 6 - 8 монослоев [43 - 45].

Стеариновый ангидрид образует молекулярный ион M^+ , а также ион с m/z 533, формально соответствующий потере OH^- из $[M + \text{H}]^+$ и ион $[M + \text{C}_{17}\text{H}_{35}\text{CO}]^+$. Более интенсивен пик стеариоил-иона. Спектр отрицательных ионов представлен ионами $[M + \text{OH}]^-$, $[M + \text{C}_{17}\text{H}_{35}\text{COO}]^-$ и наиболее интенсивным сигналом иона $\text{C}_{17}\text{H}_{35}\text{COO}^-$ [40].

Воски – метилстеарат и стеарилпальмитат характеризуются ионами $[M + \text{H}]^+$, $[2M + \text{H}]^+$ и карбоксилат-ионом RCOO^- . Интенсивные пики фраг-

ментных ионов связаны с потерей олефина $\text{C}_{18}\text{H}_{36}$: $[M + \text{H} - \text{C}_{18}\text{H}_{36}]^+$ и $[M - \text{H} - \text{C}_{18}\text{H}_{36}]^-$. Присутствует также минорный сигнал от $[M + \text{C}_{15}\text{H}_{31}\text{CO}]^+$ [40].

Для анализа пальмитата холестерина в качестве матрицы использовали нитран [34]. Положительные ионы спектра представлены минорным $[M + \text{H}]^+$ -ионом и доминирующим фрагментным ионом $[\text{холестерин} - \text{OH}]^+$, жирнокислотный состав подтвержден ионом $\text{C}_{15}\text{H}_{31}\text{COO}^-$ [34]. Необычный для метода PD MS интенсивный ион $[M - \text{H}]^+$ зарегистрирован в спектре холестерина [46]. Эргостерин, имеющий сходную структуру, образует ион-радикал $M^{+\cdot}$ [46].

В случае моно-, ди- и триглицеридов пик иона $[M + \text{H}]^+$ имеет высокую интенсивность для пальмитоилглицерина, среднюю – для дипальмитоилглицерина и 1-пальмитоил-3-стеариолглицерина

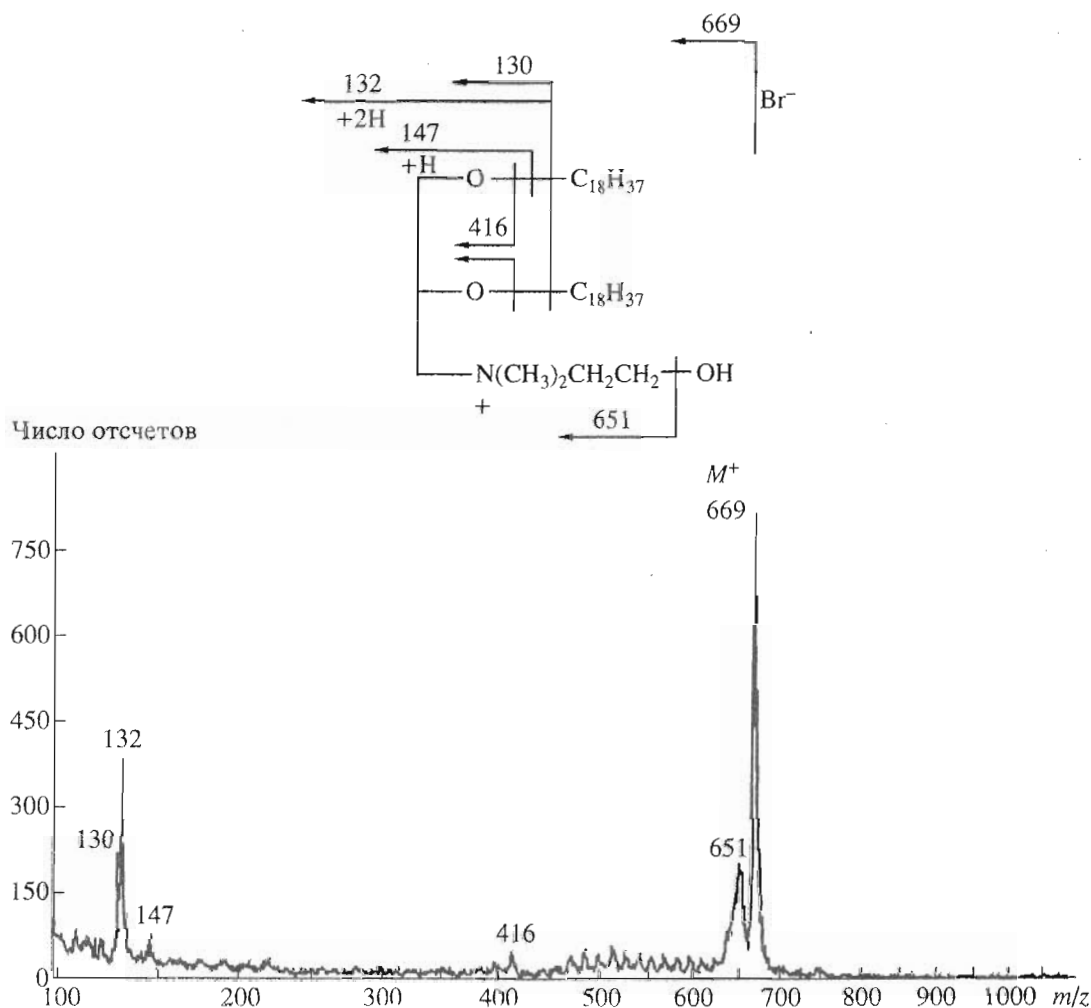


Рис. 2. Масс-спектр бромида N-(2-гидроксиэтил)-N,N-диметил-N-(2,3-диооктадецилоксипропил)аммония [36]. Спектр зарегистрирован нами на приборе МС БХ [29].

и низкую – для трипальмитоилглицерина. В масс-спектрах этих соединений зарегистрированы также интенсивные пики RCO^+ , $[M + H - RCOOH]^+$ и минорные $[M + RCO]^+$ [40]. При использовании нитрана в качестве матрицы по фрагментным ионам $RCOO^-$ был определен жирнокислотный состав 1,2-дипальмитоил-3-миристоилглицерина [34].

На примере смеси трипальмитоилглицерина и тристеароилглицерина, а также смесей различных восков показана возможность применения метода PD MS для анализа поверхностных явлений [47], например процессов перераспределения компонентов между бомбардируемой поверхностью и внутренними слоями. Использование метода FAB MS для этой цели дает меньшую информацию [47].

В спектрах природных гликолипидов, липоолигосахаридов и гликопептидолипидов присутствовали один или несколько пиков ионов $[M + Na]^+$, позволяющие не только определить молекуляр-

ную массу вещества, но и оценить его гомогенность [22, 24, 48]. Так, при анализе смеси фенольных гликолипидов из *Mycobacterium leprae* несколько сигналов ионов $[M + Na]^+$ соответствовали соединениям с остатками жирных кислот C_{30} , C_{32} и C_{34} [22]. Результаты масс-спектрометрических исследований подтвердились разделением смеси на компоненты с помощью ВЭЖХ.

Жирнокислотный состав липополисахаридов, гликолипидов А и фенольных гликолипидов можно определить по пикам положительных фрагментных ионов, образованных при отщеплении остатка жирной кислоты [23, 26, 48 - 50]. В масс-спектрах ганглиозидов эритроцитов кошки и овцы кроме $[M + Na]^+$ информативными оказались и другие положительные фрагментные ионы липидной части молекулы [23] (схема 4).

Спектр отрицательных ионов природных липидов содержит сигналы фрагментов $RCOO^-$, соответствующие остаткам жирных кислот [22, 26, 51].

Так, по сигналу этих ионов определена однородность жирнокислотного состава гликолипидов [26] и липоолигосахарида [51]. Сигналы нескольких ионов ($C_{30}H_{59}O_2^-$, $C_{32}H_{63}O_2^-$ и $C_{34}H_{67}O_2^-$), регистрируемые в масс-спектре гликопептидолипида, также позволяют идентифицировать состав жирных кислот [22].

На примере фосфорилированного гликолипида показаны возможные причины получения неудачных спектров [52]. Повышенное содержание ионов кальция (в отношении к липиду 1 : 10) вызывает образование "ложного" иона $[M - H]^-$ и подавление истинного. Более высокое содержание ионов кальция – причина появления в масс-спектре серий пиков массой до m/z 2000 [52].

Методом PD MS анализировали смеси липидов различных классов, полученные из бактериальных клеток, клеток млекопитающих, биологических мембран и экстрактов тканей без дополнительной очистки и модификации. В спектре положительных ионов обнаружены сигналы, отвечающие холестерину и фосфатидилхолину. Сульфатиды регистрировали по иону $[M - H]^-$ [53, 54]. Более полная информация получена при сопоставлении результатов исследований этих смесей методом PD MS с другими методами: FAB MS и LD MS [53, 54].

ПИГМЕНТЫ

Метод PD MS успешно применяется при исследовании природных пигментов, и в частности хлорофиллов [55 - 61].

Хлорофилл *a* и феофитин *a* – одни из немногих соединений, для которых известно соотношение интенсивности сигналов ионов $[M + H]^+$ и M^{+*} , а также $[M + H]^-$, M^{-*} и $[M - H]^-$ в условиях PD [55, 56]. В случае хлорофилла *a* преобладают ионы $[M + H]^+$ и $[M + H]^-$, а для феофитина *a* – $[M + H]^+$ и M^{-*} .

В работах [55, 56] подробно изучены метастабильные ионы хлорофилла *a* и феофитина *a*. Молекулярные ионы хлорофилла *a* менее устойчивы, чем ионы феофитина *a*. Видимо, для десорбции хлорофилла необходима значительная энергия, которая затем вызывает метастабильные переходы [55, 56]. Это необходимо учитывать при анализе смесей хлорофилла и феофитина.

Положительные и отрицательные фрагментные ионы хлорофилла *a* регистрируются в виде характерного интенсивного пика с m/z 615, соответствующего отрыву фитильного заместителя хлороинового цикла, и серии пиков, расположенных регулярно с интервалом m/z около 14 и отвечающих отщеплению метоксильного, метильного, фитилоксикарбонилэтильного заместителей и хлороинового цикла [55 - 60].

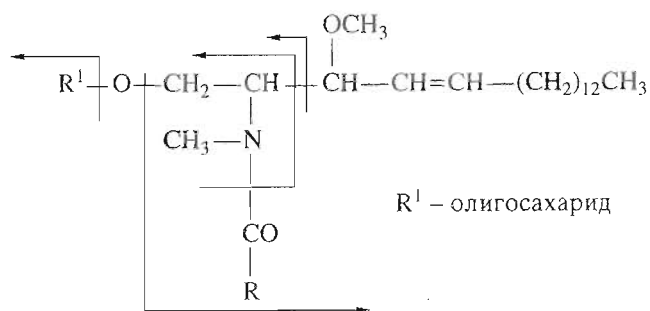


Схема 4 [23].

При исследовании агрегатов хлорофилла *a* (Хл *a*) в масс-спектрах зарегистрированы группы ионов, соответствующие агрегированной форме (Хл *a*)_{*n*} при $n \leq 7$ из *n*-октана и $n \leq 2$ из четыреххлористого углерода, 2-пропанола и додекана [58, 60]. Потеря фитильного остатка и других заместителей макроцикла не нарушает координационных взаимодействий, ведущих к образованию димерного агрегата. Показано, что на процесс PD хлорофилла *a* влияет не только его агрегатное состояние, но и используемая матрица [60].

Метод PD MS применяется для контроля индивидуальности хлорофилла *a*, например для обнаружения примеси феофитина *a* или продуктов разложения [55, 56, 61].

При исследовании смеси хлорофиллов *a* и *b* отмечено, что соотношение интенсивности сигналов положительных молекулярных ионов этих соединений составляет 2.5, а отрицательных – 0.5. Это объясняется различным сродством этих хлорофиллов к электрону [61].

Зарегистрированы спектры, подтверждающие структуру димерного хлорофилла, сшитого бутилгликолем, а также бис(10-гидроксибутоксиметилфеофорбид-*a*)-1,4-дихлорфтала, сшитого сложной эфирной связью с помощью фталевой кислоты [61]. Зарегистрированы ионы M^{+*} , а также фрагментные ионы в области масс мономерного фрагмента.

Отдельные работы посвящены исследованию порфиринов [62 - 69]. Молекулярная масса синтетических порфиринов, замещенных в мезо-положении (более 100 соединений), определялась по ионам M^{+*} или/и $[M + H]^+$ [62]. Структура ванадиевого комплекса тетрафенилпорфирина подтверждается ионами M^{+*} , $[M - O]^+$, $[M - Ph]^+$, $[M - Ph - O]^+$ [63].

В спектрах дихиноновых и хиноновых производных порфирина зарегистрированы сигналы ионов M^{+*} , а также серии сигналов фрагментных ионов, образующихся при расщеплении связи порфирин-хинон и заместителей порфиринового цикла [64, 65].

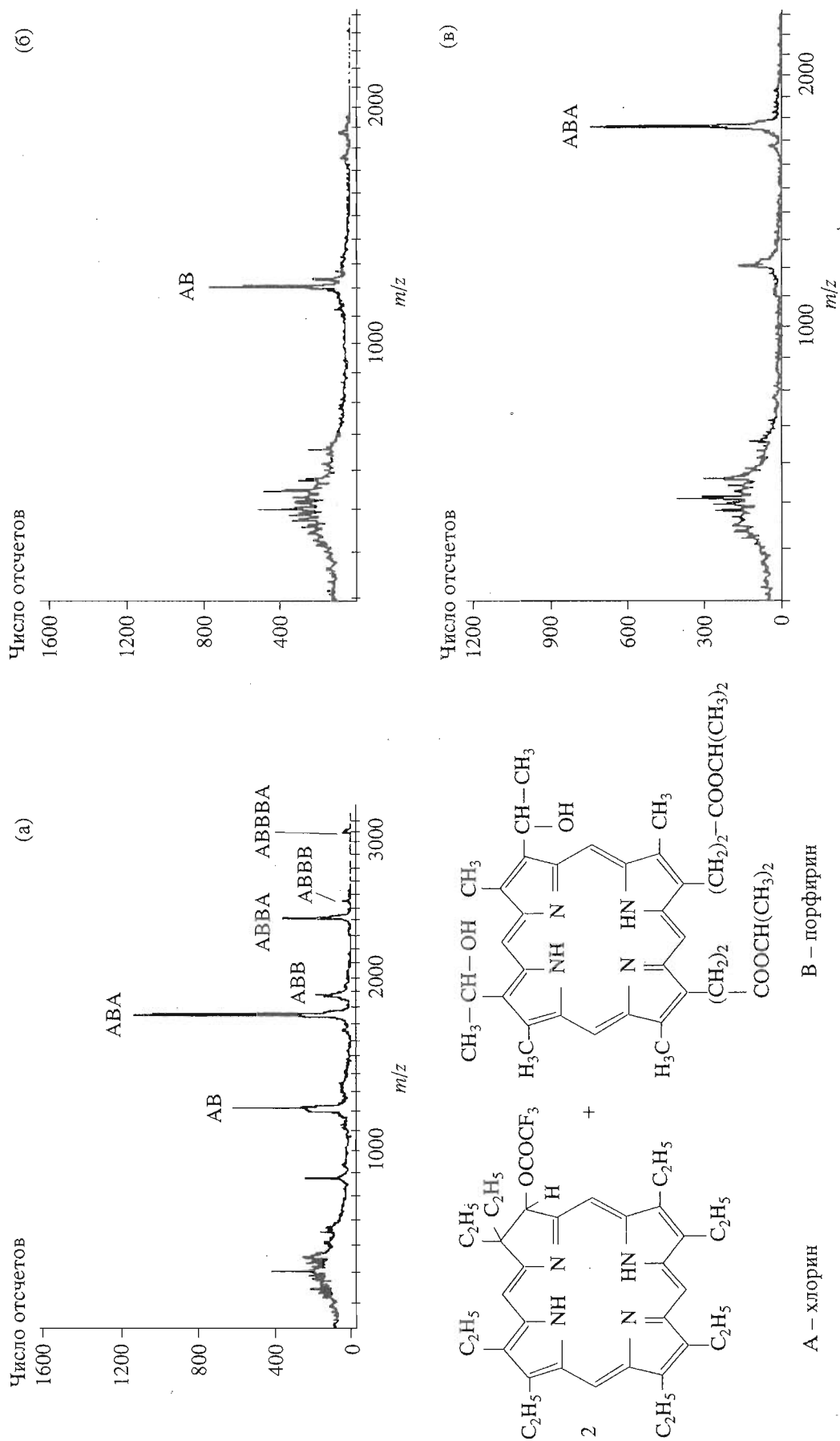


Рис. 3. Масс-спектры реакционной массы, полученной при конденсации хлорина (А) и порфирина (В) и выделенных из нее димера АВ (б), тримера АВА (в). Спектры зарегистрированы нами на приборе МС БХ [29].

Масс-спектр цианкобаламина, витамина В₁₂, природного макроциклического комплекса, содержащего Co²⁺, характеризуется ионами [M + Na - CN]⁺, [M + H - CN]⁺, [M - H - HCN]⁻ и фрагментными ионами, соответствующими отщеплению заместителей макроцикла [3, 66].

В масс-спектре синтетических димерных порфиринов присутствуют сигналы молекулярных ионов, а также фрагментных ионов [62, 67, 68].

Нами проведена идентификация веществ, полученных при конденсации хлорина (А) и порфирина (В). Как следует из масс-спектра (рис. 3а), в реакционной смеси имеются преимущественно димер АВ и тример АВА, выделенные впоследствии в индивидуальном состоянии (рис. 3б, 3в), а также другие высшие олигомеры: АВВ, АВВВ, АВВА и АВВВА.

Серия сигналов низкомолекулярных петропорфиринов обнаружена в масс-спектре фракции полярных металлопорфиринов, выделенной из сланцевого дегтя [69]. Эти результаты находятся в соответствии с данными, полученными методом CI MS. Однако более высокое соотношение сигнал-шум получено в PD-масс-спектре.

Метод PD MS успешно применен для анализа производных билирубина. Так, для моно- и диглюкуронидов билирубина, а также метаболитов диметилового эфира билирубина в масс-спектрах зарегистрированы ионы [M + H]⁺ и фрагментные ионы, дающие структурную информацию [70].

Для β-каротина в масс-спектре зарегистрирован пик с m/z 537, соответствующий иону [M + H]⁺. Использование PD MS при анализе экстрактов моркови позволяет по ионам [M + H]⁺ идентифицировать в составе смеси каротиноидов β-каротин и лютеин [71]. Присутствие лютеина подтверждается также сигналом фрагментного иона, образующегося при потере воды.

Различные типы хлорофиллов и каротиноидов морских микроорганизмов обнаружены методом PD MS в донных отложениях Северного моря. При отнесении этих соединений к определенным группам организмов сделан вывод о биологическом составе и биогеохимических условиях исследованной среды [72].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Как следует из данных, приведенных в настоящем обзоре, времяпролетная масс-спектрометрия с ионизацией осколками деления ²⁵²Cf (PD MS) – простой и информативный метод исследования структуры многочисленных сложных органических соединений. В некоторых случаях PD MS имеет преимущества перед другими способами определения строения молекул, в том числе и такими вариантами MS, как FAB и LD. После проведения измерений методом PD MS основная часть образ-

ца сохраняется и может быть использована для дальнейших исследований, например его модификации. Дополнительную информацию можно получить, анализируя отрицательные ионы. Приборы, используемые для PD MS, характеризуются низкой стоимостью и простотой обслуживания. Все это позволяет прогнозировать дальнейшее успешное развитие техники и методологии в этой области масс-спектрометрии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. McNeal C.J., Macfarlane R.D. // J. Am. Chem. Soc. 1986. V. 108. P. 2132 - 2139.
2. Ens W., Standing K.G., Chait B.T., Field F.H. // Anal. Chem. 1981. V. 53. P. 1241 - 1244.
3. Macfarlane R.D., Torgerson D.F. // Science. 1976. V. 191. P. 920 - 925.
4. Viari A., Ballini J.P., Meleard P., Vigny P., Dousset P., Blonski C., Shire D. // Biomed. Environ. Mass Spectrom. 1988. V. 16. P. 225 - 228.
5. Viari A., Ballini J.P., Vigny P., Shire D., Dousset P. // Biomed. Environ. Mass Spectrom. 1987. V. 14. P. 83 - 90.
6. Viari A., Ballini J.P., Vigny P., Voituriez L., Cadet J. // Biomed. Environ. Mass Spectrom. 1989. V. 18. P. 547 - 552.
7. Viari A., Ballini J.P., Vigny P., Blonski C., Dousset P., Shire D. // Tetrahedron Lett. 1987. V. 28. P. 3349 - 3352.
8. Macfarlane R.D., McNeal C.J., Jacobs D.L. // J. Phys. C. 1989. V. 50. P. 21 - 25.
9. McNeal C.J., Narang S.A., Macfarlane R.D., Hsiung H.M., Brousseau R. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1980. V. 77. P. 735 - 739.
10. McNeal C.J., Ogilvie K.K., Theriault N.Y., Nemer M.J. // J. Am. Chem. Soc. 1982. V. 104. P. 981 - 984.
11. McNeal C.J., Macfarlane R.D. // J. Am. Chem. Soc. 1981. V. 103. P. 1609 - 1610.
12. McNeal C.J., Ogilvie K.K., Theriault N.Y., Nemer M.J. // J. Am. Chem. Soc. 1982. V. 104. P. 976 - 980.
13. McNeal C.J., Ogilvie K.K., Theriault N.Y., Nemer M.J. // J. Am. Chem. Soc. 1982. V. 104. P. 972 - 975.
14. Aduru S., Chait B.T. // Anal. Chem. 1991. V. 63. P. 1621 - 1625.
15. Jardine I. // The Analysis of Peptides and Proteins by Mass Spectrometry / Ed. C.J. McNeal. N. Y.: Wiley, 1988. P. 41 - 54.
16. Martin W.B., Silly L., Murphy C.M., Raley T.J., Cotter R.J., Bean M. // Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes. 1989. V. 92. P. 243 - 265.
17. Kamensky I., Craig A.G. // Anal. Instrum. 1987. V. 16. P. 71 - 91.
18. Khan A.H., Shaikh B., Allen E.H., Sokoloski E.A. // Biomed. Environ. Mass Spectrom. 1988. V. 17. P. 329 - 335.
19. McNeal C.J., Macfarlane R.D. // Proc. IV Int. Conf. on Ion Formation from Organic Solids (IFOS IV). 1987 / Eds J. Benninghoven. Chichester: Wiley, 1989. P. 63 - 70.
20. McNeal C.J., Macfarlane R.D., Jardine I. // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1986. V. 139. P. 18 - 24.

21. *Macfarlane R.D.* // Trends Anal. Chem. 1988. V. 7. P. 179 - 183.
22. *Jardine I., Scanlan G., McNeil M., Brennan P.J.* // Anal. Chem. 1989. V. 61. P. 416 - 422.
23. *Furukawa K., Chait B.T., Lloyd K.O.* // J. Biol. Chem. 1988. V. 263. P. 14939 - 14947.
24. *Bozic C.M., McNeil M., Chatterjee D., Jardine I., Brennan P.J.* // J. Biol. Chem. 1988. V. 263. P. 14984 - 14991.
25. *Yang Y.M., Lloyd H.A., Pannell L.K., Fales H.M., Macfarlane R.D., McNeal C.J., Ito Y.* // Biomed. Environ. Mass Spectrom. 1986. V. 13. P. 439 - 445.
26. *Wang R., Chen L., Cotter R.J., Qureshi N., Takayama K.* // J. Microbiol. Methods. 1992. V. 15. P. 151 - 166.
27. *Fales H.M., Yang Y.-M., Pannell L.K., Lamoureux C.J.H., Feil V.J.* // Biomed. Environ. Mass Spectrom. 1989. V. 18. P. 71 - 76.
28. *Аникин М.В., Дубовская С.И., Чупин В.В., Серебренникова Г.А.* // Биооргани. химия. 1993. Т. 19. С. 1102 - 1110.
29. *Knysh A.N., Savin O.R., Loschinin M.B., Kirianov G.J., Bondarenko P.V., Zubarev R.A., Rozynov B.V.* // Proc. V Int. Conf. Chem. Biotechnol. Biol. Active Nat. Prod. V. 2. Varna, 1989. P. 370 - 372.
30. *Bean M.F., Bangs J.D., Doering T.L., Englung P.T., Hart G.W., Fenselau C., Cotter R.J.* // Anal. Chem. 1989. V. 61. P. 2686 - 2688.
31. *Allmaier G., Caparros M.R., Pittenauer E.* // Rapid Commun. Mass Spectrom. 1992. V. 6. P. 284 - 288.
32. *Wang R., Cotter R.J., Tiao-Yin Lin, Laskowski M.Jr.* // Rapid Commun. Mass Spectrom. 1988. V. 2. P. 71 - 73.
33. *Demirev P.* // Biomed. Environ. Mass Spectrom. 1987. V. 14. P. 241 - 246.
34. *Lacey M.P., Keough T.* // Anal. Chem. 1991. V. 63. P. 1482 - 1487.
35. *Allmaier G., Pittenauer E., Schmid E.R.* // Organ. Mass Spectrom. 1991. V. 26. P. 804 - 806.
36. *Константинова И.Д., Ушакова И.П., Серебренникова Г.А.* // Биооргани. химия. 1993. Т. 19. С. 804 - 848.
37. *Кльков В.Н., Остапенко О.В., Серебренникова Г.А.* // Биооргани. химия. 1993. Т. 19. С. 360 - 365.
38. *Sablina M.A., Ushakova I.P., Serebrennikova G.A.* // Mendeleev Commun. 1995. P. 6 - 8.
39. *Константинова И.Д., Завгородний С.Г., Мирончиков А.И., Ушакова И.П., Серебренникова Г.А.* // Биооргани. химия. 1995. Т. 21. С. 71 - 74.
40. *Yang Y.M., Sokoloski E.A., Fales H.M., Pannell L.K.* // Biomed. Environ. Mass Spectrom. 1986. V. 13. P. 489 - 494.
41. *Zingaro R.A., Vindiola A.G., Zoeller Jr.* // Int. J. Mass Spectrom. Ion Phys. 1983. V. 53. P. 349 - 352.
42. *Van Veelen P.A., Tjaden U.R., van der Greef J.* // Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes. 1991. V. 110. P. 93 - 101.
43. *Bolbach G., Beavis R., Della Negra S., Deprun C., Ens W., LeBeuyc Y., Main D.E., Schueler B., Standing K.G.* // Nucl. Instr. Meth. Phys. Res. 1988. V. B30. P. 74 - 82.
44. *Bolbach G., Della-Negra S., Deprun C., Le Beuyc Y., Standing K.G.* // Rapid Commun. Mass Spectrom. 1987. V. 1. P. 22 - 24.
45. *Bolbach G., Viari A., Galera R., Brunot A., Blais J.C.* // Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes. 1992. V. 112. P. 93 - 100.
46. *Demirev P., Daya D., Barlo D.N., Brinkmalm G., Fenyoe D., Haakansson P., Sundqvist B.U.R.* // Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes. 1993. V. 123. P. 69 - 75.
47. *Showell J.S., Fales H.M., Sokoloski E.A.* // Organ. Mass Spectrom. 1989. V. 24. P. 632 - 636.
48. *Cole R.B., Domelsmith L.N., David C.M., Laine R.A., DeLucca A.J.* // Rapid Commun. Mass Spectrom. 1992. V. 6. P. 616 - 622.
49. *Qureshi N., Takayama K., Mascagny P., Honovich J., Wong R., Cotter R.J.* // J. Biol. Chem. 1988. V. 263. P. 11971 - 11976.
50. *Qureshi N., Takayama K., Meyer K.C., Kirkland T.N., Bush C.A., Chen L., Wang R., Cotter R.J.* // J. Biol. Chem. 1991. V. 266. P. 6532 - 6538.
51. *Jardine I., Hunter S.W., Brennan P.J., McNeal C.J., Macfarlane R.D.* // Biomed. Environ. Mass Spectrom. 1986. V. 13. P. 273 - 276.
52. *Deprun C., Szabo L.* // Rapid Commun. Mass Spectrom. 1989. V. 3. P. 171 - 174.
53. *Craig A.G., Bennich H., Derrick P.J.* // Organ. Mass Spectrom. 1991. V. 26. P. 1037 - 1038.
54. *Heller D.N., Fenselau C., Cotter R.J., Demirev P., Olthoff J.K., Honovich J., Uy M., Tanaka T., Kishimoto Y.* // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1987. V. 142. P. 194 - 199.
55. *Chait B.T., Field F.H.* // J. Am. Chem. Soc. 1982. V. 104. P. 5519 - 5521.
56. *Chait B.T., Field F.H.* // J. Am. Chem. Soc. 1984. V. 106. P. 1931 - 1938.
57. *Chait B.T.* // Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes. 1989. V. 92. P. 297 - 329.
58. *Hunt J.E., Macfarlane R.D., Katz J.J., Dougherty R.C.* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1980. V. 77. P. 1745 - 1748.
59. *Hunt J.E., Macfarlane R.D., Katz J.J., Dougherty R.C.* // J. Am. Chem. Soc. 1981. V. 103. P. 6775 - 6778.
60. *Tuszynski W., Angermann R., Hillmann F., Maier-Schwartz K.* // NATO ASI Ser. Ser. B. 1991. V. 269. P. 61 - 65.
61. *Hunt J.E., Schaber P.M., Michalski T.J., Dougherty R.C., Katz J.J.* // Int. J. Mass Spectrom. Ion Phys. 1983. V. 53. P. 45 - 58.
62. *Lindsey J.S., Chaudhary T., Chait B.T.* // Anal. Chem. 1992. V. 64. P. 2804 - 2814.
63. *Hunt J.E.* // Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. Sect. B. 1987. V. 27. P. 181 - 187.
64. *Грибкова С.Е., Резцова Н.А., Лузгина В.Н., Евстигнеева Р.П., Кулиш М.А.* // Биооргани. химия. 1994. Т. 20. С. 536 - 542.
65. *Боровков В.В., Грибков А.А., Евстигнеева Р.П., Струганова И.А., Пономарев Г.В., Кириллова Г.В., Розынов Б.В., Бондаренко П.В., Зубарев П.А., Кныш А.Н.* // Химия гетероцикл. соединений. 1991. С. 1324 - 1330.

66. Loo J.A., Williams E.R., Amster I.J., Furlong J.J.P., Wang B.H., McLafferty F.W., Chait B.T., Field F.H. // *Anal. Chem.* 1987. V. 59. P. 1880 - 1882.
67. Hunt J.E., Michalski T.J., Katz J.J. // *Int. J. Mass Spectrom. Ion Phys.* 1983. V. 53. P. 335 - 336.
68. Levinson E.G., Reztsova N.A., Mironov A.F. // *Mendeleeev Commun.* 1995. P. 44 - 46.
69. Wood K.V., Bonham C.C., Chou M.-I.M. // *Energy Fuels.* 1990. V. 4. P. 747 - 748.
70. Fenselau C., Wang R., Odell G.B., Mogilevsky W. // *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes.* 1989. V. 92. P. 289 - 295.
71. Beug-Deeb M.U.D., Bennett J.A., Inman M.E., Schweikert E.A. // *Anal. Chim. Acta.* 1989. V. 218. P. 85 - 92.
72. Turzynski W., Klenke T., Andermann R., Bartsch A., Maier-Schwartz K. // *Fresenius. Z. Anal. Chem.* 1989. V. 334. P. 686.

Plasma Desorption Mass Spectrometry of Natural Substances. 2.¹ Applications of the Method to the Analysis of Nucleotides, Carbohydrates, Lipids, and Pigments

N. A. Reztsova,² M. A. Kulish, and A. F. Mironov

Lomonosov State Academy of Fine Chemical Technology, pr. Vernadskogo 86, Moscow, 117571 Russia

Abstract—Applications of plasma desorption mass spectrometry to the analysis of natural compounds—peptides and proteins (Part 1), nucleotides, carbohydrates, lipids, and pigments—are reviewed. The review covers literature from 1982 to 1995.

Key words: plasma desorption mass spectrometry (PD MS), oligonucleotides, carbohydrates, lipids, pigments.

¹ Part 1 of the review: see [1].

² To whom correspondence should be addressed.