

Визначення похідних кумарину мас-спектрометричним методом з використанням кремнеземних підкладок

А. Шевчук¹, Л. Костенко¹, О. Севериновська², П. Кузема²

¹Київський національний університет імені Тараса Шевченка, вул. Володимирська 64, Київ, Україна, 01601 e-mail: kost_2009@meta.ua

²Інститут хімії поверхні ім. О.О. Чуйка НАН України, вул. Генерела Наумова 17, 03164 Київ, Україна

Надійшла: 29 липня 2012 р. / Затверджена до друку: 2 серпня 2012 р.

В роботі вивчали можливість використання кремнеземних матеріалів різної поруватості (аеросил, силікагель) та природи поверхневих груп, як підкладок для ЛДІ МС, на прикладі аналізу деяких похідних кумарину. Одержані результати порівнювали з даними для планарних підкладок - окисненим поруватим кремнієм та поруватим склом. Досліджено вплив способу підготовки зразків до аналізу на фрагментацію та інтенсивність піку молекулярних йонів аналізованих речовин. Найбільш ефективним виявився спосіб імпрегування з розчину. Природа розчинника та наявність води істотно впливають на ефективність ЛДІ похідних кумарину. Оптимальним виявився розчинник ТГФ:Н₂О=1:1. Результати досліджень свідчать про перспективність використання кремнеземних підкладок для аналізу малих молекул, однак неоднозначність впливу варіюваних параметрів на якість мас-спектрів досліджуваних сполук унеможлиблює виявлення універсальної підкладки.

A. SHEVCHUK, L.KOSTENKO, O. SEVERINOVSKAYA, P. KUZEMA. ANALYSIS OF COUMARIN DERIVATIVES BY MASS SPECTROMETRY USING SILICA SUBSTRATES. *Silicas of different porosity (aerosil, silica gel) and nature of surface groups were studied as substrates for LDI MS on the example of some coumarin derivatives analysis. The results were compared with the data for planar substrates - oxidized porous silicon and porous glass. The influence of sample preparation technique on the analyte fragmentation and yield of the molecular ions was investigated. The most efficient technique was found to be the impregnation from solution. The nature of the solvent as well as the presence of water effects significantly on the ionization efficiency of coumarin derivatives. The optimum solvent was found to be THF: H₂O = 1:1. The results indicate that silica is a promising substrate for the analysis of small molecules, however, the ambiguous influence of varied parameters on the quality of the mass spectra of the investigated compounds makes it impossible to identify the universal substrate.*

Ключові слова: Лазерна десорбція/іонізація, мас-спектрометрія, кремнезем, похідні кумарину.

Keywords: Laser desorption/ionization, mass spectrometry, silica, coumarin derivatives.

Лазерна десорбція/іонізація (ЛДІ), як метод іонізації молекул у газовій фазі, одержаних шляхом лазерного опромінення аналізованої речовини, посідає значне місце у мас-спектрометрії (МС). Вона традиційно залишається одним із способів аналізу багатьох класів так званих «малих молекул» ($M < 1500$ Да) [1,2]. Однак, застосування ЛДІ МС обмежене високою імовірністю агрегації та фрагментації молекул аналізованих сполук через необхідність використання відносно високої потужності лазера для десорбції/іонізації, а також можливістю ефективного аналізу лише тих сполук, які мають високу поглинаючу здатність в області довжини хвилі лазерного випромінювання [3].

Для низькомолекулярних сполук, які безпосередньо не детектуються методом ЛДІ МС, запропоновано спосіб «дериватизації аналіту» - хімічну взаємодію за участю функціональних груп молекул досліджуваної сполуки і матриці (матрично-активована лазерна десорбція/іонізація, МАЛДІ).

Таким способом, наприклад, були досліджені карбонільні сполуки, дериватизовані шляхом реакції конденсації по карбонільній групі аналізованої речовини і аміногрупи матриці [4]. Проте підхід МАЛДІ найчастіше використовують для аналізу великих, нелетких та лабільних молекул, таких як білки, пептиди, вуглеводи, тощо [5].

Для подолання обмежень методу МАЛДІ в аналізі низькомолекулярних молекул, для ЛДІ в якості підкладок застосовують різноманітні неорганічні матеріали, що сприяють процесу десорбції/іонізації аналіту (активована поверхнею лазерна десорбція/іонізація, ПАЛДІ) [6]. Серед них активно досліджують підкладки на основі поруватого кремнію (десорбція/іонізація на поруватому кремнії, ДІОС), оксидів, напівпровідників, вуглецевих матеріалів та графіту (активована графітом лазерна десорбція/іонізація, ГАЛДІ), а також численні металеві підкладки [7,8,9]. В літературі, присвяченій ЛДІ МС, повідомлялося про успішне використання поруватих частинок на основі SiO₂ в

якості підкладок для аналізу пептидів [10]. Очевидно, що природа поверхні кремнезему та розмір пор повинні відігравати визначальну роль у можливості застосування SiO_2 в якості підкладок для ПЛДІ, оскільки ці фактори впливають на рівень локальної сольватації молекул аналіту, а кислотність груп поверхні – на здатність підкладки сприяти іонізації аналіту. Проте, вплив зазначених факторів практично не досліджувався. Тому в даній роботі для аналізу ЛДІ МС малих молекул в якості підкладок вивчали кремнеземні матеріали різної поруватості (аеросил, силікагель) які містили поверхневі групи різної природи: гідрофільні слабкокислотні силанольні групи, основні амінопропильні та гідрофобні триметилсилільні групи. Результати, одержані з використанням кремнеземних підкладок, порівнювали з даними для таких же планарних поруватих підкладок – окисненням поруватим кремнієм та поруватим склоом.

Дослідження проводили на прикладі похідних кумарину. Кумарини – природні фенольні гетероциклічні сполуки, в основі будови яких лежить

9,10-бензо- α -пірон (ненасичений ароматичний лактон *o*-гідроксікоричної кислоти). Похідні кумарину широко використовують в парфюмерії та косметології як запашні речовини для мила, парфумів, шампуней, сонцезахисних кремів та миючих засобів. Вони проявляють широкий спектр біологічної активності. У медицині деякі представники цього класу сполук застосовуються як антикоагулянти непрямої дії в якості ліків від тромбозів (препарати варфарин, аценокумарол). Антикоагулянтну дію мають деякі родентициди – отрути для гризунів на основі кумаринів. Вивчення ЛДІ-поведінки кумаринів є важливим з точки зору їх потенційного використання в якості органічних матриць для аналізу високомолекулярних сполук [11].

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИКИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Похідні кумарину (сполуки I-III) були надані фірмою PBMR Labs Ukraine.

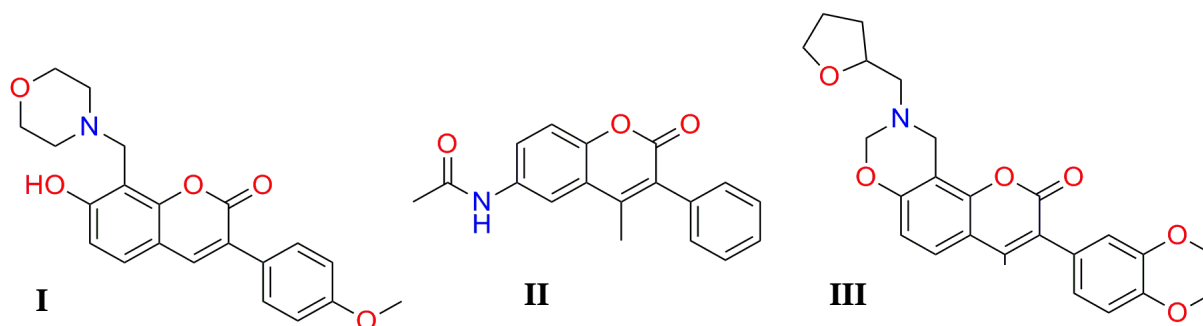


Рис.1 Структурні формули сполук: **I** - 7-гідроксі-3-(4-метоксифеніл)-8-(морфолінометил)-2Н-хромен-2-он; **II** - *N*-(4-метил-2-оксо-3-феніл-2Н-хромен-6)ацетамід **III** - 3-(3,4-диметоксифеніл)-4-метил-9-(тетрагідрофуран-2-іл)метил)-9,10-дигідрохромено[8,7-*e*][1,3]оксазин-2(8Н)-он;

Як підкладки для ЛДІ використовували наступні матеріали: мезопоруватий силікагель (**СГ**) (?-ерск, розмір часток 75-150 мкм, $d_{\text{пор}}=6$ нм); пірогенний непоруватий аеросил (**А-200**) (Degussa); пластини поруватого кремнію (**ПК**) з товщиною поруватого шару близько 10 мкм та об'ємною часткою пор $\approx 70\%$; порувате скло (**ПС**) та графіт. Кремнезemi (А, СГ) додатково функціоналізували амінопропильними ($\text{SiO}_2\text{-NH}_2$) та триметилсилільними ($\text{SiO}_2\text{/CH}_3$) групами. В якості розчинників використовували метанол (MeOH), тетрагідрофуран (ТГФ), ацетонітрил (MeCN) та деіонізовану воду для ВЕРХ (HPLC grade, Merck).

Досліджувані сполуки за участю кремнеземних дисперсних підкладок перед ЛДІ МС аналізом підготовлювали наступним чином. На поверхню сталевий підкладки прикріплювали двохсторонню алюмінієву провідну плівку, робили розмітку скальпелем та наносили порошокподібні зразки на клейку сторону плівки. Застосовували три способи підготовки зразків. В методі «висушеної краплі» на поверхню алюмінієвої плівки в межах роз-

мітки наносили сухий кремнезем, додавали 2 мкл аналіту, підсушували на повітрі та проводили ЛДІ МС дослідження. При *імрегнування з розчину* в епандорф до наважки кремнезему додавали розчин досліджуваної сполуки з розрахунку 10 моношарів сполуки на поверхню носія. Одержану суспензію висушували на повітрі, після чого зразок наносили на липку поверхню алюмінієвої плівки та проводили ЛДІ МС дослідження. При *сорбції розчинів сполук під дією ультразвуку* в мікроцентрифужну пробірку поміщали зважену кількість кремнеземного носія та додавали розчин сполуки в розрахунку 10 моношарів на поверхню матеріалу. Пробірку щільно закривали, піддавали дії ультразвуку протягом 30 хвилин, після чого вологий зразок наносили на плівку, як описано вище, та одразу проводили ЛДІ МС дослідження.

Мас-спектри ЛДІ досліджуваних сполук на підкладках реєстрували з використанням мас-спектрометра Autoflex II (Bruker Daltonics Inc, м. Бремен, Німеччина), обладнаного азотним лазером ($\lambda=337$ нм). Оптимальні умови запису мас-

спектрів сполук I-III визначали варіюванням параметрів приладу (потужність лазера, частота пострілів (Гц), кількість пострілів, час затримки екстракції йонів).

Іонізацію зразків проводили імпульсами тривалістю 3 нс з частотою 5 Гц та прискорюючою напругою 20 кВ. Спектри позитивно заряджених йонів реєстрували з використанням рефлектронного режиму з часовою затримкою екстракції йонів в 100 нс. Спектри реєстрували при 4 потужностях лазера (25, 50, 75 та 100%) та обробляли з використанням програмного забезпечення FlexAnalysis 2.2. Кожен спектр, записаний в масовому діапазоні m/z від 0 до 2000, накопичували зі 100 окремих спектрів.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Інтенсивність поглинання молекул за довжини хвилі випромінювання лазера може впливати на фрагментацію та інтенсивність молекулярного йона. Як видно із спектрів поглинання, представлених на рис.2, досліджувані сполуки I-III поглинають за довжини хвилі лазера (337 нм). Це є важливим фактором для успішної реєстрації мас-спектрів на кремнеземних матеріалах, оскільки підкладки на основі SiO_2 не поглинають в УФ-області та мають низьку теплопровідність, тому не можуть абсорбувати енергію та ефективно передавати її аналізованим молекулам.

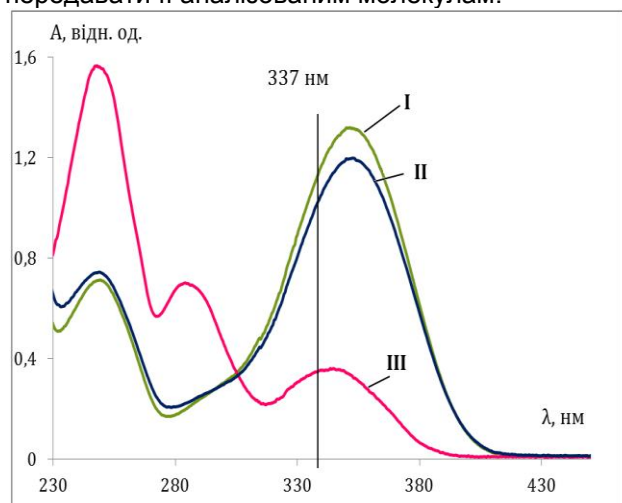


Рис. 2. Спектри поглинання речовин. $C=5 \cdot 10^{-5}$ М, ТГФ/ H_2O =1:1, $l=1$ см.

Інтенсивність поглинання за довжини хвилі лазера для сполуки III практично у 3-4 рази нижча від такої для сполук I та II. За рахунок цього, є висока імовірність, що ефективність ЛДІ цієї сполуки на кремнеземних підкладках буде найнижчою серед цих трьох досліджуваних речовин.

МС досліджуваних сполук, попередньо підготовлених із розчинників різної полярності та природи (тетрагідрофуран, метанол та ацетонітрил), відрізнялися між собою як інтенсивністю сигналу, так і ступенем фрагментації. Це свідчить

про суттєвий вплив природи розчинника на лазерну десорбцію/іонізацію досліджуваних речовин.

Так, за однакових концентраційних умов найнижча інтенсивність сигналу молекулярного йона спостерігалась в протондонорному розчиннику, тобто із метанольних розчинів. У мас спектрах кумаринів з використанням найбільш полярного розчинника апротонної природи ацетонітрилу – відбувалась найбільша фрагментація.

На Рис.3 наведено мас-спектри сполуки I з молекулярною масою йона $[M+H]^+=368,2$, одержані з різних розчинників на планарній підкладці поруватого скла.

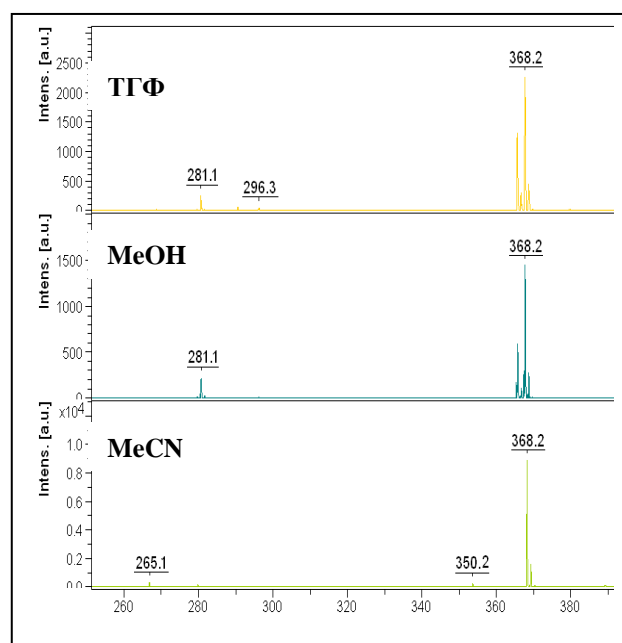


Рис.3. Вплив природи розчинника на характеристики мас-спектру сполуки I. 30% лазера, підкладка – порувате скло, $C=3 \cdot 10^{-3}$ моль/л, $V=2$ мкл.

I хоча, як правило, фрагментація сполук I та III з тетрагідрофуранових розчинів була найменшою, а інтенсивність піку молекулярного йона аналіту - найвищою, ця закономірність не завжди виконується. Втім, у випадку сполуки II з ТГФ-розчину в мас-спектрі не вдалось зареєструвати пік молекулярного йона $[M+H]^+=294,1$ задовільної інтенсивності (Рис.4).

Додавання води до складу розчинника позитивно позначається як на ефективності іонізації досліджуваних речовин, так і на можливості одержання молекулярного йона у мас-спектрах ($[M+H]^+=294,1$; $[M+Na]^+=316,1$; $[M+K]^+=332,1$). Це може бути пояснено тим фактом, що вода в порах підкладки сольатує молекулу аналіту, полегшуючи його десорбцію/іонізацію з пор. Тому для подальших експериментів ми використовували в якості розчинника для аналітів суміш ТГФ з водою у співвідношенні 1:1, оскільки в такій системі молекулярний йон аналітів спостерігався, як правило, з найвищою інтенсивністю.

Для виявлення впливу матеріалу підкладки на ефективність ЛДІ досліджуваних сполук було проведено серію дослідів розчинів похідних кумарину на кремнеземних підкладках в порівнянні зі стандартною сталеву підкладкою (ЛДІ), графітовою та з використанням матриці дигідроксibenзойної кислоти, ДГБ (МАЛДІ), варіюючи при цьому потужність лазера.

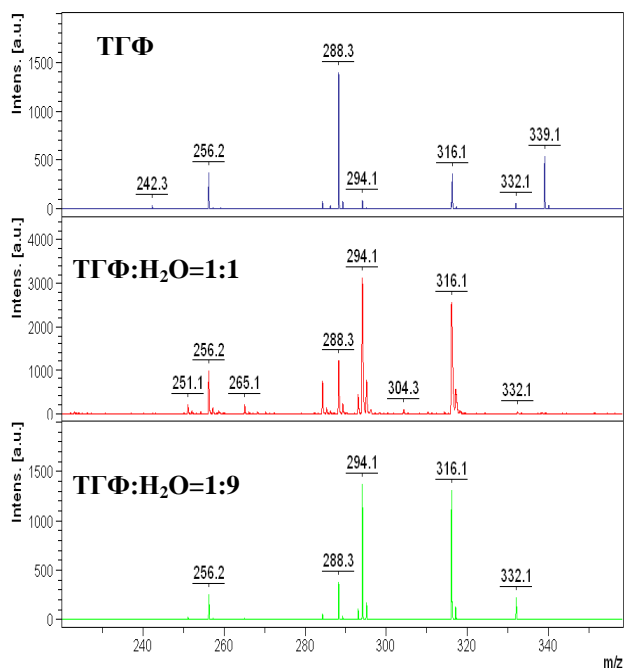


Рис.4. Вплив вмісту води в складі розчинника на характеристики МС сполуки II.

З рисунку 5 видно, що найбільш ефективною є сталеву підкладка, що узгоджується з даними УФ спектроскопії, які вказують на високу поглинаючу здатність цієї сполуки в області довжини хвилі лазера. Ефективність СГ обумовлена поруватістю, яка забезпечує «мокре оточення» молекулам аналізованої речовини та полегшує їх десорбцію/іонізацію.

В усіх мас-спектрах, як видно з результатів, наведених на Рис. 5, було зафіксовано утворення молекулярного йона сполуки I навіть за умов використання малої потужності лазера. Однак інтенсивність сигналу молекулярного йона сполуки I найвища у випадку безматричної ЛДІ. В МАЛДІ-експерименті за участю ДГБ помічається значна фрагментація та низька інтенсивність молекулярного піку аналогічно до ГАЛДІ мас спектру. Беручи до уваги природу підкладок, необхідно зазначити, що з усіх кремнеземних підкладок найефективнішою виявився немодифікований силікагель, оскільки у відповідному спектрі спостерігався лише один фрагмент. Для сполуки II дослідили ефективність іонізації на різних підкладках за різних потужностей лазера. На рис. 6. зображено мас-спектри сполуки II при 60% потужності лазера від номінальної.

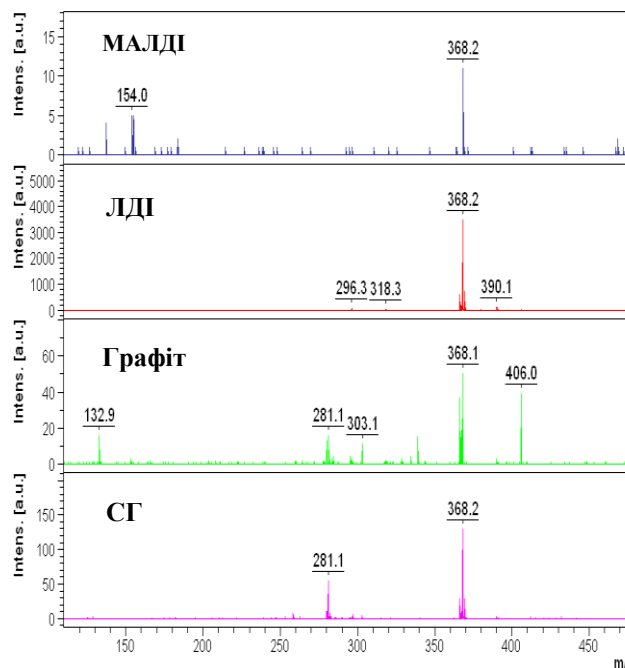


Рис.5. Вплив матеріалу підкладки на характеристики мас-спектру сполуки I. 30% лазер, $C=5 \cdot 10^{-4} M$, ТГФ:H₂O=1:1, V=2 мкл.

В даному випадку, серед кремнеземних підкладок найефективнішою виявився аеросил, модифікований триметилсилільними групами.

Пік молекулярного йона сполуки II характеризувався значною інтенсивністю, в мас-спектрі спостерігався лише один фрагмент. На сталеву підкладці не спостерігалось фрагментації молекул, однак було зафіксовано високу інтенсивність сигналу, що відповідає йону $[M+Na]^+$. При іонізації методами МАЛДІ та ГАЛДІ молекулярний йон досліджуваної сполуки був менш інтенсивним та спостерігались адукти з лужними металами.

Для сполуки III на кремнеземних підкладках молекулярний йон в мас-спектрі було отримано лише при використанні амінопропілсилікагелю в якості підкладки при нанесенні зразка способом імпрегнавання з розчину та максимальній потужності лазера (100%). Мас-спектри сполуки III, одержані з поверхні сталеву підкладки (ЛДІ й МАЛДІ) та графіту містили багато фрагментів. З поверхні кремнеземної підкладки було отримано мало фрагментований мас-спектр низької інтенсивності.

Дослідження впливу матеріалу підкладки показали ефективність кремнеземних підкладок на рівні зі стандартними. Фрагментація досліджуваних молекул майже не спостерігалась, хоча для успішної реєстрації молекулярних йонів у мас-спектрі потрібно було використовувати вищі енергії лазера.

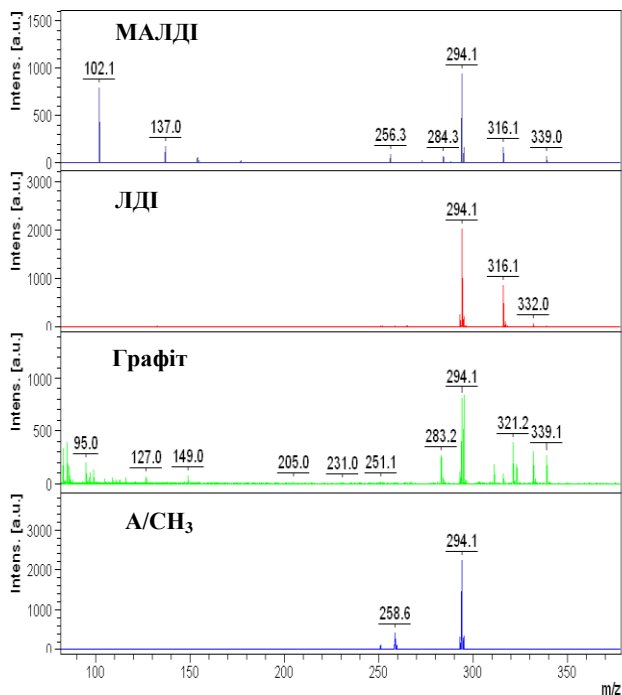


Рис.6. Вплив матеріалу підкладки на характеристики мас-спектру сполуки II. 60 % лазера, $C=5 \cdot 10^{-4}$ М, ТГФ: $H_2O=1:1$, $V=2$ мкл.

Для виявлення впливу *морфології поверхні* кремнеземних підкладок на ЛДІ малих молекул, дослідження проводили на прикладі планарних та дисперсних поруватих матеріалів: окиснений кремній, порувате скло, силікагель та непоруватий аеросил. Як з'ясувалося (Рис.7), морфологія поверхні кремнеземних підкладок значно впливає як на можливість реєстрації молекулярних іонів у мас-спектрах, так і на фрагментацію молекул і інтенсивність сигналів їх молекулярних іонів.

Для всіх досліджуваних сполук поруватий окиснений кремній (ПК) виявився неефективною іонізаційною підкладкою. Цей факт можна пояснити суттєвим поглинанням випромінювання лазера одночасно ПК і досліджуваними сполуками, що вірогідніше за все призводить до деструкції, а не іонізації молекул аналіту. При використанні поруватого скла мас-спектр характеризувався високою інтенсивністю сигналу молекулярного йона, однак також спостерігалася значна фрагментація та агрегація молекул аналізованої речовини. На немодифікованому силікагелі аналітичний сигнал у мас-спектрі мав найвищу інтенсивність, а мас-спектр характеризувався найменшою фрагментацією аналізованої речовини, у той час як у випадку ЛДІ з використанням непоруватого аеросилу сигнал молекулярного йона був низької інтенсивності.

Для сполуки II з використанням усіх підкладок на основі SiO_2 було також одержано аналітичний сигнал мас-спектрах (рис. 7 Б). У мас-спектрах сполуки II, отриманих на силікагелі та аеросилі,

не було фрагментів сполуки, однак на аеросилі інтенсивність піку молекулярного йона була низька. З поверхні підкладки ПК сигналу молекулярного йона отримано не було (можливо за тих же причин, що і у випадку зі сполукою I). З поверхні поруватого скла пік молекулярного йона мав помірну інтенсивність, однак була значна частка піків молекулярних іонів $[M+Na]^+$ та $[M+K]^+$.

Це зумовлено високим вмістом цих катіонів в склі. Для сполуки III при потужності лазера 100% було отримано аналітичний сигнал молекулярного йона лише з поверхні ПС.

В спектрі, отриманому з поверхні поруватого скла, спостерігався молекулярний йон значної інтенсивності, водночас слід відмітити значну фрагментацію та агрегацію молекули. Не було виявлено аналітичних сигналів у мас-спектрах з поверхні ПК, немодифікованого силікагелю та аеросилу.

Таким чином, морфологія поверхні підкладок на основі SiO_2 є важливим фактором, що може впливати як на можливість реєстрації аналітичного сигналу в мас-спектрі, так і на фрагментацію молекули та інтенсивність сигналу молекулярного йона. Однак чіткої закономірності процесу йонування досліджуваних речовин на кремнеземних підкладках з різною морфологією поверхні виявлено не було.

Природа поверхневих груп підкладки впливає на силу взаємодії досліджуваних молекул з поверхнею та ефективність розподілу поглиненої матеріалом енергії лазера, тобто саме вона буде в значній мірі відповідати за процеси десорбції/іонізації або деструкції. Для з'ясування впливу цього фактора порівнювали мас-спектри, одержані з підкладок однакової морфології, що містили різні поверхневі групи, при однаковому відсотку ефективності лазера та способі підготовки зразків.

Значний вплив природи закріплених груп на характер спектру можна прослідкувати на прикладі сполуки I на Рис.8. Так, з поверхні СГ було отримано мас-спектр, де пік молекулярного йона $[M+H]^+=368,2$ був високої інтенсивності, однак спостерігалась деяка фрагментація.

З поверхні амінопропілсилікагелю (СГ- NH_2) та гідрофобного силікагелю (СГ/ CH_3) сигнал молекулярного йона в мас-спектрі був низької інтенсивності.

Найбільша інтенсивність піку молекулярного йона на поверхні немодифікованого кремнезему може бути пояснена найвищою в порівнянні з іншими кремнеземами концентрацією гідроксильних груп («постачальників» протонів для молекулярних іонів аналіту), тобто його гідрофільними властивостями.

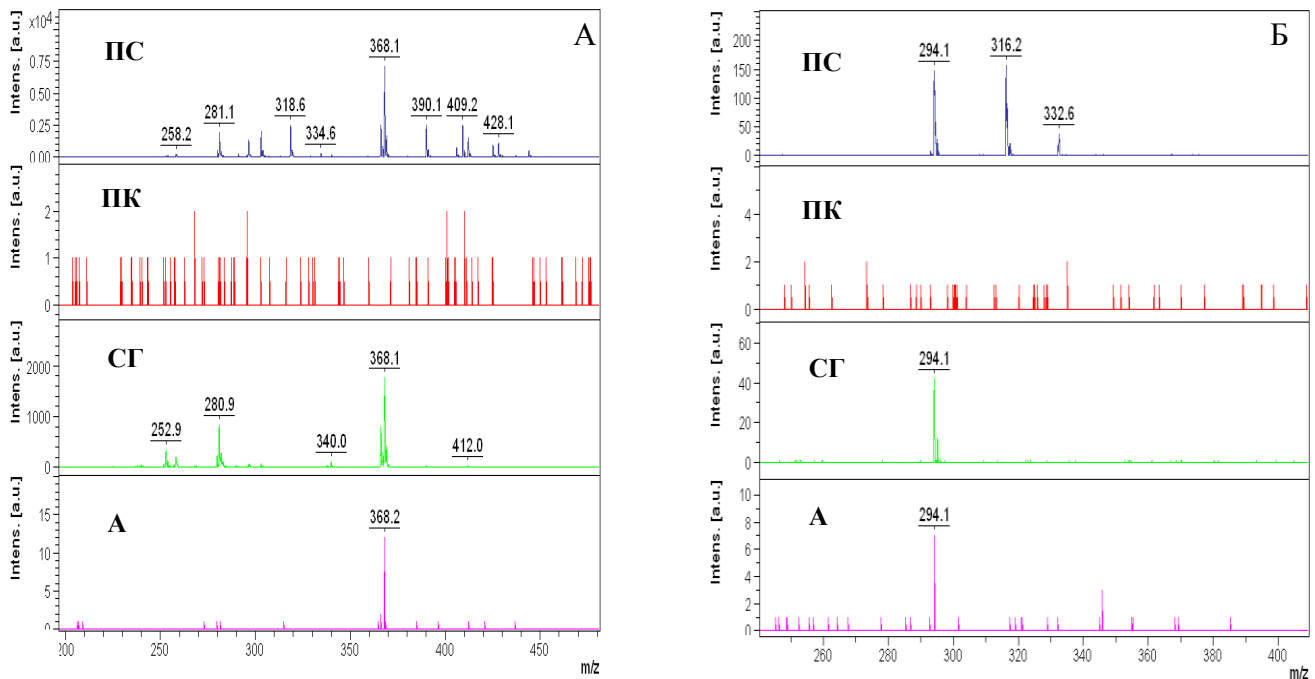


Рис.7. Вплив морфології поверхні на характеристики МС сполук: I, 75 % лазер (А); II, 100% лазер (Б). $C=5 \cdot 10^{-4}$ М в ТГФ:Н₂О=1:1.

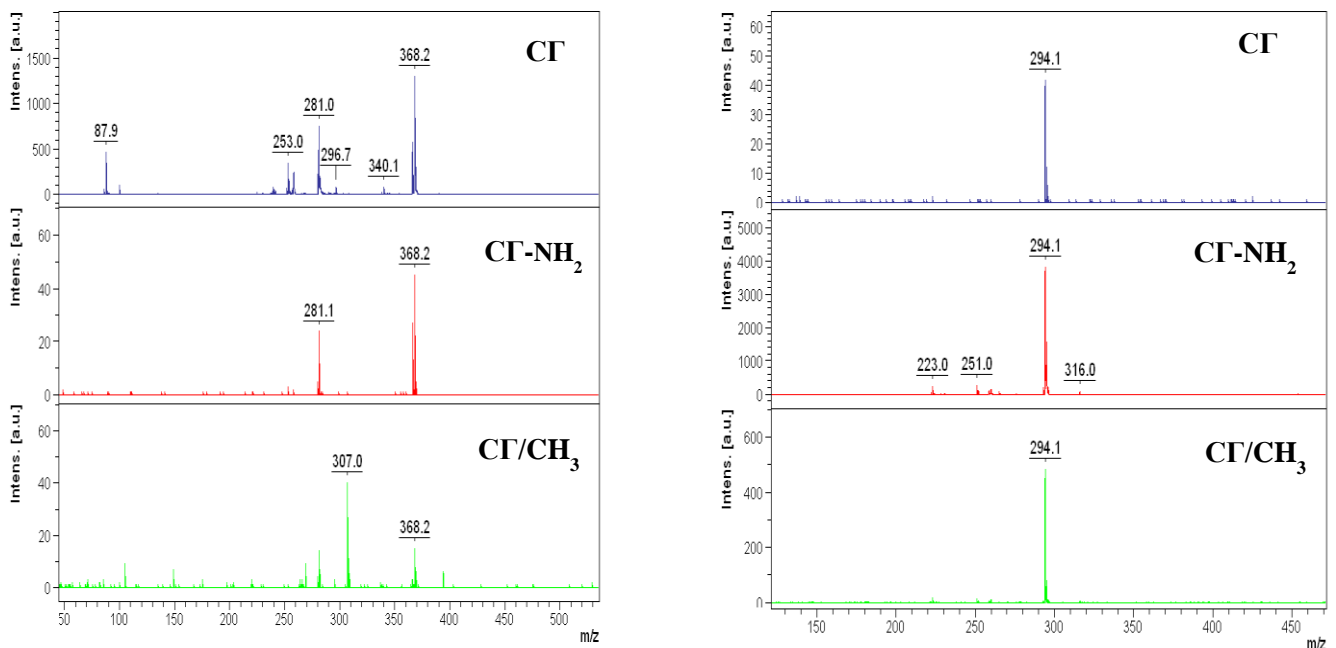


Рис.8. Вплив природи поверхневих груп на характеристики ЛДІ МС сполук: сполука I (зліва); сполука II (справа). 100% лазер. $C=5 \cdot 10^{-4}$ М, ТГФ:Н₂О=1:1, імпрегування.

На кремнеземних підкладках фрагментація сполуки II практично відсутня (Рис.8). Однак і в даному випадку природа поверхневих груп підкладки істотно впливає на інтенсивність піку молекулярного йона. Тобто, взаємодія аналіту з немодифікованою поверхнею кремнезему характеризується найбільшою енергією, а тому й ускладнює його ефективну десорбцію.

Для сполуки III кремнеземні підкладки виявились менш ефективними в порівнянні зі стандарт-

ними підкладками. Мас-спектр задовільної якості був отриманий лише з поверхні СГ-NH₂ (Рис.9).

Додатково до обговорених вище причин такого ускладнення (відносно низька поглинаюча здатність цієї речовини в області довжини хвилі лазера) додається значно більший поперечний переріз молекули, та, відповідно, планарне її розміщення через взаємодію з поверхнею дисперсних носіїв. Всі ці чинники сприяють ускладненню ефективної десорбції/іонізації аналізованої речовини.

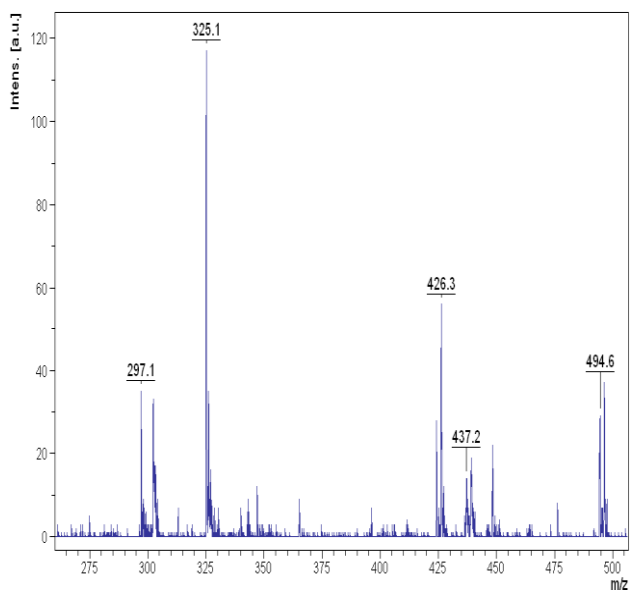


Рис.9. Мас-спектр сполуки III з підкладки CГ-NH₂. 100% лазер, C=5·10⁻⁴ моль/л в ТГФ:H₂O=1:1, імпрегнування.

Таким чином, природа поверхневих груп може істотно впливати на можливість реєстрації та інтенсивність сигналу молекулярного йона у мас-спектрі, а також його фрагментацію. Це свідчить про значну взаємодію молекул аналізованої речовини з поверхневими групами підкладки.

Вплив багатьох факторів на якість мас-спектрів досліджуваних сполук унеможливує виявлення універсальної підкладки. Для сполук II та III оптимальним виявився силікагель, модифі-

кований амінопропілсилільними групами, а для сполуки I - немодифікований силікагель.

З результатів експерименту по дослідженню способів підготовки зразків до аналізу (метод «висушеної краплі», імпрегнування та сорбцію під дією ультразвуку) виявилось, що спосіб нанесення речовини також важливий і впливатиме на можливість реєстрації та інтенсивність сигналу молекулярного. Для сполуки I оптимальним виявився спосіб імпрегнування з розчину.

Спосіб підготовки висушеною краплею виявився найгіршим для сполуки II, молекулярний йон був мас-спектрально зареєстрований лише з поверхні гідрофобізованого аеросилу. Для сполуки II кращі результати одержано у випадку імпрегнування з розчину, про що свідчать аналітичні сигнали, зареєстровані у мас-спектрах з використанням найбільшої кількості кремнеземів, Табл. 1.

Однак, сигнал молекулярного йона найвищої інтенсивності був у випадку використання гідрофобного аеросилу при підготовці зразка способом сорбції. В Табл.1 наведено усереднені площі піків за трьома паралельними дослідженнями для всіх досліджуваних сполук.

Для сполуки III не вдалось виявити оптимальний спосіб пробопідготовки, оскільки було одержано мас-спектри з низькою інтенсивністю сигналу молекулярного йона.

Таким чином, було досліджено вплив багатьох параметрів (вплив розчинника, підготовка зразків, морфологія поверхні кремнезему та природа поверхневих груп) на ефективність ЛДІ похідних кумарину.

Таблиця 1. Інтенсивність сигналу молекулярного йона сполуки I на кремнеземних підкладках залежно від способу підготовки зразків до аналізу.

Підкладка	\bar{S} піку, відн од. (лазер 100%)								
	Метод «висушеної краплі»			Імпрегнування			Сорбція		
	I	II	III	I	II	III	I	II	III
CГ		-		202	8	-		-	
CГ-NH ₂		-		4	757	7	-	24	-
CГ/CH ₃		-		3	158	-		-	
A-NH ₂		-		-	102	-		-	
A/CH ₃	-	51	4		-		-	1477	-

Отримані результати свідчать про можливість використання кремнеземних підкладок для аналізу малих молекул цього класу, однак характер впливу варіюваних параметрів на ефективність ЛДІ не є однозначним.

В цілому, з використанням високодисперсного SiO_2 як іонізаційної підкладки вдається ідентифікувати похідні кумарину методом ЛДІ МС. Наявність води у складі розчинника підвищує ефективність ЛДІ похідних кумарину на кремнеземних підкладках, оптимальний склад розчинника -

ТГФ: H_2O =1:1. Вплив природи поверхневих груп та морфології поверхні не є однозначним, тому в конкретному випадку доцільно проводити попередні дослідження ефективності кожної з кремнеземних підкладок.

Спосіб підготовки зразків суттєво впливає на ефективність ЛДІ: для аналізу похідних кумарину з використанням кремнеземних підкладок оптимальним способом підготовки зразків є метод імпрегнування аналіту з розчину.

ЛІТЕРАТУРА

1. Cohen L., Go E. P., Siuzdak G. Small-molecule desorption/ionization mass analysis. MALDI MS. A practical guide to instrumentation, methods and applications. Eds F. Hillenkamp, J. Peter-Katalini. Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2007. P. 346.
2. Fesenko T., Laguta I., Kuzema P., Stavinskaya O. Laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometric analysis of some synthetic flavonoids and their complexes with Zn and Fe. *Mater. Sci.* 2010. 16 (3), 272-277.
3. Peterson D. S. Matrix-free methods for laser desorption/ionization mass spectrometry. *Mass Spectrom. Rev.* 2007. 26(1), 19-34.
4. Mugo S. M., Bottaro C. S. Rapid on-plate and one-pot derivatization of carbonyl compounds for enhanced detection by reactive matrix LDI-TOF MS using the tailor-made reactive matrix, 4-dimethylamino-6-(4-methoxy-1-naphthyl)-1,3,5-triazine-2-hydrazine (DMNTH). *J. Mass Spectrom.* 2007. 42 (2), 206-217.
5. Webster J., Oxley D., Zanders E. D. Protein Identification by MALDI-TOF Mass Spectrometry. *Chemical genomics and proteomics. Reviews and Protocols.* - Totowa, NJ : Humana Press, 2012. 227-240.
6. Кузема П.А. Анализ малых молекул методом масс-спектрометрии с активируемой поверхностью лазерной десорбцией/ионизацией. *Масс-спектрометрия.* 2010. 7 (4), 243-260.
7. Budimir N., Blais J.-C., Fournier F., Tabet J.-C. The use of desorption/ionization on porous silicon mass spectrometry for the detection of negative ions for fatty acids. *Rapid Commun. Mass. Spectrom.* 2006. 20 (4), 680-684.
8. Coffinier Y., Szunerits S., Drobecq H. [et al.] Diamond nanowires for highly sensitive matrix-free mass spectrometry analysis of small molecules. *Nanoscale.* 2012. 4(1), 231-238.
9. Sonderegger H., Rameshan C., Lorenz H. [et al.] Surface-assisted laser desorption/ionization-mass spectrometry using TiO_2 -coated steel targets for the analysis of small molecules. *Anal. Bioanal. Chem.* 2011, 401 (6), 1963-1974.
10. Shenar N., Martinez J., Enjalbal C. Laser desorption/ionization mass spectrometry on porous silica and alumina for peptide mass fingerprinting. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 2008. 19 (5), 632-644.
11. Perera I. K., Kantartzoglou S., Dyer P.E. Coumarin laser dyes as matrices for matrix assisted UV laser desorption/ionization mass spectrometry. *Int. J. Mass Spectrom.* 1994. 1(137), 151-171.