

基于高分辨及能量分辨质谱的离子型铱(III)配合物

同位素指纹特征和裂解规律研究

谢小波¹, 代永成¹

(1. 四川大学分析测试中心, 成都 610064)

摘要: 铱(III)配合物是一类重要的过渡金属配合物。本研究以其中一类较为常见的离子型铱配合物 $[\text{Ir}(\text{C}^{\wedge}\text{N})_2(\text{N}^{\wedge}\text{N})]^+$ ($\text{C}^{\wedge}\text{N}$ 为 $\text{C}^{\wedge}\text{N}$ 配体, $\text{N}^{\wedge}\text{N}$ 为 $\text{N}^{\wedge}\text{N}$ 配体) 为研究对象, 利用高分辨质谱 (HRMS) 和串联质谱 (MS/MS) 技术对六种合成铱配合物的结构进行了精细表征, 包括同位素峰分布、碎裂途径及串联质谱解离效率等。研究表明铱配合物会产生一对相差 2 Da 且强度比约为 3:5 质谱峰即铱同位素特征指纹峰; 在 MS/MS 过程中, 这些配合物将丢失弱配位的 $\text{N}^{\wedge}\text{N}$ 配体, 产生稳定的四配位离子即 $[\text{Ir}(\text{C}^{\wedge}\text{N})_2]^+$, 且断键所需的能量可直接反映不同配合物中 $\text{N}^{\wedge}\text{N}$ 配体与中心金属铱离子之间的配位强弱。在实际分析过程中, 这些发现将为离子型铱配合物的快速识别与深度表征提供新的有力工具。

关键词: 铱配合物; 同位素指纹; 串联质谱; 高能碰撞解离

中图分类号: O657.6

文献标识码:

Research on isotopic fingerprints and fragmentation pathways of ionic iridium(III) complexes by high-resolution and energy-resolved mass spectrometry

Xie Xiaobo¹, Dai Yongcheng¹

(1. Analytical and Testing Center, Sichuan University, Chengdu 610064, China)

Abstract: Iridium(III) complexes are an important class of transition metal complexes. In this study, a family of ionic iridium complexes, i.e., $[\text{Ir}(\text{C}^{\wedge}\text{N})_2(\text{N}^{\wedge}\text{N})]^+$, was studied which contains two C,N-coordinating ligands and a N,N-chelating ligand. Six synthetic iridium complexes were explored by high-resolution mass spectrometry (HRMS) and tandem mass spectrometry (MS/MS) to obtain their isotopic peak distributions, fragmentation pathways and dissociation efficiencies. The results have shown that a pair of iridium isotope characteristic fingerprint peaks with a mass difference of 2 Da and an approximate intensity ratio of 3:5 can be obtained in their MS spectra.

Upon MS/MS, these complexes can produce stable tetracoordination ions denoted as $[^{191/193}\text{Ir}(\text{C}^{\wedge}\text{N})_2]^+$ due to the loss of the weakly coordinated $\text{N}^{\wedge}\text{N}$ ligand. Moreover, the collision energy required for bond breakage directly reflects the binding energies of $\text{N}^{\wedge}\text{N}$ ligands in different iridium species. During the analysis processes, these findings will provide a new powerful tool for rapid identification and in-depth characterization of ionic iridium complexes.

Keywords: Iridium Complexes, Isotopic Fingerprints, Tandem Mass Spectrometry, High Energy Collision-Induced Dissociation

引文

铱(III)配合物是一类重要的过渡金属有机配合物,广泛用作光化学反应的催化剂,¹有机电致发光器件材料,²⁻³ 荧磷光分子探针⁴⁻⁵ 以及用于光动力治疗⁶⁻⁷ 等。这类配合物通常为三个双齿配体或两个三齿配体与金属中心铱(III)形成的具有畸变八面体构型的六配位配合物。根据其带电荷的情况,可将铱(III)配合物分为离子型铱配合物和中性铱配合物。其中,离子型铱(III)配合物,通常由两个 $\text{C}^{\wedge}\text{N}$ 配体和一个 $\text{N}^{\wedge}\text{N}$ 配体构成,其合成方法简单、易于修饰,同时具有发光波段可调(从蓝光到红光)、耐光漂白及双光子性能等特点,已被广泛应用于生物传感及成像领域。⁸⁻⁹ 此外,我们课题组也利用这类铱配合物构建了用于活性氧分析的多模式光学探针¹⁰⁻¹¹ 和有机质谱探针¹², 并用于动物体内次氯酸的成像以及细胞内一氧化氮的准确检测和定量分析。然而,合成过渡金属配合物更新换代迅速,相应的标准物质或化学对照品获取较为困难。因此,对这类配合物的质谱同位素峰指纹特征及碰撞诱导裂解规律进行深入研究,将有助于未知铱配合物的结构表征及快速鉴定,对于铱配合物相关的反应中间体研究、探针识别机理以及体内代谢转化等研究提供重要工具。

本研究拟建立一种灵敏、准确、快速表征铱(III)配合物的分析方法,并对合成的六种结构不同的铱配合物进行高分辨质谱表征,获取包含精细同位素峰分布的一级质谱图,并通过对质谱图中同位素峰强度及其分布规律的研究,找出铱配合物的共有、特征的同位素指纹峰。同时,采用能量分辨的串联质谱技术对特征同位素指纹峰进行裂解,研究这类化合物的裂解规律及结构特点,并以 $\text{N}^{\wedge}\text{N}$ 配体中性丢失后形成的主碎片离子及母离子相对强度构建能量分辨曲线,用于研究配合物中 $\text{N}^{\wedge}\text{N}$ 配体和 $\text{C}^{\wedge}\text{N}$ 配体对中心金属 Ir 与 $\text{N}^{\wedge}\text{N}$ 配体之间的配位键的影响。

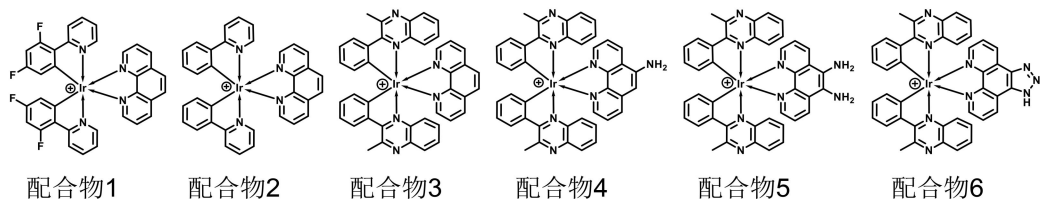


图 1 六种铈配合物的分子结构。

1 实验部分

1.1 仪器与装置

采用 Q Exactive plus 系列静电场轨道阱高分辨质谱仪（美国 ThermoFisher 公司）对样品进行一级质谱全扫描和串联质谱分析。

1.2 材料与样品

溶剂：甲醇、乙腈和水（LC-MS 级，Fisher 公司）。图 1 所示的 6 种铈（III）配合物（阴离子部分均为氯离子，图中仅展示质谱可检测的配合物正离子部分）是依据文献方法¹¹ 在实验室合成并纯化而得。

1.3 质谱条件

采用加热的电喷雾离子源（HESI），在正离子模式下，对铈配合物的甲醇-乙腈（v/v, 1:1）溶液，喷雾电压为+3.5 kV，进行一级质谱（MS）全扫描和串联质谱（MS/MS）分析，高纯氮气作为碰撞气，高能碰撞解离（high energy collision-induced dissociation, HCD）的能量设置为 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40%，质量隔离窗口通常设定为 1 Da，将主要同位素离子全选为母离子时质量隔离窗口设定为 6 Da。

2 结果与讨论

2.1 铈同位素指纹特征峰

图 1 所示的六种铈（III）配合物均为离子型铈配合物，由中心金属铈（III）与两个相同的 C^N 配体、一个 N^N 配体构成。其中，1、2 和 3 所含的 C^N 配体分别为 2-苯基吡啶、2-(2,4-二氟苯基)吡啶、2-甲基-3-苯基喹啉，N^N 配体均为 1,10-邻菲罗啉；4、5 和 6 与 3 具有相同的 C^N 配体即 2-甲基-3-苯基喹啉和不同的 N^N 配体，它们所含的 N^N 配体分别为 5-氨基-1,10-邻菲罗啉、5,6-二氨基-1,10-邻菲罗啉以及三氮唑并[4,5-f][1,10]-菲咯啉。

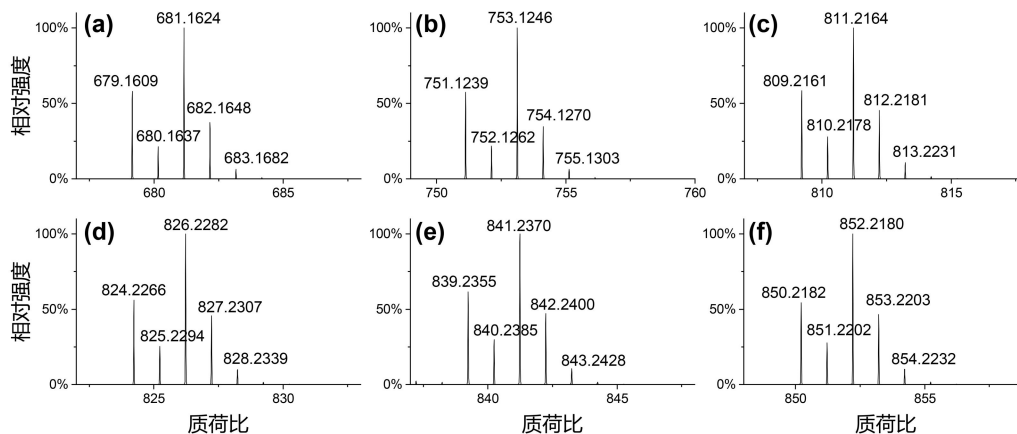


图 2 六种铱配合物的高分辨一级质谱图

(a) 配合物 1, (b) 配合物 2, (c) 配合物 3, (d) 配合物 4, (e) 配合物 5, (f) 配合物 6。

图 2a~f 为这 6 种配合物的一级质谱图，所有质谱图中第 3 根质谱峰（简称 M+2 峰）均为最高丰度同位素峰，也是这些配合物的单同位素峰；由于均带一个正电荷即 $z=1$ ，它们的精确质量在数值上与其理论质荷比（见表 1）相等，结果表明仪器测定的质荷比 (m/z) 与理论值误差均小于 5 ppm。在自然界中，元素铱常以 ^{191}Ir 和 ^{193}Ir 两种同位素形式存在，其天然丰度分别为 37.3% 和 62.7%，因此在质谱中会观察到一对相差 2 Da 的铱同位素指纹峰。鉴于其他元素的 A+1 同位素如 ^{13}C 、 ^1H 及 ^{15}N 等对 M+2 峰的贡献相对较小，因此第一根质谱峰又称 M 峰和 M+2 峰分别对应含 ^{191}Ir 和 ^{193}Ir 的两种微观离子，其理论质量差约为 2.0023 Da，峰强度比为两种天然铱同位素的丰度比即 $I(^{191}\text{Ir})/I(^{193}\text{Ir})=3:5$ 。表 1 总结了这些铱配合物中，第一根和第三根质谱峰的强度比 ($I_{\text{M}}/I_{\text{M}+2}$)，其均值为 $57.6\pm 1.5\%$ （约为 3:5）。这些同位素特征指纹，均可用于在样品中快速确认或识别铱配合物离子信号。

表 1 六种铱配合物的元素组成、理论 m/z 、测定值、相对误差及峰强度信息。

铱配合物	元素组成	理论质荷比	测定值	相对误差	$I_{\text{M}}/I_{\text{M}+2}$
配合物 1	$\text{C}_{34}\text{H}_{24}\text{IrN}_4^+$	681.1625	681.1624	0.1 ppm	57.6%
配合物 2	$\text{C}_{34}\text{H}_{20}\text{F}_4\text{IrN}_4^+$	753.1248	753.1246	0.3 ppm	57.4%
配合物 3	$\text{C}_{42}\text{H}_{30}\text{IrN}_6^+$	811.2156	811.2164	0.1 ppm	57.8%
配合物 4	$\text{C}_{42}\text{H}_{31}\text{IrN}_7^+$	826.2265	826.2282	2.1 ppm	55.9%
配合物 5	$\text{C}_{42}\text{H}_{32}\text{IrN}_8^+$	841.2374	841.2370	0.5 ppm	60.6%
配合物 6	$\text{C}_{42}\text{H}_{29}\text{IrN}_9^+$	852.2170	852.2180	1.2 ppm	56.4%

2.2 铱配合物碎裂机理

接下来,我们对这6种铱配合物进行了串联质谱分析(图3),进一步研究了其裂解规律和特征碎片。图3a为配合物1的串联质谱图(包含主要同位素离子,隔离窗口为 681.16 ± 3 Da),其中主要碎片峰为丢失N^N配体即1,10-邻菲罗啉后产生的四配位离子即 $[\text{Ir}(\text{C}^{\wedge}\text{N})_2]^+$,该碎片离子也具备 $^{191/193}\text{Ir}$ 特征同位素指纹,即一对相差2 Da且强度比约为3:5(59.15%:100%)的质谱峰即 m/z 499.09/501.09。其中,含 ^{193}Ir 的母离子($[\text{Ir}(\text{C}^{\wedge}\text{N})_2(\text{N}^{\wedge}\text{N})]^+$, m/z 681.16)产生含 ^{193}Ir 的碎片离子($[\text{Ir}(\text{C}^{\wedge}\text{N})_2]^+$, m/z 501.09),还有少量的碎片离子与质谱中的气态乙腈分子配位形成 $m/z = 542.12$ 的离子($[\text{Ir}(\text{C}^{\wedge}\text{N})_2(\text{CH}_3\text{C}\equiv\text{N})]^+$)。鉴于各同位素离子碎裂机理一致,因此本研究中均采用最高丰度同位素离子进行MS/MS分析,图3b~3h为这些配合物 $[\text{Ir}(\text{N}^{\wedge}\text{N})(\text{C}^{\wedge}\text{N})_2]^+$ 离子的MS/MS谱图。结果表明,这些配合物离子形成的主碎片均为N^N配体中性丢失形成的稳定四配位离子,配合物1~3的碎片结构见图3b-3d(m/z 501.09, 573.06和 631.15),而配合物3~6由于具有相同的C^N配体,形成的碎片离子均为图3d所示 $m/z = 631.15$ 的结构,均对应 ^{193}Ir 特征碎片离子。这也进一步证明,一级质谱图中的一对质谱峰,确实分别对应的是含 ^{191}Ir 和 ^{193}Ir 的微观离子。在离子型铱(III)配合物中,C-Ir之间形成金属键强于N与Ir之间形成的配位键,因此配位能力更弱的N^N配体通常以中性丢失的形式离去,形成稳定的四配位离子即 m/z 499/501, 571/573和 629/631。因此,串联质谱过程产生的中性丢失可用于确定N^N配体,而形成的稳定四配位离子则包含相应的C^N配体信息。在实际分析过程中,具有相同N^N配体的铱配合物可产生相同的中性丢失如配合物1~3,因此也可采用低分辨率三重四极杆质谱的中性丢失扫描(Neutral Loss Scan, NLS)对这类铱配合物进行快速筛选和鉴定;对相同C^N配体的铱配合物来说,解离过程通常会产生相同的碎片离子如配合物3~6,因此可采用母离子扫描(Precursor Ion Scan, PIS)或全离子碎片(All Ion Fragmentation, AIF)来筛选产生等质量碎片的母离子。目前,这种AIF的方法已经被我们课题组应用到了基于铱配合物的有机质谱探针在一氧化氮检测中的识别机理探索及定量研究,即目标物特异性产物的快速识别、准确鉴定及定量分析。¹²

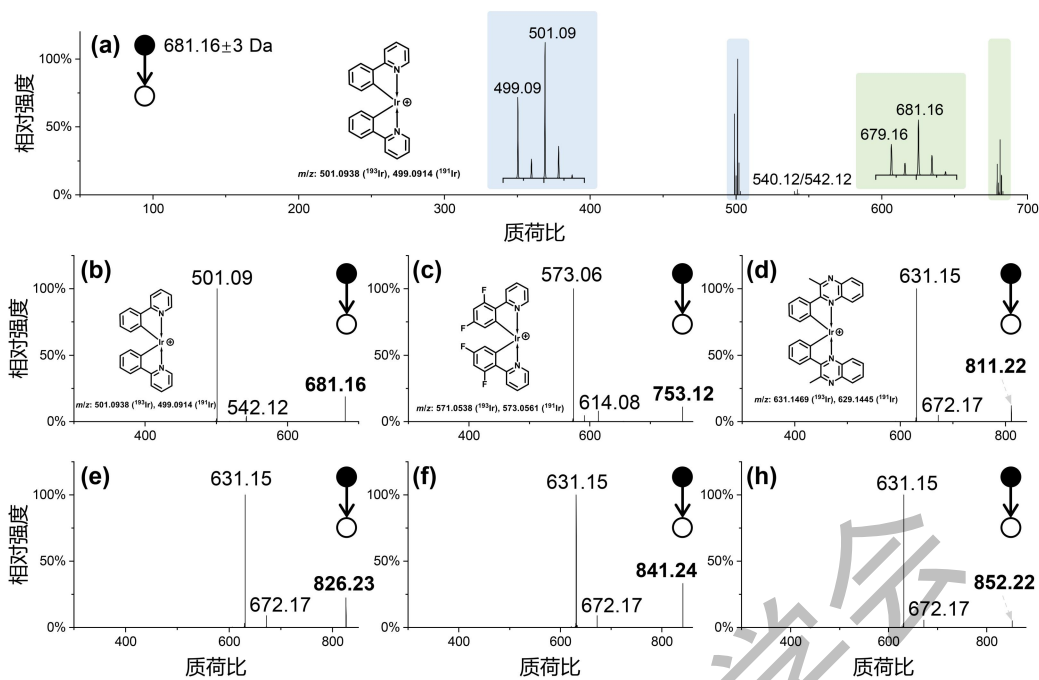


图 3 六种铱配合物在不同 HCD 能量下的串联质谱图

(a) 配合物 1 (母离子 m/z 681.2 \pm 3 Da, 25% 与 35% 的混合 HCD 能量); (b) 配合物 1 (母离子 m/z 681.16 \pm 0.5 Da, 30% 的 HCD 能量); (c) 配合物 2 (母离子 m/z 753.12 \pm 0.5 Da, 35% 的 HCD 能量); (d) 配合物 3 (母离子 m/z 811.22 \pm 0.5 Da, 25% 的 HCD 能量); (e) 配合物 4 (母离子 m/z 826.23 \pm 0.5 Da, 25% 的 HCD 能量); (f) 配合物 5 (母离子 m/z 841.24 \pm 0.5 Da, 25% 的 HCD 能量); (h) 配合物 6 (母离子 m/z 852.22 \pm 0.5 Da, 25% 的 HCD 能量)。

2.3 铱配合物碰撞诱导解离所需能量或裂解效率反映配位强弱

母离子进入碰撞池后, 通过与碰撞气体分子进行多次或反复碰撞, 将碰撞的动能转变为离子的内能, 从而诱导母离子发生碎裂。解离时, 母离子中最弱的化学键会优先断裂, 不同化学键断裂所需能量不同, 目前基于串联质谱的能量分辨质谱技术已被用于多种异构体分子的区分。¹³⁻¹⁵ 在本研究中, 我们发现这六种配合物离子在 MS/MS 过程中, 均丢失弱配位的 N^N 配体, 得到相对稳定的四配位碎片离子即 $[\text{Ir}(\text{C}^{\wedge}\text{N})_2]^+$ 。同时, 碎裂所需能量差异直接反映出不同铱配合物中, N^N 配体配位能力的差异, 类似的。以 1~3 为例, 同等能量情况下, 配合物 1~3 的碎裂效率是有差异的, 配合物 3 裂解效率最高, 配合物 1 次之, 配合物 2 最难碎裂。如图 4 灰色虚线所示, 要达到同等裂解效率如 50%, 配合物 2 需要的 HCD 能量最高。这可能是因为强吸电子的氟取代基的引入, 使中心金属铱具有更强的缺电子特性, 因而其与供电子 N^N 配体形成的配位键更稳定; 而更富电子的大共轭 C^N 配体即 2-甲基-3-苯基喹啉, 则会削弱 N^N 配体与 Ir 之间配位键, 因而在更低的 HCD 能量下, 即可产生同等的裂

解效率。

同时，N[^]N 配体本身的化学结构也会影响其与中心金属铱的配位，从而影响碰撞诱导解离效率。在配合物 3 的 N[^]N 配体上引入供电子的氨基后，可进一步增加其与中心金属铱的配位，比如配合物 4 和 5 相对更难裂解，且碎裂难度随供电子氨基的数目增加而增加。其中，三氮唑并[4,5-f][1,10]-菲咯啉作为 N[^]N 配体的配合物 6 最容易发生碎裂，这有可能是 N[^]N 配体的整体供电子能力被削弱导致。综上所述，本研究中的六种配合物的碎裂难易程度分别为： $6 < 3 < 4 < 5 < 1 < 2$ 。因此，我们也可以通过同等裂解效率所需的能量大小或相同能量下碎裂效率的差异，来粗略评估不同 C[^]N 配体对中心金属铱与其他 N[^]N 配体配位能力的影响，以及考察不同的 N[^]N 配体与中心金属铱的配位能力的强弱。这些发现为质谱

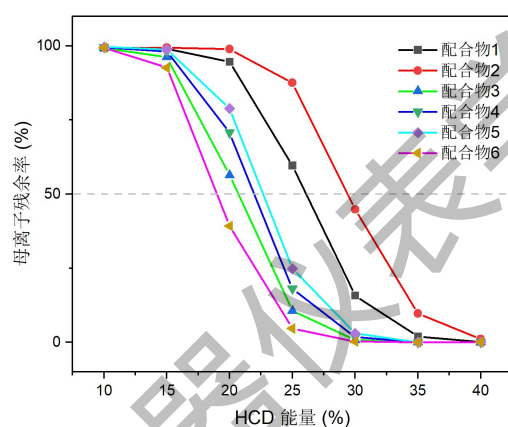


图 4. 铱配合物 1~6 的母离子残余率随 HCD 能量的变化趋势最高，以最高丰度同位素离子作为母离子进行能量分辨的串联质谱分析。

3 结论

本研究利用高分辨质谱 (HRMS) 和串联质谱 (MS/MS) 技术，建立了离子型铱 (III) 配合物的表征方法，从准确质量、^{191/193}Ir 特征同位素分布及离子裂解规律和裂解所需碰撞能量等多个方面对这类化合物进行了全面系统的研究，具体结论如下：

1) 由于 ¹⁹¹Ir 和 ¹⁹³Ir 的天然丰度分别为 37.3% 和 62.7%，因此在该类化合物的同位素谱图中，会观察到一组丰度比约为 3/5 且相差 2.0023 Da 的特征质谱峰，用于金属铱配合物的快速识别。

2) 解析了该类化合物的碎裂机理，首先经过丢失相对配位能力更弱的 N[^]N 配体，形成稳定的四配位离子 [Ir(C[^]N)₂]⁺，该离子同样包含铱特征同位素信息。

3) C[^]N 配体结构直接影响 N[^]N 配体与中心金属铱的配位，串联质谱中所需 CID 能量的大小直接反映出 N[^]N 配体与中心金属的配位键强弱。

参考文献:

- [1] Bawden J C, P S Francis, S DiLuzio, *et al.* Reinterpreting the Fate of Iridium(III) Photocatalysts—Screening a Combinatorial Library to Explore Light-Driven Side-Reactions[J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 2022, 144(25): 11189-11202.
- [2] Li Q, C Shi, M Huang, *et al.* Three Types of Charged Ligands Based Carboxyl-Containing Iridium(III) Complexes: Structures, Photophysics, and Solution Processed OLED Application[J]. *Inorg. Chem.*, 2021, 60(23): 17699-17704.
- [3] Zhao J-H, Y-X Hu, H-Y Lu, *et al.* Progress on benzimidazole-based iridium(III) complexes for application in phosphorescent OLEDs[J]. *Org. Electron.*, 2017, 41(56-72).
- [4] Lo K K-W. Molecular Design of Bioorthogonal Probes and Imaging Reagents Derived from Photofunctional Transition Metal Complexes[J]. *Acc. Chem. Res.*, 2020, 53(1): 32-44.
- [5] Wu W, X Liao, Y Chen, *et al.* Mitochondria-Targeting and Reversible Near-Infrared Emissive Iridium(III) Probe for in vivo ONOO⁻/GSH Redox Cycles Monitoring[J]. *Anal. Chem.*, 2021, 93(22): 8062-8070.
- [6] Guan R, L Xie, L Ji, *et al.* Phosphorescent Iridium(III) Complexes for Anticancer Applications[J]. *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2020, 2020(42): 3978-3986.
- [7] Kuang S, F Wei, J Karges, *et al.* Photodecaging of a Mitochondria-Localized Iridium(III) Endoperoxide Complex for Two-Photon Photoactivated Therapy under Hypoxia[J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 2022, 144(9): 4091-4101.
- [8] Lo K K-W, K Y Zhang. Iridium(III) complexes as therapeutic and bioimaging reagents for cellular applications[J]. *RSC Adv.*, 2012, 2(32).
- [9] Ma D-L, C Wu, W Tang, *et al.* Recent advances in iridium(III) complex-assisted nanomaterials for biological applications[J]. *J. Mater. Chem. B*, 2018, 6(4): 537-544.
- [10] Zhan Z, Z Su, L Chai, *et al.* Multimodal Imaging Iridium(III) Complex for Hypochlorous Acid in Living Systems[J]. *Anal. Chem.*, 2020, 92(12): 8285-8291.
- [11] Dai Y, K Zhang, X Yuan, *et al.* Novel Near-Infrared Iridium(III) Complex for Chemiluminescence Imaging of Hypochlorous Acid[J]. *Anal. Chem.*, 2023, 95(21): 8310-8317.
- [12] Dai Y, J Zhou, C Wei, *et al.* “Iridium Signature” Mass Spectrometric Probes: New Tools Integrated in a Liquid Chromatography–Mass Spectrometry Workflow for Routine Profiling

of Nitric Oxide and Metabolic Fingerprints in Cells[J]. *Anal. Chem.*, 2023, 95(23): 8990-8997.

[13] Chen J, Y Lu, L Lin, *et al.* Differentiation of configurations of the phenylbutenoid dimer derivatives from *Zingiber cassumunar* by tandem mass spectrometry[J]. *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, 2009, 23(11): 1654-1658.

[14] Falvo F, L Fiebig, F Dreiocker, *et al.* Fragmentation reactions of thiourea- and urea-compounds examined by tandem MS-, energy-resolved CID experiments, and theory[J]. *Int. J. Mass Spectrom.*, 2012, 330-332(124-133).

[15] Menachery S P M, O Lapr votte, T P Nguyen, *et al.* Identification of position isomers by energy - resolved mass spectrometry[J]. *J. Mass Spectrom.*, 2015, 50(7): 944-950.

中国仪器仪表学报