

MALDI-TOF 快速分析聚乙二醇化多肽药物及原料的分子量

MALDI-051

摘要：分子量是评价聚乙二醇修饰多肽或重组蛋白药物的重要指标，本文展示了应用 MALDI-TOF 检测聚乙二醇化多肽药物及用于修饰反应的多肽、聚乙二醇等原料分子量的应用案例，本方法操作简便、分析速度快，可作为多肽药物修饰产物确认、原料质量控制的参考。

关键词： MALDI-TOF 聚乙二醇化多肽 聚乙二醇 多肽

技术特点：

- ❖ 分析速度快、操作简便，可以快速对聚乙二醇化多肽药物的原料 - 聚乙二醇及多肽进行质量控制。
- ❖ 图谱简单，根据分子量直接判别聚乙二醇修饰是否成功以及修饰数量。

多肽及重组蛋白药物具有活性高，选择性强等特点，但在体内容易被蛋白酶降解，半衰期短。在多肽及蛋白药物上进行聚乙二醇化修饰，可以延长半衰期，增强药物稳定性，提高药物疗效。聚乙二醇（PEG）是一种由环氧乙烷重复单元组成的合成聚合物，不会产生免疫反应，分子量是聚乙二醇对多肽或重组蛋白是否正确修饰的重要指标。《中国药典（2020 年版）》提到可以采用基质辅助激光解吸

附电离飞行时间质谱（MALDI-TOF-MS）等方法测定制品的平均分子量，对聚乙二醇修饰数目的范围及相对含量进行控制。本文应用台 MALDI-8030 质谱仪对 PEG 化多肽药物及多肽、PEG 原料的分子量进行检测，分析速度快、操作简便，结果直观，可为 PEG 化多肽药物的修饰效果、修饰数量的确认以及原料质量控制提供参考。

■ 实验部分

1.1 仪器

基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱仪 MALDI-8030

1.2 分析条件

调谐模式：线性正离子模式

激光能量：75-125

激光器：355 nm 固态激光器

离子门阈值：1000/5000

扫描范围：m/z 1000-50000

脉冲引出质量 (Da)：4000/23000

1.3 样品前处理

多肽 (M.W. 3542.87 Da)：称量粉末加水溶解，配制为 1 mg/mL 的样品工作液。取 0.5 μ L 样品工作液和 0.5 μ L CHCA 基质溶液依次点靶，自然干燥后送入质谱分析；

聚乙二醇 [mPEG-PPMA (-23k)]：称量粉末加入甲醇溶解，配制为 5 mg/mL 的样品工作液。取 10 μ L 样品工作液、10 μ L DCTB 基质溶液（溶于乙腈）、5 μ L NaTFA 水溶液混合，取 1 μ L 混合溶液点靶，自然干燥后送入质谱分析；

聚乙二醇化多肽：称量粉末加入甲醇溶解，配制为 5 mg/mL 的样品工作液。取 0.5 μ L 样品工作液和 0.5 μ L SA 基质溶液点靶，自然干燥后送入质谱分析。

■ 结果与讨论

2.1 多肽分子量测定

多肽原料 (M.W. 理论值 3542.87 Da) 的质谱图 (图 1) 所示, 检测到 m/z 3543.96、 m/z 1772.62 与 m/z 7086.94 的离子峰, 分别对应多肽的 $[M+H]^+$ 、 $[M+2H]^{2+}$ 与 $[2M+H]^+$ 化合物形式, 化合物分子量检测值 3542.95 Da, 质量误差 0.08 Da。质谱局部放大图显示, 除目标化合物外, 样品还检测到 m/z 3498.26、 m/z 3526.25、 m/z 3604.47、 m/z 3688.62 等离子信号, 可能为样品中含有的杂质。

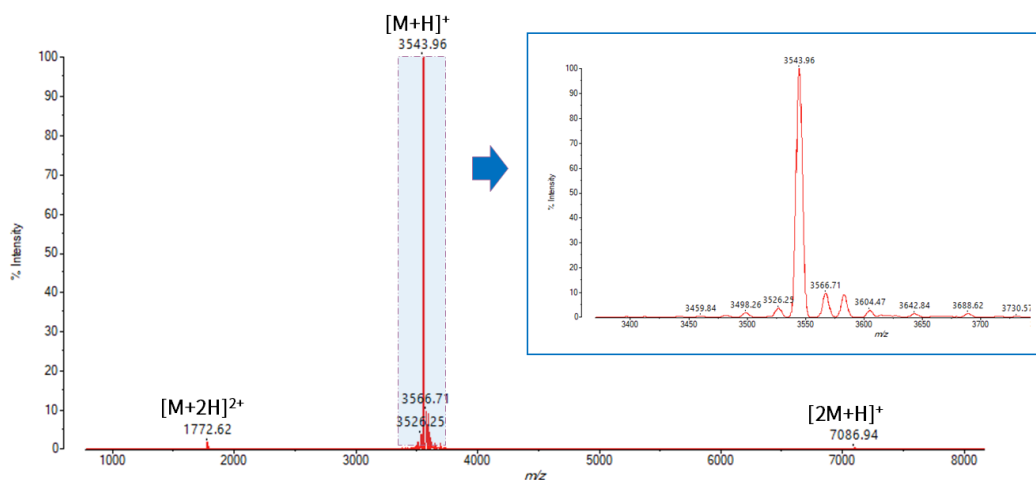


图 1 多肽原料质谱图

2.2 聚乙二醇分子量测定

聚乙二醇原料 mPEG-PPMA (-23k) 的质谱图 (图 2) 中, 检测到 m/z 23299.09 与 m/z 11651.30 的离子峰, 根据信号强度的大小推测可能分别对应 PEG 原料的 $[M+Na]^+$ 与 $[M+2Na]^{2+}$ 离子, 化合物分子量检测值 23276 Da。不同批次及不同厂家来源的聚乙二醇原料分子量可能有一定差别, 使用 MALDI-8030 检测 PEG 原料的分子量, 可方便地进行物料控制, 及时发现原料间的差异。

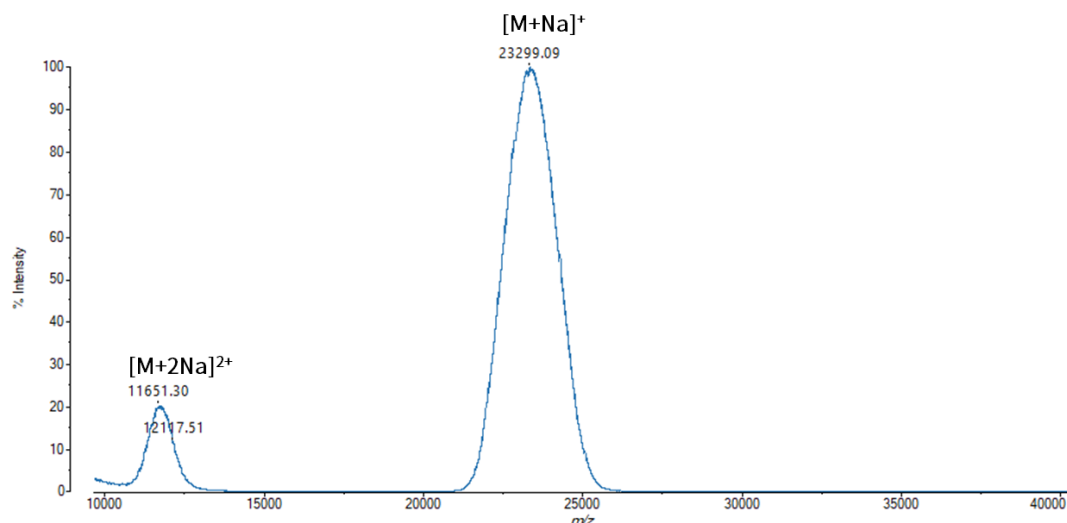


图 2 mPEG-PPMA (-23k) 原料质谱图

2.3 聚乙二醇化多肽分子量测定

PEG 修饰产物 PEG 化多肽的质谱图 (图 3) 显示, PEG 化多肽分子量检测值 m/z 26843.70, 与 mPEG-PPMA (-23k) 相比分子量增加 3568 Da, 增加值与多肽原料 (理论分子量 3543 Da) 分子量接近。该结果表明, 多肽药物上 PEG 修饰成功, 平均修饰 1 分子 PEG。

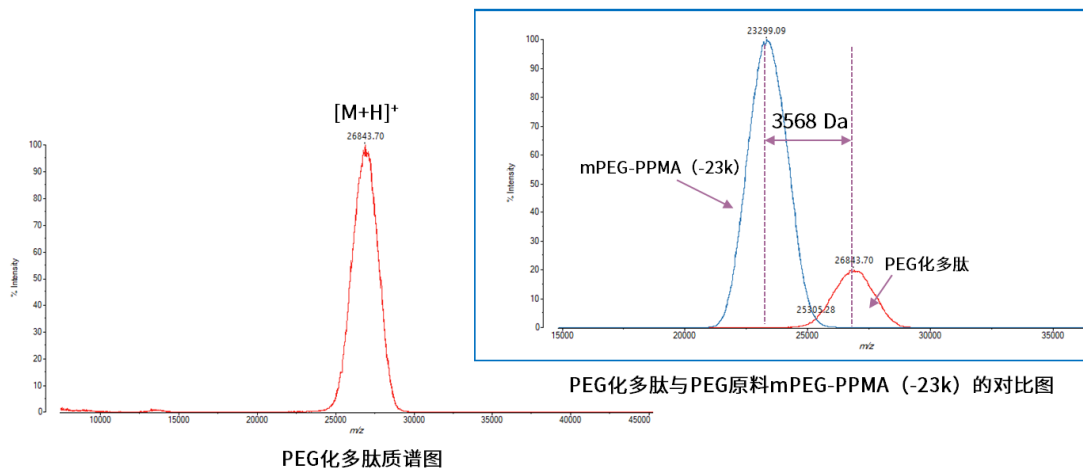


图 3 聚乙二醇化多肽质谱图

■ 结论

本文应用基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱 MALDI-8030 对聚乙二醇化多肽药物及其原料多肽和聚乙二醇进行分子量检测, 分析速度快、操作简便、图谱简单直观, 通过修饰产物及原料的分子量, 可以快速判断聚乙二醇修饰效果, 并对原料进行质量控制。

岛津应用云

