

# MALDI-TOF 分析多肽药物化学合成起始物料分子量

## MALDI-052

**摘要：** Fmoc 保护氨基酸是多肽药物化学合成常用的起始物料，分子量是药物合成物料质控的关键指标。本文应用台式 MALDI-TOF 质谱仪 MALDI-8030 检测了 6 种 Fmoc 保护氨基酸的分子量，本方法无需液相分离、操作简便，还能够直接分析酸性条件下不稳定的含 Boc 基团的氨基酸衍生物物的分子量，避免了传统液相分离流动相中酸对 Boc 基团的影响，可作为多肽药物化学合成起始物料快速质量控制的参考。

**关键词：** MALDI-TOF 多肽药物 Fmoc 保护氨基酸 分子量

### 技术特点：

- ❖ 无需液相分离，基质为中性，可以直接分析在酸性条件下不稳定的含 Boc 基团的氨基酸。
- ❖ 操作简便，图谱直观，除目标化合物外，还可以分析样品中含有的杂质。

多肽药物的合成方法主要包括化学合成和生物发酵法。化学合成法一般通过氨基酸缩合反应实现，主要包括固相合成法与液相合成法。固相合成法是目前多肽药物合成工艺的主流，发展较为成熟。固相合成法主要包括 Fmoc（苄氧羰基）与 Boc（叔丁氧羰基）合成法。Fmoc 方法则以 Fmoc 作为氨基保护基，与 Boc 合成法相比，Fmoc 合成法具有酸性稳定、反应条件温和、副反应少、产率高等优势，因此在多肽固相合成领域的应用越来越广泛。在多肽药物化学合成中，起始物料的质量会对多肽活性成分的质量产生重要影响，而分子量是起始物

料质量控制的关键指标。本文应用 MALDI-8030 测定了 6 种多肽药物化学合成起始物料——Fmoc 保护氨基酸（Fmoc-L-Lys(Boc)-OH、Fmoc-His(Trt)-OH、Fmoc-L-Arg(Pbf)-OH、Fmoc-L-Gln(Trt)-OH、Fmoc-L-Tyr(tBu)-OH、Fmoc-Gly-OH）的分子量，其中 Fmoc-L-Lys(Boc)-OH 同时具有 Boc 保护基团。本方法无需液相分离，操作简便，避免了常规液相条件下酸的存在对氨基酸衍生物中 Boc 基团的影响（Boc 基团在酸性条件下易脱去）。图谱直观，除目标化合物外，还能分析样品中含有的杂质，可用于多肽化学合成起始物料的快速质量控制。

## 实验部分

### 1.1 仪器

台式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：55

激光器：355 nm 固态激光器

离子门阈值：200

扫描范围：m/z 200-2000

脉冲引出质量 (Da)：1800

### 1.3 样品前处理

称量粉末加甲醇溶解，配制为 1 mg/mL 的样品工作液。取 0.5  $\mu$ L NaTFA 水溶液（1 mg/mL）、0.5  $\mu$ L 样品工作液、1  $\mu$ L 葱三酚基质溶液（10 mg/mL）依次点靶，自然干燥后送入质谱分析。

## ■ 结果与讨论

6 种 Fmoc 保护氨基酸的样品信息及检测结果见表 1，质谱检测结果见图 1。如图 1 所示，6 种化合物均检测到显著  $[M+Na]^+$  峰，实测分子量与理论值相符。除  $[M+Na]^+$  峰外，6 种化合物还检测到  $[M-H+2Na]^+$  峰，可能分别对应化合物羧基 (-COOH) 中的氢离子被钠离子取代后 (-COONa) 的加钠峰。与其他 5 种氨基酸衍生物不同的是，Fmoc-L-Gln(Trt)-OH 还检测到  $[M+H]^+$  峰，这可能与化合物的结构有关。

Fmoc-L-Lys(Boc)-OH 中 Lys 的  $\alpha$ -氨基被 Fmoc 基团保护， $\epsilon$ -氨基被 Boc 基团保护。Boc 基团在酸性条件下易发生水解，脱去 Boc 保护基。与常规液相分离条件中加酸不同的是，本实验例中无需液相分离，使用的基质条件为中性，避免了酸性条件对 Boc 基团的影响，因此质谱图中可以检测到完整的样品分子  $[M+Na]^+$  峰  $m/z$  491.11。

除目标化合物外，部分氨基酸衍生物检测到杂质峰，如 Fmoc-L-Lys(Boc)-OH 检测到  $m/z$  649.19、 $m/z$  761.34，Fmoc-His(Trt)-OH 检测到  $m/z$  596.46、 $m/z$  800.37、 $m/z$  910.56，Fmoc-L-Tyr(tBu)-OH 检测到  $m/z$  640.15、 $m/z$  752.38，Fmoc-Gly-OH 检测到  $m/z$  523.48、 $m/z$  661.39 等。

表 1 Fmoc 保护氨基酸样品信息及检测结果

#	名称	CAS	分子式	理论 $[M+Na]^+_{\text{mono}}$	实测 $[M+Na]^+$
1	Fmoc-L-Lys(Boc)-OH	71989-26-9	$C_{26}H_{32}N_2O_6$	491.22	491.11
2	Fmoc-His(Trt)-OH	109425-51-6	$C_{40}H_{33}N_3O_4$	642.24	642.29
3	Fmoc-L-Arg(Pbf)-OH	154445-77-9	$C_{34}H_{40}N_4O_7S$	671.25	671.25
4	Fmoc-L-Gln(Trt)-OH	132327-80-1	$C_{39}H_{34}N_2O_5$	633.24	633.17
5	Fmoc-L-Tyr(tBu)-OH	71989-38-3	$C_{28}H_{29}NO_5$	482.19	482.13
6	Fmoc-Gly-OH	29022-11-5	$C_{17}H_{15}NO_4$	320.09	320.11

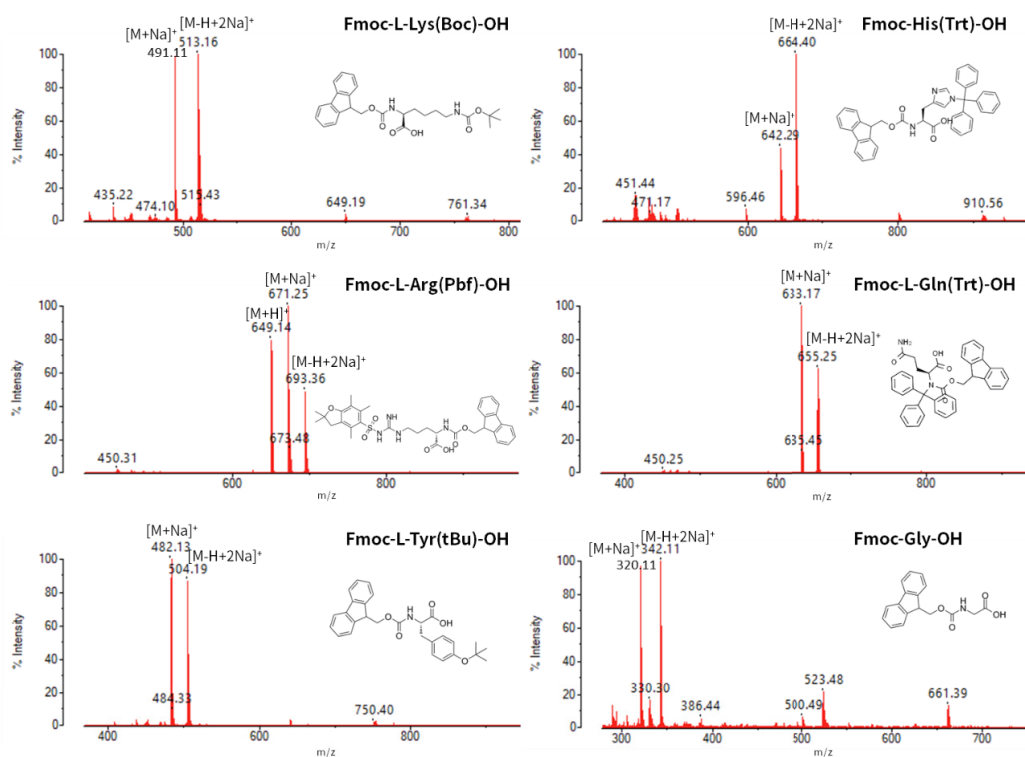


图 1 Fmoc 保护氨基酸质谱图

## ■ 结论

本文应用台式基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱 MALDI-8030 测试 6 种 Fmoc 保护的氨基酸 (Fmoc-L-Lys(Boc)-OH、Fmoc-His(Trt)-OH、Fmoc-L-Arg(Pbf)-OH、Fmoc-L-Gln(Trt)-OH、Fmoc-L-Tyr(tBu)-OH、Fmoc-Gly-OH) 的分子量, 无需液相分离、操作简便、图谱直观, 能够直接检测酸性条件下不稳定的含 Boc 基团的氨基酸衍生物, 还能分析样品中的杂质, 为多肽药物化学合成物料质控提供直接依据。

岛津应用云

