

使用 MALDI-TOF 质谱仪进行有机合成过程中的化学反应跟踪和反应产物确认

 T. Miki¹, K. Tanaka

¹ 东京工业大学

特点描述

- ◆ 快速简便地分析反应产物，样品制备和操作风险低。
- ◆ 使用一流的 MS 分辨率可以轻松识别溴和氯的存在。

简介

在有机合成中，鉴定反应产物和了解反应的进程极其重要。具体而言，需要知道反应溶液中存在什么种类的化合物，以及以什么比例存在。用于化学反应跟踪的最简单和通用的方法是薄层色谱法（TLC）。这种技术利用分析物对作为固定相的硅胶的吸附性，该吸附性对于样品中包含的每种化合物是不同的。但是，由于这种方法是基于极性来分离化合物的，因此通常无法分离化学结构相似的化合物。

作为该问题的解决方案，本报告描述了使用 MALDI-TOF MS 快速测量化合物进行半定量反应跟踪和产物确认的方法。

取代苄基卤化物的方法

苄基卤化物是用于化学修饰蛋白质的常见亲电试剂。它们选择性地与半胱氨酸残基中的高度亲核硫醇基团反应⁽¹⁾。因此，荧光染料和药物可以通过与苄基卤化物结合而以位点特异性的方式引入蛋白质中。苄基氯的反应性比苄基溴和苄基碘低。

与蛋白质的反应需要使用这些反应基团中适合的一种。为了使其具有通用性，有必要合成这些具有不同反应活性的改性剂。

在本例中，使用具有两个苄基氯的化合物作为原料，用溴化锂（LiBr）进行苄基氯与苄基溴的取代反应。

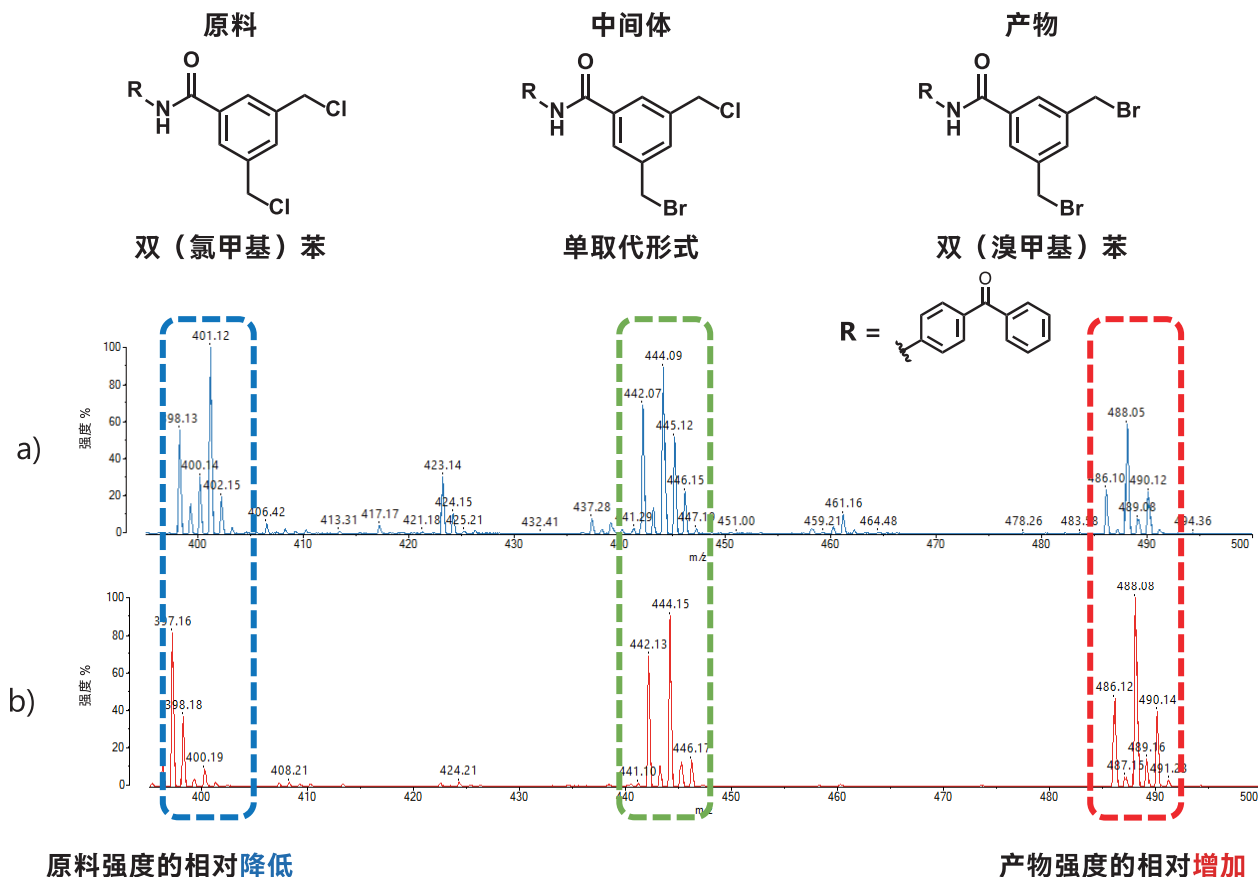


图 1 在两个不同反应时间获得的反应产物的质谱图比较
a) 反应开始后立立即，b) 18 小时后

■ 样品制备和测量

收集 1 μL 反应溶液，置玻璃管中。干燥后，将管中的残留物溶解在 α -氰基-4-羟基肉桂酸 (CHCA) 溶液 (水 / 乙腈溶液, 0.1% 三氟乙酸) 中。将残留物的溶液涂在不锈钢 MALDI 板上，然后完全干燥。

也可以在通过 TLC 分离后制备样品。在这种情况下，用氯仿 / 甲醇溶液通过 TLC 分离反应溶液。然后，刮掉紫外线吸收斑。以相同的方法将用甲醇从刮除的硅胶中提取的上清液与 CHCA 溶液混合，并将该溶液置于板上。

■ 化学反应跟踪的结果

反应开始后立即观察到的原料 (双 (氯甲基) 苯) 的强度 (图 1a) 在 18 小时后降低 (图 1b)。同时，产物双 (溴甲基) 苯的强度增加。图 3 显示了额外反应时间后获得的反应产物的质谱图。

Br 有两种主要的同位素 (^{79}Br 和 ^{81}Br)，比例约为 1:1。因此，考虑到三个峰的同位素分布，每个包含两个 Br 同位素的化合物的峰强度比为 1:2:1，每个峰相距 2 m/z 单位 (表 1 和图 2)。

表 1 产物同位素峰分布的理论和测量质量值

理论质量 (m/z)	测量值 (m/z)
485.97 (51.3%)	485.97
487.97 (100.0%)	488.03
489.97 (49.0%)	490.04

图 3 所示的同位素分布与图 2 中的理论分布几乎相同。这表明反应产物含有两个苯基溴。

■ 结论

使用 MALDI-8020，我们成功跟踪了原料、单取代中间体以及目标化合物 (双 (溴甲基) 苯) 的水平，并成功鉴定了产物。使用 MALDI-8020 可以很容易地推断出溴和氯的存在与否，即使对于难以通过 TLC 分离的混合物也是如此。

此外，与需要接口功能将色谱仪与真空连接的 LCMS 和 GCMS 不同，干燥固态的分析物可直接在 MALDI-TOF MS 中进行测量。由于真空系统的维护风险较低，MALDI-8020 适合在普通设施中使用。

因此，MALDI-8020 可用于轻松测量质量，而不会有样品引起的意外问题的风险。

■ 参考文献

- (1) Heinis, C., Rutherford, T., Freund, S. & Winter, G. Phage-encoded combinatorial chemical libraries based on bicyclic peptides. *Nat. Chem. Biol.* 5, 502-507 (2009).

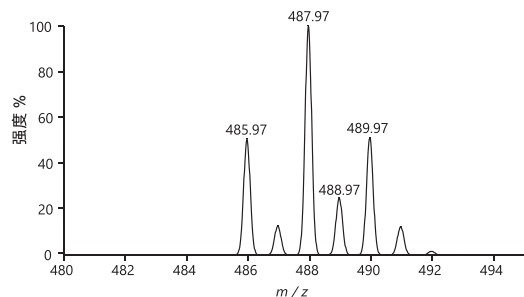


图 2 产物的理论同位素分布

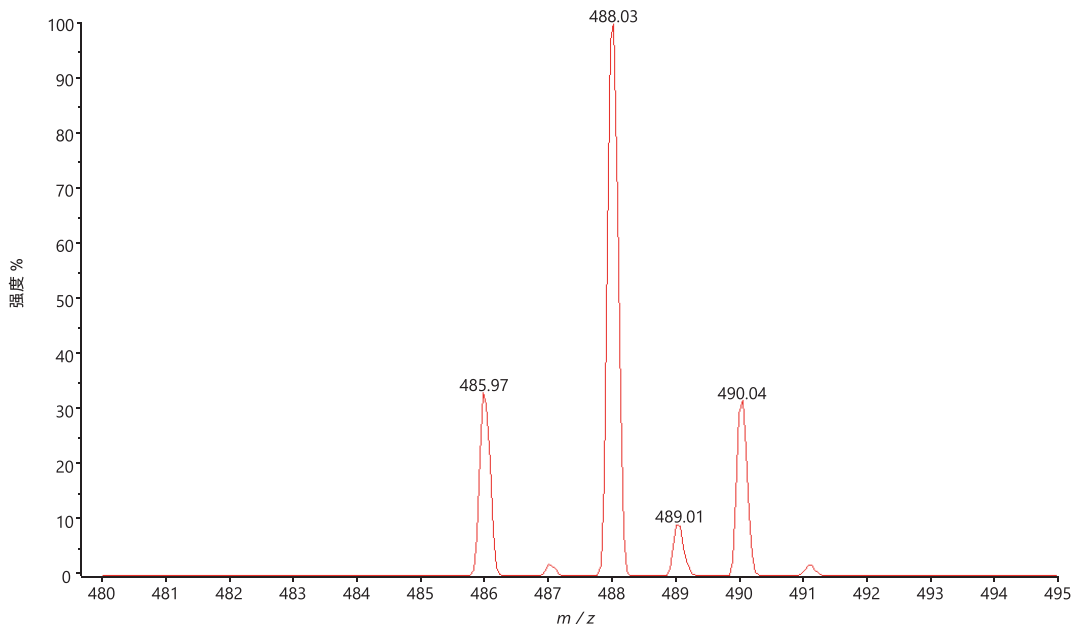


图 3 回收化合物的质谱结果
获得了由两种溴化物贡献的同位素分布

岛津应用云

