

台式 MALDI-8030 用于司美格鲁肽的快速合成质控

MALDI-045

摘要：多肽药物的分子量及杂质的确认和分析，是药物质量控制的必要环节。MALDI-TOF MS 具有分析速度快、无需液相分离、结果简单直观等优点，本文应用台式 MALDI-TOF 质谱仪 MALDI-8030 分析了司美格鲁肽在研合成中间体及制剂产品，快速获得药物的精确分子量及杂质组成情况，为多肽药物合成的质量控制、生产工艺的优化与调整提供参考与依据。

关键词： MALDI-TOF 多肽药物 司美格鲁肽 分子量 杂质

技术特点：

- ❖ 前处理简单，无需液相分离，分析速度快，可以进行高通量检测。
- ❖ 图谱简单、直观，根据质谱图中信号峰质荷比的大小及组成可快速确认多肽药物的精确分子量与杂质组成情况。

司美格鲁肽 (Semaglutide, 又叫索马鲁肽) 是一款长效胰高糖素样肽 -1 (GLP-1) 类似物，为 2022 年销售额最高的多肽药物，用于治疗 2 型糖尿病，同时因“减肥”效果备受推崇，在美国已获批用于治疗肥胖症。

多肽药物的合成方法包括通过动植物中提取、化学合成和基因重组三种，其中化学合成占比在 90%

以上。对合成的多肽药物进行分子量及杂质的确认，是药物质量控制的必要环节。本文展示了应用台式 MALDI-TOF 质谱仪 MALDI-8030 对某种按照半重组制备法生产的在研司美格鲁肽合成中间体及制剂进行分子量及杂质进行快速确认的例子，可作为多肽药物合成快速质控的参考。

■ 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：	50
激光器：	355 nm 固态激光器	离子门阈值：	1000
扫描范围：	m/z 1000-10000	脉冲引出质量 (Da)：	4000

1.3 样品前处理

样品：司美格鲁肽合成中间体及制剂。

取 0.5 μ L 样品工作液和 0.5 μ L CHCA (α - 氰基 -4- 羟基肉桂酸) 基质溶液 (10 mg/mL) 依次点靶，自然干燥后将靶板送入质谱分析。在质谱采集软件上选择待分析的样品靶点，可在几分钟内实现数十个样品的批量采集。

■ 结果与讨论

司美格鲁肽通常按照半重组法合成，主要合成路线包括：1. 酿酒酵母重组表达获得 GLP-1 类似物前体分子；2. 使用酰化剂在前体分子 Lys_{26} 残基的 ϵ - 氨基进行酰化得到前体分子衍生物；3. 前体分子衍生物与包含非蛋白氨基酸的 N 端氨基酸突出端进行偶联，获得偶联后终产物；4. 对司美格鲁肽进行分离纯化，做成制剂。司美格鲁肽合成过程见图 1，应用 MALDI-8030 对某企业提供的在研司美格鲁肽合成中间体分子量及杂质进行检测的统计结果见表 1，质谱图见图 2- 图 5。

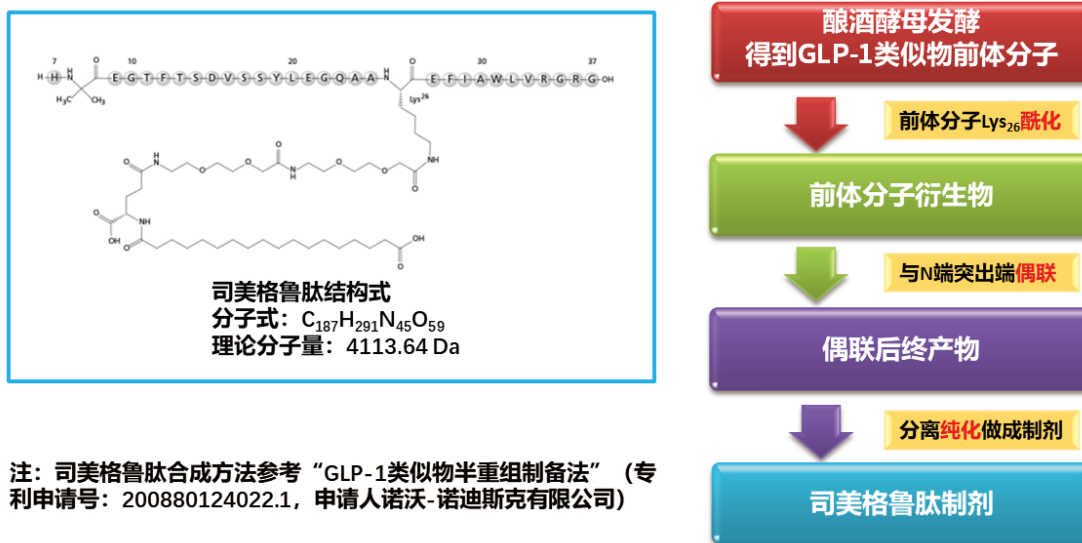


图 1 司美格鲁肽合成过程

表 1 司美格鲁肽合成中间体、制剂分子量及杂质检测结果

#	名称	分子式	理论 [M+H] ⁺ ave	实测 [M+H] ⁺	杂质
1	前体分子	C ₁₄₂ H ₂₁₆ N ₃₈ O ₄₅	3176.52	3176.23	-
2	前体分子衍生物	C ₁₇₇ H ₂₇₇ N ₄₁ O ₅₇	3892.40	3891.99	m/z 3275.49、m/z 3354.49、m/z 3621.47、m/z 2135.24 等
3	偶联后终产物	C ₁₈₇ H ₂₉₁ N ₄₅ O ₅₉	4114.65	4114.66	m/z 3821.02、m/z 3598.28、m/z 4215.26、m/z 2107.81 等
4	司美格鲁肽制剂	C ₁₈₇ H ₂₉₁ N ₄₅ O ₅₉	4114.65	4114.38	-

2.1 GLP-1 类似物前体分子

由酵母重组表达的 GLP-1 类似物前体分子应用 MALDI-8030 检测到 m/z 3176.23 信号峰 (图 2), 与 [M+H]⁺ 理论值 m/z 3176.52 相符, 质谱图信噪比良好, 图谱上未观测到明显杂质, 表明前体分子纯度较好。

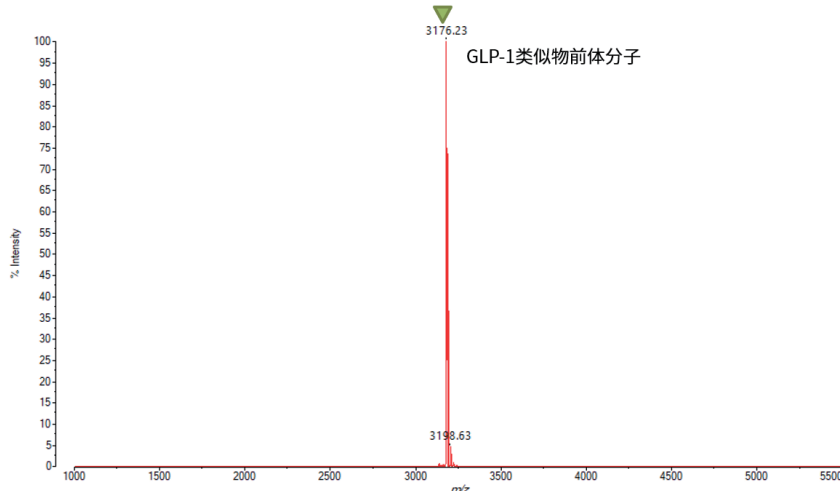


图 2 GLP-1 类似物前体分子的质谱图

2.2 前体分子衍生物

GLP-1 类似物前体分子经酰化后检测到前体分子 (m/z 3176.28) 与前体分子衍生物的离子峰 (m/z 3891.99) (图 3), 表明肽段修饰成功, 但反应不完全, 反应体系中仍有较多前体分子残留。除此之外, 还检测到 m/z 3275.49、 m/z 3354.49、 m/z 3621.47、 m/z 2135.24 等信号峰, 可能为合成过程中的副产物。

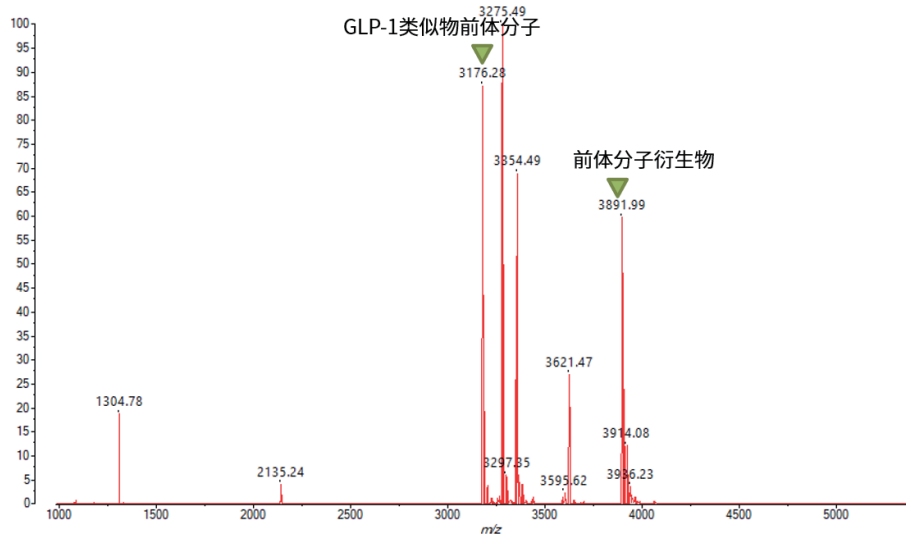


图 3 前体分子衍生物的质谱图

2.3 偶联终产物

图 4 中, 前体分子衍生物与 N 端氨基酸突出端偶联后的产物检测到前体分子衍生物 (m/z 3892.54) 与偶联后目标产物的离子峰 (m/z 4114.66), 表明肽段偶联成功, 但反应不完全, 反应体系中仍有较多未偶联的前体分子衍生物的残留。除此之外, 样品还检测到较多杂质, 包括 m/z 3821.02、 m/z 3598.28、 m/z 4215.26、 m/z 2107.81 等, 可能为偶联过程中产生。对杂质进行分析, 有助于生产工艺的调整与优化。

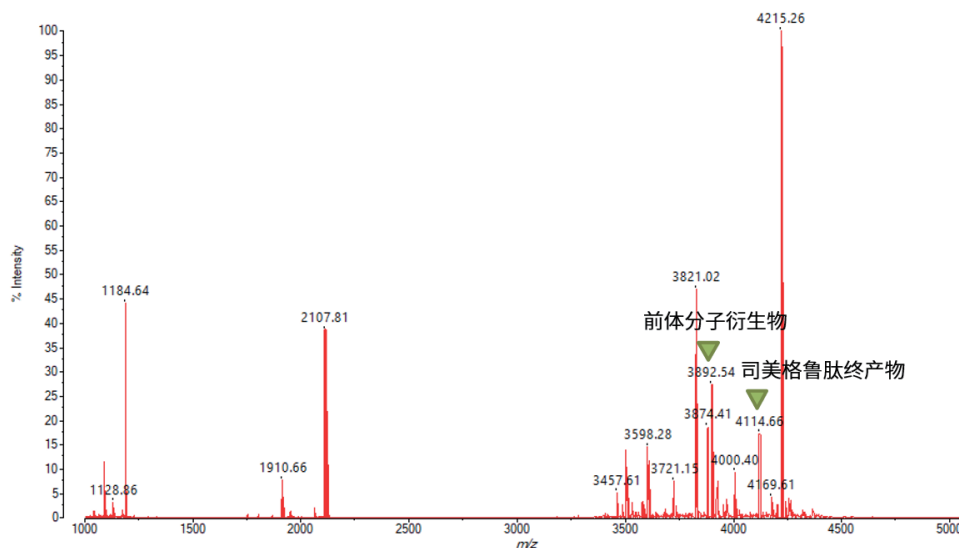


图 4 偶联后终产物的质谱图

2.4 司美格鲁肽制剂

司美格鲁肽制剂应用 MALDI-8030 检测到 m/z 4114.38、 m/z 2057.88、 m/z 8228.42 的离子峰（图 5），分别对应化合物的 $[M+H]^+$ 、 $[M+2H]^{2+}$ 与 $[2M+H]^+$ 形式。图谱上未观测到明显杂质信号，样品纯度较好。

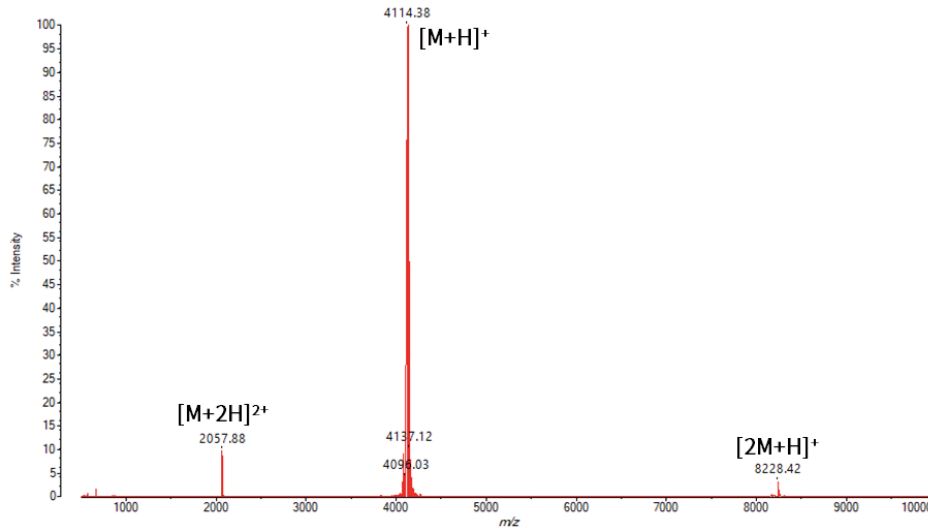


图 5 司美格鲁肽制剂的质谱图

■ 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 对司美格鲁肽在研合成中间体及制剂产品进行分子量及杂质检测，无需液相分离以及复杂的解卷积等数据分析操作，分析速度快，结果简单、直观，通过质谱图中信号离子的质荷比的大小与分布，快速确认多肽的精确分子量、合成效果及杂质组成情况，为多肽药物合成的质量控制、生产工艺的优化与调整提供参考与依据。

岛津应用云

