

# Application News

## No.C159K

### Direct Probe Ionization Mass Spectrometer

### 화학반응의 실시간 모니터링

### Real-Time Monitoring of Chemical Reactions

화학분야에서 화학 합성반응의 반응과정이나 반응속도를 모니터링 하는 것은 어떤 반응이 일어나고 있는지를 정확하게 파악하는데 매우 중요합니다.

PESI(Probe Electro Spray Ionization)는 프로브를 이용해 시료를 일정한 주기로 샘플링하고 프로브 팁에 고전압을 가함으로써 샘플링한 대상 성분을 이온화 시키는 직접이온화법(그림 1)으로 크로마토그래프를 통하지 않고 신속하게 시료의 변화를 모니터링할 수 있습니다. PESI와 질량분석기를 조합한 DPiMS-2020는 분석 대상성분의 분자량 변화를 실시간으로 추적함으로써 화학 반응의 진행을 정확하게 파악할 수 있습니다.

본 애플리케이션 뉴스에서는 샘플 플레이트에서 생성된 펩타이드 보호기(peptide protection group)의 탈보호 반응(deprotection reaction)을 DPiMS-2020을 통해 실시간으로 분석한 결과에 대해 소개합니다.

T. Murata

#### ■ 펩타이드 탈보호 반응

Fmoc-Tyr(tBu)-OH(N-(9-Fluorenylmethoxycarbonyl)-O-tert-butyl-L-tyrosine) 23.0mg를 DMF 5mL로 용해한 용액(용액 1)과 피페리딘과 DMF를 1:4로 혼합한 용액(용액 2)을 혼합함으로써 실온 하에서 Fmoc기의 탈보호 반응이 발생합니다(그림 2). 용액 1과 용액 2를 각각 4.5 µL씩 PESI 용액 분석에 사용되는 소량(10µL) 샘플 플레이트에 주입하여 탈보호 반응을 일으키고, 그 반응 과정을 실시간으로 분석하였습니다.

표 1은 PESI 탐침 구동 조건이고 표 2는 질량분석기의 분석 조건입니다.

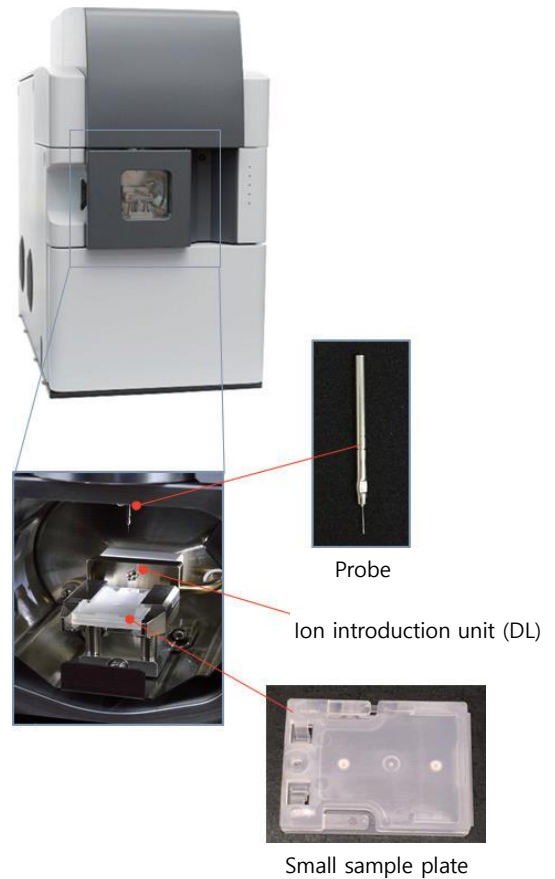


Fig. 1 DPiMS-2020

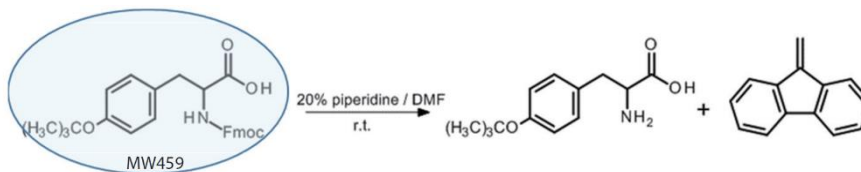


Fig. 2 Deprotection Reaction of Fmoc-Tyr(tBu)-OH

Table 1 PESI Drive Conditions

Ionization position	: -37 mm
Ionization stop time	: 100 msec
Sampling position	: -46 mm
Sampling stop time	: 50 msec
Probe speed	: 250 mm/s
Probe acceleration	: 0.63 G

Table 2 Mass Spectrometer Analysis Conditions

DL temperature	: 250 °C
Heater block temperature	: 50 °C
Interface voltage	: -2.45 kV (ESI – Negative mode)
Scan speed	: 5,000 u/sec

■ 반응 과정 실시간 모니터링

스캔을 통해 얻어진 질량 스펙트럼에서 Fmoc-Tyr(tBu)-OH의 음이온 강도가 감소하는 것을 모니터링 함으로써 탈보호 반응을 0.1min 간격으로 실시간으로 추적하였습니다. 그림 3은 용액 혼합에서 3분 후부터 4.5분까지 Fmoc-Tyr(tBu)-OH의 음이온 강도가 감소되는 모습을 보여줍니다.

■ 휘발에 의한 시료 부피 감소의 영향

분석 과정에서 혼합 용액을 주입한 샘플 플레이트가 고온으로 설정된 DL의 바로 아래에 위치하기 때문에 시간이 경과함에 따라 혼합 용액의 부피가 감소할 가능성이 있습니다. 이로 인해 프로브의 용액 샘플링 양이 감소하여 이온의 강도가 낮아질 가능성이 있습니다. 이런 영향을 배제하고 탈보호반응에 의한 이온 강도의 감소만을 모니터링하기 위해 m/z=474을 내부표준피크로 설정하고 m/z=458 이온 강도와 의 비율을 표시함으로써 용액 혼합 후 반응이 진행되는 속도를 구하였습니다(그림 4). 그 결과 탈보호 반응이 진행되는 상황을 실시간으로 모니터링할 수 있었습니다.

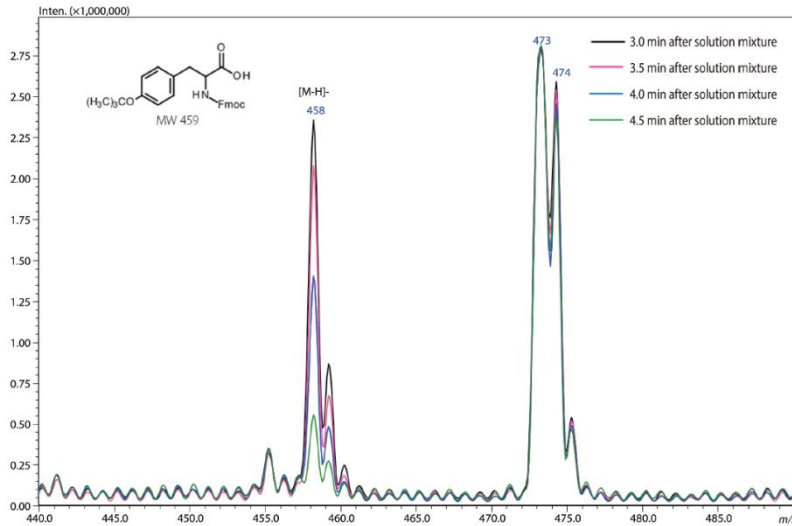


Fig. 3 Time Series Mass Spectra of Deprotection Reaction

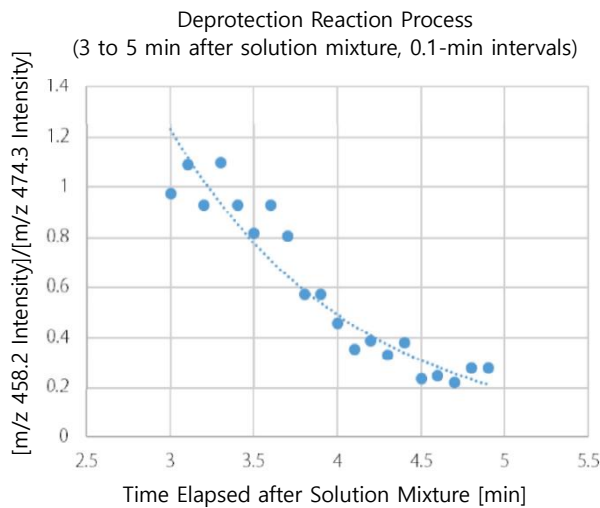


Fig. 4 Time Series Variation of Deprotection Reaction

Acknowledgments

We would like to thank associate professor Kei Zaitzu and assistant professor Yumi Hayashi at the Nagoya University Graduate School of Medicine for their guidance regarding data acquisition and sample preparation.