



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 109929010 B

(45) 授权公告日 2021.05.14

(21) 申请号 201910371792.6

审查员 王雨方

(22) 申请日 2019.05.06

(65) 同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 109929010 A

(43) 申请公布日 2019.06.25

(73) 专利权人 上海上药第一生化药业有限公司

地址 200240 上海市闵行区剑川路1317号

(72) 发明人 江锡铭 朱鑫磊 黄龙 丁金国

黄臻辉

(74) 专利代理机构 上海弼兴律师事务所 31283

代理人 薛琦 邹玲

(51) Int. Cl.

C07K 7/16 (2006.01)

C07K 1/20 (2006.01)

权利要求书2页 说明书7页

(54) 发明名称

一种加压素的精制方法

(57) 摘要

本发明公开了一种加压素的精制方法,该精制方法包括下述步骤:采用高效液相反相色谱法将加压素粗品溶液依次进行反相富集、反相转盐、反相纯化,即可;加压素粗品溶液为固相合成的还原型加压素粗品溶液经氧化后而得;高效液相反相色谱法的填料为超耐水填料。本发明运用了在线反相富集、反相转盐、反相纯化一步法制得多肽纯品,加压素粗品中杂质的去除率较高,得到加压素纯品的纯度更高,优化了生产工艺,其中,柱平衡、上样富集和转盐阶段的流动相为水溶液,环保无污染,流出的废液可直接进行污水处理并回收利用。

1. 一种加压素的精制方法,其特征在于,其包括如下步骤:采用高效液相反相色谱法将加压素粗品溶液依次进行反相富集、反相转盐、反相纯化,即可;所述的高效液相反相色谱法的填料为超耐水填料;所述加压素粗品溶液中加压素的结构式为  $\boxed{\text{Cys-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Arg-Gly-NH}_2}$ ;所述超耐水填料为 UniSil<sup>®</sup> ODS-AQ超耐水填料;

所述的反相富集、反相转盐、反相纯化均是在一步反相洗脱过程中完成,所述的反相富集、反相转盐、反相纯化的条件如下:

洗脱步骤	洗脱时间	洗脱液
1	0~50min	100%样品 C1
2	51~71min	100%流动相 C2
3	72~90min	100%流动相 A
4	90~95min	100%流动相 A→90%流动相 A+10%流动相 B
5	95~125min	90%流动相 A+10%流动相 B→80%流动相 A+20%流动相 B

其中,流动相A为体积百分比为0.005~0.1%的乙酸/水溶液,流动相B为体积百分比为0.005~0.1%的乙酸/乙腈,样品C1为所述的加压素粗品溶液,流动相C2为5~50mM NH<sub>4</sub>Ac-NH<sub>4</sub>OH水溶液,所述的流动相C2的pH为7.0~9.0,洗脱液的流速为80~100ml/min;

收集保留时间为105~115min的洗脱液即得加压素溶液。

2. 如权利要求1所述的加压素的精制方法,其特征在于:所述的加压素粗品溶液为固相合成的还原型加压素粗品经溶解、稀释、氧化而得。

3. 如权利要求2所述的加压素的精制方法,其特征在于:所述的还原型加压素粗品经溶解、稀释得还原型加压素粗品溶液,所述的还原型加压素粗品溶液中还原型加压素粗品的浓度为0.1~4mg/ml;溶解所述还原型加压素粗品的溶剂为体积百分比为50%的乙酸/水溶液。

4. 如权利要求3所述的加压素的精制方法,其特征在于:所述的还原型加压素粗品溶液中还原型加压素粗品的浓度为0.5~2mg/ml。

5. 如权利要求1所述的加压素的精制方法,其特征在于:所述加压素粗品溶液中的溶剂为含三氟乙酸和乙酸的水溶液。

6. 如权利要求1所述的加压素的精制方法,其特征在于:所述超耐水填料的孔径为7~10nm,粒径为10μm。

7. 如权利要求1所述的加压素的精制方法,其特征在于:所述的高效液相反相色谱法的检测波长为220nm。

8. 如权利要求1所述的加压素的精制方法,其特征在于:所述的流动相A为体积百分比为0.02~0.05%的乙酸/水溶液;

和/或,所述的流动相B为体积百分比为0.02~0.05%的乙酸/乙腈;

和/或,所述的流动相C2为10~20mM  $\text{NH}_4\text{Ac}$ - $\text{NH}_4\text{OH}$ 水溶液;

和/或,所述的流动相C2的pH为7.5~8.5;

和/或,所述的加压素粗品溶液的HPLC纯度为60~85%。

9.如权利要求8所述的加压素的精制方法,其特征在于:所述的加压素粗品溶液的HPLC纯度为70%~85%。

10.如权利要求9所述的加压素的精制方法,其特征在于:所述的加压素粗品溶液的HPLC纯度为70%~80%。

11.如权利要求1所述的加压素的精制方法,其特征在于:在50~51min期间,将所述的洗脱液由样品C1完全更换为流动相C2;在71~72min期间,将所述的洗脱液由流动相C2完全更换为流动相A。

## 一种加压素的精制方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及一种加压素的精制方法。

### 背景技术

[0002] 加压素是由九个氨基酸残基组成的合成多肽，其化学结构为  $\text{Cys-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Arg-Gly-NH}_2$ ，加压素的理论分子量1084.24。属于神经垂体激素，又叫血管升压素或后叶加压素，它有两种受体V1和V2。V1主要分布在血管平滑肌细胞膜上，通过受体-G蛋白-第二信使途径发挥作用，使血管收缩，血压升高。V2在肾脏远端小管和集合管上皮细胞，生理剂量可以促进肾脏远端小管和集合管对水的重吸收，发挥抗利尿作用。

[0003] 目前已上市多肽药物常见的纯化方法大都采用了制备型高效液相色谱法，该法是采用获得高纯度多肽目标分子的最有效的方法。一般多肽药物纯化制备工艺设计是先中低压色谱富集目标多肽，然后高压色谱精制，但是考虑到目标多肽加压素分子量约1kDa，无合适的分子筛凝胶柱（其上样量小，流速低，处理量小，比较适合分子量大于10kDa蛋白的脱盐）或超滤膜选择。而且中低压色谱中常用的分离方法有分子筛色谱法、离子交换色谱法和疏水相互作用色谱法，这些色谱方法中用到的填料的粒径通常从几十微米到几百微米不等，空隙尺寸多为几百纳米不等，无法得到高纯度的目标多肽。采用固相合成+稀释环化得到的加压素粗品溶液浓度均比较稀，采用一般的反相色谱柱进行纯化，仅上样的过程中就产生大量的有机废液，危废的处理费用很高。现在还缺乏一种有效的制备多肽盐原料药的方法，因此仍然迫切需要开发新的适合纯化低浓度多肽及盐的经济有效的工艺。

[0004] 中国专利文献CN106518975A公开了一种加压素的制备方法。该制备方法包括下述步骤：采用高效液相反相色谱法将加压素前体粗品溶液依次进行反相环化、反相纯化、反相脱盐，即可；高效液相反相色谱法的填料为苯乙烯-二乙烯基苯共聚物；所述的加压素前体粗品为含两游离巯基的加压素前体粗品。该专利的制备工艺中采用还原型的加压素前体粗品为起始原料，粗品中杂质的去除率较低为14.3%，且流动相中使用NaOH作为碱性物质，对pH的控制不利，可能对产品的稳定性造成影响。另外，该方法在色谱柱上进行环化时需大量含有有机溶剂的流动相，在纯化和转盐步骤中也产生了大量的有机危废液，后续废液的处理成本较大且难以回收利用。

### 发明内容

[0005] 本发明所要解决的技术问题在于为了克服现有技术中精制加压素时，加压素粗品溶液中杂质的去除率较低，且产生的有机危废液量大，造成的废液处理成本大，不经济的缺陷，而提供了一种加压素的精制方法。本发明的精制加压素的方法在纯化目标产物的过程中产生的废液大部分为废水可经污水处理可直接回用，经济环保，加压素粗品中杂质的去除率更高，得到加压素纯品的纯度更高。

[0006] 本发明是通过以下技术方案解决上述技术问题的：

[0007] 本发明提供了一种加压素的精制方法,其包括下述步骤:采用高效液相反相色谱法将加压素粗品溶液依次进行反相富集、反相转盐、反相纯化,即可;所述的高效液相反相色谱法的填料为超耐水填料;

[0008] 所述的反相富集、反相转盐、反相纯化均是在一步的反相洗脱过程中完成,所述的反相富集、反相转盐、反相纯化的条件如下:

洗脱步骤	洗脱时间	洗脱液
1	0~50min	100%样品 C1
2	51~71min	100%流动相 C2
3	72~90min	100%流动相 A
4	90~95min	100%流动相 A→90%流动相 A+10%流动相 B
5	95~125min	90%流动相 A+10%流动相 B→80%流动相 A+20%流动相 B

[0010] 其中流动相A为体积百分比为0.005~0.1%的乙酸/水,流动相B为体积百分比为0.005~0.1%的乙酸/乙腈,样品C1为所述的加压素粗品溶液,流动相C2为5~50mM  $\text{NH}_4\text{Ac}-\text{NH}_4\text{OH}$ 水溶液,所述的流动相C2的pH为7.0~9.0,洗脱液的流速为80~100ml/min;

[0011] 收集保留时间为105~115min的洗脱液即得到加压素溶液。

[0012] 本发明中,所述的加压素粗品溶液为固相合成的还原型加压素粗品经溶解、稀释、氧化而得。

[0013] 本发明中,所述的加压素粗品溶液的具体制备步骤如下:以Rink Amide MBHA树脂为起始原料,以Fmoc保护的氨基酸为单体,以HOBt/DIC为缩合剂,依次逐个接上氨基酸;加入切肽试剂进行切肽,加入甲基叔丁基醚进行沉淀,得还原型加压素粗品;将还原型加压素粗品用50%乙酸/水溶解,再用水稀释,即为还原型加压素粗品溶液;用碱性物质将所述的还原型加压素粗品溶液的pH调节至7.0-9.0,加入浓度为30%的双氧水进行氧化,其中每克还原型加压素粗品加0.5ml 30%的双氧水,得氧化型加压素粗品溶液,即为加压素粗品溶液。

[0014] 其中,50%乙酸/水可充分的溶解所述的还原型加压素粗品。

[0015] 其中,所述的还原型加压素粗品溶液的浓度为0.1~4mg/ml,较佳地为0.5~2mg/ml。

[0016] 其中,所述的切肽试剂为本领域常规,较佳地为体积比为90:7.5:2.5的TFA/TIS/ $\text{H}_2\text{O}$ 。

[0017] 其中,所述的碱性物质为本领域常规,较佳地为NaOH。

[0018] 本发明中,所述加压素粗品溶液中的加压素的结构式为  
 $\text{Cys-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Arg-Gly-NH}_2$ ,所述的加压素粗品溶液中的溶剂为含三氟乙酸和乙酸的水溶液。

[0019] 本发明中,所述的超耐水填料为UniSil<sup>®</sup> ODS-AQ超耐水填料。

[0020] 本发明中,所述超耐水填料的孔径为7~10nm,粒径为10 $\mu$ m。

[0021] 在某一较佳实施方式中,运用Load&Lock动态轴向压缩和静态锁紧技术,填料为UniSil<sup>®</sup> ODS-AQ超耐水填料,孔径10nm,粒径10 $\mu$ m,装填至柱床压力为1000psi,采用Varian色谱装填系统,300g干粉状的Unisil<sup>®</sup> ODS-AQ超耐水填料,600mL异丙醇搅拌均匀浆后,倒入内径50mm的Load&Lock4002制备柱,压缩比为1.5:1,载气为N<sub>2</sub>,调节所述载气压力使得油压表压力为1500psi,动态轴向压缩至柱床高度25cm,作为反相富集、反相转盐和反相纯化方案所用的制备柱。

[0022] 本发明中,所述的高效液相反相色谱法的检测波长为220nm。

[0023] 本发明中,所述的流动相A为体积百分比为0.02~0.05%的乙酸/水溶液;

[0024] 和/或,所述的流动相B为体积百分比为0.02~0.05%的乙酸/乙腈;

[0025] 和/或,所述的流动相C2为10~20mM NH<sub>4</sub>Ac-NH<sub>4</sub>OH水溶液;

[0026] 和/或,所述的流动相C2的pH为7.5~8.5;

[0027] 和/或,所述的加压素粗品溶液的HPLC纯度为60~85%,较佳地为70%~85%,更佳地为70%~80%。

[0028] 本发明中,在50~51min期间,将所述的洗脱液由样品C1完全更换为流动相C2;在71~72min期间,将所述的洗脱液由流动相C2完全更换为流动相A。依照本领域常规,上述时间区间不应理解为对洗脱条件的限定,时间长短可依高效液相色谱仪厂家型号的不同进行相应调整。

[0029] 本发明中,步骤(5)结束后的125~126min内,将所述的洗脱液从80%流动相A匀速降低至50%流动相A,相应的匀速增加流动相B至50%,在126~135min内保持50%流动相A+50%流动相B洗脱,以达到清洗色谱柱的目的。

[0030] 本发明中,所述的反相富集为洗脱步骤(1),所述的反相转盐为步骤(2)~(3),具体地,步骤(2)是用弱碱NH<sub>4</sub>Ac-NH<sub>4</sub>OH去除加压素粗品中的三氟乙酸根的过程,步骤(3)是去除步骤(2)中的铵根离子的过程,所述的反相纯化为步骤(4)和(5),其中,步骤(4)是去除较弱的吸附杂质的过程。

[0031] 本发明中,所述的洗脱步骤(4)和(5)中所述的洗脱液的转换速率是一个匀速变化的过程,所述的洗脱步骤(4)中所述的匀速变化的速率为2%B/min,即每分钟在原洗脱液的基础上增加2%所述的流动相B,同时相应减少2%所述的流动相A;所述的洗脱步骤(5)中所述的匀速变化的速率为0.333%B/min,即每分钟在原洗脱液的基础上增加0.333%所述的流动相B,同时相应减少0.333%所述的流动相A。

[0032] 本发明中,加压素是一种多肽物质,在高pH条件下不稳定,易降解,尤其是碱环境下,本发明综合考察了转盐洗脱的pH和时间,以保证减少转盐过程中样品的破坏及损失。

[0033] 在符合本领域常识的基础上,上述各优选条件,可任意组合,即得本发明各较佳实例。

[0034] 本发明所用试剂和原料均市售可得。

[0035] 本发明的积极进步效果在于:

[0036] (1) 本发明采用在线富集的方法,利用填料的超耐水性能和吸附性能,将多肽粗品

吸附到固定相上进行富集,多肽和反相填料疏水结合。在线富集后可直接变换流动相后进行梯度洗脱纯化,得到最终的纯品,适合连续的生产。

[0037] (2) 本发明创新性地运用了反相吸附富集、转盐、除盐一步法制得多肽纯品,优化了生产工艺,适合工业化连续生产。加压素粗品溶液中杂质的去除率更高,得到加压素纯品的纯度更高。

[0038] (3) 设计出超耐水填料的最新应用,柱平衡阶段、反相富集阶段和反相转盐阶段的洗脱液为水溶液,环保无污染,其流出液直接排至污水处理站,经简单处理后可回收利用,相对传统的制备工艺,大大的降低了危废液的产生量,节约环保。

### 具体实施方式

[0039] 下面通过实施例的方式进一步说明本发明,但并不因此将本发明限制在所述的实施例范围之中。下列实施例中未注明具体条件的实验方法,按照常规方法和条件,或按照商品说明书选择。

[0040] 实施例中所用的耐水填料购自苏州纳微生物科技有限公司的 UniSil<sup>®</sup> ODS-AQ 超耐水填料,孔径10nm,粒径10 $\mu$ m。

[0041] HPLC法检测加压素粗品和纯化后产品溶液纯度

[0042] 仪器:Agilent1260高效液相色谱仪

[0043] 色谱柱:WatersXBridgeC184.6 $\times$ 250mm,5 $\mu$ m

[0044] 流动相:A为体积百分比为0.1%三氟乙酸/水溶液,B为体积百分比为0.1%三氟乙酸-50%的乙腈/水溶液

[0045] 流速为1.0ml/min,检测波长为210nm,柱温:25 $^{\circ}$ C,洗脱梯度见下表,百分比为体积百分比。

洗脱步骤	洗脱时间	洗脱液
1	0~2min	95%A+5%B
2	2~12min	95%A+5%B $\rightarrow$ 85%A+15%B
3	12~22min	85%A+15%B
4	22~30min	85%A+15%B $\rightarrow$ 77%A+23%B
5	30~30.1min	77%A+23%B $\rightarrow$ 50%A+50%B
6	30.1~35min	50%A+50%B

[0047] 下述实施例中,所述的加压素粗品溶液为固相合成的还原型加压素粗品经溶解、稀释、氧化而得。所述的固相合成法包括下述步骤:以Rink Amide MBHA树脂为起始原料,以Fmoc保护的氨基酸为单体,以HOBt/DIC为缩合剂,依次逐个接上氨基酸;加入切肽试剂进行切肽,加入甲基叔丁基醚进行沉淀,得还原型加压素粗品。所述的切肽试剂为体积比为90:7.5:2.5的TFA/TIS/H<sub>2</sub>O。所述的溶解为用体积百分比为50%的乙酸/水溶液进行溶解。所述的稀释为用水稀释。所述的氧化为用碱性物质将所述的还原型加压素粗品溶液的pH调节至7.0-9.0,加入体积百分比为30%的双氧水进行氧化过程。所述双氧水的用量为0.5mL/1g还原型加压素粗品。所述的碱性物质为NaOH。

[0048] 实施例1内径50mm L&L4002制备柱装填

[0049] 运用Load&Lock动态轴向压缩和静态锁紧技术,填料UniSil<sup>®</sup> ODS-AQ,孔径10nm,粒径10 $\mu$ m,装填至柱床压力1000psi,采用Varian色谱装填系统,300g干粉填料,600ml异丙醇搅拌均匀浆后,倒入内径50mm L&L4002制备柱,压缩比为1.5:1,载气为N<sub>2</sub>,调节载气压力使得油压表压力为1500psi,动态轴向压缩至柱床高度25cm,作为反相富集、反相转盐和反相纯化方案所用的制备柱。

[0050] 实施例2加压素粗品溶液的反相富集、反相转盐和反相纯化

[0051] 仪器:Varian SD-1高压液相制备系统

[0052] 色谱柱:自装的制备柱Load&Lock4002 50 $\times$ 250mm, UniSil<sup>®</sup> ODS-AQ 10 $\mu$ m 10nm

[0053] 加压素的结构式为  $\overline{\text{Cys-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Arg-Gly-NH}_2}$ ,还原型加压素粗品溶液中还原型加压素粗品的浓度为1.0mg/ml,加压素粗品溶液中的溶剂为含三氟乙酸和乙酸的水溶液。

[0054] 流动相A为体积百分比为0.02%的乙酸/水,流动相B为体积百分比为0.02%的乙酸/乙腈,样品C1为加压素粗品溶液,根据HPLC法测定的HPLC纯度为73.63%,流动相C2为10mM的NH<sub>4</sub>Ac-NH<sub>4</sub>OH pH7.5水溶液。

[0055] 本实施例的反相富集、反相转盐和反相纯化条件如下:流速100ml/min,220nm检测,纯化洗脱梯度见下表所示,百分比为体积百分比;

洗脱步骤	洗脱时间	洗脱液
1	0~50min	100%样品 C1
2	51~71min	100%流动相 C2
3	72~90min	100%流动相 A
4	90~95min	100%流动相 A $\rightarrow$ 90%流动相 A+10%流动相 B
5	95~125min	90%流动相 A+10%流动相 B $\rightarrow$ 80%流动相 A+20%流动相 B

[0056] 本发明中,步骤(5)结束后的125~126min内,将洗脱液从80%流动相A匀速降低至50%流动相A,相应的匀速增加流动相B至50%,在126~135min内保持50%流动相A+50%流动相B洗脱,以达到清洗色谱柱的目的。收集保留时间为105~115min的洗脱液即得到加压素溶液。根据HPLC法测定的HPLC纯度为99.56%。

[0058] 加压素粗品溶液中杂质的去除率为25.93%,步骤(1)~步骤(3)阶段的洗脱液为水溶液,环保无污染,其流出液直接排至污水处理站,经简单处理后可回收利用,相对传统的制备工艺,大大降低了危废液的产生量,节约环保。

[0059] 实施例3加压素粗品溶液的反相富集、反相转盐和反相纯化

[0060] 仪器:Varian SD-1高压液相制备系统

[0061] 色谱柱:自装的制备柱Load&Lock4002 50 $\times$ 250mm, UniSil<sup>®</sup> ODS-AQ 10 $\mu$ m 10nm

[0062] 加压素的结构式为  $\overline{\text{Cys-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Arg-Gly-NH}_2}$ ，还原型加压素粗品溶液中还原型加压素粗品的浓度为1.5mg/ml，加压素粗品溶液中的溶剂为含三氟乙酸和乙酸的水溶液。

[0063] 流动相A为体积百分比为0.05%的乙酸/水，流动相B为体积百分比为0.05%的乙酸/乙腈，样品C1为加压素粗品溶液，根据HPLC法测定的HPLC纯度为75.23%，流动相C2为20mM的 $\text{NH}_4\text{Ac-NH}_4\text{OH}$  pH8.5水溶液。

[0064] 本实施例的反相富集、反相转盐和反相纯化条件如下：流速100ml/min，220nm检测，纯化洗脱梯度见下表所示，百分比为体积百分比；

洗脱步骤	洗脱时间	洗脱液
1	0~50min	100%样品 C1
2	51~71min	100%流动相 C2
3	72~90min	100%流动相 A
4	90~95min	100%流动相 A→90%流动相 A+10% 流动相 B
5	95~125min	90%流动相 A+10%流动相 B→80% 流动相 A+20%流动相 B

[0065] 本发明中，步骤(5)结束后的125~126min内，将洗脱液从80%流动相A匀速降低至50%流动相A，相应的匀速增加流动相B至50%，在126~135min内保持50%流动相A+50%流动相B洗脱，以达到清洗色谱柱的目的。收集保留时间为105~115min的洗脱液即得到加压素溶液。根据HPLC法测定的HPLC纯度为99.62%，加压素粗品溶液中杂质的去除率为24.39%。

[0066] 实施例4加压素粗品溶液的反相富集、反相转盐和反相纯化

[0067] 仪器:Varian SD-1高压液相制备系统

[0068] 色谱柱:实施例1自装的制备柱Load&Lock4002 50×250mm, UniSil<sup>®</sup> ODS-AQ 10μm 10nm

[0069] 加压素的结构式为  $\overline{\text{Cys-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Arg-Gly-NH}_2}$ ，还原型加压素粗品溶液中还原型加压素粗品的浓度为0.8mg/ml，加压素粗品溶液中的溶剂为含三氟乙酸和乙酸的水溶液。

[0070] 流动相A为体积百分比为0.05%的乙酸/水，流动相B为体积百分比为0.05%的乙酸/乙腈，样品C1为加压素粗品溶液，根据HPLC法测定的加压素粗品溶液HPLC的纯度为75.66%，流动相C2为20mM的 $\text{NH}_4\text{Ac-NH}_4\text{OH}$  pH7.5水溶液。

[0071] 本实施例的反相富集、反相转盐和反相纯化条件如下：流速100ml/min，220nm检测，纯化洗脱梯度见下表所示，百分比为体积百分比。

[0073]

洗脱步骤	洗脱时间	洗脱液
1	0~50min	100%样品 C1
2	51~71min	100%流动相 C2
3	72~90min	100%流动相 A
4	90~95min	100%流动相 A→90%流动相 A+10%流动相 B
5	95~125min	90%流动相 A+10%流动相 B→80% 流动相 A+20%流动相 B

[0074] 本发明中,步骤(5)结束后的125~126min内,将洗脱液从80%流动相A匀速降低至50%流动相A,相应的匀速增加流动相B至50%,在126~135min内保持50%流动相A+50%流动相B洗脱,以达到清洗色谱柱的目的。收集保留时间为105~115min的洗脱液即得到加压素溶液。根据HPLC法测定的加压素HPLC的纯度为99.52%。本实施例中加压素粗品溶液中杂质的去除率为23.86%。

[0075] 实施例5加压素的质谱检测

[0076] 采用Waters micromass ZQ单重四级杆电喷雾质谱(ESI-MS)测定实施例2、3和4得到的加压素,测试条件为:采用电喷雾电离(ESI)源,在正离子电离模式下进行质谱分析,毛细管电离电压3.0kV,取样锥孔电压35kv;离子源温度115℃,脱溶剂温度350℃,脱溶剂氮气流速700L/h,锥孔反吹氮气50L/h,四级杆扫描范围50.0~1500m/z。

[0077] 检测的结果为:分子离子峰[M+H]<sup>+</sup>质荷比(m/z)为1084.41,主要离子碎片峰[M+2H]<sup>2+</sup>质荷比(m/z)为542.71,都符合理论值即加压素的分子量为1084.24。