

# 反应时间对Fmoc-甘氨酸合成工艺的影响

孔祥爽, 周羽馨, 项楠楠, 姜福佳\*

(长春职业技术学院, 吉林 长春 130033)

**摘要:** 以甘氨酸为原料, 用9-芴甲氧羰基(Fmoc-Cl)为络合试剂, 采用Fmoc固相合成法保护甘氨酸的 $\alpha$ -氨基, 在众多反应的条件下, 以反应物反应时间为影响因子, 选取甘氨酸与Fmoc-Cl的反应时间为2h、3h、4h、6h、8h、10h、12h、15h, 通过实验结果表明, 甘氨酸与Fmoc-Cl的反应时间为4h时得到最高产89.4% 产品纯度98.10%。

**关键词:** Fmoc-甘氨酸; 反应时间; 合成工艺; 影响因子

肽是涉及生物体内多种细胞功能的生物活性物质, 是机体完成各种复杂的生理活性必不可少的参与者。机体所有细胞都能合成多肽物质, 其功能活动也受多肽的调节。

在肽合成中, 为了得到理想的目的肽, 首先需要对氨基酸的活性基团加以封闭或保护<sup>[1]</sup>。以便按要求进行合成。在国外, 氨基酸中的氨基与活泼侧链的保护策略主要有Fmoc法和Boc法两种, Boc法氨基保护策略优势在每次耦合后用TFA处理会解除肽类的 $\beta$ -折叠, 可以减弱二级结构对合成难度的负面影响<sup>[2]</sup>。Fmoc法避免了接肽时反复使用强酸的弱点, 每次去保护时释放出可检测的化合物以及没有腐蚀性试剂参与反应, 其温和的反应条件使得其主要应用于敏感的氨基酸衍生物, Fmoc-Cl是最常见的氨基酸保护剂<sup>[3]</sup>。

本次实验采用较常见的氨基酸保护剂Fmoc-Cl作为保护试剂, 利用Fmoc法把甘氨酸活泼 $\alpha$ -氨基保护起来, 生成Fmoc-Gly-OH, 从而为肽的合成提供了稳定的条件。本文探究甘氨酸与Fmoc-Cl的反应时间对反应产率与纯度的影响。

## 一、试剂与设备

### (一)试剂

甘氨酸(吉林生化)、Fmoc-Cl(吉林生化)、10%

碳酸钠(北京化工厂)、浓盐酸(北京化工厂)、乙醚(北京化工厂)、乙酸乙酯(天津市进丰化工有限公司)、石油醚(天津市富宇精细化工有限公司)、无水硫酸镁(天津市进丰化工有限公司)。

### (二)设备

78-1 磁力搅拌器(江苏金坛市佳美仪器有限公司)、RE-2000 旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂)、Al204 电子天平(梅特勒-托利多仪器厂)、熔点测定仪、紫外可见分光光度计(北京市六一仪器厂)、高效液相色谱仪(日本岛津)、PH计(梅特勒-托利多仪器厂)。

## 二、试验与方法

### (一)Fmoc-甘氨酸合成试验

Fmoc-甘氨酸合成路线如图1。具体过程为: 用Fmoc-Cl溶于10%碳酸钠溶液条件下, 低温与甘氨酸反应, 可制得Fmoc-甘氨酸。实验过程中以反应物Fmoc-Cl为监控对象, 通过薄层色谱监控反应进度<sup>[5]</sup>, T.L.C展开剂为V(乙酸乙酯):V(石油醚)=1:10。

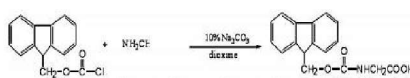


图1 Fmoc-甘氨酸合成路线

**基金项目:** 2010年吉林省教育厅“十一五”科学技术研究项目(吉教科合字[2010]第482号)

**作者简介:** 孔祥爽(1989-), 女, 长春职业技术学院食品与生物技术分院学生。研究方向: 生物制药。

周羽馨(1990-), 女, 长春职业技术学院食品与生物技术分院学生。研究方向: 生物制药。

**通讯作者:** 姜福佳(1983-), 男, 长春职业技术学院食品与生物技术分院助教, 硕士。研究方向: 生物制药。

(二)反应时间对制备Fmoc-甘氨酸影响的研究试验

甘氨酸与Fmoc-Cl按1:2投料,将甘氨酸溶于12ml 10% Na CO 中,控制反应 pH 值 9.0,Fmoc-Cl 溶解于 5.0ml 丙酮滴加到体系中,滴加完毕,冷却到 0℃,冰浴搅拌 30min,然后室温搅拌分别为 2h、3h、4h、6h、8h、10h、12h、15h。用薄层色谱监控反应进度,反应完毕,倒入 50ml 蒸馏水中,无水乙醚萃取三次,冷却并用 50%盐酸调节 pH 为 2,析出大量白色固体,分别用 50 ml 乙酸乙酯萃取三次,无水硫酸镁干燥,减压蒸馏除去溶剂,石油醚进行重结晶,得 Fmoc-甘氨酸。

(三)Fmoc-甘氨酸的测定

合成样品的鉴定与检测:高效液相色谱(HPLC)进行样品纯度、熔点仪对熔点的检测。

### 三、结果与讨论

(一)反应时间对制备Fmoc-甘氨酸影响研究试验结果,如图2。

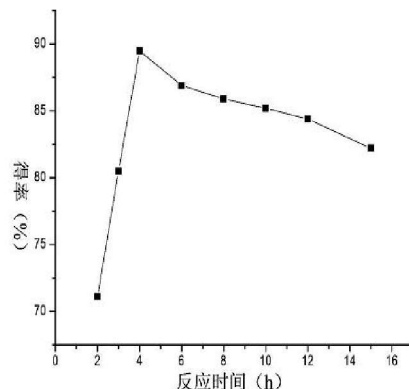


图2 反应时间与Fmoc-甘氨酸合成产率的关系

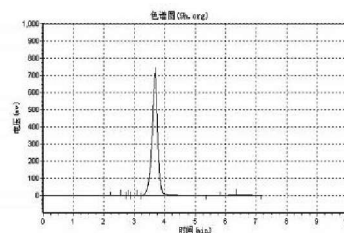
由图2可见,时间为2h至4h,产率随时间的增加而增加,在时间为4h时达到最高点,产率为89.4%;而后产率随时间的增加而降低。因此,在时间对Fmoc-甘氨酸合成工艺的影响中,最佳时间为4h。

(二)Fmoc-甘氨酸的纯度测定结果

如图3所示,通过高效液相可知,以HPL(214nm)流动相(甲醇:水=80:20),流速0.5ml/min 色谱柱(18烷基键合硅胶柱),对反应时间为4h时制得的Fmoc-甘氨酸纯度进行检测,Fmoc-甘氨酸

纯度为98.10%。

熔点检测结果为174~176℃,符合文献要求。



分析结果表				
峰号	峰名	保留时间	峰高	峰面积
1		2.548	391.691	4911.680
2		2.987	147.556	816.380
3		3.089	1309.946	17346.438
4		3.689	112791.250	9228219.600
5		6.348	4450.000	155989.797
总计			718090.443	9414361.134
				100.0000

图3 Fmoc-甘氨酸高效液相分析图谱

### 四、结论

综上所述,本实验通过单因素实验对甘氨酸与Fmoc-cl的反应时间进行了探索,依据数据优化结果可知,Fmoc-甘氨酸合成反应最佳时间为4小时,其产率可达89.4%,纯度为98.10%。

### 【参考文献】

- [1]赵萍萍,徐大刚,廖晓全,等.保护氨基酸Fmoc2His(Trt) 2OH的合成方法优化[J].化学世, 2008(9): 549-552.
- [2]龙康侯,蹇敦龙,简志刚,等.Fmoc-cl的制备[J].化学试剂,1988,10(6):37-63.
- [3]姜福佳,王玉萍,周畅,等.酒糟中蛋白质的提取工艺[J].吉林大学学报(理学版),2010,48(1).
- [4]冯冬,蒋珍菊.HPLC在N-Fmoc-Cys(Trt)合成工艺中的定性、定量分析[J].生命科学仪器,2009,8(2):42-45.
- [5]杜秀敏,Fmoc系列保护氨基酸的制备研究[D].南京:南京工业大学,2004.

(责任编辑 陈玉洁)