



上海有机所低分子肝素钠精细结构分析取得新进展

文章来源：上海有机化学研究所

发布时间：2013-02-21

【字号：小 中 大】

近日, *Analytical Chemistry* 杂志发表了中国科学院上海有机化学研究所康经武课题组在低分子量肝素(LMWHs)精细结构分析方面的研究成果(*Anal. Chem.* 2013, 85, 1819–1827)。作为一类抗凝血药物, LMWHs在临床上用于治疗肺栓塞、脑栓塞及手术后预防血栓的形成。在此类药物中, 依诺肝素钠(Enoxaparin sodium)是全球销量前20位的药物, 年销售额在30–40亿美元。2010年美国FDA 通过法案, 批准依诺肝素钠仿制药物上市, 但要求从结构上证明仿制药物与原产家药物具有生物一致性(Biosimilar)。因此, 低分子肝素精细结构的分析方法很快成为学术界和制药界关注的焦点。此外, 随着肝素越来越多的生物活性(如抗肿瘤活性)被发现, 需要强有力的分析方法用于结构与生物活性关系的研究。

肝素是由L-艾杜糖醛酸(或葡萄糖醛酸)和N-乙酰葡萄糖胺(或D-葡萄糖胺)形成的二糖单元重复构成的高度硫酸化的线性多糖。肝素经过酶或化学的方式部分降解就可以获得LMWHs。高度的结构非均一性, 加上裂解时出现的衍生物, 使得LMWHs精细结构的分析异常困难。

在这篇论文中, 研究人员提出一种能够实现全面分析LMWHs精细结构的新策略。用超高效体积排阻色谱/飞行时间质谱(UPSEC/Q-TOF-MS)对完整的糖链结构进行Top-down(自上而下)的表谱分析(profiling)。UPSEC可以将LMWHs中的所有糖链成份按分子量大小分为24个馏分, 通过在线连接的Q-TOF-MS可以获得每一馏分中各异构体的高分辨质谱数据。这样的分析方法不仅可以获得糖链链长分布数据, 也大大简化了质谱图的复杂程度, 有助于质谱数据的解析。通过质谱数据的卷积分析法可以获得糖链的building blocks(构建模块)组成、糖链的硫酸化和氨基乙酰化程度等, 一共鉴定出包括1,6-成环结构、非还原端为饱和艾杜糖醛酸, 以及糖链数为奇数的70多种寡糖链结构。随后他们对构成糖链的building blocks进行bottom-up(从下而上)式的定量分析。定量分析糖链需要用三种肝素酶混合物彻底水解低分子肝素, 然后用建立的毛细管电泳方法对10个二糖, 1个三糖, 2个四糖, 特别重要的是4个带有1,6-成环结构的寡糖衍生物进行分离测定。为了保证定量分析的准确性, 他们依据硫酸化寡糖的电泳淌度与其电荷-质量比呈线性关系的原理, 提出一种对无法获得标准品的特殊硫酸化寡糖的定性分析方法。

两种分析方法分别提供了互补的结构信息, 综合两种方法获得的数据, 就可以获得完整的低分子肝素的结构全貌。

这一研究成果为低分子肝素类药物的质量控制以及肝素结构与生物活性关系研究提供了关键技术。该方法已经申请PCT专利并在某制药公司得到实施。

上述研究工作得到国家自然科学基金委、科技部和中国科学院的大力资助。

