

肝素类药物中多糖杂质的检测化验分析方法及其应用价值

曹鑫鑫（河北常山生化药业股份有限公司，河北 石家庄 050800）

摘要：肝素类药物作为一种抗凝血药物，在临床疾病治疗中广泛应用开来。肝素类药物的质量和安全性直接关系患者治疗效果。药物中所存在的多糖杂质不仅影响药物纯度，还容易引发出血、过敏等风险。本文总结了肝素类药物中多糖杂质的检测化验分析方法，详细分析了色谱分析法、质谱分析法、电泳分析法、光谱学方法及其他检测方法。希望制药企业借助采用先进的检测化验技术可以提高药物纯度、最大程度规避生产损失、节约研发成本并增强药物的市场竞争力，最终获取较高的经济价值。

关键词：肝素类药物；多糖杂质；检测化验分析方法；应用价值

0 引言

肝素类药物在生产过程中会产生多糖杂质，该杂质会影响药物质量和安全性。因此，制药企业准确检测多糖杂质，对于保证药品的疗效、降低不良反应具有重要意义。现阶段，色谱、质谱、电泳以及光谱学等多种检测方法被广泛应用于肝素类药物质量控制中。以上检测技术在提高肝素类药物纯度的前提下，还可以有效减少药物生产过程中所引起的经济损失，进而提高制药企业整体研发效率。

1 肝素类药物中多糖杂质的种类及特性

肝素类药物中多糖杂质的种类繁多，主要来源于生产过程中的不完全分解或者合成。低分子量肝素（LMWH）中的多糖杂质主要有短链肝素片段，该片段由肝素分子链断裂而产生。短链片段不仅影响药物活性，还会增加出血风险。糖胺聚糖杂质属于另一类常见杂质，由没有完全反应的糖胺单体或者半乳糖胺所构成，该杂质在制备过程中不容易被彻底清除。糖胺聚糖杂质会影响药物的纯度和稳定性，也会干扰药效。

磷酸化糖胺片段在某些肝素类药物中也会存在，此类杂质源自生产过程中肝素和磷酸盐的反应，干扰药物的免疫原性和生物学功能。不管何种多糖杂质都会影响药品质量，并导致批次间的不一致，进而对药物安全性产生负面影响。因此，制药企业要精准识别并有效去除这些杂质，以此保证肝素类药物的质量^[1]。

2 肝素类药物中多糖杂质的检测化验分析方法

2.1 色谱分析法

液相色谱（HPLC）和气相色谱（GC）是检测肝素类药物中多糖杂质常用的方法。色谱分析法是在色谱柱中将样品和流动分离，利用不同成分对柱内固定相亲和力差异，获得分离后的组分。肝素类药物中多

糖杂质检测中检测人员选择不同类型的色谱柱和流动相可以精确分析糖链结构及其杂质成分。色谱分析中逆相液相色谱（RP-HPLC）多用于分离肝素的不同糖基团，可为制药企业提供高效灵敏的结果。此外，光谱法与紫外检测（UV）或荧光检测（FLD）等其他检测方法相结合可以增强多糖杂质检测的灵敏度和准确性。

检测人员采用UV检测时可以选择合适的波长检测肝素中的紫外吸收峰，以监测杂质的变化情况。色谱分析法除了适用定量分析，也可以定性分析多糖杂质，帮助研究人员深入理解不同杂质的结构和性质。色谱分析法在肝素类药物中多糖杂质检测方面可以起到明显的作用，但是此种检测方法耗时长且需要高效设备的支持。加之某些杂质分离困难，特别是当杂质和主成分相似时分离效率会有所降低^[2]。

2.2 质谱分析法

质谱分析法（MS）的灵敏度和精度均较高，此种检测技术被广泛应用于肝素类药物中多糖杂质的检测。该方法可以测量离子在电场和磁场中的运动轨迹，根据质荷比（ m/z ）来确定离子质量，进而展开组分分析。检测人员在肝素类药物检测化验中采用质谱法不仅可以定量分析药物的分子质量，还可以提供更为详细的分子结构信息，这在分析复杂杂质时具有无可比拟的优势。串联质谱（MS/MS）则可以精准鉴定并定量分析多糖杂质。质谱分析不仅可以检测肝素中是否存在低分子杂质，也可以揭示多糖链的具体结构和组成。

质谱分析准确识别出低分子量肝素多糖杂质的化学结构可为研发提供有价值的结构信息。结合高效液相色谱（HPLC-MS）联用技术还可以进一步提高样品分离及成分鉴定效率，最大程度提高杂质检测的分辨

率。尽管质谱法的灵敏度、分辨率较高,可检测低至皮克克级(ppb)的杂质,但是该方法识别复杂样品中杂质时会受到干扰,因此会出现信号重叠或者误判的情况^[3]。

2.3 电泳分析法

电泳分析法主要是基于分子在电场中运动的性质来分离不同分子或者分子群体,在蛋白质、多糖和核酸等大分子分析时被广泛应用。检测人员在检测肝素类药物中多糖杂质时采用电泳分析法需要在凝胶或者其他介质中施加电场,随后带电分子根据其分子量、电荷密度等特征进行分离,以此定性分析杂质。高分辨率的聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE)和琼脂糖凝胶电泳(AGE)可以将不同分子量的肝素多糖杂质高效分离出来。在此过程中,肝素分子和其杂质在电场中的迁移速度明显不同,检测人员对比不同分子量的标准品可以进一步确认杂质的特性及其含量。

电泳分析针对复杂的多糖混合物还可以提供分子结构及其多态性的信息,帮助研究人员深入理解杂质的来源和性质。电泳法的灵敏度相较于色谱和质谱法较低,且不能直接定量分析低分子杂质。此外,电泳法对样品的要求较高,需要检测人员花费较长的时间制备样品。以上特点决定了电泳分析法更多用于肝素类药物多糖杂质的初步筛查和定性分析。制药企业要想获得更加精准的分析结果需将其与其他检测方法联合使用^[4]。

2.4 光谱学方法

光谱学方法主要是分析物质和光相互作用的特性来展开定性分析和定量分析的一种技术。其中,紫外可见光谱(UV-Vis)、红外光谱(FTIR)和核磁共振光谱(NMR)等都是常见的光谱学方法。光谱学方法凭借操作简便、非破坏性以及灵敏度较高的优势在肝素类药物中多糖杂质检测中被广泛应用。紫外光谱法(UV)可以用来检测肝素类药物中的糖基分子,特别是针对含有共轭双键的化学结构该方法尤其适用。紫外吸收谱图中特定的吸收峰可以提供关于杂质分子信息,尤其适用于定量分析。

红外光谱(FTIR)则可以采用分子振动模式提供有关多糖杂质的详细结构信息。不同的化学键会在特定波数范围内吸收红外光,以此将多糖的化学构成和功能基团反映出来。这使得红外光谱成为分析肝素类药物中多糖杂质的重要手段之一。但是由于肝素及其多糖杂质的结构相似,某些分子在特定波长范围内会

产生重叠信号,进而也会影响光谱学的检测结果。即便如此,光谱学结合色谱、质谱等其他分析手段,依然可以有效克服该问题,为制药企业提供准确的分析结果^[5]。

2.5 其他检测方法

除了以上常见的分析方法外,制药企业在肝素类药物中多糖杂质分析中还有其他的检测技术。比如,气相色谱-质谱联用(GC-MS)和高效液相色谱-光谱联用(HPLC-UV/FLD)等技术可以结合不同的分离和检测手段提供高效、精准的分析结果。此外,动态光散射(DLS)技术可以展开对肝素类药物中多糖杂质粒度分布情况的研究,特别是检测聚集体或纳米级杂质时优势更加明显。

其他检测方法还包括高效的表面等离子体共振(SPR)和免疫分析技术,这些方法基于肝素分子或者其杂质与特定抗体的结合特性来加以检测。表面等离子体共振技术特别适用于肝素药物中较小的多糖杂质分子,可以提供实时的分子交互信息。酶联免疫吸附测定(ELISA)等免疫分析技术则可以利用抗体的高度特异性来检测低浓度的杂质分子^[6]。

3 肝素类药物中多糖杂质检测化验分析的应用价值

3.1 提高药物质量,减少不良反应的经济损失

肝素类药物中的多糖杂质会影响药物质量,甚至引发患者出现严重的不良反应,对患者健康以及药品市场声誉构成巨大威胁。某些肝素类药物中的低分子量杂质,如果没有在生产过程中有效去除则一旦患者使用则很容易引发过敏反应、出血倾向等副作用,导致患者治疗失败并增加额外的医疗成本。制药企业精准检测并彻底去除这些多糖杂质则可以显著提高药物的纯度,确保药物安全性,减少因不良反应产生的额外医疗开支。

数据显示,肝素类药物因杂质引发的严重不良反应可以导致每年数百万美元的医疗赔偿和法律费用。高质量的肝素药物不仅可以减少患者健康风险,还可以增强制药企业的市场竞争力,避免因药品质量问题而遭遇的经济损失。可见,制药企业建立高效、准确的杂质检测体系至关重要,便于及时识别和去除多糖不良杂质,由此降低药品风险并为消费者提供更安全的治疗选择。

3.2 保障药品批次一致性,降低生产损失

药品生产中的批次是否一致直接关系其市场认可

度。肝素类药物中多糖杂质的种类繁多且分布不均,使得每批药品的质量存在差异。如果不严格监控杂质则生产过程中会出现不同批次药物质量不一样的问题,进而降低药品疗效。制药企业建立完善的多糖杂质检测体系可以严格落实每一批次药品的质量控制,确保每批次药物成分和疗效的一致性。

比如,某些肝素药物因所含有的杂质含量不一样,导致某些批次无法达到临床要求,进而出现大量退货和生产停滞的问题,造成数百万元的直接经济损失。而精准的杂质分析除了可以及时发现这些潜在问题,还可以在生长期阶段就加以调整,避免批次间的质量波动。相关数据表明,制药企业严格落实杂质检测后,生产损失与未实施之前相比可减少至少 30%,极大提高了制药企业生产的经济效益,增强了市场对该药品的信任度^[7]。

3.3 增强产品生命周期管理,提高经济效益

药品的生命周期管理涵盖从研发、生产到上市后的各个阶段,每个阶段的产品质量都要符合严格的标准,可以灵活应对市场需求及法规变化。肝素类药物中的多糖杂质检测在产品生命周期管理中扮演着非常重要的角色。制药企业在药品研发、生产以及售后过程中定期检测杂质可以及时调整生产工艺或者优化药物配方,延长产品的有效使用周期。比如,肝素类药物在优化杂质含量后可以进一步增强药物的稳定性,以此在市场上保持较强的竞争力。

研究显示,制药企业定期落实对肝素类药物多糖杂质的检测并及时采取相应优化措施,可以将药品市场生命周期延长 2-3 年,使得制药企业保持较高的市场份额。伴随消费者对药品质量要求的不断提高,持续的质量管理直接影响制药企业的品牌价值及市场定位。制药企业积极引入先进的检测技术,并展开药品生命周期不同阶段的杂质检测可以实时掌控药品的质量状况,确保药品在整个生命周期内都可以达到严格的质量标准,带给企业最大化的经济效益。

3.4 节约研发成本,提高新药研发效率

制药企业的新药研发是一项复杂且昂贵的过程,肝素类药物在研发阶段面临的一大问题就是多糖杂质的分析和去除。传统的药物研发离不开繁琐的实验步骤,而科研人员借助杂质检测分析方法可以快速识别并去除不必要的杂质成分,进而加快研发进程。制药企业在药物研发早期阶段依靠所引入的色谱、质谱等检测技术可以实时监控药物的纯度和杂质,及时调整

实验方案,避免因杂质问题导致的研发失败或者研发延误。比如,某些肝素类药物的多糖杂质在没有及时检测并去除的情况下会延长研发周期并成本增加,最终导致研发失败。而展开对肝素类药物杂质分析后,可帮助制药企业缩短药物研发时间,进而节省大量的研发成本和时间成本。

此外,精确的杂质检测还可以减少制药企业在研发阶段的失败率,提高药物的研发效率,为新药快速推向市场提供了保障,使得制药企业得以在竞争激烈的药品市场中占据有利地位^[8]。

4 结语

综上所述,肝素类药物中的多糖杂质检测是确保药品质量、增强药物市场竞争力的重要环节。制药企业采用色谱、质谱、电泳以及光谱学等多种检测手段可以显著提高肝素药物的质量,减少药物不良反应并降低企业生产损失。在全球药品市场竞争日趋激烈的背景下,精准的杂质检测化验技术不仅有助于强化企业药品的质量控制,还可以极大程度节约研发成本,提高新药研发效率,最终为企业带来更高的经济价值。

参考文献:

- [1] 王丽娟,马庆华,张秀,等.定量核磁共振氢谱法测定肺炎球菌荚膜多糖中 C 多糖杂质的含量[J].分析化学,2024,52(05):735-742.
- [2] 江海霞.新生隐球菌荚膜多糖抗原的制备及检测方法研究[D].天津:天津大学,2022.
- [3] 彭紫君,林润,李泓杭,等.单丛茶多糖的表征及其体外降糖降脂活性研究[J].食品安全质量检测学报,2024,15(07):283-288.
- [4] 张传津,牛华星,张志民,等.茯苓多糖散中茯苓三萜的含量测定方法探究[J].饲料工业,2024,45(22):100-104.
- [5] 陈思,邓前,曾华英,等.1 型肺炎球菌荚膜多糖中十六烷基三甲基溴化铵含量反相高效液相色谱检测方法的建立及验证[J].中国生物制品学杂志,2020,33(10):1192-1195,1200.
- [6] 刘亚昕.黄芩根多糖的分离纯化及诱导肝癌细胞凋亡的机制研究[D].太原:山西大学,2023.
- [7] 鲁庚林.枸杞多糖的提取、分离纯化及功能特性研究[D].广州:华南理工大学,2023.
- [8] 杨俊.香栓菌子实体多糖提取工艺优化、结构表征及生物活性研究[D].长春:吉林农业大学,2023.