HAL
open science

Différentiation des isomeres de position du L-fucose sulfaté par spectrometrie de masse en tandem et couplage à l'electrophorèse capillaire

Bérangère Tissot, Jean-Yves Salpin, Jeanine Tortajada, Marie-Pierre Gaigeot, Michael Martinez, Régis Daniel

To cite this version:

Bérangère Tissot, Jean-Yves Salpin, Jeanine Tortajada, Marie-Pierre Gaigeot, Michael Martinez, et al.. Différentiation des isomeres de position du L-fucose sulfaté par spectrometrie de masse en tandem et couplage à l'electrophorèse capillaire. 21èmes Journées Françaises de Spectrométrie de Masse, 2004, Strasbourg, France. 2004. hal-00069117

HAL Id: hal-00069117

https://hal.science/hal-00069117v1

Submitted on 9 Oct 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

DIFFERENCIATION DES ISOMERES DE POSITION DU L-FUCOSE SULFATE PAR SPECTROMÉTRIE DE MASSE EN TANDEM ET COUPLAGE A L'ELECTROPHORESE CAPILLAIRE

B. TISSOT[a], J.Y. SALPIN[b], J. TORTAJADA[b], M.P. GAIGEOT[c], M. MARTINEZ[c], R. DANIEL[b]

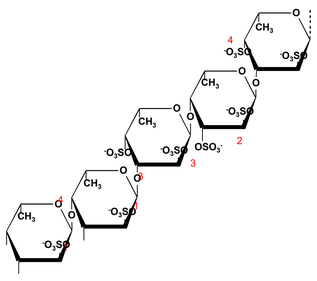
[a]Laboratoire de Thérapie Cellulaire, CHU Morvan, Université de Bretagne Occidentale, Brest France, [b]Laboratoire Analyse et Environnement UMR CNRS 8587, Université d'Evry Val d'Essonne, France, [c]Laboratoire de Modélisation des Systèmes Moléculaires Complexes, Université d'Evry Val d'Essonne, France

Les polysaccharides sont des bio-polymères dont le degré de complexité structurale est très élevé, en partie à cause des modifications régio-sélectives des monomères. Les difficultés de caractérisation structurale de ces composés sont un frein à leur utilisation en tant que molécules thérapeutiques, et ce, en dépit de leurs activités biologiques remarquables.

Une des modifications majeure des unités osidiques est la sulfatation, qui a été associée à l'activité biologique de nombreux polysaccharides, et notamment du fucoïdane. Le fucoïdane est un polysaccharide marin extrait d'algues brunes et constitué d'unité de α-L-fucose sulfaté. Le fucoïdane possède une activité vis-à-vis de plusieurs systèmes biologiques humains, en particulier une action inhibitrice du Complément, système biologique central de l'immunité innée[(1)]. Cette activité dépend de la présence de groupements sulfate dont la distribution reste débattue ; les groupements sulfate sont proposés sur le C2, C3 ou C4 du fucose.

STRUCTURE DU FUCOÏDANE

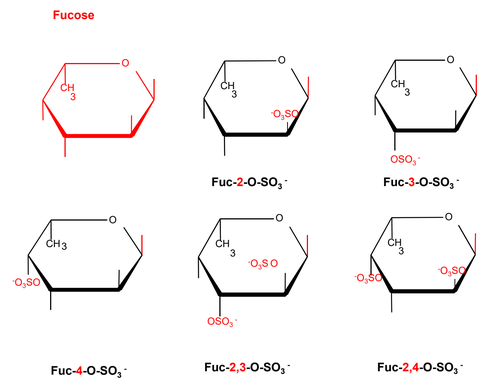
Ascophyllum nodosum



SO_3^- SO_3^- SO_3^-
↓ ↓ ↓
2 2 2
Fucα1→3Fucα1→4Fucα1→3Fucα1→3Fuc
4 3
↑ ↑
SO_3^- SO_3^-

(2) Chevolot et al.1999; Daniel et al. 1999

ISOMÈRES DU α-L-FUCOSE MONO- et DI-SULFATÉ



Nous avons utilisé la spectrométrie de masse ESI MS/MS (Bruker Esquire 3000+) pour l'étude des isomères sulfatés du L-fucose, constitutif du fucoïdane :

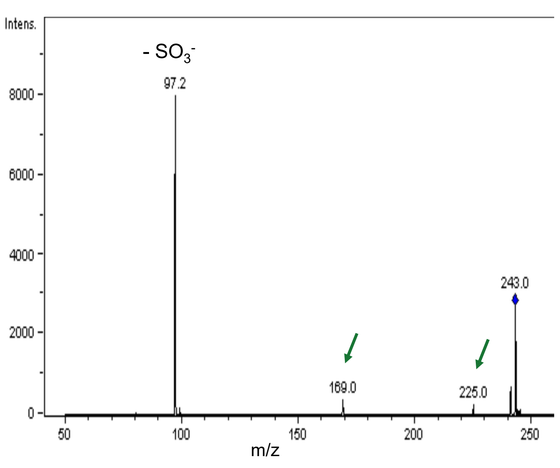
- sur l'isomère 3-S, sur les mélanges des isomères 2-S et 4-S, et 3-S et 4-S, ainsi que sur le mélange des trois isomères.

L'étude de l'origine des différences de fragmentation observées pour chaque isomère a été entreprise par modélisation moléculaire.

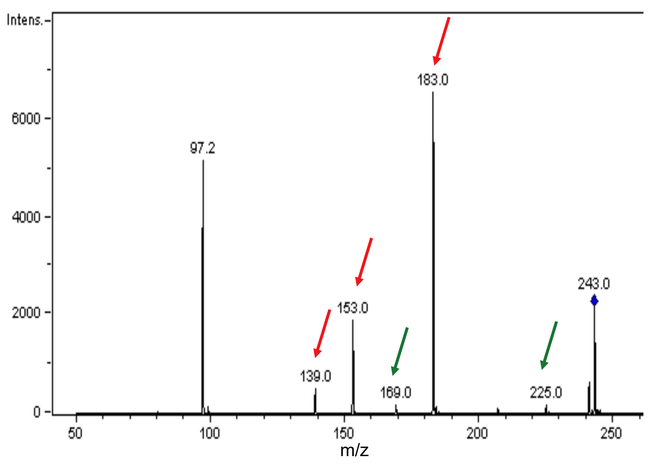
Les différents isomères du fucose mono-sulfaté peuvent être séparés par électrophorèse capillaire, en conditions organiques. Nous avons entrepris de coupler cette séparation analytique à la spectrométrie de masse MS/MS.

SPECTRES ESI/MS/MS DES DIFFÉRENTS ISOMÈRES MONO-SULFATÉS DU FUCOSE (ION PARENT m/z = 243.0)

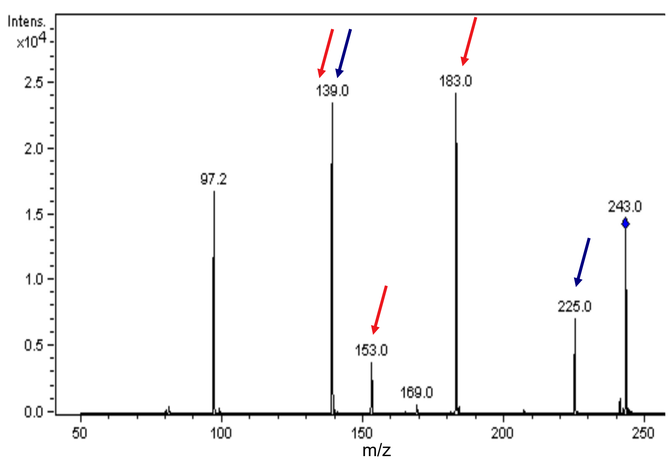
FUCOSE 3-S



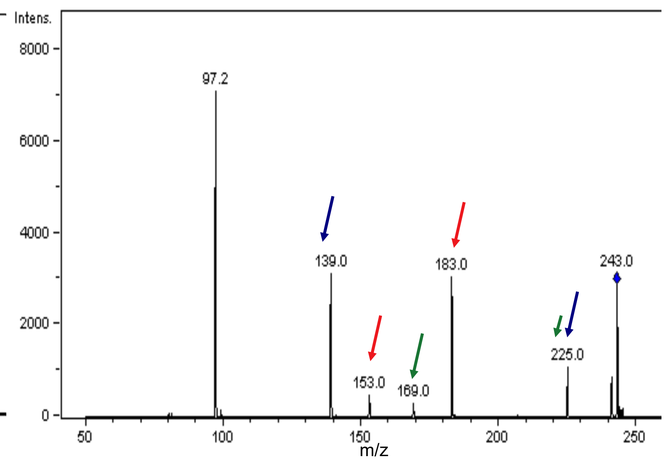
FUCOSE 3-S et FUCOSE 4-S



FUCOSE 2-S et FUCOSE 4-S

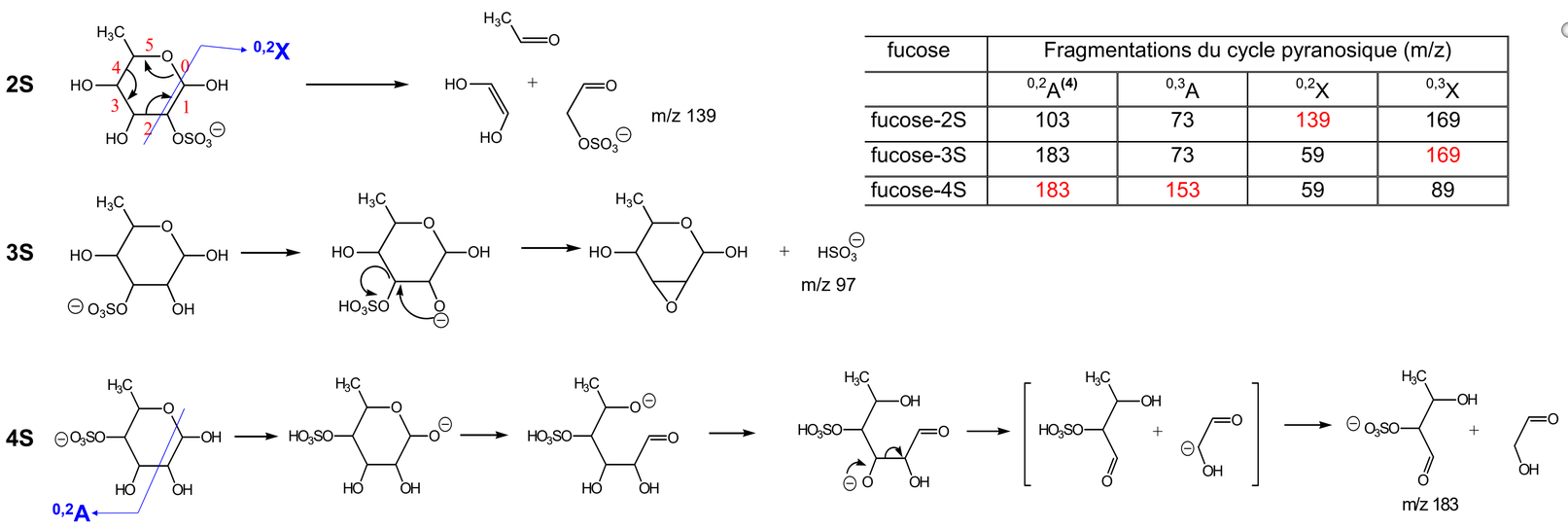


FUCOSE 2-S, FUCOSE 3-S et FUCOSE 4-S

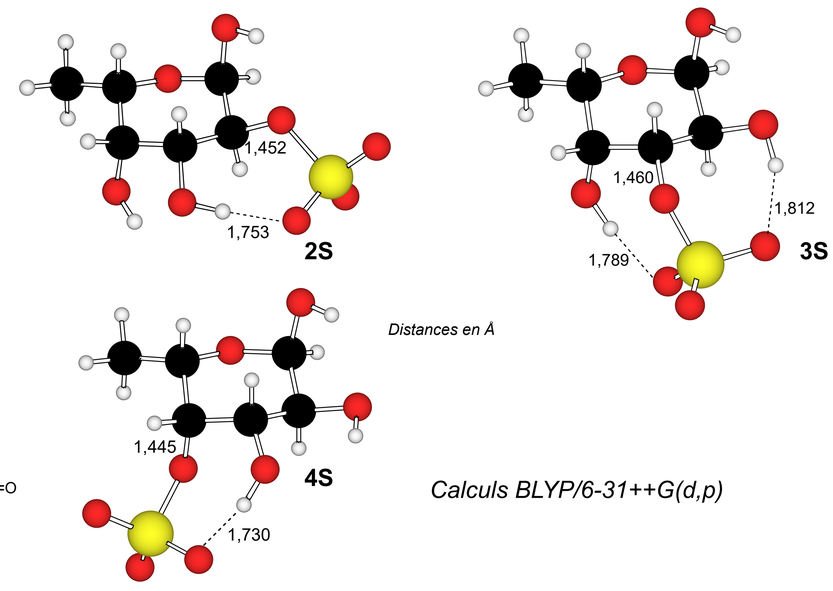


MECANISMES DE FRAGMENTATION - MODELISATION MOLÉCULAIRE

Outre la perte d 'eau (m/z 225) et du groupement sulfate (m/z 97), les ions fragments observés correspondent à l 'ouverture du cycle pyranosique. Celle-ci semble systématiquement impliquer la rupture de la liaison C1-O endocyclique. Il a été montré que cette rupture peut être induite par une déprotonation transitoire du site anomérique[(3)]. Les ions fragments contiennent tous la fonction sulfate.



fucose	Fragmentations du cycle pyranosique (m/z)			
	$^{0,2}A$[(4)]	$^{0,3}A$	$^{0,2}X$	$^{0,3}X$
fucose-2S	103	73	139	169
fucose-3S	183	73	59	169
fucose-4S	183	153	59	89

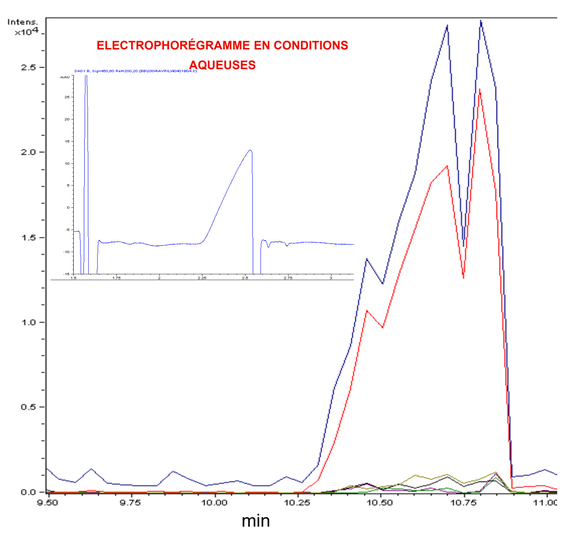


Calculs BLYP/6-31++G(d,p)

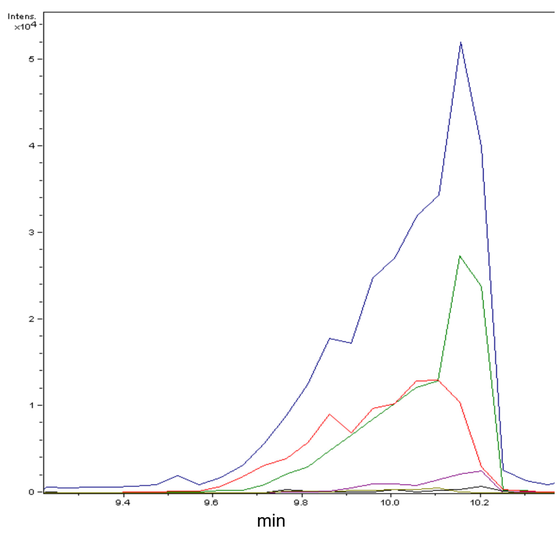
ANALYSE DES MÉLANGES D'ISOMÈRES PAR COUPLAGE ELECTROPHORÈSE CAPILLAIRE-ESI EN TANDEM

ANALYSE PAR ESI-MS EN TANDEM DE L'ION m/z = 243.0

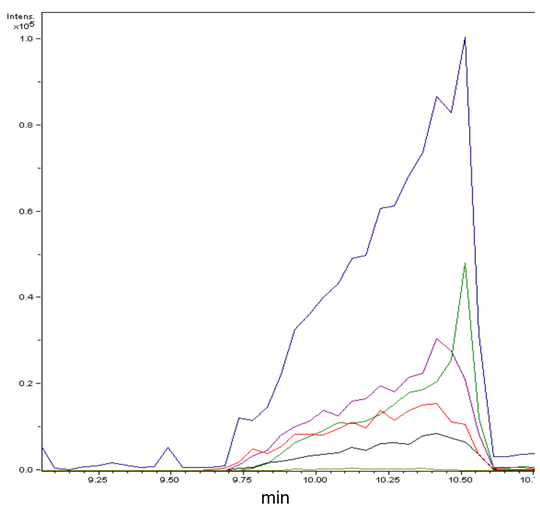
FUCOSE 3-S



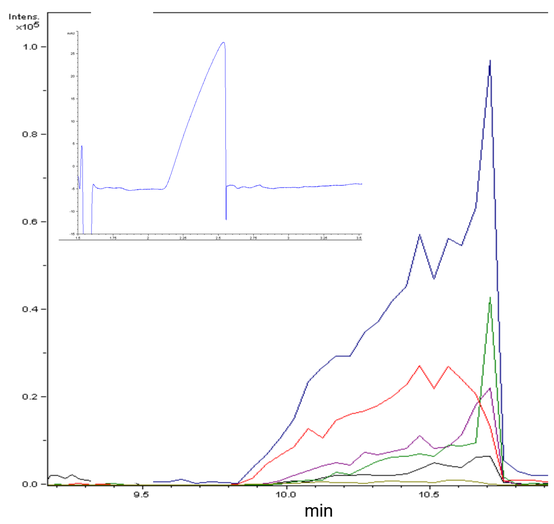
FUCOSE 3-S et FUCOSE 4-S



FUCOSE 2-S et FUCOSE 4-S



FUCOSE 2-S, FUCOSE 3-S et FUCOSE 4-S



COURANT IONIQUE — ION FILS m/z= 97 — ION FILS m/z= 225 — ION FILS m/z= 183 — ION FILS m/z= 139 — ION FILS m/z= 169

CONCLUSIONS

- Des isomères sulfatés osidiques peuvent être distingués par leurs produits de fragmentation en spectrométrie de masse.
- Exemple du fucose sulfaté : la formation de l'ion fils m/z 139 provient majoritairement du fucose 2-S.
- L'analyse par électrophorèse capillaire (EC) et couplage en ligne au spectromètre de masse confirme les schémas de fragmentation observés en infusion : la mise au point de la séparation des différents isomères par EC est nécessaire pour identifier de manière univoque les ions fragments de chacun d'eux.
- Relation structure-activité : analyse de la proportion des différents isomères constituant le fucoïdane en relation avec son activité anti-complémentaire, identification des groupements sulfate indispensables à l'activité.

1- Tissot, B. et al. (2003) *Glycobiology* 13, 29-30
2- Chevolot et al., 2001, *Carbohydr. Res.*, 330, 529-535; Daniel et al., 1999, *Carbohydr. Res.* 322, 291-297
3a- Caroll J.A. et al., 1995, *Anal. Chim. Acta*, 307, 431-447 ; 3b- Salpin J-Y. et al., 2004, *J. of Mass Spectrom.*, 39 930-941.
4- Domon B. et al., 1988, *Glycoconjugate J.*, 5, 397-409