

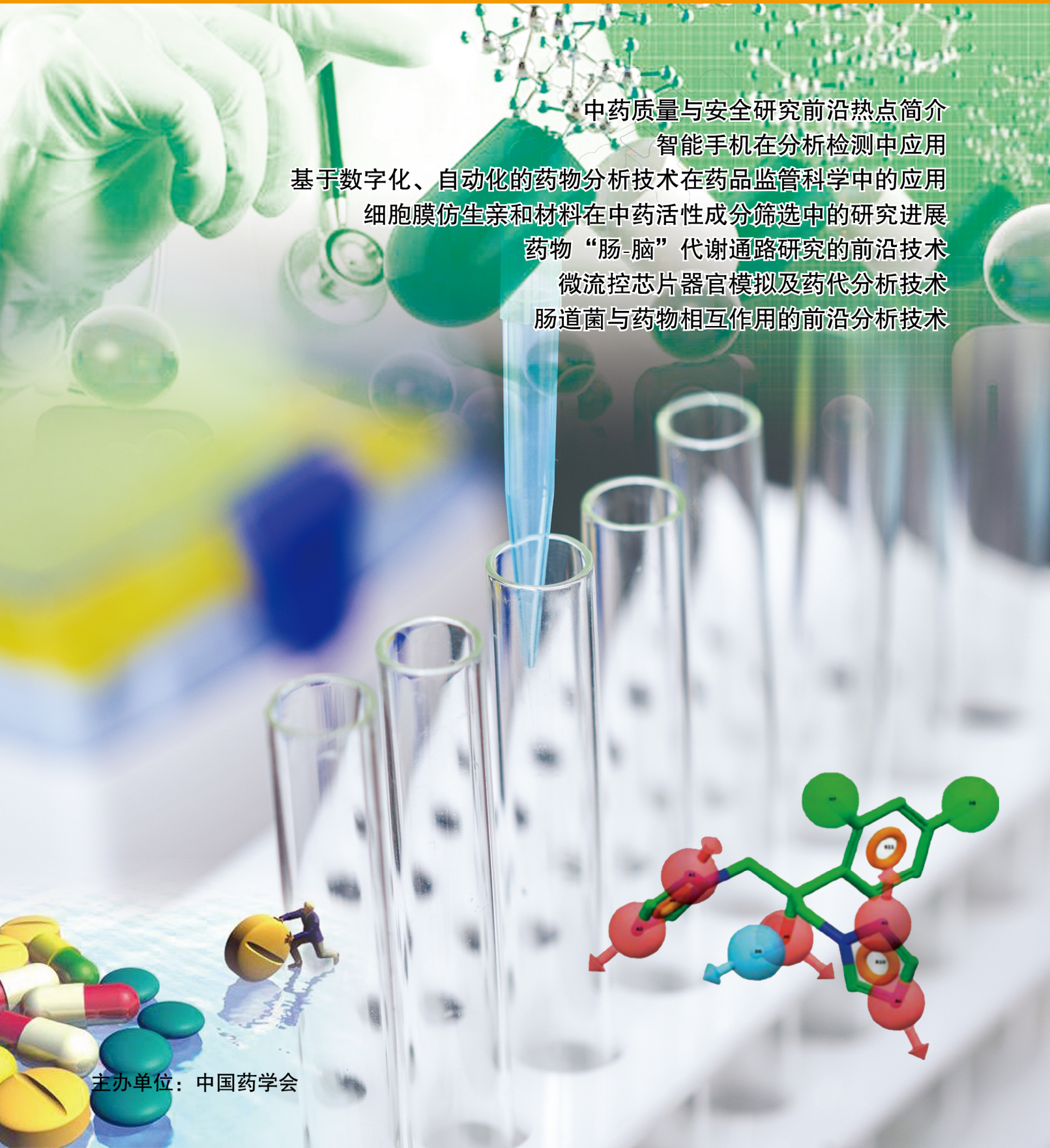
药 学 科 技 前 沿

5

2020年 总第5期

Frontiers of Pharmaceutical Science and Technology

内部资料·免费交流
准印证号：京内资准字1920—L0018号



中药质量与安全研究前沿热点简介
智能手机在分析检测中应用
基于数字化、自动化的药物分析技术在药品监管科学中的应用
细胞膜仿生亲和材料在中药活性成分筛选中的研究进展
药物“肠-脑”代谢通路研究的前沿技术
微流控芯片器官模拟及药代分析技术
肠道菌与药物相互作用的前沿分析技术

主办单位：中国药学会

目录

CONTENTS

药科技前沿

Frontiers of Pharmaceutical
Science and Technology

2020年6月第5期

主办单位：中国药学会
<http://www.cpa.org.cn>

编辑：《药科技前沿》编辑委员会
(北京市东城区天坛西里2号)
邮编：100050
电话：(010)67095787
传真：(010)58699295
E-mail: newsletter@cpa.org.cn
发送对象：中国药学会高级会员

印刷：北京金吉士印刷有限责任公司
印刷日期：2020年6月23日
印数：300册

前沿热点

- 中药质量与安全研究前沿热点简介 (1)
- 智能手机在分析检测中应用 (9)

监管科学

- 基于数字化、自动化的药物分析技术在药品监管科学中的
应用 (13)

综 述

- 细胞膜仿生亲和材料在中药活性成分筛选中的研究进展
..... (18)

应用技术

- 药物“肠-脑”代谢通路研究的前沿技术 (22)
- 微流控芯片器官模拟及药代分析技术 (28)
- 肠道菌与药物相互作用的前沿分析技术 (33)

中药质量与安全研究前沿热点简介

2019年10月26日,《中共中央 国务院关于促进中医药传承创新发展的意见》正式发布,提出了新时代中医药发展总体思路,并对大力推动中药质量提升和产业高质量发展进行了专门部署。2019年末,新型冠状病毒(SARS-CoV-2)肺炎(COVID-19)疫情爆发。习近平总书记高度重视疫情防控工作,强调坚持中西医结合、中医药并用。经过数月的临床实践,中医药在缓解症状,减少轻型、普通型向重型发展,提高治愈率、降低死亡率,促进机体康复等环节取得明显成效,中国疫情局势实现逆转。随着党中央和政府对于中医药的日益重视,如何守正创新,确保和提高中药用药质量和安全,使其更好地为新发突发公共卫生事件和人民健康服务,成为中药传承和发展的核心科学问题之一。科技发展和多学科交叉为中药质量与安全研究提供了有力支撑,新的研究思路、研究方向和研究技术蓬勃发展。本文以替代标准物质和数字标准物质、中药外源性污染风险评估、中药材质量等级评价、中药对照制剂和中成药质量等级评价新模式、中药多糖质量控制、动物源药材真伪鉴定、有毒中药安全性评价为例,对中药质量与安全研究前沿热点进行简介,以期对中药研究和监管提供参考。

1 替代标准物质和数字标准物质 (Digital Reference Standard, DRS)

药品质量控制所需的标准物质种类和数量越来越多,这给发放方和使用方都带来了巨大压力。如中药多指标分析需要大量的化学对照品,但这些对照品或者提纯困难、价格高昂,或者不稳定、毒性大、存在安全风险。上述问题极大地影响了标准物质的提供与使用。替代标准物质和数字标准物质为标准物质和药品质量控制的发展提供了新的思路与方法。

替代标准物质法系指使用1个或少数几个实物标准物质,再借助一些恒定的特征值和算

法,对另外1个或多个待测成分进行定性、定量的方法。其中,双标线性校正法采用1个定量对照品以相对校正因子法定量,再增加1个定性对照品采用双标线性校正法进行色谱峰定性。该法的具体步骤包括:色谱柱的拟合与剔除、标准保留时间的确定、双标对照品的选择、两点预测、多点验证和色谱柱分类。较之相对保留时间法,双标线性校正法显著提高了定性的准确度和色谱柱的适用性,应用前景良好。替代标准物质法具有以下特点:①可以减少实物标准物质的使用,降低检测成本;②出现了一些新技术、新方法,但仅有相对保留时间法、相对校正因子法和对照提取物法被收入药典,其余方法的实用性还有待探讨;③已收入药典的相对保留时间法的准确性及重复性还有待提高和进一步研究。

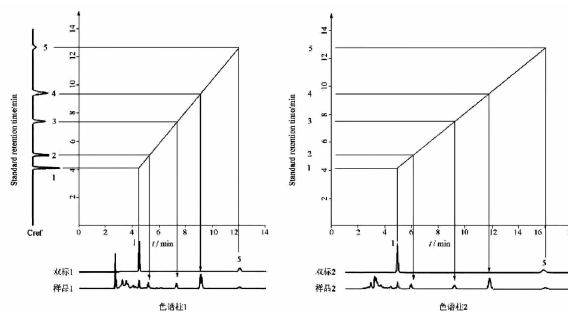


图1 双标线性校正法保留时间预测原理示意图

数字标准物质(DRS)是实物标准物质的数字化、数据化、互联网化及智能化形式,在药品定性和定量分析中代替实物标准物质的功能。它既是多维数据库,又是智能计算软件,更是在线分享平台,并符合一定的规范的认证。与目前的一些化合物数据库或软件相比,数字标准物质具有更丰富的内涵和功能。主要包括以下五个方面(见图2):一是信息的方面,这是数字标准物质的内在形式;二是云的方面,这是数字标准物质的数据基础;三是网的方面,这是数字标准物质的沟通桥梁;四是

端的方面,这是数字标准物质的交互载体;五是规范的方面,这是数字标准物质的质量保证。将药品标准物质进行数字化,既能减少实物标准物质的制备和标定,减少资源浪费、环境污染等,节省成本;又能以一种系统化、规范化的形式提供更全面的、相互关联的信息,达到智能搜索、大数据存储及互联网共享的目的。

2 中药外源性污染风险评估

药品安全为全社会所高度关注,随着环境污染日益严重,种植过程中农药、化肥的使用,中药饮片增重染色以及不规范炮制等都可能造成外源性有害残留物(包括重金属及有害元素、农药残留物、生物毒素等)的超标、中毒,甚至造成致命的安全事故。外源性有毒有害残留物从毒性角度看,多具有隐蔽性强,蓄积中毒的特点;从污染角度讲,多为环境中普遍存在的污染物,且与环境、食品中同类污染可能具有累加性。此外,外源性有害残留物污染容易导致社会公众的误解与恐慌,并对行业发展造成巨大的影响。因此,需要对于中药中外源性有害残留物的风险进行科学、合理的评估。近几年,研究学者已经开始将目光投向外源性有害残留物的风险评估。采用靶标危害系数(THQ)、食品安全指数(IFS)、超额风险等方法对中药中重金属、农药残留、黄曲霉毒素进行风险评估。这些研究虽然已经较为广泛和深入,但仍存在不够系统和规范的问题,有待进一步探讨和完善。



图2 数字标准物质的特性

为指导和规范中药外源性有害残留物的安全风险评估,提出《中药中外源性有害残留物安全风险评估技术指导原则》。风险评估的基本程序包括危害识别、危害特征描述、暴露评估、风险特征描述。

危害识别是根据现有数据进行定性描述的过程。危害识别应从外源性有害残留物的理化特性、吸收、分布、代谢、排泄、毒理学特性等方面进行描述。危害特征描述是阐述外源性有害残留物可能引起的不良健康效应,并对不良效应的特性进行定性或定量描述,是确定剂量-反应关系或健康指导值的过程。对于有权威数据的外源性有害残留物,通过直接采用FAO/WHO、WHO、JECFA、FDA、EPA、EFSA等国际权威机构最新的评估报告及数据,确定其健康指导值。

中药中外源性有害残留物的暴露评估是以所获得的中药中外源性有害残留物的残留量数据,以及临床用量数据为基础,根据所关注的目标人群的用药特点,选择能满足评估目的的最佳统计值计算暴露量的过程。由于重金属及有害元素半衰期较长,在人体中积蓄,对于其暴露评估通常为慢性(长期)暴露评估,中药消费量和重金属及有害元素的残留量(浓度)可以分别选用平均值或P95等不同组合,进行评估。对于中药材(饮片)中重金属及有害元素的暴露评估,可按照公式1计算其日暴露量(Exp):

$$\text{Exp} = \frac{\text{EF} \times \text{Ed} \times \text{IR} \times \text{C} \times t}{\text{AT} \times \text{W}} \quad (\text{公式1})$$

公式1中EF为暴露频率,Ed为中药一生的暴露年限,IR为处方中药材的日摄入量。根据国家食品安全风险评估中心在全国11个省份范围内20917名调查者的有效消费调查问卷,EF的P95分位值为每年90d,Ed为20年,IR的P95分位值为500g;C为中药材(饮片)中重金属及有害元素的测定值($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$);t为经过煎煮等方式提取后重金属及有害元素的转移率,综合文献和课题组的研究结果,在水煎的条件下,铅、镉、砷、汞、铜的t值分别为14%、14%、35%、24%、14%;AT为平均寿命天

数 = $365 \times 70 = 25\ 550$; W 为人体质量,一般按 63 kg 计。

中药中农药残留量的暴露评估分为长期暴露评估和短期暴露评估。长期暴露评估是针对整个生命周期内平均每日暴露情况进行评估,短期暴露评估主要是针对 24 h 内中药中农药暴露情况进行评估。对于中药材(饮片)中农药残留量的暴露评估(包括短期和长期暴露评估),可按照公式 2 计算其日摄入量:

$$\text{Exp} = \frac{\text{EF} \times \text{Ed} \times \text{IR} \times \text{C} \times t}{\text{AT} \times W} \quad (\text{公式 } 2)$$

公式 2 中 IR 为中药材(饮片)日摄入量(g),建议短期暴露评估 IR 为最大日摄入量 P95 百分位点值 500 g;长期暴露评估, IR 为平均日摄入量 200 g。 C 为中药材(饮片)中农药的测定值($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$),建议短期暴露评估时 C 为中药材(饮片)中农药残留量的 P95 分位值,长期暴露评估时 C 为中药中材(饮片)中农药残留量的平均值; t 为经过煎煮等方式提取后农药的转移率;其他参数意义同公式 1。

风险特征描述是在危害识别、危害特征描述和暴露评估的基础上,对评估结果进行综合分析,描述危害对人群健康产生不良作用的风险及其程度以及评估过程中的不确定性,并向风险管理者提出科学的建议。对于有健康指导值的重金属及有害元素(如镉、汞、铜),可按照公式 3 计算危害指数(HI):

$$\text{HI} = \frac{\text{Exp} \times 10}{\text{HBGV}} \quad (\text{公式 } 3)$$

公式 3 中 Exp 为计算得到的日摄入量($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$);10 为安全因子,表示每日由中药材及其制品中摄取的重金属及有害元素的量不大于日总暴露量(包括食物和饮用水)的 10%; HBGV 为重金属及有害元素的健康指导值($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)。对于镉和汞, $\text{HBGV} = \text{PTWL}/7$;对于铜, $\text{HBGV} = \text{PMTDI}$ 。若 $\text{HI} \leq 1$,中药中重金属及有害元素的健康风险较低;若 $\text{HI} > 1$,风险应予以关注。

对于尚未建立健康指导值的重金属及有害元素,可按照以下公式计算暴露限值(MOE):

$$\text{MOE} = \frac{\text{BMDL}}{\text{Exp} \times 10} \quad (\text{公式 } 4)$$

公式 4 中 Exp 为计算得到的日摄入量($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$);10 为安全因子; BMDL 为重金属及有害元素的基准剂量下限值。若 $\text{MOE} > 1$,中药中重金属及有害元素的健康风险较低;若 $\text{MOE} \leq 1$,风险应予以关注。

对于有健康指导值的农药,可按照公式 5 和公式 6 分别计算短期危害指数(HIa)和长期危害指数(HIc):

$$\text{HIa} = \frac{\text{EXP}_a \times 100}{\text{ARfD}} \quad (\text{公式 } 5)$$

公式 5 中 EXP_a 为计算得到的短期日摄入量($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$);100 为安全因子,表示每日由中药材及其制品中摄取的农药残留量不大于日总暴露量(包括食物和饮用水)的 1%。

$$\text{HIc} = \frac{\text{EXP}_c \times 100}{\text{ADI}} \quad (\text{公式 } 6)$$

公式 6 中 EXP_c 为计算得到的长期日摄入量($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$);100 为安全因子。若 $\text{HI} \leq 1$,中药中农药的健康风险较低;若 $\text{HI} > 1$,风险应予以关注。

探索并推行中药中外源性有害残留物安全风险评估技术体系,将为中药中外源性有害残留物的风险控制、残留限量标准的制修订提供有效的技术支撑,同时将对政府部门制定政策,应对突发药品安全事件,促进中药产业的可持续发展提供具有重要的实际意义。

3 中药材质量等级评价

中药既是药品,又是市场流通、交换和经营中的商品。另一方面,中药还具有农产品的特征,地理、气候、土壤、环境、种质种苗、种植、采收、加工、储藏等因素和环节都会对其生产造成影响,导致质量出现差异。这种差异体现在药品属性上,是疗效的不同;体现在商品属性上,是价格的不同。因此,在中药市场交易过程中,自然形成了以商品规格为代表的等级划分,并成为控制中药质量,执行等价交换,按质论价的重要依据。中药商品规格等级由来已久,等级划分为中药的优质优价提供依据。

随着中药分析技术的发展,中药等级划分也由商品规格等级逐渐向质量等级过渡。伴随着分析技术的发展,针对中药品质的研究也日益广泛和深入,中药材及饮片的质量等级建立已成为中药质量评价的前沿热点和新兴领域,按评价思路和指标分类,大致可以归为基于性状特征的质量等级评价研究、基于化学分析的质量等级评价研究、基于生物活性的质量等级评价研究、基于综合分析的质量等级评价研究 4 种模式。

中国食品药品检定研究院联合起草的《西红花质量等级》团体标准是行业内第 1 个以“质量等级”区分药材“商品规格”的标准,对于中药行业的产业良性健康发展具有深远的影响和重要意义。有别于传统的以大小、粗细、质量、外观等指标来区分优劣的中药材商品规格等级标准,该标准旨在采用现代化分析技术手段明确影响西红花质量的化学物质群,建立全面的西红花药

材质量控制体系及质量等级区分方法,制定西红花等级团体标准规范。《中华人民共和国药典》2015 年版一部西红花项下规定以西红花苷中含量较大的西红花苷-I和西红花-II作为西红花的质量评价指标,对西红花中苦番红花素没有规定。《西红花质量等级》团体标准的起草团队在研究中发现,西红花苷-I和西红花-II虽然是西红花药材中含量测定的指标性成分,但是并不是西红花药材中的特征性成分,在玄参科植物橘色毛蕊花及茜草科植物栀子中也存在,且含量较高。苦番红花素是西红花中特征性成分且含量较高,可将其作为表征西红花成分的专属化学标志物。经过系统调研,收集国内外各主要产地多批次样品,研究不同产地及不同储存条件下西红花苷-I、西红花-II和苦番红花素含量及变化规律,在《中华人民共和国药典》2015 年版的基础上,制定了质量等级标准。最终形成的等级划分依据见表 1。

表 1 西红花药材质量等级

	特级 (grade 0)	一级 (grade 1)	二级 (grade 2)
形状 (shape)	线性,三分枝,长约 3 cm (linear, 3-branched, about 3 cm long)		
颜色 (color)	暗红色 (dark red)		
质地 (texture)	体轻,质松软,无油润光泽,干燥后质脆易断 (texture light, lax and soft, without oily lustre, brittle and short after drying)		
气味 (smell)	气特异,微有刺激性,味微苦 (odour characteristic, slightly irritant; taste slightly bitter)		
西红花苷-I 和西红花-II 含量之和 (sum of crocin-I and crocin-II) / %	≥23%	≥17%	≥10%
苦番红花素含量 (picrocrocin content) / %		≥5%	

4 中药对照制剂和中成药质量等级评价新模式

中成药的研究水平不断提升,同时其质量问题也逐渐凸显。历年国家药品监督抽验结果均表明,按法定标准检验合格的样品,通过探索性研究,往往会发现诸多隐患。药材掺伪增重染色、加工不当、外源性有害残留偏高等问题屡见不鲜。中成药原料以次充好、掺杂掺伪、低于处方量投料、擅自改变工艺等行业潜规则屡禁不止。劣币驱逐良币,导致中药质量良莠不齐,产品优质优价难以体现,市场公平和公正受到冲击,严重影响产业健康发展。上述现象提示,法定检验标准仅仅是中药需要满足的最低标准。部分标准存在质量控制项目

缺失,使不法企业有机可乘,偷工减料;即使是对所有药味均设定了检验项目,可以依据其判断“真伪”,但难以反映“优劣”。如果不及时发展质量等级评价体系,“合格的劣药”甚至“合格的假药”还将长期混迹流通市场,威胁患者健康。

为此,中国食品药品检定研究院提出构建中成药质量等级评价体系的构想,得到了产、学、研各界的热烈响应。针对中成药标准大部分难以真实反映质量优劣,造成产品价格成本倒挂、良莠不齐的现状,以牛黄清胃丸、沉香化气丸、抗宫炎片、通窍鼻炎片、复方丹参片等 5 个品种为模式药物,探索中成药质量评价新模式。为给等级评价提供科学标尺(见图 3),首

先提出了中药对照制剂的研制指导原则和技术要求,包括定义、原辅料的优选、制备、标定、质量监测和应用。中药对照制剂作为药品标准物质的新形式,系指采用地道、优质、规范加工的原料药材(饮片)和辅料,严格按照制法和生产工艺规程,并遵循药品生产质量管理规范制备的实物对照,主要用于中成药的质量控制,评价产品投料的真实性(是否投正确的原料)和投料量的可靠性(是否按处方量投料)。中药对照制剂应用于中药质量等级评价具有如下优势:①中药复方物质基础复杂,中药对照制剂可以同时多个组分进行控制,为建立更加全面、完善的质量评价模式提供参照,体现了中药整体质量控制的思想。②中成药一般为复方,处方药味在制剂过程中化学成分可能会相互影响而发生变化,这种变化对照药材或对照提取物无法重现。中药对照制剂按照和中成药相同的处方、制法研制,其色谱行为与实际样品更加一致,当其用于鉴别时,可弥补对照药材或对照提取物与药品斑点/色谱峰以及背景差异较大的问题,能够有效避免误判,提高方法的准确性和专属性。③以中药对照制剂作为标准物质随行生成指纹图谱辅助或代替对照指纹图谱对中药复方制剂进行质量评价,可消除因仪器和色谱柱等实验条件不同引入的误差,同时解决无对照指纹/特征图谱不能拟合的问题,提高方法的重现性。④中药对照制剂可以在含量测定中作为随行对照,在不同色谱柱、不同仪器及不同实验室条件下比替代对照法具有更好的适用性,保证了色谱峰指认的准确性。⑤中药对照制剂可以提供组份转移率等关键信息,为等级标准限度的制订提供重要依据。



图3 对照制剂为中药质量等级评价提供科学标尺

同时,运用多种技术探索中成药的质量评价新模式。研究并建立全方鉴别项目,消灭质

量控制盲区;研制对照制剂,探索关键组分的转移率,设立能够体现优质产品特征的检测项目及限度;对市场流通的药品进行质量比对,做出优劣评判;尝试采用生物活性测定技术评价质量优劣,并探索谱效关系;以对照制剂含量和关键成分转移率为参考,制订等级限度标准,甄别“按GMP要求生产的放心药”和“应付标准检验生产的合格药”。以牛黄清胃丸为例进行说明(见图4):牛黄清胃丸由17味原料粉碎、配研制成,执行标准仅针对部分药味建立了鉴别项,收集了具有代表性的18个厂家的49批样品,探索其质量评价创新模式。首先,采用地道、优质的原辅料,制备了牛黄清胃丸对照制剂,对其进行标定,并用于质量控制项目的开发和样品评价。安全性方面,开展了7项研究,结果发现本品重金属及有害元素残留风险较大,采用ICP-MS方法建立了检查方法。以WHO健康指导值为基准,按中国药典《中药有害残留物限量制定指导原则》修订稿拟定了限度。有效性方面,新建番泻叶、石膏的显微鉴别方法,改进了薄荷的显微鉴别方法。新建了大黄、人工牛黄、冰片的薄层鉴别方法,从而实现了17个药味的全处方鉴别。采用UPLC法建立了指纹图谱,对多个药味的投料进行控制。结合Q-TOF技术对本品化学物质基础进行解析,指认了106个化合物。选定了39个特征峰,并对其药味加以归属。测定了49批样品的指纹图谱,以牛黄清胃丸对照制剂为实物对照随行测定,计算全谱相似度。定量方面,采用多种方法建立了多个药味的含量测定方法。包括GC法测定冰片、ICP-MS法测定石膏、UPLC串联质谱法测定人工牛黄、离子对UPLC法测定黄柏,以及与指纹图谱一测多评,UPLC多波长切换法同时测定栀子、连翘、菊花、枳实、黄芩、甘草、大黄。根据对照制剂和样品测定结果,选择能够体现产品质量差异的指标,以原料药材标准限度、处方比例,3批对照制剂含量,关键成分转移率为参考,制订等级限度,对49批样品的含测结果进行分级。最后,建立了本品抗氧化活性评价方法,活性测定结果与化学分析结果基本一致,同时验

证了含测指标选择的合理性。

5 中药多糖质量控制

多糖是生命四大基础物质之一,兼具有多方面药理活性,是中药主要功效成分之一。近年来,随着分析技术的进步和分子生物学的发展,多糖的研究也取得巨大进展,多糖类药物和保健品的研究正成为生命科学研究中又一个新的前沿和热点。中药多糖的生物活性与其结构特征密切相关,建立基于结构特征的中药多糖质量控制方法,对于保证中药多糖的安全有效至关重要。针对中药多糖研究的瓶颈,开创了专属性和准确性更高的中药多糖质控技术:建立了中药多糖中单糖组成、分子量及分布和糖苷键连接等测定方法。采用已建立的质控技术对市售香菇多糖注射液、注射用黄芪多糖及不同产地枸杞多糖进行质量评价(见图5)。并结合活性和构效关系研究,筛选出能反映多糖产品活性的关键结构参数。研制适用于中药多糖质量控制的对照品:形成黄芪多糖对照提取物及葡聚糖对照品初步制备和标化方案,研究将其应用于相应产品的质控过程。对中药多糖分子量测定方法进行深入探讨,提出了建立适用于中药多糖分子量测定的新思路,并形成相应的标准操作规范。

6 动物源中药真伪鉴定

动物药是动物的组织、器官、腺体、体液、分泌物以及皮、骨、角、甲和胎盘等的加工品。我国中药资源达12万余种,其中动物药近2215种(据《中国动物药资源》统计我国可用动物药1574种),约占全部中药资源的18%。动物药是中国医药宝库中的重要组成部分,具有悠久的历史,有资源广、活性强、疗效高、效益大的特点。早在《神农本草经》就有关于动物药的记载,历代本草记载药物达2598种,动物药562种(21.6%)。在中药材的国家标准和地方药材标准中,均收载有动物类中药材。

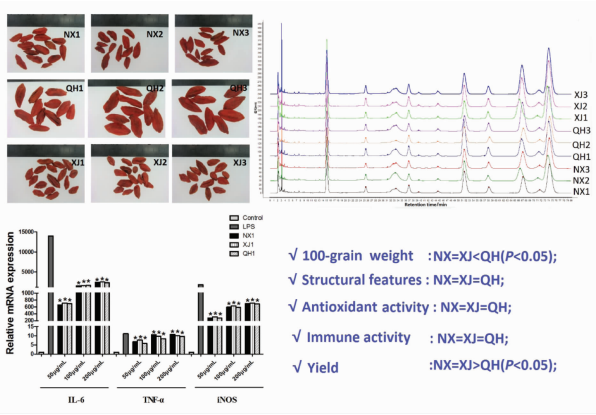


图5 同产地枸杞多糖结构与活性评价

随着新型冠状病毒在全球范围内的爆发,中药中的动物源中药备受人们关注,加强其质量控制是安全有效使用动物源药材的有效保障。但由于动物源药材成分复杂,分析方法欠缺等原因,质量控制方法及标准的缺失,无法有效打击动物源药材的掺伪造假行为。动物源药材的质量控制已经成为相关产业发展的瓶颈。迫切需要建立专属有效的动物源药材质量控制方法及标准。针对动物胶类药品(阿胶、鹿角胶、龟甲胶、鳖甲胶等)、角类(羚羊角、水牛角、山羊角等)、胆汁类(牛胆粉、猪胆粉、熊胆粉、蛇胆汁等)等动物来源药材及相关含有胶类药材的中成药品种多、成分复杂、蛋白质生物大分子检测难度大等问题,结合物种来源、成分特点等特性,利用蛋白质组学分析技术结合分子生物学鉴定技术,建立了动物胶类

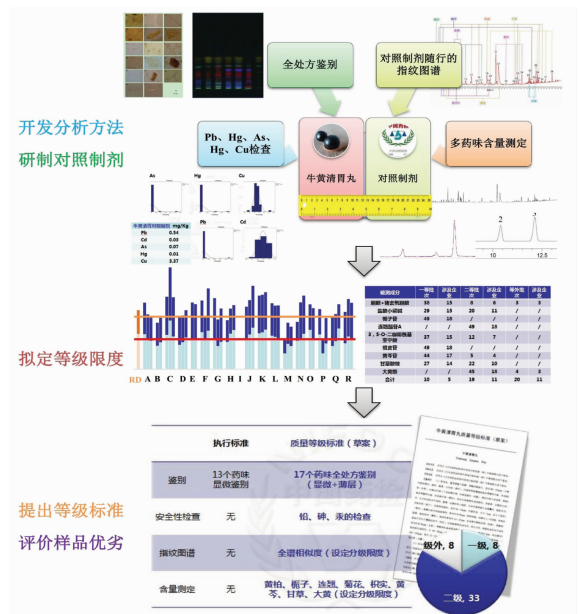


图4 牛黄清胃丸质量等级评价新模式

药材及相关产品检测技术和方法,形成了 LC-MS/MS 特征肽段专属性真伪鉴别系统和 DNA 分子鉴定系统及检测技术平台(图 6),修订了《中国药典》(2015 年版)鹿角胶、龟甲胶、阿胶鉴别项,完成《中国药典》(2020 年版)任务阿胶多肽含量测定项;获批补充检验方法 8 项;建立团体标准 1 项。这些研究技术的建立不仅解决了多年来该类动物药真伪鉴别的难题,同时为市场监管提供了有力的技术支持。

加强动物源药材的生物安全控制是安全有效使用动物源药材的必要措施。动物源性中药材可能携带的细菌、霉菌、酵母菌、寄生虫、病毒、以及未被分类的病原体等,会给人体健康或公共卫生带来的风险。为保障中药产业中生产人员及消费者的安全,指导行业内有效排除动物源药材的生物安全隐患,我单位配合国家药品监督管理局正在制定动物源性中药材检疫和生物安全风险防控技术指导原则。

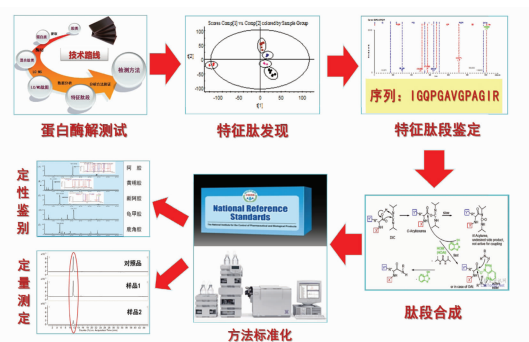


图 6 动物源药材检测技术

7 有毒中药安全性评价

中药是指在中医理论指导下使用的药用物质及其制剂,包括中药材、中药饮片或中药颗粒剂和中成药等,在我国有着悠久的历史,是中医药的瑰宝。《神农本草经》将中药分为上、中、下三品,把攻病愈疾的中药归为有毒,久服补虚的中药归为无毒,有毒中药服用后药效强烈。2015 年版《中国药典》收录的有毒中药,共有 83 种,其中大毒 10 种,有毒 42 种,小毒 31 种。然而,近年来中药在临床上的毒性副作用或不良反应报道不断增多,一定程度上影响了中药的应用前景,不利于中医药事

业的健康发展。因此,为了全面落实“四个最严”要求,加大市场监管力度,确保公共用药安全,对于有毒中药的安全性评价,势在必行。

有毒中药的毒性评价:有毒中药具有治疗窗口比较窄的特点,如果临床上使用不当,有可能会引起药物中毒反应,甚至危及生命。因此,有必要对有毒中药进行毒性评价。首先,建立毒性评价模型。比如对于含蒽醌类有毒中药(何首乌、大黄和虎杖等)、含吡咯里西啶生物碱类有毒中药(千里光、款冬花、返魂草、佩兰、野马追和紫草等)、含雷公藤甲素类有毒中药(雷公藤、昆明山海棠和东北雷公藤等)、含马兜铃酸类有毒中药(马兜铃、寻骨风、天仙藤、细辛和木通等)、含黄独素类有毒中药(黄药子和粉防己等)、含柠檬苦素型四环三萜类有毒中药(川楝和苦楝等)及其他类有毒中药,需要建立可靠的毒性评价模型,进而判断其毒性强弱。其次,分离鉴定毒性成分。通过毒性评价模型,获得毒性组分,并对其进行毒性化学成分的系统研究,最终获得毒性成分。最后,建立毒性成分的限量值。中药毒性成分研究缺乏明确的限量标准研究方法,可以参考食品安全、水质和环境保护等有明确的毒性限量标准研究方法,即以毒理学数据为基础,结合毒性成分的毒性程度、毒性成分的暴露情况和人体的每日允许摄入量等因素,进行分析评估。对于有毒中药的毒性成分的限量标准,可按照公式 1 计算其限量标准理论值(L):

$$L = AW\delta / M \quad (\text{公式 1})$$

式中, L 为限量标准理论值($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$); A 为每日允许摄入量($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$); W 为人体平均体重(kg),一般按 60 kg 计算; M 为中药每日人均可服用的最大剂量(kg); δ 为摄入因子,表示每日由某种中药摄取的毒性成分的量占该毒性成分总摄入量的比例。

有毒中药的效益风险评价:药物效益风险评价(benefit and risk assessment, BRA)是对药物效益和风险进行综合考量的评价方法,是保证药物有效性和安全性的重要手段。首先,建立有毒中药的多准则决策分析模型(multi-cri-

teria decision analysis, MCDA)。构建一套可行的有毒中药 MCDA 模型,需要综合考虑中药的安全性和有效性等多种因素,通过定性和定量评价相结合全面评价中药的效益和风险。其次,基于 MCDA 模型构建有毒中药效益风险评价体系。初步确定可能对效益和风险产生影响的因子,建立效益和风险指标的价值树,以所治疗疾病的性质、临床疗效、不良反应等因素为代表,分别按其严重程度、持续时间和发生率的高低,对各项指标分配权重,最后采用统一标准评分,得出效益风险比的估值。最后,建立有毒中药安全性数据库。对于有毒中药,需要多大的样本量才能足以评价其安全性是临床应用非常关注的一个问题,即多大的样本量才能发现某种不良反应(ADR)的概率(Probability)可以满足临床医学和统计学的要求。所以,需要进一步加强临床中药不良反应的监控力度,尤其对严重不良反应的监控和分析,有助于充分评价中药的效益风险。

通多对有毒中药进行系统的毒性评价,明确其毒性强弱、毒性成分及限量值,再结合临床应用价值和不良反应等,建立有毒中药的效益风险评价机制,最终建立有毒中药的安全性评价体系和有毒中药毒性数据库(见图7),确保有毒中药在临床上的安全性和有效性。

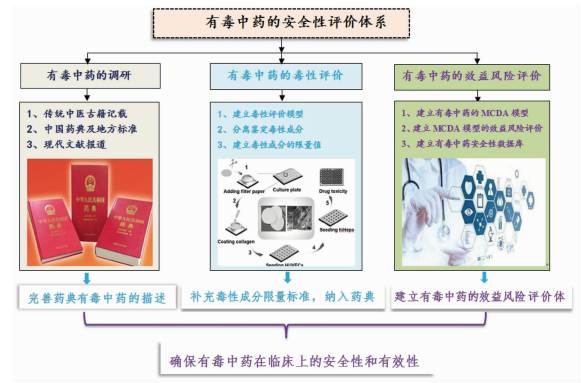


图7 有毒中药的安全性评价体系

聂黎行,孙磊,左甜甜,王莹,程显隆,
杨建波,金红宇,魏锋,戴忠,于健东,马双成
(中国食品药品检定研究院中药民族药检定所、
世界卫生组织传统医药合作中心 WHO CC、
国家药品监督管理局中药质量研究与评价重点实验室、
国家科技部中药质量与安全标准研究创新团队)



马双成,博士,研究员,博士研究生导师,现任中国食品药品检定研究院中药民族药检定所所长、世界卫生组织传统医药合作中心(WHO CC)主任、国家药品监督管理局中药质量研究与评价重点实验室主任、中国药学会药物分析专业委员会主任委员、中国中药协会中药质量与安全专业委员会主任委员、国家药典委员(第九届、十届、十一届)、国家药典委员会中药风险评估专业委员会主任委员等。



聂黎行,副研究员,在职博士研究生。中国食品药品检定研究院中药民族药检定所、世界卫生组织传统医药合作中心(WHO CC)副主任。主要从事中药检定、中药质量标准制修订、中药标准物质、中药质量控制、天然产物活性成分开发、中药快检、光谱技术的应用、植物药国际交流与合作等研究工作。

智能手机在分析检测中应用

“科技改变生活”,智能手机(Smartphone)现已成为人们日常生活、工作和学习不可或缺的好帮手。与传统蜂窝手机(Cellphone)相比,智能手机运行系统和操作界面更精细巧妙,配备了多核心处理器和分辨率更高拍摄镜头。此外,用户可在手机应用商店自行下载安装软件,极大地拓展了智能手机的应用范围。当今,智能手机凭借其独特的便携性和实时检测优势,不再局限于人们通话交流和拍摄记录,其在分析检测领域应用业已成为研究热点,在医疗诊断、环境监测和食品药品监督等领域也发挥越来越大作用。人们不仅可以通过智能手机拍摄记录实验结果,也可用其直接进行数据处理分析,还可以针对实验需求开发应用程序,使得实验装备微型化、分析检测实时化。

本文将介绍智能手机在分析检测方面应用,展望其在分析检测领域的应用前景。

1 智能手机分析检测原理

智能手机在分析检测领域可用于控制实验进程、记录并检测实验结果和统计实验数据,其中记录检测功能应用最为广泛。智能手机用于分析检测的原理是采集待测物质在反应过程中的光、电信号,并将采集的信号通过应用程序或外接小型化设备实现量化,最终输出实验结果。

光学检测可大致分为比色法、荧光法和化学发光法。其中,比色法最常见,例如利用酸碱指示剂颜色变化检测酸度,基于金属络合物颜色检测重金属等。根据待测成分色度值(如 RGB、CMYK、 L^*A^*B 等)与浓度存在的比例关系,进行定量检测。荧光法是将待测物质进行荧光标记,再在一定波长激发光下,测定荧光强度,实现定量分析。此法灵敏度高,除使用手机应用程序或专业软件进行检测分析外,也可搭建微型光谱装置与手机联用。化学发光法灵敏度也较高,与荧光法相比,其无需激发光源或其它复杂设备,检测速度更快。

电化学检测是利用电极与待测物质发生电化学反应,灵敏度高。根据测量参数可分为电势测定法、电流测定法、电导测定法、电压测定法和电量测定法。

2 食品添加剂分析

有人使用纤维素纸顶空薄膜微萃取法,提取富集酸化后饮料中的亚硫酸盐,利用其与纤维素纸上三价铁离子和 1,10-邻二氮杂菲相继反应生成红色络合物,使用智能手机 App 检测其 RGB 值进行定量。有人合成三聚氰胺半抗原纳米金粒子复合物,将其固定在硝酸纤维素膜识别区域,可对非法添加物三聚氰胺进行半定量检测,结果与 LC-MS/MS 分析一致。

纸基微流控分析通过毛细作用控制样品在亲水微通道和疏水壁的流体运动,无需外力驱动,具有快速精确、绿色环保等特点。此外,检测试剂在纸上润湿后,经干燥便于储存携带,可实现便携式检测。图 1 是将纸基微流控装置打印在牛奶盒上,检测区域固定有比色反应试剂,只需加入 1 滴牛奶样品至检测区域反应,用自编 App 拍摄结果并检测,即可对样品中尿素和亚硝酸盐进行定量,全部过程仅约 10 min。使用纸基微流控装置检测果脯、干货等食品中常见防腐剂苯甲酸和二氧化硫,以及非法添加物甲醛,结果满意。

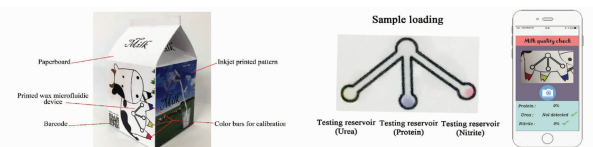


图 1 牛奶卡通样微流控装置(左)、显色反应(中)和手机 APP 颜色识别结果(右)

3 抗生素分析

抗生素在动物饲养场被广泛用于防止细菌感染、传播和促进动物生长,但滥用抗生素会导致食源性积聚,抗生素残留会促使耐药细菌产生,给人类健康带来不利影响。有人使用侧流免疫分析法,通过手机拍摄记录实验结果后,传送至 ImageJ 软件,比较分析检测区域和对照区域光密度值,对被测物进行半定量分析,20 min 内可完成同时检测牛奶中恩诺沙星、四环素、青霉素 G、磺胺嘧啶、氯霉素和链霉素等 6 种常见抗生素。

适配体是一种短序列单链寡核苷酸,结构简单、折叠构像清晰、易于合成、高度稳定。与

抗体相比,其具有和待测物更高的特异性和亲和性,可根据待测物选择不同适配体。基于智能手机应用适配体识别抗生素实时检测,具有很高特异性,可排除其它类型抗生素和食品中其它杂质干扰。利用链霉素适配体优先识别待测物,剩余适配体与互补 DNA 杂交形成双链 DNA,SYBR Green I 染料与双链 DNA 结合发出明显绿色荧光,荧光密度与链霉素浓度呈负相关。图 2 是使用智能手机作为便携式检测设备取代荧光计,通过拍摄记录待测物荧光信号并检测 RGB 中 G 值,对鸡肉和牛奶中链霉素进行定量。有人还以链霉素适配体-纳米金粒子复合物为比色法指示剂,使用自编 App 对蜂蜜和牛奶中链霉素进行定量检测,结果与常用紫外检测法和 LC-MS 法相比无显著性差异。

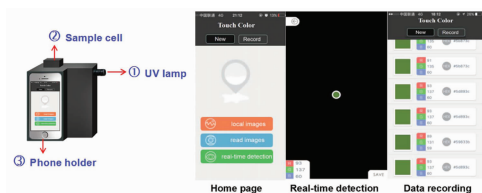


图 2 智能手机荧光检测装置(左)及应用程序(右)示意

2.3 微生物检测

致病性细菌直接或间接污染是食品安全问题的重要根源,也是引起集体食物中毒的关键因素。基于智能手机的便携式荧光显微镜已应用于微生物检测,如检测水样中诺如病毒。其过程是在显微镜下观察微生物,采用智能手机记录图像,再根据目标分析物特征,如尺寸、颜色和荧光强度等,实现量化检测。有人开发出一种可快速灵敏地检测苹果汁中鼠伤寒沙门氏菌的微流控生物传感器,见图 3。该方法使用免疫磁分离、荧光标记鼠伤寒沙门氏菌,再通过基于智能手机的荧光显微系统监测流动荧光斑点,并通过实时视频处理,计算荧光细菌的数量,最低检测限为 $58 \text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。将耐药性金黄色葡萄球菌适配体与荧光磁性纳米颗粒结合,用于捕获花生牛奶中金黄色葡萄球菌,再用智能手机荧光显微系统进行成像和定量检测,最低检测限低至 $10 \text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$,整个过程只需 10 min。

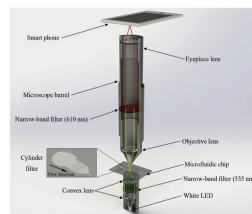


图 3 基于智能手机的荧光显微镜系统结构

2.4 农残和重金属分析

农药残留对人类健康乃至生态系统造成严重威胁,是人们对食品安全关注的重要内容之一。古人有银针试毒,今人则研发出可检测蔬果中农药甲基对硫磷和甲基对氧磷的手套(见图 4)。手套食指部分为生物传感扫描装置,包括笑脸状碳基计数器、工作电极、Ag/AgCl 参考电极和含有固定化有机磷水解酶的生物传感器系统;拇指部分带有印制的碳垫,抚摸样品表面采集待测物,再与食指接触发生电化学反应;反应产生的电流信号通过无线通信传输至手机,经 App 显示检测结果。有人采用荧光适配体侧流传感器结合荧光淬灭纳米对和智能手机光谱阅读器同时检测生菜和苹果等蔬果中毒死蜱、二嗪磷和马拉硫磷三种农药残留量,无需额外电源,适用于现场检测。

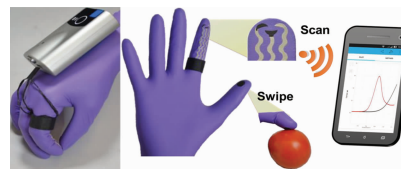


图 4 可检测农残的手套

重金属污染是食品安全的另一重要问题。有人使用纳米金修饰电极和自制稳压器进行电化学反应,信号经无线通信传输至手机 App,分析检测牛奶和果汁中 Cd^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Hg^{2+} 含量,最低检测限分别为 $1.1 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $1.0 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $1.2 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$,检测结果与 ICP-MS 法一致。利用此原理,也可检测 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 、 As^{3+} 等其他离子。

2.5 生物毒素分析

黄曲霉毒素具有很强的毒性和致癌性,是中药和食品存储不当时极易产生的一类外源性有毒物质。有人应用微流控芯片,将待测样品与芯片通道上黄曲霉毒素 B₁ 抗原发生间接竞争免疫反应后,再使用 App 检测图片结果光学灰度,根

据黄曲霉毒素 B₁ 浓度与光学灰度比值呈负相关,且在 0.5 ~ 250 ppm 范围内呈线性,测定发霉玉米中黄曲霉毒素 B₁ 含量,结果与 HPLC 和商用 ELISA 检测结果具良好一致性。

冈田酸及其衍生物是常见的腹泻性贝毒素,有人采用细胞活力传感器和仿生电子眼快速检测贻贝中冈田酸。细胞活力传感器由细胞计数试剂盒和两种活细胞 HepG2 与 THP-1 组成,仿生电子眼为基于智能手机的比色系统,包括便携式光源和安装检测细胞活力传感器 App 的手机。该方法对冈田酸检测特异性强,能与麻痹性贝毒素和神经性贝毒素高度区分,适合初步筛选样品中毒素。

2.6 食物新鲜度检测

食品中具有蛋白质水解活性的微生物作用于长链蛋白质,将其转化为分子量更小的化合物如游离氨基酸,这些氨基酸很容易发生氧化脱氨、脱羧和脱硫反应,从而产生总挥发性碱氮、CO₂ 和 H₂S 等,这些成分可作为食物新鲜度指标用于监测食品质量。有人采用手机 App 分析加样后 DMPC/PDA 囊泡比色试纸从蓝色到红色的变化程度检测深海鱼类及其罐头制品中组胺含量,检测结果与使用专业图像处理软件和光谱法结果无显著性差异。

近场通信(NFC)标记技术标签是一种经济实惠的纸样共振电路,智能手机可以不接触读取其信息。一种基于纳米结构的导电聚合物气相传感器,能高度灵敏地检测肉类中氨、腐胺和尸胺浓度。将这种聚合物作为导电“开关”,打印修饰 NFC 标签,腐败肉类释放的生物胺气体与聚合物反应,增加 NFC 标签电阻,当浓度超出预设阈值时,手机即可读出肉类的腐败情况,最低检测限低至 5 ppm。

2.7 中药成分检测

薄层色谱法具有结果直观、省时简便、成本低和可平行分析多个样品等优点,在中药质量控制中具有独特作用。由于传统薄层色谱法分析多采用专业成像设备和薄层扫描仪或专业图像处理软件进行检测,设备成本高。利用智能手机图像采集和数据分析功能,本课题组建立了基于智能手机成像,手机 App 分析的中药成分薄层色谱分析法(专利申请中),根据成分峰

光密度值,可对中药成分进行半定量测定。该方法简捷、方便、高效,在中药即时分析方面有广阔应用前景。

3 展望

基于智能手机分析检测方法是众多学科巧妙结合的典范,不仅简易便捷、灵敏度高、成本低、个性化定制且使用者无需专业培训,在食品安全保障方面将发挥重要作用,相信在不远的将来,智能手机在药物/中药分析领域也会得到广泛应用。

李绍平,赵静,刘美廷

(澳门大学中药质量研究国家重点实验室)



李绍平,博士,澳门大学特聘教授,中药质量研究国家重点实验室(澳门大学)副主任,Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 主编。主要从事中药质量控制与活性成分研究,发表 SCI 论文等 300 多篇,主(副)编中、英文专著 6 部,参编英文专著 10 部,研究成果申请中国专利近 20 项。

个人网页:<https://sklqrcm.um.edu.mo/shaoping-li/>



赵静,澳门大学中药质量研究国家重点实验室(澳门大学)副教授,博士生导师。兼任贵阳中医药大学和成都中医药大学客座教授,香港科技大学访问教授,澳门医务界联合总会青年委员,澳门中华中医药学会副会长,主要从事中药标准化与中药经济学评价研究,J. Sep. Sci. 副主编,担任 TrAC Trends in Anal. Chem., J. Chromatogr. A., Anal. Bioanal. Chem., Talanta, J. Pharm. Biomed. Anal., Carbohydr. Polym. 等 20 个 SCI 杂志审稿专家,及国家自然科学基金同行评审专家。

基于数字化、自动化的药物分析技术在药品监管科学中的应用

1 前言

保证药品质量,保障公众用药安全和合法权益,保护和促进公众健康是药品监管的目的,而如何更严格、更精准、更高效、更全面、更具前瞻性的管控好药品质量风险、严守药品安全底线,一直以来是药品监管科学研究所关注的重要内容之一。药品质量风险客观存在、不容忽视,近二十年来,我国药害事件多发,远的有“齐二药-亮菌素注射液”事件、“安徽华源克林霉素磷酸酯注射液(欣弗)”事件,近些年如“问题胶囊”事件、“缙沙坦基因毒”事件、“长春长生疫苗”事件等,引发全国震动^[1]。药害事件在引发药品审评审批制度改革思考的同时,更是呼唤更多的技术层面创新,用科学监管筑起药品安全技术防线,特别是数字化、自动化的现代技术手段的创新。

药物分析学是直接反应药品质量属性的最主要的学科,对于风险监测、风险识别也是不可替代的。先进的药物分析技术在防范药害事件发生、开展药品全生命周期追溯以及不良事件深入快速调查方面发挥着重要的作用^[2]。随着生物医药科学的发展,特别是创新算法、智能机器人、高精度传感器等前沿的数字化、自动化的科技越来越多的应用于药物分析技术,药品监管科学也得到了快速发展。比较有代表性的是快速检验、过程分析技术等的应用,以及配套的电子追溯、数字 QA 等信息化质量体系。本文就近年来的药害事件的思考进行了回顾,对基于数字化、自动化的药物分析技术在药品生命周期数据可靠性方面的应用进行了介绍,并结合监管科学的发展对创新药物分析技术和理念进行了展望。

2 药品安全风险事件的回顾分析

2.1 药害事件发生原因分析

2000 年至 2020 年,有较大影响的由药品质量缺陷引起的质量安全事件 22 起,从发生环节

上看,生产环节占 17 件,研发阶段占 3 件,经营环节占 2 件;从发生原因上分析,人为故意 14 起,技术原因(含研发设计缺陷、对产品认知不到位、生产经营过程偏差、检验疏忽等原因)占 8 起。

2.1.1 人为故意原因

2.1.1.1 非法添加的情形 2001 年 8 月,梅花 K 黄柏胶囊中非法添加过期的四环素引起患者肾小管性酸中毒;2009 年 3 月,糖脂宁胶囊中非法添加格列本脲等化学成分导致糖尿病患者血糖下降过快,严重低血糖,造成其心、肺、脑功能不可逆的损伤直至死亡;2009 年 3 月,大连金港人用狂犬病疫苗非法添加核酸类物质。2016 年 9 月,“活血丹”系列未检出名贵中药成分,实际为双氯酚酸钠、醋酸泼尼松等。

2.1.1.2 掺杂掺假的情形 2006 年 4 月,齐齐哈尔第二制药有限公司(“齐二药”)以工业二甘醇(7 000 元/吨)假冒药用辅料丙二醇(丙二醇 17 000 元/吨)作为亮菌素注射液的辅料,导致多名患者肾衰竭,13 人死亡;2008 年 10 月,完达山药业生产的刺五加注射液因昆明特大暴雨造成库存的刺五加注射液被雨水浸泡,使药品受到细菌污染,“完达山药业”云南销售人员张某从公司调来包装标签,更换后继续销售,导致 3 人死亡。2012 年 4 月,河北一些企业用生石灰给皮革废料进行脱色漂白、清洗、熬制成工业明胶,卖给浙江新昌县药用胶囊生产企业,最终流向药品企业,所用胶囊重金属铬含量超标,其中超标最多的达 90 多倍。

2.1.1.3 擅自变更工艺、不按规定工艺生产 安徽华源克林霉素磷酸酯葡萄糖注射液(欣弗)未按批准的工艺参数灭菌,降低灭菌温度、缩短灭菌时间、增加灭菌柜装载量,影响灭菌效果,导致 11 人死亡,93 人致病。2015 年 5 月,国家局飞行检查中发现,部分企业擅自改变提取工艺,使用 3% 盐酸代替稀乙醇制备银杏叶提取物,而按国家生产标准应使用稀乙醇提取。擅自改变提取工艺存在“分解药品有效

成分,影响药品疗效”风险。

2.1.2 技术原因

2.1.2.1 研发设计缺陷(产品认知不到位)

安徽华源克林霉素磷酸酯葡萄糖注射液(欣弗)原为肌肉注射的小水针剂,后改成静脉注射的大输液,克林霉素磷酸酯葡萄糖注射液水溶液不稳定,高温下也容易降解,改成大输液对灭菌要求更高,克林霉素磷酸酯本身具有热不稳定性,但却以大输液的剂型在临床上应用,针对该品种特点,企业在生产工艺中应采用过滤除菌法。企业在药效、安全性及经济利益的博弈后,缩短了灭菌时间、降低了灭菌温度以防止有关物质超标,但却造成了灭菌不充分,直接导致了“欣弗”药害事件的发生。

华海缙沙坦事件,对工艺变更研究不充分,擅自将原料药经工艺变更选用 DMF 为溶剂,导致基因毒杂质亚硝基二甲胺(NDMA)的产生。

2.1.2.2 生产、经营环节偏差 ①华联“甲氨蝶呤”事件生产过程交叉污染;②“佰易”免疫球蛋白事件、“长春长生疫苗”事件涉及批号套用、伪造批生产记录;③“欣弗”事件、“银杏叶”事件、“长春长生疫苗”未按规定工艺生产。

2.1.2.3 检验疏忽 ①“齐二药事件”事件也涉及到检验人员未将检测图谱与标准图谱对比鉴别以发现其中高达 20% 的二甘醇;②“香丹注射液”事件热原项目不合格而产品放行。

2.2 基于数字化、自动化的药物分析技术可在药品风险防控中发挥重要作用

“防范胜于补救”、“上医治未病、中医治欲病、下医治已病”,检验技术在风险监测、风险识别上发挥着重要作用,而药物分析是防范药害事件发生、确保药品安全性和治疗效果的重要手段之一。随着技术的不断发展,基于数字化、自动化的药物分析技术在药品监管中发挥着越来越重要的作用,特别是快速检验、过程分析技术的应用,以及电子追溯、数字 QA 等信息化质量体系,在有效预防或调查药害实践过程中具备很大潜力(表 1)。

药品快检技术具有操作简便、结果准确等优势,为快速、及时筛查出假冒伪劣药品提供了可靠保障,极大的增强了药品抽检工作的针对性与靶向性^[3,4]。微生物快检技术适用于药

品检验的快速检验技术包括:革兰氏染色法、三磷酸腺苷(ATP)发光技术、流式细胞术、等温微量热法、固相细胞计数法、环介导恒温核酸扩增技术(LAMP)、基因探针技术等^[5]。液质联用(HPLC-MS)技术既能对复杂成分进行快速分离,也能对具体成分进行结构分析,所以被越来越多地用于药品中非法添加、掺杂掺假的检测分析;与传统的 HPLC 相比,超高效液相色谱(UPLC)分离速度更快、灵敏度更高、分离度更好、抗干扰能力更强,已逐步用于产品定性定量检测。近红外光谱(NIR)、拉曼(Raman)光谱等快速鉴别方法在药物分析中也得到了发展和应用,能够实现快速的鉴别。

过程分析技术(PAT)通过在线工艺分析仪器对原材料、在线物料以及工艺过程的关键质量参数和性能特征进行及时测量,来设计、分析和控制生产加工过程,准确判定中间产品和最终产品质量状况,减少人为干预使生产更加流畅高效,产品质量更高^[6]。目前,PAT 研究的分析工具包括光谱技术、光学成像技术,动态光散射、气相色谱(GC)、质谱(MS)、核磁共振(NMR)、红外光谱(IR)、紫外可见(UV-Vis)光谱及 X 射线荧光(XRF)等,所使用的传感器技术也在不断的革新和优化^[7]。其中制药行业研究最多的是光谱技术包括近红外光谱法(NIR)技术、拉曼(Raman)光谱技术、荧光光谱法(LIF)以及光学成像技术等。

随着信息技术的发展,全链条平台逐渐凸显出在药品实验室风险防控领域的优势,能够将药物分析仪器由各自孤岛化的计算机化系统集成完整的数据载体,实现全过程的审计追踪,以及生命周期的各环节可追溯。我们中心也在不断探索,通过将法规逻辑与计算机程序逻辑紧密结合,建立“数字 QA”发挥药品生产企业内部自查的协助作用,力争做到流程有依据、条款有落点、工作皆授权、操作皆留痕,降低输入差错,提高效率。通过让药物分析与整个生产环节的信息数据在同一个全局平台统一严格管理,更大的提升药品生产质量全过程数据可靠,从而从技术上充分降低药品质量风险,预防药害事件发生,利于药品生命周期全链条监管^[8-9]。

表 1 2000 ~2020 年由质量缺陷引起重大药品安全事件及其防控

序号	名称	时间	发生原因	后果	原因归类	防控策略	利于有效预防或调查的防控技术			
							快检技术	PAT 技术	电子追溯	数字 QA
1	“梅花 K”事件	2001 年	“梅花 K”黄柏胶囊参加已经变质过期的盐酸四环素	128 人中毒	人为故意	事前监测、事后检验	√		√	√
2	关木通事件或称龙胆泻肝丸事件	2000 年~2003 年 4 月	广防己、关木通等中药含有共同的致病成分马兜铃酸	致病数约 10 万人	技术原因(产品认知不到位)	药物警戒、质量标准完善	√		√	
3	齐二药-亮菌甲素注射液事件	2006 年 4 月	亮菌甲素注射液所需溶剂丙二醇为工业原料二甘醇冒充	13 人死亡	人为故意	事前、事后检验	√		√	
4	安徽华源克林霉素磷酸酯葡萄糖注射液(欣弗)事件	2006 年 7 月	未按批准的工艺参数灭菌,降低灭菌温度、缩短灭菌时间,增加灭菌柜装载量	11 人死亡, 93 人致病	人为故意	过程监控		√	√	√
5	广东佰易“免疫球蛋白”事件	2007 年 1 月	非法购进原料,套用生产批号	382 人患病, 丙肝阳性	人为故意	事前、事后检验		√	√	√
6	吉林假“人血白蛋白”事件	2007 年 6 月	吉林省 18 家医院查出所使用的人血白蛋白含量低于 0.2%, 涉事产品全链条式造假, 从制作假药、到制作一系列假证书、假批号	假药	人为故意	全链条	√	√	√	√
7	上海华联甲氨蝶呤事件	2007 年 7 月	现场操作人员将硫酸长春新碱混液注入注射用甲氨蝶呤及盐酸阿糖胞苷药品中, 导致了多个批次的药品被硫酸长春新碱污染	130 多位患者受到严重的神经系统和行走功能损害	技术原因(生产过程偏差)	过程监控	√	√	√	√
8	博雅人免疫球蛋白事件	2008 年 5 月	批号 20070514 静脉注射用人免疫球蛋白(PH4)发生异常	6 人死亡	其他	过程监控		√	√	√
9	刺五加注射剂事件	2008 年 10 月	完达山药业生产的刺五加注射液因昆明特大暴雨造成库存的刺五加注射液被雨水浸泡, 使药品受到细菌污染。“完达山药业”云南销售人员从公司调来包装标签, 更换后继续销售	3 人死亡	技术原因(流通过程偏差)	过程监控、事后检验	√		√	√
10	糖脂宁胶囊事件	2009 年 1 月	糖脂宁胶囊非法添加“格列本脲”	2 人死亡	人为故意	事前、事后检验	√		√	√
11	香丹注射液事件	2009 年 3 月	浙江天瑞药业有限公司生产的香丹注射液, 热原不符合规定, 出现出现寒战、发热等疑似药品不良反应	13 例病人出现寒战、发热等疑似药品不良反应	其他	过程监控	√		√	√
12	大连金港“人用狂犬病疫苗”事件	2009 年 3 月	辽宁大连金港安迪生物制品有限公司 2008 年生产的 11 批冻干人用狂犬病疫苗于今年 1 月 6 日被检查出含有违法添加的核酸物质	暂无	人为故意	事前、事后检验	√		√	√
13	药用胶囊铬超标事件	2012 年 4 月	央视《每周质量报告》曝光, 河北一些企业用生石灰给皮革废料进行脱色漂白和清洗, 随后熬制成工业明胶, 卖给浙江新昌县药用胶囊生产企业, 最终流向药品企业。	9 家药厂的 13 个批次药品所用胶囊重金属铬含量超标, 其中超标最多的达 90 多倍	人为故意	源头控制	√		√	√
14	维 C 银翘片事件	2013 年 5 月	宝山堂制药有限公司生产的维 C 银翘片不仅被爆含有神、未残留, 而且成分与实际不符, 使用山银花的非药用部位投料生产维 C 银翘片干浸膏, 伪造生产记录和有关单据	无	人为故意	过程监控	√	√	√	√
15	济源市假“人血白蛋白”案	2013 年 9 月	河南郑州龙某利用丹参滴注射液在家中独自制造大量假冒人血白蛋白, 蛋白含量为零	假药	人为故意	源头控制	√	√	√	√
16	银杏叶事件	2015 年 5 月	国家局飞行检查中发现, 部分企业擅自改变提取工艺, 使用 3% 盐酸代替稀乙醇制备银杏叶提取物, 而按国家生产标准应使用稀乙醇提取。擅自改变提取工艺存在“分解药品有效成分, 影响药品疗效”风险	55 家企业不合格产品 2 335 批次	人为故意	过程监控		√	√	√
17	山东非法疫苗事件	2016 年 3 月	疫苗未经严格冷链存储运输销往 24 个省市	案值 5.7 亿元非法疫苗	技术原因(流通过程偏差)	过程监控	√		√	
18	“活血丹”系列假药案	2016 年 9 月	海南省 3 个市县的 6 家店铺在网上销售疑似假药“活血丹”, 未检出所标示的名贵中药成分, 实际为双氯酚酸钠、醋酸泼尼松等, 为假药	“活血丹”系列假药案	人为故意	源头控制	√	√	√	√
19	长春长生疫苗事件	2018 年 7 月	国家药品监督管理局通告指出长春长生狂犬病疫苗存在记录造假等违规行为	国家领导已就疫苗事件作出批示, 要求彻查	人为故意	全链条	√	√	√	√
20	华海缙沙坦事件	2018 年 7 月	缙沙坦原料药中检出微量 N-亚硝基二甲胺 (NDMA) 杂质	企业召回	技术原因(产品认知不到位)	药物警戒、质量标准完善	√	√	√	
21	上海新兴事件	2019 年 2 月	2019 年 2 月 5 日, 据《每日经济新闻》报道, 上海新兴医药股份有限公司静注人免疫球蛋白(批号: 20180610z) 艾滋病抗体阳性	企业紧急召回, 国家局介入调查	人为故意	全链条	√	√	√	√
22	雷尼替丁事件	2019 年 9 月	美国一家在线药房 Valisure 向 FDA 提交公民请愿, 表示通过自己对几个自有品牌和原研品牌(Zantac)雷尼替丁的检测发现每片含有 2~3 mg 的 NDMA, 这个水平比动物研究得出的 9 纳克最大每日摄入量高出几个数量级	企业召回	技术原因(产品认知不到位)	药物警戒、质量标准完善	√	√	√	

3 数字化、自动化药物分析技术促进实验室数据可靠

美国 FDA、英国 MHRA、世界卫生组织 WHO 和国际药品检查合作组织 PIC/S 等国际药监权威机构或组织分别发布了关于数据可靠性 (Data Integrity, DI) 的指南, 体现了数据可靠性在药品生命周期中的重要意义和国际关

注^[10-13]。我国药品监管要求也正在快速与国际接轨。2016 年 7 月 25 日,《药品数据管理规范》首次征求意见;2020 年 2 月 25 日,为贯彻落实《中华人民共和国药品管理法》《中华人民共和国疫苗管理法》,进一步规范药品研制、生产、经营和使用活动的记录与数据管理,满足当前监管需要,守住药品质量安全底线,国家药品监督管

理局组织起草了《药品记录与数据管理规范(征求意见稿)》向社会公开征求意见^[14]。该规范进一步明确从事药品研制、生产、经营和使用活动,应当依法制订业务管理规程,明确记录管理要求,保证全过程信息真实、准确、完整和可追溯。

从药害事件的分析中不难看出,数据可靠对事件的事前预防和事后及时召回并精准调查追溯是非常重要的,特别是实验室数据和生产过程分析数据,其可靠性与药品质量属性直接相关,充分获得保证将是药品安全的坚实防线,失去保证则可能成为疏忽大意甚至人为造假的土壤。

实验室和生产过程分析数据主要是通过药物分析技术获取的,提升相关数据的可靠性仅仅依靠人的主观意识并不全面,需要考虑更多的应用先进技术手段,提高药物分析的精度、维度,并降低数据可操控数据的自由度,还可考虑统筹纳入数字质量管理体系以便内外监督。无疑,在经过充分评估和严格的验证情况下,数字化、自动化的药物分析技术在防控药品质量风险特别是在实验室和生产过程分析数据可靠性方面发挥了重要的作用(图1)。

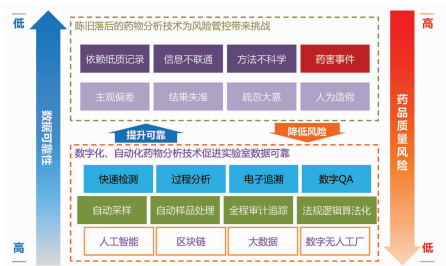


图1 数字化、自动化的药物分析技术在实验室和生产过程分析数据可靠性方面的促进作用

3.1 提高药物分析的精度、维度

数字化、自动化的药物分析技术在完成同样操作任务的同时往往比传统技术如手动操作等更高效,同时精度更高。例如,在实验室合理运用自动样本制备、前处理和自动进样技术,可大大降低了人为操作的误差;在生产过程中采用自动化装置快速采样并自动分析,实时监控过程数据,有利于更加准确反应关键质量属性;自动化药物分析技术应用于多种检测整合,如近红外与液质联用同时自动分析等,可以对同一样品的多个质量属性维度进行综

合分析,发现潜在的质量问题,拟补传统药物分析技术的部分盲区。

人工智能等数据分析技术的发展,已经极大地推动了医药技术的发展,特别是医疗机器人、智能药物研发、智能诊疗、智能影像识别、智能健康管理等领域。在药物分析领域,结合人工智能等数字化分析手段,应用图像识别、数据挖掘,在传统的用经验判断结果的方法当中,理论上能够更快速、更准确、更全面的反应药品质量水平。例如,人工智能应用于测量图谱与标准物质图谱的快速比对,有利于发现特征峰或指纹图谱之间的细微差异,给出质量控制信息提示;生产过程采集到的数据量很大,单凭经验很难从海量数据中直接判断潜在风险,通过数据挖掘,结合历史数据的趋势分析,则有利于质量风险的综合研判,也有利于充分利用自动化药物分析手段取得的数据,避免样本浪费、人为判断偏差的同时提升数据利用效能。

3.2 降低数据可操控数据的自由度

新《药品管理法》等一系列新法律法规的落地实施,进一步强调了药品生产质量的主体责任是企业,进一步突出了企业应确保相关数据的真实、完整和可追溯的相关要求。近年来的检查缺陷统计数据显示,药品生产企业质量体系、记录和计算机化系统的缺陷愈发频繁的出现,而GMP体系下电子记录的缺失已越来越受到国内、国际检查的关注。质量体系运行是否有效,需要进行综合全面的风险研判。探索建立以法规为主要逻辑框架的六大体系统一信息平台,打破孤岛式的信息化系统,利用柔性好、包容性好的全链条数字GMP体系,形成“数字QA”辅助自查自检,结合物联网技术实现全链条可追溯,理论上能够将生产活动整体纳入可靠的数据管理体系当中,以生产质量技术防控的实现降低药品质量安全风险。

药物分析技术的原始数据和检验报告可以通过区块链技术提高数据可靠性和可追溯性。区块链技术近年来得到快速发展,作为数字化技术创新,具有中心化、不可篡改、全程留痕、可以追溯、集体维护、公开透明等特点,在药物分析领域的运用前景广阔。区块链通过利用分布式数字分类记账,在药品全生命周期管理方面由较大

的应用价值,特别是流程追溯方面可以发挥较大作用。美国 FDA 已经在寻求开展将区块链技术专门用于追踪药品和防止假冒的数字供应链平台开发,以利用区块链技术改进传统系统^[15]。在我国,阿里健康联合天士力、正大天晴、广药集团、科伦药业等 15 家医药龙头企业成立中国药品安全追溯联盟,以期推动药品安全追溯的行业共治,基于区块链技术,力争覆盖药品生产、流通以及使用的各个环节,以期实现“一物一码、物码同追”,理论上可以追踪物流轨迹、温度湿度、发票以及药品检测报告等,方便监管人员调查,也更向消费者透明^[16]。

3.3 便利内外部审计以防控风险

运用创新的全链条信息系统架构,结合创新的人工智能、区块链、物联网算法优化,结合智能机器人、自动采样系统、先进传感器系统,基于数字化、自动化的药物分析技术可以实时、全面、可靠的提供统一数据归口,便于监管人员开展全面无死角的信息检索,并快速汇总形成报告,同时,利用强大的数据内在关联性,可以辅助内外部审计人员开展精准的全生命周期追溯。

全链条的技术防控为监管科学质量评估方法提供了重要的输入,可以推动药品科学监管风险评估模型的建立,便于监管机构以全局视角为监管对象开展综合风险评级,在确认其数据可靠性有效提升、药品生产质量整体风险有效降低的情况下,对监管检查内容的侧重点、检查频次和周期、检查组人员安排、检查所需时间等方面进行综合优化,以保证检查质量为前提,更好的提升检查效率、降低检查成本。

4 展望

药害事件危害巨大影响深远,药品监管需要警钟长鸣,要不断加强监管科学研究,不断发展更为先进的药物分析技术,借助数字化、自动化的工具和方法形成全链条的数字防控体系,积极应对药品质量安全风险挑战,进一步压实企业的药品质量主体责任,让群众用上放心药、优质药、创新药。药物分析是多学科交叉的领域,涵盖了化学、生物学、物理学、数学、计算机软件、集成电路、先进材料、电磁学、

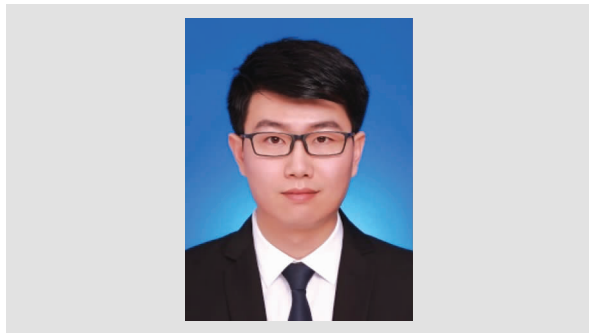
光谱技术等等众多的科学内容,需要多方共同努力系统的提升分析测试的能力。人工智能、区块链、云计算、物联网等新时代新理念正在快速融入到药物分析技术当中,不断扩充药物分析工具的内涵,相信未来还会有更多的振奋人心的监管科学应用进展。监管科学研究人员也应当不断学习以适应新技术的发展,并积极研究如何将法规语言更好的融入数字化、自动化语言当中,监管决策的过程能够信息化数据化智能化,促进我国生物医药高质量现代化发展,切实提升人民健康福祉和产业竞争力。

曹萌,葛渊源,张景辰,陈桂良

(上海药品审评核查中心)



陈桂良,博士,二级教授,博士生导师;第十一届国家药典委员会第二化学药品专业委员会主任委员,中国药学会药物分析专业委员会副主任委员;《药物分析杂志》与《中国医药工业杂志》副主编。长期从事药品标准研究、药品审评核查、药品质量控制工作。



曹萌,男,博士,中心学术委员会秘书;美国马里兰大学访问学者、东南大学公共卫生与预防医学博士后;曾担任东南大学教师、南京金斯瑞生物科技有限公司高级研究员、苏州东南药业股份有限公司技术总监;曾获江苏省“六大人才高峰”人才计划资助。主要从事药品监管科学研究与数字 QA 工作。

细胞膜仿生亲和材料在中药活性成分筛选中的研究进展

中药是几千年来人们同疾病相斗争的过程中逐渐积累的医药知识,是中华民族智慧的结晶。我国独特的地貌特征和气候条件孕育和保存了大量珍贵的生物资源,已经证实的药用植物有上万种,且科属繁多,饱含生物多样性和化学结构多样性。然而,由于中药作用的整体性、成分的复杂性、以及作用靶标和机制的不明确性,形成了中药研究需要面对的特殊科学问题和巨大挑战。因此,如何充分利用现代科学理论和技术,充分发挥中药的重要价值,开发出符合国际医药规范的中药产品,更好的满足人民的健康需求,成为新时代赋予我们药物分析工作者的重要任务。

中药现代化研究工作主要是围绕质量标志物所展开的。因此,如何筛选真正能够代表中药治疗效果的特征成分成为整个研究的关键。近年来,基于生物大分子如蛋白质、抗体、酶和DNA的亲亲和筛选技术受到广泛的关注。该技术可以利用分析物与生物大分子之间的受体配体相互作用来直接研究并确定分析物的生物活性,直接揭示了分析物与靶标之间的作用机理,为在分子和细胞水平上筛选活性成分提供了重要途径,具有高灵敏性、特异性和分析速度快等优点。在众多亲和筛选技术中,基于细胞及亚细胞水平的药物筛选能够极大地提高工作效率,为被分析物提供大量的药物活性数据,并且筛选过程非常接近药物在体内的实际生化过程,能够比较准确的反应药物的生物学意义。

细胞膜是细胞的重要组成部分,能够维持胞内环境的稳定,同时负责细胞与外界的物质交换,在细胞识别和信息传递等方面具有十分重要的作用,是构成生命体最重要的生物界面。目前,细胞膜修饰微纳米载体的研究策略(图1)已成为仿生学的研究热点,在药物递送、成像、毒素清理和免疫调节等方面得到了广泛的应用。通过这一策略,微纳米载体表面可以直接

复制完整的一套生物体内成分相互识别的复杂生物界面,直接获得了信息交换等生物功能。因此,将细胞膜修饰微纳米载体的研究策略应用到中药活性成分筛选具有重要的意义。

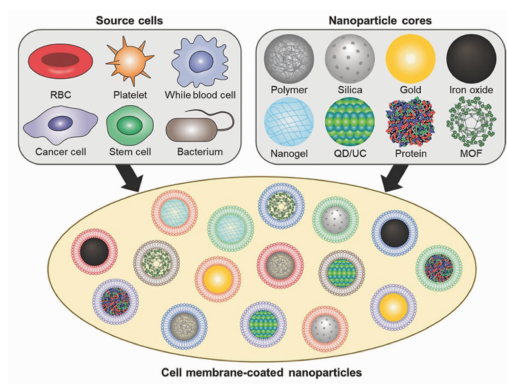


图1 细胞膜修饰微纳米载体策略

1 细胞膜色谱技术

细胞膜色谱法(cell membrane chromatography, CMC)是一种研究受体与药物相互作用的新型亲和色谱技术方法。该方法将高效液相色谱、细胞生物学与受体药理学相结合,利用药物与膜受体间存在的特异性亲和力,将药物在体内的作用过程在色谱柱内进行动态模拟(图2)。多年来对其基础理论、实验方法和应用价值进行了系统、深入地研究,并不断完善和提高。已经成为继经典放射性配体方法之后,又一种新的受体药理学实验研究方法,并成功地用于对中药复杂体系中物质基础的筛选研究。

近年来,高表达特定受体细胞构建技术、细胞膜色谱与反相色谱二维联用、细胞膜色谱与质谱二维联用等技术的应用极大地促进了细胞膜色谱技术的发展。例如,本课题组应用A431细胞膜色谱与液相色谱质谱联用技术,从中药苦参中筛选出EGFR受体抑制剂苦参碱和氧化苦参碱,并应用竞争实验、离体药理学实验,明确了这两种活性成分的作用位点为EG-

FR 受体。柴逸峰教授课题组建立了具有良好重现性的人肝癌干细胞膜色谱模型,并从中药丹参中筛选发现丹参酮 II A、隐丹参酮和二氢丹参酮 I,可以作为潜在的抗癌干细胞先导化合物用于进一步的研究。

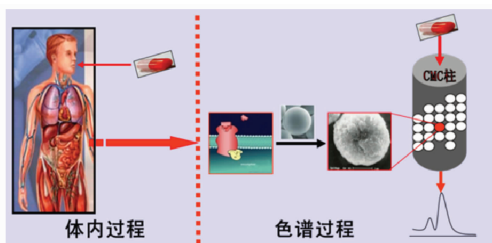


图2 细胞膜色谱研究策略

2 细胞膜固相萃取技术

固相萃取技术(solid phase extraction, SPE)是一种常用的样品前处理技术,因为具有操作简单快速、省时省力、分析物回收率高等优点而得到极大地推广与应用。作为一种吸附剂萃取技术,填充剂的类型与溶剂性质决定了 SPE 的分离模式。然而,传统的 SPE 柱填料例如 C_{18} 等只能基于极性强弱分离不同性质的组分,其与目标组分之间的作用为非特异性吸附,填料对目标物的选择性与专属性不强。因此,开发具有专属性和选择性强的新型固相萃取填料对于从中药中筛选活性成分具有重要意义。

细胞膜等生物材料可以作为有效的筛选工具用于中药活性成分筛选,同时还能在一定程度上辅助阐述药物作用机制。细胞膜包裹硅胶粒子(cell membrane-coated silica particles, CMCSPs)用于固相萃取技术,不仅可以克服传统技术中存在的选择性低等缺点,还可以实现从复杂的中药样品中分离和富集活性组分。例如,本课题组以硅胶为载体,吸附高表达 FGFR4 受体细胞膜制备了生物亲和固相萃取材料,并应用于从中药复杂样品中快速筛选与富集生物活性化合物。筛选得到华北乌头碱、12-表欧乌头碱、苯甲酰乌头碱和 3-脱氧乌头碱四种潜在的活性化合物(图 3)。研究结果为特异性筛选中药活性化合物提供了一种新的生物亲和固相萃取技术。

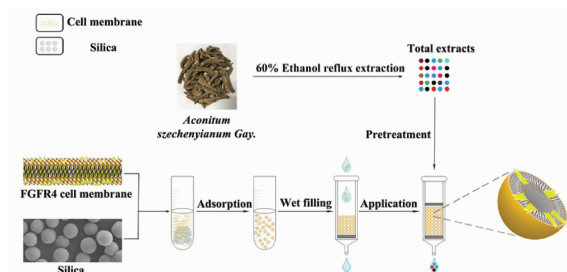


图3 细胞膜固相萃取策略

3 细胞膜磁性微球筛选技术

磁性纳米粒子(magnetic nanoparticles)因其独特的特性而引起了科学家的广泛关注。首先,其粒径均匀且单向分散,使得磁性纳米粒子与分析物具有巨大的接触面积,可以确保快速的传质,有利于获得较高的萃取效能;其次,萃取后通过磁铁施加的外磁场,磁性纳米粒子很容易从基质中分离出来,避免了传统方法中过滤或离心等步骤,使得分离更加方便、经济且高效;最后,磁性纳米粒子都是超顺磁性的,当外磁场移走后,没有剩磁,因此不会发生团聚现象,可以保证磁性材料的重复、循环使用。受到生物分子靶向性的启发,功能化和修饰作为一种新兴技术能够为磁性纳米粒子的进一步开发提供了一个新的平台。

目前,很多不同的生物分子如蛋白质、肽、酶等都被成功地修饰到磁性纳米粒子表面,制备出了具有特异性的磁性微球。然而,简单的功能化方法在模拟生物体内复杂界面方面仍然具有十分大的缺陷。由于细胞膜具有能够复制生命系统单元整体表面特性的能力,细胞膜包裹磁性纳米粒子策略在近来的研究中越来越受到关注。例如,本课题组开发了一种生物激发的功能化磁性纳米粒子方法,利用高表达 EGFR 细胞膜包裹磁性纳米粒子,制成细胞膜药物磁性筛选材料,用于从中药中筛选具有潜在的抗肿瘤活性的化合物(图 4)。最终,从中药川乌中筛选获得两种生物活性化合物:苯甲酰美沙乌头碱和次乌头碱。该工作拓宽了细胞膜与纳米粒子平台整合的应用范围。

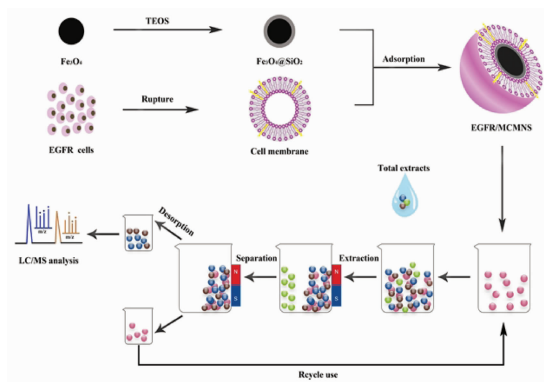


图4 细胞膜磁性微球筛选策略

4 碳纳米管细胞膜修饰技术

碳纳米管(carbon nanotubes, CNTs)以其独特的结构和性能,在样品预处理、储能、传感、生物学等领域有着广泛的应用前景。因其具有极大的表面积,CNTs已经发展成吸附各种有机和无机物的重要平台。为了从复杂基质中检测痕量分析物,人们开发了各种CNTs的修饰方法。其中一种方法是基于磁性纳米颗粒的特殊磁学特性,合理设计磁性碳纳米管(MCNTs)复合材料,提供有效便捷的分离过程。另一种方法是对CNTs进行化学结构修饰,以提高其检测性能,即在CNTs表面通过化学反应嫁接所需的官能团,增强其吸附能力和分散能力。然而研究表明,最常用的有机共价修饰方法,如传统的酸改性和氧化,会破坏CNTs的固有性质,从而限制了它们的广泛应用。

近年来,CNTs的非共价修饰被开发出来,此方法可以改善CNTs的生物相容性,在不损害其物理特性的前提下,获得理想的与靶分子的相互结合性能。用活性细胞膜修饰的仿生纳米粒子引起了广泛关注,这种仿生功能化能够保持细胞膜的完整性、复杂性,使得到的细胞膜修饰纳米粒子具有源细胞所表现出的多种特性。受此启发,本课题组制备了一种新型的具有 α_{1A} -AR识别位点的CNTs仿生材料,并从川乌提取物中筛选和鉴定了两种化合物(拉巴乌头碱和苯甲酰新乌头原碱),其中拉巴乌头碱在初步药理学验证中显示出对 α_{1A} -AR具有拮抗作用(图5)。该工作为CNTs的

功能化开辟一种新的方法,并在生物识别方面表现出了巨大的潜力。

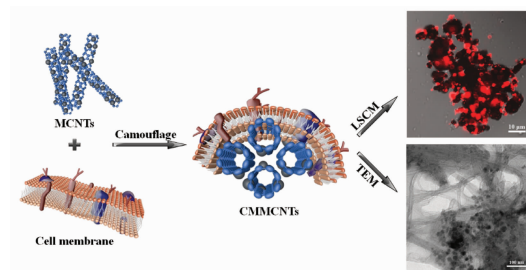


图5 碳纳米管细胞膜修饰策略

5 细胞膜共价固定化修饰技术

近年来,使用细胞膜作为功能化涂层的仿生设计策略引起了广泛关注,这种策略很好地解决了将单一类型的生物分子整合到合成纳米颗粒上的限制。通过从自然界中获取设计思路,细胞膜的基本生物形式,如对它的形状和柔韧性可以完整地整合到合成纳米系统中。目前,仿生纳米粒子已被用于从复杂基质中筛选生物活性化合物,这种药物发现方法与传统方法相比大大提高了中药中活性化合物的发现效率。然而,值得注意的是由于细胞膜在使用过程中容易从载体上脱落,降低了方法的有效性和筛选效率。因此,开发更稳定和有效的细胞膜包覆方法,改善膜涂层稳定性,提高筛选效率具有重要意义。

目前常用的方法中,纳米颗粒和细胞膜之间的结合力是疏水相互作用,其作用较弱,导致在实际应用中稳定性差,在筛选过程中细胞膜可能会从载体表面脱落。最近,通过共价键合方法已成为解决上述生物材料稳定性差的有效方法。通过载体材料的醛基与细胞表面的氨基反应,形成稳定的胺键,实现细胞膜包覆,并且整个过程中不会破坏细胞膜。受此启发,本课题组通过共价反应将 α_{1A} -AR固定在醛基修饰的磁性载体表面。实验结果表明,所制备得到的材料提高了在实际应用中的稳定性,并筛选出了两种生物活性化合物:草乌甲素和苯甲酰次乌头原碱。该工作提高了细胞膜药物筛选材料的稳定性,拓展了细胞膜与纳

米粒子平台整合的途径与方法。

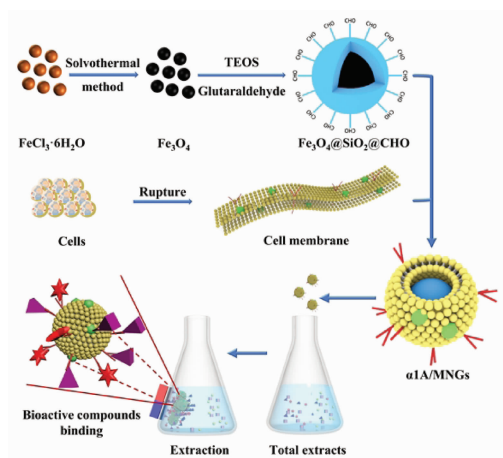


图6 细胞膜共价固定化修饰策略

6 结论与展望

近年来,基于细胞膜包覆策略的启发,针对中药复杂体系中活性组分研究技术受限的难题,本课题组研究采用不同的源细胞,利用源细胞本身拥有的生物特性通过制备具有独特性能的细胞膜,同时根据实际研究的目的,选取不同特性的无机微纳米载体材料制备出以性能为导向的生物亲和材料,并将其应用于中药活性组分的筛选工作,并不断完善分析方法,最终建立起令人满意的分析策略。开发出了不断改进与优化的高表达特定受体细胞膜包覆的微纳米药物筛选与发现方法,并分别将这些方法应用于中药中目标组分的快速筛选与发现,并取得了良好的效果。

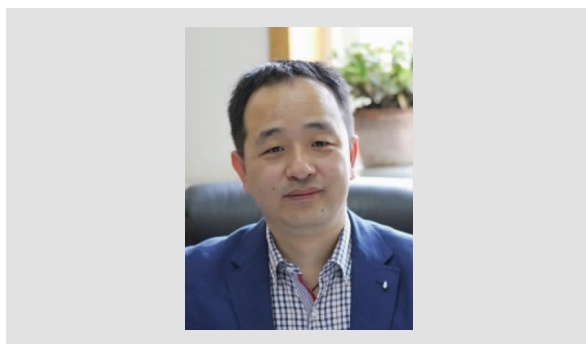
这种将天然生物细胞膜与无机微纳米体系功能性结合的新型生物亲和识别材料为中药活性成分快速发现与筛选提供了新思路。然而,该技术仍然存在着很多问题,例如,细胞膜作为生物来源材料易受外界环境干扰;细胞膜仿生亲和材料在实际应用过程中对有机溶剂耐受性不高;中药中成分复杂,材料在利用过程中存在着被污染的可能。未来的研究工作可以以上述问题、缺陷作为研究突破

点优化和改进。相信随着更加优化的筛选方法的提出与应用,细胞膜仿生微纳米生物亲和材料的性能会得到针对性的提高和改善,将会在包括中药活性成分筛选、药片安全、环境污染和农药残留等领域具有更广泛的应用前景。

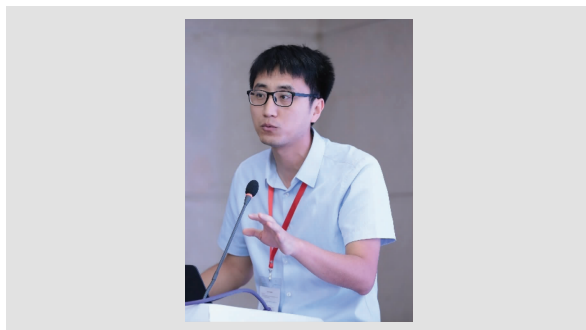
解笑瑜^{1,2},王嗣岑^{1,2*}

(1. 西安交通大学药学院

2. 陕西省心血管药物工程技术研究中心)



王嗣岑,三级教授,博士生导师,国务院政府特殊津贴专家。现任西安交通大学药学院院长,兼任天然血管药物筛选与分析国家地方联合工程研究中心副主任。中国药学会药物分析专业委员会副主任委员,陕西省药学会药物分析专业委员会主任委员。获国家技术发明二等奖1项,陕西省科学技术奖励一等奖2项。



解笑瑜,西安交通大学药学院副教授,硕士生导师。担任陕西省心血管药物工程技术研究中心副主任,陕西省药学会药物分析专业委员会委员。在中药药效物质靶向筛选技术、复杂体系目标物的快速发现等方面取得了多项创新性的研究成果。发表SCI论文30余篇,并获得陕西省科学技术二等奖和陕西省高等学校科学技术一等奖各1项。

药物“肠-脑”代谢通路研究的前沿技术

人体胃肠道中存在大约 10^{14} 个细菌,它们大多属于厚壁菌门、拟杆菌门、放线菌门和变形菌门,统称为肠道菌群。肠道菌群与人体相互共存,并对机体的生理调节产生显著影响,尤其是在参与脑部的正常发育和功能调节等方面发挥了独特的作用。肠道菌群与脑之间的相互交流方式已有诸多报道:一方面,来自生理和心理的压力因素可能会影响肠道菌群的组成和代谢活性;另一方面,肠道菌群也能通过神经与体液机制影响大脑功能。这样,以大脑为代表的中枢神经系统、肠神经系统和消化系统组成的信号通路,可能由肠道微生物来调节,以完成宿主的大脑、行为乃至应激反应等而形成“肠-脑”轴概念。目前,“肠-脑”轴代谢通路已从最初的假说逐步被科学实验证实,并对神经精神疾病产生重要的影响。

神经精神疾病是一系列因中枢神经系统受损引起的精神障碍性疾病,包括神经发育性疾病(孤独症谱系障碍等)、精神病、抑郁症、焦虑症、神经退行性疾病(阿尔兹海默症、帕金森症等)、自闭症等。多数神经精神疾病的发作常常与肠道菌群组成改变或结构不稳定密切相关。大脑、肠道和菌群之间相互作用研究有助于解释这些复杂的相互作用背后的潜在机制。干预肠道菌群或许会成为治疗神经精神疾病的潜在策略之一,因此,“肠-脑”轴代谢通路介导的药物体内过程研究的前沿技术受到了广泛关注。

1 疾病下的肠道菌群特点

目前,无论是动物模型和人类本身的研究,均表明肠道菌群与各类神经精神疾病的症状表现存在联系。自闭症谱系障碍(autism spectrum disorder, ASD)是一种严重的神经发育疾病,其特征是刻板行为、语言发育障碍和社会交往方面的缺陷。自闭症患者常常存在胃肠道症状,如腹痛、腹泻、便秘等,并通常伴随肠道菌群改变。John 等采用三箱社交测试

观察了无菌小鼠的行为活动,发现无菌小鼠与陌生小鼠的相处时间和已熟悉的小鼠相处时间相同,而正常小鼠往往花费更多的时间接触陌生小鼠。与此同时,无菌小鼠在空箱的停留时间更长,这些异常行为表明完全缺乏肠道菌群的动物在社交行为上存在缺陷,但恢复无菌小鼠的菌群后,该类行为障碍可被纠正。自闭症儿童也存在相似的行为障碍,并且其肠道菌群结构发生了变化,包括拟杆菌和厚壁菌等门水平的变化和梭菌属丰度的增加,而罗伊氏乳杆菌等益生菌可以调节催产素水平并逆转自闭症的相关行为,暗示了肠道菌群影响行为活动的可能。精神分裂症则是另一种以行为异常为特征的复杂的异质性行为障碍。有证据表明,诸如多巴胺等与精神分裂症的病理生理学有关的关键神经递质是由肠道微生物分泌而成,并且某些胃肠道炎症的增加也与精神分裂症有关,这些都表明肠道菌群参与了精神分裂症的发生与发展。

抑郁症是一种常见的危及生命并且高度复发的疾病,也是世界范围内致残的主要来源。有证据表明,肠道菌群在诱导抑郁症方面也起着关键作用。与健康对照组相比,抑郁症患者的肠道菌群的 α 多样性有所增加,同时双歧杆菌和乳杆菌数量明显减少。最近的一项研究表明,重度抑郁症患者的肠道菌群与正常受试者也有着较大的变化,譬如 *Eggerthella*、*Holdemania*、*Gelria*、*Turicibacter*、*Paraprevotella* 以及 *Anaerofilm* 等菌属显著增加;而 *Prevotella* 和 *Dialister* 菌属显著降低。当重症抑郁症患者的肠道菌群移植到无菌动物时,抑郁症的行为和生理特征也会被转移,这一研究支持了菌群异常和抑郁症之间的联系。

肠道中致病菌引起的菌群紊乱还与焦虑症息息相关。Gaykema 等发现肠道中空肠弯曲菌的感染可激活 c-Fos 蛋白(一种神经元激活的标志物)来加剧焦虑症的相关行为,但机体的促炎细胞因子水平并未升高。相似的是,鼠

柠檬酸杆菌感染也会介导迷走感觉神经元加剧焦虑,并且相关炎症因子水平不变,揭示了肠道菌群可能通过“肠-脑”轴中免疫和代谢途径诱发和加剧焦虑症。

此外,肠道菌群也是帕金森氏病等神经退行性疾病的重要危险因素。Scheperjans 等通过 16S rRNA 测序比较分析了 72 名帕金森氏病患者和 72 名对照受试者,发现帕金森氏病患者的普雷沃氏菌水平显著降低,并且肠杆菌科的水平与姿势步态异常的严重程度之间呈正相关性。另一方面, *Blautia*、*Coprococcus*、*Roseburia* 等产丁酸菌属在帕金森氏病患者粪便中丰度更高,而丁酸等短链脂肪酸 (Short-chain fatty acids, SCFAs) 正是肠道菌群代谢产物,表明了肠道菌群参与了相关的发病机制。

2 “肠-脑”通路作用下药物对肠道菌群组成的影响

由于神经精神疾病具有复杂性,因此治疗分子靶标的选择较为困难。目前,最常用的五种中枢神经系统药物 (奥氮平、喹硫平、利培酮、舍曲林和文拉法辛) 具有共同的作用机理,暗示了神经精神疾病的治疗药物可以通过共同的分子靶标或以其他方式改变靶标介导的信号传导途径,包括多巴胺受体、5-HT 受体、毒蕈碱受体、肾上腺素能受体等。

另一方面,多数神经精神疾病治疗药物在体外显示了不同的抗菌活性。早期曾报导选择性 5-HT 再摄取抑制剂 (selective serotonin reuptake inhibitors, SSRIs) 如帕罗西汀、舍曲林和氟西汀等均具有广泛的抗菌活性,包括对葡萄球菌、肠球菌、梭菌、假单胞菌和柠檬酸杆菌等各类菌属。此外,SSRIs 还能通过干扰细菌粘液层的生物合成来增加抗生素对各类细菌的敏感性。例如舍曲林可提高四环素与氟喹诺酮联用抑制解脲棒杆菌,进而治疗尿路感染。除了 SSRIs 以外,单胺氧化酶抑制剂和三环类抗抑郁药也具有抗菌作用。Mandal 等分析了不同剂量的阿米替林对 253 种细菌菌株的体外抗菌活性,其中对葡萄球菌、芽孢杆菌、霍乱弧

菌的抑制率最高。这可能是细胞壁合成和质粒活性受到抑制的缘故。同时,异丙嗪和丙咪嗪也被证明能通过干扰质粒复制来抑制大肠杆菌和小肠结肠炎耶尔森菌的生长。此外,已有的证据支持抗癫痫药对细菌的作用。体外实验表明拉莫三嗪对枯草芽孢杆菌,金黄色葡萄球菌和粪链球菌等革兰氏阳性细菌有着良好的抗菌活性,并且能够抑制细菌核糖体的生物合成;加巴喷丁和托吡酯在体外也具有一定的抗菌活性。而典型 (第一代) 抗精神病药也对各类菌表现不同的抗菌活性。包括硫利哒嗪、氟奋乃静、三氟拉嗪、丙氯拉嗪和氯丙嗪等。

因此,口服类神经精神疾病治疗药物的使用与肠道菌群组成的改变息息相关。众多动物模型上的研究阐明了两者的潜在联系。例如非典型抗精神病药物 (atypical antipsychotics, AAP) 奥氮平可诱导给药后 3 周的大鼠肠道微生物群发生特定的改变,包括硬毛菌、放线菌,变形杆菌和拟杆菌等多个菌门。阿立哌唑是另一种 AAP 药物,在以 $20 \text{ mg} \cdot \text{kg} \cdot \text{d}^{-1}$ 的剂量给予大鼠 4 周后,可诱导其微生物群组成发生明显的变化,包括梭菌属,瘤胃梭菌属等各类菌的相对丰度增加。此外,抗癫痫药物也可以改变肠道微生物的组成。Cussotto 等给予 SD 大鼠 4 周的锂剂和丙戊酸钠后显著改变了其盲肠微生物组多样性,包括瘤胃菌属和拟杆菌属等。另外,一项探究氟西汀调控小鼠肠道菌群的研究进一步证明了上述结果。Sun 等对雄性成年的 C57/6 小鼠施加了慢性不可预知性轻度刺激 (Chronic unpredictable mild stress, CUMS) 后,发现其肠道菌多样性降低,结构组成更为简单,尤其是肠球菌、漫游球菌、气球菌的丰度更高;而氟西汀可重新恢复这些菌属的结构。

临床上的研究则进一步证明了两者的关系。Ticinesi 等曾对 76 名老年住院患者的粪便菌群进行分析,发现各类抗精神病药的使用均能改变患者肠道菌群的组成。另一项横断式设计的研究通过 16S 核糖体测序分析了

100 多名双相情感障碍服药患者和对照患者的粪便样本,旨在研究 AAP 的服用对肠道菌群的影响。其中所研究的 AAP 包含了氯氮平、奥氮平、利培酮、喹硫平、阿塞尼平、齐拉索酮、卢拉西酮、阿立哌唑、帕潘立酮和伊潘立酮等各类药物。结果表明,两组女性患者的肠道菌群被显著区分,即经 AAP 治疗的女性患者显示出更低的肠道微生物多样性,特别是 *Lachnospiraceae*、*Akkermansia* 和 *Sutterella* 菌科的丰度差异丰富;而男性患者则没有明显的区别。同样,一项针对精神病患者的横断式队列研究中也观察到了 AAP 对肠道菌群的部分影响。尽管使用 AAP 的对照组患者组与未使用 AAP 的对照组之间没有检测到肠道菌群的显著变化,但服用 AAP 后患者的 *Alisipies* 菌属有所增加。与此同时 AAP 治疗组女性患者的肠道菌群多样性也有所降低。Bahr 等则更细致的调查了利培酮对肠道菌群组成的影响。与对照组相比,接受利培酮治疗的儿童患者肠道微生物组发生了改变,即拟杆菌门和厚壁菌门的丰度有显著降低,而这可能与患者的体重增加密切相关。而纵向观察研究发现在随后 12 个月的利培酮治疗中,拟杆菌门与厚壁菌门的比例则逐步降低。尽管可能存在样本量小等缺陷,但这些研究初步证明了长期使用利培酮等 AAP 的患者肠道微生物组会产生更加独特的改变。在抗抑郁药方面,一项对老年受试患者的调查研究表明,服用抗抑郁药与肠道菌群结构的变化密切相关;而另一项针对肠道菌群结构的不同群体水平分析也得到了同样的结果。一项针对临床 290 例重度抑郁症患者代谢组学的研究更是带给了我们深入的思考。口服西酞普兰/艾司西酞普兰后,体内更多地产生了吲哚和酚酸等肠道菌群相关的代谢产物;而伴随着患者对药物效应存在高低,肠道菌群相关的代谢物差异更为显著。此外,一项针对耐药性癫痫与肠道菌群关系的研究发现,与健康对照者相比,耐药性癫痫病患者的肠道微生物群组成发生了显著

变化,瘤胃球菌等稀有菌属的丰度异常增加,这一结果可能来自于抗癫痫药的组合服用,包括奥卡西平、左乙拉西坦等。因此,神经精神疾病治疗药物的使用与个体肠道菌群的变化密切相关。

3 肠道菌群可能引起药物的不良反应

许多精神疾病治疗药物长期服用可通过肠道菌群产生不良反应。奥氮平 (*Olanzapine*),是一种新的非典型神经安定药,能与多巴胺受体、5-HT 受体和胆碱能受体结合,并具有拮抗作用。Morgan 等给予小鼠奥氮平后,小鼠的体重明显增加,但无菌条件下该效应并不存在;而重新恢复其肠道菌群后该效应又很快出现,表明肠道菌群可能是奥氮平诱导的体重增加和相关的代谢综合症的关键因素。抗生素对奥氮平诱导的体重增加效应更是进一步证明了上述结果。一项奥氮平与抗生素联合给药的实验中,雌性大鼠的体重增加,子宫脂肪沉积,血浆游离脂肪酸水平也显著提高。利培酮,用于治疗急性和慢性精神分裂症,其对体内肠道菌群也有着类似的影响。在 2 个月内每天 80 ug 利培酮给药的雌性小鼠表现出明显的体重增加,这与肠道菌群改变后继发的能量代谢减少有关;有趣的是,将上述小鼠的粪便移植到幼鼠体内后,其总静息代谢率下降了 16%,这种现象可能来源于幼鼠的厌氧代谢受到了抑制。氟西汀 (*Fluoxetine*),为临床广泛应用的 5-HT 再摄取抑制剂 (SSRI),可选择性地抑制 5-HT 转运体,阻断突触前膜对 5-HT 的再摄取,延长和增加 5-HT 的作用,从而产生抗抑郁作用。Mark 等则发现氟西汀能选择性抑制雄性 CF-1 小鼠肠道中有益的菌群,如约氏乳酸杆菌和拟杆菌 S24-7,进而产生负面的体重影响。Thomas 等观察到肠道中 5-HT 可与肠道菌群中的一种产孢细菌 *Turicibacter sanguinis* 相互作用,即 *T. sanguinis* 可摄取 5-HT,5-HT 可降低 *T. sanguinis* 的产孢子因子及膜转运蛋白的表达。有趣的是,这些均可被氟西汀所抑制,同时氟西汀可调节 *T. sanguinis* 的基因表

达和肠道中的定殖,从而影响了小鼠的脂质代谢。

怀孕后使用精神活性药物更易对后代产生负面影响。丙戊酸钠为一种不含氮的广谱抗癫痫药。Liu 等发现怀孕后的大鼠使用丙戊酸钠可能影响后代的肠道菌群,并使后代产生类似自闭症的症状。施用丙戊酸的母体小鼠也会产生相似的结果,表现为子代的拟杆菌门的丰度减少而厚壁菌门的丰度增加,并且子代小鼠的中性粒细胞浸润增加;而雄性后代的社交行为更少,这可能影响了肠道内 *Alistipes* 和 *Erysipelotrichales* 等多个菌属,继而改变了肠道内 5-HT 的水平。同样,口服丙戊酸钠的儿童患者肠道菌群中含有更高丰度的梭菌目和脱硫菌目,这或许是导致自闭症的原因之一。此外,在孕期和哺乳期时使用氟西汀进行抗抑郁治疗也可能改变肠道菌群的组成和功能。Anouschka 等发现氟西汀改变了大鼠从妊娠期到哺乳期期间粪便中几种关键氨基酸的浓度,并与普氏杆菌和拟杆菌的相对丰度负相关。而这可能对母体和后代产生不良影响。

此外,怀孕后使用硝西泮和氯硝西泮可被肠道硝基还原酶介导代谢,产生相应的 7-氨基代谢产物,从而对胎儿产生致畸作用。Elmer 等给予无菌大鼠放射性标记的氯硝西泮并在其粪便菌群定殖前后对氯硝西泮的硝基还原代谢物产量进行了定量。结果表明,菌群定殖后,硝基还原代谢物产量从 15% 显著增加到 77%。而硝西泮还原为 7-氨基硝西泮和 7-乙酰氨基硝西泮的代谢过程也是由梭菌属、拟杆菌属和优杆菌属等人体肠道中的厌氧细菌所介导。特别是其中的梭状芽胞杆菌,具有高度特异性的硝基还原酶活性。此外,Takeo 等采用 $300 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的硝西泮给予怀孕大鼠口服,其硝基还原代谢物产量在抗生素的作用下从 30% 下降到 2%,暗示了抗生素可能降低硝基还原酶的活性。综上,硝西泮等苯二氮卓类衍生物需要经硝基还原酶激活才能产生致畸作用,而肠道菌群是其发生还原代谢转化的主要

场所。

4 肠道特征菌及代谢物对药效的调节作用

尽管已知的神经精神疾病治疗药物是作用在中枢神经系统的各个靶点,并能透过血脑屏障更多的暴露至脑内,但是仍不能完全解释其药效和作用机制,而更多的研究则关注到了肠道菌群的作用。其中,一些成瘾性的药物则是通过肠道菌群影响“肠-脑”轴,从而发挥药效。氯胺酮是一种非竞争性的 N-甲基-D-天冬氨酸 (N-methyl-D-aspartate, NMDA) 拮抗剂,作用于 NMDA 受体中的苯环利定结合位点,因近期发现了快速持久的抗抑郁作用而备受瞩目。低剂量的氯胺酮显著增加了大鼠乳酸杆菌和 *Turicibacter* 属的丰度水平,并改善了其抑郁样行为。而在一项脂多糖诱导的抑郁小鼠模型实验中,氯胺酮通过改善肠道菌 α 多样性显著降低了其强迫游泳试验中所增加的不动时间,并发现肠道菌中放线菌门和肠杆菌属可能是氯胺酮抗抑郁功效的潜在生物标志物。此外,(R)-氯胺酮比(S)-氯胺酮具有更强的抗抑郁作用。Yang 等发现尽管氯胺酮的两种对映异构体均可改善慢性社会挫败应激小鼠的抑郁样行为并恢复其肠道 *Butyrivibrio* 等菌属的水平,但(R)-氯胺酮效用更强。这一结果解释了氯胺酮不同对映体发挥更强抗抑郁作用的部分原因。

另外,近期多项证据表明肠道菌群失调与阿尔茨海默氏症(AD)进展之间存在着密切的联系。AD 是以进行性认知功能障碍和记忆损害为特征的原发性中枢神经系统退行性疾病,主要的神经病理学特征是老年斑以及细胞内 tau 蛋白过度磷酸化形成的神经纤维缠结。AD 的发生发展受多种因素的影响,如细胞外纤维化的 β -淀粉样蛋白聚集、氧化应激、胆碱能神经元损伤等。大肠埃希氏菌属、沙门氏菌属、分支杆菌属和枯草芽孢杆菌等可诱导神经系统产生淀粉样蛋白纤维,而且大肠埃希菌属的内毒素还可促进 β -淀粉样蛋白的形成,进而诱导 AD 的发生发展。甘露特钠胶囊(GV-971)

作为我国原创的在国际首个靶向“肠-脑”轴的AD治疗新药,已在3期临床试验中表现出了显著的认知改善药效。Wang等对AD小鼠模型研究后发现,在AD进展过程中,肠道菌群组成的改变会导致苯丙氨酸和异亮氨酸的累积显著增加,从而刺激促炎性1型辅助T(Pro-inflammatory T helper 1, Th1)细胞的分化和增殖;而脑浸润的外周Th1免疫细胞与M1小胶质细胞激活相关,促使了AD相关的神经炎症发生。这一结果也由AD引起的轻度认知障碍患者中得到证实,这两个独立的病例中均观察到血中苯丙氨酸和异亮氨酸浓度的升高以及Th1细胞的升高。而甘露特钠可改善肠道菌群失调并抑制相关的苯丙氨酸/异亮氨酸蓄积,从而控制神经炎症并逆转认知障碍。这一研究突出了肠道菌群失调与AD进展中神经炎症之间的潜在联系,并提出了通过重塑肠道菌群治疗AD的新策略。

肠道菌群还能逆转精神疾病治疗药物对机体的损害。临床研究发现,氟哌啶醇可引起轴突的损伤,而肠道菌群可代谢产生丙酸酯等SCFAs,逆转pCREB-NPY介导的损伤机制,进而预防轴突病变。肠道菌群已成为治疗神经精神疾病的重要领域之一。

5 基于“肠-脑”代谢通路的天然药物体内过程研究

中药疗效已逐步被全世界认可。肠道菌群则更多的参与到中药的作用机制研究,特别是具有潜在神经精神疾病治疗活性的天然药物。作为中国经典的方剂,逍遥丸(散)具有疏肝解郁等抗抑郁作用,其多成分特点决定了逍遥丸(散)能够通过多靶点、多系统、多层次以调节抑郁症状。Zhu等观察到口服逍遥散21天后通过调节抑郁大鼠肠道菌群的结构而改善了其抑郁症状的行为,并分别从门属等不同水平改变了肠道菌丰度。此外,作为逍遥丸(散)中的主要成分,白芍具有良好的安全性。尽管白芍主要活性成分口服后难以吸收,在大脑中也无法检测到药物的有效

成分,但是肠道菌群帮助解释了白芍活性成分如何发挥了药效。Zhao等在体内外均鉴定出苯甲酸为芍药内酯苷(白芍的有效成分)在肠道中的特征代谢产物。苯甲酸可以穿过血脑屏障,并且作为脑中D-氨基酸氧化酶的抑制剂,可以改善脑功能并在体内发挥抗抑郁活性;另一方面,肠道中的羧酸酯酶是芍药内酯苷发生水解而代谢转化为苯甲酸的关键酶。同样,其异构体芍药苷作为逍遥丸的重要成分,也通过相同的肠道菌代谢机制来发挥药效,但起关键作用的羧酸酯酶亚型有所差异。这两项研究揭示了肠道菌群与天然药物在神经精神疾病的发病机理和治疗机制上起着互为因果的作用。

黄酮醇类物质也具有类似的作用机制,并被体内外研究证实具有抗焦虑活性。Cica等比较了不同给药途径对山奈酚、槲皮素和杨梅素等黄酮醇类化合物的代谢影响。结果发现,仅在口服后才检测到特定的代谢产物对羟基苯乙酸(p-HPAA)和3,4-二羟基苯基乙酸(DOPAC),并对小鼠产生抗焦虑效应;而腹腔注射后未观察到抗焦虑作用。有趣的是,当上述代谢产物p-HPAA和DOPAC腹腔注射小鼠后展现了抗焦虑活性,并且抗生素恩诺沙星可抑制肠道菌群的代谢转化,从而使抗焦虑作用消失。

多种天然药物提取物也能通过肠道菌群发挥治疗神经精神疾病的药效。已有报道从巴戟天提取的菊粉型低聚寡糖(Inulin-type fructo-oligosaccharides, FOSs)被证明具有抗抑郁作用,并被中国食品药品监督管理局(CFDA)批准为处方中药治疗轻度至中度抑郁症。Chi等观察到FOSs减轻了CUMS大鼠抑郁症状样行为并恢复了肠道菌群的生态平衡,包括蓝藻细菌等菌门丰度增加,并且该类细菌可分泌H₂S等抗抑郁代谢产物;而肉苁蓉提取物则是通过肠道菌群影响了神经活性代谢物SCFAs的产生,进而恢复抑郁大鼠脑内5-羟色胺(5-HT)和脑源性神经营养因子(BDNF)的表达,改善了抑郁样行为症状。文冠果壳苷也是通

过调节 AD 大鼠肠道菌群改善了相关的 AD 症状。其中包括多个门属水平的丰度变化,特别是厚壁菌门与拟杆菌门的比例改变;同时肠道菌群的变化与氨基酸、溶血磷脂酰胆碱、二氢鞘氨醇、植物鞘氨醇、肌苷和次黄嘌呤等内源性代谢物显著相关。此外,迷迭香、黄连等天然药物提取物也能重塑肠道菌群结构改善神经精神疾病。

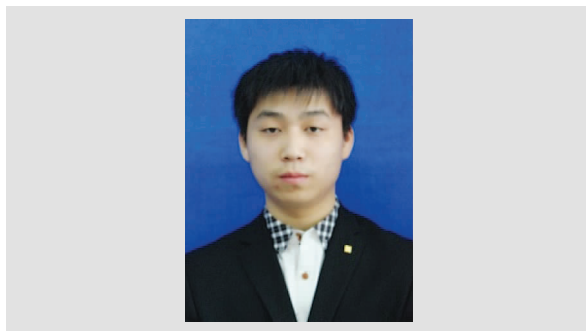
6 总结与展望

长久以来,肠道在维持体内稳态方面发挥着不可忽视的作用,特别是在过去的十多年间,肠道菌群的深入研究使人们认识到肠道、肠道菌群与大脑这三者之间的独特的相互作用。在神经精神疾病的生物学和生理学基础的领域中,“肠-脑”轴越来越受到关注。尽管如此,多数研究只是看到了菌群的变化,而并未深入探索菌群变化究竟是病因还是结果;此外,隔绝菌群等影响因素来验证研究结果依然困难重重,无论是通过抗生素构建的相对无菌动物模型还是真正的无菌动物,均存在各自的局限性。因此,针对肠道菌群与药物,尤其是神经精神疾病治疗药物的研究还需要更多关键技术上的突破,这些技术涉及了肠道菌介

导的药物代谢-药效研究领域的多学科交叉的前沿技术,包括宏基因组测序技术、多组学与生物信息学技术、粪菌移植技术、肠道菌内源性代谢产物鉴定与定量分析技术等运用与普及。我们相信,未来更多的研究会关注到肠道菌群个体化差异与药物的相互作用,通过探索肠道菌越来越多的生物标志物(特征菌或代谢酶等),以实现药物在临床上对疾病尤其对慢病患者的个性化治疗。

张正威,彭冉,王琰

(中国医学科学院药物研究所)



张正威,男,本科毕业于沈阳药科大学,目前为北京协和医学院/中国医学科学院药物研究所药物代谢室在读博士生,研究方向为药物分析学,已参与发表 SCI 文章4篇。

1. 超高效液相色谱技术

超高效液相色谱基于 HPLC(高效液相色谱)的理论及原理,采用亚二微米小颗粒填料技术、采用非常低的系统体积,低扩散及交叉污染的自动进样器,耐受超高压色谱泵等全新仪器技术,极大增加了药物等分析的通量、灵敏度及色谱峰容量,节约大量有机类流动相,显著降低了分析时间和成本。各国药典品种已经开始逐渐采用超高效液相色谱仪进行药物分析工作。

2. 超高效聚合物色谱技术

随着现代科学技术的发展,高分子材料在工

业、农业、国防、航空航天及日常生活等各个领域已广泛应用。而凝胶渗透色谱(GPC)是聚合物表征的传统工具,但其分离效能较低,特别是低分子段表征差、分析时间长、溶剂消耗量大,这些固有弱点已不能适应现代材料科学的发展要求。目前结合超高效液相色谱技术,及刚性凝胶色谱填料的发展,超高效凝胶渗透色谱系统(APC)的推出,使聚合物分子量分布测试有了更优化的结果,同时分析速度、灵敏度大大提高,毒性有机溶剂消耗大大降低,节约了分析成本,其在大分子药物、包装材料和药用辅料分析方面有着独特的分析优势,可更有效地应用于高聚物的合成研究、结构研究、杂质研究、稳定性研究及加工性能研究等领域。

微流控芯片器官模拟及药代分析技术

由于药物研发成本的上升和对新药上市前更加严格的审批制度,医药行业正面临着前所未有的压力和挑战。自 1950 年以来,用于药物研究和开发的每十亿美元批准的新药数量每 9 年大约减少一半。现代药物发现的过程继续面临越来越多的挑战,其中包括一些生物假说最终需要在人体中测试,候选药物分析需要以更快速和准确方式进行。动物实验常用于药物研究和发现,然而动物实验不同于人类的体内微环境,并且难以确定人体的内部过程变化情况。先不说时间消耗和资源浪费,动物实验通常也会导致伦理问题。为了克服这些限制,基于细胞的体外微流体模型系统作为更好地了解人类生物学和疾病的工具出现。对于药物作用机制的研究,人体内直接观察很困难,亟需体外生物模型。根据病理生理学相关性,体外模型通常分为初级的细胞系、原代细胞,中级的模型生物体和人体组织外植体,以及最终阶段的各种实验用动物。随着这些体外生物模型的复杂程度的升高,劳动力消耗和时间成本也随之增加。因此,最简单的模型-细胞基的体外培养系统-通常用作早期的药物发现、诊断和个性化医疗。

传统的细胞培养系统通常依赖于未定义的生物材料,例如多聚赖氨酸,胎牛血清,纤维连接蛋白和简单的容器,例如培养盘、培养瓶和烧瓶。但是这种传统细胞培养方法既有静态、简便等优势,但是也存在试剂用量大、自动化程度低、无法进行动态模拟研究等不足。微流控芯片的独特特性使其成为药物研究和生物应用的出色候选者。过去十多年来,微流控芯片在药物研究领域已经有了巨大的发展。微流控药物筛选平台在预测人体内的亚细胞和细胞生理反应中提供更大的效用,并且能够获得在宏观尺度上不可及的物理现象和机制。该成果降低了药物临床实验中晚期失败的发生率。微流控芯片通过在精确限定的几何形状中控制微升和纳升级别的流体流动同时操

作和分析单细胞水平、细胞群体和器官水平的变化。与采用动物实验进行药物测试相比,微流体系统减少了动物的牺牲并避免了伦理问题。此外,微流体装置可以低成本、高通量进行可再现的筛选,并通过比常规宏观装置更快的执行操作来减少时耗。因此,微流体技术已经被用于药物研究和开发的不同阶段。

1 微流控芯片上三维(3D)细胞培养

传统二维(2D)细胞培养形成一个世纪前,2D 细胞培养的主要优点是细胞以图案化的方式生长,操作简单、容易实现,然而缺点是 2D 状态下的细胞生长情况不同于活体中细胞处于 3D 生长状态的实际情况,而且细胞实验可能不能准确地反映体内条件。此外,在 2D 培养状态下,细胞将受到流体剪切应力的影响,这也将对细胞的生理活性和功能产生一定的影响。2D 培养条件下,组织间多维立体的空间结构、复杂的组织间物质交换和信号传导无法充分实现。为了克服 2D 细胞培养的上述缺点,微装置中的 3D 细胞培养受到了广泛的关注。

从细胞单层转移到 3D 培养是活体组织功能模拟研究的趋势。生物材料的支架可以提供细胞生长的 3D 微环境。3D 细胞培养通常通过在生物相容性凝胶材料中孵育细胞,在体内模拟细胞外基质(ECM)来提供 3D 机械应力来支持细胞生长并诱导细胞极化进一步与相邻细胞发生相互作用。因此,3D 环境下模拟的体内生物环境更加真实、有效。用于 3D 细胞培养的材料通常包括各种水凝胶,例如琼脂糖,胶原,基质胶,聚乙二醇(PEG),藻酸盐等。这些材料通常具有更好的生物相容性,并且可以为细胞生物学行为(生长、增殖和运动)提供更好的结构支持和基础条件。存在许多用于在微流体芯片上共培养细胞的方法,例如(a)使用凝胶包裹的细胞用于 3D 细胞共培养以形成细胞球,(b)通过物理累积形成 3D 结构,(c)

诱导多个细胞以形成组织的形式来实现3D细胞共培养的目标。

除了使用凝胶之外,3D细胞共培养也可以通过其他方法实现。如,通过应变响应皱纹法和PDMS复制模制工艺描述了具有垂直于微通道轴线的正交微槽的圆形微通道。微器件有望作为深入研究人主动脉平滑肌细胞生物学和血管功能的实用平台。有人还通过在拉伸的PDMS膜上使用微通道限定的方法,在不同区域中培养不同类型的细胞来设计3D非凝胶细胞共培养装置。将膜卷起以形成多层细胞的3D共培养模型,其可用于模拟由具有管状结构(例如血管)的不同细胞类型组成的许多体内组织。使用滚动膜技术,获得具有可控尺寸的管,2D膜结构转化为3D管结构。结果表明,3D细胞共培养装置提供了系统地研究血管细胞生物学的巨大可能性,并可进一步用于组织工程。也有学者通过微流体球形形成技术在微流体芯片中设计各种高通量微腔以共同培养前列腺癌细胞,成骨细胞和内皮细胞以形成3D细胞球,成功模拟了体内细胞的生存情况,研究前列腺癌细胞的转移机制。这种设备作为一个有效的平台重构的恶性肿瘤细胞的体内生长行为了解人类病理生理学的巨大潜力。

2 微流控芯片上器官模拟

随着组织工程研究的发展,体外器官甚至体外生物系统已经引起越来越多的关注。通过模拟体外生物微环境和构建生物系统,可为生命科学、医学和药理学研究提供更好的平台,推进相关领域的研究进展。器官芯片系统作为用于人类生理学和病理学的功能化技术结合了微流体与细胞培养的优点。微流控芯片优异的小型化和高通量分析性能,可以大大降低成本和消耗(细胞,培养基和药物),便于实现自动化和商业化。由于高度集成的结构和功能,微芯片适合于体外器官重建和模拟,并最终建立接近身体状态的生理病理模型。新的体外器官模型在临床治疗和基础药物研

究中发挥重要作用。它特别适合于依赖于组织微架构和灌注以及短期病理生理过程的精确监测的生物现象的研究。

基于细胞的微流体模型系统作为一个最简单的系统,注入到微流体通道内一种细胞只能模拟一种组织的功能。虽然它可以提供大量便宜的数据,然而,这种模型不代表患者复杂的病理生理学体征。微流体芯片中的3D细胞共培养应用两种或更多种类型的细胞,并且通常依赖于水凝胶来重建不同组织之间的界面。对于器官芯片而言,目标不是在芯片上构建整个生物体,而是合成重现组织和器官水平功能的整合功能单位。分泌因子、营养物质、生长因子、激素、细胞外基质等完成了整合单元的基本构成。另外,流体运动可以再现由生理流动(例如血流和间质流)和组织变形(例如呼吸,蠕动和心跳)引起的各种类型的机械信号,包括流体剪切应力、张力、压缩和扭矩。而且,光学透明度这一优势使得芯片能够直接实时可视化和定量高分辨率分析,这在动物体内是不可能实现的。

微流体器官模拟的细胞来源可以分为细胞系、原代细胞、组织切片和多能干细胞。组织切片接近身体状态,但是难以在体外实现长期培养和维持。多能干细胞技术还不成熟,使用原代细胞不仅可以实现长时间体外培养的目的,而且可以更好地模拟身体的状态,但是难以根据人体内的实际情况组装不同的细胞。已有大量的学者致力于这一技术的开发,报道的器官芯片包括肝、肠、心脏、脑、肺、肾脏、脉管系统以及其他器官,获得对多细胞生物系统响应的科学理解,用于细胞共培养,体外同时模拟药物代谢、分布和肿瘤杀死效应,长期载人太空探索、疾病模型和生物传感器等重大科学问题的研究。

3 微流控芯片在药物研究中的应用

正如我们在前面讨论的,已经有许多报道芯片应用的工作。与小型化系统相关的主要优点是更快、更准确的诊断,更好的流行病学

数据、疫苗介绍,不需要专门的医疗保健工作者和更好地使用现有的治疗剂,但仍然有许多障碍在微流体系统的更广泛的应用。然而,总是有一线希望,并且由于对全球健康问题的极大兴趣,当前用于开发诊断试剂盒的资金环境是非常好的。

药物递送:药物输送是对医学和保健至关重要的领域。受控药物递送通过预防过早降解和增强摄取,主要是控制药物释放速率来维持治疗窗内的药物浓度,并通过靶向疾病部位和靶细胞来减少副作用,从而提高生物利用度。有人提出了一种“现成的”脂质体产生的微流体芯片方法,并验证了脂质体递送药物伊维菌素的效果。结果表明,该微装置允许快速产生用于药物递送的窄分散和可再现的单层脂质体。

药物代谢与毒性:药物代谢和毒性是药物体内过程评价的一个重要环节,关系临床用药所采用的方式和所需的剂量。清华大学林金明课题组研发了一种新的多层微流体装置,由PDMS基片、PC膜和SPE微柱组成,用于表征人肝微粒体中的药物代谢及其对肿瘤细胞的细胞毒性。在微SPE预处理后,可以使用ESI-Q-TOF MS在线直接检测代谢物。他们把稳定同位素标记技术应用与微流控芯片集成ESI-MS平台,用于定性和定量分析抗肿瘤药物染料木黄酮处理的细胞代谢。该装置包括三个部分:第一部分由药物和培养基注射组成,第二部分用作细胞培养和药物诱导的细胞凋亡分析,第三部分由用于样品脱盐的SPE微柱阵列组成(图1)。

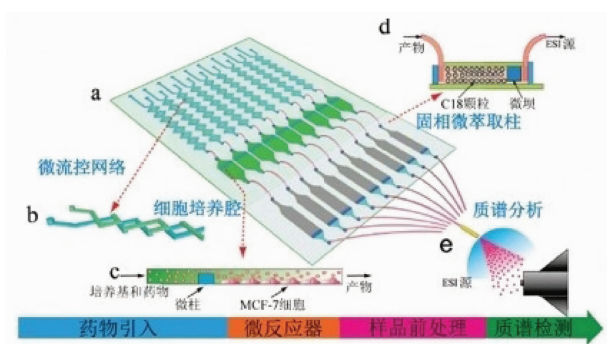


图1 集成芯片质谱系统的示意图

药代动力学系统:药物筛选过程通常存在体外预测药物毒性差这一难题。造成此局面的一个原因是在体外难以再现药物的体内药代过程。许多研究人员集中精力在使用微流控芯片进行药代动力学过程的体外模型建立。基于生理学的药代动力学计算模型的肠芯片模型已经开发出来用于预测吸收和排泄的过程,可以作为确定药物化合物生物利用度的体外模型。韩国学者引入了由两个重叠的细胞培养通道组成的微流体平台,所述细胞培养通道由内衬有Caco-2细胞的ECM包被的弹性膜隔开,以模拟肠的生理学功能。该装置能够用低速率的流体和循环应变来模拟蠕动运动以重现肠的生理蠕动运动,从而在上皮表面上延长正常肠微生物的培养。重要的是,这个模型重构了吸收特征和肠的屏障功能,这对于应用于药物吸收研究的新的肠道疾病模型的发展具有重要价值。

微流体技术的进步也使得开发控制药物生物利用度和模拟药代动力学过程关键环节(例如药物代谢)的肝芯片模型成为可能。开发了用于预测六种市售药物(卡马西平,咖啡因,噻吗洛尔,西地那非,丙米嗪和丁螺环酮)的肝清除的初级人肝细胞的微流体芯片。建立了一个新的微流控肝芯片平台,通过培养冷冻保存的人类原代肝细胞在12个平行微流控室53评估7种药物的代谢和清除。这项研究说明了平行化的微流体设备能够重现肝脏组织功能。

虽然这些单独的器官模型研究具有显著的优势,越来越多的人已经意识到多器官芯片技术具有巨大的临床前测试的潜力,特别是模仿药代动力学,并且它可以通过集成这些模型实现人体生理重建。基于这一考虑,研究人员已开始关注多器官模型的研究,从而能够预测药物的ADME过程,并复制多器官的功能和相互作用。最近,有很多生物医学研究寻求新的细胞培养方式和多细胞协同效应。

日本学者建立了一个互连的细胞培养室

网络,并引入了一个与微肠,微肝和乳腺癌细胞结合的模型,以证明抗癌药物的连续吸收,代谢和功效。通过在肠吸收前掺入胃酸胃室,将胃肠消化的新特征添加到先前的系统中,并且其表明整合的平台可以形成更完整的药物分析系统并确定口服给药的生物利用度和功效。该系统的延伸包括微型工程蠕动泵,透析部分和含有乳腺癌细胞的腔室,以复制循环和排泄的过程。

这些多器官模型的制造和操作通常是极具挑战性的,并且需要仔细考虑异速生长缩放原理。为了解决这些缩放因素,美国学者将四个器官的功能集成到标准细胞培养池的微生理系统,比其人类对应器官小 10 万倍。在该模型中,每个器官区室中的培养基的停留时间接近生理液体与组织的比率,并且第二回路确保通过肾上皮细胞层排出的流体的排出。此外,该系统能够重复测试候选药物的全身毒性达 28 d 之久。这些研究说明,微流体技术能够被用作一种功能化工具来模拟和预测药物筛选的关键生理反应。

4 微流控芯片质谱联用技术

新药的研究与开发,离不开具有定性、定量功能的质谱分析仪器。质谱(MS)是一种发展非常迅速,运用范围广泛的分析方法。作为一种灵敏度高、特异性好、响应速度快的普适性快速分析方法,在生命、环境、医药、食品、能源化工、材料等领域发挥着巨大的作用。近年来,在国家科研经费的大力支持和市场的大量需求的双重推动下,质谱仪器研制和质谱相关研究水平都得到了显著提高。其中,质谱联用装置、质谱成像技术、质谱新的应用研究等新突破。

在质谱联用领域中,我国学者将微流控芯片和毛细管电泳与质谱联用,并取得一新系列重要研究进展。清华大学林金明课题组将微流控芯片与质谱检测技术联用,研制了适合于细胞在线分析的微流控芯片,构建了细胞微流控芯片-质谱分析平台(CM-MS),发展出一种新型全自动的细胞代谢研究平台,成为继气相

色谱-质谱(GC-MS)、液相色谱-质谱(LC-MS)、毛细管电泳-质谱(CE-MS)之后的第四代细胞微流控质谱(CM-MS)联用技术。与国际知名仪器产家岛津公司合作,成功推出了全球第一台微流控芯片-质谱联用细胞分析系统(CELLENT CM-MS),并于 2019 年上半年成功上市(图 2),是一个全新类型的仪器,受到广泛的重视。CM-MS 可广泛应用于药物筛选、细胞毒性、食品安全、疾病机制、细胞生理过程和细胞相互作用等研究。浙江大学方群课题组发展了一种基于微流体液滴的热迁移分析系统(dTSA),可实现高通量筛选小分子蛋白质适配体。该课题组将电喷雾喷针和电接触电极集成在玻璃材质芯片上,结合自研的顺序液滴阵列(SODA)作为进样技术,发展出一种毛细管与质谱联用的技术,拓宽了质谱技术的应用范围。进一步,该课题组发展出基于 SODA 技术的 3D 液滴微流控细胞培养新方法,实现纳升级液滴细胞培养,展示了一种微流控芯片与质谱联用的新思路。



图 2 清华大学林金明教授课题组的微流控芯片质谱联用专利产品。全球第一台微流控芯片-质谱联用细胞分析系统(CELLENT CM-MS),2019 年上半年成功上市

在其他微流体质谱联用技术方面,武汉大学药学院陈子林课题组针对常用的聚亚酰胺涂附的熔融硅胶毛细管在多种有机溶剂及碱性条件下涂层不稳定,在使用鞘流接口时受鞘流液浸泡后涂层溶胀、脱落和氨解,导致 CE-MS 接口稳定性下降和背景干扰等问题,采用化学稳定性和热稳定性好的聚醚醚酮毛细管代替石英毛细管,克服了石英毛细管存在的上

述问题,成功实现了对多组中药有效成分的高效分离和检测。该课题组开发了一种新型基于离子液体-苯乙烯的有机聚合物整体柱,应用于中药活性组分的毛细管电色谱-质谱联用分析,有效地提高了分离选择性。苏州大学张真庆课题组采用毛细管等电聚焦-质谱分析的方法,成功在负离子模式下实现了氨基葡聚糖的分离和检测。中国科学院大连化学物理研究所许国旺课题组采用稳定同位素标记结合 CE-MS 的方法,用于极性代谢物的非靶向代谢组学分析。与传统的非靶向代谢组学分析方法相比,该方法不仅可以检测代谢物的含量,还可以对代谢物的代谢途径进行推导分析。

5 微流控芯片药物研究面临的挑战和前景

尽管微流控芯片在生物医学研究中表现出重大价值,实现微流控芯片,尤其是器官芯片的全部潜力仍然面临许多挑战:①芯片材料如 PDMS, PC 和聚酯的物理性质不适合模拟细胞外基质,需要开发新的生物兼容性材料。由于 PDMS 吸收疏水性小分子,这将导致有效药物浓度和疗效下降,进而药物定量分析不准确。这一不足可以通过表面改性来改善。此外,新的替代

材料也已经陆续出现。②当前微流体芯片上的细胞来源大多是分化的细胞,需要更可靠和可持续的能够代表体内相应的器官的人源细胞。人胚胎干细胞和诱导多能细胞可以作为细胞来源并且可以被工程化以满足芯片上器官发育的特定需要。③芯片的小型化一定程度上会降低检测的灵敏度,而高通量分析可以弥补这种缺陷。④复杂性和实用性之间的平衡需要仔细考虑。这一挑战可以通过精确控制细胞培养参数,倾向利用简单模型,开发自动化仪器,以及实时收集和分析样品来解决。⑤虽然器官芯片提供有意义的生物模型,但仍需要替代工具。器官芯片可以作为基本药物开发阶段的重要辅助工具,而应用于临床实践作为一种标准化的方法还有很长的路要走。

尽管微流控芯片技术面临巨大挑战,但这一技术有可能在简化临床实验过程中发挥转型作用,可以提出令人兴奋的新的药物发现和开发的途径。这决定了微流控芯片科技仍将在药物研究领域立足很长时间,不断发展成熟壮大。

林金明,介明沙
(清华大学化学系)

3. 超临界流体色谱技术

超临界流体色谱技术由于技术瓶颈的突破,近年来得以快速发展。超临界色谱是以超临界二氧化碳和少量醇类等作为流动相的色谱分析技术。兼有气相色谱和高效液相色谱的优点。特别是超高效超临界流体色谱技术沿用了亚 2 微米填料技术,流体粘度小系统压力更低,可使药物色谱分析的分离度、灵敏度和分析速度同时提高。与气相色谱相比,不需要很高温,更适合热不稳定化合物的分离。同时,超临界色谱由于使用二氧化碳作为主要流动相,安全性更高,更环保,分离速度快,后处理方便等,这些特点使其非常适合药物分析和制备,是诸如脂溶性药物和高价值产品如手性药物等首选的分离手段。

4. 二维(多维)色谱技术

二维(多维)色谱技术是将同种色谱不同选择性分离柱或不同类型色谱分离技术组合,构成联用系统以分离复杂样品的技术。目前应用最多的是二维色谱,如同种色谱、不同选择性色谱柱串联。常见的有二维气相色谱(GC-GC)、二维高效液相色谱(HPLC-HPLC)、二维超临界流体色谱(SFC-SFC)。高效液相-气相二维色谱(HPLC-GC)、高效液相-超临界流体二维色谱(HPLC-SFC)、高效液相-毛细管区带电泳二维色谱(HPLC-CZE)。其技术关键是联结两色谱分离系统之间的接口设备和技术。与常规的单柱分离相比,具有更高的选择性、更大的峰容量和更好的分辨率。多维色谱应用领域也越来越广泛,在生物、医药、食品、卫生、商品检测、法医检测、石油化工行业、未知物质的剖析分析等领域得到了广泛的应用。

肠道菌与药物相互作用的前沿分析技术

肠道菌是人类微生物系统的重要组成部分,在代谢与信息传递方面与宿主产生重要的双向交流,参与宿主的多种生理生化功能调节。肠道菌也是口服药物重要代谢因素之一。药物与肠道菌发生相互作用,可能改变药物的化学结构和药理活性。可以说,肠道菌与药物(口服)相互作用的研究将对药物在体内的代谢转化、药效及作用机制产生重要影响;而用于肠道菌与药物相互作用分析技术的研究,将有利于促进该领域的发展。现将肠道菌与药物相互作用研究的前沿分析技术进展进行概述。

1 肠道菌与人类疾病

随着人类微生物组计划和人类肠道宏基因组学计划的启动和深入研究,人体的肠道菌群被证实了与健康息息相关。自人类出生起,正常菌群开始定植并伴随终生。肠道菌群与人类宿主共生,在宿主的代谢、免疫及营养等方面发挥着不可忽视的作用。肠道菌群维持生态平衡是决定机体健康的重要因素,正常的菌群结构可以促进机体健康,菌群失调会导致疾病的发生或加重。菌群基因组与宿主基因组协调工作、各司其职,以维持各种环境下人类的健康。菌群失调与各种疾病相关联,如炎症性肠病、肥胖、Ⅱ型糖尿病、动脉粥样硬化、高血压、肝硬化、哮喘等,甚至于肿瘤和神经系统的阿尔茨海默症、帕金森症等重大疾病,涉及的疾病类型非常广泛。

2 肠道微生物组成与分类

肠道菌群主要由厌氧菌、兼性厌氧菌、需氧菌组成,其中厌氧菌是肠道的优势菌群,占肠道细菌的99%,为兼性厌氧菌和好氧菌总数的100~1 000倍,具有营养及免疫调节作用,为人体所必需。个体肠道菌群的组成在种水平上具有很大的差异,但在门水平上具有一定的稳定性和保守性。重要的细菌种类主要包括厚壁菌门、拟杆菌门、变形菌门、放线菌门、疣微菌门和梭杆菌

门,以前四个菌门为主(>99%),其中厚壁菌门和拟杆菌门占绝对优势(>98%)。上述细菌按照对人体的作用又可分为:①与宿主共生的生理性细菌,如双歧杆菌、乳酸杆菌;②与宿主共栖的条件致病菌,如肠杆菌、肠球菌;③病原菌,如变形杆菌、金黄色葡萄球菌。肠道菌群与宿主之间存在复杂的调节平衡。

近年来,几个大的研究试验显示,人肠道菌群主要是由若干个属于后壁菌门和拟杆菌门的已知优势菌属构成。然而不同国籍、遗传背景和生活习惯的居民肠道菌群的组成差异非常大,例如拟杆菌属(*Bacteroides*)是西方人群肠道中相对含量最多且个体差异最大的菌属,韩国居民是栖粪杆菌属(*Faecalibacterium*),中国居民肠道中含量最多的菌属是考拉杆菌属(*Phascolarctobacterium*)。这些说明人类肠道菌群组成非常复杂且易受各种因素的影响,在属水平上已经表现出较高的多样性和个体差异性。

3 肠道菌代谢物的定性定量分析技术

肠道微生物会影响人类健康已经成为共识,一方面通过长期与宿主的共进化,肠道菌群可以提供宿主不具备的酶和代谢通路;另一方面肠道微生物分泌的次级代谢产物,进入血液循环,从而对宿主健康产生系统性影响。因此通过对肠道微生物特征行的代谢产物进行定性和定量分析,可以更好的帮助我们探索肠道微生物与宿主潜在的相互作用机制,这对疾病的预防和治疗具有重要的意义。

肠道微生物代谢产物的来源主要有两方面:(1)代谢食物中不能被小肠消化吸收的碳水化合物、蛋白质和肽类,该过程可以生成大量肠道菌代谢物。(2)肠道微生物也可以通过参与宿主的代谢,生成肠道菌群-宿主共代谢产物。随着分析技术的发展,越来越多的肠道菌代谢物被分离鉴定出来。到目前为止,研究证实与宿主健康有关的肠道菌特征代谢物主要包括短链脂肪酸、胆汁酸(特别是次级胆酸)、

甲胺类(如 TMAO)、多酚类、吡啶类、多胺类、氨基酸类、维生素类、激素类等。当然在众多肠道菌代谢物中,目前我们鉴定并加以研究的只是冰山一角,还有很多代谢物需要借助先进的分析技术等待我们去发现。

3.1 肠道菌代谢物的化学结构鉴定技术

肠道菌代谢物的化学结构鉴定主要借助四大有机谱,即紫外吸收光谱,红外吸收光谱,核磁共振波谱法和质谱法,其中,光谱法是应用最为广泛的手段。各种结构的化合物都具有自己的特征光谱,吸收的波长和程度取决于分子结构,因此光谱法是通过代谢物分子对辐射的吸收而产生的光谱特征来确定代谢物的化学组成。光谱法主要有紫外光谱法,红外光谱法以及核磁共振波谱法。

3.2 肠道菌代谢物的定量分析技术

色谱分析法是一种分离分析方法,定性较差,定量较好。其原理是根据混合物中各组分在不同相态的选择性分配,用流动相对固定相中的混合物进行洗脱,混合物中不同的物质会以不同的速度沿固定相移动,最终达到分离的目的。色谱与质谱的联用技术是利用色谱对混合物的高效分离能力和质谱对纯物质的鉴定能力而发展起来的一种技术,该技术结合了色谱技术的高分离能力和质谱的高灵敏度及高选择性的优点。同时,检测前对复杂化合物的分离降低了基质效应和离子抑制效应,使得对代谢物的定量分析更为准确。

3.2.1 气相色谱-质谱联用 气相色谱-质谱联用技术是 20 世纪 50 年代发明的第一种联用技术,已成为联用技术中最成功的一种,它能提供非常精确的定量分析,是肠道菌代谢物定量分析中的常用技术。2020 年 Pierre Zalloua 和 Dominique Gauguier 团队的研究人员利用气相色谱-质谱联用技术对 148 名成年人的血液样本进行分析。通过对肠道菌代谢物的定量分析发现 4-cresol 可以改善 I 型或 II 型糖尿病。4-Cresol 是酪氨酸和苯丙氨酸的结肠微生物发酵产物,它与糖尿病的发生成负相关,即血糖越高者体内 4-Cresol 含量越低。随后的动

物实验表明 4-cresol 可增加胰腺 β 细胞的增殖,并改善血糖控制。肠道菌代谢物具有复杂性和多样性,因此同时测定众多的肠道菌代谢物在技术上具有很大的挑战性,2017 年,Wei Jia 团队基于气相色谱-飞行时间质谱联用技术(GC-TOF/MS)研发了一种检测生物样本中肠道菌代谢物的高通量绝对定量分析方法。该方法能够在 15 分钟内实现对血清、尿液、粪便或者细菌(如大肠杆菌)等样本中的 150 种肠道菌群代谢物,包括氨基酸、脂肪酸、有机酸、酚类、苯基或苄基衍生物、吡啶等进行全自动化学衍生和快速准确定量分析。

然而,GC-MS 的一个缺点是化合物必须是易挥发和耐热的。在分析之前,对于极性较强,热稳定性差,难挥发的化合物需要通过衍生化转化为热稳定的挥发性化合物。除了改善分析对象的挥发性,衍生化还可以改善峰型,分离度,提高检测灵敏度。Mei-Jun Zhu 团队利用 N,O-二(三甲基硅基)-三氟乙酰胺(BSTFA)为衍生试剂,借助 GC-MS 联用技术分析粪便和血清中短链脂肪酸的方法。该方法采用硫酸钠去除样品中的水分。采用选择离子监测模式,对乙酸、丙酸、异丁酸、丁酸、异戊酸和戊酸进行定量分析,该衍生化反应使得短链脂肪酸的检测限可达 $0.064 \sim 0.067 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

3.2.2 高效液相色谱-质谱联用 高效液相色谱-质谱联用技术是在 GC-MS 联用技术上发展而来。高效液相色谱具有分辨率高,应用范围广等特点,与 GC 相比,不受样品挥发性和热稳定性的影响。随着 LC-MS 联用接口技术的成熟,LC-MS 在一定程度上和一定范围内已经取代了传统的 GC-MS,成为肠道菌代谢物定量分析的主要技术。Vanessa D. de Mello 和 Kati Hanhineva 团队借助三重四级杆液质联用仪(HPLC-QQQ),建立了吡啶丙酸(IPA)的靶向定量方法。吡啶丙酸为色氨酸的肠道菌代谢物。该团队应用建立的靶向测定方法分析了芬兰糖尿病预防研究(DPS)所有参与者的血清 IPA 浓度($n = 209$ 生活方式干预组和 $n = 206$ 对照组)。在随访 1 年的研究中,IPA 浓度与二

型糖尿病的发生率呈负相关,并且在7年的随访中,显示出与胰岛素分泌的直接相关性。此外,IPA与膳食纤维摄入量呈正相关。该研究表明IPA降低T2D风险的作用可能是通过膳食纤维摄入与炎症的相互作用或IPA对 β 细胞功能的直接作用介导的。肉碱是红肉中的一种营养物质,有报道表明肉碱可以通过肠道细菌的切割产生三甲胺进一步氧化为氧化三甲胺,从而加速动脉粥样硬化的形成。来自于克利夫兰的研究人员利用稳定同位素稀释LC-MS/MS技术,以正离子MRM模式对小鼠血浆(和饮食)中的三甲胺化合物进行定量。该研究证明,在摄入左旋肉碱后, γ -丁基罗布坦(γ -BB)作为中间代谢物被肠道微生物产生,有趣的是其合成位置和生成三甲胺接近,并且以高于三甲胺形成1000倍的速率产生。此外,研究人员还发现 γ -BB是饮食中左旋肉碱在小鼠体内形成的主要肠道微生物代谢产物,进而转化为三甲胺和氧化三甲胺,并加速动脉粥样硬化。进一步的研究表明,长期暴露于左旋肉碱或 γ -BB的饮食促进了功能不同的微生物群落的发育。

超高效液相色谱(Ultra Performance Liquid Chromatography, UPLC)借助于HPLC的理论及原理,采用小颗粒、高性能微粒固定相,高速采样速度的灵敏检测器,增加了分析的通量、灵敏度及色谱峰容量。与HPLC相比,UPLC的分析速度、灵敏度及分离度分别是HPLC的9倍、3倍及1.7倍,它缩短了分析时间,同时减少了溶剂用量降低了分析成本。Qiongfeng Liao和Zhiyong Xie团队建立了一种超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS)分析方法快速测定11种关键肠道微生物群宿主共代谢产物。通过该方法,作者能够在10分钟内同时监测由炎症引起的琥珀酸盐、苯乙酰谷氨酰胺、马尿酸盐和三甲胺代谢途径的等11种代谢产物在大鼠血清,尿液和粪便中的变化。这些内源性代谢物的测定水平范围为0.001至172.8 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

3.2.3 毛细管电泳-质谱联用(CE-MS) 毛细管电泳-质谱联用技术是20世纪90年代末才发展起来的联用技术。电子喷雾离子化是CE-

MS联用技术中首选的离子源。由于毛细管电泳的高分离能力,该技术也已经用于肠道微生物代谢物的定量分析中。来自日本的科学家采用毛细管电泳飞行时间质谱对不同阶段结直肠癌患者粪便样本进行研究,对胆汁酸、短链脂肪酸、氨基酸和中心碳代谢物质等与肠道微生物相关的代谢物进行定量分析,与健康组相比,腺瘤性息肉伴有轻度不典型增生组(MP)中脱氧胆酸(DCA)显著增加,粘膜内息肉样腺瘤伴高度不典型增生组(SO)甘胆酸和牛磺胆酸显著增加,此外支链氨基酸、亮氨酸、缬氨酸、苯丙氨酸、酪氨酸、甘氨酸、丝氨酸有所增加。异戊酸,一种通过微生物亮氨酸发酵得到的支链脂肪酸,从SO阶段到结直肠癌一期和二期逐步增加。该研究结果提示我们结直肠癌的进展可能受到整个肠道菌的代谢影响。

3.2.4 核磁共振波谱法 近二十年来,由于在仪器装置上的发展,核磁共振波谱法也正在逐渐成为强有力的定量工具。在NMR图谱中,共振峰面积或峰高直接与被测化合物的含量成正比。一般只对化合物中指定基团上质子引起的峰面积或峰高与标准物中某一指定基团上质子引起的峰面积或峰高进行比较,即可求出化合物的绝对含量。当分析混合物时,也可采用其各个组分的各自指定基团上质子产生的吸收峰强度进行相对比较,然后求得相对含量。Cornelia M. van Duijn团队利用核磁共振技术研究来自鹿特丹LifeLines-DEEP队列的2309个人的肠道微生物群对循环代谢物的影响。通过线性回归模型,并且矫正年龄、性别、体重指数、药物使用等影响,作者报告了32个微生物科和属与血清脂肪、糖酵解相关代谢物、酮体、氨基酸和急性期反应标记物的关联。这些结果为深入了解微生物群在宿主代谢中的作用以及支持肠道微生物群作为治疗和预防干预目标的潜力提供了依据。

4 肠道菌研究的生物分析技术

经过长期试验,研究者们总结了一系列适用于肠道菌群研究的分子生物学技术,包括:基

于聚合酶链式反应的变性梯度凝胶电泳(Polymerase chain reaction denaturing gradient gel electrophoresis, PCR-DGGE)技术、荧光原位杂交(Fluorescence in situ hybridization, FISH)、实时荧光定量 PCR(Real-time Polymerase Chain Reaction)技术、基因芯片(Gene Chip)及新一代高通量测序技术(Next Generation Sequencing, NGS)等。

随着肠道菌研究的深入,研究者们期望用微生物常用的遗传操作技术对特征性的肠道菌的基因组进行改造,插入外源基因从而赋予其新的功能,或者敲除基因研究其功能或者降低毒性。随着生物技术的更新换代,用于真核生物的基因编辑手段也逐渐应用于肠道菌领域,对疾病的诊断与治疗带来新的希望。

4.1 肠道菌宏基因组测序

随着新一代测序(Next Generation Sequencing, NGS)技术方法的改进与成本降低,越来越多研究者选择 NGS 技术开展微生态的研究。相较于传统方法,NGS 测序技术具有高通量的特征,可以以此获取全部物种甚至他们基因组的信息,突破了微生物克隆培养技术的局限。目前 NGS 测序应用于肠道菌研究主要有两种:基于微生态细菌的 16S 核糖体 DNA 片段测序,以及基于微生态全基因组测序的宏基因组测序方法。

宏基因组测序法除了能够检测到物种以外,还可以获得物种的功能基因、代谢通路和网络等信息,而且由于当前研究所限,还有很多未知的信息尚待挖掘,随着研究深入这些信息不断被发掘。相比较而言,16S rRNA 测序只包含已知物种的信息。目前最常用的 NGS 平台是 Illumina 公司的 Hiseq 平台以及 Miseq 平台。这两个平台的性能不同,应用范围也不同:Miseq 更适合于较小数据量的研究(0.3 ~ 15 Gb),Reads 长度为 2×300 bp,适用于 16S rRNA 测序;Hiseq 平台更适合较大数据量的研究,Reads 长度为 2×150 bp,产出数据较多(125 ~ 1 500 Gb),适用于宏基因组测序。下面基于 Illumina 的 Hiseq 平台和 Miseq 平台阐述 16S rRNA 测序与宏基因组测序的原理和步骤。

通过宏基因组测序分析,不仅可以还原环境中的细菌、真菌和 DNA 病毒的组成,还能研究环境中基因的组成和功能,进而确定所有物种相互作用的代谢网络。

4.2 肠道菌基本遗传操作技术

随着肠道菌基因功能研究的深入,研究者们期望用微生物常用的遗传操作技术对特征性的肠道菌的基因组进行改造,赋予新的功能或者降低毒性。而肠道菌的分子遗传学研究主要集中在乳酸菌中。乳酸菌的遗传学研究始于 20 世纪 70 年代,随着分子遗传学研究不断发展,乳酸菌基因组以及质粒等相关基因的结构和功能被逐步阐明。而基因表达和敲除技术的建立,为进一步研究肠道菌重要的基因和蛋白质的功能奠定了基础。

4.3 肠道菌常用基因编辑技术

自 2013 年,基于成簇的规律间隔的短回文重复序列(CRISPR-Cas)系统开发的基因编辑技术成爆发性增长,并应用到生命科学的各个领域。研究者们利用 CRISPR-Cas 的核酸靶向特异性,开发了新一代的基因编辑技术,并应用于人类、植物、微生物中,带来了基因编辑研究领域的革命性突破。在肠道菌中开发和建立新的基因编辑技术可以加快对它们的研究和应用。2013 年,Jiang 等利用 CRISPR-Cas9 系统分别在肺炎链球菌和大肠杆菌中引入了精确突变,编辑效率分别为 100% 和 65%,这是首次利用 CRISPR-Cas 系统在细菌中实现基因组编辑的报道。目前基于 CRISPR 的基因编辑技术已被成功应用到多种肠道来源的微生物中,如大肠杆菌、艰难梭菌、铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌、干酪乳杆菌、嗜热链球菌等。随着科学家的不断深入研究,CRISPR-Cas 基因编辑技术正在逐步走向成熟和完善,相信在不远的未来,基因编辑技术会在人类生产和临床疾病治疗中发挥巨大的作用。

5 肠道菌代谢组学技术

代谢组学(metabolomics)是继基因组学和蛋白质组学之后发展起来的新兴组学技术,它

基于高通量分析技术和生物信息学,是系统生物学重要组成部分。近十年来在基础研究和临床应用领域取得了迅速的发展,被广泛应用到生命科学与医学研究的各个领域。代谢组学是分析体内小分子代谢物,即代谢组学和整个系统(基因组、转录组、蛋白组和代谢组)在某种状态下如何相互作用和影响。基因受表观遗传调控,蛋白质受翻译后修饰调控,但代谢物是生物化学活动的直接标志,进而更容易解释表型背后的机制。

目前国内外已有多个团队将代谢组学应用到肠道微生物研究中,发现了多个由肠道菌群介导的内源性小分子化合物代谢异常从而加快疾病进展。Michael A. Fischbach 和 Justin L. Sonnenburg 团队集中研究了在意大利和西班牙招募的 56 名病态肥胖、体重稳定、无糖尿病,并且表现出不同程度脂肪变性女性的宏基因组和代谢组学,该研究揭示了连接肠道微生物群和宿主表型与脂肪肝的分子网络。脂肪变形患者的微生物基因丰富度较低,与肠道内的 *Proteobacteria*, *Actinobacteria* 和 *Verrucomicrobia* 水平呈正相关。对粪便代谢组的分析表明支链氨基酸,芳香族氨基酸以及苯乙酸的增加与脂肪变性密切相关,苯乙酸为芳香族氨基酸的肠道微生物代谢产物。通过粪菌移植和苯乙酸的长期治疗,作者进一步证实了肠道微生物和苯乙酸对脂肪变性的影响。饮食对肠道菌群组成的形成起着重要作用,同时也决定着影响宿主肠道微生物代谢产物的种类。来自意大利和爱尔兰的研究团队为了研究地中海饮食的潜在益处,评估了 153 个意大利人中与饮食习惯相关的肠道微生物群和代谢组。结果表明食用蔬菜类食物与粪便短链脂肪酸、普雷沃菌和一些纤维降解性硬壁菌的含量增加之间存在显著的相关性,相反,没有坚持地中海饮食的个体中,尿中三甲胺氧化物水平较高。Weiqing Wang 研究团队将全基因组关联研究和血清代谢组学分析相结合,对不同胖瘦程度的年轻中国人进行分析,作者鉴定出一些与肥胖相关的肠道微生物种类和血液循环中的代谢物变化有关。在肥胖人群中,*Bacteroides thetaiotaomicron* 的丰

度显著降低,并且与血清谷氨酸浓度呈负相关。*Bacteroides thetaiotaomicron* 是谷氨酸发酵共生类杆菌。灌胃给予 *Bacteroides thetaiotaomicron* 能降低血浆谷氨酸浓度,减轻饮食诱导的小鼠体重增加和肥胖。此外,通过减肥手术诱导的体重减少可以部分逆转与肥胖相关的肠道微生物以及代谢改变,包括降血糖素和血清谷氨酸浓度升高。该研究结果确定了肠道微生物群改变、循环氨基酸和肥胖之间的联系,表明可能通过靶向肠道微生物群来干预肥胖。

肠道菌群代谢组学除发现疾病与菌群相关生物标志物外,还可用于某些疾病的早期诊断,其原理同样基于菌群与机体相互作用导致的菌群代谢产物含量的变化。结直肠癌的疾病进展与肠道菌群的结构与功能密切相关,近期有研究者发现肠道菌群结构及代谢物可用于结直肠癌的病变诊断。616 位参与者接受结肠镜检查,发现多发性息肉样腺瘤、粘膜内癌等中粪便微生物组组成和代谢组的变化显著;包括 *Atopobium parvulum* 和 *Actinomyces odontolyticus* 在粘膜内瘤中同时出现,且在多发性息肉腺瘤和/或粘膜内癌病理条件下显著增加;同时,粘膜内癌患者粪便肠道菌群中,内源性代谢物支链氨基酸和苯基丙氨酸增加,脱氧胆酸等胆汁酸在多发性息肉腺瘤和/或粘膜内癌患者中显著增加。

同时,肠道菌群代谢组学可以通过其自身优势与其他技术相结合,有助于梳理肠道微生物群落的微生物生物化学变化。基于数据挖掘工具,“代谢物注释与基因整合”(Metabolite Annotation and Gene Integration, MAGI)的网络工具被开发出来。其利用已知的生化途径生成代谢物——基因关联评分,有帮助将基因遗传序列与代谢组学数据关联起来。在实际研究中,代谢物的识别及基因序列的注释同样极具挑战性,通过 MAGI 工具,可以将代谢组学和基因组数据组合,有助于识别代谢产物和基因。

代谢组学技术的应用开阔了肠道菌群研究的前景,将内源性代谢物与肠道菌群生物学功能相结合,有利于研究者了解肠道菌群代谢组在宿

主-菌群相互作用中的功能。同时,加深研究者对人类疾病的深入理解,有助于药物研发及新型治疗手段的开发,具有深远的研究价值。

6 肠道菌与药物相互作用的研究与应用

肠道微生物由大约 $10^{13} \sim 10^{14}$ 细菌等微生物组成,它们与宿主之间存在共生双向交流关系。口服药物经过口服进入肠道,与肠道菌发生相互作用,即可能改变药物性质,也可能调节了肠道细菌功能,从而发挥治疗效果。

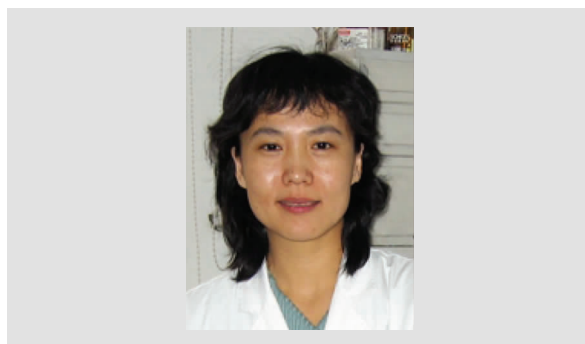
中药或天然药物大多数以口服途径在体内产生疗效,而这些源自于结构类型多样的天然药物(如生物碱、黄酮、皂苷、多糖等),普遍存在疗效确切而口服生物利用度低的特性,难以解释其疗效。因此,肠道菌作为口服药物代谢过程中至关重要的一环,势必将影响药物在体内的过程及作用机制。基于天然药物与肠道菌相互作用的技术体系,已经发现肠道菌的羧酸酯酶将芍药内酯苷转化为苯甲酸,苯甲酸被吸收进入体循环并透过血脑屏障,抑制脑中 D-氨基酸氧化酶活性,改善脑功能,发挥抗抑郁作用。而小檗碱(BBR)是具有显著优势的多靶点口服后的血浆药物浓度非常低,小檗碱在肠道的吸收以及纠正糖脂代谢紊乱的疗效均与肠道菌的调控密切相关。基于小檗碱药代动力学研究结果,肠道菌介导的药物 PK-PD 新模式被提出。这种新模式可能为发现安全、有效药物(难吸收)并阐明其作用机制提供了研究依据。

7 展 望

长久以来,肠道在维持体内稳态方面发挥着不可忽视的作用。肠道菌群的个性化管理将成为未来慢性疾病个体化医疗的趋势。肠道菌与药物相互作用的技术体系涵盖了肠道菌介导的药物代谢-药效研究领域的多个学科交叉的前沿技术,包括宏基因组测序技术、多组学与生物信息学技术、粪菌移植技术、肠道菌内源性代谢产物鉴定与定量分析技术等运用。这些前沿分析技术的研究与运用,必将

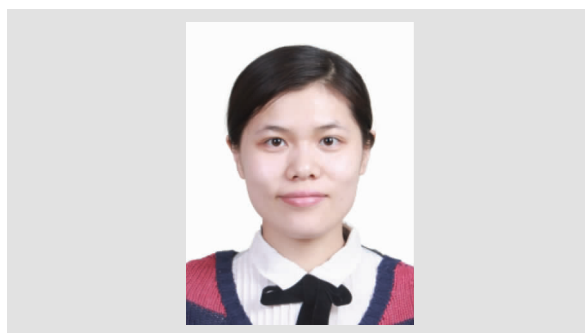
有益于肠道菌越来越多的生物标志物(特征菌或代谢酶等)探索与发现,以实现药物在临床上对疾病尤其对慢病患者的个性化治疗。

韩珮,潘利斌,彭冉,于航,王琰
(中国医学科学院药物研究所)



王琰,博士,教授,博士生导师,中国医学科学院、北京协和医学院药物研究所药物代谢室副主任,“创新药物非临床药物代谢及 PK/PD 研究”北京市重点实验室副主任。担任中国药学会药物分析专业委员会副主任委员,中国药理学会药物代谢专业委员会副主任委员,北京药物代谢专业委员会副主任委员。

长期从事天然药物代谢转化、代谢动力学与药物分析等研究。近年来,致力于开展基于肠道菌的药物药理学研究,探索肠道菌作用下药物的代谢转化及分子机制,并建立了天然药物与肠道菌相互作用研究的技术平台,也开展多肽探针靶向早期结直肠癌诊断关键分子的鉴定及临床应用等。



韩珮,博士,2018年毕业于英国伦敦大学国王学院,获得哲学博士学位。现工作于中国医学科学院/北京协和医学院药物研究所王琰研究员课题组。主要研究方向为代谢组学在中医药中的应用。近五年来以第一作者发表 SCI 论文 5 篇,主持北京协和医学院“中央高校基本科研业务费”1 项,参与国家自然科学基金面上项目 1 项。



中国药学会药物分析专业委员会简介

中国药学会药物分析专业委员会（以下简称药分专委会）是在中国药学会领导下的学术分支机构。药分专委会委员由全国药物分析领域知名专家、学者中遴选并组成。药分专委会的宗旨是团结和组织广大药物分析工作者，推动和促进药物分析学科的全面发展以及分析新技术、新方法的迅速推广。

药分专委会在中国药学会的领导和支持下，组织国内外药物分析学术交流；举办学习班、研讨班，推广药物分析新成果和新技术；发展与世界各国和地区药物分析相关专业团体、药学工作者的友好交往与合作；编辑出版发行药物分析学术、技术、信息、科普等各类期刊，组织编写药物分析图书资料等；举荐优秀药物分析科技人才，依照有关规定经批准，表彰奖励优秀药物分析科技工作者；反映会员和药物分析工作者的意见和建议，维护其合法权益。药分专委会在广大同仁的共同努力下，取得了一定成绩，迄今为止，专委会已组织召开、参与国内外会议40余次，参与学术研究项目多项，创办的《Journal of Pharmaceutical Analysis》已成功被SCIE收录，影响因子为4.440。

药分专委会实行委员制，现有委员56名，主任委员为马双成研究员，副主任委员为王琰研究员、王嗣岑教授、陈桂良主任药师、林金明教授和李绍平教授。委员人选按照章程选举产生，任期4年。为了进一步加强队伍建设，充分发挥委员的主体作用，推动委员履职服务管理的制度化、规范化，药分专委会于2017年拟定了《中国药学会药物分析专业委员会管理办法》。中国特色社会主义进入新时代，药分专委会将认真贯彻落实习近平主席新时代中国特色社会主义思想 and 党的十九大精神，在中国药学会坚强领导下，广泛团结和动员广大药物分析工作者，认真履行专委会的职责，不忘初心，牢记使命，为推动我国药物分析学科的全面发展贡献力量。

中国药学会第九届药物分析专业委员会

主任委员、副主任委员、委员名单

主任委员：马双成

副主任委员：王琰 王嗣岑 陈桂良 林金明 李绍平

委员（56名，按姓氏笔画排序）

马双成	王巧	王柯	王琰	王璇	王淑红	王嗣岑	甘勇强	卢建忠	白政忠	刘永利	刘亚蓉
孙磊	孙立新	孙苓苓	李军	李军	李文兰	李青翠	李绍平	李振国	杨蕾	何兰	余露山
狄斌	张亚中	张俊清	张真庆	张尊建	陈子林	陈立亚	陈桂良	陈笑艳	林彤	林永强	林金明
罗卓雅	罗跃华	周婷婷	赵新锋	胡泽平	俞辉	姜红	姜建国	利娅	洪战英	袁耀佐	顾景凯
徐飞	凌笑梅	高磊	陶巧凤	曹玲	傅强	曾令高	魏为力				

“科技为民 奋斗有我” 中国药学会2020年“全国科技工作者日”主题活动 网络直播成功举办



中国药学会理事长孙咸泽开幕致辞

5月30日，中国药学会主办的以“科技为民 奋斗有我”为主题的网络直播活动在新华网举办，多名院士、专家、科技工作者和志愿者相聚共同庆祝第四个“全国科技工作者日”。本次活动是中国药学会落实中国科协有关“全国科技工作者日”活动的要求，于2020年5月30日第四个“全国科技工作者日”组织开展的系列活动之一。

中国药学会理事长孙咸泽在致辞中表示，中国药学会作为药学科技工作者的家园，将不断加强与科技工作者的联系和服务，更加重视科技工作和人才队伍建设，为科技工作者创新创业排忧解难，并将推动建立健全公共卫生体系，积极助力开展新时代爱国卫生运动，大力开展健康知识普及，倡导文明健康、绿色环保的生活方式，为健康中国建设贡献我们的力量。

中国药学会副理事长兼秘书长丁丽霞在科技志愿服务工作交流中表示，希望广大药学科技工作者、药学科技服务组织立足新时代，展现新作为，继续弘扬“奉献、友爱、互助、进步”的志愿精神，积极参与到志愿者服务工作中来。中国药学会将不断提高能力和水平，切实把学会办成药学科技工作者之家，让更多的药学科技工作者汇入志愿服务的洪流，用奋斗为青春增添更加绚丽的色彩，以实际行动提高公民健康科学素养水平！

活动中，中国药学会副理事长、中国工程院院士、中国中医科学院院长黄璐琦，中国药学会监事长、中国科学院院士陈凯先，国际药学联合会多米尼克·乔丹主席，华中科技大学同济医学院附属协和医院党委书记张玉，北京大学第三医院药剂科主任赵荣生，空军军医大学西京医院药学部主任王婧雯，四川人民医院药学部主任药师杨勇，山西医科大学第二医院药学部主任侯锐钢分别围绕“爱国、创新、求实、奉献、协同、育人”为核心的科学家精神思想，以抗击新型冠状病毒肺炎为主要内容，展开了系列主题报告。河南省药学会副理事长兼秘书长史艳玲、中国食品药品检定研究院副研究员康帅、河北医科大学大学生志愿者武婷婷分别围绕“奉献社会 支撑发展”和“研当以报效国家为己任，学必以服务人民为荣光”主题，结合实际开展情况，进行了志愿者经验交流。中国药学会副理事长张晓东宣读了《关于表扬中国药学会2020年“优秀科技志愿服务队”和“优秀科技志愿者”的通知》。会上通过《战疫有我，药师同行》《药师志愿，无私奉献》《中国药学会科技志愿者宣读倡议书》三个视频，展现了新时代药学科技工作者和志愿者的责任、担当与风采。



中国药学会副理事长兼秘书长丁丽霞主题发言

此次活动是深入贯彻落实习近平新时代中国特色社会主义思想，紧紧围绕党中央重大决策部署，为科技工作者献上诚挚节日祝福的实际行动，增强了科技工作者自豪感、获得感、认同感，打造了节日品牌。



中国药学会副理事长张晓东宣读表扬通知



中国药学会科技志愿者合影

中国药学会科技志愿者倡议书

为弘扬“奉献、友爱、互助、进步”的志愿服务精神，中国药学会倡议：所有致力于药学公益事业的科技工作者，加入中国药学会科技志愿者队伍，践行志愿精神，投身志愿服务。

让我们携起手来，释放科学的激情，点燃公益的火花，绽放“互相帮助、助人自助”的关爱情怀。这里有健康的企盼，这里有生命的温情，这里有社会的感动。您的加入，将使志愿者行动多一分智慧、多一分力量、多一分辉煌；您的加入，奉献了一份爱心，升华了一颗心灵，精彩了一个人生。

让我们行动起来，从我做起，从现在做起，为了公众健康，积极参加药学志愿服务活动，传递温暖爱心，传播社会文明，展示出药学科技志愿者的时代风采！