# 药物分析技术:

# 药品质控"督察员"

■本报记者 李惠钰

因与生命息息相关,药品质量备受关注。

不过,近年来随着生命科学、生物学及光 谱分析、色谱分析等多种分析技术的发展,药 物分析技术因其能够对制药过程、生物体内代 谢过程进行综合评价,逐渐成为控制药品质量 的"督察员"

在日前召开的药物分析创新发展战略论坛 上,《中国科学报》记者了解到,由于药物的化学 成分十分复杂,中药分析一直是项难度很高的工 作。为避免中药研究走入"盲人摸象"的表象误 区,采用指纹图谱药物分析技术为中药制品贴上 "化学条形码",成为中药质控的"金标准"。

#### 囊括药品全产业链

可以说,哪里有药物,哪里就有药物分析。 因为,药物分析所涉及的研究范围包括药 物质量控制、临床药学、中药与天然药物分析、 药物代谢分析、法医毒物分析、兴奋剂检测和 药物制剂分析、创新药物研究及药品上市后评

浙江大学药学院教授曾苏表示,对于传统的 药物分析来说,大多数是应用化学方法来分析药 物分子,从而控制药品质量。

然而,在现代新药、新剂型的开发研制中,研 究者需要更多地了解和提供药物在体内的各种 信息,包括药物的吸收、分布、代谢和排泄等。

面对新的问题和挑战,药物分析技术不能仅 局限于对药物进行静态的质量控制,还要对生物 体内和代谢过程进行综合评价和动态分析研究。 如今,随着生命科学、计算机技术等学科壁

垒不断被打破,现代药物分析无论是分析领域还 是分析技术都已经大大拓展 例如,手性色谱学、高效毛细管电泳、色谱与

光谱联用、色谱与质谱联用、近红外光谱以及计 算机辅助药物分析等,这些新技术使得药物分析 更加地自动化、智能化和微量化。

不过,在清华大学化学系教授罗国安看来, 药物分析最为突出的贡献还是通过指纹图谱来 解决中药质量标准化的问题。

#### 指纹图谱促中药现代化

正如世界上几乎没有相同的指纹一样,每一 味中药的特性和有效成分也千差万别。而借助计



药物分析技术能够对制药过程、生物体内代谢过程进行综合评价。

图片来源:www.tplrn123.com

算机和现代分析技术,可以将中药的特性及有效 成分采用图谱的形式描绘出来,使得每味中药都 拥有如人的指纹一样的标准图谱,这就是中药指 纹图谱。

比较中国药典 2000 年版、2005 年版和 2010 年版可以看出,现代中药的信息表达已经由原来 的指标成分分析模式发展到整体指纹图谱定性 与多指标成分定量测定相结合的模式。

这一转变在 2010 年版药典中体现得最为明

例如,复方丹参滴丸、天舒胶囊等中成药;三 七总皂苷、丹参总酚酸等提取物,它们的指纹图 谱都已经录入药典,而且指纹图谱的各个参数, 包括相似度最低限度也均有了详细规定。

"中药是一个十分复杂的体系,其成分研究 过去多采取植物化学分离的方法, 但工作量极 大,而且与中药整体性的特征不符,难以代表中 药的整体作用。"罗国安对《中国科学报》记者表 示,为避免中药研究出现"盲人摸象"的现象,就 应该用整体表征与局部特征相结合的标准体系 来体现中药的质量。

也正因为此,中药分析便引入了指纹图谱理 念,用"数据"来体现中医药的科学性。

他解释称,中药指纹图谱是目前国内外广泛

接受的一种中药质量评价模式,它是借用 DNA 指纹图谱的概念发展而来,可以用来进行药材的 种属鉴定、植物分类研究和品质研究,是中药信 息表达的一种最重要、最基本的模式。

以中药药理学专家、中国工程院院士李连达 的临床经验方——中药复方双龙方为例,罗国安 的研究团队通过利用指纹图谱技术对药物指纹 鉴定后发现,此方中的整体化学物质组共有83 种成分,但大部分的成分作用都不明确。

经过对一组组药物作用基因表达谱和定量 测定结果对比图表、蛋白质组表达谱和代谢物谱 等数据的鉴别筛选后,研究团队分析到有两大类 成分对疗效可以产生作用。经进一步优化精简, 他们将其中10个成分入药,对药物再进行定量 和生产控制后得到了"创新"后的中药成药。

罗国安称,随着药物分析技术的不断进展, 指纹图谱技术也得到了飞速的发展,出现了多维 多息指纹图谱、多波长指纹图谱、指纹图谱融合 技术、2D 指纹图谱以及在线指纹图谱等新的技 术和方法。

#### 加大国产仪器研发力度

罗国安表示,药物分析科学的目标就是针对 药学领域中药物源头发现、药物开发、质量评价、 生产控制和临床合理用药监测及上市后再评价 等全过程链的重大科学问题,综合运用分析化学 各分支领域的各种方法和手段,发展药物分析的 新理论、新方法、新仪器、新技术

曾苏也表示,未来药物分析应集成药学、化 学、生物学和仪器工程学等的新理论新方法,发 展药物成分分析和药物活性分析方法及相关技 术,深入新药研发、药物制造和药品临床使用的 各个环节,保证药品获得最大疗效和安全性。

另外,他还表示,应用现代分析技术和方法 研究药物作用于机体产生的效应及其作用机理, 也是药物分析学又一个正在拓展的领域。

但技术发展的同时,药物分析也进入了一个 高度依赖分析工具与信息系统的新阶段。可问题 是,我国几乎所有使用的药物分析仪器全都依赖 进口,这也在一定程度上成为科研的"跛脚"。

为此,罗国安及其他业内人士呼吁,国家应 该在国产药物分析仪器上加大支持力度。因为只 有掌握了最先进的科学仪器研发技术,才能掌握 科技发展的主动权。

## 【农业动态

近日,英国曼彻斯特大学的研究 团队发现植物细胞生长方向的重要调 控机制。他们论证了植物细胞骨架如 何进行调控从而产生截然不同的形 态,使植物细胞按照特定的指示方向 来生长。

对于许多植物细胞,如根部或茎 部的细胞,它们需要以特定的指示来 扩大,以便促使植物的正常发育,有些 植物细胞甚至可以扩大至原来大小的 1000倍。而这一细胞扩大过程的关键 则是纤维素的分布,通过强大的复合 形成了大部分的植物细胞壁

植

物

胞

向

调

机

科研人员发现,一种被称为微管 系统的细胞蛋白骨架, 可以通过形成 它们布局的轨道,来引导植物细胞壁 中纤维素的位置,从而决定它们的结 构。之前的研究表明,微管会进行有序 排列,而无序排列的微管则会被一种 "剑蛋白酶"切除。

研究表明,一种被称为 SPIRAL2 (SPR2)的蛋白还能够调节微管切除 的时间和地点。基于植物 SPR2 的微 管组织结构存在两种形态,一是保持 静止,防止剑蛋白酶切割;二是沿着微 管暴露于剑蛋白酶的区域移动切割, 形成有序排列的微管。这也是首个被 发现的调节剑蛋白酶切割微管时间和 地点,并决定微管结构的植物蛋白。

"这项研究解决了细胞生长和微管 形态中的重要基础问题,从而让我们具 备预测改变微管结构的潜力。"曼彻斯 特大学教授,科研团队带头人西蒙·特纳说。

他表示,未来,这项研究可能使我们能够操 纵植物的发展,并创造更有效率的花冠或更强 更短的茎。它也可能提供一种提高植物生物量 的手段,从而提高作物产量。另外,也能够探索 可能有开发高产农作物或增加用于生物燃料的 植物种植面积的大小的潜力,从而生成用于生 物质能产品所需要的材料。 (李木子编译)



图片来源: 昵图网

#### ∥简讯

#### 跨学科蛋白质研究学术讨论会在合肥召开

本报讯 由中国生物化学与分子生物学会蛋 白质专业委员会主办、中国科学技术大学与安 徽大学承办,以"蛋白质与人类健康"为主题的 第四届全国"跨学科蛋白质研究"学术讨论会于 10 月 12 日 ~14 日在安徽合肥召开。

近几年,中国从事蛋白质科学的工作者有 不少令人振奋的研究成果。作为国内蛋白质科 学学科领域最全面、学术水平最高的学术会 议,此次会议集中展示了近年来我国蛋白质科 学研究的新成果, 也得到了蛋白质这一领域众 多同仁的倾力支持。中国科学院院士王志新、 王志珍、施蕴渝、隋森芳、李林,清华大学生命科 学学院院长施一公,北京大学生命科学学院教 授饶毅以及北京生命科学研究所所长王晓东 等在内的来自全国 40 多家单位的众多国际国 内知名学者参加了会议。

会议开幕式由秘书长李根喜主持。王志

新、王志珍以及中国科学技术大学副校长朱长 飞,蛋白质专业委员会主任、北京大学跨院系蛋 白质科学中心主任昌增益等分别致辞。

王志珍总结了蛋白质专业委员会自 2005 年 11 月 19 日举行成立筹备会议以来的近 10 年的详细发展历程。她强调蛋白质专业委员 会旨在促进蛋白质科学家之间跨学科的交流 和合作,以使中国蛋白质科研能从"跟踪"到 "引领"国际学术前沿。她期望学者们能崇尚 科学真理,远离"急功近利"和"浮躁",要发扬 "安、钻、迷"精神,潜心做学问和人才培养,坚 守学术道德, 遵从学术界的准则, 拒绝潜规 则。同时她也希望大家重视科学与艺术的结 合,提高社会责任感。

在此次学术会议期间,王志珍率领施一公、 昌增益等学者还赴合肥一中开展了科普活动。 (黄明明) ■聚焦生物仿制药

可比性和相似性这两个概念在生物仿制药领域经常被不加区分的使用。对 于生物仿制药研发企业而言,更大的挑战是如何充分利用这些技术证明其所仿 制的生物药与原研药是相似的。

# 生物仿制药的技术门槛有多高

生物仿制药技术门槛高至少表现在两大方面。 首先是有关生产、制造过程和工艺流程。在 产品生产过程中有多种因素可能会影响到生物 仿制药的质量,如分子设计、表达系统、细胞株类 型、翻译后修饰、不纯物和污染物、配方和辅料、 包装容器、生产过程中的蛋白降解等。

其次是对生物仿制药在质量、安全性和有效 性等方面进行分析检测、表征,需要在临床试验 前在蛋白的多种性质上和原研药参考品一致。

生物仿制药的表征分析,涉及许多生物化学 和生物物理技术,很难具体谈这些分析技术的细 节和难度,只能试图通过简要评论这些相关技术 手段来表述生物仿制药的门槛。

与化学药类似,对于生物药的评价,质量、安 全性和有效性是最重要的三方面,而质量又是安 全性和有效性的前提和基础。

对于生物药的质量方面,FDA认为治疗性蛋 白的三大方面的性质(即 PTM、蛋白高级结构和 蛋白聚集)对于评价蛋白药是非常重要的。

#### 蛋白的翻译后修饰

蛋白的翻译后修饰(PTM)有很多种,这些化 学变化大多是在细胞内发生,但是有些也可能发 生在生产的各个阶段,如纯化和储存过程。

现在的科学研究已经表明,蛋白的 PTM 会 影响蛋白的活性和免疫原性。蛋白的 PTM 还可 能会改变蛋白的结构进而引起聚集,从而进一步 影响蛋白的免疫原性。因此,需要对蛋白类药物 生产的各个阶段对蛋白质的 PTM 进行检测。

对于含有许多种蛋白质的复杂混合物(如有 些预防性疫苗)的一类蛋白药物,即使是采用蛋 白质组学技术,检测所有蛋白的 PTM 也是一个 非常大的挑战。对于单一成分的纯化蛋白药,其 PTM 的检测和监测则相对容易一些。

研究蛋白 PTM 的最有力的利器当是生物质 谱了。质谱在生物仿制药领域的应用近年来明显

的生物制药领域的应用。

#### 蛋白的高级结构

蛋白的高级结构是指蛋白的二级、三级和四 级结构,这些结构特性决定了蛋白的三维空间结 构,也进而最终决定了蛋白的功能和活性。因此, 比较生物仿制药(指蛋白药)和原研药的蛋白的 高级结构是证明两种药相似的重要手段。

X射线衍射和核磁共振(NMR)是公认的测 定蛋白质三维空间结构的两种最主要的技术。但 是,对于生物仿制药和原研药的结构相似性研 究,这两种技术都有很大的挑战。对于 X 射线衍 射而言,需要耗时较长的蛋白结晶过程和数据解 析过程,对于样品量较大的工业界而言,这显然 不能满足高通量的要求。而 NMR 不但价格昂 贵、灵敏度相对较低、数据分析耗时长,对于分析 分子量达 150 kDa 的大分子抗体药,也面临很大

另外,还有一些其他经典的生物物理技术 被用于表征蛋白的结构,如圆二色性谱、傅里 叶变换红外光谱、荧光光谱、差示扫描量热法、 分析超速离心、排阻色谱以及各种染料结合鉴 别技术等。这些技术最主要的限制就是只能检 测来自蛋白不同部位某一种总的信号。从这些 测定得到的信息只能得到生物药整个结构的总 的平均值。

比如对于圆二色性谱测定就只能表明某一 种主要的二级结构(α螺旋、折叠和无规卷曲) 的平均百分比。如果一个含有多个 α 螺旋结构 的蛋白, 其中只有一个 α 螺旋结构和另一蛋白 相比发生了变化,但是即使这一变化相对较大, 被另外不变的 α 螺旋平均以后,圆二色性谱所 能测到的变化也可能很小, 甚至没有可以测量出 的变化。所以这些经典生物物理技术不能用于检 测生物药很小的结构变化。

而更灵敏的技术则是氢氘交换质谱 (HDX-MS),这也进一步显示质谱技术在比较生 物仿制药和原研药结构方面的重要性。现代生物质 谱技术在生物药领域的应用已经远不止做蛋白质

鉴定、分子量测定、氨基酸序列测定,蛋白结构仅仅 是其新的多种应用的一个方面。

#### 蛋白聚集

蛋白聚集是蛋白药生产过程中很头疼的问题, 尤其是对于高浓度的蛋白溶液,很容易引起蛋白聚 集。单体蛋白的聚集过程可以是可逆的、也可能是 不可逆的,其聚集后的大小可以从二聚体到包含有 上万亿个蛋白单体的、肉眼就可看见的颗粒。

总的来说,蛋白聚集对于任何蛋白药都会是问 题。蛋白聚集不但会降低蛋白药的有效剂量,更大 的问题是可能会引起毒副作用和免疫反应,在有些 特别情况下,这些难以预料的副作用甚至可能是致 命的。正由于此,蛋白聚集必须被检测、定量和表征 用以比较生物仿制药和原研药。

由于简单、易用、廉价、快速、样品用量少等 特点,SEX-HPLC(排阻一高效液相色谱)是目前 检测蛋白聚集的最常用方法。当然,SEX-HPLC 也有自己的缺点,如较大的蛋白聚体可能在进样 上柱时就被除去,造成假阴性。这也进一步说明 没有任何一种十全十美的分析技术, 正是缘于 此,美国 FDA 建议生物仿制药研发企业不但检 测蛋白不同种性质,也建议采用多种技术检测同 一种性质,以尽量得到更全面的生物仿制药和原 研药可以比较的多种信息(如理化性质、生物活 性、免疫化学性质、纯度、不纯物和污染物等)。

值得一提的是,在生物仿制药领域有两个常用 且易于混淆的概念:可比性和相似性。国际人用药 注册技术协调会议(ICH)明确定义和限制可比性 是指同一家生产商所生产的原研药(包括批准上市 后阶段),在生产工艺变化(如放大)后,两种工艺所 生产的同一产品(当然不可能100%相同)的可比 性。而相似性则是生物仿制药生产商仿制的生物药 与原研药生产商制造的参考品相比较而言的。

但事实上,可比性和相似性这两个概念在生 物仿制药领域经常被不加区分地使用。对于生物 仿制药研发企业而言,更大的挑战是如何充分利 用这些技术证明其所仿制的生物药与原研药是 相似的(或高度相似的)。

## 他表示,中国生物工程学会成立以来,坚持以

中国生物工程学会成立 20 周年纪念活动在京举行

本报讯 10 月 17 日,纪念 DNA 双螺旋结 构发表 60 周年学术报告会暨中国生物工程学 会成立 20 周年纪念活动在京举行。中国科协副 主席、书记处书记陈章良,中国工程院副院长 旭日干等领导出席了大会。学术报告会由中国 生物工程学会副理事长高福主持。

中国生物工程学会理事长、中国工程院院 士欧阳平凯在大会致辞中指出,60年前,沃森 和克里克关于 DNA 双螺旋结构模型的发现, 使生命科学研究进入了分子生物学和细胞生 物学的新时代。随着体外重组技术、DNA 分子 克隆技术、单克隆抗体技术等为代表的现代生 物高技术连续取得重大突破,大大推动了生物 技术与生物产业发展的浪潮,现代生物技术正 改变着我们的世界。

"学术交流、科学普及、产业促进"为办会宗旨,致 力于加强学术建设,广泛开展学术交流,加强科普 与知识传播,推动了学科的交叉与融合,促使新思 想不断涌现,促进了年轻人才脱颖而出。

在学术报告会上,中国工程院院士杨胜利 作了题为《从 DNA 双螺旋到生物产业》的专题 报告。他介绍了自 DNA 双螺旋结构模型发现 以来现代生物技术的进展及其对人类生活的影 响,提出了基因工程在转化医学、分子诊断、合 成生物学、再生医学等前沿学科的应用。杨胜利 指出,生物技术已经进入了系统生物技术时代, 基于碳氢化合物的经济将转变为基于碳水化合 物的经济,物理学和化学时代正在转变为生物 学时代。 (包晓凤 黄明明)

#### 第十七届北京国际生物医药产业发展论坛召开

本报讯 10 月 21 日,由北京市科学技术委 员会等单位主办的第十七届北京国际生物医 药产业发展论坛在京召开

本届论坛以"跨界融合,生物医药发展的 新机遇"为主题,会聚全球创新资源,吸引了辉 瑞、默沙东、拜耳、先声药业、四环药业等国内外 众多知名企业,共同探讨创新驱动生物医药产

"技术融合,模式跨界"

论坛还围绕"大数据时代的医药产业创新" "国际药品研发的药审要求及注册"、"金融助推 G20 工程创新发展"、"京区生物医药资源对接"、 "抗体产业发展"、"医疗器械企业发展策略"、"三 小时创新合作"等召开专题研讨会。 (王庆)

业跨越发展的重大命题,力推生物医药领域的

增多,但是由于生物质谱价格昂贵,动辄就是几 十万美元,高端点的售价基本都在50万美元以 上,这也限制了生物质谱在包括生物仿制药在内