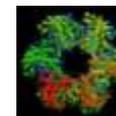
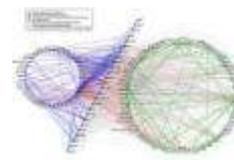
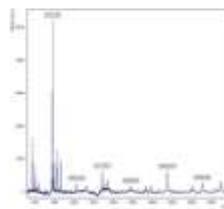




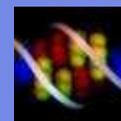
集成多種前沿技術 研究中藥質量及篩選創新藥物

劉良

澳門科技大學副校長、講座教授
中藥質量研究國家重點實驗室(澳科大)主任



一、國家重點實驗室的成立



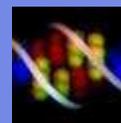
- 與北京大學天然藥物及仿生藥物國家重點實驗室的夥伴實驗室
- 2011年1月25日正式掛牌，開始進入建設期(二年)



图 1. 澳门特首崔世安博士、国家科技部曹健林副部长等为中医药国家重点实验室揭牌



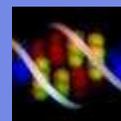
二、實驗室建設思路與策略



- 一個“目標”
 - 成為能夠代表國家水平的中藥質量與創新藥物研究綜合實驗室
- 兩大“方向”
 - 中藥質量控制與評價的創新技術、方法和標準研究
 - 創新藥物研發
- 三個“注重”
 - 注重集成多學科的前沿技術，建立適合中藥質量和創新藥物研究的技術平臺
 - 注重技術和產品創新，獲取具有自主知識產權的研究成果
 - 注重培育創新型的複合知識結構人才



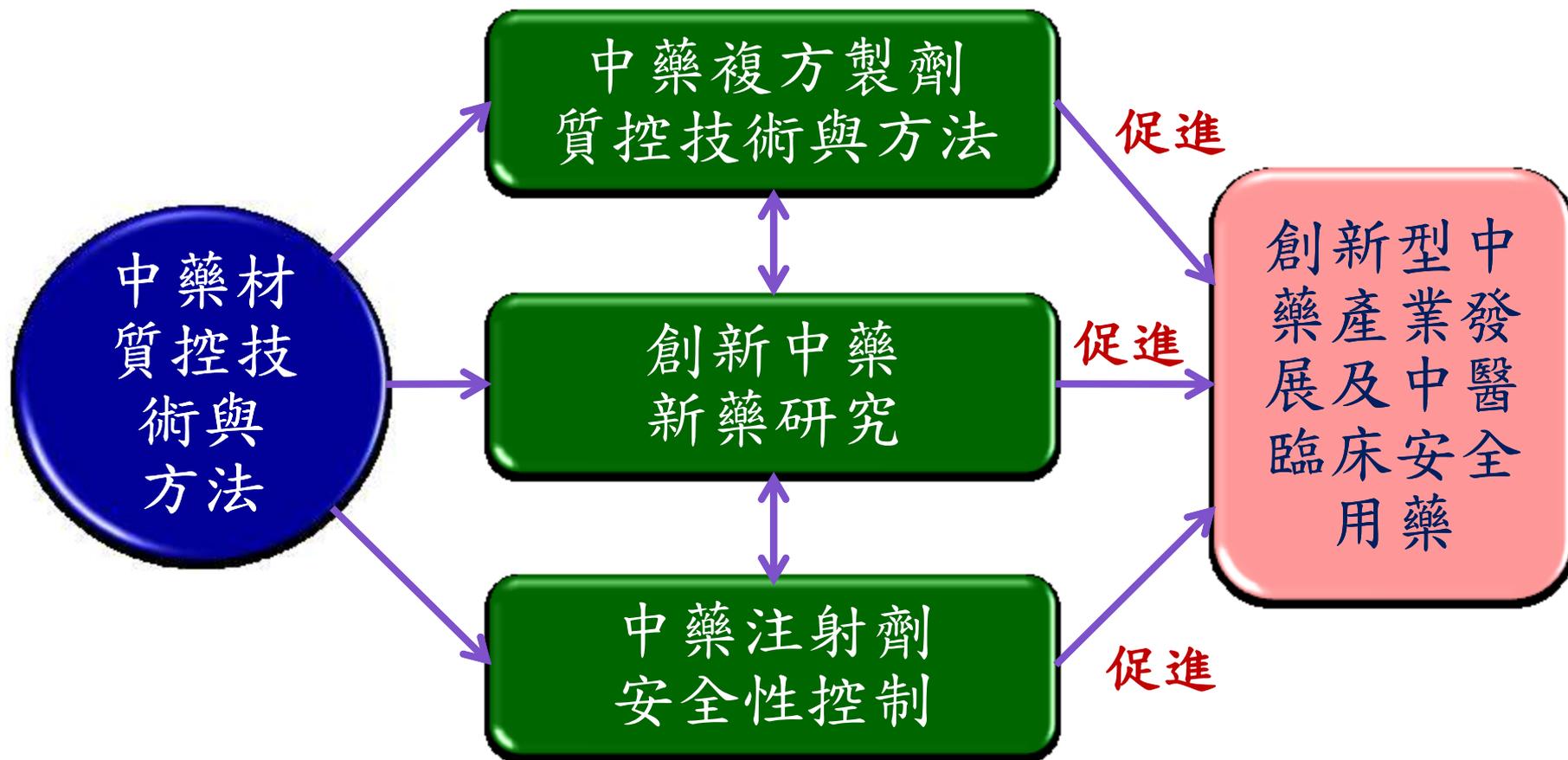
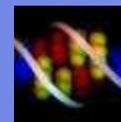
二、實驗室建設思路與策略



- **四個“重點”**
 - 貴重與特色中藥材質量控制的關鍵技術研究
 - 複方中藥製劑的質量控制技術與標準研究
 - 中藥注射劑的質量控制與安全用藥研究
 - 抗炎及抗癌新藥研發
- **五個“到位”**
 - 研究團隊人才到位
 - 研究條件與設備到位
 - 研究課題到位
 - 開放及合作到位
 - 管理機制到位

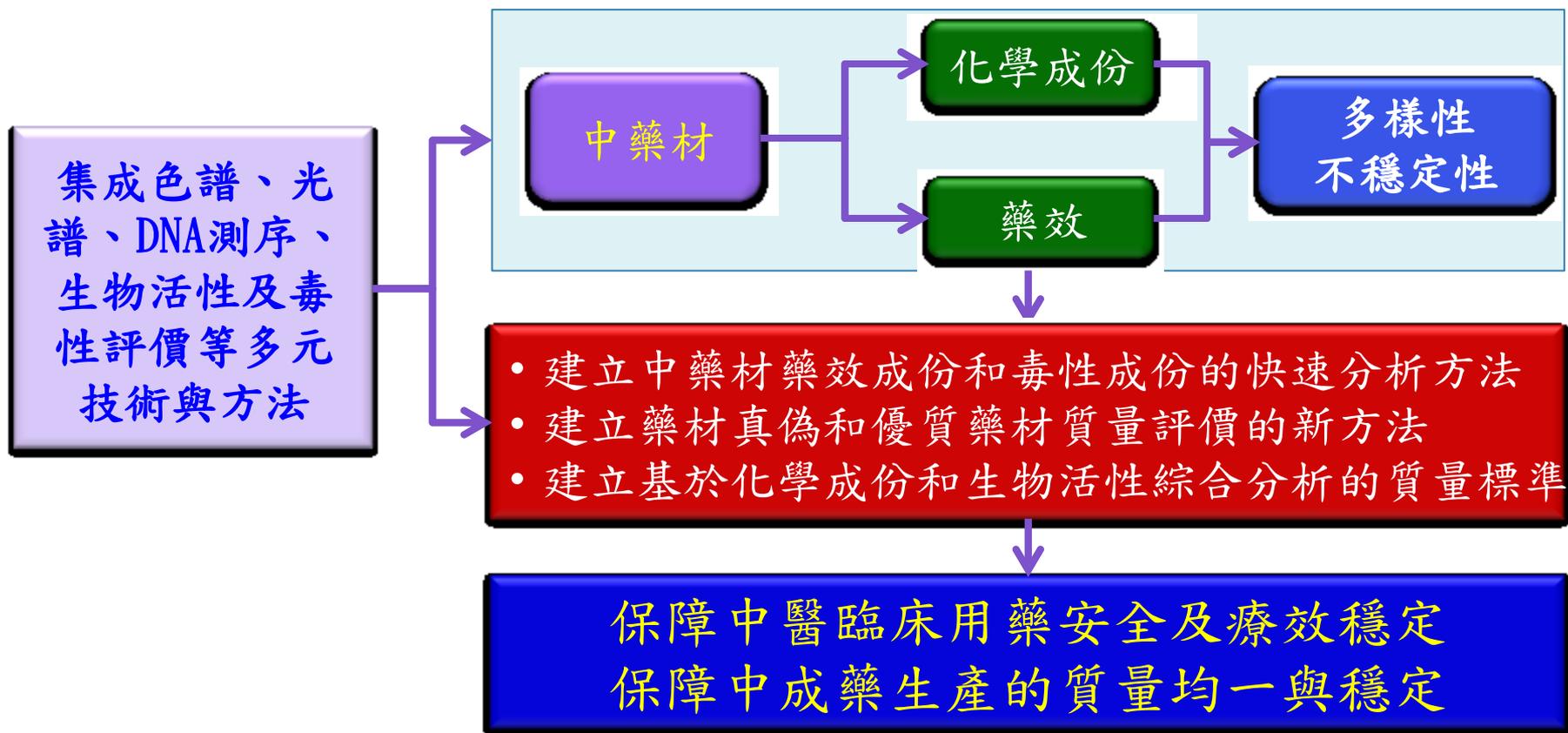


三、研究目標

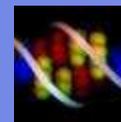




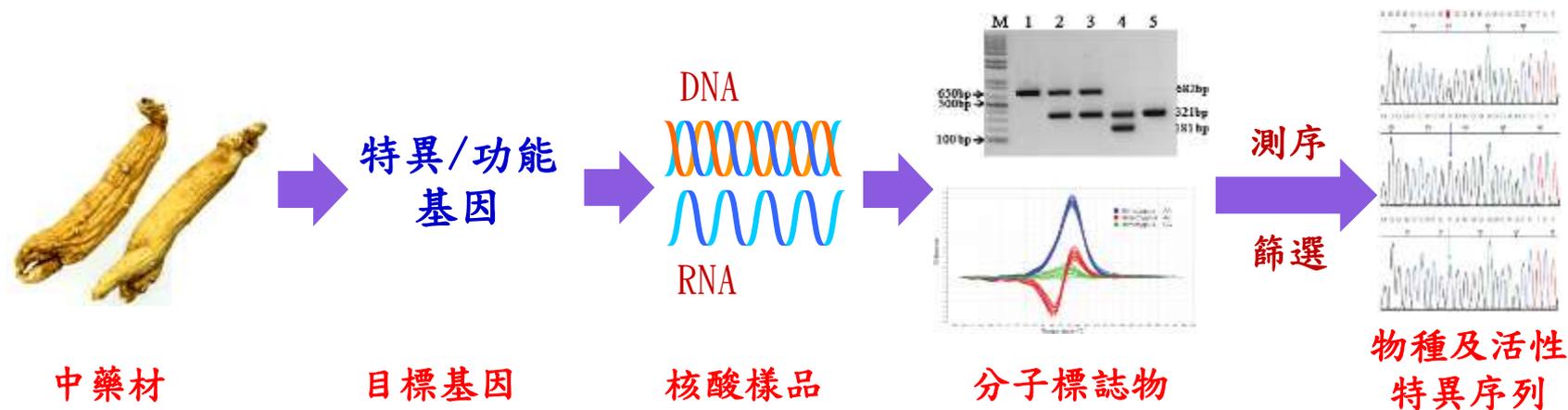
◆ 關鍵問題和技術難點



四、重點領域：中藥材質量控制方法和質量標準



◆ 建立生物活性為導向的基因條碼技術，鑒定藥材真偽及優劣



方法學特點：

- 結果的特異性高
- 序列標準化
- 序列通用性
- 操作易於自動化



條碼

特異序列檢測

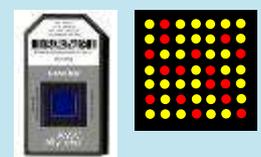
```

ATTAAGAATG TGGAAACAGA
AGGTTGCTCA AGGAAATGAT
CCATATTTGT ATAGCACTAA
CAACTTTGTT GGCAGACAAT
ATTGGGAGTT TCAGCCCGAT
GCTGGTACTC CAGAAGAGAG
GGAAGAGGTT GAAAAAGCAC
GCAAGGATTA TGTAAACAAT
AAGAAGCTAC ATGGAATTC
TCCATGCAGT GATATGCTGA
TGGCAGGCA GCTTATTAAA
GAAAGTGGAA TCGATCTCCT
    
```



測序儀

檢測平臺



基因晶片

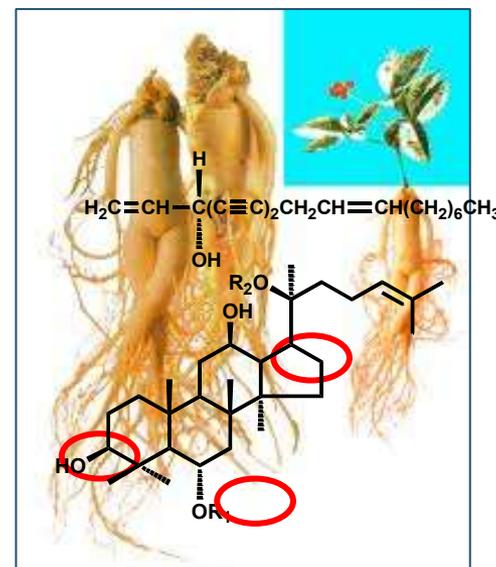


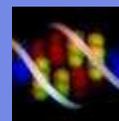
◆ 建立中藥多維化學成份綜合分析的質量控制方法與技術

◆ 藥材化學成份的特點

- 成份類型多樣
 - » 黃酮，生物鹼，多酚，皂苷，香豆素等
- 結構變化複雜
 - » 羥基位置，糖鏈組成、數目、位置，醯基化等
- 物理化學性質迥異
 - » 脂溶性、水溶性、酸性、鹼性等
- 含量差異顯著
 - » 含量差異可能達上百倍

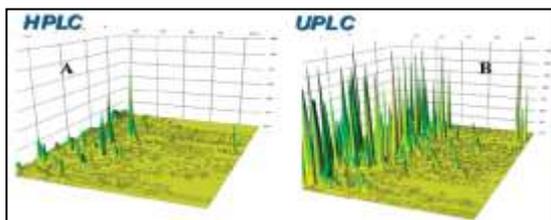
- ◆ 對中藥化學成份多維性的充分認識，是對中藥材及其製成品進行合理的質量控制與評價的前提





◆ 集成多元前沿化學分析技術，綜合分析中藥多維化學成份

高效多元的色譜分離技術



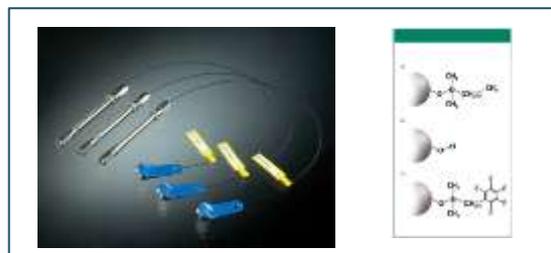
UPLC 色譜分離

- 超高效分離
- 更短分離時間
- 檢測更靈敏



2D-Nano-LC-Chip

- 超高效分離
- 更短分離時間
- 檢測更靈敏



不同分離機制的色譜柱

- C4, C8, C18
- HLIIC 親水性層析柱
- Amide 柱等

普適、靈敏的定性及定量檢測與分析



UPLC/QTOF 串聯質譜

- 超高精確度全掃描
- 數據庫檢索
- 高精確度二級目標離子掃描
- 適用於各種化學成份



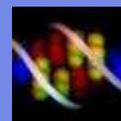
UPLC/QQQ 串聯質譜

- 高靈敏度測定
- 寬動態範圍
- 適用於各種化學成份



LC/NMR 聯用

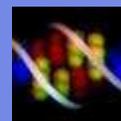
- 高效在綫分離
- 在流模式直接檢測
- 停留模式綫上富集後檢測
- 1D/2D NMR
- 適用於各種化學成份



◆ 重點研究的化學成份

- ◆ 名貴中藥材中微量活性成份
- ◆ 水溶性/極性成份
 - 醇苷，小分子酸、鹼成份
 - 結合型天然產物：氨基酸、葡萄糖醛酸及硫酸結合物等
 - 動物藥特徵性成份：核苷、季胺類成份、多肽及寡肽等
- ◆ 低極性脂溶性成份
 - 甾醇，非常見脂肪酸，鞘脂和磷脂類等
- ◆ 嶺南特色藥用植物中多酚類成份及獨特結構類型成份
 - 可水解鞣質，縮合鞣質及咖啡鞣質等
- ◆ 毒性藥材中毒性成份的同系物及前體化合物

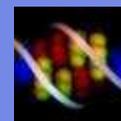
上述各類化學成份是傳統中藥質量
控制研究中的“盲點”



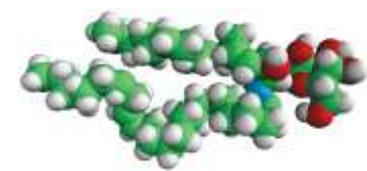
- ◆ 建立脂組學及糖/糖肽組學前沿創新技術，以化學與活性評價相結合方法，評價藥材質量
 - ◆ 中藥對慢性、重大難治性疾病獨特的療效
 - 獨特的藥物作用方式：多途徑、多環節、雙向調節
 - 獨特的作用機理：對體內代謝的整合性調整、對免疫系統的雙向調節和對體內大分子功能的調控等
 - 難以沿用傳統的藥理學的研究方法進行透徹的表達和闡明
 - ◆ 系統生物學的組學技術與方法，最適合於評價與研究中藥獨特的整體性調節作用機理
 - 創新的脂組學與糖/糖肽組學技術平臺

“If there is any technology that could lead to a breakthrough in traditional Chinese medicine, it will be systems biology.” – *NATURE* | Vol 448 | 12 July 2007





◆ 建立創新脂組學分析前沿技術



□ 策略：全面地精細的分析

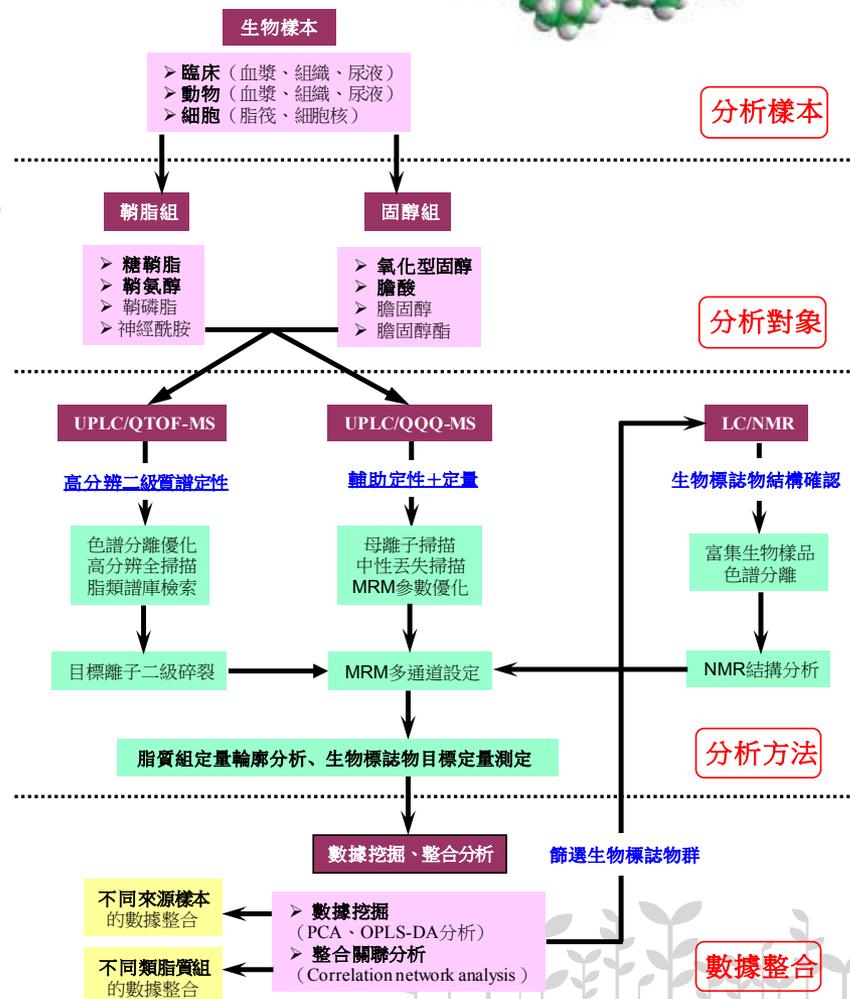
- 樣品：細胞→動物→臨床
- 分析方法：多種LC-MS結合LC-NMR

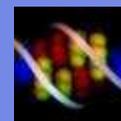
□ 技術：靈敏、特異的分析

- 亞細胞分離
- 特定脂質提取
- 多種LC-MS結合使用
- 數據統計分析
- LC-NMR鑒定關鍵脂代謝產物

□ 應用：中藥的活性評價

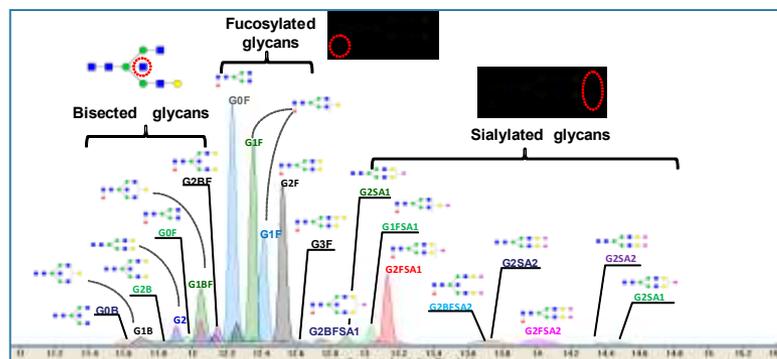
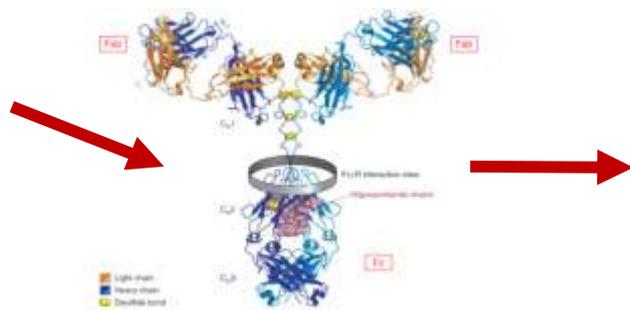
- 靈敏
- 無損傷
- 連續動態



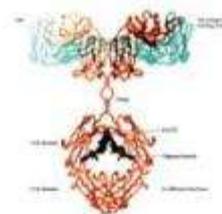


◆ 糖/糖肽組學前沿創新技術

中藥



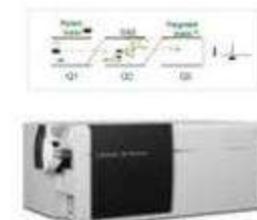
對蛋白質糖基化修飾的調節是中藥的潛在作用機制之一



IgG



Glycopeptides



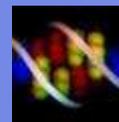
Isolation of IgG from Human Plasma

Trypsin Digestion

LC-MS Analysis

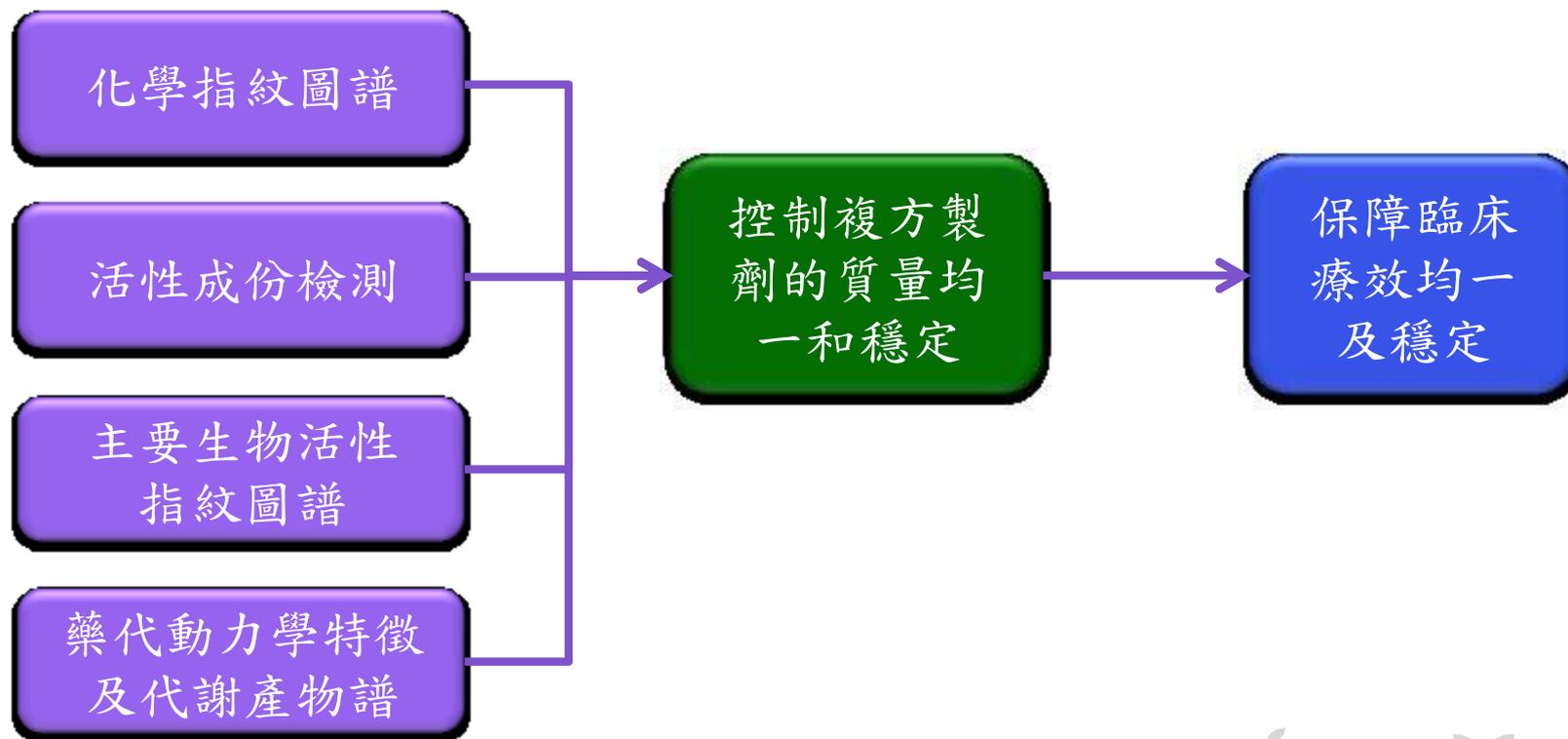
MRM Analysis

基於LC-MS的糖/糖肽組學的技术平臺

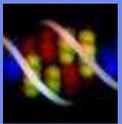


◆ 關鍵技術：

控制中藥複方製劑化學成份及其藥效的多樣性和不穩定性



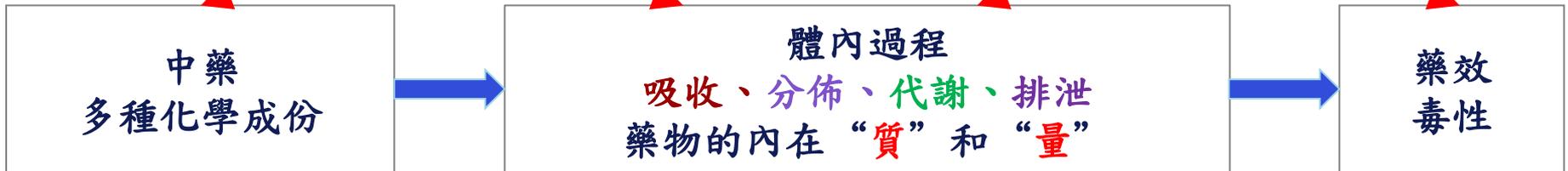
四、重點領域：複方製劑質量控制方法和質量標準



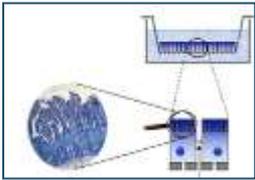
◆ 檢測主要活性成份的藥代動力學和代謝產物譜，以生物活性和複方藥代動力學參數控制中藥複方製劑的質量

指導中成藥質控指標性成份的合理選擇

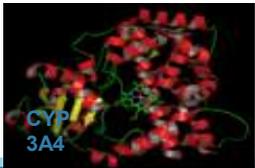
藥效-藥代相關性



動物模型
在體腸管灌流模型
離體腸管球囊
Caco-2細胞模型



動物體內代謝
組織勻漿
肝微粒體
重組代謝酶



UPLC/MS
定量分析

吸收、分佈、
代謝及排泄的
動力學

指導複方中成藥
的臨床合理用藥

UPLC/MS
LC/NMR

代謝產物譜
代謝物結構鑒定
(皂苷類成份)

活性代謝物作為
先導化合物研發
新藥

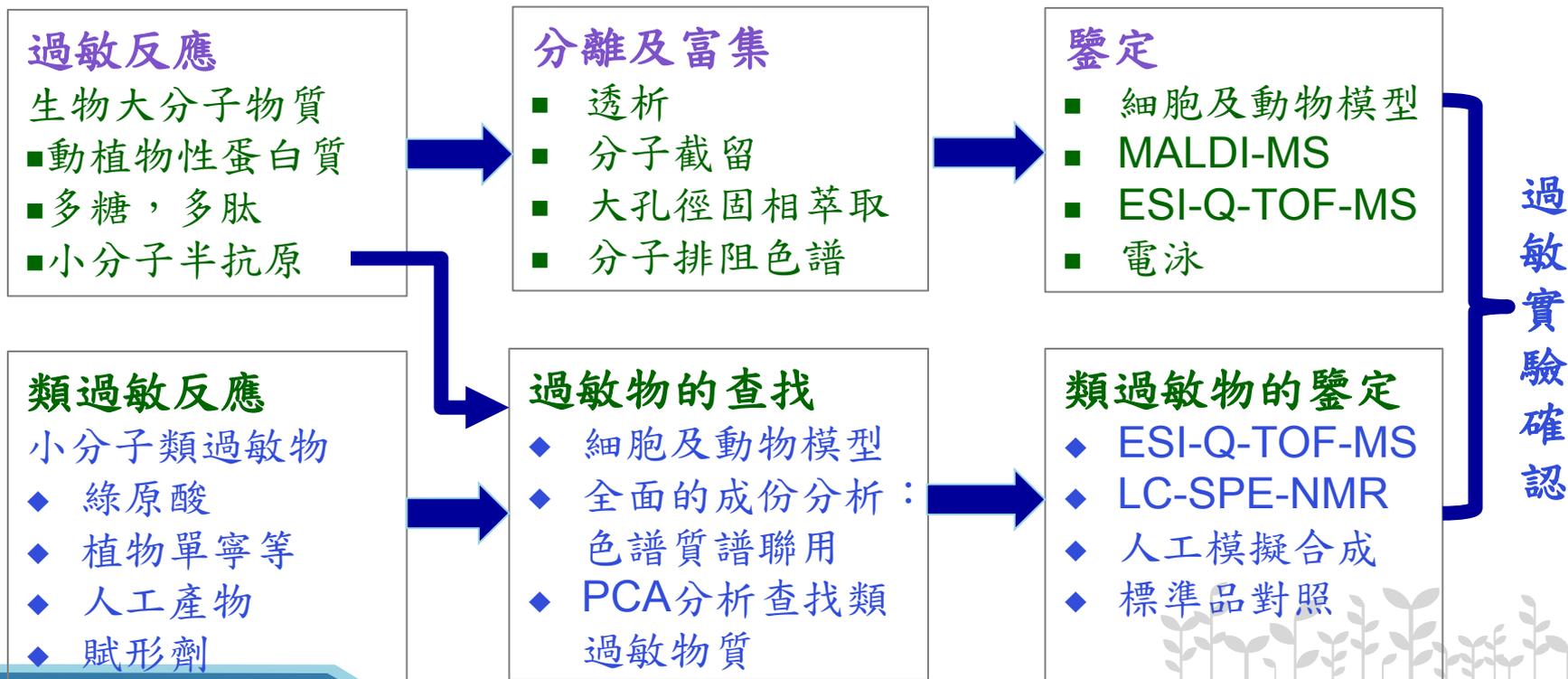
四、重點領域：中藥注射劑質量控制及安全性評價



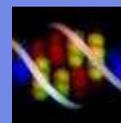
◆ 中藥注射劑是我國獨創的中藥新劑型，生物利用度高，作用迅速

■ 但化學成份複雜、製備工藝落後、質量標準欠缺

◆ 不良反應：過敏反應及類過敏反應



四、重點領域：創新中藥新藥篩選



目標疾病

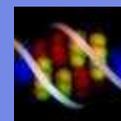
- 癌症
- 炎症相關、退行性及代謝性疾病

目標新藥

- 複方中藥新藥
- 組分中藥新藥
- 單體化合物（衍生物）新藥



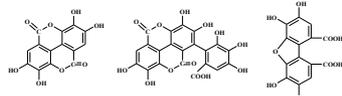
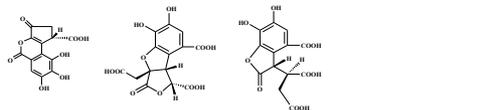
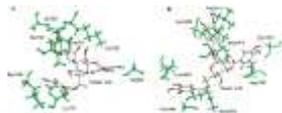
四、重點領域：創新中藥新藥篩選



◆ 從嶺南特色藥用植物中篩選抗腫瘤活性成份

嶺南特色藥用植物

- ◆ 清熱作用：瘵熱互結是癌症一大病因
- ◆ 富含多酚類成份：抑制酪氨酸激酶活性
- ◆ 植物資源豐富

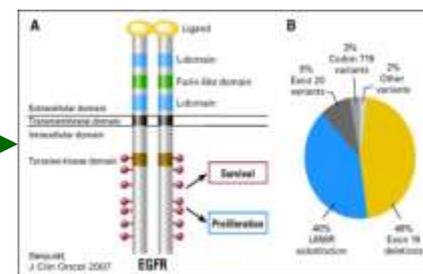


多酚類組份製備

- ◆ 低溫提取
- ◆ 柱層析分離
MCI-gel
TSK-gel
Sephadex

- 分子靶向指導：**特異**
- 化學成份與傳統功效為指導的源植物選取：**命中率高**
- 基於活性成份的結構修飾：**高效**

基因突變的EGFR篩選模型



活性組分

LC-NMR分離鑑定

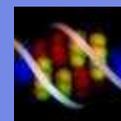
活性单体化合物

結構修飾
活性更強的先導化合物

動物實驗驗證活性

候選創新藥物

四、重點領域：創新中藥新藥篩選

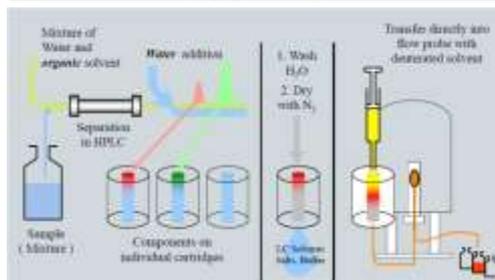


◆ 基於LC-SPE-NMR的活性成份追蹤分離篩選新藥

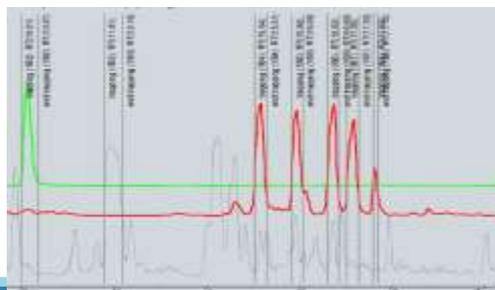
中藥的活
性組份或
部位



SPE收集各色譜峰



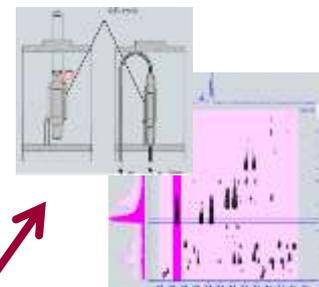
UV/MS監測的多次
SPE富集



SPE收集裝置



轉移至核磁管

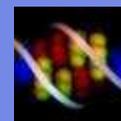


低溫探頭
高靈敏度的
NMR測定

單體化合物 → 活性試驗 → 活性成份

- ◆ 小規模的分離純化：週期大大縮短
- ◆ 基於HPLC的分離：高效分離
- ◆ 單體成份的活性測試：避免成份間相互作用導致的假陽性或假陰性，測試結果更可靠

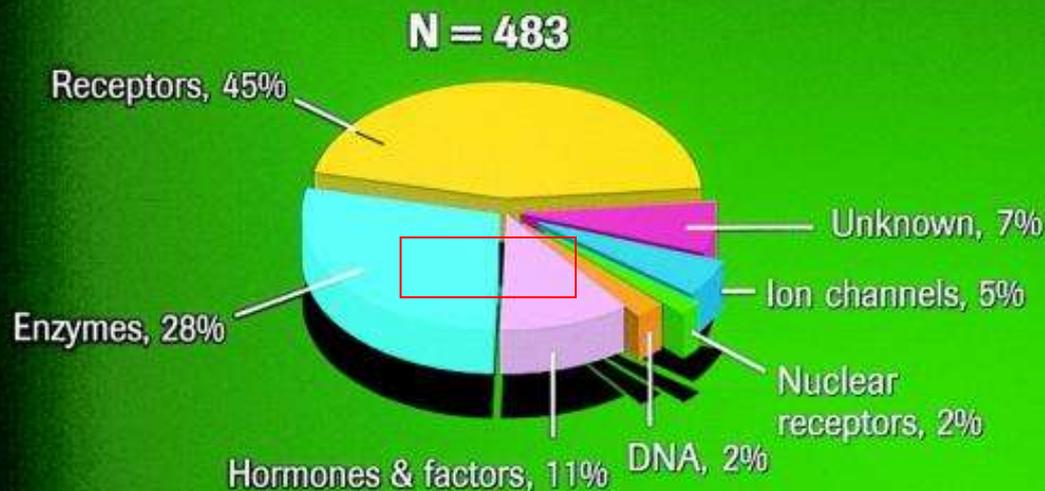
四、重點領域：創新中藥新藥篩選



- ◆ 利用化學生物學手段，以具有調控生物大分子功能的中藥有效成份篩選新藥

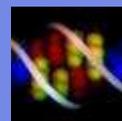
小分子药物的作用靶标的分类

Biochemical Classes of Drug Targets of Current Therapies



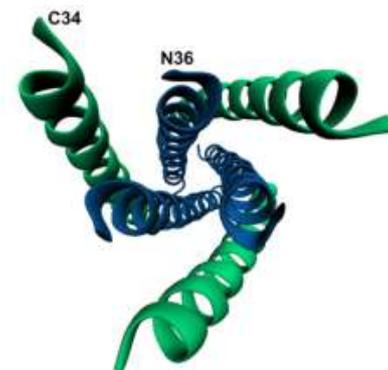
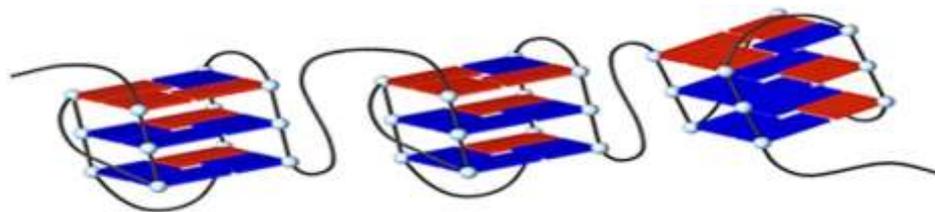
Drews J. (2000) *Science*
287: 1960-1964.

四、重點領域：創新中藥新藥篩選



◆ 利用化學生物學手段，以具有調控生物大分子功能的中藥活性成份篩選新藥

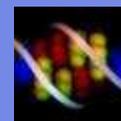
- 与DNA和RNA G-四鏈體的選擇性作用：苯並菲啶類生物鹼
- 与 β -澱粉樣多肽及其寡聚体结合：茶多酚及黄酮醇
- 抑制HIV gp41蛋白的聚合：白樺脂酸及其结构修饰产物
- 与流感病毒血凝素结合：板蓝根生物碱及糖肽



ChemBioChem **9**: 2583-2587, 2008; *Anal. Bioanal. Chem.* **392**: 709-716, 2008
Angew. Chem. Int. Ed., **50**: 1-7, 2011; *ChemMedChem* **6**: 1654-1664, 2011.

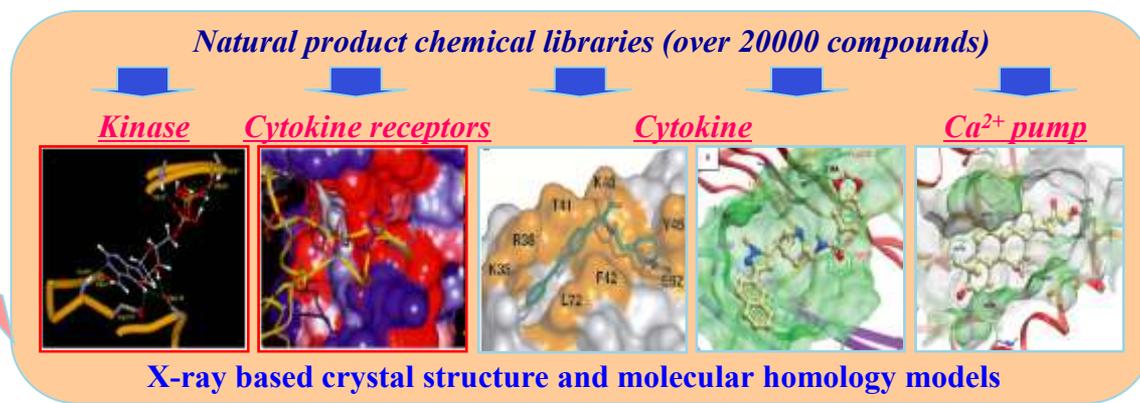


四、重點領域：創新中藥新藥篩選



◆ 應用電子計算機模擬技術，篩選中藥活性先導化合物

Computational-docking based virtual high-throughput pre-selection



Immunosuppressive or anti-inflammatory

Immunotolerance

Pre-selection of candidate agents from each docking molecular model

Sourcing of compounds

Preparation of pre-selected compounds for *in vitro* and *in vivo* studies
(Natural compounds and synthesized derivatives from herbs)

Verify the effects of compounds (Cellular models)

Selection of active compounds using immunocomponent cellular models

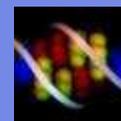


Target-based novel candidate compound

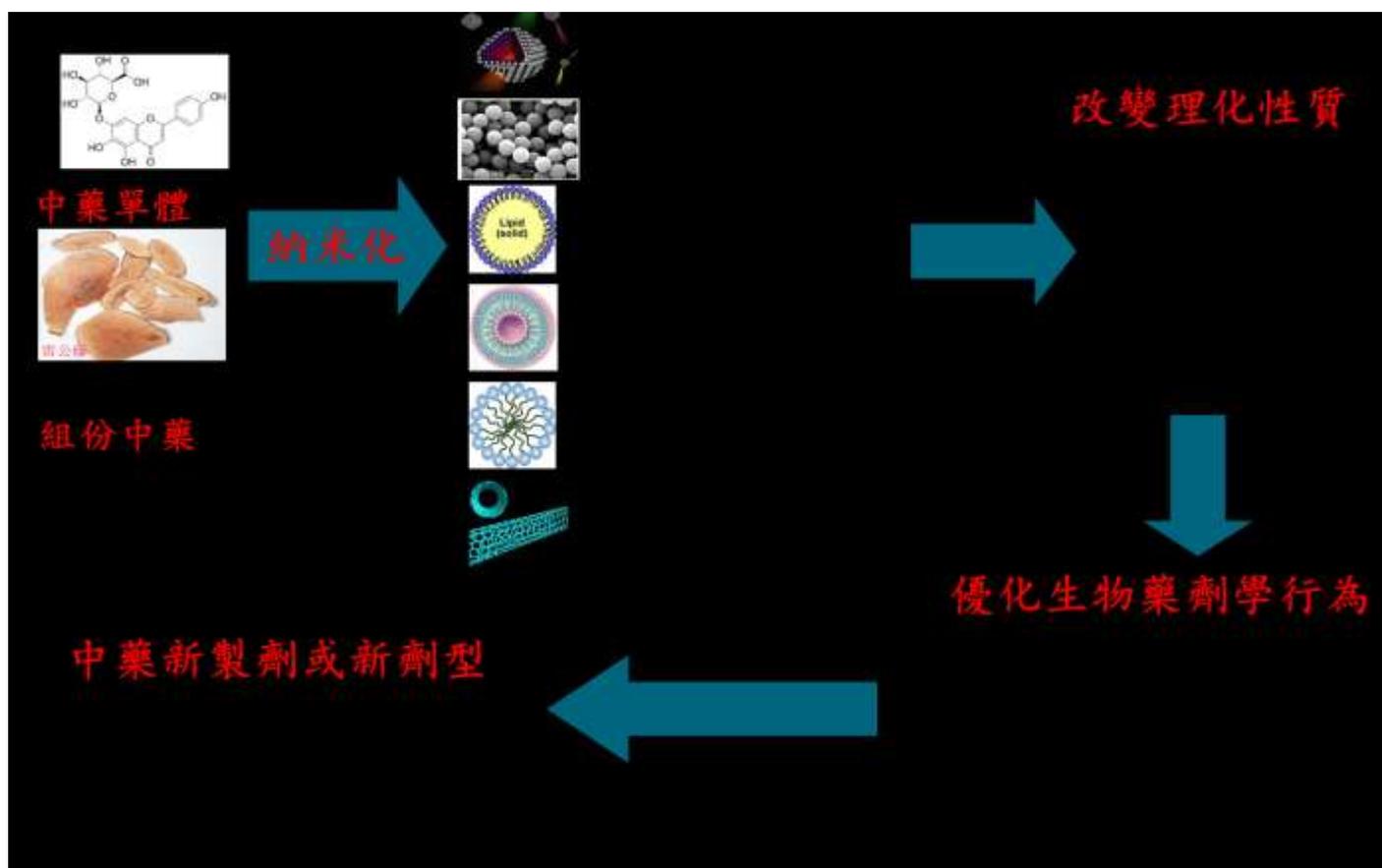


Computational-docking based lead optimization

四、重點領域：創新中藥新藥篩選



- ◆ 采用納米技術，提高中藥活性成份的生物利用度及研發納米中藥新藥



四、重點領域：創新中藥新藥篩選



◆ 應用蛋白質組學技術，闡明中藥作用的分子靶點及篩選新靶標創新藥物

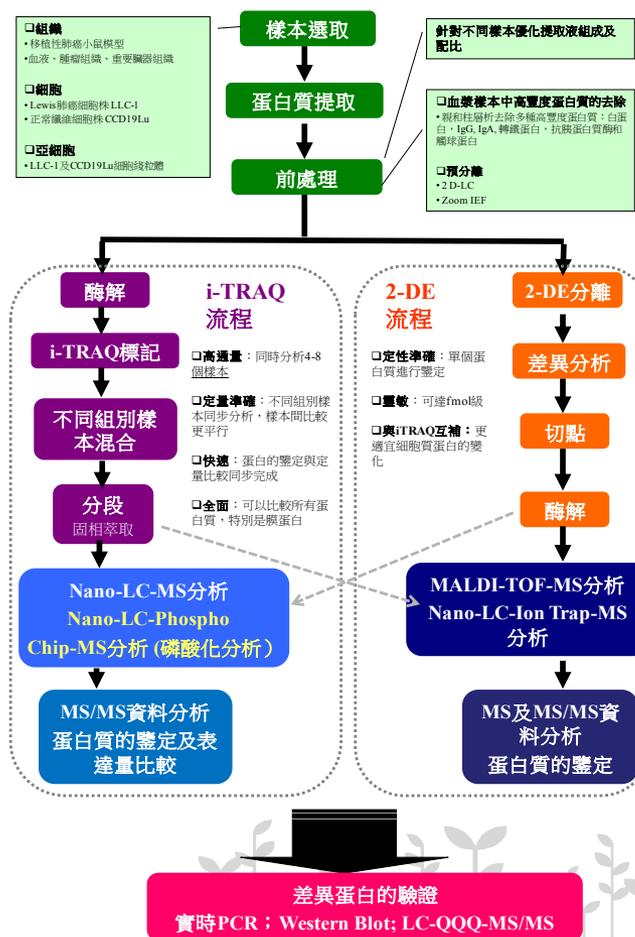
- 由於病理的複雜性和藥物作用靶點的多樣性，蛋白質組學技術必須能全面、靈敏、特異地對蛋白質組進行分析

□ 策略：全面地分析

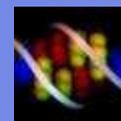
- 樣品：組織、細胞、血液
- 分析方法：2-DE和 i-TRAQ結合

□ 技術：靈敏，特異地分析

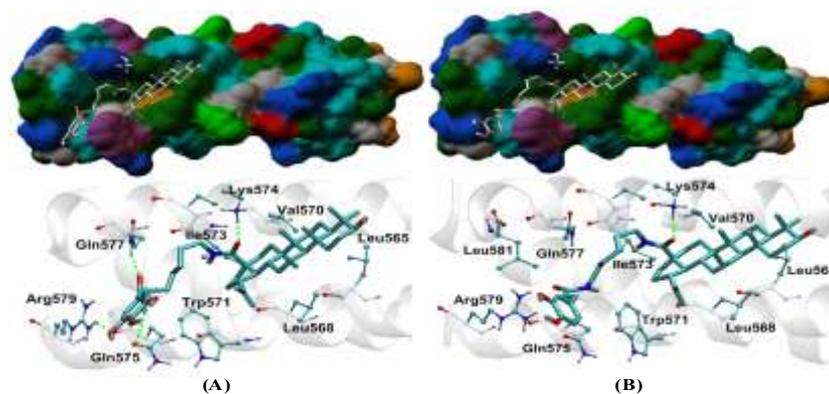
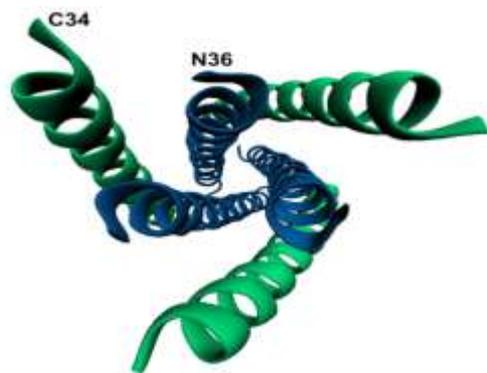
- 亞細胞的分離
- 高豐度蛋白的去除
- 磷酸化蛋白的富集
- 高性能的質譜分析儀



五、前沿技術平臺



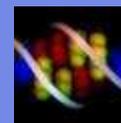
- 生物有機化學技術: 具有快速、靈敏、特異、樣品用量少、能提供化學計量資訊等特點，已建立利用分子排阻色譜法研究人類免疫缺陷病毒I型包膜蛋白亞基gp41六股螺旋束抑制劑的篩選平臺。



HIV gp41 six-helix bundle / 人類免疫缺陷病毒I型包膜蛋白亞基gp41六股螺旋束



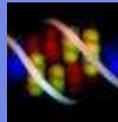
五、前沿技術平臺



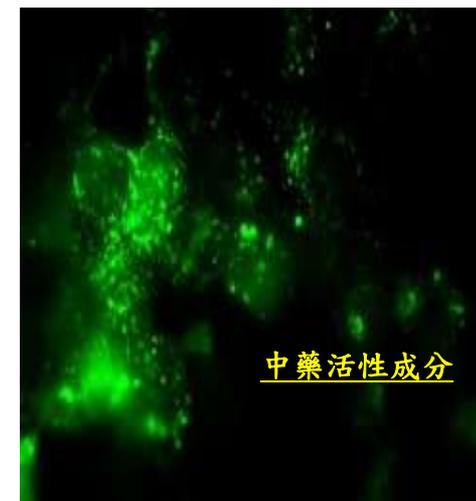
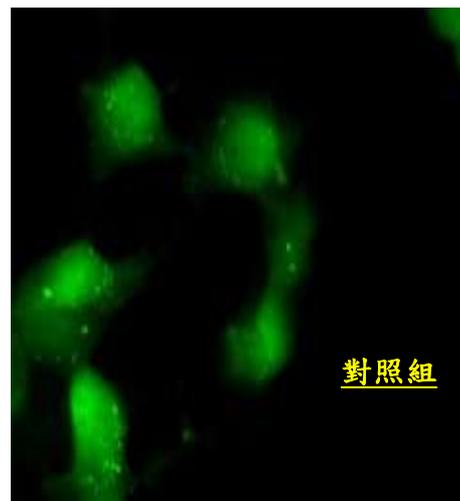
- 天然化合物分離和結構鑒定的液相色譜-核磁共振聯用技術：採用LC-SPE-NMR (600 MHz, Bruker)儀，靈敏度極高，是迄今國際上具有最高效率的化合物分離與結構鑒定技術設備。



五、前沿技術平臺



- 活細胞中亞細胞器及蛋白質顯微成像可視化技術：採用 DeltaVision 多功能活細胞顯微成像系統，以實時影像方式觀察正常或病變細胞或蛋白質分子的生理變化，如觀察細胞遷移路徑，監察細胞分裂與病變過程，在線記錄細胞在藥物作用下亞細胞與蛋白質移位變化。



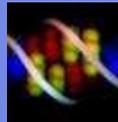
五、前沿技術平臺



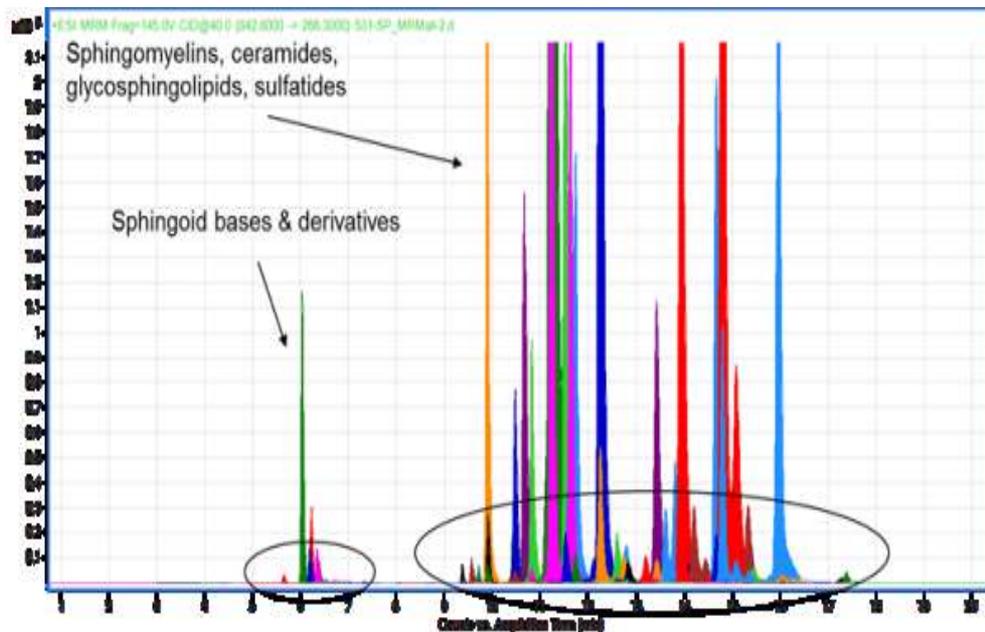
- **蛋白質組學研究技術:** 蛋白質組學 (Proteomics) 技術是創新藥物研究的最強大動力，該實驗室配備了最具優越性能的LC-Q/TOF MS和Autoflex Speed MALDI-TOF/TOF MS，及二維電泳系統，能高精度度及高速度地分析新的蛋白生物標誌物及篩選新靶標藥物。



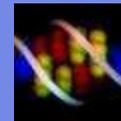
五、前沿技術平臺



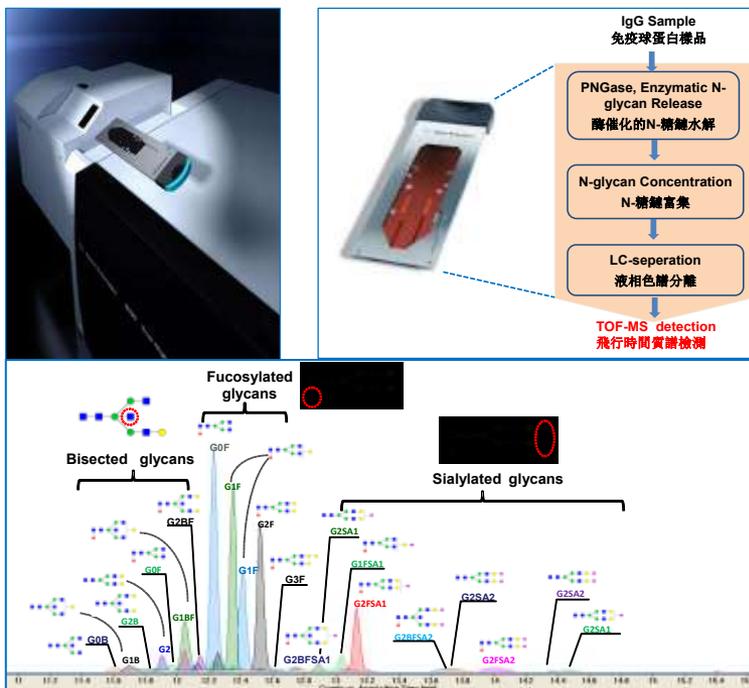
- **脂組學研究技術：** 配備了最具分離能力、最高靈敏度和最準確分子量的超高效液相色譜-質譜聯用（UPLC-MS）技術及液相色譜-核磁共振譜聯用（LC-SPE-NMR）技術設備，構建最新的創新脂組學分析技術平臺，可達至pmol級的脂類定量分析水平。



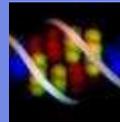
五、前沿技術平臺



- **糖/糖肽組學分析技術**: 已建立完整的蛋白水平免疫球蛋白糖基化分析、基於二維色譜晶片聯用時間飛行質譜的血清IgG糖組學分析技術、亞型特異性IgG糖肽MRM分析技術。



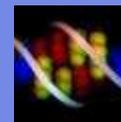
五、前沿技術平臺



- 幹細胞研究技術：幹細胞具有自我更新和分化成不同細胞的強大能力，故幹細胞療法蘊藏著巨大的應用潛力。中藥能增強及誘導幹細胞功能，是值得大力開拓的新領域。實驗室配備BD FACSAria III流式細胞分選儀，是迄今分離速度最快、並可富集單一細胞的高端干細胞研究新設備。



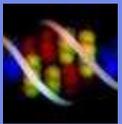
五、前沿技術平臺



- **中藥納米制劑技術:** 建立適合中藥成份構成和用藥特點的新型納米載藥系統(新劑型), 即利用納米技術提高中藥活性成份的生物利用度、增強療效及降低不良反應。



六、聯合實驗室或聯合研究中心



- 與內地教研機構建立的聯合實驗室或聯合研究中心
 - 呼吸疾病國家重點實驗室
 - 南京大學醫藥生物技術國家重點實驗室
 - 華中科技大學國家納米藥物工程技術研究中心
 - 深圳華大基因研究院
 - 廣州中醫藥大學
 - 廣東省中醫科學院
 - 南方醫科大學
 - 天津中醫藥大學中藥現代化國家教育部重點實驗室



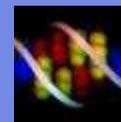


● 與海外機構建立的聯合實驗室

- 安捷倫科技有限公司(美國)
- 布魯克測量儀器有限公司(德國)

為世界最大的兩個儀器測試測量公司。安捷倫與中藥質量研究國家重點實驗室(澳科大)建立的“聯合實驗室”，是該公司繼在北京和上海後，於中國建立的第三個“聯合實驗室”，將成為中國華南及港澳地區中藥及天然產物分析與結構鑒定的高技術服務中心，同時為高端儀器分析人員提供技術培訓。目前，已有多批內地教研機構派員進行技術培訓。





謝謝各位的聆聽並歡迎光臨指導！

澳門科技大學體育館

