

关注手性药物：从“反应停事件”说起

章伟光^{1,*}, 张仕林², 郭栋², 赵樵², 于腊佳², 章慧^{2,*}, 何裕建³

¹ 华南师范大学化学与环境学院, 广州 510006

² 厦门大学化学化工学院, 福建 厦门 361005

³ 中国科学院大学化学科学学院, 北京 100039

摘要: 自从 20 世纪 60 年代发生“反应停”事件以来, 药物手性的研究在新药研发领域引起了极大关注。手性异构体在生物体中可能表现出截然不同的药理、药物动力学、代谢和毒理活性等。近年来结合手性光谱的手性高效液相色谱 (HPLC) 技术在手性药物的分析、测定和分离等方面得到广泛应用, 这对于手性药物对映体含量的检测和质量控制至关重要。

关键词: 手性药物; 反应停事件; 手性保健品; 对映异构体; 对映选择性

中图分类号: G64; O6

Great Concern for Chiral Pharmaceuticals from the Thalidomide Tragedy

ZHANG Weiguang^{1,*}, ZHANG Shilin², GUO Dong², ZHAO Lei², YU Lajia², ZHANG Hui^{2,*}, HE Yujian³

¹ School of Chemistry and Environment, South China Normal University, Guangzhou 510006, P. R. China.

² College of Chemistry and Chemical Engineering, Xiamen University, Xiamen 361005, Fujian Province, P. R. China.

³ School of Chemical Science, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, P. R. China.

Abstract: Since the Thalidomide tragedy in the 1960s, the issue of chirality has become increasingly important in the fields of novel drug development and pharmaceutical research. Enantiomers may exhibit different pharmacologic, pharmacokinetic, metabolic, and toxicological activity in living organisms. Recently, chiral High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) technology combined with chiroptical spectroscopy has been widely used in separation and analysis of chiral compounds, and will play a critical role in the detection and quality control of chiral pharmaceuticals.

Key Words: Chiral drug; Thalidomide tragedy; Chiral health-care product; Enantiomer; Enantioselectivity

20 世纪 60 年代初发生在西方的“反应停(沙利度胺)事件”, 曾如同一颗原子弹引起世界性轩然大波和忧虑: 如果药品中的有害成分不能被及时检测发现, 人类的健康有何保障? 是否可以采用有效的检测方法和手段, 从而避免 20 世纪 60 年代的药物致畸悲剧再现? 后来在巴西和西班牙等国家发生的“反应停”药物重启引起的畸胎悲剧卷土重来则表明, 人们的忧虑并不是空穴来风。虽然当时美国 FDA (Food and Drug Administration) 的女官员凯尔西顶住来自西德药厂和其他方面的压力, 坚

收稿: 2019-04-11; 录用: 2019-04-12; 网络发表: 2019-05-17

*通讯作者, Email: wgzhang@scnu.edu.cn; huizhang@xmu.edu.cn

基金资助: 国家自然科学基金(21571070, 21273175, 51772289); 国家基础科学人才培养基金(J1310024); 广东省自然科学基金(2018A030313193); 广州市科学研究计划重点项目专题 (201804020019)

决抵制了“反应停”在美国上市,1961年11月底西德市场上的所有“反应停”被迫撤下架,随后其他国家陆续跟进,使得劣迹斑斑的“反应停”导致胎儿先天畸形病例一度销声匿迹。然而,随着沙利度胺对麻风、风湿病和多种类型恶性肿瘤的研究“令人鼓舞”的进展,以及某些国家医药管理部门的监控失职,自20世纪70年代起,在巴西和西班牙等国依然有孕妇服用沙利度胺生下畸胎的事件发生。特别在巴西,作为麻风病疫情严重的地区,大部分麻风患者生活在贫民区,很多是文盲,并且有大量育龄妇女,有些糊涂医生在用沙利度胺帮助女患者缓解麻风病的病情时,并没有告诉病人要避孕。这说明药物的安全性、有效性、质量可控性,乃至手性,必须引起世界范围的关注。

1 “反应停事件”背后的罪魁——不良药厂和手性对映体

“反应停事件”也称“沙利度胺事件”,其影响并不亚于中国的“毒奶粉事件”。如果说,中国的“毒奶粉”是人为添加三聚氰胺的劣质奶粉,那么,西方的“反应停”药物仅仅是由于当时科学技术水平的落后而造成的无知吗?

关于沙利度胺(thalidomide)的发现,历史上是有争议的^[1]。比较认可的说法是,沙利度胺是在1954年由西德格兰泰(Chemie Grünenthal)药厂的穆克特(Heinrich Mückter)博士领导的一个小型研究部门发现的^[2]。药剂师出身的化学家昆兹(Wilhelm Kunz)是穆克特的助手,他在合成抗生素药物时分离到一个副产物沙利度胺。随后意外发现,沙利度胺不但有镇静催眠作用,还能显著抑制孕妇的妊娠呕吐反应。在老鼠、兔子和狗身上的动物实验并没有发现沙利度胺有明显的副作用(事后的研究显示,其实这些动物服药的时间并不是反应停作用的敏感期,并且不同的动物种属对反应停致畸作用有明显差异),格兰泰公司便于1957年10月1日将沙利度胺以商品名“反应停”正式推向了市场,并随之展开了铺天盖地的夸大宣传,沙利度胺被描述成一个包治百病的“神奇药物”,一时间风靡欧洲、非洲、拉丁美洲、澳大利亚和亚洲(主要在日本和中国台湾地区)。药品生产厂家宣称沙利度胺是“没有任何副作用的抗妊娠反应药物”,反应停成为“孕妇的理想之选”(当时的广告语)。

由于格兰泰公司需要已发表的论文来证明沙利度胺的用途,他们企图取得这方面的论文。该公司的档案中,有一份来自该药厂驻西班牙代表的报告,报告的内容是关于某医生“宣称他已准备好要写一篇关于沙利度胺的短篇报告,不过他要把最后定稿的工作保留给我们(指格兰泰公司)”。1959年,野心勃勃的美国梅瑞公司(Richardson-Merrell)也急于将“反应停”推向美国市场,梅瑞公司医药总裁柏吉(Raymond Pogge)授意辛辛那提市的努尔森(Ray O. Nulsen)医生对沙利度胺进行“试验”。根据后来地方法庭的审讯报告,以努尔森医生的名义于1961年6月在《美国妇产科期刊》发表的文章实际上是柏吉写的,不懂德文的努尔森在论文中引用了大约六本德文期刊和教科书的内容,还引用了另一位医生的“待发表”文章,但努尔森在检查官的询问中承认他并没有看过这些参考文献^[2]。

毫无疑问,在制药公司和代理商这些不负责任和不严谨的行为背后,蕴含着巨大的商业利益。而“反应停”就像一块严酷的试金石,拷问着新药研发商及其代理商的业界良心,检验着药品临床应用的研究水平。

1960年,德国和澳大利亚的医生不约而同地注意到,一种罕见的新生儿畸形比率异常升高。这些畸形婴儿没有臂与腿,或是手和脚连在身体,如同海豹的肢体,因此被称作“海豹畸形儿”(图1)。

1961年,澳大利亚悉尼市皇冠大街妇产医院医生麦克布里德(William McBride)(图2)提出“反应停”是婴儿畸形的元凶!他向权威医学杂志《柳叶刀》写信报告了他们医院的4例海豹胎婴儿,母亲均有服用沙利度胺的历史。与此同时,德国汉堡大学的儿科主任兰兹(Widukind Lenz)博士(图2),也怀疑到沙利度胺和海豹胎流行的关系,并展开了一些科学研究,从而把格兰泰公司告上法庭。1961年11月底,格兰泰公司迅速收回了市场上所有产品,这种药物不再允许销售,但1万多名海豹儿已经无法挽救,还有相当数量的婴儿胎死腹中;在欧洲大陆就有超过2000例婴儿死亡,超过10000例带有海豹肢畸形或相关异状的婴儿出生。



图1 英国的一位海豹畸形儿和她的父亲

照片来自网络: <https://www.dailymail.co.uk/news/article-561360/A-truly-special-love-story-Two-married-thalidomide-survivors-living-happily-50-years-drugs-launch.html>



图2 在反应停事件中挺身而出的两位医生

左: 麦克布里德; 右: 兰兹

照片分别来自网络: https://embryology.med.unsw.edu.au/embryology/index.php/Abnormal_Development_-_Thalidomide;
<https://www.bbvaopenmind.com/en/science/research/five-drugs-that-surprised-their-creators/>

而格兰泰公司始终拒绝承担责任。直到2012年8月13日,在德国施托尔贝格,格兰泰公司首席执行官为曾经的错误公开道歉,并制作了名为“生病的孩子”铜像(图3),但依然拒绝承担责任。



图3 “生病的孩子”铜像

照片来自网络: <http://blog.sciencenet.cn/home.php?mod=space&uid=2966991&do=blog&id=1109842>

后来的研究找到原因，发现化学反应合成的沙利度胺(图4)实际上是由两种各占50%的空间结构呈镜面对称的化合物组成，这一对化合物的相似性就像我们的左右手，难以区别，被称为手性化合物。被格兰泰公司推向市场的沙利度胺是外消旋化合物，其中的右手构型化合物(*R*-构型)具有抑制妊娠反应和镇静作用，而左手化合物(*S*-构型)则有致畸性，罪魁祸首就是它！

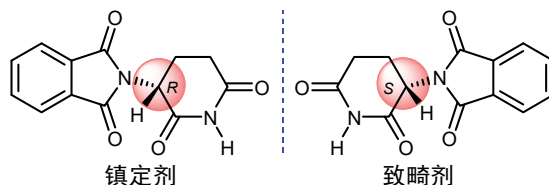


图4 沙利度胺的分子结构

而在当时，一方面，科学界尚不知道长得非常相似的两个化合物在生物体内的作用有这么大的差异；另一方面，即使知道它们的生物活性差异，由于检测手段的落后，也无法分辨哪个是左手化合物，哪个是右手化合物。再后来的研究还发现：即使以单一构型的 *R*-沙利度胺给药，在生理条件下，它也会转变为有害的 *S*-构型。正如“科普达人”药学博士谢雨礼所说^[1]：“这个事故是一个不折不扣的人间悲剧，其中有意外，但也有许多人为因素，包括科学家的不严谨、药品生产商的虚假宣传以及监管机构的草率等”。他还认为：“反应停事件至少从两方面对药物发现产生了深刻的影响。一个是有关药理，种属差异得到重视，监管机构从此改变了药理测试和安全性评价的要求。另一个是有关化学，药物中的手性现象得到重视。不同的手性异构体其功能可能完全不同”。

“反应停”使人们认识了手性药物在生物活性上的两面性，利用这一特点也推动了创新药物的发现和对老药的重新认识。就连声名狼藉的“反应停”也有机会“重新做药”^[3]：1998年，FDA批准 Celgene 公司用沙利度胺治疗麻风结节性红斑，但直到2006年才批准沙利度胺用于治疗多发性骨髓瘤。此外，沙利度胺还被用于晚期艾滋病病人的安慰治疗。

尽管批准沙利度胺上市，但FDA给 Celgene 公司下了一条严令：不许出现一起出生缺陷。为此，Celgene 公司建立了一套药品管理系统，包括追踪每一片药、如果病人死亡后回收所有剩余的药片、服用沙利度胺的病人必须采取避孕措施等。这套系统发挥了作用，沙利度胺每年的销售量超过3亿美元。之后 Celgene 公司相继开发了来那度胺(lenalidomide)和帕马度胺(pomalidomide)两个副作用更小的类似物(图5)，其中的来那度胺由于对治疗多发性骨髓瘤具有特殊药效，在2017年登上全球抗癌药物销售榜首(图6)！

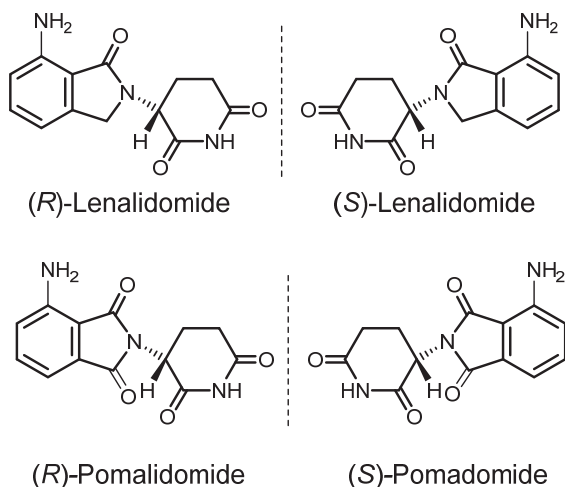


图5 沙利度胺的加强版来那度胺(lenalidomide)和帕马度胺(pomalidomide)的分子结构



图6 2017年全球抗癌药销售排行榜

然而,在巴西的老百姓就没有那么幸运了:虽然医药界和美国FDA已明确指出沙利度胺不能再用于治疗孕吐,但依然有孕妇使用沙利度胺的事件在巴西发生^[4]。巴西是瘤型麻风反应症最高发的国家,巴西医生从1965年就开始用沙利度胺治疗病人,到1994年共出现61例海豹肢症婴儿,说明在开处方时,一些医生并没有对病人提出警告,另一方面也可能是病人的无知导致他们不能正确遵循医嘱。之后虽然开始严格控制,但海豹肢症婴儿至今时有发生。另据BBC(British Broadcasting Corporation)报道,沙利度胺并没有“只适用于男性”的标识,大多数人在被配发了该药后也没有正确地服用,因此在2012年又有超过1000名的海豹儿出生。严防死守沙利度胺造成的出生缺陷,不能将责任只限于医生,必须像美国那样,有一套高效严格的管理系统。虽然医生及麻风病人们认为,沙利度胺的效益大于风险。但世界卫生组织并不建议使用沙利度胺,更建议使用其他更有效的药物。

2 中国药物检验标准存在的隐患

“反应停事件”涉及46个国家和地区,全世界仅有中国大陆等一些当时不发达的国家幸免于难。由于众所周知的原因,当时这种时髦的新药没有引入中国大陆。而在美国则是因为一位FDA的女官员凯尔西(Frances Oldham Kelsey),坚守本职,不让实验数据不足的沙利度胺进入美国,做了一件特别伟大的事情,成为了美国英雄,1962年8月2日美国总统肯尼迪亲自为她颁发了“总统奖”(图7),FDA因而声名鹊起。在美国,虽然沙利度胺不能上市,却还是没能完全避免悲剧,因为梅瑞公司打着“妇女的福音”的旗号,以“药品试验”为由,将一批“反应停”药片作为调研性用药派发给1000多位医生,供其开药给患者,包括一些孕妇。即使后来该药被收回,仍然使得美国有17个海豹肢畸形婴儿出生。



图7 美国总统肯尼迪为凯尔西颁奖

照片来自网络: <http://blog.sciencenet.cn/blog-2966991-1031557.html>

进入21世纪,现代科学技术如此发达,历史的悲剧是否还会重演呢?20世纪60年代的中国大陆因为特殊原因而没有成为“反应停”药物的销售区域,从而有幸避开了这一药物悲剧的发生。但是,改革开放之后,大量国外进口药物及专利过期的仿制药在中国大陆生产并上市,虽然国家食品药品监督管理局制定了相关药典,及开展一致性评价来保证与规范药品安全问题,但由于受我国长期落后的药品监督检验技术水平的影响,对手性药物的检测标准还是存在很多安全隐患,如下数据可见一斑。

在中国药典2010年版中,不完全统计包括1018种不同结构的药物,其中,具有手性中心的药物为440种,占全部药物的43.22%;对药物有明确手性构型要求的有319种,占全部药物的31.34%,不明确要求特定构型的对映体的有121种。在日本药典JP15(Official from April 1, 2006生效)中,

不完全统计共有 896 种化合物, 其中对手性构型有特定要求的手性药物为 434 种, 占全部药物种类的 48.44%, 另外还有 10 种药物分子中有 1 个或多个手性中心, 但在目前版本中对手性构型无明确要求。而在欧洲药典 EP7.0 (2010 版) 中, 共有 1341 种化合物, 其中 712 种为手性化合物, 占全部药物的 53.09%, 全部都有要求特定构型的对映体。当然, 在中国药典 2015 年版中, 这种现象大有改进, 但尚有许多不尽人意之处, 希望在未来药典的修改中能进一步完善。

对上述中国、日本、欧洲的药典研究统计表明: 欧洲药典对所有手性药物都须明确左、右手化合物的有效性, 才能进入药典; 日本次之, 有 10 种手性药物无明确手性要求; 中国相对落后, 多达 121 种手性药物无明确手性要求。这里将面临着多大的手性药物毒副作用的风险?

主要原因是中国药典中有相当一部分是中药, 而目前中药的所谓指纹图谱, 主要是采用高效液相色谱中的 C18 柱测定出来的, 没有一项是采用手性柱或手性光谱作为标准测定方法或检测标准, 这也是中药不易在国际上被接受的重要原因之一。当然, 也有一些手性西药在研发阶段就缺乏拆分技术与检测手段, 以致进入药典之后对手性杂质的控制标准也就不了了之。而美国 FDA 对于具有手性结构的药物一定要求说明左、右旋异构体的药效之不同, 否则, 将不允许上市。此外, 在药物生产层面上的手性分离将大大提高生产成本, 这些分离技术大部分掌握在西方发达国家的手中。因此, 国家医药科技部门和各级科研部门都应该重视手性分离和不对称合成技术的研发。

3 识别检验药物手性势在必行

预计到来几年, 手性药物占新合成药物的比例将上升到 80% 以上。目前正在开发的处于 II/III 临床的实验药物中, 80% 是单一光学活性体。也就是说, 未来新药中有 80% 是手性药物, 而这些手性药物中可能只有某个左手或右手化合物具有治疗作用, 它们的另一半或有其他治疗作用、或没有治疗作用甚至具有副作用。其中另一半具有严重副作用的药物就是安全隐患的来源。表 1 中列出目前上市的部分手性药物中不良异构体的黑名单。

表 1 列入黑名单的部分手性药物一览表

药物	有效异构体	不良异构体
多巴	(S)-异构体, 治疗帕金森症	(R)-异构体, 严重副作用
氯胺酮	(S)-异构体, 麻醉剂	(R)-异构体, 致幻剂
青霉素胺	(S)-异构体, 治疗关节炎	(R)-异构体, 突变剂
心得安	(S)-异构体, 治疗心脏病	(R)-异构体, 致性欲下降
巴比妥类化合物	(S)-异构体, 镇静药, 对中枢神经系统有抑制作用	(R)-异构体, 惊厥剂, 有中枢神经系统兴奋作用
乙胺丁醇	(S)-异构体, 治疗结核病	(R)-异构体, 致盲
普萘洛尔	(S)-异构体, 治疗心脏病	(R)-异构体, 有避孕作用
昂达利酮	(S)-异构体, 促进尿酸排泄	(R)-异构体, 增加血中尿酸
布洛芬	(S)-异构体, 消炎镇痛	(R)-异构体, 消炎效果差, 增加代谢负担

如今, 在生物体中不同的对映体要作为不同的化合物来慎重对待已经成为了学界的普遍共识。例如, 左旋甲状腺素钠是甲状腺激素, 而右旋甲状腺素钠是降血脂良药。戒毒所普遍使用的美沙酮 (methadone) 是消旋体, 但 *R*-(-)-异构体的镇痛效果较 *S*-(+)-异构体强 25–50 倍, 且后者较前者有更强的免疫抑制作用, 二者在药效、体内代谢、毒性等方面存在着显著的差异。丙氧芬有两种对映异构体 (图 8), 右丙氧芬 (dextropropoxyphene) 可以镇痛, 而左丙氧芬 (levopropoxyphene) 可以止咳, 两者分别药用, 它们的商品名也呈“镜像”。

目前, 对于手性药物的认识及检测技术已经不是太困难的事, 特别是色谱拆分技术可以满足各种条件下左、右手化合物的测定的要求, 这种方法不仅能够进行简便快速的定性定量分析, 也能进行制备规模乃至工业规模的生产。

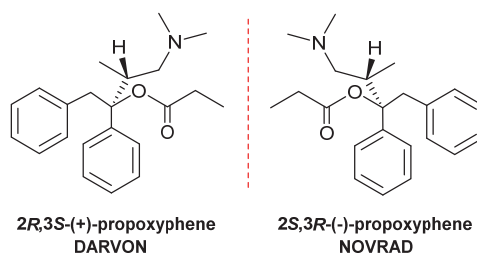


图8 一对丙氧芬胺光学对映体

4 保健品的手性也不容忽视

“反应停事件”的惨痛教训，让人们对手性药物毒副作用高度重视，但是，来自其他领域手性化合物的影响往往被我们忽视。药食同源的藤茶就是其中的一个典型例子。

藤茶，是葡萄科蛇葡萄属的一种野生木质藤本植物，主要活性成分为黄酮类化合物。藤茶主要含有二氢杨梅素(ampelopsin/Dihydromyricetin, DMY)、杨梅素(myricetin)、槲皮素(quercetin)、槲皮素-3-*O*- β -D-葡萄糖苷(quercetin-5-*O*- β -D-glucoside)、花旗松素(taxifolin)、洋芹苷(apiin)等黄酮类物质。此类物质具有清除自由基、抗氧化、抗血栓、消炎等多种功效。

4.1 藤茶的手性与天然二氢杨梅素的绝对构型确认

手性是自然界的本质属性之一，且表现出高度的专一性。如图9所示，从宏观到微观世界，都存在着手性现象^[5]。纵览宏观世界：从天体星云、台风气旋，到植物藤蔓、海洋生物等，都呈现手性特征，例如大多数藤本植物的缠绕方式是右手螺旋的，左旋的藤本植物却相当少见^[6]，若强行将藤本植物固有的螺旋缠绕方向改变，它们也会自行恢复到原有的螺旋方向；又如，几乎所有的螺壳都是右手螺旋的，左旋螺壳堪称稀世珍品。细察微观世界：地球上一切生命的基本构成单元(如核酸、氨基酸、蛋白质)都对某一种手性有所偏爱，DNA是右手双螺旋构象，而构成核酸的糖类基元均为D-核糖，组建天然蛋白质的氨基酸几乎都是L型，蛋白质二级结构大部分都是右手螺旋；在粒子物理层面上，吴健雄的实验已经证明中微子是左撇子，近期研究则表明，某些原子核也具有手性^[7]。

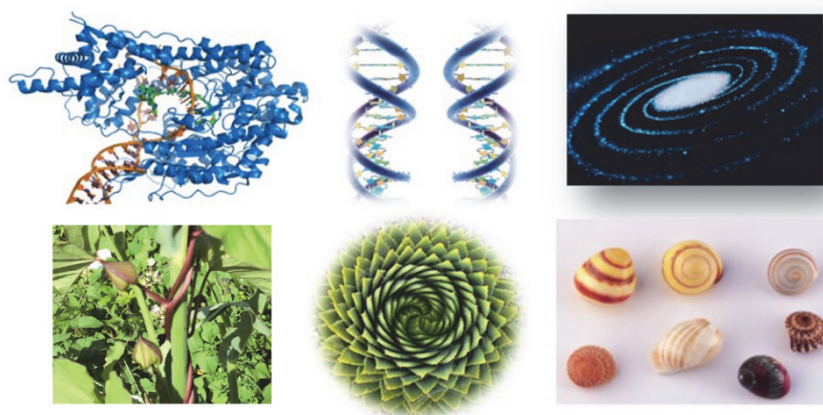


图9 自然手性现象

从基本粒子层面至生命基本构成单元的固有手性，必然导致地球上形形色色天然产物的手性特征，若要深究植物的天然活性组分，其中或多或少都含有手性成分。例如，对于藤茶而言，部分产地藤茶中的二氢杨梅素含量可达20%以上，这在植物界极为罕见^[8]。

二氢杨梅素是藤茶活性成分中较为特殊的一种黄酮类手性化合物，化学名为(2*R*,3*R*)-3,5,7-三羟基-2-(3,4,5-三羟基苯基)苯并二氢吡喃-4-酮[(2*R*,3*R*)-3,5,7-trihydroxy-2-(3,4,5-trihydroxyphenyl)chroman-4-one]，结构如图10所示。

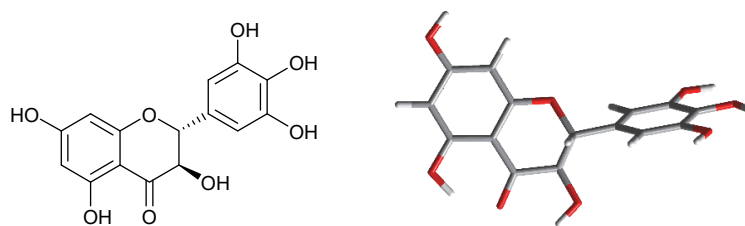


图 10 右旋二氢杨梅素的分子结构(左)及立体结构(右)

根据近现代相关文献记载^[9], 藤茶喜温、湿润的环境, 分布地区集中于长江流域, 多集中或散生于海拔 200–1500 m 的山地灌丛中、林中、岩石上、沟边, 包括武陵山脉的湖北恩施、重庆酉阳、湖南张家界、贵州梵净山, 南岭山脉的广西大瑶山、湖南的江华, 武夷山脉的福建武夷山、南平、清流、广东梅州, 罗霄山脉的湖南衡阳、江西武功山, 以及横断山脉的云南西双版纳等。我们不妨称之为野生藤茶生长的“地域扎堆”现象。至于藤茶为何扎堆生长的奥妙, 仍有待进一步探究。

自 2012 年开始我们就对一些市售野生藤茶和二氢杨梅素产品进行了初步研究^[5,10]。例如, 将某产地出品藤茶的茶汤直接用于手性 HPLC 分析, 发现只有一个主要组分; 然而, 另将藤茶提取的某市售二氢杨梅素进行手性 HPLC 分析时, 却得到很不一样的结果: 通常显示有两个(一对)组分, 或相等或一种对映体过量^[10,11]。因此认为: 藤茶是含有天然二氢杨梅素的手性保健品, 可以放心服用; 但很多生物公司将藤茶主要活性成分提取成二氢杨梅素制剂时, 情况却变得相当复杂, 说明在天然二氢杨梅素提取过程中可能发生了消旋化。进一步的研究表明, 在同一批次市售二氢杨梅素中既有单一对映体也存在外消旋体或部分外消旋体, 同一厂家不同批次的产品亦如此。

2015 年王文清等^[11]在发明专利中, 对多种市售二氢杨梅素的光学纯度进行了调研和分析(表 2), 发现在不同厂家的 7 个产品中有 5 个是外消旋的, 而即使在其中两个厂家的非消旋制剂中, 产品的光学纯度仍无法达到 100% ee, 王文清等的研究还表明: 在提取过程中, 金属离子、温度和 pH 对天然二氢杨梅素的消旋化均有影响。在研究过程中, 我们对市售消旋二氢杨梅素进行了超临界流体色谱(SFC)的制备型手性分离, 获取了一对光学纯的对映体^[10]。

表2 市售二氢杨梅素产品的光学纯度^[11]

样品来源	批号	光学纯度/(% ee)
贵州苗药生物科技有限公司	/	43.3
长沙华康生物科技有限公司	/	43.4
湖北康宝泰精细化工有限公司	MH-DMY201309202	0
张家界至诚生物有限公司	MH-DMY201312202	0
宁波德康生物制品有限公司	/	0
上海晶纯生化科技股份有限公司	36805	0
美国 Sigma-Aldrich 公司	102M4725V	0

虽然有众多的信息默认天然二氢杨梅素为 *R,R*-绝对构型, 但迄今仍未见用提取的天然手性二氢杨梅素直接获取手性单晶结构的报道。2016 年方建国等^[12]以藤茶中提取的天然二氢杨梅素与茶碱形成共晶, 通过解析晶体结构首次确定了 *R,R*-二氢杨梅素的绝对构型。为了进一步佐证并确认通过 SFC 手性分离所得二氢杨梅素的两种手性组分以及野生藤茶中二氢杨梅素的绝对构型, 我们测试了野生藤茶茶汤的电子圆二色(ECD)光谱, 同时研究了手性二氢杨梅素的 ECD 计算光谱^[5], 首次采用理论计算方法指认了通过 SFC 方法拆分所得二氢杨梅素两个组分的绝对构型, 并证实野生藤茶中主要活性成分的确为 *R,R*-二氢杨梅素。这是中国科学家携手对藤茶进行手性研究的重要成果!

4.2 二氢杨梅素手性异构体的检测标准

天然二氢杨梅素的绝对构型确认及其手性检测的问题具有共性,因为现行的中药的指纹图谱是不考虑手性的,造成的后果有可能是新的“反应停事件”,这并不是危言耸听。因此,进一步明确二氢杨梅素异构体的药理活性或保健功能的差异性,可能对整个藤茶和二氢杨梅素生产行业产生变革性的影响。

尽管迄今尚未见二氢杨梅素对映体的光学活性不同会对人体产生不良副作用的报道,也未见对非天然的 *S,S*-二氢杨梅素做出的生物活性评价报告,但根据国家食品药品监督管理局颁布的《手性药物质量控制研究技术指导原则》以及从用药和服用保健品的安全性来考虑,将藤茶中提取的二氢杨梅素作为注射剂^[13]、醒酒口服胶囊或溶液制剂一定要非常小心,因此建议有关部门对市售藤茶和二氢杨梅素的光学纯度进行质量监控和制定评价标准。

2006 年 12 月由国家食品药品监督管理局发布的《手性药物质量控制研究技术指导原则》明确指出:“对于手性药物而言,处方及工艺研究的重点在于保证手性药物构型不变。手性药物构型的稳定情况也是手性药物制剂剂型选择时需要考虑的重要因素,如稳定的 pH 范围,固态及液态下构型稳定情况,对光、热、空气等因素的稳定情况等。如果研究显示手性药物在溶液状态下构型不够稳定,可发生构型变化,则不宜选择注射剂、口服溶液等液体剂型”。上述《指导原则》还指出:

“制订质量标准时要根据对映异构体杂质的生物活性(毒性)、原料药的制备工艺(生产中的过程控制、生产的可行性及批与批之间的正常波动)、制剂工艺(制剂过程中是否发生构型转化)、稳定性考察(贮藏过程中是否发生构型转化)等的研究结果及批次检测结果来确定质量标准中须控制的立体异构体及其限度。须控制的对映异构体杂质应根据上述研究的结果加以确定,限度的确定则应首先考虑杂质的安全性。一般情况下,生物活性较强的对映异构体杂质,须根据研究结果严格控制其限度。”

我们认为,不仅对手性药物(西药和中药)必须严格按照国家法规进行质量监管,手性保健品也应纳入质量监管范围,因此必须制定合理的手性评价标准。

非常可喜的是,有识之士已经开始了行动。由广东省药学会药物手性专业委员会提出,广东研捷医药科技有限公司、华南师范大学、暨南大学、华南农业大学、广东省中医药科学院、南方医科大学等单位共同编写了《二氢杨梅素手性异构体检测 液相色谱法》团体标准^[14]。广东省药学会团体标准委员会遵循开放、公平、透明、协商一致的原则,于 2019 年 1 月 10 日审查并通过了该团体标准,标准编号为 T/GDPA 1-2019。该团体标准于 2019 年 1 月 23 日发布,2019 年 2 月 1 日实施。

5 对高效无毒手性农药的期待

农药的环境污染已然成为了全球性的环境问题。挪威的科学家搜集 2007–2011 年期间北极地区斯瓦尔巴德群岛峡湾处浮游动物体的手性农药含量年份变化情况^[15],数据显示农药污染已经扩散到地球北极(图 11)。而在中国,农药滥用情况愈加严重,危害程度远远高于转基因食品为国人带来的潜在风险。某些农药如“六六六”“滴滴涕”等,虽然国际、国内早已明令禁止,但因其便宜、杀虫效果好,一些农药厂仍在非法生产,导致难降解、致残留等环境和食品安全问题!

据法国 BFMTV 电视台报道^[16],法国东部的德吕伊亚镇在 2009 年至 2014 年期间曾诞生 7 名畸形婴儿,这种异乎寻常的畸形儿出生率引起了当地卫生部门的警觉。德吕伊亚镇位于法国安省,仅有 1200 名居民。据当地卫生部门统计,7 名畸形儿均为不同程度的上肢残缺,这使得当地畸形儿的出生率高达正常值的 50 倍。报道称,这种畸形病学名为“先天性上肢发育不全”,并非由遗传或药物因素引发。目前的调查尚无法确认德吕伊亚镇畸形儿的病因,只是确认其母亲在怀孕期间并未出现过妊娠或饮食异常。报道还称,这些畸形儿的母亲有一个共同特点:都长期在当地农村环境下生活。因此农田中的杀虫剂和其他化学药剂成了一大疑似病因。当地卫生部门因此向法国公共卫生部申请派遣专业人员进行深入调查。

考虑未来发展,人类在食品上将面临两种选择:一种是发展使用低毒农药或不使用农药的转基



图 11 在斯瓦尔巴特群岛的 3 个峡湾采集浮游植物的地图

地图来自网络: <http://noahhowell.com/2011/04/arctic-circle/>

因技术，另一种是发展对人类低毒甚至无毒的单一手性农药技术(当然转基因也需要这种技术)。据统计，国际上的市售手性农药约占 30%，主要以外消旋体形式存在(图 12)。手性农药的构型不同，其活性和毒性存在着巨大的差别。如某些左旋农药可能是杀人不杀虫(草)，而右旋结构则可能是杀虫(草)不杀人。如何控制并减少这些杀人不杀虫(草)的单一异构体的含量及其残留，就成为颇具挑战性的问题，同样也是未来降低农药毒性的重要发展方向。

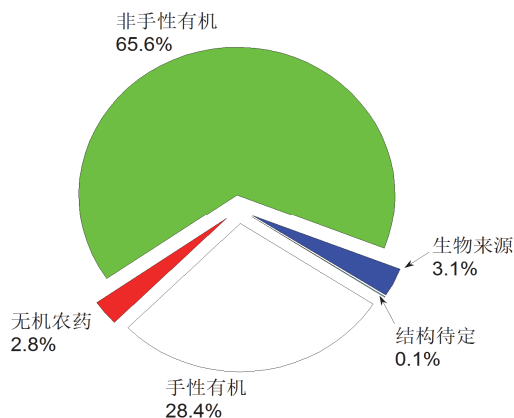


图 12 国际上市售手性农药的占比情况

在图 13 中，拟除虫菊酯化合物就是我们经常使用的蚊香或杀虫剂的活性成分。目前我国国家的杀虫剂中所含拟除虫菊酯一般都超过 30%，对其含量要求并无国家标准。而在欧美等国家，拟除虫菊酯含量不允许超过 10%！除草剂主要活性成分的(S)-(-)-2,4-滴丙酸(图 14)具有除草作用，且对人体危害较小；而它的对映异构体 (R)-(+)-构型则不仅不能除草，反而对人体有较强毒性作用。

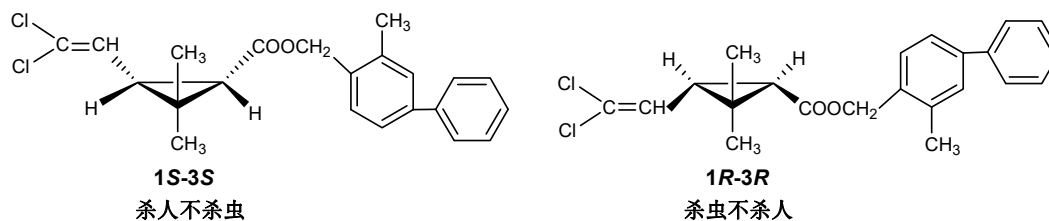


图 13 灭蚊剂中的拟除虫菊酯的分子结构

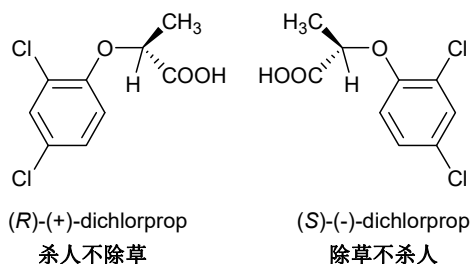


图 14 2,4-滴丙酸对映异构体的分子结构

多效唑(paclobutrazol)分子中含有两个手性中心(图 15), 共有 4 个光学异构体, 其中的(2*R*,3*R*)-异构体具有高杀菌作用和低植物生长控制作用; 而(2*S*,3*S*)-异构体则有低杀菌作用和高植物生长控制作用, 可用于植物生长调节。

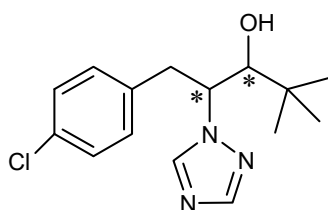


图 15 多效唑的分子结构

以上实例均表明, 在使用农药安全有效方面, 深入研究手性异构体的作用, 研发并应用单一光学异构体具有重要的意义。

然而, 迄今这些手性杀虫剂、除草剂和植物生长调节剂的手性异构体大多混在一起使用, 可能起着既杀人又杀虫、既除草又杀人的效果, 对人类健康及自然环境危害极大。如果在农药生产环节就把那些杀人不杀虫和杀人不除草的异构体除去, 将是一件多么美好的事情!

目前, 手性分析分离技术与产品处于领先地位的主要有日本、德国、美国的公司等, 这些跨国公司控制、甚至垄断着该行业的市场与技术。在中国政府的关注和大力支持下, 国内新崛起的科技创新型企业, 正专注于手性色谱填料、手性药物分离工艺的研发及产业化, 拥有核心技术和自主知识产权, 将立足于与相关领域的优秀同行合作, 防范我国在健康及环境方面面临的风险。

参 考 文 献

- [1] 谢雨礼. 新药火热的今天, 回顾史上最大医学灾难. 药时代. [2018-11-13]. <https://51jinke.com/news/5bea397fd42cbc261034c120>.
- [2] Hoffmann, R. *The Same and Not the Same*; Columbia University Press: New York, 1995. 吕慧娟, 译. 储三阳, 审订. 大师说化学. 第 2 版. 台北: 远见天下出版有限公司, 2016.

- [3] 这个故事叫做从磺胺到反应停. [2017-04-21]. <https://www.ouryao.com/thread-358518-1-1.html>.
- [4] 丁香园. 那些“反应停事件”的受害者, 现在都过的怎样了. [2017-01-24].
<https://baobao.baidu.com/article/bbc7dc8adec39acda9144c07781f04cb.html>.
- [5] 李丹. 化合物的集成手性光谱及其应用研究[D]. 厦门: 厦门大学, 2017.
- [6] 刘华杰. 科技潮, **2009**, No. 3, 42.
- [7] 孟杰, 王媛媛, 李志泉. 原子核物理评论, **2017**, 34 (3), 310.
- [8] 范莉, 侯小龙, 王文清, 施春阳, 童庆, 方建国. 中草药, **2016**, 47 (22), 4076.
- [9] 冉京燕, 方建国, 谢雪佳, 熊微, 王文清. 中草药, **2016**, 47 (20), 3728.
- [10] 郭栋. 晶型手性化合物的集成手性光谱方法学初探[D]. 厦门: 厦门大学, 2016.
- [11] 王文清, 熊微, 方建国, 施春阳, 刘旭, 陈婧, 侯小龙, 童庆. 一种控制二氢杨梅素消旋率的方法: 中国, 201510062355.8[P]. 2015-05-20.
- [12] Wang, C.; Xiong, W.; Perumalla, S. R.; Fang, J.; Sun, C. C. *Int. J. Pharm.* **2016**, 55 (1), 245.
- [13] 宋新荣, 任启生, 陈黄实. 二氢杨梅素注射剂, 粉针剂及其制备方法: 中国, 200710111212.7[P]. 2008-12-24.
- [14] 阮丽君, 章伟光, 赖烨才, 范军, 高昊, 雷红涛, 刘博, 程魁, 林粤美, 于洋, 王传喜, 韦晓群, 李美英, 徐方方. 二氢杨梅素手性异构体的检测 液相色谱法. T/GDPA 1-2019. [2019-01-23]. <http://www.ttbz.org.cn/StandardManage/Detail/26108?from=singlemessage&isappinstalled=0>.
- [15] Carlsson, P.; Warner, N. A.; Hallanger, I. G.; Herzke, D.; Kallenborn, R. *Environ. Pollut.* **2014**, 192, 154.
- [16] 法国东部小镇 5 年诞生 7 名畸形儿 杀虫剂污染疑是“元凶”. [2018-10-06].
<http://baby.sina.com.cn/health/bbjk/hxse/2018-10-06/doc-ihkmwytq0418200.shtml>.