细胞膜仿生亲和识别技术在中药活性成分筛选中的应用研究进展

胡琪[1,2]，解笑瑜[1,2*]，王嗣岑[1,2**]

（1. 西安交通大学药学院，陕西 西安 710061；2. 陕西省心血管药物工程技术研究中心，陕西 西安 710061）

[摘要] 由于中药化学成分的复杂性以及作用机制的不明确性，采用合适的方法对中药活性成分进行筛选，以及对药效物质基础进行解析是中药研究需要面对的关键挑战。近年来，基于天然细胞膜靶向特异性的仿生亲和识别系统已被证明是筛选中药活性化合物的有效方法。该技术可在体外实现药物体内过程的模拟，在复杂体系分析中具有独特优势，作为一种新兴技术在药物发现领域具有潜在应用前景。综述了基于细胞膜的亲和识别策略在高效发现中药生物活性化合物方面的研究进展，并对其面临的挑战和未来发展方向进行了探讨，以期为该技术的进一步改善与应用提供思路与参考。

[关键词] 中药；活性成分筛选；细胞膜亲和识别；微纳米载体

[中图分类号] R285　[文献标志码] A　[文章编号] 1001-5094（2023）11-0864-11

DOI: 10.20053/j.issn1001-5094.2023.11.007

Advances in Research on the Application of Cell Membrane-based Bionic Affinity Recognition Technology in Screening of Bioactive Components in Traditional Chinese Medicines

HU Qi[1,2], XIE Xiaoyu[1,2], WANG Sicen[1,2]

(1. School of Pharmacy, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, China; 2. Shanxi Engineering Research Center of Cardiovascular Drugs Screening & Analysis, Xi'an 710061, China)

[Abstract] Given the complexity of the chemical components in traditional Chinese medicines (TCMs) and the uncertainty of their action mechanisms, the screening of bioactive components from TCMs by appropriate methods and the analysis of the basis of the pharmacodynamic substances remain a major challenge. In recent years, the bionic affinity recognition systems based on the targeting specificity of natural cell membranes have been proved to be an effective method for screening active compounds from TCMs. This technology has the capability to simulate the *in vivo* drug process *in vitro*, and offers distinct advantages in analyzing complex systems. As an emerging technology, it holds potential application prospects in the field of drug discovery. In this article, we reviewed the research progress of the membrane-based affinity recognition strategy for efficiently discovering bioactive compounds from TCMs. Additionally, the challenges and future development directions of membrane-based affinity recognition strategy were explored to provide ideas and references for the further improvements and applications of this technology.

[Key words] traditional Chinese medicine; active components screening; cell membrane-based affinity recognition; micro-nano carrier

中药一直在医疗保健体系中扮演着重要角色，其含有丰富的生物活性化合物，被认为是新药发现的可再生资源[1−3]。以中药为资源研发创新药物，一直是我国新药创制的重要途径，例如石杉碱甲、丁苯酞等创新药物都来源于中药[4−7]。特别是青蒿素的发现进一步证明了中药在创新药物发现中的重要性[8]。这些成功范例启发我们要从历史传承的中医药宝库中探索新的出路，以中医药理论为指导，结合现代化的科学技术，开发有效的分析方法，从中药中发现有前景的候选药物。

中药复杂的化学成分和作用机制意味着有效的物质基础研究是一个缓慢的过程。经典的活性成分

接受日期：2023-02-17
* 通信作者：解笑瑜，教授；
研究方向：药物复杂体系成分与活性分析研究；
Tel：029-82656788；E-mail：xiexiaoyu@xjtu.edu.cn
** 通信作者：王嗣岑，教授；
研究方向：药物分析新方法、新材料、新装置；
Tel：029-82656788；E-mail：wangsc@mail.xjtu.edu.cn

筛选方法通常始于化学提取，然后进行繁琐的分离及结构鉴定，再采用不同的生物分析方法对每个成分进行活性验证，最终确定有效成分[9]。这些过程非常费时费力，并且在重复的分离纯化步骤中，活性成分可能会丢失，难以获得足够的化合物用于后续的活性验证[10]。

现代药理学研究表明，药物与细胞膜上作用靶标相互结合的能力至关重要。因此，许多生物模型已被用于从中药中筛选活性化合物[11−12]。其中，以微纳米粒子为载体的细胞膜仿生亲和识别技术既保留了载体本身的理化特性，又共享了天然细胞膜的固有生物性能，具有特异性高、亲和力强以及方便快捷等特点，在药物筛选应用中表现出显著的潜力[13]。本文将对细胞膜仿生亲和识别技术的研究进展进行总结，以期为进一步开发中药活性成分高效筛选策略提供参考。

1 细胞膜色谱法简介

细胞膜色谱法(cell membrane chromatography，CMC)是由贺浪冲教授于1996年提出的一种生物亲和色谱技术[14]。该技术将细胞生物学、受体药理学与液相色谱相结合，利用药物与受体间的特异性亲和力，将药物在体内的作用过程在色谱柱内进行动态模拟。由于其同时具有受体亲和与色谱分离的双重功能，在进行中药药效物质基础研究时，无需分离纯化即可快速、高效地完成活性成分的筛选，在中药复杂体系活性成分筛选方面具有独特的优势。

近年来，随着分子生物学技术的发展以及分析仪器的进步，细胞膜色谱分析系统也得到了提升，如高表达受体细胞膜色谱、细胞膜二维联用色谱等技术的应用极大地促进了CMC的发展[15−18]。笔者所在课题组以高表达受体CMC为核心，开发了集识别、分离、鉴定于一体的细胞膜色谱-液相色谱-质谱联用(CMC-HPLC-MS)二维分析系统。近年来，课题组应用建立的多种细胞膜色谱模型对160余种中药进行了筛选研究，发现了多个具有抗肿瘤、抗心肌缺血、抗炎、抗前列腺增生等作用的活性成分。例如，以酪氨酸激酶受体作为抗肿瘤药物筛选靶点，构建了表皮生长因子受体(EGFR)、血管内皮细胞生长因子受体(VEGFR)2及ephrinb2等受体的高表达细胞株，并利用CMC-HPLC-MS二维分析系统对红毛七等中药材的抗肿瘤活性成分进行筛选，得到了塔斯品碱等抗肿瘤血管生成先导物[19−21]。此外，Lv等[22]构建了血管紧张素转化酶(angiotensin-converting enzyme，ACE)2过表达的HEK293细胞系(ACE2/HEK293)，建立了ACE2/CMC-HPLC-离子阱(IT)-飞行时间(TOF)-MS体系，从麻黄中筛选潜在的抗病毒化合物。筛选出的麻黄碱、伪麻黄素和甲基麻黄碱具有抑制SARS-CoV-2刺突假病毒进入ACE2/HEK293细胞的作用，显示出对COVID-19的潜在治疗能力。

2 正常/病理细胞膜色谱比较分析系统

以受体高表达细胞系的细胞膜作为靶标细胞膜是筛选特定受体激动剂和拮抗剂的实用方法，但是中药具有多组分、多靶点协同作用的特点，这种针对单一靶标受体的模型不符合中医药整体性和动态性的基本特性，因此不适用于多组分靶标的筛选。在所有细胞膜来源中，病理组织由于能最大限度地模拟体内药物-受体相互作用，是中药筛选最理想的材料。使用正常/病理细胞膜色谱比较分析系统可以筛选出作用于病理细胞膜的特定成分，并且能够使用阳性药物研究靶蛋白在正常状态和病理状态之间的变化。但是由于制备病理组织衍生的CMC模型有一定难度，且在正常和病理CMC模型之间进行大规模比较存在一些技术限制，这种方法应用较少。

Chen等[23]建立了正常/衰竭大鼠心肌细胞膜色谱比较分析系统，筛选附子中具有抗阿霉素诱导的心力衰竭活性的成分。通过构建正常大鼠的心肌组织细胞膜色谱系统和阿霉素诱导的心衰大鼠的心肌组织细胞膜色谱系统，比较附子提取液在两者之间保留行为差异，从附子中成功筛选出16种心肌细胞膜结合成分和3种特异性的抗心衰活性成分。此外，该课题组为阐明民间医学中用于治疗尿石症的光石韦的药效物质及其抗尿路结石的作用机制，通过构建正常人肾皮质近曲小管上皮细胞(HK-2)

膜色谱系统和晶体性肾损伤（CIKI）的 HK-2 细胞膜色谱系统，开发了一种二维 HK-2 和 HK-2/CIKI CMC 比较分析系统，具有较高的选择性[24]。课题组通过该系统筛选鉴定出 8 种成分，其中芒果苷对 HK-2/CIKI CMC 柱的亲和力高于 HK-2 CMC 柱，是一种理想的抗 CIKI 先导物，值得进一步研究。

3 基于功能化策略的细胞膜色谱法

近年来，尽管 CMC 已经得到了广泛应用，但仍然存在一些问题。例如，细胞膜色谱柱在使用过程中膜受体容易在外界环境影响下失活; 另一方面，固定相表面负载的细胞膜容易脱落，导致细胞膜色谱柱的柱寿命较短。因此，随着研究的深入，为了能够更适应生物材料的敏感性、满足复杂体系药物筛选的实际要求，各种功能化策略被广泛应用，以促进 CMC 的改进。

3.1 固定相功能化策略

色谱固定相的化学修饰是提高其结合能力的有效方法。通过特定化学基团的键合与暴露，生物分子可以被捕获并共价固定。胺-醛亲核加成反应是将蛋白质固定在具有稳定亚胺键的载体表面的常用策略之一，优点是条件温和、产率较高，非常适用于生物活性分子反应体系，特别是细胞膜碎片。Liu 等[25]通过简单温和的两步醛修饰制备了 P-糖蛋白（P-gp）固定化细胞膜色谱固定相（P-gp/CMSP），实现了细胞膜与固定相的共价键合（见图 1）。与未改性的色谱柱相比，色谱柱寿命和稳定性显著提高，实现了复杂化学样品的自动化、高通量分析和快速鉴定。该课题组将此二维分析系统应用于黄芩中潜在 P-gp 抑制剂的筛选，分离出 5 种保留时间较长的化合物，其中黄芩苷是一种具有潜力的 P-gp 抑制剂。

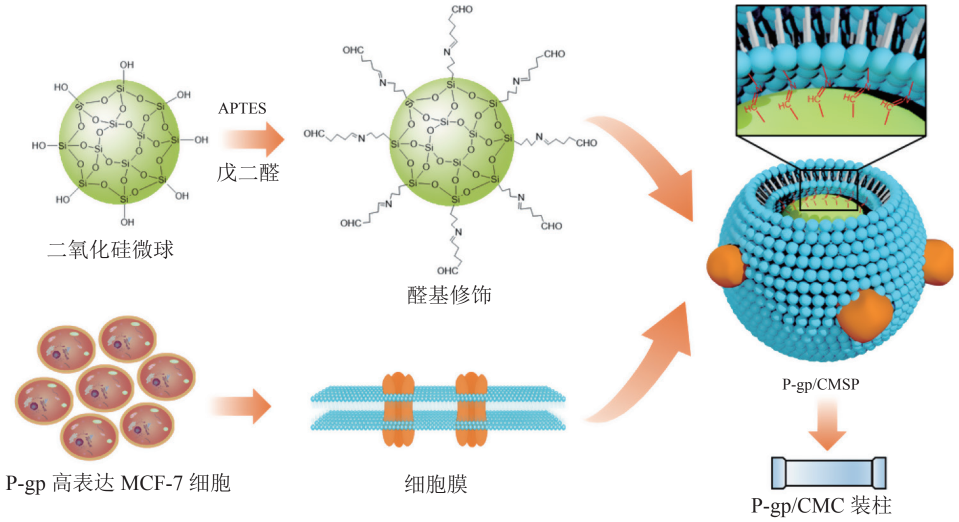


图 1 共价修饰 P-gp 高表达细胞膜色谱固定相制备示意图[25]

Figure 1 Schematic illustration of the preparation of covalently modified P-gp highly expressed cell membrane chromatographic stationary phase[25]

3.2 细胞膜功能化策略

在色谱固定相的化学修饰基础上，近来研究人员将目光转向细胞膜表面的功能化，以此作为改善 CMC 的指导原则。例如，Fu 等[26]为了克服传统 CMC 存在的稳定性差的问题，使用 DNA 烷基转移酶标签（SNAP-tag）作为与 EGFR 融合的固定化标签，构建了具有融合受体的 EGFR/HEK293 细胞。同时，将 SNAP-tag 底物 O^6-苄基鸟嘌呤（BG）衍生物修饰在硅胶表面。利用 SNAP-tag 活性位点上的 Cys145 与 BG 的特异性结合，将 EGFR/HEK293 细胞的细胞膜共价固定在硅胶表面制备色谱柱，构建了 SNAP 标记的 EGFR/CMC 在线 HPLC-IT-TOF-MS 模型（见图 2），该模型具有良好的稳定性和优异的特异性识别能力。课题组将该模型与 HPLC-IT-TOF-MS 相结合，用于中药淫羊藿中潜在 EGFR 拮抗剂的筛选，得到淫羊藿苷、玉兰碱、朝藿定 B 和

朝藿定 C 这 4 个保留组分，通过药理实验初步证明玉兰碱可靶向 EGFR，抑制癌细胞生长。这种细胞膜固定过程快速、定向、化学选择性好以及稳定性高，为促进 CMC 在药物研发中的应用提供了可能。

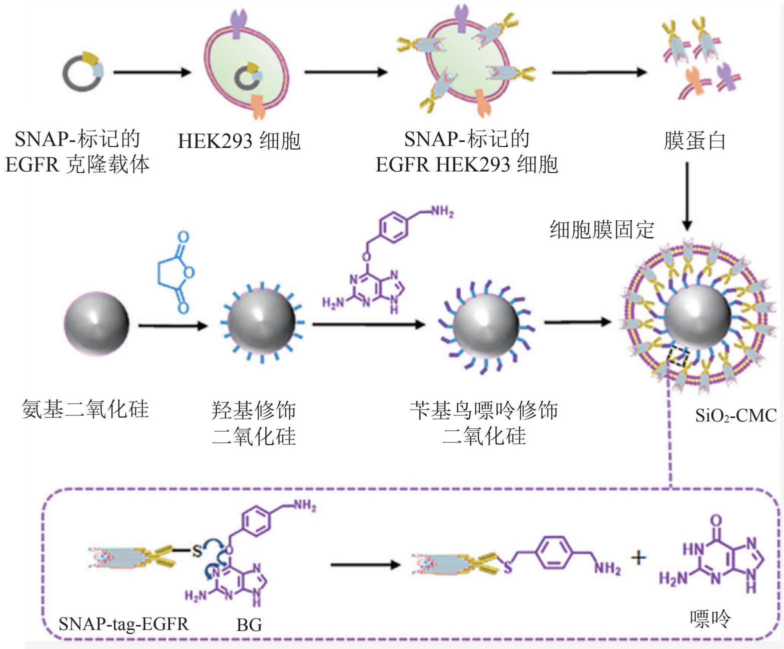


图 2 基于 SNAP-tag 策略的细胞膜色谱固定相制备示意图[26]

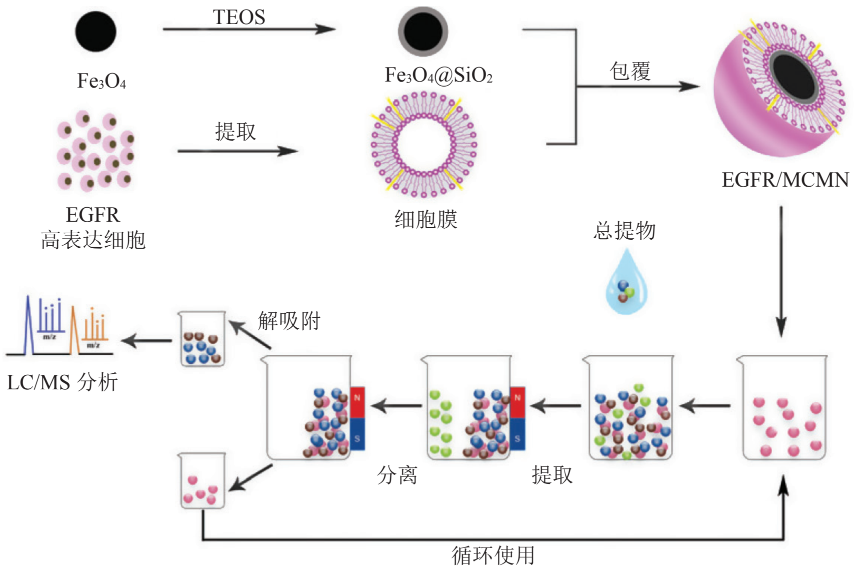
Figure 2 Schematic illustration of the preparation of cell membrane chromatographic stationary phase based on SNAP-tag strategy[26]

4 细胞膜磁性筛选技术

磁性纳米粒子（magnetic nanoparticle，MNP）既具有比表面积大、易于修饰、偶联容量高等纳米材料所特有的性质，还具有独特的磁学性质，在测定有机污染物、金属离子和生物活性物质等领域得到广泛应用。相比于一般吸附剂，磁性纳米粒子的超顺磁性能够在吸附过程完成后，通过外加磁场使吸附待测物质的材料迅速与液体分离，缩短了常规分析时间，具有较高的萃取效率；同时磁性纳米粒子还可重复使用、成本小，可在一定程度上解决中药复杂成分提取分离的难题。

磁性分离技术与细胞膜仿生平台的结合，为从中药中识别分离目标活性化合物提供了一种快速有效的方法。近年来，笔者所在课题组以多种磁性纳米材料为载体，构建了一系列细胞膜药物筛选磁性材料，其同时具有高亲和力和快速磁响应性的特点，可以实现中药复杂基质中微量活性成分的快速发现与富集。例如，Bu 等[27]利用 EGFR 高表达细胞膜包裹磁性纳米粒子，开发了一种 EGFR/ 磁性细胞膜纳米粒子（MCMN），用于从中药中筛选潜在的抗肿瘤活性化合物（见图 3）。最终，从中药川乌中筛选获得 2 种生物活性化合物：苯甲酰美沙乌头碱和次乌头碱。

此外，Lukasz M. Ciesla 团队设计了基于磁球的 $\alpha_3\beta_4$ 烟碱受体细胞膜亲和识别磁性材料及酪氨酸受体激酶 B（TrkB）细胞膜亲和识别磁性材料（见图 4），分别用于烟草中与 $\alpha_3\beta_4$ 烟碱受体作用的化合物及积雪草提取物中与 TrkB 相互作用的活性化合物的筛选[28-29]。瓜蒌桂枝汤是一种经典的复方，对缺氧缺糖/再灌注（OGD/R）损伤有改善作用，临床上被广泛应用于治疗脑卒中，但是它的活性成分仍然不明确。He 等[30]用原代大鼠脑微血管内皮细胞（rBMEC）膜包覆磁球，使获得的颗粒具有磁响应核心和富含细胞膜受体的外壳，并将它们与瓜蒌桂枝汤提取物一起孵育以筛选对 OGD/R 损伤具有潜在治疗作用的活性成分。该课题组鉴定出 7 种细胞膜结合化合物：没食子酸、芍药苷、甘草素、异甘草素、甘草苷、异甘草苷和芒柄花素。



TEOS：正硅酸乙酯；

图 3 EGFR/MCMN 制备及应用示意图[27]

Figure 3 Schematic illustration of the preparation and application of EGFR/MCMN[27]

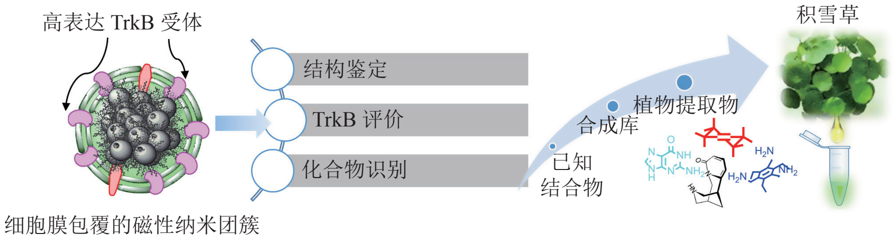


图 4 高表达 TrkB 受体细胞膜包覆的纳米团簇的制备及应用示意图[29]

Figure 4 Schematic illustration of the preparation and application of nanoclusters encapsulated by the cell membrane highly expressing TrkB receptors[29]

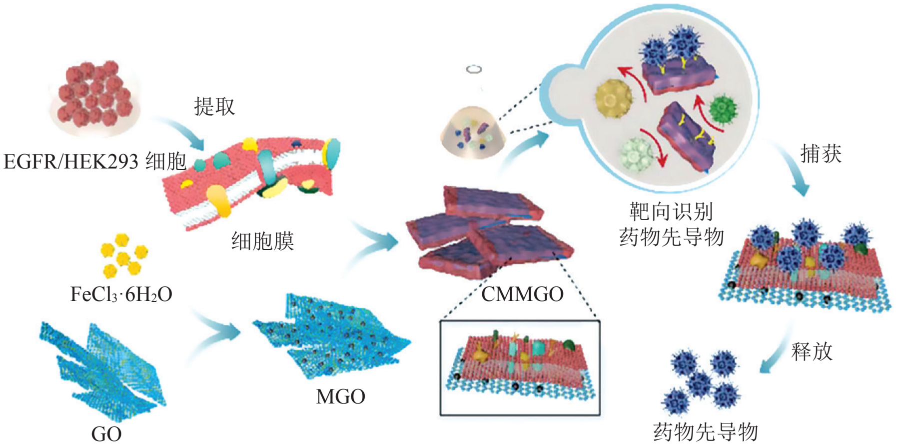
5 高负载量细胞膜筛选技术

5.1 载体材料的选择

与传统的固定化材料相比，纳米载体材料介导的生物大分子固定化技术在亲和识别领域展示出可观的应用前景。近几年，随着纳米生物技术的发展，越来越多性能优良的新型载体被开发，为生物大分子固定化技术的应用提供了前所未有的发展空间。由于固有的大表面积，纳米载体材料可以更好地与生物大分子相互作用，使负载得到改善，增加了单位质量或体积的生物活性[31]。因此，基于纳米载体材料的固定化技术将极大地提高固定化效率，并增强长期储存和再循环稳定性，在亲和识别领域具有广阔的应用前景。载体材料的性质和固定化过程是影响生物大分子活性的关键，新的纳米载体材料的开发为提高生物大分子的内在稳定性和操作稳定性提供了新的机遇。在选择载体材料时需要全方面考虑到材料的性能，如吸附能力、生物相容性和稳定性等特点。

近年来，碳纳米管、石墨烯及富勒烯等碳纳米材料的开发，及其与新型纳米技术、合成技术等新兴技术的结合诞生了丰富的生物大分子固定化载体材料和固定化技术，它们受到了越来越多的关注[32]。基于碳纳米材料的纳米尺寸、高负载效率、丰富的表面化学以及良好的生物相容性[33]，笔者所在课题组以碳纳米管及石墨烯为载体，制备了一系列高负载量的细胞膜药物筛选磁性碳基材料。课题组对所获得的药物筛选材料的形貌、理化性质、磁性和晶体结构等进行了表征，同时对其吸附容量和选择性

进行了考察。该药物筛选材料被成功用于川乌、蒲公英等中药潜在活性成分的快速识别和分离鉴定。例如，通过 α_{1A}-肾上腺素受体（α_{1A}-AR）/HEK293 细胞的细胞膜包覆的磁性碳纳米管，筛选得到川乌中 2 种潜在的 α_{1A}-AR 拮抗剂——苯甲酰新乌头原碱和拉巴乌头碱，并结合药理学实验对其前列腺舒张作用进行了验证[34]。以 EGFR/HEK293 细胞的细胞膜包覆的磁性氧化石墨烯（见图 5），从中药蒲公英中筛选出木犀草素和咖啡酸这 2 种潜在活性成分，进一步结合分子生物学、药理学实验等对这 2 种化合物的抗肿瘤活性进行了初步验证[35]。



GO：氧化石墨烯；MGO：磁性氧化石墨烯；CMMGO：细胞膜包覆磁性氧化石墨烯

图 5 基于磁性氧化石墨烯的细胞膜亲和识别材料的制备及应用流程图[35]

Figure 5 Schematic illustration of the preparation and application of cell membrane affinity recognition materials based on magnetic graphene oxide[35]

此外，Liu 等[36]以水热碳质纳米材料为载体，设计了基于成骨细胞膜的磁性药物筛选平台，用于从中药中高效识别和分离潜在的抗骨质疏松化合物。制备的筛选材料具有良好的选择性、重复性和敏感性，被顺利地应用于蛇床子中活性化合物的选择性提取，并识别出 4 种特异性成分，其中异茴芹内酯和花椒毒醇为新的潜在抗骨质疏松化合物。该课题组通过药理实验初步证实了这 2 种化合物在一定的剂量浓度下能促进成骨细胞的增殖，提高碱性磷酸酶活性，以及促进成骨细胞的钙沉积，提示其对成骨细胞增殖、活性、分化和成熟等多个方面有明显的改善作用，表明课题组设计的筛选方法具有一定准确性。

5.2 载体功能化策略

细胞膜与纳米载体之间的界面相互作用是决定细胞膜能否有效地固定在纳米载体上的关键因素。由于静电电荷的存在，纳米载体在含盐介质或生理介质中有很强的聚集倾向，这大大减少了接触面积，从而导致细胞膜负载率低。因此，如何在细胞膜固定前避免纳米载体的聚集，同时保持细胞膜的生物活性是细胞膜仿生亲和识别材料面临的一个关键挑战。例如，石墨烯的固有化学成分和横向尺寸对其分散性有一定的影响，导致细胞膜固定过程中的聚集。随着细胞膜药物筛选研究工作不断深入，为了解决细胞膜与碳纳米材料结合过程中载体材料聚集的问题，笔者所在课题组利用生物相容性聚合物改性策略，制备了基于稳定分散磁性石墨烯载体的高负载量细胞膜药物筛选材料，利用 6-armed PEG-NH_2 对磁性氧化石墨烯表面功能化，改善纳米载体分散性，将其稳定分散时间从 1 h 提高到了 10 d，避免了细胞膜包被过程中纳米载体的聚集，增加了两者接触面积，进而提高了细胞膜的负载量。所制备的高负载量细胞膜药物筛选材料表现出优异的吸附容量和选择性。课题组利用 HeLa 细胞膜固有的配体识别能力，从白芷中筛选出白当归脑、欧前胡素和异欧前胡素 3 个潜在活性成分，通过药理实验初步证明了其对 HeLa 细胞的抗增殖活性[37]。

6 高稳定性细胞膜磁性筛选技术

目前常用的细胞膜磁性筛选材料中，膜磷脂与载体材料表面羟基之间的静电相互作用和氢键是维持膜涂层稳定性的主要作用，这些作用相对较弱且不稳定，容易受外界因素的影响，导致细胞膜涂层从载体表面脱落，极大地限制了这一材料的应用。通过引入磁性载体表面功能化策略，以更强的共价键取代细胞膜与载体之间的疏水相互作用，已成为解决上述生物材料稳定性差的有效方法。笔者所在课题组通过共价反应将 α_{1A}-AR/HEK293 细胞的细胞膜固定在醛基修饰的磁性载体表面，通过形成稳定的胺键，实现细胞膜稳定包覆。实验结果表明，该方法提高了材料在实际应用中的稳定性，经过 5 次吸附和解吸循环后回收率下降 3.4%[38]。此外，碳二亚胺活化法是一种常用的共价固定生物分子的方法，它可以显著提高分子间的结合强度，并表现出较好的生物相容性。由此启发，笔者所在课题组基于前期以磁性碳纳米管（MCNT）为载体成功制备得到细胞膜药物筛选磁性碳基材料的工作基础，进一步利用 1-乙基-（3-二甲氨基丙基）碳二亚胺盐酸盐（EDC）和 *N*-羟基琥珀酰亚胺（NHS）使羧基化碳纳米管（CNT-COOH）形成稳定的活性酯，得到的 EDC/NHS 修饰的 MCNT（CMCNT）能与广泛存在于细胞膜磷脂中的氨基发生反应（见图 6）。因此，细胞膜与碳纳米管载体材料之间的疏水作用或氢键作用被共价键取代，结合力增强，细胞膜涂层的稳定性得到提高。制备的共价固定化细胞膜药物筛选磁性材料——由 ephrinb2/HEK293 细胞的细胞膜包覆的 CMCNT（CMCNT@ephrinb2）在中药活性成分筛选方面表现出更高的灵敏度。课题组将该材料用于乌头提取物中能作用于 ephrinb2/HEK293 细胞的潜在活性成分的筛选。从富集后的洗脱液检测出 3 个成分，经质谱初步鉴定，分别为新乌头原碱、德尔塔林和 13-去羟基印乌碱。进一步通过药理学实验证明了这 3 种成分均对 ephrinb2/HEK293 细胞呈剂量依赖性抑制作用，且其中新乌头原碱和 13-去羟基印乌碱能显著抑制 ephrinb2 的表达，具有进一步研究的价值[39]。

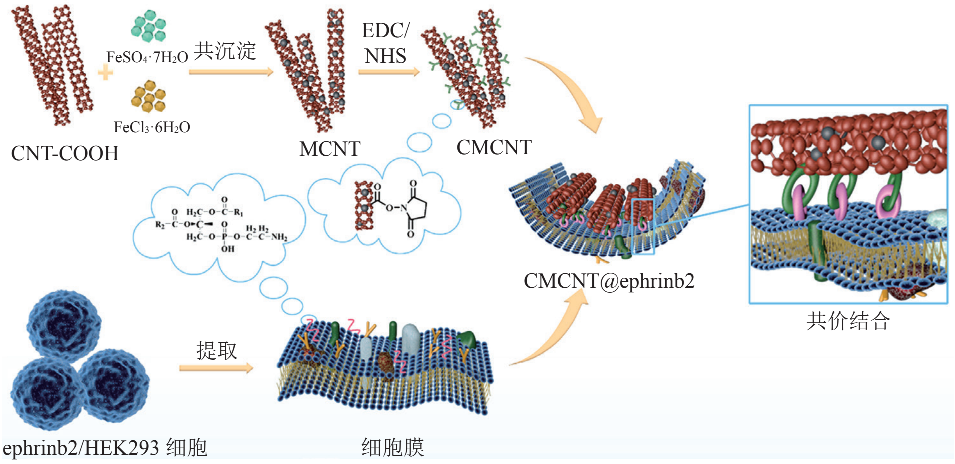


图 6 细胞膜共价固定化策略[39]

Figure 6 Strategy for covalent immobilization of cell membrane[39]

此外，有研究人员构建了基于酰胺键固定化的 HT-22 细胞膜磁性筛选系统，用于筛选黄连解毒汤中发挥神经保护作用的活性成分。他们成功地从黄连解毒汤中分离并鉴定出可与 HT-22 细胞膜特异性结合的 15 个成分。其中 7 种成分（木兰碱、格兰地新、小檗红碱、黄芩苷、甲基黄连碱、去氢紫堇碱及千层纸素 A-7-*O*-*β*-*D*- 葡萄糖醛酸苷）在降低谷氨酸诱导的毒性方面表现出不同程度的活性[40]。

7 高有序性细胞膜磁性筛选技术

以微纳米粒子为载体的细胞膜仿生亲和识别技术既保留了载体本身的理化特性，又共享了天然细胞膜的固有生物性质和功能，具有特异性高、亲和力强以及方便快捷等特点，在药物筛选应用中表现

出显著的优势和潜力。但是，现有细胞膜药物筛选技术存在着无序融合的问题，是发现中药活性成分的技术瓶颈。一些药物的作用靶点为跨膜受体的胞内结构域，例如酪氨酸激酶受体。目前的细胞膜包被方法不能满足该类药物发现的需求，也就是说，无序融合的细胞膜涂层无法最大程度地模拟药物与膜内靶点的相互作用，并可能导致假阳性结果。因此，需要开发有序性的细胞膜药物筛选材料，以满足药物先导物发现的需求。

细胞膜工程通过对细胞膜表面的蛋白质或磷脂进行精确修饰，为赋予生物材料新的功能提供了有力的手段。Bu 等[41] 对 A549 细胞膜外表面定位修饰生物素，对 Fe_3O_4 纳米粒子进行链霉亲和素功能化，通过生物素与链霉亲和素之间的反应，制备定向的膜内侧朝外的细胞膜仿生磁性纳米粒子（IOCMMNP），用于高特异性捕获中药中潜在的 EGFR 拮抗剂（见图 7）。静态吸附实验及 Freundlich 模型拟合证明，相比于细胞膜随机包覆的仿生磁性纳米粒子，IOCMMNP 具有更多活性位点，有利于活性成分的识别。课题组最终将其应用于马钱子中潜在的 EGFR 拮抗剂的筛选，结合 HPLC-IT-TOF-MS 鉴定出 2 个潜在活性化合物 10，11-二甲氧基马钱子碱和马钱苷元。初步药理学实验证明这 2 个化合物能显著抑制 A549 细胞增殖及 EGFR 表达。此外，课题组通过分子对接研究证明其与 EGFR 酪氨酸激酶结构域具有高亲和力。该研究证明细胞膜有序涂层策略有助于保持细胞膜的自然结构，这种细胞膜工程是一种通用方法，适用于所有细胞膜，可根据不同受体筛选特定的活性化合物。

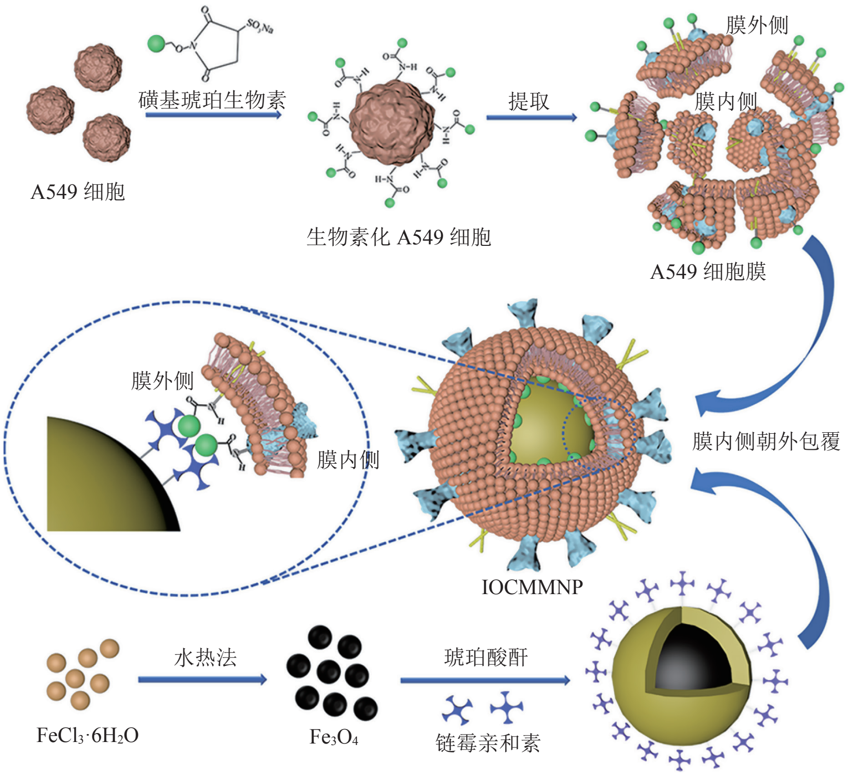


图 7 高有序性细胞膜涂层策略[41]

Figure 7 Strategy for highly ordered coating of cell membrane[41]

8 结语与展望

细胞膜仿生药物筛选技术，利用天然细胞膜的固有功能实现中药潜在活性化合物的快速发现，迄今已研究 20 余年，从应用模式到材料性能都得到了完善和优化。从单维细胞膜色谱分析系统到二维细胞膜色谱分析系统，从正常细胞到病理组织细胞，从常规分离模式到磁性分离，从无序到有序，不断减少分析步骤、缩短分析时间、优化材料性能，使

分析方法的准确性得到提高。近年来，笔者所在课题组根据实际研究目的，选取不同特性的无机微纳米载体材料，如硅胶、磁性纳米粒子、碳纳米管、氧化石墨烯等，制备出以性能为导向的生物亲和材料，并通过改善材料性能、完善分析参数，最终建立起高效的分析方法。

相比于其他方法，细胞膜仿生药物筛选技术具有高效、快速及灵敏的特点，且研究人员通过大量实验对其可靠性进行了验证。然而，该技术仍然存在着一些问题，例如，作为生物材料，细胞膜易受外界环境干扰；细胞膜仿生药物筛选材料在实际应用过程中对有机溶剂耐受性不高；载体表面的细胞膜不能完全模拟活细胞的特性，可能存在筛选不完全或假阳性的缺点；细胞膜需求量较大，对于原代细胞等难以获得的珍稀细胞系较为困难，使其使用范围受限。因此，未来的研究工作要以上述问题为突破点，将中药传统研究与现代科学技术交叉融合，为我国创新药物的发展做出更大的贡献。

[参考文献]

[1] Koehn F E, Carter G T. The evolving role of natural products in drug discovery[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2005, 4(3): 206−220.

[2] Harvey A L. Natural products as a screening resource[J]. *Curr Opin Chem Biol*, 2007, 11(5): 480−484.

[3] Wang Y, Fan X H, Qu H B, *et al*. Strategies and techniques for multi-component drug design from medicinal herbs and traditional Chinese medicine[J]. *Curr Top Med Chem*, 2012, 12(12): 1356−1362.

[4] Atanasov A G, Zotchev S B, Dirsch V M, *et al*. Natural products in drug discovery: advances and opportunities[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2021, 20(3): 200−216.

[5] Heard S C, Wu G W, Winter J M. Antifungal natural products[J]. *Curr Opin Biotechnol*, 2021, 69: 232−241.

[6] Harvey A L, Edrada-Ebel R, Quinn R J. The re-emergence of natural products for drug discovery in the genomics era[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2015, 14(2): 111−129.

[7] Mignani S, Rodrigues J, Tomas H, *et al*. Dendrimers in combination with natural products and analogues as anti-cancer agents[J]. *Chem Soc Rev*, 2018, 47(2): 514−532.

[8] Tu Y Y. The discovery of artemisinin (qinghaosu) and gifts from Chinese medicine[J]. *Nat Med*, 2011, 17(10): 1217−1220.

[9] Balunas M J, Kinghorn A D. Drug discovery from medicinal plants[J]. *Life Sci*, 2005, 78(5): 431−441.

[10] Li D Q, Zhao J, Wu D, *et al*. Discovery of active components in herbs using chromatographic separation coupled with online bioassay[J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2016, 1021: 81−90.

[11] Fu Y W, Luo J Y, Qin J A, *et al*. Screening techniques for the identification of bioactive compounds in natural products[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2019, 168: 189−200.

[12] Hou X R, Lou X Y, Guo Q, *et al*. Development of an immobilized liposome chromatography method for screening and characterizing alpha-glucosidase-binding compounds[J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2020, 1148: 122097. DOI: 10.1016/j.jchromb.2020.122097.

[13] Bu Y S, Hu Q, Bao T, *et al*. Recent advances in cell membrane-coated technology for drug discovery from natural products[J]. *Trends Analyt Chem*, 2022, 151: 116601. DOI:10.1016/j.trac.2022.116601.

[14] He L C, Yang G D, Geng X D. Enzymatic activity and chromatographic characteristics of the cell membrane immobilized on silica surface[J]. *Chin Sci Bull*, 1999, 44(9): 826−831.

[15] Hou X F, Sun M, Bao T, *et al*. Recent advances in screening active components from natural products based on bioaffinity techniques[J]. *Acta Pharm Sin B*, 2020, 10(10): 1800−1813.

[16] Ma W N, Wang C, Liu R, *et al*. Advances in cell membrane chromatography[J]. *J Chromatogr A*, 2021, 1639: 461916. DOI: 10.1016/j.chroma.2021.461916.

[17] Muhammad S, Han S L, Xie X Y, *et al*. Overview of online two-dimensional liquid chromatography based on cell membrane chromatography for screening target components from traditional Chinese medicines[J]. *J Sep Sci*, 2017, 40(1): 299−313.

[18] Wang X Y, Chen X F, Gu Y Q, *et al*. Progress of cell membrane

chromatography and its application in screening active ingredients of traditional Chinese medicine[J]. *Chin J Anal Chem*, 2018, 46(11): 1695–1702.

[19] Sun M, Ren J, Du H, *et al*. A combined A431 cell membrane chromatography and online high performance liquid chromatography /mass spectrometry method for screening compounds from total alkaloid of *Radix Caulophylli* acting on the human EGFR[J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2010, 878(28): 2712–2718.

[20] Hou X F, Wang S C, Hou J J, *et al*. Establishment of A431 cell membrane chromatography-RPLC method for screening target components from *Radix Caulophylli*[J]. *J Sep Sci*, 2011, 34(5): 508–513.

[21] Zhang J, Zhang Y M, Zhang S Q, *et al*. Discovery of novel taspine derivatives as antiangiogenic agents[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2010, 20(2): 718–721.

[22] Lv Y N, Wang S S, Liang P D, *et al*. Screening and evaluation of anti-SARS-CoV-2 components from *Ephedra sinica* by ACE2/CMC-HPLC-IT-TOF-MS approach[J]. *Anal Bioanal Chem*, 2021, 413(11): 2995–3004.

[23] Chen X F, Cao Y, Zhang H, *et al*. Comparative normal/failing rat myocardium cell membrane chromatographic analysis system for screening specific components that counteract doxorubicin-induced heart failure from *Acontium carmichaeli*[J]. *Anal Chem*, 2014, 86(10): 4748–4757.

[24] Pan P C, Cheng J, Si Y C, *et al*. A stop-flow comprehensive two-dimensional HK-2 and HK-2/CIKI cell membrane chromatography comparative analysis system for screening the active ingredients from *Pyrrosiacalvata* (Bak.) Ching against crystal-induced kidney injury[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2021, 195: 113825. DOI: 10.1016/j.jpba.2020.113825.

[25] Liu Y, Wang X Y, Gu Y Q, *et al*. Covalent design of cell membrane stationary phase with enhanced stability for fast screening P-glycoprotein inhibitor[J]. *ACS Appl Bio Mater*, 2020, 3(8): 5000–5006.

[26] Fu J, Jia Q Q, Liang P D, *et al*. Targeting and covalently immobilizing the EGFR through SNAP-tag technology for screening drug leads[J]. *Anal Chem*, 2021, 93(34): 11719–11728.

[27] Bu Y S, Hu Q, Ke R F, *et al*. Cell membrane camouflaged magnetic nanoparticles as a biomimetic drug discovery platform[J]. *Chem Commun*, 2018, 54(95): 13427–13430.

[28] Sherwood J, Sowell J, Beyer N, *et al*. Cell-membrane coated iron oxide nanoparticles for isolation and specific identification of drug leads from complex matrices[J]. *Nanoscale*, 2019, 11(13): 6352–6359.

[29] Arituluk Z C, Horne J, Adhikari B, *et al*. Identification of TrkB binders from complex matrices using a magnetic drug screening nanoplatform[J]. *ACS Appl Bio Mater*, 2021, 4(8): 6244–6255.

[30] He D M, Wang P, Liao F Y, *et al*. Cell membrane-coated biomimetic magnetic nanoparticles for the bio-specific extraction of components from GualouGuizhi decoction exhibiting activities against oxygen-glucose deprivation/reperfusion injury[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2022, 209: 114528. DOI: 10.1016/j.jpba.2021.114528.

[31] Kim J, Grate J W, Wang P. Nanostructures for enzyme stabilization[J]. *Chem Eng Sci*, 2006, 61(3): 1017–1026.

[32] Wang Z Y, Dai Z H. Carbon nanomaterial-based electrochemical biosensors: an overview[J]. *Nanoscale*, 2015, 7(15): 6420–6431.

[33] Wang Z H, Yu J B, Gui R J, *et al*. Carbon nanomaterials-based electrochemical aptasensors[J]. *Biosens Bioelectron*, 2016, 79: 136–149.

[34] Hu Q, Bu Y S, Zhen X Y, *et al*. Magnetic carbon nanotubes camouflaged with cell membrane as a drug discovery platform for selective extraction of bioactive compounds from natural products[J]. *Chem Eng J*, 2019, 364: 269–279.

[35] Hu Q, Zhang X L, Jia L L, *et al*. Engineering biomimetic graphene nanodecoys camouflaged with the EGFR/HEK293 cell membrane for targeted capture of drug leads[J]. *Biomater Sci*, 2020, 8(20): 5690–5697.

[36] Liu S, Ye P Y, Sang Z Q, *et al*. Magnetic hydrothermal carbonaceous nanospheres bonded cell membranes as a stable and reusable platform

for discovering natural bioactive components[J]. *Chem Eng J*, 2023, 454: 140238. DOI:10.1016/j.cej.2022.140238.

[37] Hu Q, Jia L L, Zhang X L, *et al*. Accurate construction of cell membrane biomimetic graphene nanodecoys *via* purposeful surface engineering to improve screening efficiency of active components of traditional Chinese medicine[J]. *Acta Pharm Sin B*, 2022, 12(1): 394–405.

[38] Bu Y S, Hu Q, Zhang X L, *et al*. A novel cell membrane-cloaked magnetic nanogripper with enhanced stability for drug discovery[J]. *Biomater Sci*, 2019, 8(2): 673–681.

[39] Hu Q, Bu Y S, Cao R Q, *et al*. Stability designs of cell membrane cloaked magnetic carbon nanotubes for improved life span in drug leads screening[J]. *Anal Chem*, 2019, 91(20): 13062–13070.

[40] Liao F Y, He D M,Vong C T, *et al*. Screening of the active ingredients in Huanglian Jiedu decoction through amide bond-immobilized magnetic nanoparticle-assisted cell membrane chromatography[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 1087404. DOI:10.3389/fphar.2022.1087404.

[41] Bu Y S, Zhang X L, Zhu A H, *et al*. Inside-out-oriented cell membrane biomimetic magnetic nanoparticles for high-performance drug lead discovery[J]. *Anal Chem*, 2021, 93(22): 7898-7907.

［专家介绍］解笑瑜：西安交通大学药学院教授，博士生导师。入选国家级青年人才计划。主要从事药物复杂体系成分与活性分析研究。主持国家自然科学基金等项目。获陕西省科学技术二等奖 1 项。以第一 / 通信作者发表 SCI 收录论文 40 余篇。担任陕西省心血管药物工程技术研究中心副主任、陕西省药学会青年工作委员会副主任委员、中国药学会药物分析专业委员会青年组成员、陕西省药学会药物分析专业委员会委员。同时，担任《药学学报》中英两刊、*Journal of Pharmaceutical Analysis* 和《沈阳药科大学学报》等期刊青年编委。

［专家介绍］王嗣岑：西安交通大学药学院教授，博士生导师，西藏大学校长助理，西安交通大学药学院院长。主要从事药物分析新方法的研究。主持国家自然科学基金、十二五“重大新药创制”重大专项课题等 7 项。发表 SCI 论文 110 余篇，获授权国家发明专利 50 件。获国家技术发明二等奖 1 项。入选教育部新世纪优秀人才支持计划。陕西省中青年科技创新领军人才、陕西省青年科技标兵。担任中国药学会药物分析专业委员会副主任委员，陕西省药学会副理事长，陕西省药学会药物分析专业委员会主任委员。主编《分析化学》（科学出版社）1 部，参编教材 4 部，合著专著 4 部。