

关于中药质量生物检定的几点商榷*

□肖小河** 鄢 丹 王伽伯 金 城

(解放军中药研究所解放军 302 医院 北京 100039)

摘 要: 中药质量生物检定已逐步成为中药学和生药学特别是中药质量评价与控制的重要发展方向。本文就生物检定在中药质量控制的作用和地位以及存在的问题和误区,提出:(1)虽然药物质量控制模式发展历程是先有生物检定后有化学检定,但生物检定并不代表落后或要被淘汰;(2)在中药质量控制体系中,生物检定是不可或缺的;(3)生物检定不是取代现有中药质量控制方法,只是现有方法的有益补充;(4)中药质量生物检定不等于中药药理实验,它既要符合定量药理学又要满足药检分析的要求;(5)中药质量生物检定尚处于探索阶段,不应求全责备,无论是检测指标的专属性还是方法学质量,不应以化学检定的要求来苛求生物检定。中药质量生物检定任重而道远。

关键词: 中药 质量控制 生物检定 问题和误区

生物检定是根据药物的生物效应或功能主治,利用整体动物、离体组织、器官、细胞以及微生物和相关生物因子等为实验系统,以检测药物生物活性(含药效和毒性)的一种方法^[1]。中药质量生物检定,又可称为中药质量生物测定,就是在现有质控方法和标准的基础上,采用生物检定方式和方法来评价和控制中药质量,以保证中药的安全有效、稳定可控。

当今,生物检定已逐步成为中药质量控制的重要发展方向^[2~4]。为了进一步促进和规范中药质量生物检定研究工作,国家药典委员会专门起草了《中药生物活性测定指导原则》(讨论稿)*,不久将正式颁发

实施,参见国家药典委员会(<http://www.chp.org.cn/news/2010/fl/1/151.pdf>)。本文在既往探索研究工作的基础上,重点论述了生物检定在中药质量控制的作用和地位以及存在的问题和误区,以供同行商榷和参考。

一、从药物质量控制模式发展历程看, 先有生物检定后有化学检定, 但生物检定并不代表落后或要被淘汰

药物质量控制模式可为三大类:感官评测,生物检定,化学检定。从世界药物质量控制模式发展历程看,先有感官评测,其次是生物检定,再其次是化学检定。回顾起来,化学药、生物药和中药的质控模式的发展历程不尽相同的。如化学药抗生素一度主要是依靠生物

收稿日期:2009-05-19

修回日期:2009-08-18

* 国家“重大新药创制”科技重大专项课题(2009ZX09502-022):符合中药特点的质量评价方法和体系研究,负责人:肖小河;国家杰出青年科学基金项目(30625042):中药鉴定学,负责人:肖小河;国家“十一五”科技支撑计划课题(2006BAI08B03):中药复方质量控制与评价技术研究,负责人:肖小河。

** 联系人:肖小河,本刊编委,博士研究生导师,主要研究方向:中药质量控制与药性研究,Tel:010-66933322,E-mail:pharmacy302@126.com。

检定方法控制其质量,在成分结构清楚和化学分析方法成熟后,现在抗生素主要采用理化检定方法控制其质量。生物制剂一直主要采用生物检定方法为主控制其质量,部分基因工程产品采用理化检定为主的质控方法,同时结合生物检定。而中药质量控制是越过生物检定模式阶段,直接“跃升”到理化检定模式阶段,缺少生物检定的发展阶段(见图1)。

现在,有人认为,生物检定由于存在精密度差、重现性差、技术繁琐、不易掌握等缺点,在科学技术发展的今天,似乎有被淘汰的趋势,这种看法是片面的。生物检定是生物医药科学研究中认识事物本质和特征的重要方法之一,它可以帮助我们量化生物反应、药理毒理作用,深层次地认识药物的安全性和有效性,探索药物作用机制等。所谓精密度差、重现性差和技术繁琐是相对理化检定而言的,其实生物检定中也有不少精密度好、重现性好、操作简便的方法^[4]。

就整个检定方法来说,生物检定之所以能存在,往往是由于有些品种目前尚无替代它的理化检定方法,或在医药研究过程中必须采用的方法,生物检定客观上起着其他方法无法替代的补充作用。一些原有品种的生物检定方法可能被理化方法所代替,但一些新品种的生物检定方法又在不断建立中。随着科学技术的发展生物检定也在不断吸收新的理论、新的技术和发挥新的作用。

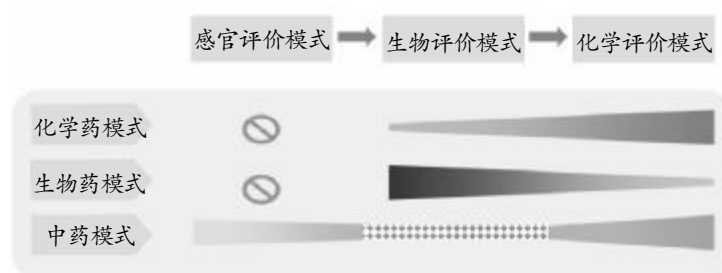
二、在中药质量控制体系中,生物检定是不可或缺的

现行中药质控模式主要是参照化学合成药,即中药质量标准主要是依据指标性成分定性检测与含量测定而制定。由于大多数中药的“指标性”成分不一定是其专属性成分,也不一定是有效成分;即使既是专属性也是有效成分,其谱效关系、量效关系、毒效关系目前尚远不清楚。目前的中药质量控制已陷入“模式单一,难关药效,量而不准,难控难评”的被动局面。

中药与化学药、生物药的生产质量控制管理模式的差异性和合理性的比较分析提示,生物检定对

于中药质量评价与控制具有独到的优势。从化学组分多样性和生产工作对物质内涵的影响看,中药与生物药相近,与化学药差异较远。从物质质控模式的适用性来看,生物检定(效应谱+效价值)由于与安全性有效性关联密切,往往比理化检定更具实际价值和优势,对于结构复杂或理化方法不能表征其含量、理化测定不能反映生物活性和临床疗效的中药产品尤为适合。结果提示:中药质控模式应“接轨”生物药模式而非化学药模式;生物检定可反映与安全有效直接相关的信息(见表1)。

在化学评价的基础上增加生物评价方法和标准,逐步建立以生物检定为核心手段和指标之一的中药质量标准体系,以补充和完善目前主要基于化学药质控模式的不足,这将是中药质量控制的新的主要发展方向。笔者从1999年来一直致力于中药品质的生物评价与控制,初步建立了基于道地药材和生物效价检测的中药质量评价模式和方法^[5-6],并在板蓝根、动物角类药材、黄连、大黄、清开灵注射剂、双黄连注射剂等进行示范应用研究,取得了较满意



提示:中药质量评价体系:生物测定是不可或缺的

图1 中药质量评价模式的比较

表1 中药与生物药、化学药生产质量控制模式的差异和合理性

药物类型	药物组分	工艺对组分的影响	内在质量控制模式和效果	《中国药典》生产质量管理模式
化学药	单一成分	不影响	·含量测定 ·可保证安全性有效性	·原料、半成品和成品非一体化管理 ·只载标准,不收艺
生物药	一类化合物	影响大	·生物效价+化学含测 ·可保证安全性有效性	·原料、半成品和成品非一体化管理 ·质量标准与制备工艺链合
中药	一类至多类化合物	影响大	·定性鉴别+含量测定 ·难以保证安全有效性	·原料、半成品和成品非一体化管理 ·质量标准与工艺不链合

提示:(1)中药≈生物药;中药≠化学药;(2)中药产品可借鉴生物药质控模式;(3)生物测定可提供与安全有效直接相关的信息。

的结果。

为了进一步提高中药质控水平,进一步保证中药安全性和有效性,2010版《中国药典》一部特别注重中药质控模式的多元化和生物评价手段的应用,并在编写大纲中明确指出:中药的质量标准要逐步由单一指标成分定性定量测定,向活性有效成分及生物检定的综合检测过渡。这体现了今后我国中药质量标准制定的发展方向。

三、生物检定不是取代现有中药质量控制方法,只是现有方法的有益补充

中药质量生物检定是在现有质量控制体系的基础上,引入生物检定方法和指标,以期从常规、化学、生物等多角度认识和把关中药质量^[5]。从某种意义上说,理化检定重点把关“真伪”,生物检定重点把关“优劣”。或者说,理化检定主要司职“控制”,生物检定主要司职“评价”。二者相互补充,相互促进,相辅相成,共同构筑现代中药质量控制与评价方法体系。

对于中药材,其品质的感官评测十分重要,但在评测方法研究方面一直不够重视。“一等药材全出口,二等药材进药店,三等药材进药厂”已成为中药材行业内部的一大窘态。作为“老祖宗认可,老中医认可,老百姓认可”的中药材品质评价的“金标准”,中药材商品规格等级的划分与确立,不仅要有化学检定方法和指标的支持,更应有生物检定方法和指标的支持^[6],以真正实现“药材好,药才好”!

四、中药质量生物检定不等于中药药理实验,既要符合定量药理学又要满足药检分析的要求

不少人认为,中药质量生物检定很简单,就是用药理学方法来评价中药的质量。这种观点可以说对了一半。实际上,中药质量生物检定方法不等同于一般的药理学实验方法,须具备定量药理学与药检分析的双重属性和要求。一般来说,药效药理学试验主要是重现其趋势和规律,不一定要重现其试验数据的绝对值,重在证实试验结果与对照组比较是否具有显著性差异及统计学意义;而药检分析则要求重现试验数据的绝对值,但允许有一定的误差范围。也就是说,中药质量生物检定既包括试验设计、量化指标、剂间距、分组、对照、可靠性检验等定量药理学的内容;还包括线性范围、精密度、重现性、甚至回收率等药物分析的内容。

为此,近年来笔者提出了中药质量生物检定方法的选择应遵循八条原则:选择性、可量化、灵敏性、耐用性、便捷性、普适性、经济性、安全性^[7]。在基本满足此选择原则的基础上,还需以常规经典的药理学试验进行方法学验证后,方可作为中药质量生物检定方法予以采用。常规药理学实验方法一般较难以同时具备上述要求,可供参考的检测方法主要有:(1)客观可定量的部分药理学方法^[8-10];(2)生物制品活性/效价检测方法^[9-11];(3)抗生素生物效价检测方法^[10-11];(4)我们近年来自主开发的生物热动力学法^[12]等。

按研究对象、测定方法及评价指标的不同,中药质量生物检定方法可分为生物效价测定法和生物活性限值测定法。前者在一定剂量范围内,作用趋势一致、量效关系较明显,更易于量化评价;后者多用于达到某一特定值(给药量)的条件下,才出现某效应的评价中(如出现凝集、沉淀、色泽改变等),属于定性或半定量的范畴。一般地,优先选用生物效价测定法,不能建立生物效价测定的品种可考虑采用生物活性限值测定法,待条件成熟后可进一步研究采用生物效价测定法。

五、中药质量生物检定目前尚处于探索阶段,不应求全责备

目前,不少业内人士对中药生物检定期待过高,同时要求也过于严苛,应当注意避免以下两个方面的问题:

一是不要苛求中药生物检定指标的代表性。诚然,对于中药质量评价,生物检定指标是越多越好,或者是能越直接、越全面反映其功能主治越好。但是,能直接、全面、客观地反映中药功能主治越好的生物药理方法和指标少之又少,同时生物检定一般来说都费时费力、耗财耗物。因此,在功效作用及其评价指标数目方面,希冀建立具有广泛代表性的中药生物检定方法是十分困难的。

特别需要指出的是,一个中药的成分十分丰富,可能有几十、几百、几千甚至几万个,而目前对中药质量理化检定的成分指标数目没有强调定性鉴别或含量测定的数量及其代表性,一般只控制其中一个成分的含量。试想,控制了一个成分的含量,能代表或保证其他几十、几百、几千甚至几万个成分含量也合格吗?显然是不行的。

反观中药质量生物检定,一般中药功效作用有2~5个,能就其中一个作用建立生物检定方法和标准,相当于其质量控制和评价可达到20~50%的代表性。理化检定达不到的质控指标代表性,也不要苛求生物检定能达到。

二是不要以理化检定的方法学质量苛求中药生物检定方法。不可否认,生物检定的方法学质量评价指标如选择性、准确性、精密度、线性范围、检测限度、耐用性等是不及理化检定的。那么如何看待中药质量生物检定的方法学质量评价指标呢?

关于指标的专属性,虽然一般来说,中药质量生物检定方法的专属性没有理化检定方法强,但还是具有较强的特异性。举例说,黄连是含有小檗碱的,含有小檗碱的却不一定就是黄连,但不含有小檗碱的一定不是黄连;类似地,黄连具有止痢作用,但具有止痢作用的不一定就是黄连,但不具有止痢作用的一定不是黄连。板蓝根有抗病毒活性,具有抗病毒活性却不一定就是板蓝根,但不具有抗病毒活性的一定不是板蓝根。

关于检验误差,一般理化检定的相对误差范围为 $\pm 5\%$,生物检定的相对误差范围(称可信限率)为 $\pm 30\%$ 。化学检定测得的结果误差虽小,但其测定结果与安全性有效性不一定有关联;而生物检定测定的结果虽然误差较大,但其测定结果多少反映了其安全性有效性的相关信息。笔者认为,对于中药质量控制与评价,既要测得准,更要测了管用。

六、结 语

生物检定是中药质量评价与控制的重要发展方向,但中药生物检定本身不是新生事物,如《中国药典》中,水蛭和洋地黄叶就是采用生物检定方法来控制其质量的。从理论上,生物检定方法对于结构复杂或理化方法不能表征其含量、理化测定不能反映生

物活性和临床疗效的中药产品应该具有独到的作用和优势;但从应用角度讲,还有许多现实的问题尚待解决,许多认识上的问题还需加以阐释。笔者认为,对于中药质量生物检定来说,首要解决的是认识问题,其次才是方法层面问题。在方法应用和技术操作方面,与中药产品“形神”相近的生物制剂已为我们展示出了一片敞亮的天地。有理由相信,中药质量生物检定任重而道远;中药质控实现“模式适用,关联药效,量而又准,可控可评”的美好愿景将不会太遥远。

参考文献

- 1 周海钧主编. 药品生物检定. 北京: 人民卫生出版社, 2005.
- 2 王平, 钱忠直.《中国药典》2010年版编制大纲解读. 药物分析杂志, 2008, 28(2):337~340.
- 3 唐元泰, 芮菁. 关于中药标准采用“生物活性测定”项目的建议. 中国药品标准, 2007, 8(6):39~45.
- 4 张贵君主编. 常用中药生物鉴定. 北京: 化学工业出版社, 2006.
- 5 孙琴, 肖小河, 金城, 等. 中药质量控制和评价模式应多元化. 中药材, 2008, 31(1):1~4.
- 6 李寒冰, 鄢丹, 曹俊岭, 等. 中药生物效价检测用对照品的选择与标化. 中国中药杂志, 2009, 34(3):363~365.
- 7 肖小河, 金城, 赵中振, 等. 论中药质量控制与评价模式的创新与发展. 中国中药杂志, 2007, 32(14):1377~1381.
- 8 王伽伯, 金城, 李会芳, 等. 泻下类中药质量的生物控制方法及基本问题探讨. 药学报, 2009, 44(5). (In press)
- 9 Luo Rong, Zhang Gui-jun, Wang Jin-jin, Zhou Ling. Research of quality evaluation method of Liyan Dan complex pharmaceuticals by biological effect ratio. Progress in Modern Biomedicine, 2007, 7(8):404~407.
- 10 魏丽, 李远, 李寒冰, 等. 基于抗菌效价检测的板蓝根药材品质评价方法的研究. 世界科学技术-中医药现代化, 2008, 10(2):33~36.
- 11 周重阳, 陈海波. 用生物检定法测定大蒜油中大蒜辣素和大蒜新素的含量. 中草药, 1997, 28(1):18~20.
- 12 Yan Dan, Xiao Xiao-He, Jin Cheng, et al. Microcalorimetric investigation of the effect of berberins alkaloids from *Coptis chinensis* Franch on *Staphylococcus aureus* growth. Science in China Series B: Chemistry (中国科学 B 辑), 2008, 51(7):640~643.

Some opinions on bioassay for the quality control of Chinese medicines

Xiao Xiaohu, Yan Dan, Wang Jiabo, Jin Cheng

(China Military Institute of Chinese Materia Medica, 302 Military Hospital of China, Beijing 100039, China)

Abstract: Bioassay has been an important and promising aspect for the quality control of Chinese medicines. In order to promote and standardize the bioassay for Chinese medicines, some problems and misunderstandings, as well as its role and function about bioassay, are discussed in this paper. The main suggestions are as follows: (1) The develop-

mental history of drug quality control patterns shows that the bioassay appeared earlier than chemical analysis, but this does not mean the bioassay pattern is outdated.(2) In the quality control system of Chinese medicines, the bioassay method is important and indispensable.(3) The bioassay method may be used to complement the current quality control system rather than to replace it.(4) The bioassay is not equal to the pharmacological investigation, as it has to meet the requirements of both quantitative pharmacology and pharmaceutical analytics.(5) As bioassay application in Chinese medicine is at the initial stage, the requirements of chemical analysis are not fully suitable in not only the specificity of detection parameters but also the quality of methodology. Being under development and improvement, the bioassay for quality control of Chinese medicines will be accessible in the near future.

Keywords: Chinese medicines; quality control; bioassay; issues and misunderstandings

(责任编辑:王 瑀,责任译审:张立巍)

浙江省地方标准《雷公藤种植技术规范》通过审定

6月15日,由新昌县天惠实业有限公司和磐安县中药材研究所共同起草的浙江省地方标准《雷公藤种植技术规范》,通过了由省农业厅、省中药研究所、浙江大学农业与生物技术学院等相关单位组成的专家组的审定。

重庆石柱黄连成为地理标志产品后富了连农火了产业。

“今年是收成年,价格好估计能卖十多万元。”重庆石柱黄水镇,连农(“连农”系当地对种植黄连农户的称谓)张国胜指着自已已培育5年的几大片黄连地,乐呵呵地说道。在他的指引下,记者看到黄连长势喜人,十几个连农正有条不紊地起黄连。

“苦”尽甜来

石柱黄连人工栽培始于元末明初,至今已有数百年的历史。但黄连发展成为当地经济的重要产业,却是在近几年石柱黄连获地理标志产品保护以后。石柱县质监局局长张强介绍,2004年国家质检总局批准对石柱黄连实施地理标志产品保护,如今连农超过10万人,产量占全国的68%,当之无愧成为全国最大黄连基地。

“当时缘于一次打假引发的危机,我们才开始重视对石柱黄连的保护。”回忆当初申报的情形,张强记忆犹新。2002年8月,石柱县黄水镇查获一批非本地产的黄连,而通过后期调查发现,外地黄连运到当地冒充石柱黄连的现象非常普遍。因为黄水镇海拔近2000米,适宜的气候条件和土壤结构形成了石柱黄连独有的高品质,而外地黄连运到当地以次充好并打压价格,让不少连农苦不堪言。

由于黄水黄连产量占全国的70%左右,这里也成为全国黄连交易的中心,交易量占全国的90%,这让黄连交易市场的管理变得很困难。而一些以次充好的商贩也提出质疑:石柱黄连凭什么要受到这样的保护?这样的质疑,让当地政府及有关职能部门意识到了石柱黄连生存的危机,因为市场对石柱黄连需求的增大,外地产黄连冠以石柱黄连之名出售,就严重影响到石柱黄连的整体形象和声誉。

“为了防止假冒伪劣产品进入本地交易市场,保障连农的利益,我们决定给县委、县政府汇报,将保护石柱黄连这一自主知识产权品牌纳入行政规范,促进石柱黄连的标准化、规模化、产业化发展。”张强说。

2002年9月,石柱县开展了石柱黄连申报原产地域产品保护工

作。2002年10月10日,经重庆市质监局批准,石柱黄连原产地域产品保护办公室正式成立。随即,该县聘请重庆中药研究院专家、县内黄连种植、加工技术有较深研究的专业人员组成写作班子,通过学习有关原产地域产品保护的法规、标准,掌握原产地域产品特征,确定了报告的主要内容和重点。2002年12月9日,石柱县政府成立了由县长任组长、分管副县长任副组长,县质监局等单位主要负责人为成员的石柱黄连原产地域产品保护申报工作领导小组,并在县质监局设立办公室。这一年,国家质检总局及时进行了形式审查,发布128号公告,宣布石柱黄连原产地域产品保护形式审查合格。

连锁效应

“这次事件让我们申报地理标志产品保护的决心更大了。”张强说,随后的一年多,他们在重庆市质监局的指导下,积极的与有关原产地域法律法规、中药材研究等方面的专家沟通。2003年,他们申报工作顺利通过由法国农业协会、清华大学、中国政法大学等单位组成的专家组的审查;2004年,国家质检总局发布公告,批准对石柱黄连实施地理标志产品保护。2006年5月,国家质检总局、国家标准化管理委员会正式批准并发布了《地理标志产品石柱黄连》国家标准。

地理标志产品保护的成功申报,让石柱黄连产业不仅成为该县的特色产业,更是发展成为重点经济产业。目前当地连农的种植积极性空前高涨,从事黄连种植的农民超过10万人,在地黄连0.34万公顷,比申报前种植面积增加了60%,产连1800吨,产量占全国的68%。该县不仅是全国乃至全世界最大的黄连生产、加工及出口基地,而且还是全国黄连的科研和教学基地,先后取得《造林栽连》、《黄连轮作技术》、《黄连选种研究》等项重大科技成果,完成国家质检总局、科技部和重庆市一系列黄连标准化、规范化、现代化研究及试验示范项目。与此同时,该县在黄连产业发展中先后实施黄连GAP规范栽培示范研究、黄连规范化人工栽培技术开发及人才培训、地产中药饮片产业化技术开发、黄连副产物综合利用关键技术和糖麦灵颗粒新产品开发共5项科技计划,解决了黄连产业发展中的一系列关键技术难题,取得了一批具有自主知识产权的核心技术成果。

(文 摘)