

中药生物效价研究现状及开发思路探讨

孙婷婷¹, 马晓慧^{2*}, 李欣欣², 张莉华², 李孝庆², 于 锋^{1*}

1. 中国药科大学, 江苏 南京 211100

2. 创新中药关键技术国家重点实验室, 天士力制药集团股份有限公司, 天津 300410

摘 要: 中药质量控制一直是中药现代化的重点和难点, 如何证明产品的质量一致性和临床疗效一致性, 是中药创新与发展探索的重要方向。由于中药天然存在的异质性, 有必要在现有检测方法的基础上结合生物效价方法, 以更全面地保证药品质量。拟从中药生物效价研究现状出发, 系统总结和分析现行国内外法规对植物药/中药生物效价建立过程的要求与建议、现阶段研发的难点及探索, 并对基于中药药动学-药效动力学 (pharmacokinetic-pharmacodynamic, PK-PD) 特点的适宜效价方法的开发思路进行探讨, 为中药质量评价体系的构建提供思路, 促进国际药政管理部门对中药质量标准的认可。

关键词: 中药; 生物效价; 开发思路; 质量控制; 质量评价体系; 药动学-药效动力学

中图分类号: R285 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2017)09-1906-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.09.030

Discussion on research status and development ideas of biopotency for Chinese materia medica

SUN Ting-ting¹, MA Xiao-hui², LI Xin-xin², ZHANG Li-hua², LI Xiao-qing², YU Feng¹

1. China Pharmaceutical University, Nanjing 211100, China

2. State Key Laboratory of Critical Technology in Innovative Chinese Medicine, Tasly Group Co., Ltd., Tianjin 300410, China

Abstract: The quality control of Chinese materia medica (CMM) has been the focus of CMM modernization, and how to demonstrate the consistency of product quality and clinical efficacy has become an important research aspect of development and innovation of CMM. Due to the heterogeneity of CMM, it is necessary to combine biopotency with other detection methods to guarantee the quality of medicines. This article reviewed the research status of CMM biopotency, analyzed the global local government regulations about biopotency and the difficulties of development in CMM, and discussed development ideas of biopotency based on PK-PD for CMM. Its main aim is to provide reference for the construction of the follow-up quality evaluation system, and to promote recognition from the international drug administration management on CMM quality standard.

Key words: Chinese materia medica; biopotency; development ideas; quality control; quality evaluation system; pharmacokinetic-pharmacodynamic

中药是我国历经了几千年实践传承下来的宝贵文化, 其多组分、多靶点、多途径起效的特点决定了中药在临床上的治疗优势。然而, 也正因为中药成分、作用机制、制作工艺的复杂性, 及其研究思路和方法等多种因素的局限, 绝大部分中药复杂体系的“质-量-效”关系尚未得到确切阐明, 致使现行中药质控水平陷入“难关药效, 量而不准, 难控难评”的窘境, 这些都成为限制中药现代化、产业化、国际化的瓶颈^[1]。

近年来, 中药生物活性测定已成为中药质量控制研究发展的趋势^[2], 在中药质量控制和评价中具有独特的优势。生物活性测定法是以药物的生物效应为基础, 以生物统计为工具, 运用特定的实验设计, 测定药物有效性的一种方法, 从而达到控制药品质量的作用。其测定方法包括生物效价测定法和生物活性限值测定法^[3]。部分药学工作者提出构建基于生物效价检测的中药质量控制与评价模式的设想, 有利于保证中药临床使用的安全有效及上市药

收稿日期: 2016-10-27

作者简介: 孙婷婷 (1992—), 女, 在读硕士, 研究方向为中药生物效价测定方法。Tel: 15033613542 E-mail: 15033613542@163.com

*通信作者 马晓慧 (1977—), 女, 博士, 研究方向为新药研发药理毒理方向。Tel: (022)86342626 E-mail: maxiaohui@tasly.com

于 锋, 男, 教授, 研究方向为转化医学。Tel: 13809045501 E-mail: yufengcpu@163.com

品不同批次间治疗效果的一致性。然而，目前尚缺乏中药生物效价检测方法建立的整体性思路及方法，实践案例较少，也无标准方法可供参考。本文拟从中药生物效价研究现状出发，系统总结和分析现行国内外法规对植物药/中药生物效价建立过程的要求与建议，现阶段研究的难点及探索，并对基于中药药动学-药效动力学（pharmacokinetic-pharmacodynamic, PK-PD）特点的适宜效价方法的开发思路进行探讨。以期确保中药产品的质量一致性和临床疗效一致性，为中药质量评价体系的构建提供思路，促进国际药政管理部门对中药质量标准的认可。

1 中药生物效价研究的发展历程

1951 年，国内首次尝试利用生物活性检测进行中药质量控制的探索，当时利用小鼠服植物性泻剂排出湿便建立了泻下药的生物检定法^[4]。2010 年，《中国药典》新增《中药生物活性测定指导原则》，为规范中药生物活性测定研究设计、方法学建立等提供一定的指导，但方法学验证要求与国际协调会议（ICH）指南相比较低，尚不能完全套用。《中国

药典》2015 年版一部的增修订内容更加体现了中药的安全性（增加“黄曲霉毒素”检查项目）、有效性（通便胶囊的定量测定）和质量可控性（丹参中丹参酮类成分的一测多评）^[5-6]，标志着中药的质量控制标准要逐步由单一性指标成分向活性有效成分及生物活性测定的综合性检测指标过渡^[7]。

国际上，2004 年美国 FDA 提出植物药质控 Bioassay 的开发建议。2004 年至 2014 年，向 FDA 药物评价和研究中心（CDER）部门递交的植物药新药临床试验申请（IND）共计 455 个、新药临床试验申请前咨询（PIND）101 个，我国目前有 9 个复方中药产品在美国进行 IND 和 PIND 阶段^[8]。2015 年，美国 FDA 颁布《植物药研发指导原则》修订草案，明确描述了 Bioassay 的开发要求。这也预示着中药生物活性测定/效价测定必将成为中药质量评价体系中的一个重要指标。目前，国内外主要参考的最新法规包括《中国药典》2015 年版第四部中《中药生物活性测定指导原则》和 2015 年美国 FDA 颁布的《植物药研发指导原则》修订草案，对两法规主要内容的比较见表 1。

表 1 中药生物效价研发国内外法规对比

Table 1 Comparison on biopotency of CMM between national and international regulations

法规	《中药生物活性测定指导原则》 ^[3]	《植物药研制指导原则》修订草案 ^[9]
基本原则	符合药理学研究基本原则，体现中医药特点，品种选择合理，方法科学可靠	反映药物已知或预期作用机制的生物检定为首选
基本内容	实验条件、实验设计、结果与统计、判断标准	考虑存在更多易变性，应相对于适用的标准品或材料测定批含量和活性；整合系统适用性标准和质量控制，确保检定以可重复和可预测的方式开展
验证内容	方法影响因素考察（准确度、专属性），精密度考察（重复性、中间精密度、重现性），方法适用性	准确度、精密度、专属性、线性和范围
要点	测定方法包括生物效价测定法和生物活性限值测定法	拟用于多个适应症，针对每种适应症开发单独的生物检定法
参考	未提供，可参考中国食品药品监督管理局（CFDA）生物制品质量控制分析方法验证技术一般原则	ICH Q6B：生物技术产品和生物制品的检验方法和可接受标准；USP<1032>：生物测定的设计与开发；USP<1033>：生物测定的验证

《中药生物活性测定指导原则》中对实验条件、实验设计、结果与统计、判断标准及验证内容均做了详细的说明，并指出生物效价测定法应按照生物鉴定统计法（通则 1431）的要求进行实验设计研究。《植物药研制指导原则》仅对方法设计时的基本原则和验证内容进行了明确规定。《植物药研制指导原则》与《中药生物活性测定指导原则》相比，将系

统适应性考察提前到方法开发中，保证方法学验证的顺利开展，并在验证内容中增加了线性和范围。

2 中药生物效价评价的必要性

生物效价分析在中药质量控制方面的研究我国一直在不断地摸索与前进，《中国药典》2015 年版中生物活性测定法共计 21 种，包括 19 种生物效价测定法和 2 种生物活性限值测定法，生物效价测定

法中体外（细菌和离体实验）方法 10 种，体内方法 9 种，生物活性限值测定法中 2 种均为体内方法。近年来，板蓝根^[10]、麻黄^[11]、穿心莲^[12]、益母草^[13-15]、三棱^[16]、半夏^[17]等多种中药均进行了生物效价测定方法建立的初步尝试，但均尚未作为新药申报要求及品质控及放行指标推行。

中药发挥药效作用主要有三大特点：多组分、多靶点、多途径，这些决定了中药在研究过程中物质基础和作用机制的复杂性。加之环境因素或生物酶的影响，以及生产工艺和储存过程中对药效成分影响的不确定性和多变性，可能使得每批产品的生物活性发生显著变化^[18]。目前中药质量控制的方法主要有化学模式识别、中药指纹图谱技术、一测多评法，从化学物质基础的角度保证中药的稳定和可靠^[19-20]。但由于中药天然存在的异质性，单独的化学检测不足以保证批间药物疗效的一致性；此外，脱离药效的指标性成分检测也不能体现中医用药的特点。美国 FDA 也在《植物药研制指导原则》中指出：通过原料药的控制、化学测试和生产过程的质量控制、生物测定和临床资料，3 方面的综合评估来确保疗效一致性。生物效价评价贴近临床作用机制，可以直观反映中药的药理作用，有必要引入中药的质量控制方法中。

3 中药生物效价研发的难点及探索

一直以来，生物制剂主要采用生物检定方法控

制其质量。因此，中药生物效价方法的探究可借鉴生物药的质控模式，但中药与生物药的特征又存在诸多差异（表 2），这也为中药生物效价的研究增加挑战。基于此，目前开展中药生物效价方法的研究过程中面临的挑战主要有以下 3 方面。

3.1 中药生物效价方法的选择

基于相关法规和指南要求，效价方法的选择应与药品的功能主治、作用机制相关，还要符合准确度、精密度、专属性、线性和范围等要求。但是中药的功能主治一般较为广泛，部分药品的作用机制尚不明确，而且生物效价测定与“功能主治”只能部分相关而不能完全一致^[18]；再加上复方中药对药效物质基础、PK-PD 关系、专属性靶点和生物标志物（biomarkers）的研究较为薄弱，极大限制了生物效价开发时方法的选择（表 3）。

表 2 中药与生物药特征比较

Table 2 Comparison on characteristics of CMM with biological medicine

特征	生物药	中药
可控/药效成分	>5%成分	复方制剂<10%，5 类也只有 60%
专属靶点	明确	未知，甚至多靶点
生物效应	单一、量效清晰	多样，量效关系差或范围较窄
PK-PD	清楚、相关	不清楚、不相关

表 3 不同生物效价方法的优缺点

Table 3 Major advantages and disadvantages among different biopotency methods

模型	优点	缺点	应用
细菌/细胞/酶学实验	高通量、操作简单、重复性好	缺少药物体内代谢的过程，易出现假阳性或干扰结果	效价检测，适用于注射剂或体内外物质成分相同的中药
离体实验	直观反映药物对靶组织的作用	组织来源于动物，验证需同时考虑体内和离体的一致性“替换”开发与验证相对	效价检测
模式动物	兼具体内与体外实验的优势	在换算剂量的评价需进一步证明	效价检测
哺乳动物	能最大限度模拟动物在体内的情况	个体差异较大，重复性差，较难通过验证要求	定性或半定量检测

3.2 标准品（阳性对照）的选择

标准品的存在是为了确保生物效价测定方法中阳性待测药品在一定剂量时的实验结果有良好的重复性，以及对待测药品阴性结果判断的准确性。因此，标准品的选择至关重要。最理想的标准品应与供试品是同质的，在一定浓度范围内，标准品可视

为供试品不同程度的浓缩物或稀释物，以最大程度地消除系统误差。但由于中药成分复杂，目前生物测定用中药标准品尚属空白^[21]。参考 USP<1032>通则的要求：标准品的选择应和待测样品具有相同成分，或不同成分但有活性/毒性相似性^[22]。因此可以采用逆向思维，建立中药针对某一药理活性的标

准品,这样就可以很好地量化药理活性^[21]。若待测药品的作用机制明确,可采用与之作用机制相同的化学药或生物药作为标准品进行生物效价测定^[23]。若待测药品的物质基础研究较为全面,可以以主要药效成分的标准品作为生物效价测定的标准品^[24]。或者当待测中药药效成分的组成及配比已十分明确后,可采用各组分标准品相同配比的组合物作为参照标准品。此外,还应考虑标准品来源易得、成本较低、稳定性较好等因素。

3.3 统计学模型的选择

不同标准品的选择影响相对效价计算的统计学

模型的选择。生物效价中的“效价”指的是相对效价(relative potency),是测试样品和标准品间产生预期生物学活性能力的比较测定。在证明了待测样品和标准品之间的相似性后,用来计算相对效价的统计学模型^[22]主要有 4 种:①平行线性模型,②平行曲线模型,③斜率比例模型,④量子化反应生物活性检测模型。通常情况下,前 2 种模型适用于标准品与供试品同质或作用机制相同的情况,第 3 种模型则适用于化学药或其他非同质的标准品,第 4 种适用于量子化(非连续性)的检测指标。生物效价统计学模型见表 4。

表 4 生物效价统计学模型
Table 4 Biopotency statistical model

统计学模型	特征	相对效价计算
平行线性模型	量效反应曲线中,标准品与供试品为线性模型,且二者斜率相同	两线性之间的水平距离
平行曲线模型	量效反应曲线中,标准品与供试品为四参数或五参数曲线模型,斜率和上下渐近线相似	EC ₅₀ 处两曲线间的水平距离
斜率比例模型	量效反应曲线中,标准品与供试品为线性模型,但二者斜率不同	两者斜率比
量子化反应生物活性检测模型	量子化反应中,标准品与供试品为四参数或五参数曲线模型,斜率和上下渐近线相似	EC ₅₀ 处两曲线间的水平距离

4 中药生物效价的开发思路探讨

中药质量控制一直是制约中药现代化发展的瓶颈问题,其中药效组分研究是支撑中药质量控制的前提和基石,生物效价方法研究可以很好地反映中药产品的整体活性和功效,并起到产品质量关联临床应用安全有效的作用。基于此,结合中药自身特点,中药生物效价的开发应基于中药 PK-PD 研究建立与临床相关的生物效价方法。

目前《中国药典》中的生物活性测定法以体内方法和离体方法为主。新近发展的“组学”方法(基因组学^[25]、蛋白质组学^[26]、代谢组学^[27-29])和技术对中药的作用机制、作用物质基础、安全性^[30-31]和内源性生物标志物^[32-33]方面的研究起到了积极的推动作用^[34-35]。系统生物学在中药复杂体系研究中的可行性和合理性已经获得了中药研究者的认可^[36],生物效价方法开发的模型也不只局限于体内和体外方法(表 3)。基因芯片/蛋白质芯片技术可以瞬时、快速识别药物相应的靶序列或靶蛋白,监视药物治疗反应中的基因或蛋白表达的改变,并观察药效^[37-39],具有生物效价方法开发的应用前景;缺点是同时进行靶点反应的差异性比较较为困难,适用于定性或半定量检测。此外,蛋白质芯片

(靶酶芯片)不适用于有体内代谢过程的药物研究。

由于中药作用机制的复杂性和体内 PK-PD 不相关的特点^[40],体内方法是最贴近临床情况的方法,但是体内实验又存在个体差异较大、重复性较差、动物伦理等问题。基于此,通过研究中药 PK-PD 规律^[41-43],阐明和完善其作用机制及复方组方原理,探索中药 PK 研究中合适的指标性成分体系,寻找中药 PD 研究中合适的生物标志物,探索 PK-PD 相关性,将体内方法转化为体外方法或开发相应的体外方法。体外方法与体内方法相比更加高效、快速、重复性也大大提高,但是由于缺少药物在体内的代谢过程,易出现假阳性或干扰结果,还需进一步解释体内、体外的一致性。随着模式动物研究的日益成熟,筛选合适的模式动物进行生物效价开发可以兼备体内、体外实验的优势,是未来较为理想的生物效价模型^[44-46]。

5 结语与展望

中药的质量控制和评价一直以来都是中药新药研发的难点,尤其是在中药国际化研究中,更是极大的挑战。生物效价分析方法为中药质量控制提供了一种新的研究思路,通过对生物效价的深入研究和实施,以中药/植物药有效性、安全性为核心,将药物性

研究与品质评价和质量控制有机地结合,建立基于临床疗效的生物效价分析方法,探索出一条用于中药产品质量一致性评价和质量控制的可行性模式。

参考文献

- [1] 胡彦君,王雅琪,王勇平,等.中药药效组分群筛选、配伍思路及质控模式探讨[J].中草药,2016,47(17):2965-2970.
- [2] 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[J].中国中药杂志,2007,32(14):1377-1381.
- [3] 中国药典[S].四部.2015.
- [4] 周海钧.药品生物检定[M].北京:人民卫生出版社,2005.
- [5] 魏惠珍,罗小妹,刘文霞,等.2015版《中国药典》一部增修订概况[J].江西中医药大学学报,2016,28(4):115-119.
- [6] 赵维良.中国药典2015年版一部中药材饮片增修订概况及应用[J].中国现代应用药学,2016,33(5):605-608.
- [7] 李寒冰,齐向云,李根林,等.基于抗氧化活性测定的山药品质评价新方法[J].中成药,2012,34(7):1370-1373.
- [8] 李瑶.天然药物国际化进入生物效价时代[N].医药经济报,2016-05-16(A11).
- [9] Botanical Drug Development Guidance for Industry[S].2015.
- [10] 李寒冰.板蓝根质量生物评价与控制方法的研究及应用[D].成都:成都中医药大学,2009.
- [11] 赵云生,谢丽霞,毛福英,等.基于平喘生物效价的麻黄品质评价研究[J].中草药,2015,46(24):3695-3703.
- [12] 王盛民,张瑛,赵子剑,等.清热解毒类中药的生物鉴定法 III——穿心莲的生物鉴定[J].实用临床医药杂志,2006,10(3):27-29.
- [13] 郭月芳,杨明华,杨苏蓓,等.益母草药材生物检定方法的研究(I)——动物标准子宫模型建立和测定环境因素筛选[J].中医杂志,2002,25(5):333-336.
- [14] 杨明华,杨苏蓓,金祖汉,等.益母草药材生物检定方法的研究(II)——缩宫素、益母草量效关系和检定适用效应模式的建立[J].中药材,2002,25(6):409-411.
- [15] 杨明华,王溶溶.益母草药材生物检定方法的研究(III)——鲜益母草胶囊和益母草流浸膏生物效价与临床疗效的相关性观察[J].中国现代应用药学,2004,21(2):124-126.
- [16] 陈广云,吴启南,王新胜,等.生物效价测定法用于活血化瘀中药三棱品质评价的研究[J].中国中药杂志,2012,37(19):2913-2916.
- [17] 杨冰月,李敏,吴发明,等.基于止咳效价评价半夏及其炮制品品质的方法研究[J].中草药,2015,46(17):2586-2592.
- [18] 唐元泰,芮菁.关于中药标准采用“生物活性测定”项目的建议[J].中国药品标准,2007,8(6):39-45.
- [19] 杨小丽,李倩罗,祖良.中药质量控制方法研究述评[J].中医学报,2012,27(4):448-451.
- [20] Song X Y, Li Y D, Shi Y P. Quality control of traditional Chinese medicines: A review[J]. *Chin J Nat Med*, 2013, 11(6): 596-607.
- [21] 王碧松,郭玉东,王志斌,等.中药生物活性测定法中标品建立的研究[J].药物分析杂志,2013,33(4):706-715.
- [22] USP37[S].2010.
- [23] 王碧松.生物活性测定法用于活血化瘀类中药注射剂质量控制的研究[D].北京:北京中医药大学,2010.
- [24] 陆兔林,翟为民,蔡宝昌.对照提取物在中药质量控制中的应用[J].中国中药杂志,2013,38(3):462-465.
- [25] Fan X, Lobenhofer E K, Chen M, et al. Consistency of predictive signature genes and classifiers generated using different microarray platforms[J]. *Pharmacogenomics J*, 2010, 10(4): 247-257.
- [26] 刘璇,岳庆喜,果德安.蛋白质组学技术及其在中药复杂体系研究中的应用[J].中国天然药物,2009,7(4):260-269.
- [27] 王广基,郝海平,阿基业,等.代谢组学在中药方剂整体药效作用及机制研究中的应用与展望[J].中国天然药物,2009,7(2):82-89.
- [28] 周红光,陈海彬,王瑞平,等.代谢组学在中药复方研究中的应用[J].中国药理学通报,2013,29(2):161-165.
- [29] 李春雨,王张,王平,等.基于代谢组学技术的中药效应物质基础及作用机制研究[J].中草药,2013,44(7):918-922.
- [30] 邵丽.药物毒理基因组信息学的若干问题研究[D].杭州:浙江大学,2011.
- [31] Ai N, Fan X, Ekins S. In silico methods for predicting drug-drug interactions with cytochrome P-450s, transporters and beyond[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2015, 86(23): 46-60.
- [32] 朱智杰.基于生物网络调控下丹参抗肿瘤血管生成研究——隐丹参酮对血管生成的影响及机理研究[D].南京:南京中医药大学,2014.
- [33] 马致洁.何首乌肝毒性客观性、临床标志物及损伤机制的初步研究[D].成都:成都中医药大学,2013.
- [34] 刘昌孝.对中药现代化及中药国际化发展的思考[J].中国药房,2016,27(11):1441-1444.
- [35] 李发美,熊志立,鹿秀梅,等.中药质量控制和评价模式的发展及系统生物学对其的作用[J].世界科学技术—中

- 医药现代化, 2009, 11(1): 120-126.
- [36] 吴婉莹, 果德安. 中药整体质量控制标准体系构建的思路与方法 [J]. 中国中药杂志, 2014, 39(3): 351-356.
- [37] 林心君, 许茜, 刘赟, 等. 石斛合剂序贯法治疗糖尿病大鼠的基因和蛋白表达谱之糖代谢研究 [J]. 中华中医药学刊, 2014, 32(12): 2857-2860.
- [38] 张国华, 杨光, 赵想玲. 血府逐瘀汤、天麻钩藤饮、温胆汤对自发性高血压大鼠心肌组织 MAPK 信号通路的影响 [J]. 山东医药, 2014, 54(47): 28-30.
- [39] 王海荣. 中药配合 GP 方案对非小细胞肺癌晚期患者生活质量及免疫功能的影响 [J]. 长春中医药大学学报, 2015, 31(1): 140-142.
- [40] Liu R, Xing D, Lu H, *et al.* Pharmacokinetics of puerarin and ginsenoside Rg₁ of CBN Injection and the relation with platelet aggregation in rats [J]. *Am J Chin Med*, 2006, 34(6): 1037-1045.
- [41] Zhu C S, Lin Z J, Miao M L. The spectrum-effect relationship-a rational approach to screening effective compounds, reflecting the internal quality of Chinese herbal medicine [J]. *Chin J Nat Med*, 2016, 14(3): 177-184.
- [42] 田乐, 狄留庆, 周伟, 等. 中药多组分网络靶点效应 PK-PD 结合模型应用研究与思考 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2012, 14(4): 1824-1830.
- [43] 张忠亮, 李强, 杜思邈, 等. PK-PD 结合模型的研究现状及其应用于中医药领域面临的挑战 [J]. 中草药, 2013, 44(2): 121-127.
- [44] 郭殿武, 周娟, 唐礼可, 等. 斑马鱼高血脂模型在山青之片质量控制中的应用研究 [J]. 中国药品标准, 2013, 14(4): 255-259.
- [45] 刘洪翠, 黄燕烽, 朱晓宇, 等. 斑马鱼模型体内评价野生冬虫夏草的功效 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2016, 30(10): 1080.
- [46] 李晓稳, 佟玲, 李东翔, 等. 斑马鱼神经元损伤模型在养血清脑颗粒质量控制中的应用分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(9): 1-4.