

生物检定与板蓝根质量控制

马 莉¹, 金 城³, 李祖伦², 肖小河^{3*}

(1. 首都医科大学中医药学院, 北京 100069; 2. 成都中医药大学药学院, 四川 成都 610075;
3. 解放军 302 医院全军中药研究所, 北京 100039)

[摘要] 该文结合板蓝根的现有研究基础, 多角度阐明应用生物检定法控制板蓝根质量的可行性, 即通过控制板蓝根物质群的整体疗效控制其质量, 期望能够为板蓝根的质量控制提供新的思路与方法。

[关键词] 生物检定; 板蓝根; 质量控制

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2010)02-0134-03

Bioassay and Quality Evaluation of Radix Isatidis

MA Li¹, JIN Cheng³, LI Zu-lun², XIAO Xiao-he^{3*}

(1. School of Traditional Chinese Medicine Capital Medical University, Beijing 100069, China;
2. Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610075, China;
3. Institute of Chinese Materia Medica, 302 Hospital of PLA, Beijing 100039, China)

[Abstract] Based on the current foundation of Radix Isatidis, possibility of quality evaluation of Radix Isatidis by bioassay is discussed. That is to evaluate quality by controlling the overall effect of Radix Isatidis. A new idea and method are provided for quality control of Radix Isatidis.

[Key words] bioassay; Radix Isatidis; quality evaluation

[收稿日期] 2009-03-27

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(30701091);北京市优秀人才培养资助项目(20071D0501800248)

[通讯作者] * 肖小河, Tel: (010)66933323; pharmacy302@126.com

生物检定属于定量药理学范畴^[1],它以药理为基础,生物统计为工具,运用特定的实验设计,在严格控制的试验条件下,比较标准品和供试品对生物体或离体器官与组织的特定生物效应(药效或毒力),计算效价或者毒性,从而评价和控制供试品的质量。特别适用于成分复杂、具有多种功能相似的已知和未知活性成分药品的定量或半定量测定。目前广泛应用于药品(主要是生化药物)、生物制品的质量控制。

中药因其化学成分复杂,可变因素多、活性成分多、作用靶点多、药效成分和毒性成分不清晰等特点,物质内涵接近生化药物,某种程度上可视为天然环境条件中产生的生物制品^[2~3]。鉴于中药的特殊性,即单一活性成分或指标成分为目标的质量控制模式难以反映以物质群为基础的整体疗效,早年即有学者提出采用生物检定的手段,创建中药质量的药理学评价体系^[4],肖小河^[5]等提出构建基于道地优级药材和生物效价检测的中药质量控制模式和方法,从药效角度把关中药质量。对于药效成分研究尚无实质性突破的中药板蓝根,采用生物检定的方法进行质量控制是否具有可行性,本文将进一步阐述。

1 板蓝根的药效物质基础研究现状

板蓝根中的化学成分主要是以水杨酸(salicylic acid)、苯甲酸(benzoic acid)、丁香酸(syringic acid)等为代表的有机酸类成分;靛蓝(indoxyl- β -glucoside)、靛玉红(indirubin)为代表的吲哚类生物碱以及喹唑酮类生物碱、氨基酸、多糖、腺苷等成分。有机酸^[6]、喹唑酮类生物碱^[7]、腺苷^[8]等成分,因其含量甚微以及成分本身的稳定性,从检测的操作难度和重现性角度考虑,难以作为质控指标。靛蓝、靛玉红^[9]在汤剂中的提取率极低,目前主要强调其治疗慢性粒细胞白血病的作用,作为药效物质基础尚值得商榷;游离氨基酸已被证明没有抗病毒活性,结合型氨基酸为广谱成分,少有抗病毒、抗菌的药理报道,将其作为质量控制的指标值得探讨。基于板蓝根的药效物质基础研究现状,《中国药典》2005年版板蓝根项下仅以精氨酸的薄层检识为定性依据,相关制剂仅采用茚三酮显色法检识氨基酸,没有含量测定方法。鉴于此,有必要建立板蓝根药材及其制剂质量控制的药理学评价体系,以减少临床应用中因缺乏有效的质量控制手段而出现的以次充好、偷工减料、以假乱真等现象,借鉴生物检定的方法,

弥补现有理化检测方法的不足。

2 板蓝根的药理学研究为生物活性测定提供依据

由于药物疗效的基础是其药理活性,选择若干恰当的药效学指标作为质量控制手段,具有明显的优越性。从理论上讲,凡是可定量的药理毒理学方法均可用于中药生物效价检测,但鉴于中药的功能主治与药效学试验以及生物检定属于不同的专业范畴,即使药效学试验很完善,也不可能与临床的功能主治完全一致,而生物检定由于受药品标准实验要求条件的限制,只能选用与该中药功能主治相关性较好的少数主要药效学试验方法,作为生物活性测定方法研究的参考。板蓝根近几年^[10~12]来的药理学研究,已揭示其清热解毒的实质,为选择适宜的生物活性指标提供依据。

刘云海^[13]等学者总结十余年对板蓝根清热解毒的实质研究,揭示相对于直接抗病原体、抗炎作用,板蓝根发挥解毒作用的重要途径是其抗内毒素活性。该药效试验的阳性结果,提示我们抗内毒素作用可作为板蓝根生物活性测定的依据之一。同时大量^[14~16]的研究报道表明,板蓝根有明显的抗菌、抗病毒作用,这些药效作用不仅是单一化学成分的作用更是多种成分作用的总和,能量化生物效应。板蓝根成熟的药效学试验方法和结果,为选择设计合理的生物学活性测定方法提供了依据和参考。

3 板蓝根的道地性可为生物检定标准物质提供选择

生物检定中,标准物质^[17]是用于检验那些不能用化学或物理量表示强度的预防、诊断、治疗用制品,它是用生物方法试验时,使其表示的效价或活性由不同地点、不同条件、不同操作者得出相对一致性结果的一种工具。理想的标准物质,是所含组分及配比与供试品所含组分和配比相似,只有供试品与标准物质在质上相同而量上不同时,其剂量与其反应所呈的两条直线才是平行的。中检所发布的对照药材能保证植物基源的正确性,但缺乏药效学上的效价和效能概念^[18],生物活性测定相对于理化分析,其精密度相对较差,为验证每次生物活性测定方法的可靠性,选择合理的标准物质是保证生物检定结果准确的重要保障。板蓝根的道地性,可制备来源易得、成本低、稳定性好的标准参照系,结合板蓝根的药理作用,选取相同药理作用的化学药品标准化道地药材,利用道地药材的效能检测试验系统的稳定性,同时为生物检定标准参照物质提供选择。

4 板蓝根样品的规范化

生物检定中,没有一个质量本身稳定的样品,将不会有真正意义上的药理学质量评价。板蓝根样品的规范化可采用指纹图谱这一多成分评价体系。目前板蓝根指纹图谱研究较多,多采用药材的乙酸乙酯提取部位^[19~20],也有正丁醇提取部位^[21]和水提取物^[22]。HPLC 指纹图谱法的建立,为通过指纹图谱的模糊分析法控制板蓝根供试样品的一致性提供条件。

5 统计分析

生物检定是以药物对生物的药理效应为反应指标,因此剂量和反应的关系就成为生物检定方法的基础。生物检定中选择适宜的设计方法和剂量安排,通过研究确定该检定方法的直线方程、直线斜率及方法的误差范围,才能取得较好的结果。研究表明动态浊度法测定板蓝根抗内毒素作用^[23],微量热法考察板蓝根的抗菌作用^[24]均有良好的量效关系,这些为生物检定中的生物统计提供了基础。

6 结语

有学者认为^[25]目前的中药标准,只不过是一个权宜的量化的化学指标而已。真正含义的质量标准,应该能够反映该品种的最低有效剂量或者是最大安全剂量,能和临床疗效相挂钩。板蓝根作为清热解毒中药的典型代表,临床应用广泛,目前仅板蓝根颗粒一个剂型全国就有 874 个批准文号,该药材应用规模之大,范围之广可想而知,但基于有效成分检测的质量控制手段和评价方法,在控制板蓝根药材及其制剂的有效性及安全性方面存在一定的局限性,本文结合板蓝根的现有研究基础,多角度阐明应用生物检定法控制板蓝根质量的可行性,即通过控制板蓝根物质群的整体疗效控制其质量,期望能够为板蓝根的质量控制提供新的思路与方法,同时也为今后很长一段时间与板蓝根有类似研究基础的中药的质控模式提供参考。

[参考文献]

[1] 周海钧. 药品生物检定[M]. 北京:人民卫生出版社, 2005:3.
[2] 孙 琴,肖小河,金 城,等. 中药质量控制和评价模式应多元化[J]. 中药材, 2008,31(1):1.
[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[J]. 中国药品标准, 2007,8(6):39.
[4] 邓文龙. 创建中药质量的药理学评价体系[J]. 中药药理与临床, 2001,17(1):1.
[5] 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.
[6] 李 霞,卢宏波,刘爱芳,等. 毛细管电泳法分离测定板蓝根中的活性有机酸[J]. 华西药学杂志, 2004,19(2):114.
[7] 刘云海,秦国伟,丁水平,等. 板蓝根化学成分研究(Ⅲ)[J]. 中草药,2002,33(2):97.
[8] 许润春,杨 明,苏艳桃. HPLC 测定板蓝根中腺苷含量[J]. 中成药,2005,27(6):742.
[9] 徐 艳,刘 辛. 板蓝根中靛玉红的含量测定及其影响因素分析[J]. 时珍国医国药,2008,19(5):1112.
[10] 刘云海,方建国,王文清,等. 板蓝根抗内毒素活性物质筛选[J]. 中南医药,2004,2(6):326.
[11] 刘云海,方建国,王文清,等. 板蓝根抗内毒素活性部位研究(Ⅱ)[J]. 中南医药,2001,2(5):263.
[12] 曹 婧,樊青霞,索振河,等. 靛玉红对膀胱癌 ScaBer 细胞株增殖的影响及机制[J]. 山东医药,2008,第 48(14):61.
[13] 方建国,刘云海,王文清,等. 板蓝根清热解毒实质研究[J]. 中草药,2008,39(3):321.
[14] 张宸豪,高 梅,马爱新,等. 板蓝根对柯萨奇病毒抑制作用的研究[J]. 第四军医大学吉林军医学院学报,2003,25(3):125.
[15] 黄 芳,熊雅婷,徐丽华,等. 板蓝根不同提取物中抗病毒成分表告依春在大鼠体内的药代动力学[J]. 中国药科大学学报,2006,37(6):519.
[16] Weijun Kong, Yanling Zhao, Limei Shan, et al. Microcalorimetric Studies of the Action on Four Organic Acids in Radix Isatidis on the Growth of Microorganisms [J]. Chin J Biotech, 2008, 24(4): 646.
[17] 丁丽霞,周海钧. 生物标准物质的研究和技术要求[J]. 中国药师,2007,10(3):229.
[18] 张恩户,赵子剑,张 英,等. 连翘及其制剂抗菌效价的生物检定法[J]. 中国中医基础医学杂志,2005,11(10):782.
[19] Wei-Jun Kong, Yan-Ling Zhao, Li-Mei Shan, et al. Investigation on the spectrum-effect relationships of EtOAc extract from Radix Isatidis based on HPLC fingerprints and microcalorimetry[J]. Journal of Chromatography B, 871 (2008) 109.
[20] 林文艳,莫建霞,于荣敏,等. 板蓝根药材 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中国现代应用药学杂志,2005,22(5):378.
[21] 赵艳玲,曹 琳,王伽伯,等. 板蓝根正丁醇部位指纹图谱的聚类分析及抑菌活性相关分析[J]. 中药材, 2005,28(12):1079.
[22] 赵艳玲,曹 琳,王伽伯,等. 板蓝根水提物的 HPLC 指纹图谱[J]. 中草药,2005,36(12):1819.
[23] 刘云海,李 敬,谢 委,等. 板蓝根中邻氨基苯甲酸的抗内毒素作用[J]. 中南医药,2005,3(3):138.
[24] 孔维军,赵艳玲,山丽梅,等. 基于微量热法的板蓝根提取方法和活性部位挑选[J]. 化学学报,2008,66(9):1111.
[25] 王峥涛. 中药质量标准研究进展与展望[J]. 中国天然药物,2006,6(3):403.