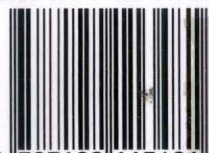


生物药物分析与检验 第二版

- 本书是在2002年编写出版的《生物药物分析与检验》的基础上，结合多年的教学和科研实践，编者重新编写而成的。全书分十一章。绪论即第一章述及本学科的性质与任务，并强调生物药物分析与检验的重要性；第二至第六章论述分析生物药物的若干重要方法（包括酶法、免疫分析法、生物检定法、电泳法、高效液相色谱等）的基本原理、基本理论与基本技术；第七至第十一章着重讨论各类生物药物（包括氨基酸、蛋白与多肽类、酶类、核酸类、糖类、脂类、抗生素、基因工程药物和疫苗等生物制品）的分析检验方法。
- 该书在编写上注重反映现代生物药物分析与检验的新技术和新进展，力求体现科学性、先进性和实用性。
- 该书适用于制药工程、生物工程以及药学等专业的本科学生作为专业教材使用，也可作为研究生、高职学生的参考教材或者从事生物药物生产、研究和分析检验人员的参考书。

ISBN 978-7-122-11348-1



9 787122 113481 >

定价：30.00元

THE HISTORY OF THE UNITED STATES

1776

- The American Revolution began in 1776, when the thirteen colonies declared their independence from Great Britain. The war lasted until 1781, when the British evacuated the colonies and returned to Europe. The United States was born.
- The American Revolution was a struggle for independence from British rule. It was fought between the thirteen colonies and the British Empire. The war ended in 1781 with the British evacuation of the colonies.
- The American Revolution was a struggle for independence from British rule. It was fought between the thirteen colonies and the British Empire. The war ended in 1781 with the British evacuation of the colonies.



普通高等教育“十二五”规划教材

生物工程
生物技术
系列

ANALYSIS AND TESTING
OF BIOLOGICAL MEDICINES

生物药物分析与检验

第二版

吴晓英 范一文 周世水 | 编著



化学工业出版社

·北京·

图书在版编目 (CIP) 数据

生物药物分析与检验/吴晓英, 范一文, 周世水编
著. —2 版. —北京: 化学工业出版社, 2011. 7

普通高等教育“十二五”规划教材

ISBN 978-7-122-11348-1

I. 生… II. ①吴…②范…③周… III. ①生物制
品-药物分析-高等学校-教材②生物制品-药品检定-高等
学校-教材 IV. ①R917②R392-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2011) 第 094854 号

责任编辑: 赵玉清

文字编辑: 张春娥

责任校对: 郑捷

装帧设计: 尹琳琳

出版发行: 化学工业出版社 (北京市东城区青年湖南街 13 号 邮政编码 100011)

印刷: 北京市振南印刷有限责任公司

装订: 三河市字新装订厂

787mm×1092mm 1/16 印张 15 字数 399 千字 2011 年 8 月北京第 2 版第 1 次印刷

购书咨询: 010-64518888 (传真: 010-64519686) 售后服务: 010-64518899

网 址: <http://www.cip.com.cn>

凡购买本书, 如有缺损质量问题, 本社销售中心负责调换。

定 价: 30.00 元

版权所有 违者必究

前 言

药物分析是一门研究与发展药物质量控制的方法学科，生物药物分析是其一个分支。药物分析的基本任务是检验药品质量，以保障人民用药安全、合理、有效。随着生命科学和生物技术的迅速发展，生物药物的品种与应用日益增多。生物药物是一类特殊的药品，它除用于临床治疗和诊断疾病以外，还用于健康人群特别是儿童的预防接种，以增强机体对疾病的抵抗力。因此，生物药物的质量与人的生命安全攸关，质量好的制品可增强人们的免疫力，治病救人，造福人民；质量差的制品不但不能保障人民的健康，还可能带来灾难、危害人民，例如许多基因工程药物，特别是细胞因子药物都可参与人体机能的精细调节，在极微量的情况下就会产生显著的效应，任何性质或数量上的偏差，都可能贻误病情甚至造成严重危害。因此，对生物药物及其产品进行严格的质量控制十分必要。

我们结合多年的教学和科研实践，并参考相关的教材、专著和文献资料，在2002年编写的第一版教材的基础上，重新编写了这本《生物药物分析与检验》。全书分十一章。绪论述及本学科的性质与任务，并强调了生物药物分析与检验的重要性；第二章至第六章论述分析生物药物的若干重要方法（包括酶法、免疫分析法、生物检定法、电泳法、高效液相色谱等）的基本原理、基本理论与基本技术；第七章至第十一章着重介绍各类生物药物（包括氨基酸、蛋白与多肽类、酶类、核酸类、糖类、脂类、抗生素、基因工程药物和疫苗等生物制品）的分析检验方法。该书编写上注重反映现代生物药物分析与检验的新技术和新进展，力求体现科学性、先进性和实用性。

《生物药物分析与检验》课程需在分析化学、生物化学、生化技术以及微生物学、生物制药工艺学等有关课程的基础上进行学习。通过本课程的学习，一方面可培养学生重视生物药物质量的观念，另一方面学生能掌握生物药物质量分析的基础理论知识和生物药物的基本分析检验方法，从而不断提高独立分析和解决实际问题的能力。

本书由吴晓英、范一文、周世水共同编著，杨汝德主审。在本书的编写过程中，得到了化学工业出版社的赵玉清编辑等同志的热情帮助和支持，在此表示衷心感谢。

该书适用于制药工程、生物工程以及药学等专业的大三、大四学生作为专业教材使用，也可作为研究生、高职学生的参考教材或者从事生物药物生产、研究和分析检验的人员的参考书。

限于编者的学识和水平，书中不当乃至错误之处，殷切希望广大学生、读者和同行批评指正。

编 者

2011年3月

目 录

第一章 绪论	1
第一节 生物药物概述	1
一、生物药物及其分类	1
二、生物药物的性质	3
三、生物药物的用途	3
第二节 生物药物的质量及其控制	4
一、生物药物质量的重要性与特殊性	4
二、药典与生物药物的质量标准	4
三、生物药物的质量控制与管理	6
第三节 生物药物的分析检验	6
一、药物分析与生物药物分析	6
二、生物药物分析与检验的特点	7
三、生物药物分析与检验的基本程序及 内容	7
四、生物药物常用的定量分析法	8
本章小结	9
思考题	9
第二章 酶分析法	10
第一节 酶活力测定法	10
一、基本概念	10
二、酶促反应的条件	10
三、酶活力的测定方法	11
四、测定过程中应注意的问题	13
第二节 酶法分析	15
一、终点测定法	15
二、反应速度法	19
本章小结	20
思考题	21
第三章 免疫分析法	22
第一节 概述	22
第二节 抗原	23
一、全抗原和半抗原	23
二、人工抗原的合成	24
第三节 抗体	31
一、抗体的制备	31
二、抗体的纯化	33
三、特异性抗体的筛选与效价测定	36
第四节 免疫分析方法及其应用	38
一、放射免疫分析法	38
二、荧光免疫分析法	40
三、克隆酶给予体免疫分析法	42
四、酶联免疫吸附分析法	42
五、应用示例	46
第五节 免疫扩散法	48
本章小结	50
思考题	50
第四章 电泳分析法	51
第一节 概述	51
一、电泳及电泳法	51
二、电泳法分类	52
第二节 基本理论	52
一、迁移率	52
二、影响迁移率的因素	53
第三节 纸电泳法	54
第四节 醋酸纤维素薄膜电泳法	55
第五节 琼脂糖凝胶电泳法	56
第六节 聚丙烯酰胺凝胶电泳法	58
第七节 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳法	59
第八节 免疫电泳法	62
第九节 毛细管电泳法	63
一、概述	63
二、基本原理	64
三、基本技术	65
四、毛细管电泳的分离模式	66
五、毛细管电泳技术在药物分析中的 应用	67
本章小结	68
思考题	69

第五章 高效液相色谱法	70		
第一节 概述	70	第四节 实际操作中的问题	84
一、高效液相色谱法的概念及发展沿革	70	一、HPLC方法的建立	84
二、高效液相色谱的分离过程	70	二、溶剂的处理	87
三、高效液相色谱仪	71	三、系统适用性试验	88
四、高效液相色谱法的特点	72	四、无参比标准的纯度评价	89
第二节 基本理论	73	五、仪器的使用	89
一、色谱分离过程	73	六、操作中常出现的问题及其解决方法	90
二、色谱流出曲线及相关术语	75	第五节 高效液相色谱法在药物分析中的	
三、色谱柱参数	76	应用	92
四、分离度及其影响因素	77	一、反相高效液相色谱法	92
五、速率理论及色谱峰扩大的影响因素	78	二、高效离子交换色谱法	92
第三节 高效液相色谱的定性和定量分析	81	三、高效凝胶过滤色谱法	93
一、定性分析	81	本章小结	94
二、定量分析	81	思考题	94
第六章 生物检定法	95		
第一节 概述	95	三、注意事项	110
一、生物检定的应用范围	95	第四节 抗生素的微生物检定法	111
二、标准品	95	一、概述	111
三、效价检定的基本概念	96	二、琼脂扩散法——管碟法	111
四、生物检定的常用方法	98	三、浊度法	124
第二节 胰岛素生物检定法	103	第五节 生物制品的效力检定	127
一、供试用动物	104	一、动物保护力试验	127
二、试剂准备(均用AR规格)	104	二、活菌数和活病毒滴度测定	128
三、操作	104	三、类毒素和抗毒素的单位测定	128
四、注意事项	107	四、血清学试验	128
第三节 肝素生物检定法	107	五、其他有关效力的检定和评价	128
一、供试用动物	107	本章小结	129
二、操作	107	思考题	129
第七章 生物药物的杂质与安全性检查	130		
第一节 概述	130	十一、热分析法	139
一、基本概念	130	十二、残留溶剂测定法	139
二、杂质的来源	130	第三节 特殊杂质检查方法	140
三、杂质的分类	130	一、物理分析法	140
四、杂质的限量	131	二、化学分析法	140
第二节 一般杂质检查方法	131	三、光学分析法	141
一、氯化物检查法	131	四、色谱法	141
二、硫酸盐检查法	132	五、其他分析法	141
三、铁盐检查法	133	第四节 安全性检查	141
四、重金属检查法	133	一、热原检查法	142
五、砷盐检查法	134	二、细菌内毒素检查法	143
六、溶液澄清度检查法	136	三、无菌检查法	143
七、溶液颜色检查法	137	四、异常毒性检查法	144
八、易炭化物检查法	138	五、过敏反应检查法	144
九、炽灼残渣检查法	138	六、降压物质检查法	145
十、干燥失重测定法	139	七、升压物质检查法	145

本章小结	145	思考题	145
第八章 氨基酸、肽类、蛋白质和酶类药物的分析	146		
第一节 氨基酸类药物的分析	146	一、概述	153
一、氨基酸的结构与物化性质	146	二、鉴别试验	153
二、鉴别试验	147	三、检查	153
三、检查	148	四、含量或效价测定	154
四、含量测定	148	第四节 酶类药物的分析	156
第二节 肽类药物的分析	149	一、概述	156
一、概述	149	二、鉴别试验	156
二、鉴别试验	150	三、检查	157
三、检查	150	四、含量或效价测定	158
四、含量或效价测定	150	本章小结	164
第三节 蛋白质类药物的分析	153	思考题	165
第九章 糖类、脂类和核酸类药物的分析	166		
第一节 糖类药物的分析	166	一、概述	171
一、概述	166	二、脂类药物的含量测定方法	171
二、物理常数测定	166	第三节 核酸类药物的分析	172
三、鉴别试验	166	一、概述	172
四、检查	167	二、常用核酸类药物的分析与检验	172
五、含量测定方法	167	本章小结	177
第二节 脂类药物分析	171	思考题	177
第十章 抗生素类药物分析	178		
第一节 概述	178	二、鉴别试验	183
一、定义与分类	178	三、特殊杂质检查及组分分析	185
二、抗生素类药物分析的特殊性	178	四、含量测定	186
第二节 β -内酰胺类抗生素分析	179	第四节 四环素类抗生素	186
一、结构与性质	179	一、结构与性质	186
二、鉴别试验	180	二、鉴别试验	188
三、特殊杂质的检查	181	三、特殊杂质检查	188
四、含量测定	182	四、含量测定	189
第三节 氨基糖苷类抗生素	182	本章小结	190
一、结构与性质	182	思考题	190
第十一章 基因工程药物检验	191		
第一节 基因工程药物概述	191	三、基因工程药物的制造及检定规程	196
一、基因工程药物及其种类	191	第三节 基因工程药物的检验	198
二、基因工程药物的特点	192	一、基因工程药物常用检验方法	198
第二节 基因工程药物质量控制	192	二、基因工程药物的检验实例	206
一、基因工程药物的质量要求	192	本章小结	230
二、基因工程药物的质控要点	193	思考题	231
参考文献	232		

第一章 绪 论

第一节 生物药物概述

一、生物药物及其分类

生物药物是利用生物体、生物组织或组成生物体的各种成分，综合应用多学科的原理和方法，特别是采用现代生物技术，进行加工、制造而形成的一大类用于预防、治疗以及诊断疾病的药物。广义的生物药物包括：从动植物和微生物中直接制取的各种天然生理活性物质及人工合成或半合成的天然物质类似物。随着现代生物技术的快速发展，生物药物的组成和品种得到了极大的扩充。

生物药物可以按照其来源和制造方法、药物的化学本质和化学特性以及生理功能和临床用途等不同方法进行分类，而任何一种分类方法都有其不完善之处。通常是将三者结合进行综合分类，可将生物药物分为以下几大类。

1. 天然生化药物

天然生化药物是指从生物体（动物、植物和微生物）中获得的天然存在的生化活性物质。

(1) 氨基酸类药物 包括氨基酸及其衍生物。氨基酸的使用可以是单一氨基酸如谷氨酸用于肝昏迷、神经衰弱和癫痫等的治疗，胱氨酸用于抗过敏、肝炎及白细胞减少症的治疗；也可以使用复方氨基酸制剂如复方氨基酸注射液和要素膳，为重症病人提供营养。

(2) 多肽和蛋白质类药物

① 多肽药物 主要有多肽激素和多肽细胞生长调节因子，如催产素、促皮质素（ACTH）和表皮生长因子（EGF）等。

② 蛋白质类药物 包括单纯蛋白质（如人白蛋白、丙种球蛋白、胰岛素等）和结合蛋白类（如糖蛋白、脂蛋白、色蛋白等）。

(3) 酶与辅酶类药物

① 助消化酶类，如胃蛋白酶、胰酶和麦芽淀粉酶等。

② 消炎酶类，如溶菌酶、胰蛋白酶、木瓜蛋白酶等。

③ 心脑血管疾病治疗酶类，如尿激酶、弹性蛋白酶、纤溶酶等。

④ 抗肿瘤酶类，如天冬酰胺酶可治疗淋巴肉瘤和白血病，谷氨酰胺酶、蛋氨酸酶也有不同程度的抗肿瘤作用。

⑤ 其他酶类，如超氧化物歧化酶（SOD）用于治疗类风湿性关节炎和放射病等，青霉素酶可治疗青霉素过敏。

⑥ 辅酶类药物，多种酶的辅酶或辅基成分具有医疗价值，如辅酶Ⅰ、辅酶Ⅱ等广泛用于肝病和冠心病的治疗。

(4) 核酸类药物

① 具有天然结构的核酸类药物，包括 RNA、DNA、核苷、核苷酸、多聚核苷酸等。

② 核酸类结构改造药物，如叠氮胸苷、阿糖腺苷、阿糖胞苷、聚肌胞等，它们是目前人类治疗病毒感染、肿瘤、艾滋病的重要药物。

(5) 多糖类药物 多糖类药物的来源包括动物、植物、微生物和海洋生物，它们在抗凝、降血脂、抗肿瘤、增强免疫功能和抗衰老方面具有较强的药理作用，如肝素有很强的抗凝作用，小分子肝素有降血脂、防治冠心病的作用；硫酸软骨素 A 在降血脂、防治冠心病方面有一定疗效；透明质酸具有健肤、抗皱、美容的作用。各种真菌多糖具有抗肿瘤、增强免疫力和抗辐射作用，主要有银耳多糖、蘑菇多糖、灵芝多糖等。

(6) 脂类药物

① 磷脂类，如卵磷脂、脑磷脂可用于治疗神经衰弱、肝病和冠心病等。

② 多价不饱和脂肪酸和前列腺素，如亚油酸、亚麻酸、前列腺素等。

③ 胆酸类，如去氧胆酸、猪去氧胆酸等。

④ 固醇类，如胆固醇、麦角固醇和 β -谷固醇等。

⑤ 卟啉类，如血红素、胆红素、血卟啉等。

2. 微生物药物

(1) 抗生素 抗生素是指“在低微浓度下即可对某些生物的生命活动有特异抑制作用的化学物质的总称”。抗生素的生产目前主要由微生物发酵法进行生物合成，很少数的抗生素如氯霉素、磷霉素等亦可用化学合成法生产。此外还可将生物合成法制得的抗生素用化学或生化方法进行分子结构改造而制成各种衍生物，称半合成抗生素，如氨苄青霉素就是半合成青霉素中的一种。

根据化学结构，抗生素可划分为：

① β -内酰胺类抗生素，包括青霉素类、头孢菌素类。

② 氨基糖苷类抗生素，如链霉素、庆大霉素。

③ 大环内酯类抗生素，如红霉素、麦迪霉素。

④ 四环类抗生素，如四环素、土霉素。

⑤ 多肽类抗生素，如多黏菌素、杆菌肽。

⑥ 多烯类抗生素，如制菌霉素、万古霉素等。

⑦ 苯羟基胺类抗生素，包括氯霉素等。

⑧ 蒽环类抗生素，包括氯红霉素、阿霉素等。

⑨ 环桥类抗生素，包括利福平等。

⑩ 其他抗生素，如磷霉素、创新霉素等。

(2) 酶抑制剂 由微生物来源的酶抑制剂主要有 β -内酰胺酶抑制剂，其代表是克拉维酸（又称棒酸），它与青霉素类抗生素具有很好的协同作用； β -羟基- β -甲基-戊二酰辅酶 A（HMG-CoA）还原酶抑制剂，如洛伐他丁、普伐他丁等，它们是重要的降血脂、降胆固醇、降血压药物；亮氨酸氨肽酶抑制剂，如苯丁亮氨酸，可用于抗肿瘤。

(3) 免疫调节剂 包括免疫增强剂和免疫抑制剂。具有免疫增强作用的免疫调节剂如 picibanil (OK-432)；具有免疫抑制作用的免疫调节剂如环孢菌素 A，环孢菌素 A 的发现大大增加了器官移植的成功率。

3. 基因工程药物

(1) 重组多肽与蛋白质类激素 主要有重组人胰岛素、重组人生长素、绒毛膜促性腺激素等，还有重组人白蛋白和重组人血红蛋白。

(2) 重组溶栓类药物 如组织纤溶酶原激活剂 (t-PA)、重组水蛭素等。

(3) 细胞因子类 如干扰素、白介素、促红细胞生成素等。

(4) 重组疫苗与单抗制品 主要有乙肝表面抗原疫苗、AIDS 疫苗和流感疫苗等。

4. 基因药物

这类药物是以基因物质（DNA 或 RNA 及其衍生物）作为治疗的物质基础，包括基因治疗用的重组目的 DNA 片段、重组疫苗、反义药物和核酶等。

5. 生物制品

生物制品（biological product）一般指的是用微生物（包括细菌、噬菌体、立克次体、病毒等）、微生物代谢产物、原虫、动物毒素、人或动物的血液或组织等直接加工制成，或用现代生物技术方法制成，作为预防、治疗、诊断特定传染病或其他有关疾病的免疫制剂，包括各种疫苗、抗血清（免疫血清）、抗毒素、类毒素、免疫制剂（如胸腺肽、免疫核酸等）、诊断试剂等。

按用途划分，生物制品可分为：

（1）预防用制品

- ① 疫苗，由病毒、立克次体或螺旋体制成，如乙肝疫苗。
- ② 菌苗，由细菌制成，如卡介苗。
- ③ 类毒素，由细菌外毒素经甲醛脱毒而保留其抗原性，如白喉类毒素。

（2）治疗用制品

- ① 特异性治疗用制品，如狂犬病免疫球蛋白。
- ② 非特异性治疗用制品，如白蛋白。

（3）诊断用制品 主要指免疫诊断用品，如结核菌素及多种诊断用单克隆抗体。

二、生物药物的性质

与化学合成药物和中药相比，生物药物有其特殊性，主要性质如下所述。

① 在化学构成上，生物药物十分接近于体内的正常生理物质，进入体内后也更易为机体所吸收利用和参与人体的正常代谢与调节。

② 在药理学上，生物药物具有更高的生化机制合理性和特异治疗有效性。

③ 在医疗上，生物药物具有药理活性高、针对性强、毒性低、副作用小、疗效可靠及营养价值高等特点。

④ 生物药物的有效成分在生物材料中浓度都很低，杂质的含量相对比较高。

⑤ 生物药物常常是一些生物大分子，它们不仅分子量大，组成、结构复杂，而且具有严格的空相构象，以维持其特定的生理功能。

⑥ 生物药物对热、酸、碱、重金属及 pH 变化均较敏感，各种理化因素的变化易对生物活性产生影响。

三、生物药物的用途

生物药物广泛用作医疗用品，特别是在传染病的预防和某些疑难病的诊断和治疗上起着其他药物所不能替代的独特作用。随着预防医学和保健医学的发展，生物药物正日益渗入到人们生活的各个领域，大大扩展了其应用范围。

（1）作为治疗药物 对许多常见病和多发病，生物药物都有较好的疗效。对目前危害人类健康最严重的一些疾病如恶性肿瘤、艾滋病、糖尿病、心血管疾病、乙型肝炎、内分泌障碍、免疫性疾病、遗传病等，生物药物将发挥其他药物不可比拟的治疗作用。

（2）作为预防药物 许多疾病，尤其是传染病，预防比治疗更为重要。通过预防，许多传染病得以控制，直到根绝。常见的预防用生物药物包括各种疫苗、类毒素及冠心病防治药物等。

（3）作为诊断药物 生物药物用作诊断试剂是其突出又独特的另一临床用途，具有速度快、灵敏度高、特异性强等特点，绝大部分临床诊断试剂都来自生物药物。

诊断用药有体内（注射）和体外（试管）两大使用途径。诊断用品发展迅速，品种繁

多，主要包括：免疫诊断试剂、酶诊断试剂、器官功能诊断药物、放射性核素诊断药物、单克隆抗体（McAb）诊断试剂和基因诊断药物等。

（4）其他用途 生物药物应用的另一个重要发展趋势就是渗入到生化试剂、生物医学材料、保健品、营养品、食品、日用化工和化妆品等各个领域。

第二节 生物药物的质量及其控制

一、生物药物质量的重要性与特殊性

生物药物是一类特殊的药品，它除用于临床治疗和诊断以外，还用于健康人群特别是儿童的预防接种，以增强机体对疾病的抵抗力。生物药物的质量与人们生命攸关，质量好的制品可增强人的免疫力，治病救人，造福于人；质量差的制品不但不能保障人们的健康，还可能带来灾难，危害人类。如许多基因工程药物，特别是细胞因子药物都可参与人体机能的精细调节，在极微量的情况下就会产生显著效应，任何性质或数量上的偏差，都可能贻误病情甚至造成严重危害。因此，对生物药物及其产品进行严格的质量控制就显得十分必要。

为了保证用药的安全、合理和有效，在药品的研制、生产、供应以及临床使用过程中都应该进行严格的质量控制和科学管理，并采用各种有效的分析检测方法，对药品进行严格的分析检验，从而对各个环节全面地控制、管理并研究提高药品的质量，实现药品的全面质量控制。

二、药典与生物药物的质量标准

药品质量标准是药品现代化生产和质量管理的重要组成部分，是药品生产、供应、使用和监督管理部门共同遵循的法定技术依据，也是药品生产和临床用药水平的重要标志。为了确保药品的质量，应该遵循国家规定的药品质量标准（药典、部颁标准、地方标准）进行药品检验和质量控制工作。国家卫生行政部门的药政机构和药品检验机构代表国家行使对药品的管理和质量监督。《中华人民共和国药品管理法》规定药品必须符合国家标准。《中华人民共和国标准化法实施条例》规定药品标准属于强制性标准。

1. 药典

药典记载着各种药品的标准，是一个国家关于药品标准的法典，是国家管理药品生产与质量的依据，一般由国家卫生行政部门主持编纂、颁布实施。药典和其他法令一样具有约束力。凡属药典的药品，其质量不符合规定标准的均不得出厂、不得销售、不得使用。

我国药典的全称为《中华人民共和国药典》，简称为《中国药典》，其后以括号注明是哪一年版，如《中国药典》（2010年版），英文写法：Chinese Pharmacopeia，缩写为 Ch. P.。1949年以来，我国已先后出版了九版药典（1953年、1963年、1977年、1985年、1990年、1995年、2000年、2005年和2010年版）。《中国药典》从2005年版开始，全书分为三部，第一部收载药材、饮片、中成药及单味制剂；第二部收载化学药品、抗生素、生化药品、放射性药品及其各类制剂和药用辅料；第三部收载生物制品，首次将《中国生物制品规程》并入药典。

药典的内容分为凡例、正文、附录和索引四部分。

“凡例”是为正确使用《中国药典》进行质量检定的基本原则，是对药典正文、附录及与质量检定有关的共性问题的统一规定，并记载了药典中有关术语（如溶解度、温度以及度量衡单位等）的说明。

正文部分为所收载药品或制剂的质量标准，根据品种和剂型的不同，按顺序可分别列有：①药品的品名、②有机药物的结构式、③分子式与分子量、④来源或有机药物的化学名

称、⑤含量或效价规定、⑥处方、⑦制法、⑧性状、⑨鉴别、⑩检查、⑪含量或效价测定、⑫类别、⑬规格、⑭贮藏、⑮制剂等。有关临床用药问题，另有《中国药典临床用药须知》一书，以指导临床用药。

附录部分收录了制剂通则、通用检测方法（包括一般杂质检查法、一般鉴别试验、有关物理常数测定法、试剂配制法、分光光度法、色谱法、氧瓶燃烧法、微生物检定法等）及指导原则。

目前世界上已有数十个国家编订了国家药典，另外尚有区域性药典及世界卫生组织（WHO）编订的国际药典。在药物分析工作中可供参考的国外药典主要有：美国药典（The United States Pharmacopoeia, USP）、美国国家处方集（The National Formulary, NF）、英国药典（British Pharmacopoeia, BP）、日本药局方（Pharmacopoeia of Japan, JP）、欧洲药典（Ph. Eur）、国际药典（Ph. Int）等。

对于生物制品，其标准化也受到了人们的高度重视，因为标准化是组织生物制品生产和提高制品质量的重要手段，是科学管理和技术监督的重要组成部分。它主要包括两方面的工作：一是生物制品规程的制定和修订，二是国家标准品的审定。

2. 生物制品规程

各国都有生物制品规程。世界卫生组织早在 20 世纪 60 年代就开始陆续制定《世界卫生组织生物制品规程》，它是国际间生物制品生产和质量的最低要求。《中国生物制品规程》是我国生物制品的国家标准和技术法规。生物制品规程包括生产规程和检定规程两方面的内容，它是我国生物制品生产和检定的科学经验的总结，它来源于生产，反过来又指导生产。它不但规定了生产和检定的技术指标，还对原材料、工艺流程、检定方法等作了详细规定，对制品质量起保证作用，是国家对生物制品实行监督的准绳，也是国家对生物制品的最低要求。中国药典从 2005 年版开始，首次将《中国生物制品规程》写入药典，作为药典的第三部。

3. 标准物质

由于生物制品是不能单纯用理化方法来衡量其效力或活性的，而只能用生物学方法来衡量。但生物学测定往往由于试验动物个体差异、所用试剂或原材料的纯度或敏感性不一致等原因，导致试验结果的不一致性。为此，需要在进行测定的同时，用一已知效价的制品作为对照来校正试验结果，这种对照品就是标准品。国际上将标准品分为两类：国际标准品和国际生物参考试剂。

（1）标准物质的种类和定义 标准物质分为两类：国家标准品和国家参考品。前者系指用国际标准品标定的，或我国自行研制的（尚无国际标准品者）用于衡量某一制品效价或毒性的特定物质，其生物活性以国际单位或以单位表示。后者系指用国际参考品标定的，或我国自行研制的（尚无国际参考品者）用于微生物（或其产物）鉴定或疾病诊断的生物诊断试剂、生物材料或特异性抗血清以及用于某些不用国际单位表示的制品的定量检定用特定物质。

（2）标准物质的制备 标准物质的制备由国家药品检定机构负责。国际标准品、国际参考品由国家药品检定机构向 WHO 索取，并保管和使用。生物标准物质原材料应与待检样品同质，不应含有干扰性杂质，应有足够的稳定性和高度的特异性，并有足够的数量。根据各种标准物质的要求，进行配制、稀释。需要加保护剂等物质者，该类物质应对标准物质活性、稳定性和试验操作过程无影响，并且其本身在干燥时不挥发。经一般质量检定合格后，精确分装，精确度应在 $\pm 1\%$ 以内。需要干燥保存者分装后立即进行冻干和熔封。冻干者水分含量应不高于 3%。整个分装、冻干和熔封过程，必须密切注意各安瓿间效价和稳定性的一致性。

(3) 标准物质的标定 标准物质的标定也由国家药品检定机构负责。新建标准物质的研制或标定一般需有至少 3 个有经验的实验室协作进行。参加单位应采用统一的设计方案, 统一的方法, 统一的记录格式, 标定结果须经统计学处理 (标定结果至少需取得 5 次独立的有效结果)。活性值 (效价单位或毒性单位) 的确定一般用各协作单位结果的均值表示, 由国家药品检定机构收集各协作单位标定结果, 统一整理统计并上报国家药品监督管理局批准。研制过程应进行加速破坏试验, 根据制品性质放置不同温度、不同时间, 进行活性测定以评估其稳定情况。标准物质建立以后应定期与国际标准物质比较, 观察活性是否下降。

三、生物药物的质量控制与管理

要确保药品的质量能符合药品质量标准的要求, 在药物存在的各个环节加强管理是必不可少的, 许多国家都根据本国的实际情况制定了一些科学管理规范 and 条例。对药品质量控制的全过程起指导作用的法令性文件有 GLP、GMP、GSP、GCP 四个科学管理规范, 这些规范对加强药品的全面质量控制具有十分重要的意义和作用。

《良好药品实验研究规范》(good laboratory practice, GLP), 任何科研单位或研究部门为了研制出安全、有效的药物, 必须按照 GLP 的规定开展工作。GLP 从各个方面明确规定了如何严格控制药物研制的质量, 以确保实验研究的质量与实验数据的准确可靠。

《良好药品生产规范》(good manufacture practice, GMP), 在我国制药行业称之为“药品生产质量管理规范”。它是一套严密的药品生产和质量管理的规范, 即涉及人员、厂房和设备、原材料采购、入库、检验、发料、加工、制品及半成品检验、分包装、成品检定、出品销售、运输、用户意见及反应处理等在内的全过程质量管理。药品生产企业为了生产出全面符合药品质量标准的药品, 必须按照 GMP 的规定组织生产和加强管理。

《良好药品供应规范》(good supply practice, GSP), 即药品供应部门为了保证药品在运输、贮存和销售过程中的质量和效力, 必须按照 GSP 的规定进行工作。

《良好药品临床试验规范》(good clinical practice, GCP), 为了保证药品临床试验资料的科学性、可靠性和重现性, 涉及新药临床研究的所有人员都应明确责任, 必须执行 GCP 的规定。本规范主要起两个作用: 一是为了在新药研究中保护志愿受试者和病人的安全和权利, 二是有助于生产厂家申请临床试验和销售许可时, 能够提供有价值的临床资料。

除了药品研究、生产、供应和临床各环节的科学管理外, 有关药品检验工作本身的质量管理更应重视; 《分析质量管理》(analytical quality control, AQC), 用于管理分析结果的质量。

第三节 生物药物的分析检验

一、药物分析与生物药物分析

任何药物都必须达到一定的质量标准, 药物质量的好坏, 不但直接影响着治疗与预防的成效, 而且密切地关系到人们的健康与生命安全。为了控制药物的质量, 保证用药安全、合理、有效, 在药品的生产、保管、供应、调配及临床使用过程中都应该经过严格的分析检验。

药物分析学科是一门研究与发展药物质量控制的方法学科, 是整个药学科学领域中一个重要的组成部分。药物分析的基本任务是检验药品质量, 保障人们用药安全、合理、有效。哪里有药物, 哪里就有药物分析。随着整个药学科学事业的发展, 药物分析学科也随之产生了新的“分化”和“综合”, 除了一般的药物分析 (主要介绍小分子合成药) 外, 已逐步形成了体内药物分析、工业药物分析、计算药物分析以及药物色谱分析、药物光谱分析等一些

新的分支学科，同样生物药物分析也是药物分析的一个新分支。生物药物目前在药品中所占的比例日趋增加。

生物药物分析是制药工程、生物工程专业设置的一门重要的专业课程。本课程的任务是培养学生具备强烈的生物药物全面质量控制的观念，使学生通过本课程的学习能胜任生物药物研究、生产、供应和临床使用过程中的分析检验工作，并能研究探索解决生物药品质量问题的一般规律和基本知识技能。

二、生物药物分析与检验的特点

1. 需进行相对分子质量的测定

生物药物除氨基酸、核苷酸、辅酶及甾体激素等属化学结构明确的小分子化合物外，大部分为大分子物质，如蛋白质、多肽、核酸、多糖类等，其相对分子质量一般在几千至几十万。对大分子的生物药物而言，即使组分相同，往往由于相对分子质量不同而产生不同的生理活性。所以，生物药物常需进行相对分子质量的测定。

2. 需检查生物活性

在制备多肽或蛋白质类药物时，有时因工艺条件的变化，导致活性多肽或蛋白质失活。因此，对这类生物药物，除了用通常采用的理化法检验外，尚需用生物检定法进行检定，以证实其生物活性。

3. 需做安全性检查

由于生物药物的性质特殊，生产工艺复杂，易引入特殊杂质，故生物药物常需做安全性检查，如热原检查、过敏试验、异常毒性试验等。

4. 需做效价测定

生化药物多数可通过含量测定，以表明其主药的含量。但对某些药物需进行效价测定或酶活力测定，以表明其有效成分含量的高低。

5. 要用生化法确证结构

在大分子生物药物中，由于有效结构或分子量不确定，其结构的确证很难沿用元素分析、红外、紫外、核磁、质谱等方法加以证实，往往还要用生化法如氨基酸序列分析等方法加以证实。

三、生物药物分析与检验的基本程序及内容

生物药物检验工作的基本程序一般为取样、鉴别、检查、含量测定、写出检验报告。

1. 药物的取样

分析任何药品首先是取样，要从大量的样品中取出少量样品进行分析，应考虑取样的科学性、真实性和代表性，不然就失去了检验的意义。据此，取样的基本原则应该是均匀、合理。如生产规模的固体原料药的取样须采用取样探子。

2. 药物的鉴别试验

鉴别是采用化学法、物理法及生物学方法来确证生物药物的真伪。通常需用标准品或对照品在同一条件下进行对照试验。依据药物的化学结构和理化性质进行某些化学反应，测定某些理化常数或光谱特征，来判断药物及其制剂的真伪。药物的鉴别不是由一项试验就能完成的，而是采用一组试验项目全面评价一个药物，力求使结论正确无误。常用的鉴别方法有：化学反应法、紫外分光光度法、酶法、电泳法、生物法等。

3. 药物的杂质检查

可用来判定药物的优劣。药物在不影响疗效及人体健康的原则下，可以允许生产过程和贮藏过程中引入的微量杂质的存在。药物中的杂质限量的控制方法一般分为两种：一种为限量检查法（limit test），另一种是对杂质进行定量测定。药物的杂质检查又分为一般杂质检查和特殊杂质检查，后者主要是指从生产过程中引入或原料中带入的杂质。

4. 药物的安全性检查

生物药物应保证符合无毒、无菌、无热原、无致敏原和降压物质等一般安全性要求，故需进行安全性检查，主要包括热原检查、细菌内毒素检查、异常毒性检查、无菌检查、过敏反应试验等。

此外，某些生物药物还需要进行药代动力学和毒理学（致突变、致癌、致畸等）的研究。

5. 药物的含量（效价）测定

含量（效价）测定也可用于判定药物的优劣。含量测定就是测定药物中主要有效成分的含量。通常采用化学分析、理化分析或生物测定方法来测定，以确定药物的含量是否符合药品标准的规定要求。生物药物的含量表示方法通常有两种：一种用百分含量表示，适用于结构明确的小分子药物或经水解后变成小分子的物质；另一种用生物效价或酶活力单位表示，适用于多肽、蛋白质和酶类药物。

所以，判断一个药物的质量是否符合要求，必须全面考虑鉴别、检查与含量测定三者的检验结果。除此之外，尚有药物的性状（外观、色泽、气味、晶形、物理常数等）也能综合地反映药品的内在质量。

6. 检验报告的书写

上述药品检验及其结果必须有完整的原始记录，实验数据必须真实，不得涂改，全部项目检验完毕后，还应写出检验报告，并根据检验结果做出明确的结论。药物分析工作者在完成药品检验工作，写出书面报告后，还应对其不符合规定的药品提出处理意见，以便供有关部门参考，并尽快地使药品质量符合要求。

四、生物药物常用的定量分析法

1. 酶法

酶法通常包括两种类型：一种是酶活力测定法，是以酶为分析对象，目的在于测定样品中某种酶的含量或活性，测定方法有取样测定法和连续测定法；另一种是酶分析法，是以酶为分析工具或分析试剂，测定样品中酶以外的其他物质的含量，分析的对象可以是酶的底物、酶的抑制剂和辅酶活化剂，检测方法可采用动力学分析法和总变量分析法。两者检测的对象虽有所不同，但原理和方法都是以酶能专一而高效地催化某化学反应为基础，通过对酶反应速度的测定或对生成物等浓度的测定而检测相应物质的含量。

2. 电泳法

由于电泳法具有灵敏度高、重现性好、检测范围广、操作简便并兼备分离、鉴定、分析等优点，故已成为生物技术及生物药物分析的重要手段之一。电泳法的基本原理是：在电解质溶液中带电粒子或离子在电场作用下以不同的速度向其所带电荷相反方向迁移，电泳分离就是基于溶质在电场中的迁移速度不同而进行的。根据电泳的分离特点及工作方式，电泳可分为三大类：①自由界面电泳；②区带电泳；③高效毛细管电泳。常用的电泳法有纸电泳法、醋酸纤维素薄膜电泳法、聚丙烯酰胺凝胶电泳法、SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳法以及琼脂糖凝胶电泳法等。

3. 免疫分析法

免疫分析法是以特异性抗原-抗体反应为基础的分析方法，具有高特异性、高灵敏度的特点。免疫分析法主要包括放射免疫分析法、荧光免疫分析法、酶联免疫分析法等。

4. 理化测定法

(1) 重量法 根据样品中分离出的单质或化合物的重量测定所含成分的含量。根据被测组分分离方法的不同，可分为提取法、挥发法、沉淀法。

(2) 滴定法 根据样品中某些成分与标准溶液能定量地发生酸碱中和、氧化还原或络合

反应等进行测定。

(3) 比色法 根据样品与显色剂可发生颜色反应，依颜色反应的强度测定含量。

(4) 紫外分光光度法 样品或转化后的产物在某一波长处有最大吸收，在一定的浓度范围内，其浓度与吸收度成正比，则可进行定量测定。

(5) 高效液相色谱法 高效液相色谱法（HPLC法）的种类很多，应用十分广泛，分析中的应用日益增多，在生物药物分析中常用的 HPLC 方法有：反相高效液相色谱法（RP-HPLC）、高效离子交换色谱法（HPIEC）以及高效凝胶过滤色谱法（HPGFC）等。

5. 生物检定法

生物检定法是利用药物对生物体（整体动物、离体组织、微生物等）的作用以测定其效价或生物活性的一种方法。它以药物的药理作用为基础，以生物统计为工具，运用特定的实验设计，通过供试品和相应的标准品或对照品在一定条件下比较产生特定生物反应的剂量比例，来测得供试品的效价。生物检定法的应用范围包括：药物的效价测定、微量生理活性物质的测定、某些有害杂质的限度检查和某些中药的质量控制等。

本章小结

主要介绍生物药物的分类、性质、用途，生物药物的质量控制，药典简介，生物药物的分析与检验的重要性和特点及常用的分析方法。生物药物分析是药物分析学科的一个分支，药物分析学科是一门研究与发展药物质量控制的方法学科。药物分析的基本任务是检验药品质量，保障人们用药安全、合理、有效。药品质量标准是药品现代化生产和质量管理的重要组成部分，药典记载着各种药品的标准，是一个国家关于药品标准的法典，是国家管理药品生产与质量的法定技术依据，药典和其他法令一样具有约束力。生物药物检验工作的基本程序一般为取样、鉴别、检查、含量测定、写出检验报告。生物药物常用的定量分析方法包括酶法、电泳法、免疫分析法、理化测定法和生物检定法。

思考题

1. 名词解释：药物、生物药物、生化药物、生物技术药物、生物制品。
2. 药物分析的性质、任务是什么？生物药物分析与检验的特点有哪些？
3. 什么是药典？1949 年以来，我国共出版了几版药典？我国药典的基本内容有哪些？可供参考的国外药典主要有哪些？
4. 简述药品检验工作的基本程序。