第一章　生物药物分析学概述

第一节　药物分析的性质和任务

一、药物分析的性质

药物是指用于预防、治疗、诊断人的疾病，有目的地调节人的生理功能并规定有适应证和用法、用量的物质。因此，药物必须要达到一定的质量标准。药物分析是药学中的一门分支学科，它是药学和分析科学的交叉学科，其内容包括药物的检验、药物稳定性、生物利用度、药物临床监测以及生物药物检定等诸多方面的有关定性定量分析工作。其目的是确保药物的质量，保证病人用药的安全有效。此外，像毒物分析、运动员的兴奋剂检测、成瘾药物检查等也属于药物分析的范畴。

二、药物分析的任务

为了对药品的生产、贮运、供应、调配以及临床使用过程的各个环节进行全面的控制和研究，药物分析必须运用各种有效的检测手段参与各个环节的工作，按照合理的需要或规定进行药品质量检测和研讨，探索保证药品质量的新技术、新方法。鉴于以上要求，药物分析的任务可以概括为以下几个方面。

1. 对药物生产过程的控制

对生产过程中所涉及的原料、反应中间体、反应副产物及成品进行检测，配合生产单位发现问题、改进生产、提高产量及质量。

2. 对药物贮运进行监测

药物在贮运过程中由于受各种环境因素（光、空气、水等）的影响，有时产生分解而变质。因而需定期进行检测，考察其质量的变化，进一步研究改进药物稳定性的科学管理条件和方法，以保证供应药物的质量。

3. 对临床用药进行监护

药物质量好坏最终取决于临床疗效和安全。临床用药效果的好坏，除了药物本身质量外，医生用药是否合理，用药时是否注意到病人的个体差异等因素，都直接影响到临床用药的效果。因此，应配合医疗，开展临床药物分析工作，以提高医疗质量，保证用药的有效、合理及安全。

4. 配合药物研究部门进行新药与新剂型的研制

在研制过程中，进行常规的检测，并对药物进入体内后，进行吸收、分布、排除及制剂生物利用度等测试，提供有效数据，以利于研究和发现新药。

5. 提高药物工作者的素质，提供一些确保用药有效、合理、安全的新技术、新方法等信息。

第二节　药物的质量标准

一、药物质量的评价

药物的质量要求，首先要考虑药物本身的有效性和安全性及其中的杂质和降解产物对人

需要全本请访问 www.ertongbook.com

体的危害性和不良反应。药物的质量优劣，直接影响预防与治疗的效果及其毒副作用。因此必须保证药物有严格的质量标准和科学合理的分析方法，对药物质量进行全面控制。大部分药物都是机体的化学异物，故评价一个药物质量的优劣，不仅要控制它的性状、鉴别、纯度检查、含量等质量指标，而且要掌握其在体内吸收、分布、排泄、生物转化及其生物利用度，即药物的体内过程等有效性与安全性才能确定，还要进行科学管理。

二、药物的质量标准

为了保证药品的质量，国家设立了各级药品检验的法定机构（各级药品检验所），并要求药厂、医药公司及医院药房等单位也必须建立药品质量检验部门，以专门负责药品质量的全面管理。

为了使药品检验工作有法可依，在卫生部的领导、组织和要求下，药品标准根据其使用和生产的广泛和成熟程度，分别订有《中华人民共和国药典》简称《中国药典》、中华人民共和国卫生部药品标准》（简称《部颁标准》）以及地方各省、市、自治区《地方药品标准》三级标准。药品的质量标准是药品生产和管理的依据，并具有法定的约束力。凡被药品标准收载的药品，其质量不符合规定标准的均不得出厂、不得销售、不得使用。其他未收载于药品标准中的药品的生产、销售和使用，必须具有经过严格审定并经过卫生部门批准的质量标准，且其质量必须符合规定标准。

药品的质量检验一般遵照以上三级质量标准，但在特殊情况下如进口药品、仿制国外药品等，需要按照国外药典标准进行检验。目前世界上已有数十个国家编制了国家药典。另外尚有区域性药典及世界卫生组织（WHO）编制的《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 Pharmacopeia，USP）、英国药典（British Pharmacopeia，BP）、英国副药典（The Pharmaceutical Codex，BPC）、欧洲药典（European Pharmacopeia，EP）、美国国家处方集（The National Formulary，NF）（1985年为第 XVI 版和 USP XXI 合并为一册），日本药局方（Japanese Pharmacopeia，JP）以及国际药典（The International Pharmacopeia，Ph Int）等。

三、药典与分析方法

为保证药品的质量，很多国家都有自己的国家药典，它是记载药品标准和规格的国家法典，通常都由专门的药典委员会组织编写，由政府颁布施行。药典中列出许多分析方法，分别用于不同药物的检验。从这些方法可以看出该国的药物分析水平，但是有一个规定，就是所提出的方法必须是很成熟的方法，同时也是容易推广和掌握的方法。因此尽管可能已经报道有很先进的或者用很新技术或仪器的方法，在没有经过更多的考验之前，还是不能收载在药典中。也就是说，药典中给出的方法并不是越新、越高级越好。此外，药典中所规定的指标都是该药物应达到的最低标准，各生产厂可制定出自己的高于这些指标的标准，以生产出更高质量的药物。此外，药厂也完全可以使用自己认为合适的分析方法进行药品的质量控制，但是如果一旦产品质量出现问题，需要进行仲裁时，则要以药典收载的方法为准。

四、药物分析与生物药物分析的关系

生物药物分析是药物分析学的一个分支。化学在过去较长的时间里对小分子之间的反应研究得很多，这些反应都是一些相对比较快的反应和比较简单的体系。而生命科学的进展带给化学家的问题都是大分子与大分子或者大分子与小分子之间的反应。这些都是一些相对比较慢的过程和比较复杂的体系。作用的形式也不仅仅只是化学键的断裂、组合或重排，而是包含了很多的弱相互作用（氢键、偶极作用、范德华力等）。大分子与大分子的相互作用以

及大分子与小分子的相互作用又联系到复杂的结构层次上的变化，不像小分子之间的反应分子在反应体系中做布朗运动无序碰撞而反应。大分子可能通过有序的高级结构重组，其中的能量传递、信号分子的传递又会产生新的变化。化学家对小分子之间的相互作用已经有了一系列的监测、跟踪、定性、定量以及理论计算等方法，而对大分子与大分子、大分子与小分子相互作用的复杂体系的慢过程却缺乏相应的方法和工具。生物药物与化学药物相比，其质量控制的方法有很多不同，如生物药物多数为大分子药物，有的化学结构不明确，有的分子量不是定值，这给质量控制带来了一定的困难；在检查项目上生物药物与化学药物也有不同。例如，生化药物均需做热源检查、过敏试验、异常毒性等试验；对生物药物有效成分的检测，除应用一般化学方法外，更应根据制品的特异生理效应或专一生化反应拟定其生物活性检测方法。所以，生物药物的定量方法，除了重量法、滴定法、比色法及 HPLC 法等理化分析法外，还有电泳法、酶法、免疫法和生物检定法等生物测定法；大多数生物是生物活性分子，对人体往往是异源物质，其化学性质与生物学性质都很不稳定，对热、酸、碱、重金属等敏感，易引起变性和失活。从生物原料中分离生物药物，通常比较困难，易受到微生物污染变质。因此，在原料贮存、生产加工和成品保存及临床应用过程中，对制品的均一性、有效性、安全性和稳定性等应有严格要求，其制造工艺设计与质量标准的制定也应与一般化学药物有较多区别。

第三节　生物药物概述

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，综合应用多门学科的原理和方法，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、诊断的药物。

一、生物药物的范围

生物药物（biopharmaceuticals）包括生化药物（biochemical drugs），生物技术药物（biotechnology drugs 或生物工程药物，bioengineering drugs）、生物制品（biological products）。

生化药物是从生物体分离纯化所得，用于预防、治疗和诊断疾病的生化基本物质，以及用化学合成、微生物合成或现代生物技术制得的这类物质。生化药物有两个基本特点：其一，它来自生物体；其二，它是生物体的基本生化成分。生物技术是利用生物体或其组成部分发展产品的技术体系。

现代生物技术是一种手段，可用以研究和开发药物。由于用现代生物技术研制的药物日渐增多，这类药物可称为生物技术药物，作为现代生物技术主体的基因工程，用以生产的药物可称为基因工程药物（genetic engineering drugs）。

生物制品是应用普通的或以基因工程、细胞工程、蛋白质工程、发酵工程等生物技术获得的微生物、细胞及各种动物和人源的组织和液体等生物材料制备，用于人类疾病预防、治疗和诊断的药品。主要包括疫苗、菌苗、类毒素和抗毒素等，近年来其范围有所扩大，与基因工程药物密切相关。

新生物制品是指我国未批准上市的生物制品；已批准上市的生物制品，当改换制品疫苗和生物技术产品的菌毒种、细胞株及其他重大生产工艺改革对制品的安全性、有效性可能有显著影响时也属新生物制品范围。

新生物制品的特点如下。

①新生物制品的生产方式，是应用基因修饰活的生物体产生的蛋白或多肽类产物，或是依据靶基因化学合成互补的寡核苷酸，所获产品往往分子量较大，并具有复杂的分子结构。

②新生物制品存在着种属特异性。许多生物制品的药理学活性与动物种属及组织特异性有关，来自人源基因编码的蛋白质或多肽类药物，其中有的与动物的相应蛋白质或多肽的同源性有很大的差别，因此对一些动物无药理学活性或不敏感。

③新生物制品由于是人类天然存在的蛋白质或多肽，量微而活性强，用量极少就会产生显著的效应，相对来说副作用较小，毒性较低，安全性较高。

④新生物制品活性蛋白质或多肽药物较不稳定，易变性，易失活，也易为微生物污染、酶解破坏。

⑤新生物制品的基因稳定性。生产菌种及细胞系的稳定性和生产条件的稳定性非常重要，它们的变异将导致生物活性的变化或产生意外的或不希望的一些生物学活性。

⑥新生物制品的免疫原性。许多来源于人的生物制品，在动物中有免疫原性，所以在动物中重复给予这类药品将产生抗体，有些产品在人体中对人源性蛋白也能产生血清抗体，主要可能是重组药物蛋白质在结构及构型上与人体天然蛋白质有所不同所致。

⑦新生物制品很多在体内的半衰期短，迅速降解，并在体内降解的部位广泛。

⑧新生物制品的受体效应，许多生物技术药物是通过与特异性受体结合，信号传导机制而发挥药理作用，且受体分布具有动物种属特异性和组织特异性，因此药物在体内分布有组织特异性和药效反应快的特点。

⑨新生物制品的多效性和网络性效应。许多生物制品可以作用于多种组织或细胞，且在人体内相互诱生。相互调节，彼此协同或拮抗，形成网络性效应，因而可具有多种功能，发挥多种药理作用。

⑩新生物制品的生产系统复杂性，致使它们的同源性，批次间一致性及安全性的变化要大于化学产品，所以对生产过程的检测， GMP 步骤的要求和质控的要求就更为重要和严格。

实际上由于各学科的发展、交叉和渗透，并受习惯的影响，生化药物、生物技术药物和生物制品有时无明确界限，它们的关系愈来愈密切，其内涵也愈来愈接近，有时不易划分清楚。只是生物制品更多地涉及免疫学、预防医学和微生物学。随着现代生物制药技术的发展和应用，上述三者正在彼此交叉，互相融合，因而可统称为生物药物。

二、生物药物的研制发展过程

生物药物按照其发展过程大致划分为三代：

第一代生物药物是利用生物材料加工制成的含有某些天然活性物质与混合成分的粗提物制剂，如脑垂体后叶制剂、肾上腺提取物、眼制剂、混合血清等；

第二代生物药物是根据生物化学和免疫学原理，应用近代生化分离纯化技术从生物体制取的具有针对性治疗作用的特异生化成分，如猪胰岛素、前列腺素 E、尿激酶、肝素钠、人丙种球蛋白、转铁蛋白、狂犬病免疫球蛋白等；

第三代生物药物是应用生物工程技术生产的天然生理活性物质，以及通过蛋白质工程原理设计制造的具有比天然物质更高活性的类似物，或与天然物质结构不同的全新的药理活性成分。如基因工程白细胞介素 （IL）、红细胞生成素（ EPO） 等。

三、生物药物的分类

由于生物药物结构多样，功能广泛，因此任何一种分类方法都会有一些不完美之处。通常生物药物可以按照其化学本质和化学特性来分类，也可以按照临床用途进行分类。

（一）按生物药物的化学本质和化学特性来分类

1. 氨基酸及其衍生物类药物类

这类药物包括天然的氨基酸和氨基酸混合物，以及氨基酸衍生物。主要品种有谷氨酸、蛋氨酸、赖氨酸、天冬氨酸、精氨酸、半胱氨酸、苯丙氨酸、苏氨酸和色氨酸。谷氨酸产量最大，占氨基酸总产量的 80%。氨基酸的使用可用单一氨基酸，如用蛋氨酸防治肝炎、肝坏死和脂肪肝；谷氨酸用于防治肝昏迷、神经衰弱和癫痫等，也可用复方氨基酸作血浆代用品和向病人提供营养等。发酵制造氨基酸优于蛋白水解与化学合成，可直接获得具有生理活性的 L-氨基酸，目前可用发酵法生产的氨基酸包括谷氨酸、缬氨酸、丙氨酸、赖氨酸、高丝氨酸、苏氨酸、亮氨酸、脯氨酸、鸟氨酸、瓜氨酸、异亮氨酸、精氨酸、组氨酸、苯丙氨酸、酪氨酸、色氨酸、丝氨酸、天冬氨酸、 5-羟色氨酸、半胱氨酸等 20 余种。

2. 有机酸、醇酮类

用发酵法生产的有机酸包括葡萄糖酸、乙酸、 2-酮葡萄糖酸、5-酮葡萄糖酸、D-异抗坏血酸、水杨酸、丙酮酸、丙酸、 α-酮戊二酸、乳酸、柠檬酸、丁二酸、富马酸以及苹果酸等。用发酵法生产的醇酮类有乙醇、丙醇和甘油等。

3. 维生素

维生素 B_2、维生素 B_{12}、β-胡萝卜素和维生素 D 的前体麦角醇均可由发酵获得。维生素 C 可用一步发酵加四步化学法或两步发酵加一步化学法制造。

4. 酶及辅酶类

（1）酶类药物酶类药物有以下几类。 （a）助消化酶类：有胃蛋白酶、胰酶、凝乳酶、纤维素酶和麦芽淀粉酶等。 （b）消炎酶类：有溶菌酶、胰蛋白酶、糜蛋白酶、胰 DNA 酶、菠萝蛋白酶、无花果蛋白酶等。可用于消炎、消肿、清疮、排脓和促进伤口愈合。胶原蛋白酶还用于治疗褥疮和溃疡，木瓜凝乳蛋白酶用于治疗椎间盘突出症。胰蛋白酶还用于治疗毒蛇咬伤。（c）心血管疾病治疗酶：弹性蛋白酶能降低血脂，用于防治动脉粥样硬化。激肽释放酶有扩张血管、降低血压的作用。某些酶制剂对溶解血栓有独特效果，如尿激酶、链激酶、纤溶酶及蛇毒溶栓酶，凝血酶可用于止血。 （d）抗肿瘤酶类：L-天（门）冬氨酸酶用于治疗淋巴肉瘤和白血病，谷氨酰胺酶、蛋氨酸酶、组氨酸酶、酪氨酸氧化酶也有不同程度的抗癌作用。 （e）其他酶类：超氧化物歧化酶 （SOD）用于治疗类风湿性关节炎和放射病。PEG-腺苷脱氨酶用于治疗严重的联合免疫缺陷症，DNA 酶和 RNA 酶可降低痰液黏度，用于治疗慢性气管炎。青霉素酶可治疗青霉素过敏，现在正开发 RNA 酶用于抗 RNA 病毒。

（2）辅酶类药物辅酶在酶促反应中起着传递氢、电子或基团的作用，对酶的催化反应起着关键作用。现在辅酶Ⅰ （NAD）、辅 酶Ⅱ （NADP）、黄素单核苷酸（FMN）、黄素腺嘌呤二核苷酸（FAD）、辅 酶 Q_{10}、辅酶 A 等已广泛用于肝病和冠心病的治疗。辅酶种类繁多，结构各异，一部分辅酶也属于核酸类药物。

5. 脂类

脂类药物在化学结构上差异较大，包括许多非水溶性的但能溶于有机溶剂的小分子生理活性物质，有以下几类。

（1）磷脂脑磷脂、卵磷脂可用于治疗肝病、冠心病和神经衰弱症。

需要全本请访问 www.ertongbook.com

（2）降血脂多价不饱和脂肪酸（PUFA）和前列腺素、亚油酸、亚麻酸、花生四烯酸和 DHA、EPA 等有降血脂，降血压，抗脂肪肝的作用，可用于冠心病的治疗。前列腺素是一大类含五元环的不饱和脂肪酸，重要的天然前列腺素有 PGE_1、PGE_2、PGF_{2a} 和 PGI_2。PGE_1 PGE_2 和 PGF_{2a} 已成功地用于催产和中期引产。 PGI_2 有望用于抗血栓和防止动脉粥样硬化。

（3）胆酸去氧胆酸可治疗胆囊炎，猪去氧胆酸可治疗高血脂，鹅去氧胆酸可作胆石溶解药。

（4）固醇主要有胆固醇，麦角固醇和 β-谷固醇，胆固醇是人工牛黄的主要原料， β-谷固醇有降低血胆固醇的作用。

（5）卟啉主要有血红素、胆红素。原卟啉用于治疗肝炎，还用作肿瘤的诊断和治疗。

6. 多肽和蛋白质类

多肽和蛋白质的化学本质是相同的，性质也相似。这类药物颇受人们关注，是人体内的生理活性因子，如激素和免疫球蛋白等。

7. 核酸类及其降解物和衍生物

（1）核酸从猪、牛肝中提取的 RNA 制品用于慢性肝炎、肝硬化和肝癌的辅助治疗。免疫 RNA 是一种高度特异的免疫触发剂。其制造是将人肿瘤细胞免疫于动物，再从动物的淋巴细胞中提取免疫 RNA，用于肿瘤的免疫治疗。从小牛胸腺或鱼精中提取的 DNA 可用于治疗精神迟缓、虚弱和抗辐射。

（2）多聚核苷酸多聚胞苷酸、多聚次黄苷酸、双链聚肌胞、聚肌苷酸及巯基聚胞苷酸是干扰素的诱导剂，用于抗病毒、抗肿瘤。

（3）核苷、核苷酸及其衍生物较为重要的有混合核苷酸、混合 DNA 注射液。ATP、cAMP、CDP-胆碱、GMP、IMP、AMP 和肌苷等。也可将它们进行化学修饰后用于治疗肿瘤和病毒感染。治疗肿瘤的有 6-巯基嘌呤、2-脱氧核苷和阿糖胞苷等。抗病毒的有阿糖胞苷、环胞苷、 6-氟环胞苷、5-碘苷和无环鸟苷等。

8. 糖类

糖类药物来源广泛，以黏多糖为主。多糖类药物的特点是具有多糖结构，由糖苷键将单糖连接而成。但由于单糖结构糖苷键的位置不同，因而多糖种类繁多，药理功能各异，有抗凝、降血脂、抗病毒、抗肿瘤、增强免疫功能和抗衰老等多方面的生理活性。这类药物有肝素、硫酸软骨素 A、透明质酸、壳聚糖，取自海洋生物的刺参多糖（抗肿瘤、抗病毒等）。各种真菌多糖具有抗肿瘤、增强免疫功能和抗辐射作用，有的还有升白和抗炎作用。这类药物有的是从植物中提取的多糖，如银耳多糖、灵芝多糖、茯苓多糖、香菇多糖、人参多糖、芸芝多糖和黄芪多糖；有的是从动物中提取的多糖，如硫酸软骨素、人胎盘脂多糖等。

9. 生物技术药物类

细胞生长因子是人类或动物各类细胞分泌的具有多种生物活性的因子。细胞生长因子类药物是近年来发展最迅速的生物药物之一，也是生物技术在该领域中应用最多的产品，如基因工程白细胞介素（IL）、红细胞生成素（EPO）等。它们的功能是在体内对人类或动物细胞的生长与分化起重要调节作用。近 10 年来人们广泛研究的细胞生长因子有干扰素、白细胞介素、肿瘤坏死因子、集落刺激因子等四大系列十几种细胞生长因子。这些基因工程药物的问世，将在治疗当今疑难症如心血管疾病，癌症与病毒感染等疾病中发挥巨大作用。

10. 生物制品类

从微生物、原虫、动物或人体材料直接制备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疾病的制剂，统称为生物制品。如疫苗、免疫血清、血液制剂、免疫调节剂（胸腺肽、免疫核糖核酸）、诊断试剂等。

（二）按生物药物的用途分类

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民生活的各个领域，大大扩展了其应用范围。

（1）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、乙型肝炎、糖尿病、心血管疾病、遗传病、内分泌障碍、免疫性疾病等，生物药物发挥了很大的作用。

（2）预防药物许多疾病，尤其是传染病的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。常见预防用生物药物有菌苗和疫苗等。

（3）诊断药物生物药物用作诊断试剂是其最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，诊断药使用途径包括体内（注射）和体外（试管）。绝大部分临床诊断试剂都来自生物药物，主要有：（a）免疫诊断试剂；（b）酶诊断试剂；（c）器官功能诊断药物；（d）放射性核素诊断药物；（e）单克隆抗体（McAb）诊断试剂；（f）基因诊断药物。

（4）用作其他生物医药用品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。

四、生物药物的性质

生物药物常常是一些生物大分子。它们不仅组成、结构复杂，而且具有严格的空间构象，以维持其特定的生理功能。生物药物的使用越来越多，范围越来越宽。在化学构成上，生物药物十分接近于人体内的正常生理物质，进入人体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。经人们长期使用后发现，生物药物使用安全，毒性小。随着现代医疗理论的进步，开发出的人体内生理活性因子，由于源自人体自身，故使用时毒性低、副作用小，疗效可靠及营养价值高。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。现在正开发的治疗用基因、核糖核酸酶、单克隆抗体及与之伴随产生的“生物导弹”也正利用这一特异性的优势。

生物药物的有效成分在生物材料中浓度很低，杂质的含量相对较高，如胰腺中脱氧核糖核酸酶的含量为 0.004%，胰岛素的含量为 0.002%。生长激素抑制素在十万只羊的下丘脑中才含有 1mg。生物药物的相对分子质量较大，如酶类药物的相对分子质量介于一万到五十万之间，抗体蛋白的相对分子质量为五万到九十五万。多糖类药物的相对分子质量小的上千，大的可上百万。这类生物药物功能的发挥需要保持其特定的生理活性结构，故它们对酸碱、重金属、热等理化因素的变化较敏感，各种理化因素的变化易对生物活性产生影响。生物制药所用的材料大多含有丰富的营养成分，利于微生物生长，故易被微生物分解。另外，生产中搅拌力、金属器械及空气等也可能对活性有影响。因此，生产中必须全面严格控制，包括从原料选择和预处理、生产工艺、制剂成型、保藏、运输及使用各个环节。

五、生物药物的特点

（1）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，大部分为大分子的物质（如蛋白质、多肽、核酸、多糖类等），其相对分子质量一般为几千至几十万。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）生物活性检查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）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，如热源检查、过敏试验、异常毒性试验等。

（4）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）生化法确证结构在大分子生物药物中，由于有效结构或相对分子质量不确定，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。

第四节　生物药物的科学管理

一、药品质量和药品质量标准

（一）药品质量标准制订原则

为了控制药品质量。保证用药安全、有效，在药品生产、储存、供应及使用过程中应有一个统一的质量标准，以便定期进行严格的检查，药品标准应能完全地反映药品生产、储藏、供应和使用等各个环节中有关质量变化的情况包括药品研究的问题和结果，不同来源的同一药品应能体现各自的工艺特点而做出相应规定。

(二)药典的内容

1. 国家药典

药典的内容一般分为凡例、正文、附录三大部分。凡例部分是为正确理解和使用药典的阐述部分，它叙述了药典中的有关术语如溶解度、温度、度量衡单位等及其正文与附录的说明：正文部分的主要内容为其所收载药品或其制剂的质量标准，包括药品的性状、鉴别、检查、含量测定、作用与用途、用法与用量以及贮藏方法等；附录部分记载了制剂通则、一般杂质检查方法、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、化学分析法、色谱法、氧瓶燃烧法、乙醇测定法、电位滴定法、永停滴定法、氮测定法、放射性药品检定法、试剂、指示剂、缓冲液和滴定液等配制法、生物测定法和生物测定统计法等。

组织编著了有关临床用药问题的《中国药典临床用药须知》一书，指导临床用药。红外吸收光谱亦有专集《药品红外光谱集》。

药典中对每一个药品及其制剂都单独列为一个项目，每项之下包括性状，该药品的各种物理化学性质、鉴别、检查即杂质的检查和含量测定（主要确定药品中有效成分的含量范围）等质量控制内容。

2. 部颁药品标准和副药典

部颁药品标准的性质与药典相同，亦具有法律的约束力。它收载了中国药典未收载的，但还常用的药品及制剂。新被批准后其生产用质量标准经过两年试行期后，即直接转为部颁标准。其他国家如英国、美国则编副药典以补国家药典的不足。

3. 地方药品标准

药典与部颁药品标准所收载的品种，往往不能完全满足各地区对药品生产、供销、使用和管理的需要，因此，对药典以外的某地区常用的药品、制剂的规格和标准，常制订地区性

的标准。

二、生物制品的标准化

对于生物制品标准化受到人们的高度重视，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。它主要包括两个方面的工作：一是生物制品规程的制定和修订；二是国家标准品的审定。

（一）生物制品规程

1952 年我国颁布了《生物制品及检定规程草案》初步形成我国统一的生产方式和质量标准，1959 年出版了我国第一部《生物制品制造检定规程》，其后于 1979 年、1990 年、1995 年已出版了 5 版《中国生物制品规程》，并自 1990 年起分为一、二部，一部收载预防、治疗和体内诊断制品，二部收载体外诊断制品（已出版 1993 年、1998 年二版）。每版规程的出版都是在大量调查研究及试验论证的基础上经各生物制品检定、科研、生产和使用单位有关专家及专业技术人员认真修订、增补和审定、经卫生部批准颁布实施的，是广大生物制品科技工作者当前生产实践的总结和科研成果结晶。生物制品规程《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。许多制品已达到和超过世界卫生组织生物制品规程标准，具有一定的国际先进水平。生物制品规程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，是生物制品生产和质量的最低要求，是国家对生物制品实行监督的准绳。因此它是我国生物制品生产的国家法典。

《中国生物制品规程》 2000 年版经第三届中国生物制品标准化委员会审议通过，并经国家药品监督管理局批准颁布。该版规程为原《中国生物制品规程》一、二部的合订本，并经修订、删减、增补，为建国以来的第六版规程。规程分为正式规程和暂行规程两部分。正式规程收载通则 14 个，其中新增通则 4 个。正式规程收载制品共计 137 个，包括预防类品种 36 个，治疗类品种 39 个，诊断类品种 62 个，其中新增制品 37 个。暂行规程收载了因有效性的质量控制标准及其检定方法尚需完善或验证的预防、治疗类品种 10 个，因技术水平不高或不成熟的诊断试剂 29 个。这些制品需在国家规定期限内完善质量控制标准，经审核符合要求者增补入正式规程，否则将予以删除。

2000 年版《中国生物制品规程》的主要特点如下。

①强调了生产用菌、毒种系统（原始种子批、主种子批及工作种子批）的三级管理，提出了包括建库、传代、检定及储存的要求，规定了对主种子批及工作种子的检定项目及要求，增补了病毒外源因子检查规程、 SV40 核酸序列检测附录及逆转录酶活性测定等要求。

②强调了生物制品生产用起始材料的质量控制要求。提出生产及检定用动物（除灵长类动物和某些大动物外）应符合清洁级或 SPF 级要求；增补了 SPF 鸡胚检测附录；规定了用自动血浆分离机取代人工采浆，以减少献血人员间的交叉感染及提高原料浆的质量；在新增的“生物制品生产用动物细胞制备及检定规程”中，规定了对原代细胞、二倍体细胞及传代细胞的制备及检定要求。

③加强了对成品及半成品的质量控制。成品检定增加了鉴别试验的要求；病毒类疫苗（除重组疫苗外）成品检定增加了热稳定性试验；细胞因子成品检定增加了小鼠异常毒性试验；血液制品成品中增加 HIV-1/HIV-2 抗体、 HCV 抗体检测；规定了以人源及可能引起人畜共患疾病的动物源起始材料的产品成品需经病毒灭活的要求。

④改进并提高了生产工艺的质量控制要求。血液制品生产工艺中增加去除或灭活病毒

的步骤；为便于血液制品生产过程中质控点的热源检查，用细菌内毒素检查法取代家兔法；规定了各类制品均应有明确的有效性成分检定指标及检定方法，并规定其检定方法必须得到充分验证的原则；生物制品无菌试验的培养时间由 8d 改为 14d，并增加支原体检测部分；生物制品热原质试验取消肌肉注射判定标准，一律以静脉注射制品判定标准来判定。

⑤全面统一规范了各类规程及使用说明的框架、专业术语和书写格式；根据《新生物制品审评办法》修订了生物制品的定义，规范了生物制品名称命名原则；增补了生物制品常用词解释及中英文规程目录；根据规程，在框架中规范了原液的制备及检定要求；增加了生产设施、生产用水、原辅材料等的基本要求；在使用说明中增加了药理作用、副反应及处理等内容；明确了制品保存与有效期的制定原则，即有效力试验的制品自效价检。

⑥化学检定的方法及手段进一步向仪器化、自动化发展，取消了肉眼判定标准，减少了检测误差，提高了准确性和科学性；由于该版规程新增了多种生物技术产品，增补化学检定项目 10 个，分别是：聚山梨酯残留量测定、 SDS-PAGE 测定、肽图分析、残余 DNA 含量测定、免疫球蛋白类制品糖含量测定、磷酸三丁酯残留量测定、大肠杆菌苗体蛋白残留含量测定、氨苄青霉素残留量检定、紫外光谱测定、等电点测定；规定了纳入“生物制品规程化学检定方法附录”的项目为仲裁方法。

2000 年版《中国生物制品规程》包括了重组基因工程产品 13 个，体现了近年来我国高新技术和生物技术领域的发展步伐。重组乙型肝炎疫苗的问世，完全取代了血源乙肝疫苗，使该疫苗的安全性、有效性得到进一步提高；人用纯化狂犬病疫苗在有效性及副反应等方面均有较大改进，成为浓缩狂犬病疫苗的换代产品；重组人红细胞生成素、各类亚型重组人干扰素产品、重组人白介素-2、重组人粒细胞集落刺激因子等基因工程产品将在肿瘤等疾病的治疗中发挥积极作用。

2000 年版规程在质量标准及规范化方面均有明显提高，全面统一规范了各类制品规程及使用说明的框架、专业术语和书写格式，并根据 WHO 规程，规范了原液、半成品及成品的制备及检定要求；强调菌、毒种及细胞库的三级管理；增加了生产设施、生产用水、原辅材料等的基本要求；在使用说明中增加了副反应及处理、作用和用途等内容；修订了生物制品名称命名原则；规范了生物制品名称；增补了生物制品常用词汇注释以及规程的英文目录。随着科学技术的不断发展，规程需要不断充实、完善和提高，使其更好地反映我国生物制品生产和质量水平。

为配合该版规程的实施，第三届标委会编制了 2000 年版《中国生物制品主要原辅材料质控标准》，收载了纳入 2000 年版《中国生物制品规程》的制品生产用主要原辅材料，主要包括在最终生产工艺中不能完全去除和直接加入到成品中的主要原辅材料。

（二）生物制品的国家标准品和国家参考品

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。

国家标准品是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。国家参考品是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。标准品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。标准品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。

三、生物药物的科学管理

根据生物药物的性质和特点，它除用于临床治疗和诊断以外，还用于健康人特别是儿童的预防接种，以增强机体对疾病的抵抗力。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，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，对生物药物及其产品进行严格的全面质量控制和科学管理就显得十分必要。

1985 年 7 月 1 日，我国颁布了《药品管理法》。根据《药品管理法》规定，我国自 1988 年开始实施了《药品生产管理规范》制度。我国药品质量管理工作的目标是：形成能适应国民经济与社会发展需要的监督管理体系，实现对药品研制、生产、流通、使用、价格和广告等环节的法制化、科学化、规范管理。根据规定，自 1998 年 7 月 1 日起，我国未取得药品 GMP 认证的企业，管理部门不予受理生产新药的申请；不批准药品的仿制、新药技术的转让和进口药品的分包装：对未取得药品 GMP 认证的新开办药品生产企业不发给其药品生产企业许可证。

为了确保药品的质量能符合药品质量标准的要求，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和条例。

GLP（good laboratory practice）即《良好药品实验研究规范》，也称《药品非临床研究质量管理规范》，科研单位或研究部门为了研制安全、有效的生物药物，必须按照 GLP 的规定开展工作。规范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。GCP（good clinical practice ）即《良好药品临床试验规范》，也称《药品临床研究质量管理规范》。治疗用生物药物临床研究参照新药临床研究的要求，需在国家药品监督管理局确定的药品临床研究基地按《药品临床研究质量管理规范》（GCP）的要求进行。这项《规范》的制订有两个作用；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，能够提供符合质量的有价值的临床资料。《规范》对涉及新药临床的所有人员都明确规定了责任，以保证临床资料的科学性、可靠性和重现性。使药品研究和药品检验实验室达到 GLP 要求，药品临床实验达到 GCP 的要求，目的是建立系统化、完整化的药品再评价机制，提高药品标准的质量。

GMP（good manufacture practice，简称 GMP）即《良好药品生产规范》，在我国制药行业称之为《药品生产质量管理规范》，是对生产的全面质量管理，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、产品销售、运输、用户意见及反应处理等在内的全过程质量管理。生产企业为了生产出全面符合药品质量标准的生物药物，必须按照 GMP 的规定组织生产和加强管理。目前国内已有一些药厂或车间按照 GMP 规定要求组织生产。在此同时，国家医药监督局还对化学医药工业产品实行发放“生产许可证”制度，以加强对药品的质量管理，使药品生产和质量管理企业全面达到药品 GMP 要求，提高药品质量和安全有效性。

生物制品必须保证所发出的产品安全、有效、质量稳定， 1969 年世界卫生组织推行《药品生产质量管理规范》成为药品生物制品国际贸易的必备条件。我国 GMP 是以 WHO

需要全本请访问 www.ertongbook.com

提出 GMP 为基础，参考了日、美、英等国家 GMP 有关规定，结合我国医药工业实际，由中国医药工业公司于 1982 年起草制订，1985 年作为行业 GMP 颁布。任何产品质量的形成是设计和生产出来的，故要以预防为主。在生产过程中实施全面质量管理，防止不良品产生，才能保证药品生物制品的安全有效质量稳定。从事后检验把关变为工序控制，从管结果变为管因素，产品的质量保证来自严格注意许多因素，包括选择优良的成分和原材料，适宜的工艺设计，工序和制造全过程的质量控制以及成品检验。对生物制品生产在若干方面还不同于药品生产，还必须十分重视减少或排除外源因子的污染危险性，由于产品是活性制剂，当温度、pH 值或化学品等的微小变化皆能致使失活，但用来证明这些有害作用的试验都是相对不敏感，应用生物学方法更有随意波动的不可靠性，所以更多的依赖在生产过程中防止有害因子的能力。 GMP 管理的核心是全员、全过程的管理，人员是生物制品生产的第一要素，高质量的生物制品是依赖人生产出来的，全体人员必须对产品质量负责，队伍素质是依靠企业内部培训和再培训来提高。

生物制品生产和管理应注意下列问题。

1. 原材料

用于制造疫苗的菌毒种、细胞、培养基和各种溶液中所用化学药品的适宜纯度和可靠性以及用于生产过程中所有阶段的水的质量要严格把关。自来水是硬水经软化处理以除去大部分盐类；用离子交换树脂，除去水中各种离子；用化学合成半透膜（电渗析、超滤或反渗析）截留去除可溶性和不溶性杂质（各种粒子，电离化和非电离化溶液、胶体、细菌、热源质）；用塔式蒸馏器或多效蒸馏水机生产注射用水，注射用水质量必须符合规程要求，并定期验证（包括电导率、微生物污染和无热源检查）。

实验动物是许多疫苗生产的原材料，也是生物制品新产品开发和质量检定所必须的，它的健康必须和使用目的相适应。为了保证医学实验动物的质量， 1989 年和 1994 年国家先后颁布了“ 医用实验动物管理条例 ”和“ 实施细则 ”，建立了医用实验动物的质量标准，并要求自 1996 年起小白鼠达到清洁级。对实验动物设施与饲养制订了具体实施要求，生物制品生产单位必须具有实验动物等级合格证书，对实验动物质量实行定期检测制度也促进了疫苗质量的提高。1991 年起应用无特定病原体（SPF）鸡胚和无支原体牛血清纯化沪 191 毒种和生产麻疹疫苗和腮腺炎疫苗，应用清洁级长爪沙鼠生产流行性出血热 I 型疫苗。

2. 洁净车间的设计

必须按生物制品生产工艺流程，人流、物流分开，有清洁通道和污染通道，把不良危害降至最低，并力求避免交叉污染，活疫苗和死疫苗，含动物血清和不含动物血清，血液制品和预防制品的生产和加工不得在同一车间，环境的活性粒子（微生物测定）和非活性粒子（尘埃计数）检测必须符合规定清洁度等级要求；每台设备的安装、运行和投入使用时都要经有效验证确认。近年来引入大量的先进设备，使生产装备的自动化程度有所提高，蒸馏水车间有自动转换器，如电导率低于设定标准，则不合格蒸馏水就转向自动进入排水沟；灭菌器也有自动化电子控制器，事前按工艺要求设定其灭菌全过程，操作者只能开启和关闭设定循环，一旦合上灭菌器启动后就自动运行直到完成灭菌全过程后才能再启开灭菌器；发酵罐的自动控制器，按工艺流程和相应参数设定的程序运行；新型冻干机设有在线清洗、在线灭菌、自动压塞装置、自动控制器可按设定的冻干流程运行；记录由计算机打印出来，详情无遗漏和允许追踪不足之处，并易于执行；洗瓶-隧道烤箱-灌装联动机、产品物理性状检测机能自动分清合格品与不合格品，贴签、折说明书，包装自动化机等都为大规模生产优质、批

间质量稳定的产品提供了优良的装备。所有的重要生产设备每当维修或重装后均要经重新验证认可，生产无菌制品的玻瓶分装线还需定期的以分装肉汤培养基代替制品，经每瓶孵育后检查是否有潜在细菌污染的危险，只有当证明其安全可靠、符合规定要求后才可用于生产。

在特定的监控条件下对生产工艺进行产品验证，以确定产品质量是否安全、有效的要求，在日常的生产管理和过程控制中，必须严格按已确定的标准操作细则办事，并有效地设立质控点进行监督，防止混淆、污染，必须全面、及时、如实填写记录。考查有效期内制品质量稳定性，疫苗接种的反应性和免疫持久性。

在 GMP 管理中值得强调的是生物制品生产企业必须建立一个独立的质量保证（QA）部门，它能够使生产企业从组织上制度上保证企业长期稳定地生产用户满意的安全有效的优质产品。它从企业的整体目标（优质、低耗、高效益）出发，运用系统的概念和方法对生物制品生产进行综合监督，从原辅材料的质量审核到生产全过程的质量监控，从质量控制（QC）部门监督和评价到产品售后服务的控制和调研，从而对产品做出综合评价并行使质量否决权，即不受行政干扰地行使其法定权力。

GSP（good supply practice）即《良好药品供应规范》。药品供应部门为了药品在运输、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，完善以《国家基本药物》为基础的基本药物制度和处方药、非处方药分类管理制度，提高合理用药水平；使药品经营和质量管理达到 GSP 要求，实现良好的药品供应，充分发挥药品在预防、医疗和保健中的作用，提高全民健康水平。

除此以外，有关药品检验工作本身的质量管理更应重视。AQC（analytical quality control）即《分析质量管理》，用于检验分析结果的质量。

1996 年卫生部药政局组织编写了《中国药品检验标准操作规范》（standard operation procedures for drug control，简称 SOPDC）。该规范目的是使全国实验室操作进一步标准化和规范化，可使全国各地药检所之间检验数据、结果与结论可靠和一致。按规范进行药检实验室认证，指导新药研究、开发、生产、质量控制，上市药品的监督管理检验，进出口药品的检验，药品质量仲裁、复核，以及药品质量评价和合理应用。

第五节　生物药物的分析检验

分析化学与其他学科相结合，迄今已繁衍出很多新的分支，生物药物分析即为其中之一。生物药物分析一般包括生化药物、生物技术药物和生物制品及其代谢产物的分析。

一、生物药物质量检验的程序与方法

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。取样的基本原则应该是均匀、合理。

2. 药物的鉴别试验

鉴别就是依据生物药物的化学结构和理化性质，采用化学法、物理法及生物学方法进行某些特殊反应，或测试某些专属的物理常数如紫外吸收系数，或光谱图如紫外吸收与红外光谱等，来判断并确证生物药物及其制剂的真伪。通常需用标准品或对照品在同一条件下进行对照试验。药物的鉴别不是由一项试验就能完成，而是采用一组试验项目全面评价一种药物，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、色谱法、酶

法、电泳法等。

3. 药物的杂质检查

药物在不影响疗效及人体健康的前提下，可以允许生产过程和贮藏过程中引入的微量杂质的存在。药物的杂质检查主要是对生产中或引进的杂质，按照药品质量标准规定的项目，根据生产该药品所用的原料、制备方法、贮存容器与贮存过程可能发生的变化等情况，考虑可能存在的杂质，再联系这些杂质的毒性，经综合考虑进行检查，一般情况下，对杂质规定有一定限量，不能超过这个限量，否则即不合格。判断药品的纯度是否符合限量规定要求，也称为纯度检查。药物的杂质检查分为一般杂质检查和特殊杂质检查，特殊杂质检查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、无热源、无致敏原和降压物质等一般安全性要求，故中国药典 2000 版附录列出了下列安全性检查：异常毒性试验、无菌检查（许多生物药物是在无菌条件下制备的，且不能高温灭菌，因此无菌检查就更有必要）、热源检查、过敏试验、降压物质检查等，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

含量测定就是采用化学分析方法或物理分析方法，测定药品的有效成分的含量是否符合规定的含量标准。测定方法力求简便快速，易于推广和掌握。同时，还要考虑所用仪器是否容易获得。含量测定也可用于判定药物的优劣。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药物；另一种用生物效价或酶活力单位表示。适用于多肽、蛋白质和酶类等药物。

所以，判断一个药品的质量是否符合药品质量标准的规定要求，必须全面考虑鉴别、检查与含量测定三方面的检验结果。以上三方面中只要有任何一项不符合规定要求者，根据药品质量标准的规定，这个药品即为不合格品。除此之外，尚有药物的性状（外观、色泽、气味、晶形、物理常数等）也能综合地反映药物的内在质量。

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，并尽快地使药品的质量符合要求。

二、生物制品的质量检定

生物制品的质量检定的依据是《生物制品规程》，它是国家技术法规。规程中对每个制品的检定项目、检定方法和质量指标都有明确的规定。生物制品的检定一般分理化检定、安全检定和效力检定三个方面。

（一）生物制品的理化检定

生物制品中的某些有效成分和无效有害成分，需要通过物理的或化学的方法才能检查出来，这是保证制品安全有效的一个重要方面。近年来，由于蛋白质化学、分子生物学和基因工程技术的迅猛发展，纯化菌苗、亚单位疫苗和基因工程产品的不断问世，因而理化检定更显重要。

1. 物理性状检查

（1）外观检查制品外观异常往往会涉及制品的安全和效力，因此必须认真进行检查。通过特定的人工光源检测澄明度，对外观类型不同的制品（透明液、混悬液、冻干品）有不同的要求。

（2）真空度及溶解时间冻干制品进行真空封口，可进一步保持制品的生物活性和稳定性。因此真空封口的冻干制品应进行真空度和溶解时间检查，通常可用高频火花真空测定器检查其真空程度，凡有真空度者瓶内应出现蓝紫色辉光。取一定量冻干制品，按规程要求，加适量溶剂，检查溶解时间，其溶解速度应在规定时限内。

2. 蛋白质含量测定

类毒素、抗毒素、血液制品、基因工程产品等需要测定蛋白质含量，以检查其有效成分，计算纯度和比活性。目前常用的测定蛋白质含量的方法有：（a）半微量凯氏定氮法；[redacted]酚试剂法（　　法）；（ ）紫外吸收法。

防腐剂含量测定

生物制品在制造过程中，为了脱毒、灭活和防止杂菌污染，常加入适量的苯酚、甲醛、氯仿、汞制剂等作为防腐剂或灭活剂。规程中对各种防腐剂的含量都要求控制在限度内。（a）苯酚含量测定常用溴量法测定；（b）汞类防腐剂（硫柳汞或硝酸汞苯）含量测定可用双硫腙法测定；（c）氯仿含量测定；（d）游离甲醛含量测定。

4. 纯度检查

精制抗毒素、类毒素、血液制品以及基因工程产品在制造过程中经过精制提纯后，求检查其纯度是否达到规程要求。检查纯度的方法通常采用区带电泳、免疫电泳、凝胶层析和其他层析技术。

5. 其他测定项目

（1）水分含量测定冻干制品中残余水分的含量高低，可直接影响制品的质量和稳定性，一些活菌苗和活疫苗含残余水分过高，易造成活菌苗、活疫苗的死亡而失效；含水分过低，使菌体脱水，亦可造成活菌苗、活疫苗死亡。冻干血浆、白蛋白、抗毒素等则要求水分越低越好，有利于长期保存，不易变性。水分测定方法很多，如烘干失重法、五氧化二磷真空干燥失重法和费休氏水分测定法等。

（2）氢氧化铝与磷酸铝含量测定精制破伤风类毒素、白喉类毒素、流脑多糖菌苗等常用氢氧化铝作吸附剂，以提高制品的免疫原性，因此吸附制剂应测定氢氧化铝的含量。制品的铝含量用络合物滴定法测定。

（3）磷含量测定流脑多糖菌苗需要测定磷含量，以控制其有效成分的含量。用钼蓝法测定。

（二）生物制品的安全检定

生物制品在生产全过程中需进行安全性方面的全面检查，排除可能存在的不安全因素，以保证制品用于人体时不致引起严重反应或意外事故。为此，必须抓好菌毒种和主要原材料的检查、半成品检查和成品检查三方面的安全性检查。检查的项目有如下几项。

1. 一般安全性检查

包括安全试验、无菌试验和热源质试验。

2. 杀菌、灭活和脱毒情况的检查

灭活疫苗、类毒素制品，常用甲醛或苯酚作为杀菌剂或灭活剂。这类制品的菌毒种多致病性强的微生物，如未被杀死或解毒不完善，就会在使用时发生严重事故，因此通常需要

进行活毒检查、解毒试验和残余毒力试验等安全性检查。

3. 外源性污染检查

主要有野毒检查、支原体检查、乙肝表面抗原（HBsAg）和丙肝抗体（HcAg）的检查和残余细胞 DNA 检查。

4. 过敏性物质检查

某些生物制品（如抗毒素）是采用异种蛋白为原料所制成，因此需要检查其中过敏原的去除是否达到允许限度。此外，有些制品在生产过程中可能污染一些能引起机体致敏的物质。上述情况都需要进行过敏性物质的检查。通常做过敏性试验、牛血清含量测定和血型物质的检测等。

（三）生物制品的效力检定

生物制品是具有生物活性的制剂，它的效力一般采用生物学方法测定。生物测定是利用生物体来测定待检品的生物活性或效价的一种方法，它以生物体对待检品的生物活性的反应为基础，以生物统计为工具，运用特定的实验设计，通过比较待检品和相应标准品或对照品在一定条件下所产生特定生物反应的剂量间的差异，来测得待检品的效价。理想的效力试验应具备下列条件：(a) 试验方法与人体使用应大体相似；(b) 试验方法应简便易行，重现性好；(c) 结果应明确；(d) 试验结果要能与流行病学调查基本取得一致；(e) 所用实验动物应标准化。

1. 动物保护力试验（或称免疫力试验）

动物保护力试验是将疫苗或类毒素免疫动物后，再用同种的活菌、活毒或毒素攻击，从而判定制品的保护水平。这种方法可直接观察制品的免疫效果，较之测定动物免疫后的抗体水平为好。保护力试验可分为以下三类。

(1) 定量免疫定量攻击法先以定量抗原免疫原鼠或小鼠数周后，再以相应的定量毒菌或毒素攻击，观察其存活数或不受感染数，以判定制品的效力。但试验前需测定一个最小感染量 MID （或一个最小致死量 MLD）的毒菌或毒素的剂量水平，同时要设立对照组。只有在对照组成立时，试验组的检定结果才有效。此法一般多用于活菌苗或类毒素的效力检定。

(2) 变量免疫定量攻击法也称之为 50%有效免疫剂量 ED_{50} 测定法。将疫苗或类毒素经系列稀释成不同的免疫剂量，分别免疫各组动物（小鼠），间隔一定时期后，各免疫组均用同一剂量的活菌、活毒或毒素攻击，观察一定时间，用统计学方法计算出能使 50%动物获得保护的免疫剂量。

(3) 定量免疫变量攻击法也称之为保护指数（免疫指数）测定法。动物经抗原免疫后，其耐受毒菌或活毒攻击相当于未免疫动物耐受量的倍数，称为保护指数。如对照组用 10 个毒菌即可使动物死亡一半，而免疫组必须用 1000 个毒菌才能使动物死亡一半，那么免疫组的耐受量为对照组的 100 倍，表明免疫组能保护 100 个 LD_{50}，即该疫苗的保护指数为 l00，此法常用于疫苗的效力检定。

2. 活疫苗的效力测定

(1) 活菌数测定先用比浊法测出制品含菌浓度，然后稀释 10 倍，由最后几个稀释度(估计接种后能长出 1～100个菌）取一定量菌液涂布接种于适宜的平皿培养基上，培养后计取菌落数，并计算活菌率。活菌苗多以制品中的抗原菌的存活数表示其效力。

(2) 活病毒滴度测定常用组织培养法或鸡胚感染法测定。活疫苗多以病毒滴度表示其效力。

3. 抗毒素和类毒素的单位测定

(1) 抗毒素单位（U）测定能与一个 L+量（致死限量）的毒素作用后，注射小鼠仍能使该小鼠在 96h 左右死亡的最小抗毒素量，称为一个抗毒素单位。目前国际上都采用国际单位（ U）数表示抗毒素的效价。

(2) 絮状单位 (Lf) 测定能和一个单位抗毒素首先发生絮状沉淀反应的类毒素（或毒素）量称为一个絮状单位 (Lf)，常用絮状单位数表示类毒素或毒素效价。

4. 血清学试验

用血清学试验可检查抗体或抗原的效价。所谓血清学试验系指体外抗原抗体试验。抗原抗体反应具有高度的特异性，已知抗原，即可检测抗体；反之亦然。抗原抗体在体外结合时，可因抗原的物理性状不同或参与反应的成分不同而出现各种类型的反应，如凝集反应、沉淀反应、中和反应和补体结合反应，以上四种类型反应是经典血清学反应。在此基础上经过不断的技术改进，又衍生出许多快速而灵敏的抗原抗体反应，诸如间接凝集试验、反向间接凝集试验、各种免疫扩散、免疫电泳以及荧光标记、酶标记、同位素标记等高度敏感的检测技术。预防用的生物制品免疫动物或人体后，可刺激机体产生相应抗体。抗体形成水平，也是反映制品质量的一个重要方面。

三、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；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通过对酶反应速率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

电泳法就是在电解质溶液中，带电粒子或离子在电场作用下以不同的速率向其所带电荷相反方向迁移，基于溶质在电场中的迁移速率不同达到分离的。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，已成为生物技术及生物药物分析的重要手段之一。常用的电泳法包括自由界面电泳、区带电泳和高效毛细管电泳。

3. 理化测定法

包括重量分析法、滴定分析法、分光光度法、高效液相色谱法等。

4. 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，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如下几项。

(1) 药物的效价测定对一些采用理化方法不能测定含量或理化测定不能反映临床生物活性的药物可用生物检定法来控制药物质量。

(2) 微量生理活性物质的测定一些神经介质、激素等微量生理活性物质，由于其很强的生理活性，在体内的浓度很低，加上体液中各种物质的干扰，很难用理化方法测定。而不少活性物质的生物测定法由于灵敏度高、专一性强，对供试品稍作处理即可直接测定。

(3) 某些有害杂质的限度检查如内毒素等致热物质和生化制剂中降压物质的限度检查等。

需要全本请访问 www.ertongbook.com