



# 现代化中药安全性评价和关键技术研究 体系的建立与应用

胡雷<sup>1</sup>, 钟飞<sup>1</sup>, 张彩霞<sup>2</sup>, 徐德璐<sup>1</sup>, 葛鹏<sup>1</sup>, 刘艳菊<sup>1</sup>, 兰天龙<sup>1</sup>,  
周博宇<sup>1</sup>, 申秀萍<sup>1</sup>, 张宗鹏<sup>1</sup>

(1. 天津药物研究院新药评价有限公司, 天津 300301; 2. 天津药物研究院有限公司, 天津 300193)

**【摘要】** 中药引起的不良反应事件时有发生,但是目前缺乏科学、客观、规范的中药安全性评价方法。在中药临床前评价的过程中,形成一套科学的、规范的、可行的现代中药评价体系标准势在必行。本项目建立了包括临床前安全性评价用供试品质量控制体系、现代化中药及其制剂毒性评价体系、评价管理体系在内的现代化中药临床前安全性评价体系,规范了中药临床前安全性评价的每个研究环节。无论从保障患者身体健康、增加临床用药的安全性,还是从丰富完善中医药学术、发展中医药学、促进中医药与国际药学相互接轨方面,都具有重要的指导意义和应用价值。

**【关键词】** 安全性;临床前评价;现代中药

**【中图分类号】** R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2017) 05-0012-04

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2017.05.005

## The establishment and application of safety evaluation and key technology research system for modern Chinese herbal drug

HU Lei<sup>1</sup>, ZHONG Fei<sup>1</sup>, ZHANG Cai-xia<sup>2</sup>, XU De-lu<sup>1</sup>, GE Peng<sup>1</sup>, LIU Yan-ju<sup>1</sup>,  
LAN Tian-long<sup>1</sup>, ZHOU Bo-yu<sup>1</sup>, SHEN Xiu-ping<sup>1</sup>, ZHANG Zong-peng<sup>1</sup>

(1. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research New Drug Evaluation Co. Ltd, Tianjin 300301, China;  
2. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research Co. Ltd, Tianjin 300193)

**【Abstract】** The adverse reactions caused by traditional Chinese medicine have occurred frequently, but there is a lack of scientific, objective and standardized methods for safety evaluation of traditional Chinese medicine. In the process of preclinical evaluation of traditional Chinese medicine, it is imperative to form a set of scientific, standardized and feasible evaluation system of modern Chinese herbal drug. We established the preclinical safety evaluation system of modern Chinese herbal drug including the quality control system of samples for the preclinical safety evaluation, the toxicity evaluation system of modern Chinese herbal drug and its preparation and the evaluation management system, and standardized each research link of preclinical evaluation of traditional Chinese medicine. Whether from protecting patients' health and increasing the safety of clinical medication, or from enriching and improving traditional Chinese medicine science, developing traditional Chinese medicine and promoting mutual connection of traditional Chinese medicine and international medicine, it has important instructional significance and application value.

**【Key words】** Safety; Preclinical evaluation; Modern Chinese herbal drug

## 1 研究背景

中药是我国人民防病治病和强身健体的主要武器,数千年来它对保障国人的健康和中华民族的繁衍昌盛发挥了巨大的作用<sup>[1]</sup>。中药的认识和应用充分反映了我国自然资源及历史、文化等方面的若干特点,其品种繁多,仅古籍记载就有 3000 种以上,发展至今已达 12800 余种<sup>[2]</sup>。现代许多疑难病的治疗都用到了中药并取得了较好的疗效,例如用中药相思子毒素治疗各种癌症,砒霜治疗白血病,蜈蚣治疗各种结核,蜂毒治疗风湿性疾病,水蛭治疗血栓性疾病等,而且随着研究的深入中药在疑难病的治疗前景越来越广阔<sup>[3]</sup>。正因为中药这种无可替代的资源优势和疗效优势,国外对中药的应用也日益增多。但是,在中药广泛应用的同时,不良反应事件也在增多,如比利时的肾毒性事件<sup>[4]</sup>、新加坡的黄连素事件<sup>[5]</sup>、日本的柴胡事件<sup>[6]</sup>及国内发生的鱼腥草事件<sup>[7]</sup>、刺五加事件<sup>[8]</sup>等。这些不良反应事件的发生使中药的安全性评价受到广泛关注。

据统计,中药中毒类型大体有心脏毒、肝脏毒、肾脏毒、神经毒、过敏反应等。导致中药不良反应发生的原因是多方面的,根本原因是缺乏对中药毒副作用、不良反应的正确认识,缺乏科学、客观、规范的中药安全性评价方法<sup>[3]</sup>。因此无论从临床保障患者身体健康、增加临床用药的安全性,还是从丰富完善中医药学术、发展中医药学、促进中医药与国际药学相互接轨方面来讲,都有必要建立一套针对中药毒性特点的评价体系。

中药传统的安全性评价往往来自于历代中医药学家对生活的观察、亲身尝试及临床应用的经验总结<sup>[9]</sup>。某味中药的毒性只有在使用固定的剂量和用法时才能被发现。在日常使用中,又经常用炮制的方法降低中药的毒性,从而使人们在用药的过程中发生毒性反应的概率大大降低,因此造成了普遍认为中药毒性较小的误解<sup>[10,11]</sup>。但是,现代化的中药新药在制备方法、剂型、剂量、服法等方面与传统中药有很多不同之处,所以其产生的毒性不一定与人们已知的毒性相同<sup>[12]</sup>。

现代中药及天然药物组方复杂、生产质量控制较难把控,尤其是中药一类、部分二类已经很难用传统的中医理论阐述其功能主治,其从化学本质、毒性潜力上有别于传统的中药<sup>[13]</sup>。因此我们对中药不良反应的认识决不能局限于传统中医药文献

记载的那些有毒中药上,必须结合现代科学理论和实验技术建立一套标准规范的现代化中药的临床前安全性评价体系,应用安全、有效、质量可控的受试药物,全面、客观、定量或半定量对观察指标进行研究,判断药物能否进入临床研究,是否具有开发价值,为临床用药提供参考。

本项目建立的现代化中药临床前安全性评价体系是在中药安全性评价过程中将传统中医中药的优势特色与现代科学理论、科学技术相结合,建立了具有现代科学内涵的中药安全性评价体系,为临床合理用药提供参考资料,也对深入探讨药物作用机制具有重要的指导意义。该体系的建立规范了中药临床前安全性评价的每个研究环节,无论从保障患者身体健康,增加临床用药的安全性,还是从丰富完善中医药学术,发展中医药学,促进中医药与国际药学相互接轨方面,都具有重要的指导意义和应用价值。

## 2 研究目的

药物的临床前安全性评价是药物研发过程中不可或缺的一个重要环节,是判断药物是否具有开发价值、能否进入临床研究的关键步骤。在祖国医药学急速发展的今天,必须具有中药学、毒理学、药理学、病理学、临床医学及实验动物学等知识,才能对现在中药诱发的毒性反应进行综合分析判断,作出科学的评价。

本项目主要建立了国际先进的完整、科学、规范的中药及其不同剂型药物临床前安全性评价体系。(1)临床前安全性评价用供试品质量控制体系:对不同剂型的中药供试品进行规范化管理,严格控制毒理学研究用样品的质量,确保试验结果的准确可靠。(2)现代化中药及其制剂毒性评价体系:针对中药常见的不良反应,该项目建立了心脏毒性评价体系、肝毒性评价体系、肾毒性评价体系、制剂安全性评价体系、行为学毒性评价体系,并对中药的毒性成分在血浆和毒性靶器官内的暴露情况进行追踪。(3)研究项目管理体系:本项目建立的 GLP 管理体系和 AAALAC 管理体系,通过规范化管理在保证动物福利的同时提高了实验数据质量,避免数据的偶发变动,保证原始数据的准确性。

## 3 创新点

(1)首次建立了完整、科学的、基于 GLP 规范的

现代中药的临床前安全性评价体系,包括:中药供试品质量控制体系、现代化中药及其制剂毒性评价体系、评价管理体系。目前该体系已应用于百余项药物临床前研究,为我国新药研制做出了突出贡献。

(2)该项目建立了完整、科学、国内领先的临床前安全性评价用供试品质量控制体系。在新药评价中对保证试验结果的准确性、可靠性方面发挥着重要作用。

(3)建立 VAP (Vascular Access Port) 模型犬<sup>[14-19]</sup>,实现清醒犬大动脉血压的建立。创新性将传统的颈动脉插管术与新兴的生理遥测技术相结合<sup>[20]</sup>,在犬颈总动脉植入动脉压力检测器以及给动物佩戴马甲系统,使用无线生理遥测技术检测动物血压、心电,将其应用于中药一类新药的心血管安全性评价研究中。

(4)建立了行为学毒性评价体系。对非啮齿类动物(比格犬、食蟹猴)行为学观察指标进行统一,对啮齿类动物(ICR 小鼠)行为学评价指标进行量化,建立了行为学毒性评价体系。应用全自动视频追踪分析技术研究小鼠运动路径(移动的距离和速度等)、路径形状(转动角度,头部朝向)、个体行为(活动度,伸展程度)、社会行为(相对距离,相对运动参数)等行为学指标<sup>[21-26]</sup>。

(5)确定以药物代谢产物中的杠柳次苷为毒性标记物,应用 LC-MS 技术建立方法学,检测杠柳次苷在比格犬不同脏器内的暴露情况,通过检测各脏器中的杠柳次苷暴露量,研究毒性标记物杠柳次苷与毒性靶器官之间的关联性,首次以此方法用于评价这类药物对实验动物主要脏器的毒性作用。

(6)建立了基于细胞、分子生物学技术水平的药物早期心脏毒性预测模型。用胰蛋白酶和 II 型胶原酶分步消化乳鼠心肌组织,改良大鼠原代心肌细胞培养方法,采用 RT-PCR、Western-Blot 等技术建立药物早期心脏毒性预测模型<sup>[27]</sup>。

#### 4 讨论

随着中药学的发展,越来越多的人认识到在中药临床前评价的过程中,形成一套科学的、规范的、可行的现代中药评价体系标准,可以有效减少系统误差,提高毒性评价准确性和一致性,成为判断受试物是否安全的可靠依据。本项目建立的体系规范了中药临床前安全性评价的每个研究环节,为判断药物是否具有开发价值、能否进行临床研究提供

依据,指导临床合理用药,保障患者人身安全,增加临床用药的安全性。

在本项目建立的体系中,对小鼠自主活动的评价应用了先进的全自动视频追踪分析技术,丰富了自主活动的检测指标,为更加全面、深入研究药物神经毒性做出了突出贡献;建立的早期心脏毒性预测模型在细胞和分子水平上揭示了药物心脏毒性的作用机制;建立的 VAP 模型犬,能直接检测清醒犬大动脉的血压,提高了数据的准确性,并将其用于心脏安全性的评价,填补了国内外研究的空白;建立了早期肝脏毒性预测模型和体内肝毒性评价体系,丰富了肝毒性评价方法;肾毒性评价体系中检测指标全面、客观,实现指标定量或半定量;制剂安全性评价体系适用于多种剂型中药的安全性评价。

利用所建立的评价体系,为全国部分科研院所、大专院校和国内知名的制药企业等多家机构进行了百余个中药的临床前评价,其中 10 余个中药已经上市,20 余个中药已经获得临床批件,其余新药正在申请临床研究中。期间公开发表相关论文、会议摘要近 20 篇,非公开发表研究报告百余篇。该评价体系的应用获得的直接经济效益超过亿元。

#### 参考文献:

- [1] 宋亚明. 影响中药安全的九种因素[J]. 健康大视野, 2013, 21(4): 480.
- [2] 穆成林. 当前中药检验存在的问题及解决措施[J]. 生物技术世界, 2015, (11): 175.
- [3] 于智敏, 吕爱平, 吴萍, 等. 对中药安全性评价研究的思考[J]. 中国中医基础医学杂志, 2003, 9(5): 66-68.
- [4] 吴伯平. 必须重视中药毒副作用的研究[J]. 中药新药与临床药理, 1994, 5(1): 11-12.
- [5] 吴嘉瑞, 张冰. 双黄连注射剂不良反应文献的数据挖掘研究[J]. 中国药物警戒, 2008, 5(3): 139-143.
- [6] 孙明瑜, 谢鸣. 小柴胡汤诱发的间质性肺炎[J]. 中国中医药信息杂志, 2002, 9(7): 71-72.
- [7] 吴嘉瑞, 张冰. 鱼腥草注射液不良反应文献的数据挖掘研究[J]. 中国药物警戒, 2007, 4(6): 360-364.
- [8] 李硕, 李敏, 卫莹芳, 等. 中药安全性评价的研究进展[J]. 中国现代中药, 2014, 16(2): 172-176.
- [9] 靳梦亚, 吴嘉瑞, 董玲, 等. 有毒中药安全性评价研究进展[J]. 药物不良反应杂志, 2013, 15(4): 277-279.
- [10] 张振颖. 浅析毒性中药的毒理作用及炮制原理[J]. 中医临床研究, 2015, 7(5): 33-34.
- [11] 刘莹. 分析中药炮制方法对临床应用疗效[J]. 世界最新医学信息文摘: 连续型电子期刊, 2016, 16(48): 115-116.
- [12] 王晶辉. 浅谈中药的毒性与用药规范[J]. 中国民康医学,

- 2003, 15(4): 251 - 252.
- [13] 屠鹏飞. 中药质量标准现状及其发展趋势[A]. 海峡两岸中医药发展大会论文集[C], 2009 年.
- [14] QI WH, SHEN LZ, WANG SL, *et al.* Establishment of beagle dog model with implanted telemetry transmitter[J]. Chin Pharm Aff, 2009, 23(7): 650 - 652.
- [15] 戈峰, Ming Liu, 李琦. 基础胸外科学[M]. 北京:中国协和医科大学出版社, 2003: 539 - 550.
- [16] 谭学诗. 动物疾病诊疗[M]. 太原:山西科学技术出版社, 2009: 277 - 281.
- [17] 邓小明, 朱科明. 常用实验动物麻醉[M]. 上海:第二军医大学出版社, 2001: 76 - 83.
- [18] 牛义民, 张天宏, 外科动物手术学[M]. 贵阳:贵州科学技术出版社, 2004: 59 - 61.
- [19] 江朝光. 实用实验动物外科技术[M]. 北京:人民军医出版社, 2006: 227 - 229.
- [20] 王三龙, 张颖丽. 清醒 Beagle 犬安全药理心血管遥测系统验证研究[J]. 中国药理学杂志, 2010, 45(11): 828 - 831.
- [21] Qin XS, Jin KH, Ding BK, *et al.* Effects of extract of Ginkgo biloba with venlafaxine on brain injury in a rat model of depression[J]. Chin Med J, 2005, 118(5): 391 - 397.
- [22] Mechan AO, Moran PM, Elliott M, *et al.* A comparison between Dark Agouti and Sprague-Dawley rats in their behaviour on the elevated plus-maze, open-field apparatus and activity meters, and their response to diazepam[J]. Psychopharmacology, 2002, 159(2): 188 - 195.
- [23] Rygula R, Abumaria N, Flugge G, *et al.* Citalopram counteracts depressive-like symptoms evoked by chronic social stress in rats [J]. Behav Pharmacol, 2006, 17(1): 19 - 29.
- [24] Tehekalara J, Kubova H, Mares P. Postnatal caffeine exposure: effects on motor skills and locomotor activity during ontogenesis[J]. Behav Brain Res, 2005, 160(1): 99 - 106.
- [25] Salmi P, Ahlinius S. Sedative effects of the dopamine D1 receptor agonist A 68930 on rat open-field behavior[J]. Neuroreport, 2000, 11(6): 1269 - 1272.
- [26] Lalonde R, Lewis TL, Trazielle CS. Transgenic mice expressing the  $\beta$  APP695 SWE mutation: effects on exploratory activity, anxiety, and motor coordination [J]. Brain Res, 2003, 977(1): 38 - 45.
- [27] Chen R, Xue J, Xie ML. Reduction of isoprenaline-induced myocardial TGF- $\beta$ 1 expression and fibrosis in osthole-treated mice [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2011, 256(2): 168 - 173.

[收稿日期]2017-01-04

(上接第 5 页)

因此,应用微卫星标记方法更适用于近交系动物的遗传检测,可以进行纯合位点的判定,还能分析基因位点的变异情况。本研究获得的中国地鼠线粒体微卫星遗传质量控制体系不仅丰富和完善了我国实验动物质量标准体系,还为中国地鼠的繁育与开发利用等提供了技术支撑。

## 参考文献:

- [1] 刘田福. 中国地鼠山医群体近交系的培育[J]. 实验动物科学与管理, 2003, 20(增刊): 22 - 24.
- [2] 秦川. 医学实验动物学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2008, 94.
- [3] 宋国华, 林强, 岳文斌, 等. 中国地鼠线粒体基因组序列分析与分子进化[J]. 中国实验动物学报, 2012, 20(1): 70 - 74.
- [4] 宋国华, 陈朝阳, 庞文彪, 等. 五种啮齿类动物 mtDNA 蛋白编码基因序列变化的比较[J]. 中国实验动物学报, 2013, 21(2): 70 - 74.
- [5] 陈刚, 杜卫东, 曹慧敏. 线粒体 DNA 突变与相关人类疾病[J]. 遗传, 2007, 29(11): 1299 - 1308.
- [6] Koszul R, Malpertuy A, Frangeul L, *et al.* The complete mitochondrial genome sequence of the pathogenic yeast *Candida (Torulopsis) glabrata* [J]. FEBS Lett, 2003, 534(1-3): 39 - 48.
- [7] Nakao M, Yokoyama N, Sako Y, *et al.* The complete mitochondrial DNA sequence of the cestode *Echinococcus multilocularis* [J]. Mitochondria, 2002, 1(6): 497 - 509.
- [8] Triant DA, Dewoody JA. Accelerated molecular evolution in *Microtus* (Rodentia) as assessed via complete mitochondrial genome sequences[J]. Genetica, 2006, 128(1-3): 95 - 108.
- [9] Cao Y, Adachi J, Janke A, *et al.* Phylogenetic relationships among eutherian orders estimated from inferred sequences of mitochondrial proteins: Instability of a tree based on a single gene [J]. J Mol Evol, 1994, 39(5): 519 - 517.
- [10] 李雷. 微卫星 DNA 在近交系小鼠遗传监测中的应用[D]. 郑州大学硕士论文, 2007: 8 - 9.
- [11] 李军林, 张思河, 魏泓. 用微卫星引物对近交系小鼠进行遗传监测[J]. 西北农业学报, 2001, 10(1): 1 - 3.
- [12] 陈振文, 欧阳兆和, 董罡, 等. 用微卫星标记技术对国内 BALB/c 小鼠遗传质量的分析[J]. 遗传, 2004, 26(6): 845 - 848.
- [13] 谢建云, 邵伟娟, 高诚. 近交系小鼠微卫星座位遗传检测方法的建立[J]. 上海交通大学学报, 2002, 20(2): 100 - 108.
- [14] Song GH, Geng JN, Jia RY, *et al.* Isolation and characterization of 16 novel microsatellite loci in two inbred strains of the Chinese hamster (*Cricetulus griseus*) [J]. Genet Mol Res, 2011, 10(3): 2245 - 2256.
- [15] 陈振文. DNA 指纹图与微卫星 DNA 技术在近交系大、小鼠遗传监测中的应用研究[D]. 中国农业大学博士论文, 2004, 62 - 63.

[收稿日期]2016-10-29