

《中药生物效应评价技术规程 斑马鱼模型》

编制说明

提出单位：首都医科大学附属北京中医医院

归口单位：中华中医药学会

起草单位：杭州环特生物科技股份有限公司、首都医科大学附属北京中医医院、天津中医药大学中医药研究院、中国中医科学院中药研究所、中国药科大学天然药物活性组分与药效国家重点实验室、北京中医药大学中药学院中药品质评价北京市重点实验室、广西壮族自治区亚热带作物研究所、浙江大学药学院、浙江省中药研究所有限公司、广西药学会、杭州胡庆余堂药业有限公司、天士力医药集团股份有限公司、浙江养生堂天然药物研究所有限公司、云南云科特色植物提取实验室有限公司、金诃藏药（山东）健康产业有限公司、正大青春宝药业有限公司、江中药业股份有限公司、广西梧州制药（集团）股份有限公司、广西新桂环保科技集团有限公司、中国检验认证集团浙江公司、宁波海关技术中心、南京歆佳医药科技有限公司。

主要起草人：刘清泉、张俊华、叶祖光、李萍、李春启。

起草人：林瑞超、徐霄龙、赵海誉、杨华、赵崇军、庞新华、王毅、赵璐、王志安、刘华钢、陈炜、马晓慧、张正方、孙武兴、肖明红、王振、刘雳、李诒光、刘洋、李波、赵京霞、何莎莎、王雪蕊、崔煦然、岳慧珍、白云静、胡玲、刘汉伟、章胜乔、甘惠云、顾珊焯、张勇、曹兵兵、朱晓宇、徐懿乔、缪文钰、郭胜亚、周佳丽、夏波、张涛。

二〇二三年五月

目 次

一、工作简况.....	1
二、主要技术内容.....	2
三、主要编制过程.....	8
四、与国内外同类标准的对比和最新标准采用情况	11
五、与现行强制性国家标准或政策法规的关系	12
六、代表性分歧意见的处理经过和依据	12
七、宣传、贯彻标准和后效评价标准的要求和措施	12
八、废止现行有关标准的建议	13
九、附录.....	14

一、工作简况

1. 任务背景

中药是我国的国粹，其在疾病防治过程中所体现的整体与系统观念，使其在临床中显示出明显的优势，日益得到国内外的高度重视。中药防病治病所发挥的整体药效是其多种成分作用于多个靶点，进而通过多靶点所形成的复杂网络，最终产生协同性、整合性预防与治疗作用。然而，由于中药成分的复杂性，现行的中药质控方法在控制和评价中药质量方面具有较大的局限性，例如存在一种有效成分对应多种药材和一种药材的质控成分并不一定是有效成分的现象，难以反映中药的有效性。

2020年12月17日，国家药品监督管理局药品审评中心发布了《中药生物效应检测研究技术指导原则（征求意见稿）》。文件指出：中药在中医药理论指导下使用，具有多成分、多靶点，发挥整体作用等特点。当以理化检测方法等质量控制手段难以充分反映中药质量时，有必要研究探索生物效应检测方法，以弥补现行质量控制方法的不足。中药成分复杂、药效物质基础研究薄弱，现行以化学成分检测为主的质量控制方法虽简单易行，但难以很好地反映中药的有效性、安全性；生物效应检测方法相对复杂，但可以较好地弥补现行质量控制方法的不足，有利于提高中药质量的可控性。鼓励开展中药生物效应检测研究，将成熟可行的方法列入标准。

生物效应检测是以药理学为基础，采用生物统计方法，运用特定的实验设计，通过药物对于生物整体、离体器官、细胞、酶或分子等所起的作用，严格控制实验条件，通过比较对照品和受试样品的生物体或离体器官与组织的特定生物效应，从而控制和评价受试样品质量、活性或作用强度。理想的中药生物效应测定方法应为整体动物实验，且具有试验周期短、试验费用低、试验效率高、相关性好、敏感性强、特异性高、重复性好等优势。斑马鱼是一种脊椎动物，与人类基因同源性高达87%，已获美国FDA、欧洲EMA、欧洲经合组织(OECD)和国际标准机构(ISO)等的认可，中国已发布实验鱼质量控制国家标准。斑马鱼模型具有可靠、快速、高效、高通量、结果与人体相关性高等优势，不仅用于研究与研发，也适于整体生物学检测，国内外已广泛应用于创新药物发现、中药与保健食品研发领域，也特别适合用于中

药的药理学和毒理学研究以及中药的生物学质量控制。

为鼓励探索整体斑马鱼用于研究中药生物效应检测方法，弥补现行质量控制方法的不足，完善中药质量控制体系，同时从整体活性上体现中药的有效性，特制定本技术规程。本标准拟利用斑马鱼模型评价中药的生物效应，即利用中药在斑马鱼体内的生物活性对中药的有效性进行快速定量评价与研究，进一步提升中药质量的稳定性与可靠性，推动中药标准化、现代化与国际化。

2. 任务来源

《中药生物效应评价技术规程 斑马鱼模型》由首都医科大学附属北京中医医院牵头，联合杭州环特生物科技股份有限公司制订计划，由中华中医药学会负责组织完成。立项时间是2022年7月8日。

3. 标准起草单位

杭州环特生物科技股份有限公司、首都医科大学附属北京中医医院、天津中医药大学中医药研究院、中国中医科学院中药研究所、中国药科大学天然药物活性组分与药效国家重点实验室、北京中医药大学中药学院中药品质评价北京市重点实验室、广西壮族自治区亚热带作物研究所、浙江大学药学院、浙江省中药研究所有限公司、广西药学会、杭州胡庆余堂药业有限公司、天士力医药集团股份有限公司、浙江养生堂天然药物研究所有限公司、云南云科特色植物提取实验室有限公司、金诃藏药（山东）健康产业有限公司、正大青春宝药业有限公司、江中药业股份有限公司、广西梧州制药（集团）股份有限公司、广西新桂环保科技集团有限公司、中国检验认证集团浙江公司、宁波海关技术中心、南京歆佳医药科技有限公司。

二、主要技术内容

本标准的关键技术内容由范围、规范性引用文件、术语和定义、试验流程、受试样品信息确认、斑马鱼准备、试验操作、结果评价及试验报告撰写等部分构成。

1. 范围

本文件确立了斑马鱼用于中药生物效应评价的检测流程，规定了试验方案确认与准备、斑马鱼准备、预试验、正式试验、结果评价、数据分析、试验报告撰写/审核等阶段的操作指示，以及上述阶段之间的转换条件，描述了记录、标记、审核等追溯方法。

本文件适用于中药材/饮片、中间体和制剂等的活性成分筛选、药效研究和质量控制等方面。

2. 规范性引用文件

列举了本文件引用的国家标准的名称和标准号。

3. 术语和定义

3.1 斑马鱼 *Zebrafish (Danio rerio)*

脊椎动物，生物分类学上属于脊椎动物门、硬骨鱼纲、鲤目、鲤科、斑马鱼属、斑马鱼种，可用于教学和科研的模式动物。

3.2 受精后小时数 **Hour(s) post-fertilization, hpf**

受精卵受精后的小时数。

3.3 受精后天数 **Day(s) Post-fertilization, dpf**

受精卵受精后的天数。

3.4 无可观察效应浓度 **No Observed Toxic Effect Concentration, NOEC**

与模型对照相比，对试验生物未产生显著毒性效应的最高受试样品浓度。

4. 基本流程

规定了斑马鱼用于中药生物效应评价的检测流程包括试验方案确认与准备、斑马鱼准备、预试验（受试样品处理、确定NOEC）、正式试验（分组、造模、受试样品处理、死亡判断、数据采集）、结果评价（统计学分析、结果判定、结果有效性分析）、数据分析、试验报告撰写等阶段。

5. 试验方案确认与准备

5.1 受试样品信息确认

应从样品提供方获得如下样品信息：受试样品的名称、批号、规格、数量、颜色性状、保存条件、保质期、申请单位名称等信息；受试样品为单体成分时，还应提供相应的化学信息，包括分子量等；受试样品的溶剂信息，以及在溶剂中的溶解性，在水中、光中、实验条件下的稳定性；整个周期所用受试样品批号应一致。

5.2 受试样品前处理

(1) 参考中国药典和表 1 的方法对不同类型受试样品进行前处理。

表 1 不同类型受试样品前处理方法

样品类型		前处理方法
常规类别	生药	依次经过浸润、切片、一次抽提、二次抽提、混匀、过筛、旋蒸
	饮片	
特殊类别	矿石类、贝壳类、甲壳类	依次经过粉碎、浸润、一次抽提、二次抽提、混匀、过筛、旋蒸
	胶质类药物/蜜膏类	直接热水烱化
	逢子必捣	依次经过捣碎、浸润、一次抽提、二次抽提、混匀、过筛、旋蒸

(2) 受试样品储备液宜用标准稀释水配制，受试样品难以用水溶解时可考虑使用低毒的助溶剂或分散剂。推荐的溶剂：丙酮、乙醇、甲醇、二甲基亚砷、二甲基甲酰胺、三甘醇。适合的分散剂：聚氧乙烯化脂肪酸甘油酯、吐温 80、0.01% 的纤维素甲醚、聚氧乙烯化氢化蓖麻油。储备液配制完成的受试样品应做标识，包括受试样品名称、受试样品浓度、溶剂名称、配制日期、配制人。经前处理且做好标识的受试样品进入斑马鱼准备阶段。

6. 斑马鱼准备

按照《GB/T 39649 实验动物 实验鱼质量控制》的规定执行斑马鱼质量控制。根据中药的功效主治选择斑马鱼疾病评价模型。选择出发育状况一致的斑马鱼进入试验程序阶段。

7. 试验程序

7.1 暴露条件

本标准规定了疾病评价模型中对斑马鱼暴露条件的要求，包括：持续时间；通常暴露时间在 24h 及以内不需要更换溶液，如受试样品富含营养物质，试验溶液容易腐败变质，可考虑换液，换液频率宜根据水质情况调整；暴露期间避光处理，避免光照对受试

样品稳定性的影响；水温控制在 26~28.5 °C；溶解氧为不低于 6 mg/L 饱和溶解氧；pH 需要在 6.8~7.5 范围内。

7.2 预试验

预试验用于确定受试样品的 NOEC 浓度,为后续正式试验的浓度设置提供参考。对受试样品储备液用标准稀释水以几何级数稀释,宜设置 3~5 个浓度组,浓度的间隔系数<3.2,宜设为 2。如果必须使用助溶剂,所有组别中的助溶剂浓度应保持相同,同时还应设置一个相应的溶剂对照组。实时观察并清除异常的斑马鱼,对斑马鱼的死亡和其它毒性效应进行记录,确定受试样品的 NOEC。只准许已经确定 NOEC 的受试样品进入正式实验阶段。

7.3 正式试验

(1) 试验分组

正式试验设置正常对照组、模型对照组、阳性对照组、受试样品处理组(宜设置 3~5 个浓度组,以几何级数浓度系列设置受试样品浓度梯度,浓度的间隔系数<3.2,宜设为 2)、溶剂对照组(当受试样品配制过程中使用了溶剂,应设置该组,溶剂浓度应该保持一致,且浓度不大于 1%(W/V 或 V/V))。

(2) 造模

选择受精后一定天数的斑马鱼,用诱导剂处理一段时间,建立斑马鱼疾病评价模型。根据中药的功效主治选择合适的斑马鱼模型。

(3) 受试样品处理

根据试验需求,预先筛选好足够数量且发育状况一致的斑马鱼胚胎,并随机分配到试验容器中,每孔斑马鱼数量至少为 10 尾(饲养密度宜为 1 尾/100 μ L)。模型诱导剂和受试样品加入试验容器后,充分混匀后,用铝箔纸包裹,在 28°C 生化培养箱中避光孵育至暴露结束。

给药顺序有三种:

a) 先用模型诱导剂建立斑马鱼疾病模型,然后向试验容器中加入受试样品。

b) 先向试验容器中加入受试样品,然后再用模型诱导剂建立斑马鱼疾病模型。

c) 用模型诱导剂建立斑马鱼疾病模型的同时，加入受试样品。

(4) 数据采集

应根据不同斑马鱼疾病评价模型的具体评价指标选择合适的数据采集方式，数据采集具体方式如下：

a) 直接拍照：孵育结束后，从表型正常的斑马鱼中随机选取至少 10 尾斑马鱼，用三卡因麻醉后，将斑马鱼用 3% 甲基纤维素固定（甲基纤维素应提前在室温放置至少 30 分钟），在体视显微镜或荧光显微镜（转基因荧光斑马鱼品系相关的试验）下观察、拍照并保存。所有试验组斑马鱼拍照应在相同的仪器和环境条件下完成，且斑马鱼体位保持一致。利用图像处理软件测量光密度（体视显微镜）或荧光强度（荧光显微镜），每组的有效数据量不低于 10 个。

b) 染色后拍照：孵育结束后，试验容器中的斑马鱼用标准稀释水清洗 3 次，采用特异性荧光染料或组织化学染料对各组斑马鱼进行染色。染色后每组随机选取至少 10 尾斑马鱼，用 3% 甲基纤维素固定。特异性荧光染料染色的斑马鱼用荧光显微镜观察、拍照并保存，组织化学染料染色的斑马鱼用体视显微镜观察、拍照并保存。利用图像处理软件对图像进行分析，测量光密度（体视显微镜）或荧光强度（荧光显微镜），每组的有效数据量不低于 10 个。

c) 运动行为分析：孵育结束后，试验容器中的斑马鱼用标准稀释水清洗 3 次，每组随机选取至少 10 尾斑马鱼转移至 96 孔板中，每孔 1 尾，利用行为分析仪记录斑马鱼的运动轨迹，记录时间宜为 20 min~1 h，每组的有效数据量不低于 10 个。

d) 酶标仪检测：孵育结束后，试验容器中的斑马鱼用标准稀释水清洗 3 次，每个试验组随机选择斑马鱼转移至 96 孔板中，每孔 1~3 尾，按照试剂盒检测说明书进行试验操作，利用酶标仪测定 OD 值、荧光值或化学发光值。选择符合检测试剂要求的参数，每组的有效数据量不低于 3 个。

e) 心血管功能分析：孵育结束后，试验容器中的斑马鱼用标准稀释水清洗 3 次，每组随机选择至少 10 尾斑马鱼，用 3% 甲基纤维素固定（甲基纤维素应提前在室温放置至少 30 分钟），

置于心跳血流分析系统下采集斑马鱼心输出量、血流速度等数据，每组的有效数据量不低于 10 个。

8. 结果评价

8.1 统计分析

利用统计分析软件进行相关图表制作与统计学分析。计算各组试验的平均值 (Mean) 及标准误差 (Standard Error, SE)，统计学处理结果用 $\text{Mean} \pm \text{SE}$ 表示。宜采用方差分析，按方差分析的程序先进行按方差分析的程序先进行正态性检验 (P 值) 和方差齐性检验 (F 值)。当 $F < 0.05$, $P < 0.05$ 时，各组均数间组间至少有一组有显著性差异，宜采用非参数检验。当 $F \geq 0.05$, $P \geq 0.05$ 时，采用单因素方差分析，选择事后两两比较的结果进行统计。对非正态或方差不齐的数据进行适当的变量转换，待满足正态或方差齐要求后，用转换后的数据进行统计。若变量转换后仍未达到正态或方差齐的目的，改用秩和检验进行统计。

8.2 试验有效性

根据前期积累的大量试验数据，当且仅当一个试验满足如下的质量控制要求时，试验结果的有效性才会被认可：

a) 正常对照组 (如果使用了助溶剂，也包括溶剂对照组) 斑马鱼的死亡率或异常率不得超过 10%，超过 10% 则该次试验视为失败。

b) 正式试验中，阳性对照组与模型对照组之间存在统计学上的显著性差异，且平均值之差必须大于 2 倍的模型对照组内标准偏差 (SD)；或阳性对照组与模型对照组之间存在统计学上的显著性差异，且平均值之差大于模型对照组平均值的 20%，否则该次试验结果视为无效。

c) 正式试验中，如果使用了助溶剂，溶剂对照组与模型对照组之间不能存在统计学上的显著性差异，如果溶剂对照组与模型对照组之间存在统计学上的显著性差异，则该次试验视为无效。

8.3 中药生物效应的计算

$$\text{药效} (\%) = \frac{S (\text{受试样品组}) - S (\text{模型对照组})}{S (\text{模型对照组})} \times 100\% \quad \text{或}$$

$$\text{药效}(\%) = \frac{S(\text{模型对照组}) - S(\text{受试样品组})}{S(\text{模型对照组})} \times 100\%$$

注：中药的功效主治不同，所用模型和评价指标不一样，计算公式也有差别，S为每个模型指标的原始数据。

8.4 判定标准

使用统计分析软件对数据进行方差分析，比较受试样品各浓度组与模型对照组原始数据的统计学差异， $P < 0.05$ 表示具有统计学差异。

将参照物（阳性对照组）的生物效应作为1，比较受试样品各浓度组的生物效应与阳性对照组生物效应的比值，以此作为标定生物效价的依据。

9. 试验报告撰写

试验报告应包括：检测依据、受试样品和阳性对照的信息、斑马鱼来源和品系等相关信息、试验条件和方法、数据处理与统计方法、试验开始和完成的日期、试验结果、结论。

三、主要编制过程

（一）提案、申请、立项

见附件1,2。

（二）成立标准起草组

（1）标准起草组成立方式

本标准起草组经负责人召集的方式确定项目组成员，采用电话及线上沟通的方式成立了项目组。

（2）标准起草组组成情况

① 标准起草组组成情况

起草单位：杭州环特生物科技股份有限公司、首都医科大学附属北京中医医院、天津中医药大学中医药研究院、中国中医科学院中药研究所、中国药科大学天然药物活性组分与药效国家重点实验室、北京中医药大学中药学院中药品质评价北京市重点实验室、广西壮族自治区亚热带作物研究所、浙江大学药学院、浙江省中药研究所有限公司、广西药学会、杭州胡庆余堂药业有限公司、天士力医药集团股份有限公司、浙江养生堂天然药物研究所有限

公司、云南云科特色植物提取实验室有限公司、金诃藏药(山东)健康产业有限公司、正大青春宝药业有限公司、江中药业股份有限公司、广西梧州制药(集团)股份有限公司、广西新桂环保科技集团有限公司、中国检验认证集团浙江公司、宁波海关技术中心、南京歆佳医药科技有限公司。

单位级别：医院、科研院校及企业。

专家专业领域：中医学、生药学、临床医学等。

职称分布：正高级职称共 29 人，占 64.4%；中级职称共 13 人，占 28.9%。

② **标准起草组成员名单及分工：**见表 2。

表 2 标准起草组成员及其工作内容

序号	姓名	单位	职务/职称	学位	工作内容
1	刘清泉	首都医科大学附属北京中医医院	主任医师	博士	标准制定、方案设计、方法建立与验证
2	张俊华	天津中医药大学中药研究院	研究员	博士	标准制定、方案设计
3	叶祖光	中国中医科学院	研究员	博士	标准制定、方案设计
4	李萍	中国药科大学天然药物活性组分与药效国家重点实验室	研究员	博士	标准制定、方案设计
5	李春启	杭州环特生物科技股份有限公司	教授级高级工程师	博士	标准制定、方案设计、方法建立与验证
6	林瑞超	北京中医药大学中药学院中药品质评价北京市重点实验室	研究员	博士	方法验证
7	徐霄龙	首都医科大学附属北京中医医院	研究员	博士	标准制定、方法验证
8	赵海誉	中国中医科学院中药研究所	研究员	博士	方案设计
9	杨华	中国药科大学天然药物活性组分与药效国家重点实验室	研究员	博士	标准制定、方法验证
10	赵崇军	北京中医药大学中药学院中药品质评价北京市重点实验室	助理研究员	博士	方法验证
11	庞新华	广西壮族自治区亚热带作物研究所	正高级实验师	博士	方法验证
12	王毅	浙江大学药学院	教授	博士	方法验证
13	赵璐	浙江大学药学院	副教授	博士	方法验证
14	王志安	浙江省中药研究所有限公司	高级工程师	硕士	方法验证
15	刘华钢	广西药学会	高级工程师	博士	方法验证
16	马晓慧	天士力医药集团股份	研究员	博士	方法验证

序号	姓名	单位	职务/职称	学位	工作内容
		有限公司			
17	陈炜	杭州胡庆余堂药业有限公司	高级工程师	本科	方法验证
18	张正方	浙江养生堂天然药物研究所有限公司	工程师	硕士	方法验证
19	孙武兴	云南云科特色植物提取实验室有限公司	工程师	硕士	方法验证
20	肖明红	云南云科特色植物提取实验室有限公司	助理工程师	硕士	方法验证
21	王振	金河藏药(山东)健康产业有限公司	高级工程师	硕士	方法验证
22	刘雳	正大青春宝药业有限公司	高级工程师	博士	方法验证
23	李诒光	江中药业股份有限公司	正高级主任中药师	博士	方法验证
24	刘洋	广西梧州制药(集团)股份有限公司	高级工程师	硕士	方法验证
25	李波	中国检验认证集团浙江公司	经济师	本科	方法推广
26	赵京霞	首都医科大学附属北京中医医院	研究员	博士	方法验证
27	何莎莎	首都医科大学附属北京中医医院	副研究员	硕士	方法验证
28	王雪蕊	首都医科大学附属北京中医医院	助理研究员	硕士	方法验证
29	崔煦然	首都医科大学附属北京中医医院	助理研究员	硕士	方法验证
30	岳慧珍	首都医科大学附属北京中医医院	助理研究员	博士	方法验证
31	白云静	首都医科大学附属北京中医医院	兽医师	硕士	方法验证
32	胡玲	宁波海关技术中心	高级工程师	博士	方法推广
33	刘汉伟	宁波海关技术中心	高级工程师	博士	方法推广
34	章胜乔	宁波海关技术中心	高级兽医师	硕士	方法推广
35	甘惠云	广西新桂环保科技集团有限公司	高级工程师	本科	方法推广
36	顾珊烨	南京歆佳医药科技有限公司	高级工程师	博士	方法推广
37	张勇	杭州环特生物科技股份有限公司	高级工程师	硕士	方法推广
38	朱晓宇	杭州环特生物科技股份有限公司、中国药科大学天然药物活性组分与药效国家重点实验室	高级工程师	博士	标准写作、方法建立
39	曹兵兵	杭州环特生物科技股份有限公司	工程师	硕士	方法推广
40	徐懿乔	杭州环特生物科技股份有限公司	工程师	硕士	标准写作、方法验证

序号	姓名	单位	职务/职称	学位	工作内容
41	缪文钰	杭州环特生物科技股份有限公司	工程师	博士	方法验证
42	郭胜亚	杭州环特生物科技股份有限公司	工程师	硕士	方法验证
43	周佳丽	杭州环特生物科技股份有限公司	助理工程师	本科	方法验证
44	夏波	杭州环特生物科技股份有限公司	助理工程师	本科	方法验证
45	张涛	杭州环特生物科技股份有限公司	工程师	本科	方法推广

(3) 利益冲突声明

本文件标准起草组成员没有利益冲突。

(三) 工作过程

2022年2-5月，起草组对斑马鱼用于中医药生物效应评价进行全面调研，并进行研究分析、资料查证，在此基础上形成《中药生物效应评价技术规程 斑马鱼模型》草案及立项申请书。

2022年5-7月，中华中医药学会对草案和申请书进行形式审查，并组织相关专家对标准的科学性和严谨性进行全面考察与审核，起草组进行答疑并修改。

2022年7月11日，中华中医药学会发布《中药生物效应评价技术规程 斑马鱼模型》团体标准立项公告。

2022年7-12月，标准起草组对国内斑马鱼技术在中医药生物效应评价中的应用情况进行全面调研，同时广泛搜集和检索了国内斑马鱼技术应用资料，并进行了大量的研究分析、资料查证工作，在此基础上形成《中药生物效应评价技术规程 斑马鱼模型》标准草稿。

2023年1-5月，标准起草组陆续组织杭州环特生物科技股份有限公司、首都医科大学附属北京中医医院、天津中医药大学中医药研究院、中国中医科学院中药研究所、中国药科大学天然药物活性组分与药效国家重点实验室、浙江大学药学院等单位及企业对《中药生物效应评价技术规程 斑马鱼模型》的标准内容进行了审核与修订，经过起草组数次研讨后，完成了标准征求意见稿和编制说明。

四、与国内外同类标准的对比和最新标准采用情况

(一) 目前国内外无相关标准。

(二) 本标准引用《GB/T 39649 实验动物 实验鱼质量控制》斑马鱼养殖方法和《GB/T 21807 化学品 鱼类胚胎和卵黄囊仔鱼阶段的短期毒性试验》术语和定义、试验溶液。

五、与现行强制性国家标准或政策法规的关系

本文件与现行强制性国家标准和政策法规协调配套，没有冲突。

六、代表性分歧意见的处理经过和依据

本文件在制定过程中无重大分歧性意见。

七、宣传、贯彻标准和后效评价标准的要求和措施

(一) 宣传、贯彻标准的措施

1. 标准的实施单位

杭州环特生物科技股份有限公司、中国药科大学天然药物活性组分与药效国家重点实验室、北京中医药大学中药学院中药品质评价北京市重点实验室、中医感染性疾病基础研究北京市重点实验室、天士力医药集团股份有限公司、浙江养生堂天然药物研究所有限公司和云南云科特色植物提取实验室有限公司。

2. 其他宣传、贯彻本标准的措施

(1) 媒体宣传：标准发布后，借助起草单位平台，在相关网站、公众号进行宣传和推广。

(2) 会议宣讲：起草团队拟在主题契合的各类行业活动中、中医相关学术会议或论坛上对本标准的内容进行多区域、多对象、多场次的全面宣讲解读。

(3) 发布仪式

联合组织团体标准专项发布会，邀请各参与单位、行业知名专家和其他企业代表，共同出席、见证标准的盛大发布仪式。同时，就该标准的内容和意义进行全面解读，已达到对标准面世后第一波有力宣传。

(4) 专题培训

线上直播解读。通过线上具备影响力的行业媒体或自媒体，

开展与标准内容相关的企业对象进行直播形式的课程讲解与答疑。利用线上内容传播的实时性与便利性，吸引、覆盖更多行业人士参与到标准的学习与实践中来。

线下专题培训。以学会重大会议活动或其他中药行业会议为契机，同期开展标准专题培训，方便吸引更多人参与的同时，又丰富了原会议活动的内容。

（5）产业实践

该标准发布后，由起草单位联合学会等单位，共同开展以该标准为指导规程、以斑马鱼为中药生物效应评价工具的“限免”推广活动，吸引更多企业参与到该标准的应用实践中来，助推该技术规程在业内的普及速度。

（6）荣誉激励

在以上活动的共同助推下，在一段时间（如1年为期）内开展就该团体标准推广、学习做出显著贡献的先进个人和企业给予荣誉嘉奖，激励企业及个人积极参与到该标注年度学习与实践中来。

（二）标准的用户评价

拟于标准发布后开展标准的用户评价。用户评价的方案如下：邀请不同地域的5家机构作为用户评价单位，评价单位以科研院所、医疗机构和企业机构为主；项目组对承担评价任务的研究者进行培训，使参与评价的用户了解标准；用户使用后，提交评价使用报告给项目组；项目组收集整理用户使用报告，为后期优化方案奠定基础。

（三）标准的修订

当标准出现以下情况，将对该标准进行修订：（1）标准的技术内容和现行法律、法规相抵触；（2）标准的技术内容有错误；（3）标准的技术内容已经落后，新的技术已经成熟，完全可以代替；（4）顶层或通用标准的技术内容发生了变化，要求相应标准予以配套更新；（5）和相关标准不协调，技术要求不一致，彼此矛盾。

八、废止现行有关标准的建议

本标准首次制定，不涉及废止标准。

九、相关附录

附件1 国内斑马鱼用于中药研发与生物学质量控制概况

附件2 立项审查会议纪要

附件 1

国内许多大型药企和科研机构都在利用斑马鱼模型进行中药相关的研究。大型药企和科研院所主要有广西梧州制药(集团)股份有限公司、天津医药集团有限公司、杭州民生药业股份有限公司、山东步长制药股份有限公司、江苏康缘药业股份有限公司、修正药业集团股份有限公司、杏辉天力(杭州)药业有限公司、山东沃华医药科技有限公司、中国中医科学院中药研究所、中科院昆明植物所、山东省科学院生物研究所、中国药科大学、北京中医药大学、浙江中医药大学、山东中医药大学、南京中医药大学、南方医科大学、浙江大学、福建中医药大学、陕西中医药大学、首都医科大学、成都中医药大学、天津中医药大学、广州中医药大学、广西中医药大学等。

许多研究表明斑马鱼模型用于中药质量控制研究方法快速、稳定可靠。天津医药集团有限公司发现采用斑马鱼神经元损伤模型评价养血清脑颗粒神经细胞保护作用的方法快速、稳定可靠,可作为现有质量控制方法的有效补充,为中药的生物活性质量控制研究提供技术参考^[1]。随后天士力又利用斑马鱼模型评价了注射用益气复脉(冻干)的心血管毒性和肝毒性^[2]。杭州民生药业股份有限公司将斑马鱼高血脂模型应用于山青之片的质量控制研究,发现用斑马鱼高血脂模型评价中药山青之片的降血脂效果,方法快速、稳定可靠^[3]。质量标志物(Q-marker)是保证中国医药(CM)质量和批次间一致性的一个重要概念。山东步长制药股份有限公司与浙江大学合作利用斑马鱼血栓模型发现了迷迭香酸和对香豆酸可能是丹红注射液的潜在Q-marker,可用于确保批次间的一致性^[4]。山东沃华医药科技有限公司采用基于斑马鱼的光谱效应关系、网络药理学、血浆药物化学和药效学的综合策略来识别和量化心可舒片的质量标记,揭示品控成分与药理活性之间的内在关系,定量评价药中质量标记物,从而全面揭示和控制心可舒片质量^[5]。福建中医药大学采用斑马鱼神经元损伤模型对栝楼桂枝汤进行神经保护生物活性评价,建立了一种综合化学成分与生物效应的栝楼桂枝汤质量评价模式,方法可行,基本稳定可靠,可为中药复方的质量控制研究提供参考^[6]。陕西中医药大学采用斑马鱼血栓模型及UHPLC-MS/MS方法,对不同厂家不同批次的丹芪片进行质量评价,为进一步研究提高丹芪片的质量

控制和临床应用提供参考^[7]。北京中医药大学采用斑马鱼血栓模型结合指纹图谱较全面地评价了鸡血藤药材的质量,为鸡血藤的药效物质基础研究提供科学数据,有利于鸡血藤的进一步开发与应用;实验验证了斑马鱼血栓模型,同时筛选了鸡血藤药材的抗血栓活性部位,为鸡血藤的临床应用提供科学数据^[8]。另外,采用斑马鱼的高脂血症模型验证了决明子药材对于高脂血症的防治作用,并对不同批次药材的活性进行分析,结果表明,在实验浓度范围内,决明子药材的药理活性随着给药浓度的增大而增强,不同批次的决明子药材总提物均能对斑马鱼幼鱼的脂肪吸收产生不同程度的抑制作用^[9]。

参考文献

- [1] 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.
- [2] 李德坤, 原景, 许泽乾,等. 基于斑马鱼模型评价注射用益气复脉(冻干)的心血管和肝脏安全性研究[J]. 药物评价研究, 2021, 44(11): 2398-2402.
- [3] 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(4):255-259.
- [4] Qi Y, Zhao X, Liu H, et al. Identification of a Quality Marker (Q-Marker) of Danhong Injection by the Zebrafish Thrombosis Model[J]. *Molecules*. 2017, 22(9): 1443.
- [5] Wei Y, Nie L, Gao L, et al. An Integrated Strategy to Identify and Quantify the Quality Markers of Xinkeshu Tablets Based on Spectrum-Effect Relationship, Network Pharmacology, Plasma Pharmacochimistry, and Pharmacodynamics of Zebrafish[J]. *Front Pharmacol*. 2022, 13:899038.
- [6] 李煌, 乔丽菲, 张玉琴,等. 基于化学成分和生物效应的栝楼桂枝汤质量评价研究[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(10):1877-1882.
- [7] Fu RJ, Wang WX, Tao HJ, et al. Quantitative evaluation of Danqi tablet by ultra-performance liquid chromatography coupled with triple quadrupole mass spectrometry integrated with bioassay[J]. *J Sep Sci*. 2021, 44(7):1552-1563.
- [8] 杨冉冉. 中药鸡血藤的质量控制及对斑马鱼抗血栓作用的初步研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2018.
- [9] 姬蕾. 中药决明子和钩藤的质量控制研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2019.

附件 2

中华中医药学会团体标准立项审查会议纪要

标准名称	中药生物效应评价技术规程 斑马鱼模型		
会议时间	2022 年 7 月 8 日（周五） 14:00-17:30		
会议地点	腾讯会议 ID：907-715-494		
组织承办人	段笑娇	联系方式	13718837289
项目名称、负责人及投票结果			
项目名称	中药生物效应评价技术规程 斑马鱼模型		
同意	10		
不同意	0		
结果	通过		
负责人	刘清泉		
承担单位	首都医科大学附属北京中医		
参会专家名单：（姓名 单位 职称）			
杨秀伟 北京大学药学院 教授（组长）			
李培红 中国中医科学院西苑医院 主任药师			
吴剑坤 首都医科大学附属北京中医医院 主任药师			
张 萍 中国人民解放军总医院第五医学中心 主任药师			
林 生 北京中医药大学东直门医院 研究员			
林晓兰 首都医科大学宣武医院 主任药师			
罗 荣 首都医科大学 副教授			
赵奎君 首都医科大学附属北京友谊医院 主任药师			
高艳玲 国家市场监督管理总局国家标准技术审评中心 高级工程师			
蔡 明 安徽中医药大学第二附属医院 副主任药师			
专家意见（以下为专家意见原文）：			
专家	意见	采纳否	具体修改或不采纳理由
专家 1	内容很好	采纳	
专家 2	无	采纳	
专家 3	无	采纳	
专家 4	立项必要性强，建议立项。	采纳	
专家 5	同意	采纳	
专家 6	该标准很有意义，建议立项。	采纳	
专家 7	生物效应检测对于弥补化学成分检测的不	采纳	

	足和局限是非常好的方法，研究工作非常有意义，应用也非常具有指导价值。		
专家 8	有助于推动中药标准化、现代化与国际化。	采纳	
专家 9	无	采纳	
专家 10	同意	采纳	
函审结论：			
通过立项审查			