

中图分类号: R917 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2026)06-0139-04  
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2026.06.030



# 降钙素及其生物效价测定标准的研究进展比较\*

谢天柱, 刘楚珩, 孙裕彬, 秦美蓉, 王平<sup>△</sup>

(广东省深圳市药品检验研究院, 广东 深圳 518057)

**摘要:**目的 为降钙素(CT)生物效价测定标准的修订提供参考。方法 概述CT的生物效应及研究进展;比较各国药典中收录的CT生物测定法和化学测定法的原理和操作方法。结果 CT临床运用广泛,其效价和含量主要的测定方法有生物测定法(体内、体外)化学测定法(高效液相色谱法),其中体内生物测定法运用更广,能直观反映CT生物效价,但结果易受影响;体外生物测定法具有变异系数小,准确度高,更符合3R原则的优点;高效液相色谱法能有效把控CT中的杂质及其限度。结论 后续CT生物效价测定标准的修订可采用CT体外生物测定法结合高效液相色谱法,在测定其生物效价的同时控制其杂质水平,保障CT产品的安全性和有效性。

**关键词:**降钙素;效价;生物测定法;含量测定;体内生物测定法;体外生物测定法;高效液相色谱法

## Comparison of Research Progress on Calcitonin and Its Determination Standard of Biological Potency

XIE Tianzhu, LIU Chuheng, SUN Yubin, QIN Meirong, WANG Ping<sup>△</sup>

(Shenzhen Institute for Drug Control, Shenzhen, Guangdong 518057, China)

**Abstract: Objective** To provide a reference for revising the determination standard of biological potency of calcitonin (CT). **Methods** The biological effects and research progress of CT were summarized, and the principles and operation methods of biological assay method and chemical assay method of CT in pharmacopoeia of various countries were compared. **Results** CT was widely used in clinical practice. The main assay methods of its potency and content were biological assay method (*in vivo* and *in vitro*) and chemical assay method [high performance liquid chromatography (HPLC) method]. The biological assay method *in vivo* was more widely used and could directly reflect the biological potency of CT, but the results were easily affected. The biological assay method *in vitro* had the advantages of small coefficient of variation, high accuracy and more in line with the 3R principle. HPLC method could effectively control the impurities and their limits in CT. **Conclusion** The subsequent revision of the determination standard of biological potency of CT can use the biological assay method *in vitro* combined with HPLC method to control the impurity level while determining its biological potency, so as to ensure the safety and effectiveness of CT products.

**Key words:** calcitonin; potency; biological assay; assay; biological assay *in vivo*; biological assay *in vitro*; HPLC

降钙素(CT)为甲状腺C细胞分泌的多肽激素<sup>[1]</sup>。临床主要用于治疗老年骨质疏松、高钙血症及骨痛<sup>[2-3]</sup>,不仅对胃酸型急性胃溃疡和急性胰腺炎有治疗作用<sup>[4]</sup>,还显示出对甲状腺功能亢进症和类风湿关节炎等疾病的治疗潜力<sup>[5]</sup>。其效价是临床疗效的前提,对CT效价进行监测是质量控制的重要环节。为此,概述了CT的研究进展及其生物效价测定和杂质测定方法,以期

为CT检测标准的建立或提高提供参考。现报道如下。

### 1 概述

CT的多肽分子结构由32个氨基酸组成,其分子量约为3 500 Da,其中第1,7位的半胱氨酸(cys)之间形成一个二硫键<sup>[6]</sup>。自1968年Neher等成功提取纯化获得人源性降钙素(hCT)<sup>[7]</sup>以来,天然提取的hCT逐渐应用于临床。此外,不同动物品系来源的CT同样具有hCT样

\*基金项目:国家药品监督管理局药品审评检查大湾区分中心监管科学研究课题[GBA-JGKX-2503]。

第一作者:谢天柱,男,大学本科,主管中药师,研究方向为药品、化妆品的药理学和毒理学评价,(电子信箱)936592452@qq.com。

<sup>△</sup>通信作者:王平,女,博士,主任药师,研究方向为药品药理学和毒理学评价,(电子信箱)wangping662@sina.com。

Omega-3 Fatty Acid Intake and Dyslipidemia: A Continuous Dose-Response Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials[J]. J Am Heart Assoc, 2023, 12(11): e029512.  
[16] JING Z, ZHENGLI JL, YING S, et al. Variations in adverse events associated with different infusion modalities of parenteral nutrition: A pharmacovigilance study[J]. J Parenter Enteral Nutr, 2025, 49(5): 659-669.  
[17] CAWOOD AL, BURDEN ST, SMITH T, et al. A systematic

review and meta-analysis of the effects of community use of oral nutritional supplements on clinical outcomes[J]. Ageing Res Rev, 2023, 88: 101953.  
[18] DE VARGAS CONY K, DE MAGALHAES FRANCESCINI CF. An unexpectedly high incidence of refeeding syndrome in patients with total parenteral nutrition in a reference university hospital[J]. Clin Nutr, 2021, 40(6): 3702-3707.  
(收稿日期:2025-09-01;修回日期:2025-12-23)

的生物活性,其中生物活性最高的为鲑源性降钙素(sCT)和鳗源性降钙素(eCT),其活性为hCT的数十倍。依降钙素是eCT的二硫键被乙烯键取代所得,具有更佳的稳定性和更高的生物学效应,是临床应用最广泛的CT品种<sup>[8]</sup>。其中,sCT(结构见图1)产品于1974年上市,随后被美国食品和药物管理局(FDA)批准用于治疗绝经后骨质疏松症和高血钙症<sup>[9]</sup>。sCT最初作为肌肉注射剂或皮下注射剂使用,但注射剂型并不适合骨质疏松患者长期用药;后续喷鼻剂恰好能克服上述缺点,但其生物利用度低<sup>[10]</sup>;而口服制剂能显著提高生物利用度和依从性,适合患者长期用药,被广泛应用于临床<sup>[11]</sup>。随着分子生物学技术的发展,90年代已能人工合成sCT并应用于临床。CT的获得方法主要有提取法、化学合成法及生物合成法。其中生物合成法具有成本低、产量大、环保等优点,目前已取代化学合成法成为获得CT的主流方法。

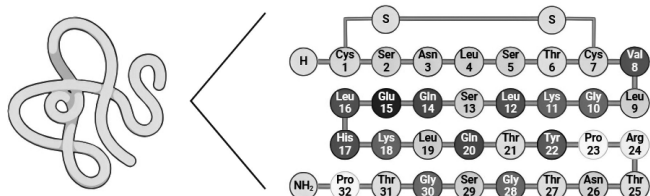


图1 sCT分子结构

Fig.1 Molecular structure of sCT

CT的生物效应通过特异性受体介导完成,其受体广泛分布于大脑、肾脏、骨骼肌、胸腺癌细胞系、乳腺癌细胞系、破骨细胞中。CT可通过抑制破骨细胞的骨吸收和肾脏上皮细胞对钙、磷的重吸收,降低血液中的钙磷浓度,达到防止骨质流失、增加骨量、提高骨骼强度的作用<sup>[12]</sup>。此外,CT还可与人大脑中的特异性受体结合,促进内啡肽的合成与释放,抑制神经肽类分泌,产生止

痛作用<sup>[13-14]</sup>,同时通过减少前列腺素的合成来减轻患者因骨折引起的疼痛,并提高内啡肽浓度,改善骨骼结构,长效缓解疼痛<sup>[15]</sup>。sCT对骨钙代谢调节活性比hCT更强,作用时间更持久,作用效果更稳定<sup>[16]</sup>,且不良反应少<sup>[17]</sup>,常与其他药物联合使用。

## 2 生物测定法

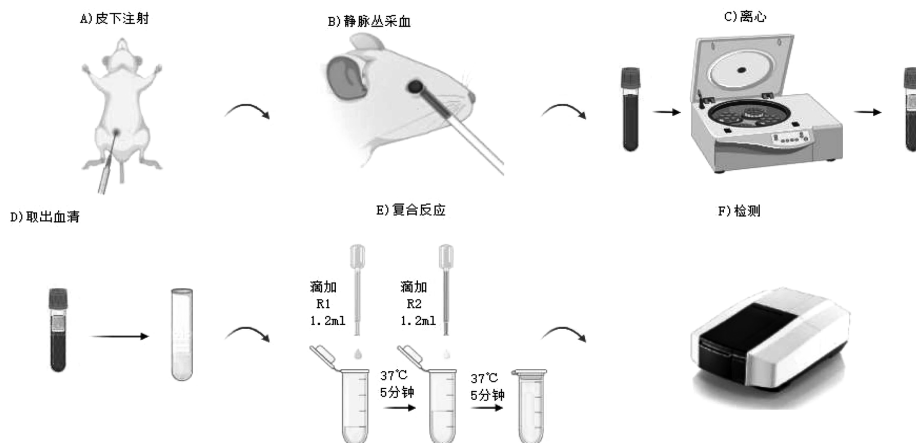
### 2.1 体内生物测定法

#### 2.1.1 检测原理

该法利用了CT对大鼠血液中骨钙的生物学作用,以各剂量作用下大鼠血钙的反应值为指标,将剂量与反应值转换为平行线关系,通过比较标准品与供试品对大鼠血钙降低的程度,采用量反应平行线测定法计算效价和实验误差。

#### 2.1.2 操作方法

KUMAR等<sup>[18]</sup>首次提出采用大鼠测定CT效价法:在大鼠静脉和皮下注射一定浓度的CT溶液,每间隔30 min采血1次,持续3 h,测定血浆中钙含量。结果发现,血浆中钙离子浓度在30~60 min之间下降最大。我国药典自1990年版开始记载CT生物测定法(大鼠体内法),并沿用至今。2020年版《中国药典(四部)》通则1218中收录的CT生物测定法为通过比较CT标准品与供试品对大鼠血钙降低的程度,测定供试品效价,可信限率(FL%)不得大于45%<sup>[19]</sup>。药典推荐采用皮下注射和尾静脉注射两种给药方式,其中,皮下注射与临床给药途径一致,更易于操作。详见图2。此外,早期《美国药典》《欧洲药典》《英国药典》等在世界范围内各国家和地区药典所收录的CT体内生物测定法与我国药典基本相同,仅在动物数量、体质量要求、皮下注射部位、高低浓度的间距、给药体积及可信限率等实验细节上存在差异。目前2020年版《中国药典(四部)》<sup>[19]</sup>和第18版《日



注:图中R1为乙醇胺缓冲液;R2为邻甲酚酞络合剂。

图2 CT体内生物测定法操作流程

Note: R1 was ethanolamine buffer; R2 was o-cresolphthalein complexone

Fig.2 Operation process of biological assay in vivo of CT

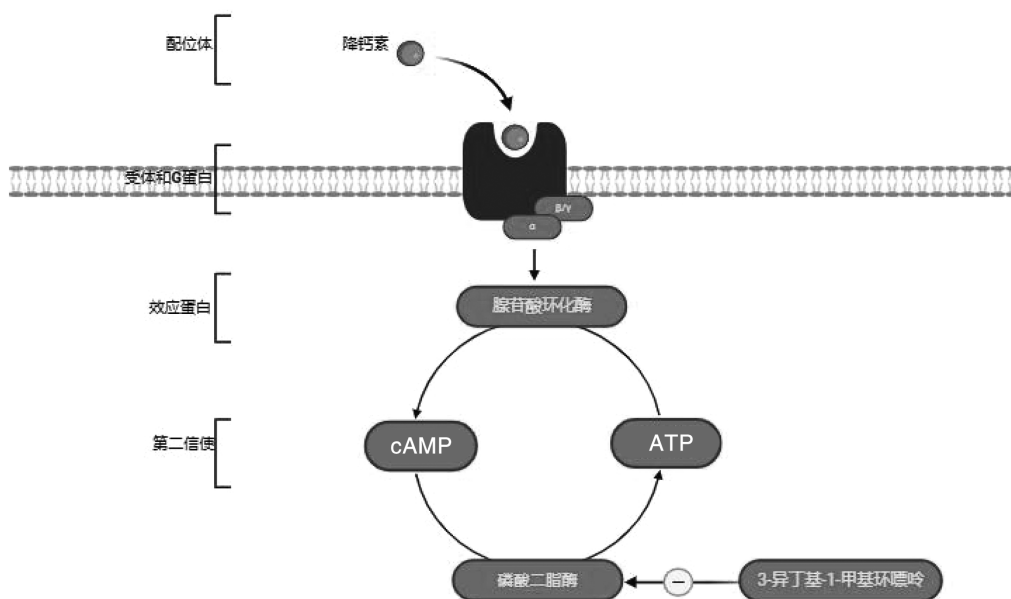


图3 CT体外生物测定法检测原理图

Fig. 3 Principle diagram of biological assay *in vitro* of CT

本药局方<sup>[20]</sup>中仍沿袭以上方法,而第43版《美国药典》<sup>[21]</sup>和第11版《欧洲药典》<sup>[22]</sup>中已有相应替代方法。

## 2.2 体外生物测定法

### 2.2.1 检测原理

1981年FINDLAY等<sup>[23]</sup>发现人乳腺癌细胞系T47D能表达CT受体,1992年已有CT体外生物测定法的研究报道<sup>[24]</sup>。以T47D细胞为研究对象,当CT与T47D细胞表面受体相结合时,细胞膜上的G蛋白会激活第二信使腺苷酸环化酶,促使三磷酸腺苷(ATP)环化形成环磷酸腺苷(cAMP),整个反应呈量效关系,通过检测cAMP的含量测定样品中CT的活性<sup>[21,25-26]</sup>。详见图3[图中检测方式为600/700 nm波长下测定吸光度(OD)值]。

### 2.2.2 操作方法

将cAMP抗体包被于微孔板中,加入一定浓度的待测CT样品溶液,再加入适量的辣根过氧化物酶标记的cAMP抗原(其能与cAMP结合,竞争cAMP抗体,形成酶标抗原-抗体复合物),清洗,去除多余的酶标抗原,避光加入底物3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB)进行显色反应;加入终止液终止反应,于450 nm波长下测定OD值(cAMP的总量越多,表明酶标抗原-抗体复合物越少,显色越浅<sup>[21,27]</sup>)。采用3剂量6点平行线测定法进行统计。

## 3 化学测定法

### 3.1 检测原理

该法基于高效液相物理分离的过程,利用流动相携带待测化合物以一定流速流经色谱柱过程中,以不同性质化合物在固定相上保留时间为表征进行定性鉴别,利用峰高或峰面积进行定量检测。

### 3.2 操作方法

色谱条件,色谱柱为C<sub>18</sub>柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);将3.26 g四甲基氢氧化铵溶于900 mL纯化水,加磷酸调pH至2.5,并与100 mL乙腈混合,过滤并脱气后的溶液作为流动相A,将1.45 g四甲基氢氧化铵溶于400 mL纯化水,加磷酸调pH至2.5,并与600 mL乙腈混合,过滤并脱气后的溶液作为流动相B;流速为1.0 mL/min;检测波长为220 nm;柱温为65 °C;进样量为20 μL。将CT标准品和供试品以流动相A溶解,制成1.0 mg/mL的标准品溶液和供试品溶液,按以上色谱条件进样测定,记录峰面积并计算CT含量。

## 4 方法比较

2020年版《中国药典(四部)》中仍采用体内生物测定法,其运用广泛,能直观反映生物效价,但有研究显示,该法溶剂制备中所使用促进药物在体内的吸收的试剂可能会导致体内生物测定法结果偏高<sup>[28]</sup>。此外,在特定剂量范围之内,CT量效反应呈线性关系,但相对较窄的剂量范围和小的反应斜率,往往导致反应出现平点或翻点,导致实验失败,且该法实验动物需求量较大<sup>[29-30]</sup>。因此,后续CT生物效价测定标准修订可考虑将体外细胞替代法纳入,该法变异性小,准确度高,更符合3R原则。

由合成法获得的CT其杂质难以避免,而工艺杂质、降解杂质和未知杂质等均会导致药物的不良反应,国内企业尚未对CT的杂质水平进行控制。《欧洲药典》<sup>[22]</sup>中的高效液相色谱法检测发现CT中的4种主要杂质为9-D亮氨酸鲑降钙素,N-乙酰半胱氨酸鲑降钙素,O-乙酰化鲑降钙素,去22-酪氨酸鲑降钙素。规定最

高含量为3.0%,总最高含量为5.0%,检测限为0.1%。但该法无法对CT生物效价进行检测,后续可以此为参考,对杂质进行控制,并结合体外生物测定法修订CT生物效价测定标准。

综上所述,为保障临床用药的有效性及其安全性,应综合考量“生物活性”“化学纯度”质量控制指标,以及CT体外生物测定法和高效液相色谱法的结合,修订CT生物效价测定标准,完善其生物活性评价体系。

### 参考文献

- [1] NEHER R, RINIKER B, MAIER R, et al. Human calcitonin[J]. *Nature*, 1968, 220(5171): 984 - 986.
- [2] 林雪源, 欧阳国豪. 鲑降钙素的临床应用及不良反应研究进展[J]. *中国实用医药*, 2011, 6(33): 244 - 245.
- [3] SONDERGAARD BC, OESTERGAARD S, CHRISTIANSEN C, et al. The effect of oral calcitonin on cartilage turnover and surface erosion in an ovariectomized rat model [J]. *Arthritis Rheum*, 2007, 56(8): 2674 - 2678.
- [4] MATHIESEN DS, LUND A, HOLS JJ, et al. Therapy of endocrine disease: Amylin and calcitonin - physiology and pharmacology[J]. *Eur J Endocrinol*, 2022, 186(6): R93 - R111.
- [5] NAOT D, MUSSON DS, CORNISH J. The activity of peptides of the calcitonin family in bode [J]. *Physiol Rev*, 2019, 99(1): 781 - 805.
- [6] ZAIDI M, INZERILLO AM, MOONGA BS, et al. Forty years of calcitonin—where are we now? A tribute to the work of Iain Macintyre, FRS [J]. *Bone*, 2022, 30(5): 655 - 663.
- [7] COPP DH, CAMERON EC, CHENEY BA, et al. Evidence for calcitonin—A new hormone from the parathyroid that lowers blood calcium [J]. *Endocrinology*, 1962, 70: 638 - 694.
- [8] HUANG CZ, YANG XN, LIU DC, et al. Calcitonin gene - related peptide - induced calcium alginate gel combined with adipose - derived stem cells differentiating to osteoblasts [J]. *Cell Biochem Biophys*, 2015, 73(3): 609 - 617.
- [9] 王华勇, 周莉娜, 王贞贞, 等. 鲑鱼降钙素对老年骨质疏松患者腰背疼痛及骨代谢的影响 [J]. *中国药业*, 2021, 30(3): 60 - 62.
- [10] KARSDAL MA, BYRJALSEN I, RIIS BJ, et al. Optimizing bioavailability of oral administration of small peptides through pharmacokinetic and pharmacodynamic parameters: the effect of water and timing of meal intake on oral delivery of Salmon Calcitonin [J]. *BMC Clinical Pharmacol*, 2008, 8: 5.
- [11] BANDEIRA L, LEWIECKI EM, BILEZIKIAN JP. Pharmacodynamics and pharmacokinetics of oral salmon calcitonin in the treatment of osteoporosis [J]. *Expert Opinion on Drug Metab Toxicol*, 2016, 12(6): 681 - 689.
- [12] SRINIVASAN A, WONG FK, KARPONIS D. Calcitonin: A useful old friend [J]. *Journal of Musculoskeletal and Neuronal Interactions*, 2020, 20(4): 600 - 609.
- [13] 李妍. 鲑鱼降钙素联合阿仑膦酸钠对老年骨质疏松的疗效以及骨代谢的影响 [J]. *国际医药卫生导报*, 2019, 25(12): 1984 - 1985.
- [14] 王戈, 刘焯文, 高志, 等. 骨力胶囊联合鲑降钙素治疗老年骨质疏松症的临床研究 [J]. *现代药物与临床*, 2019, 34(8): 2473 - 2476.
- [15] 翁科迪, 蒋国华, 石钢, 等. 阿仑膦酸钠联合鲑鱼降钙素对老年髌部骨质疏松性骨折患者的疗效及对骨密度和骨代谢标志物的影响 [J]. *中国老年学杂志*, 2020, 40(21): 4597 - 4599.
- [16] 刘燕霞. 鲑降钙素阿仑膦酸钠结合雌激素片治疗绝经后骨质疏松症的临床疗效及安全性 [J]. *山西医药杂志*, 2020, 49(4): 442 - 444.
- [17] 黎家楼, 黄勇, 梁景星, 等. 鹿瓜多肽注射液、鲑降钙素注射液结合补肾活血方治疗老年性骨质疏松症疗效观察 [J]. *现代中西医结合杂志*, 2015, 24(31): 3475 - 3478.
- [18] KUMAR MA, SLACK E, EDWARDS A, et al. A biological assay for calcitonin [J]. *J Endocrinol*, 1965, 33(30): 469 - 475.
- [19] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(四部) [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 508.
- [20] The Japanese Pharmacopoeia. JP18 [M]. Tokyo: Ministry of Health, Labour and Welfare, 2021: 612.
- [21] The United States Pharmacopoeial Convention. USP 43 - NF38 [M]. Rockville: The United States, Pharmacopoeial Convention, 2020: 674.
- [22] European Pharmacopoeial Commission. European Pharmacopoeia 11.0 [M]. Strasbourg: European Directorate Health Care, 2023: 2161 - 2163.
- [23] FINDLAY DM, MICHELANGELO VP, MOSELY JM, et al. Calcitonin binding and degradation by two cultured human breast Cancer cell lines (MCF7 and T47D) [J]. *Biochem J*, 1981, 196(2): 513 - 520.
- [24] GRAUER A, RAUE F, REINEL HH, et al. A new in vitro bioassay for human calcitonin: validation and comparison to the rat hypocalcemin bioassay [J]. *Bone Miner*, 1992, 17(1): 65 - 74.
- [25] GPH1 - 1 - 2005, Technical guidelines for the establishment of chemical drug quality standards [S].
- [26] GPH11 - 1 - 2007, Technical guidelines for synthetic peptide drugs pharmacy research [S].
- [27] 田文静. 鲑降钙素及其制剂的杂质研究和质量分析 [D]. 北京: 中国食品药品检定研究院, 2013.
- [28] 王雪莲, 戴昱, 杜玖月, 等. HPLC法和生物测定法测定鲑鱼降钙素肠溶胶囊含量的比较 [J]. *中国药房*, 2014, 25(33): 3134 - 3136.
- [29] HOLZGRABE U. The need for CE methods in pharmacopoeial monographs [J]. *Separ Sci Technol*, 2008, 9: 245 - 258.
- [30] 钱德明, 沈成全, 柯若伦. 用大鼠血钙法测定降钙素生物效价的探讨 [J]. *药物分析杂志*, 1994, 14(3): 30 - 33.

(收稿日期: 2024 - 04 - 30; 修回日期: 2025 - 10 - 18)