

中药制剂质量控制研究的发展趋势

梁小银^{1*}, 陈少旭¹, 吴 垠²(1.佛山市中医院三水医院, 广东 佛山 528100; 2.广东省食品药品检验所, 广州 510180)

中图分类号 R284.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)03-0280-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.03.29

摘要 目的:探讨中药制剂质量控制研究的发展趋势。方法:查阅近年有关中药制剂质量控制研究的相关文献,对其研究现状进行评述,总结与归纳中药制剂质量控制的新技术和新方法。结果:目前以单一化学指标成分为中心的质量控制模式已不适合中药现代化发展要求,而以多指标成分和生物活性测定的质量控制模式成为其新的发展趋势。结论:多指标成分和生物活性测定的质量控制模式能较为真实地反映中药制剂的“内在”“综合”质量,能更好地确保民众用药安全、有效。

关键词 中药制剂;质量控制;研究方法;发展趋势

中药在我国医疗卫生事业中扮演着极其重要的角色,对中华民族的繁荣昌盛做出了巨大贡献。以中医药理论为指导,中药材为原料,按一定处方和工艺加工制成的中药制剂,在临床上更是以其疗效独特、毒副作用少、服用方便等优势日益受到世人关注。中药制剂质量的优劣直接影响到临床用药的安全性和有效性,也关系到患者的健康和生命,因此必须建

立严格的质量控制标准。然而,目前我国中药质量控制的基本模式大多是参照国外植物药的质量控制方法、借鉴化学药品的质量控制模式建立的,即通过测定某一“指标成分”“有效成分”或“活性成分”建立相应的定性、定量标准来控制中药制剂的质量。对于化学药品,因其结构清楚、构效关系明确,有效性和安全性与该药品的成分直接相关,所以其质量控制中

之前,本课题组通过市场调研和民族医院走访,发现流通的一枝蒿药材均来源自该属植物的全草,而切断后得到饮片很容易掺假或混伪,其特征和《维吾尔药志》、《新疆维吾尔药材质量标准》记载的一枝蒿药材的性状、显微特征极其相近,难以区分,容易混为正品药材使用;但其化学成分有很大差异,临床疗效和功能主治也不尽相同。传统的鉴定方法容易受环境、植物生长发育等外在条件的影响,具有较大的主观性;本课题组运用ITS2条形码鉴定一枝蒿及其混淆品,具有通用性好、重复性高、易于推广和标准化等独特优势^[11-15],故建议用本方法鉴定蒿属植物。

参考文献

- [1] 刘勇民. 维吾尔药志[M]. 乌鲁木齐:新疆科技卫生出版社, 1999: 1-2.
- [2] 盛萍. 新疆一枝蒿体外抗肿瘤物质基础及制备工艺研究[D]. 乌鲁木齐:新疆医科大学, 2008.
- [3] 安争夕, 魏岩. 新疆植物志:第五卷[M]. 乌鲁木齐:新疆科技卫生出版社, 1999: 153-178.
- [4] 杨伟俊, 何江, 罗玉琴, 等. 维吾尔药材龙蒿、黄花蒿、野艾蒿的鉴别研究[J]. 中国民族医药杂志, 2011, 17(9): 67.
- [5] 刘冲, 杨伟俊, 顾政一, 等. 维吾尔药材易混品种整理及分子生物学应用的研究进展[J]. 西北药学杂志, 2013, 28(4): 440.
- [6] Yao H, Song JY, Liu C, *et al.* Use of ITS2 region as the universal DNA barcode for plants and animals [J]. *PLoS*

ONE, 2010, 5(10): e13 102.

- [7] 刘义梅, 罗焜, 陈科力, 等. ITS2序列鉴定小茴香及其常见混伪品[J]. 环球中医药, 2011, 4(4): 260.
- [8] 庞晓慧, 宋经元, 徐海滨, 等. 应用ITS2条形码鉴定中药材麻黄[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(8): 1 118.
- [9] 庞晓慧, 徐海滨, 韩建萍, 等. 中药材薄荷的DNA条形码鉴定研究[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(8): 1 114.
- [10] Gao T, Yao H, Song J, *et al.* Identification of medicinal plants in the family Fabaceae using a potential DNA barcode ITS2[J]. *J Ethnopharmacol*, 2010, 130(1): 116.
- [11] Hebert PD, Cywinska A, Ball SL, *et al.* Biological identifications through DNA barcodes[J]. *Proc Biol Sci*, 2003, 270(1 512): 313.
- [12] Schindel DE, Miller SE. DNA barcoding a useful tool for taxonomists[J]. *Nature*, 2005, 435(7 038): 17.
- [13] Miller SE. DNA barcoding and renaissance of taxonomy [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(12): 4 775.
- [14] Mizukami H, Ohbayashi K, Umetsu K, *et al.* Restriction fragment length polymorphisms of medicinal plants and crude drugs. II. Analysis of *Glehnia littoralis* of different geographical origin[J]. *Biol Pharm Bull*, 1993, 16(6): 611.
- [15] Liu C, Gu ZY, Yang WJ, *et al.* Advances of biological taxonomy and species identification in Medicinal Plant Species by DNA barcodes[J]. *AJS*, 2011, 7(5): 147.

(收稿日期:2013-01-31 修回日期:2013-05-21)

* 中药师, 硕士。研究方向: 创新中药研发、医院药学。电话: 0757-87797915。E-mail: lxyin2006@163.com

的鉴别、检查、含量测定可以直接作为药品优劣和疗效评价的指标。但是,由于中药作用的整体性、组成成分的多样性和可变性、作用靶点和机制的复杂性,以及成分间相互作用的难以预测性,决定了任何一种有效成分或活性成分的含量高低均不能客观反映其所体现的整体疗效。本文着重对目前中药制剂质量控制的热点分析方法及技术进行综述,并进一步对其未来的发展趋势进行展望。

1 多指标成分含量测定与指纹图谱相结合的评价方法

中药制剂具有多成分、多靶点整合作用的特点。针对其单指标成分质量控制的弊端,近年来多指标质量评价已成为行业共识,中药制剂质量控制正从简单的单个成分的含量测定转向以先进技术为手段,多组分、多指标含量测定为目标,并逐步建立指纹图谱,以实现中药制剂质量标准现代化。

中药制剂多指标成分含量测定是以药理作用相对明确的多个指标成分作为定量对象,以此进行制备工艺与质量标准的研究,在一定程度上可监控该制剂中各药味的成分在不同生产环节的传递过程,反映药效的传递情况,同时能快速、直观和全面地监控中药制剂的内在质量^[1-2]。中药制剂指纹图谱则通过各色谱峰的峰面积或峰高比值来确定样品中化学成分的相对量,并结合数理统计方法通过相似度的比较来评价该制剂质量的优劣。它能较为全面地反映中药制剂中所含化学成分的种类与数量,尤其是在现阶段有效成分大部分未明确的情况下,能较全面地反映中药制剂的内在质量^[3]。

2010年版《中国药典》编制大纲及说明明确指出:“把多组分测定和中药指纹图谱分析技术结合起来,建立能反映整体性综合性的符合中药特点的质量标准模式。”目前,该模式已成为中药制剂质量评价与控制的主要发展方向。如,罗文等^[4]通过利用高效液相色谱(HPLC)指纹图谱,在化学成分无法准确确认、对照品无法得到的情况下,以2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷峰为参照峰,对图谱中其余10个分离度好、峰形对称、稳定,但成分不明确的色谱峰进行相对定量,并以其总量对降脂调脂抗氧化的有效部位进行质量控制和评价。该方法有助于弥补当前中药复方制剂因化学成分复杂、结构不明确而难以全面准确定量的缺陷,从而进一步提高中药质量控制水平。陈永刚等^[5]采用HPLC法建立了含有22个共有峰的指纹图谱和4种指标成分(丹酚酸B、橙皮苷、哈巴俄苷和盐酸小檗碱)的含量测定方法,用于五参二连颗粒的质量控制。

2 色谱联用技术的应用

中药制剂是一个高度复杂的化学物质体系,其成分的复杂性在于从大分子到小分子,从水溶性成分到脂溶性成分,从无机物到有机物,不同性质的成分数量较多,结构差异较大,单一的检验分析手段难以对其进行全面分析与评价。随着现代分析技术与仪器的发展,尤其是各种色谱/光谱联用技术的应用,为中药制剂的质量控制研究提供了新的手段和方法。

HPLC法是目前中药质量分析与评价的主流技术。与HPLC联用的紫外检测器[包括二极管阵列检测器(DAD)]、蒸发光散射检测器(ELSD)是应用最成熟、最广泛的检测技术。紫外检测器灵敏度高、线性范围宽,对检测具有共轭体系、较

强紫外吸收的化合物具有一定的优势。但是,中药中还有许多有效成分如皂苷类、萜类、甾体类生物碱等没有紫外吸收或紫外末端吸收,难以用紫外检测器进行检测,因此ELSD作为通用型检测器提供了有效的补充检测手段。

HPLC-DAD-ELSD联用技术近年得到了广泛应用,在中药制剂复杂体系的分析方面显示了强大优势^[6]。如,清开灵注射液中含有植物药及提取物、动物药和矿物药,成分复杂,仅对其中的黄芩苷、栀子苷和胆酸3种成分进行控制,显然不能满足清开灵注射液安全、有效的质量评价要求。武彦舒等^[7]采用HPLC-DAD-ELSD联用技术,建立了同时测定清开灵注射液中10种有效成分(黄芩苷、栀子苷、绿原酸、咖啡酸、腺苷、尿苷、色氨酸、胆酸、熊去氧胆酸和猪去氧胆酸)的方法,从而为清开灵注射液质量控制提供了一种简便、可靠的评价模式。Fan H等^[8]通过采用HPLC-DAD-ELSD联用技术建立了同时测定复方贞术调脂胶囊中15个活性成分含量的分析方法,以便更客观、全面地控制产品质量。目前,该方法已被收入2010年版《中国药典》用于山银花药材中黄酮和皂苷类成分的含量测定^[9]。

HPLC-质谱(MS)联用技术在近年中药质量研究中的作用更是不可忽视。如,乔湜等^[10]利用液相色谱(LC)-二级MS实现了对中药制剂滋心阴口服液液中6种化学成分(芍药内酯苷、芍药苷、花椒毒素、补骨脂素、异茴芹内酯和佛手柑内酯)的快速分离与测定。Thiele B等^[11]在没有有机溶剂的条件下,采用LC-电喷雾串联质谱(ESI-MS/MS)法和阳离子交换柱,无需对氨基酸进行衍生化即可成功检测植物提取物中的20种氨基酸和(15)N示踪氨基酸并对其进行定量。目前,高灵敏度、高选择性、能同步提供结构信息的LC-飞行时间(TOF)/MS、超高效液相色谱(UPLC)-TOF/MS、离子阱(IT)-TOF/MS、四级杆(Q)-TOF/MS等液质联用、串联MS技术的涌现,实现了中药多类成分的同时、快速、高效定性定量分析,在对含量低、不易分离得到或缺乏特征紫外吸收的物质的分析中显示了独特优势^[6,12-13]。此外,气相色谱(GC)-MS、HPLC-核磁共振(NMR)等联用技术在中药质量控制方面也得到了广泛的应用^[14-15]。

3 一测多评法及其类似方法的应用

中药多成分、多功效的作用特点决定了单一成分难以表达中药的质量,多成分同步质量控制模式便应运而生,但该模式在实际生产、科研、监督中的应用受到对照品供需矛盾和多指标质控高昂的检测成本限制。为了解决既能实现多成分的质量控制,又能克服对照品紧缺和检测成本高的困难,王智民等^[16]提出了“一测多评”法,即利用中药有效成分内在的函数关系和比例关系,只测定一个成分(对照品可得到者)来实现多个成分(对照品难以得到或难供应)的同步测定。目前,该法已被2010年版《中国药典》收录,用以测定黄连中小檗碱、巴马汀、黄连碱、表小檗碱、药根碱等5个成分的含量^[9]。一测多评法的基本原理是:在一定范围内(线性范围内)成分的量(质量或浓度)与检测器响应成正比,即: $W=f_A$ 。在多指标质量评价时,以药材中某一典型组分(有对照品供应者)为内标,建立该组分与其他组分之间的相对校正因子,通过校正因子计算其他组分的含量。这种测定一个成分,实现对多个成分定量的方法被命名为“一测多评”法。

假设某样品中含有*i*个组分,那么

$$\frac{W_i}{A_i} = f_i (i=1, 2, \dots, k, \dots, m)$$

式中, A_i 为组分峰面积, W_i 为组分浓度。选取其中一组分*k*为内标,建立组分*k*与其他组分*m*之间的相对校正因子。

$$f_{km} = \frac{f_k}{f_m} = \frac{W_k \times A_m}{W_m \times A_k}$$

由此,可导出定量计算公式:

$$W_m = \frac{W_k \times A_m}{f_{km} \times A_k}$$

式中, A_i 为内标物峰面积, W_k 为内标物浓度, A_m 为其他组分(*m*)峰面积, W_m 为其他组分(*m*)浓度。

“一测多评”法的研究思路侧重从量上阐明主要成分或药效成分间的相互关系,目前已在多种中药材和中药制剂中得到应用与推广。王智民等^[16]首次以木通药材为研究对象,对一测多评法的技术适用性和应用可行性进行了探讨研究。结果表明,一测多评法推算的含量与实测法所得含量差异无统计学意义,能够实现在白木通皂苷B和白木通皂苷C对照品缺乏的情况下,通过皂苷P_n与白木通皂苷B和白木通皂苷C之间相对保留时间差进行色谱峰定位,利用皂苷P_n和校正因子计算二者的含量。邹桂欣等^[17]首次将一测多评法应用于中药复方制剂的质量控制中,以葛根素为指标,建立冠脉康胶囊中该成分与大豆苷元及丹酚酸B的相对校正因子,通过葛根素对照品同时控制方中葛根素、大豆苷元及丹酚酸B三者的含量。何兵等^[18]通过采用一测多评法建立双青咽喉片中的没食子酸与其他9种成分(柠檬酸、新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、异绿原酸B、异绿原酸A、异绿原酸C、甘草酸单铵及蒿酮)的相对校正因子(f_{km}),实现了只采用没食子酸对照品即可测定双青咽喉片中10种成分的含量;试验还证明了3种校正方式(多点校正法、斜率校正法和定量因子)的一测多评含量计算值与实测值间差异无统计学意义,表明一测多评法用于控制双青咽喉片的质量是准确、可行的。

此外,谢元超等^[19]首次提出了“替代对照品”的思路,并对其进行了方法学研究,其原理与“一测多评”法基本一致,即使用一种易得的、便宜的对照品来代替所需的中药对照品,以解决少数中药对照品制备困难、价格昂贵、不稳定或难以获得的难题。目前,该方法已应用于重楼、淫羊藿、贯叶连翘等药材及制剂的质量控制研究^[20-22]。另,孙磊等^[23]提出了“双标多测法”,即使用1个定量对照品以相对校正因子法定量,再增加1个定性对照品采用双标线性校正法进行色谱峰定性,并以大黄及其制剂中5种蒽醌成分的分析为例,探讨该法的可行性。结果表明,较之相对保留时间法,双标线性校正法显著提高了定性的准确度和色谱柱的适用性,应用前景良好。

4 薄层色谱-生物自显影技术(TLC-bioautography)的应用

经典的TLC法操作简便、快速,是中药质量控制的常用手段,但其显色(或荧光)斑点的有无和强弱只能说明某成分的有无和含量高低,却不能反映其生物活性,且其常用化学显色剂多为通用显色剂,缺乏专属性。而TLC-bioautography结合了色谱分离和生物活性测定的优点,是一种集鉴定、分离和活

性测定于一体的药物筛选方法,它无需特殊的仪器设备就能在薄层板上直接显现肉眼可见的活性成分斑点,可直观地对药物活性成分进行定性鉴别,亦可定量,同时还能反映药物生物活性的强弱^[24]。目前,该技术已在清除自由基和抗氧化、抗菌、抑制胆碱酯酶等活性成分筛选中应用^[25-28]。2010年版《中国药典》(一部)地黄、熟地黄等标准中已记载了该技术,以2,2-二苯基-1-苦肟基作显色剂,鉴别地黄与熟地黄中具有抗氧化活性的成分毛蕊花糖苷^[9]。1967年,Galvind等提出以2,2-二苯基-1-苦肟基自由基(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, DPPH)为显色剂,定量测定清除自由基活性的思路。DPPH是一种很稳定的以氮为中心的自由基,若被测物能清除它,则提示被测物具有降低羟自由基、烷自由基或过氧自由基等自由基的有效质量浓度,打断脂质过氧化链反应的作用。DPPH本身显紫色,具有清除DPPH自由基能力的物质能使其还原成DPPH-H而呈现黄色^[24]。目前,以DPPH无水乙醇溶液为显色剂的TLC-bioautography筛选植物或中药中的抗氧化性成分国内、外均有报道。Gu LH等^[29]以DPPH作显色剂,通过TLC-bioautography来检测紫苏子中的迷迭香酸、木犀草素、芹菜素和草黄素等4种成分的抗氧化活性。结果显示,迷迭香酸和木犀草素具有明显的DPPH清除效果,HPLC定量分析进一步证实了这4种化合物是紫苏子提取物中清除自由基的主要活性成分。

5 中药制剂质量控制研究的发展趋势

中药发挥药效作用是其组分以多靶点、多层次对机体代谢网络中某些环节作用的综合结果。因此,对中药制剂质量的评价和控制一定要真正反映其“内在”“综合”的质量。然而,基于化学成分的定性定量分析的质量评价模式和方法还不能完全满足中药制剂质量评价的需求,难以准确控制和评价中药制剂的有效性和安全性。因此,建立生物活性的质量控制模式成为中药制剂质量研究的趋势。

近年来,分子生物技术的快速发展为中药制剂质量控制研究提供了新的方法和手段。肖贵南等^[30]提出通过生物活性测定法与现代药物分析技术结合应用,使现有中药质量标准的评价更全面、合理。通过长期深入的研究,相信此方法能在质量控制及中药现代化研究中发挥应有的作用。生物活性筛选/化学在线分析技术是由生命科学与色谱、MS分离鉴定技术交叉形成的一种综合技术,在国内、外已取得了瞩目的进展。吴茜等^[31]在基于整体观的中药药效物质基础的生物活性筛选/化学在线分析研究进展中介绍了生物色谱法、脂质体平衡透析/LC-MS联用法、细胞固相萃取/LC-MS联用法和微透析生物取样/LC-MS联用法的原理及其在中药活性成分筛选和药效物质基础研究中的应用。此外,一些学者还提出了“中药谱效学”研究思路^[32],即以中药指纹图谱为基础,以效应及效应体学为主要内容,应用生物信息学方法,建立中药指纹图谱与中药质量疗效内在关系的研究体系,从而使中药质量控制由完整的“谱”来表征中药整体的“效”,这对推动我国中医药事业现代化、国际化具有十分重要的意义。

6 结语

总之,随着科学技术的不断发展、各种仪器设备的普及与更新,尤其是先进设备的出现与推广,将促使更多先进的检测

手段应用于中药各种法定标准。中药制剂质量控制方法研究的趋势必将走向多学科交叉渗透,从单一的指标发展到多指标综合分析,再到生物活性测定,对中药制剂的质量作出科学的整体评价,以更好地保障民众用药安全、有效。

参考文献

- [1] 张萍,杨燕,鄢丹,等.多指标成分含量测定与指纹图谱分析在中药制备工艺与质量控制中的应用[J].中华中医药杂志,2010,25(1):120.
- [2] 严红.HPLC法同时测定中药多种有效成分含量的应用[J].天津药学,2010,22(1):67.
- [3] 刘静,周晓梅,祝与鸣,等.中药质量控制方法研究进展[J].中国药房,2010,21(3):281.
- [4] 罗文,刘斌,王伟,等.基于降脂宁调脂抗氧化有效部位HPLC指纹图谱的多指标成分定量方法研究[J].北京中医药大学学报,2010,33(6):413.
- [5] 陈永刚,张培影,马传学,等.五参二连颗粒高效液相色谱指纹图谱研究及多成分定量分析[J].中国医药工业杂志,2013,44(6):604.
- [6] 赵超,李会军,陈君,等.中药复杂成分解析与质量评价的研究进展[J].中国药科大学学报,2012,43(3):283.
- [7] 武彦舒,金城,张倩,等.清开灵注射液中10种有效成分的同时测定及其质量相关性研究[J].光谱学与光谱分析,2009,29(11):3112.
- [8] Fan H, Guo J, Chen YY. Simultaneous determination of 15 bioactive compounds in Fufang Zhenzhu Tiaozhi capsules by HPLC-DAD-ELSD[J]. *JCPS*, 2013, 22(1):47.
- [9] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].北京:中国医药科技出版社,2010:28-29、115-117、285-286.
- [10] 乔湜,石蕊,蒋午峻,等.LC-MS/MS技术同时测定滋心阴口服液6种化学成分[J].中成药,2011,33(3):156.
- [11] Thiele B, Stein N, Oldiges M, et al. Direct analysis of underivatized amino acids in plant extracts by LC-MS/MS[J]. *Methods Mol Biol*, 2012, 828:317.
- [12] Xia L, Liu HL, Li P, et al. Rapid and sensitive analysis of multiple bioactive constituents in compound Danshen preparations using LC-ESI-TOF/MS[J]. *J Sep Sci*, 2008, 31(18):3156.
- [13] Zhou Y, Li N, Choi FF, et al. A new approach for simultaneous screening and quantification of toxic pyrrolizidine alkaloids in some potential pyrrolizidine alkaloid-containing plants by using ultra performance liquid chromatography-tandem quadrupole mass spectrometry[J]. *Anal Chim Acta*, 2010, 681(1/2):33.
- [14] Sagratini G, Maggi F, Bilek T, et al. Analysis of the volatile compounds of *Teucrium flavum* L. subsp. *flavum* (Lamiaceae) by headspace solid-phase microextraction coupled to gas chromatography with flame ionisation and mass spectrometric detection[J]. *Nat Prod Res*, 2012, 26(14):1339.
- [15] 柳娜,陈晓青.杜仲中环烯醚萜类化合物的快速制备色谱制备及反相高效液相色谱/核磁共振鉴定[J].精细化工,2006,23(3):261.
- [16] 王智民,高慧敏,付雪涛,等.“一测多评”法中药质量评价模式方法学研究[J].中国中药杂志,2006,31(23):1925.
- [17] 邹桂欣,尤献民,张颖,等.一测多评法在冠脉康胶囊多种成分检测中的应用研究[J].中国中药杂志,2008,33(15):1828.
- [18] 何兵,刘艳,杨世艳,等.HPLC一测多评法同时测定双青咽喉片中10种成分[J].中草药,2013,44(8):974.
- [19] 谢元超,金少鸿.替代对照品法用于丹参和复方丹参片含量测定的研究[J].药物分析杂志,2007,27(4):497.
- [20] 曹恒涛,鲁静,林瑞超,等.重楼药材中4种重楼皂苷含量测定的对照品替代方法研究[J].药物分析杂志,2011,31(9):1641.
- [21] 李莉,赫小燕,刘昌福,等.替代对照品法测定淫羊藿中淫羊藿苷的含量[J].贵阳医学院学报,2011,36(3):246.
- [22] 于慧,魏锋,韩立炜,等.对照品替代法用于贯叶连翘提取物及其制剂中金丝桃素含量测定的研究[J].药物分析杂志,2012,32(9):1529.
- [23] 孙磊,金红宇,逢瑜,等.双标多测法 I - 双标线性校正技术用于色谱峰的定性[J].药物分析杂志,2013,33(8):1424.
- [24] 谷丽华,吴弢,张紫佳,等.应用薄层色谱-生物自显影技术评价乌药等三种中药的抗氧化活性[J].药学学报,2006,41(10):956.
- [25] 曲建博,娄红祥,范培红.TLC生物自显影技术在药物筛选中的应用[J].中草药,2005,36(1):132.
- [26] 德洛,姚喆,冀静,等.藏药三果汤散抗氧化有效成分的薄层色谱-生物自显影及HPLC指纹图谱[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(12):98.
- [27] 赵江林,徐利剑,黄永富,等.TLC-生物自显影-MTT法检测滇重楼内生真菌中抗菌活性成分[J].天然产物研究与开发,2008,20(1):28.
- [28] 宋波,李宗阳,刘亚旻,等.独活抑制乙酰胆碱酯酶和丁酰胆碱酯酶活性研究[J].中南药学,2011,9(10):721.
- [29] Gu LH, Wu T, Zhang ZJ, et al. TLC bioautography-guided isolation of antioxidants from fruit of *Perilla frutescens* var. *acuta*[J]. *LWT-Food Sci Technol*, 2009, 42(1):131.
- [30] 肖贵南,李瑾翡,陈浩桢,等.生物活性测定在中药质量控制中应用的可行性及研究思路[J].中药材,2008,31(4):473.
- [31] 吴茜,毕志明,李萍,等.基于整体观的中药药效物质基础的生物活性筛选/化学在线分析研究新进展[J].中国药科大学学报,2007,38(4):289.
- [32] 冯看,刘华钢,雷欣潮,等.中药谱效学研究现状[J].中国中医药信息杂志,2012,19(6):103.

(收稿日期:2013-07-29 修回日期:2013-11-08)