

生物效应评价在中药质量控制研究中的应用进展

张旭¹, 任晓航², 王慧¹, 周红潮¹, 时坤¹, 李建明¹, 杜锐^{1*}, 宗颖^{1*}

1. 吉林农业大学中药材学院, 吉林 长春 130118

2. 教育部动物生产及产品质量安全重点实验室, 吉林省梅花鹿生产与产品应用研究室, 吉林 长春 130118

摘要: 建立科学的中药质量控制与评价方法是保障中药安全、有效的关键点和难点。现有的中药质量控制与评价方法存在诸多的局限性, 不能实现真正意义上的有效评价。在现有中药质量评价体系的基础上, 结合生物效应评价方法, 能实现中药质量控制及评价的科学性, 为中药的现代化提供必要的技术支持。对生物效应评价法的特点、优势及构建进行了分析与总结, 归纳了具有活血化瘀、宣肺及抑菌、抗炎等生物活性中药的生物效应评价方法, 为建立科学的中药质量控制与评价方法提供借鉴。

关键词: 中药; 质量控制; 质量评价; 生物效应评价; 活血化瘀; 宣肺; 抑菌; 抗炎

中图分类号: R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2018)11-2686-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.11.030

Application progress on biological effect evaluation in quality control and evaluation of Chinese materia medica

ZHANG Xu¹, REN Xiao-hang², WANG Hui¹, ZHOU Hong-chao¹, SHI Kun¹, LI Jian-ming¹, DU Rui¹, ZONG Ying¹

1. School of Chinese Medicine Materials, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China

2. Laboratory of Production and Product Application of Sika Deer of Jinlin Province, Key Laboratory of Animal Production, and Product Quality and Security of Ministry of Education, Changchun 130118, China

Abstract: Establishing a scientific method of quality control and evaluation of Chinese materia medica (CMM) is important and challenging for ensuring the safety and effectiveness of CMM. The existing methods of quality control and evaluation of CMM have many limitations and it can not be effectively evaluated in the true sense. Based on the existing CMM quality system, the rational use of bioeffect evaluation method can realize the scientific quality control and evaluation of CMM and provide the necessary technical support for the modernization of CMM. This article summarizes the bioeffect evaluation methods established in CMM, such as activating blood and removing stasis, ventilating lung, antibacterial activity, and anti-inflammatory activity. This paper provides useful reference for establishing a scientific quality control and evaluation system of CMM.

Key words: Chinese materia medica; quality control; quality evaluation; biological effect evaluation; activating blood and removing stasis; ventilating lung; antibacterial activity; anti-inflammatory activity

中药是我国的国粹, 其在疾病治疗过程中所体现的整体与系统观念, 使其在临床治疗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的微观是其多种成分作用于多个靶点, 进而作用于多靶点形成的复杂网络, 最终产生

协同性、整合性治疗作用。然而, 也正是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仍具有较多的局限性^[1], 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是有效成分的现象, 难以反映中药的安全性和有效性。

收稿日期: 2018-02-16

基金项目: 国家自然科学基金面上项目: 鹿源 BVDV E2 的优化基因与布氏杆菌主要保护性抗原的融合基因在 BCG 中的共表达及 rBCG 免疫原性研究 (31372436); 吉林省科技厅科技支撑计划: 梅花鹿茸质量综合评价体系及污染检测关键技术研究 (20160209006YY); 国家自然科学基金青年基金: 氨基酸衍生化法提高抗 BVDV 活性成分黄芩苷生物利用度的研究 (31502109)

作者简介: 张旭 (1993—), 男, 研究生, 研究方向生药学。Tel: 18844144228 E-mail: 1124528788@qq.com

***通信作者** 宗颖 Tel: 18186869850 E-mail: 253790973@qq.com

杜锐 Tel: 13596408198 E-mail: 104974602@qq.com

绝大部分中药的“质-量-效”三者关系尚未明确^[2-3],在三者之间开展相关性研究已成为中药质控与评价研究的关键点和难点^[4],并制约着中药现代化的发展^[5]。生物效应评价方法以实现质、量、效的有机结合为出发点,以建立微观化学成分和宏观生物体反应的相关性量化指标为主要目标,实现对中药质量的控制和科学评价。

1 现行的质量评价方法

现行的质量评价的方法大体可分为 2 种,一种是间接的定量定性方法,另一种是中药色谱指纹图谱法。

1.1 基于中药化学成分含量的中药质量评价方法

间接的定量定性方法是用各种分析手段,如分光光度法、电化学分析、光化学分析等,测定中药的化学成分及有效成分,并通过其含量多少来判断药材的优劣。但是中药的成分是复杂多样的,这种化学评价方法并不具备专属性,大多数中药的“指标性”成分不一定是其专属性成分,也不一定是其有效成分,而且该方法操作复杂,费时费力^[6]。以现行版《中国药典》中收录的临床常用中药白术为例,其质量控制方法为薄层色谱鉴别和浸出物含量测定^[7],前者只限于定性研究,而后者不具有专属性,2 种质量评价方法均不能准确地体现出其与临床功效的相关性。而现代研究表明白术中主要含有挥发油、内酯、多糖、氨基酸 4 大类化学成分,其中挥发油及内酯类成分是其主要的药效成分^[8-9]。目前多见以内酯类^[10-12]和挥发油类^[13-14]成分作为质控指标进行白术质量评价的报道,但是由于白术挥发油对照品稳定性差、内酯类化合物对照品价格昂贵、HPLC 检测条件耗时等诸多问题,导致基于化学成分建立白术科学的质量控制方法仍存在很大困难。同时,《中国药典》2015 年版中还存在以绿原酸、阿魏酸、没食子酸、金丝桃苷等同一成分作为不同基原、不同功效药材的质控指标的现象^[7,15],而这些指标脱离临床,对其中药质量控制几乎没有实际意义,与中药质控宗旨相悖,有待商榷。

1.2 基于中药指纹图谱的中药质量评价方法

中药指纹图谱法是基于指纹图谱的整体信息进行中药的质量评价,由于此种方法具有整体性和模糊性,在某种程度上符合中药多组分、多靶点的临床治疗特点,较单一成分的指标控制方法更具有全面性和科学性。现已被《中国药典》2010 年版和 2015 年版收录,但是由于该法易受各种因素影响,

如色谱条件、化合物自身的稳定性、多组分的同一条件适用性等,主要用于少数中药材、中药提取物及某些中成药的质量控制中^[16]。从现有相关研究报告和应用实践上看,中药指纹图谱技术虽然在一定的程度上可以表征中药的质量,但是中药指纹图谱的获取基本上都是使用单一的分析方法和检测手段,只能提供有限的化学信息^[17]。例如,《中国药典》2015 年版中收录的中药注射剂的指纹评价色谱方法使用最多的是通过 HPLC 和紫外检测器建立指纹图谱,而中药注射剂所含的化学成分众多,许多药效成分在特定检测波长下没有紫外吸收或者吸收很弱,从而导致指纹图谱无法准确表达这些药效成分的质量信息,如清开灵注射液中的胆酸类成分仅仅在紫外末端有微弱吸收,通过单一的紫外检测器几乎无响应,提示现有的中药指纹图谱技术控制的可能只是在某种特定方法中可以检测到的物质成分群,而并不一定是有效组分群。

为了实现中药质量控制与评价的科学性、安全性和有效性,需要一种操作相对简便、成本低廉、精密度高、重现性好、适用范围广泛、能反映中药临床功效的质量评价方法。面对这种现状,大量的学者开始将目光投入到了生物效应评价法。

2 生物效应评价法的特点与优势

生物效应评价法又称生物效应检测或生物效应鉴定法。它是以药理学为基础,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,通过比较对照品和供试品的生物体或离体器官与组织的特定生物效应,从而控制和评价供试品质量、活性或作用强度^[18-20]。

该法适用于结构复杂或理化方法不能测定其含量或者理化测定不能反映其临床生物活性的药物,在中药质量控制和评价中具有独特的优势,主要表现在具有较强的专属性、直接关切中药有效性与安全性、量效关系确切、简单快速,符合中药物质基础研究现状^[21-23]。生物效应评价法可以很好地判定中药的质量优劣及疗效的安全性、稳定性,它是对现有中药质量控制的补充。其一可以通过谱效研究中中药化学特征指纹图谱与药效间的相关性^[24-26],将图谱与生物效应结合在一起,确定与活性高度关联的活性成分或效应组分,从而实现更加科学、有效的中药质量评价与控制方法;其二可以通过从化学成分、指纹图谱、生物效应评价分别建立评价指标,

将三者并用,形成多维度评价体系。

3 生物效应评价法的构建

3.1 实验对象的选取

细菌、细胞、蛋白质、相关病原微生物及动物等均可作为实验对象。所选取对象应具有来源广,敏感性强、见效快、效果明显等特点。

3.2 检测方法的筛选

所选方法应具有快速、简洁、灵敏度强、操作简单、易见效等特点。如体外细胞实验、体外酶实验、抗氧化实验等。

3.3 检测指标的确立

检测指标重现性要好,能将方法与中药生物效应活性联系在一起,并能较好地与现行的中药质量等级联系紧密。

3.4 生物效应评价法的方法学考察

包括精密度考察、中间精密度考察、可靠性考

察、稳定性考察、重现性考察及线性关系考察。

3.5 评价方法的建立

根据中药的药理作用、功能主治等开展相应的实验,如抗炎、抗菌、抗氧化、活血化瘀等实验,将结果与现行的中药质量等级进行分析,以验证所得结论的准确性,建立基于中药生物活性与质量等级相联系的中药质量评价体系,实现对中药质量优劣的系统评价^[27-30]。

4 生物效应评价法的应用

中药生物效应评价法应与中药的药效相联系,已有一部分对中药生物效应评价法的研究,其中针对的药效有活血化瘀、宣肺平喘、抑菌、抗炎等^[31-32]。目前中药大黄、三棱、麻黄、益母草、枳实、银杏叶等,中药制剂板蓝根、双黄连片、清开灵注射液、益母草胶囊等都有与之相关的研究,见表 1^[33]。

表 1 生物效应评价技术在中药质控中的应用

Table 1 Application of biological effect evaluation techniques in quality control of CMM

生物效应	实验方法	应用中药	实验对象
活血化瘀	大鼠离体动脉条收缩实验、血小板聚集实验、凝血时间、大鼠动脉血栓形成时间	大黄、三棱、水蛭等	动物、细胞
宣肺平喘	气管张力	麻黄等	动物
抑菌	管碟法、生物热动力学法	含小檗碱类的中药、板蓝根、穿心莲等	细菌
抗氧化	ABTs 法、DPPH 法、ORAC 法、FRAP 法	银杏叶、五加叶等	动物、细胞、细菌

4.1 活血化瘀

活血化瘀作为一大类中药的传统功效在现代疾病的治疗过程中利用频度极高且效果显著。活血化瘀类中药可以通过大鼠离体动脉条收缩实验、血小板聚集实验、凝血时间和大鼠动脉血栓形成时间的测定来进行生物效应评价的研究。

宋雨泽等^[34]以拮抗纤维蛋白原作为评价大黄的活血化瘀功效的评价指标,将大黄水提液浸膏用缓冲液稀释,质量浓度从 20~2 mg/mL 等倍稀释,分别取 50 μ L 加入试管,并加入 0.1% 纤维蛋白原 100 μ L,混匀,加入 5 U/mL 凝血酶,立即放入 37 $^{\circ}$ C 水浴,水浴 10 min,观察凝血情况。若无凝血产生,则重复上述实验,并每次增加 50 μ L 的纤维蛋白原,直到连续 2 次出现凝血现象为止。结果显示,熟大黄凝血效果强于生大黄好于大黄炭,表明熟大黄抗纤维蛋白原能力最强,而大黄对纤维蛋白原活性的抑制作用比较接近于其活血化瘀功效^[35]。

血不畅为瘀,血虚、寒凝、气虚、阳虚、损

伤出血、气滞、痰凝均能造成血瘀,而血小板聚集性异常升高是造成血瘀的重要因素^[36-37]。张海珠等^[38]研究比较了不同大黄样品的活血效果,结果显示,掌叶大黄的活血作用高于唐古特大黄和药用大黄;酒大黄的活血作用高于生大黄和大黄炭,并通过化学单体成分进行了验证。建立了基于活血化瘀活性的大黄品质评价方法,同时初步证明大黄中活血化瘀药效物质为大黄酸等蒽醌类衍生物。

大量研究表明三棱^[39]、水蛭^[40-41]具有较强的抗凝血作用。陈广云等^[42]对不同产地的三棱药材进行了抗凝活性分析,采用活化部分凝血活酶时间(APTT)指标研究不同三棱药材的抗凝活性。结果显示,三棱对照药材的对数剂量与 APTT 具有良好的线性关系,并建立了以抗凝活性为指标的三棱品质评价的新方法。

4.2 宣肺平喘

宣肺平喘能调节呼吸中枢,使呼吸运动趋于平

缓。麻黄为宣肺平喘的常用中药,具有发汗散寒、平喘、利尿消肿等功效^[7,43]。评价麻黄质量的方法主要是性状和显微鉴别、指纹图谱测定等,但麻黄化学成分复杂,理化测定不能准确反映其生物活性,若将生物效应评价法引入麻黄质量评价中,可以更好地控制和评价麻黄质量。赵云生等^[44]研究不同产地麻黄的解痉作用。结果显示,麻黄的解痉作用随质量浓度的升高而升高,该方法的建立为宣肺平喘中药麻黄的质量控制和品质评价提供了新的思路和方法。

4.3 抑菌作用

抑菌作用是指抑制微生物生长繁殖的作用,抑制待处理体系中微生物的活性,使之繁殖能力降低或抵制繁殖的过程,通过抑菌实验可以评价药物的抑菌性能。一般选取的实验菌有金黄色葡萄球菌、变形杆菌、大肠杆菌、肠道沙门氏菌等。

鄢丹等^[45]研究黄连、黄柏、关黄柏和三颗对大肠杆菌的抑制作用。进行生物热动力学测定,记录细菌生长过程热功率-时间曲线,通过管碟法测量抑菌圈直径加以验证。结果表明,黄连对大肠杆菌具有良好的抑制作用,可采用具有生物效应谱的生物热动力学法实现对含小檗碱类中药抑菌活性的辨识。

李远等^[46]建立了基于生物热动力学分析板蓝根抑菌效价的方法。王盛民等^[47]通过参照化学药中有效成分不明的鉴别方法,对穿心莲药材和含穿心莲的中成药进行了抑菌活性的质量评价。

4.4 抗氧化作用

科学已证明抗氧化对人体的重要性,癌症、衰老或其他疾病大都与自由基息息相关,研究抗氧化可以有效克服自由基所带来的危害。目前抗氧化的研究方法主要有 2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑磺酸)二铵盐(ABTs)法、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)法^[48]、氧化自由基吸收能力(ORAC)、铁离子还原(FRAP)法等。

银杏叶提取物可以清除氧自由基,起到抗氧化作用,具有改善大脑循环,防治阿尔茨海默病,延缓衰老的功效。杜佩佩^[49]对银杏叶提取物有效成分进行研究,并进行银杏叶提取物及各单体抗氧化能力测定,绘制浓度清除率曲线,最终建立以抗氧化效应为指标的生物效应评价方法,为银杏叶质量评价提供了快速、有效的新方法、新思路。

五加叶中的总酚可以作为五加叶质量控制的指标。郝旭梅等^[50]采用 DPPH 法、ABTS 法及还原法

对无梗五加叶抗氧化活性进行了研究,结果表明无梗五加叶中总酚含量与其抗氧化活性呈正相关,其中还原法体现的抗氧化能力与总酚含量呈显著的量效关系,表明无梗五加叶的抗氧化活性可以作为五加叶的生物评价指标。

4.5 其他生物效应评价

鄢丹等^[51]采用生物热活性检测方法,对不同产地黄连药材样品的生物效应(效应值和效应谱)进行测定。结果证明生物效应具有较强的产地专属性(道地性)和指纹鉴定意义,可作为黄连品质评价的参考,为生物热动力学方法用于中药生物效应评价提供了依据。罗容^[52]采用 HPLC 测定枳实调血脂的药效组分,并进行与调血脂相关的生物效应指标分析。结果表明,调血脂药效组分可以作为枳实的质量评价指标之一,并建立了抗氧化指标法及细胞间黏附分子表达法。杨明华等^[53-55]针对益母草主要药理作用之一收缩子宫作用,进行了生物效应评价。结果表明,益母草和缩宫素(阳性对照)各自的回归线基本平行,证明利用益母草的收缩子宫效应对益母草进行生物效应评价是可行的。之后对鲜益母草胶囊和益母草流浸膏进行生物效应测定,同时进行临床疗效观察,比较效价与疗效的相关性,更加验证了上述结论的可靠性。

生物效应评价是一种方便、可靠的评价方法,合理地运用这种方法能够为中药质量评价开辟出一条新途径。目前,采用生物效应评价方法来评价中药质量方面的实例还不是很多,有待深入的研究,更好地将生物效应评价法应用到中药质量控制中。

5 结语与展望

中药的化学成分十分复杂,仍有很多临床常用中药的有效化学成分尚不明确,如麻黄根、猫爪草、甜瓜子、鹿茸等,虽被《中国药典》收录,但在其项目下只列出了性状特征、显微鉴别、总灰分和水分的检查指标,而这些检测指标并不能完全实现中药质量控制的有效性与科学性。同时,由于中药发挥临床作用的多靶点性及众多成分在发挥治疗作用的协同相关性,采用单一的化学成分进行质量控制与评价是不科学和不全面的。将生物效价检测方法引入中药质量控制和评价体系,不仅可以鉴定品种和质量,而且可以评价药效,甚至研究毒性作用,尤其在无法对中药未知复杂成分进行质控时,更能凸显其优越性。

生物效应评价法与指标成分定量法和指纹图谱

法并不是替代与被替代的关系,而是相辅相成的关系,中药生物效应法作为一种新的质量控制和评价方法,可以完善和补充现有的质量评价方法,而通过理化分析技术建立的检测方法又为生物效应评价法提供了基础数据支撑。多种评价方法有效的结合,对实现中药质量控制与评价的科学性大有裨益。针对对于不同中药的功效分类,应选择能够准确反映其临床治疗作用的生物活性测定方法,展开系统、深入的研究,最终形成使用对象明确、检测手段先进、可操作性强的科学评价方法。

参考文献

- [1] 白雁, 龚海燕, 王星. 近红外光谱技术在中药质量分析中的应用 [J]. 河南大学学报: 医学版, 2011, 30(2): 79-81.
- [2] 胡彦君, 王雅琪, 王勇平, 等. 中药药效组分群筛选、配伍思路及质控模式探讨 [J]. 中草药, 2016, 47(17): 2965-2971.
- [3] 孙婷婷, 马晓慧, 李欣欣, 等. 中药生物效应研究现状及开发思路探讨 [J]. 中草药, 2017, 48(9): 1906-1911.
- [4] 刘占京. 论中药质量控制与评价模式的创新与发展 [J]. 中医临床研究, 2014, 32(1): 1377-1381.
- [5] 曲毅, 王伽伯, 李会芳, 等. 蒽醌类中药的致泻强度与化学含量相关性研究 [J]. 中国中药杂志, 2008, 33(7): 806-808.
- [6] 郭玉东, 王志斌, 周建平, 等. 中药生物活性测定法中标准品建立的研究 [J]. 药物分析杂志, 2013, 33(4): 706-708.
- [7] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [8] 杨娥, 钟艳梅, 冯毅凡. 白术化学成分和药理作用的研究进展 [J]. 广东药学院学报, 2012, 28(2): 218-221.
- [9] 李伟. 白术的有效物质及质量研究 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2001.
- [10] 李伟, 文红梅, 张爱华, 等. 白术质量标准研究 I—HPLC 法测定 2 种白术内酯的含量 [J]. 药物分析杂志, 2001, 4(3): 170-172.
- [11] 邝俊维, 卿萍, 周子虬, 等. HPLC 法同时测定白术中白术内酯 I, II, III 的含量 [J]. 湖南师范大学学报: 自然科学版, 2017, 40(6): 55-60.
- [12] 闫晗, 孙媛媛, 于治国, 等. HPLC 法同时测定白术药材中白术内酯 I 等 4 种有效成分的含量 [J]. 沈阳药科大学学报, 2015, 32(9): 699-702.
- [13] 李滢, 陶海燕, 杨秀伟. 生白术和炒白术挥发油成分的 GC-MS 分析 [J]. 药物分析杂志, 2013, 33(7): 1210-1217.
- [14] 陈鸿平, 潘欢欢, 张鑫, 等. GC-MS 结合 AMDIS 和保留指数研究不同炮制火候麸炒白术挥发性成分动态变化规律 [J]. 中国中药杂志, 2016, 41(14): 2646-2651.
- [15] 王卫明, 彭慧, 张贵君. 以阿魏酸作为多种中药质量评价指标与《中国药典》商榷 [A] // 中国商品学会全国中药商品学术大会论文集 [C]. 哈尔滨: 中国商品学会, 2017.
- [16] 李会芳, 王伽伯, 孙琴, 等. 中药指纹图谱技术在中国药典 2015 年版一部中的应用 [J]. 中国现代应用药学, 2016, 33(5): 611-614.
- [17] 华小黎, 王新桂. 指纹图谱与谱-效关联技术在中药质量评价中的应用与研究 [J]. 内蒙古中医药, 2014, 33(30): 127-128.
- [18] 肖小河, 王伽伯, 鄢丹. 生物评价在中药质量标准化中的应用 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2014, 16(3): 514-518.
- [19] Mire-Sluis A R. Setting specifications for potency assays-basic principles [J]. *Dev Biol*, 2002, 107: 107-115.
- [20] 郑敏霞, 沈洁, 丰素娟. 生物效应检测研究进展 [J]. 中国现代应用药学, 2011, 28(6): 511-514.
- [21] 王伽伯, 李会芳, 肖小河, 等. 生物检定方法控制中药质量的思考 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2007, 9(6): 36-39.
- [22] Zhao Z, Hu Y, Liang Z, et al. Authentication is fundamental for standardization of Chinese medicines [J]. *Planta Med*, 2006, 72(10): 865-873.
- [23] Wu Y, Gao W, Xiao X, et al. Calorimetric investigation of the effect of hydroxyanthraquinones in *Rheum officinale*, *Baill on Staphylococcus aureus* growth [J]. *Thermochim Acta*, 2005, 429(2): 167-170.
- [24] 林梦雅, 张玉萍, 李雅, 等. 基于灰色关联度分析的丹参提取物抗炎作用谱效关系研究 [J]. 中草药, 2017, 48(16): 3447-3452.
- [25] 李寒冰, 吴宿慧, 牛明, 等. 基于化学指纹图谱和抗血小板聚集效价的丹参质量评价 [J]. 分析化学研究报告, 2017, 45(5): 693-699.
- [26] 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.
- [27] 冯五文, 李瑞煜, 董芹, 等. 红花注射液生物活性测定方法的建立与质量评价 [J]. 中药与临床, 2016, 7(3): 39-41.
- [28] 芮菁, 张月玲, 李元静, 等. 灯盏细辛注射液生物活性限度测定方法适用性研究 [J]. 中国药品标准, 2010, 11(2): 95-99.
- [29] 刘倩, 陈晨, 张媛, 等. 丹参注射液生物活性限度测定方法适用性研究 [J]. 中国药事, 2013, 27(9): 938-941.
- [30] Xu Z, Ji A, Zhang X, et al. Biosynthesis and regulation of active compounds in medicinal model plant *Salvia*

- multiorrhiza* [J]. *Chin Herb Med*, 2016, 8(1): 3-11.
- [31] Luo J, Yan D, Song J, *et al.* A strategy for trade monitoring and substitution of the organs of threatened animals [J]. *Sci Rep*, 2013, 3(10): 3108-3111.
- [32] Qin Y, Wang J B, Zhao Y L, *et al.* Establishment of a bioassay for the toxicity evaluation and quality control of *Aconitum* herbs [J]. *J Hazardous Materials*, 2012, 199/200(2): 350.
- [33] 戴 领. 基于生物效价—多成分溶出度整合的复方鳖甲软肝片质量评价技术研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2014.
- [34] 宋雨泽, 曾滨阳, 任 历, 等. 生物效价法测定大黄炮制品活血化癥功效 [J]. *中成药*, 2014, 36(9): 1921-1924.
- [35] 翟华强. 中医药学概论 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2013.
- [36] 姚艺新, 华 芳, 洪远林, 等. 川芎药材、饮片及其中成药抗血小板聚集活性的生物检定方法学研究 [J]. *中草药*, 2017, 48(11): 2249-2254.
- [37] 韩 冰, 毛 鑫, 韩淑娴, 等. 基于抑制血小板聚集活性检测的血栓通胶囊质量控制研究 [J]. *中国中药杂志*, 2015, 40(23): 4597-4602.
- [38] 张海珠, 谭 鹏, 刘振杰, 等. 基于活血生物效价和化学指纹图谱的大黄品质评价研究 [J]. *药学学报*, 2017, 52(3): 436-442.
- [39] 邓英君. 三棱不同提取物镇痛及抗凝作用研究 [J]. *时珍国医国药*, 1999, 10(12): 882-883.
- [40] 金家金, 王志斌, 苏 斌, 等. 水蛭体外抗凝血实验研究及其生物活性测定方法反应体系的筛选 [J]. *中国药理学杂志*, 2014, 49(22): 1997-2001.
- [41] 宋程程. 水蛭生物活性测定质量控制方法的研究—APTT法 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2014.
- [42] 陈广云, 吴启南, 王新胜, 等. 生物效价测定法用于活血化癥中药三棱品质评价的研究 [J]. *中国中药杂志*, 2012, 37(19): 2913-2916.
- [43] 曹 喆, 毛福英, 刘 秀, 等. 基于发汗生物效价的麻黄质量评价研究 [J]. *中国药房*, 2016, 27(13): 1759-1763.
- [44] 赵云生, 谢丽霞, 毛福英, 等. 基于平喘生物效价的麻黄品质评价研究 [J]. *中草药*, 2015, 46(24): 3695-3709.
- [45] 鄢 丹, 肖小河. 基于道地药材和生物测定的中药质量控制模式与方法研究——黄连质量生物测定 [J]. *药学报*, 2011, 46(5): 568-572.
- [46] 李 远, 郭 辉, 李海滨, 等. 基于生物热动力学分析的板蓝根抑菌效价检测方法的建立 [J]. *世界中西医结合杂志*, 2012, 7(1): 24-27.
- [47] 王盛民, 张 瑛, 赵子剑, 等. 清热解毒类中药的生物鉴定 (III)——穿心莲的生物鉴定 [J]. *实用临床医药杂志*, 2006, 10(5): 27-29.
- [48] 楚笑辉, 王伽伯, 周灿平, 等. 不同商品等级枸杞子的抗氧化活性比较及其生物效价检测 [J]. *中国新药杂志*, 2011, 20(7): 599-603.
- [49] 杜佩佩. 生物活性测定法在银杏叶提取物缓控释制剂评价中的应用研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2013.
- [50] 郝旭梅, 鲍建才, 杨智慧, 等. 无梗五加叶体外抗氧化活性研究 [J]. *包装与食品机械*, 2011, 29(4): 1-5.
- [51] 鄢 丹, 方艺霖, 肖小河, 等. 基于生物热动力表达的不同产地黄连的生物效应评价研究 [A] // 中华中医药学会中药鉴定学术会议论文集 [C]. 北京: 中华中医药学会, 2008.
- [52] 罗 容. 枳实降血脂药效组分生物效应评价方法研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2007.
- [53] 杨明华, 杨苏蓓, 金祖汉, 等. 益母草药材生物检定方法的研究 (I)——动物标准子宫模型建立和测定环境因素筛选 [J]. *中药材*, 2002, 25(5): 333-336.
- [54] 杨明华, 杨苏蓓, 金祖汉, 等. 益母草药材生物检定方法的研究 (II)——缩宫素、益母草量效关系和检定适用效应模式的建立 [J]. *中药材*, 2002, 25(6): 409-411.
- [55] 杨明华, 王溶溶. 益母草药材生物检定方法的研究 (III)——鲜益母草胶囊和益母草流浸膏生物效价与临床疗效的相关性观察 [J]. *中国现代应用药学*, 2004, 21(2): 124-126.