

基于抗病毒活性检测的板蓝根质量生物评价方法及优化研究

李寒冰¹, 鄢丹^{2*}, 武彦舒³, 肖小河^{2*}, 唐慧英², 张少峰²

1. 河南中医学院药学院 临床药理研究室, 河南 郑州 450008

2. 解放军中药研究所 解放军302医院, 北京 100039

3. 榆林市第二医院 药剂科, 陕西 榆林 719000

摘要:目的 建立基于抗病毒活性检测的板蓝根质量生物评价方法并进行优化研究。方法 分别采用红细胞凝集活性检测法和流感病毒神经氨酸酶(NA)活性检测法, 建立板蓝根抗病毒活性生物测定方法, 并对所建立的两种方法进行对比分析与优选。结果 两种方法可用于对不同样品进行活性检测和区分, 结果重复性较好(RSD=7.0%、5.78%); Pearson相关性分析表明板蓝根凝集活性与NA抑制活性之间具有显著相关性($P<0.01$, $r=-0.81$), 进一步印证了凝集活性测定法与抗病毒药理作用的关联性; 在安全性、经济性、简便性和实用性等方面凝集活性检测法优势明显, 可作为板蓝根质量生物测定的优选方法。结论 本研究优选凝集活性检测法用于板蓝根质量的生物测定, 与抗流感病毒药效相关, 提高了其现行质量控制水平, 并为中药质量生物测定方法的研究提供参考。

关键词: 板蓝根; 质量控制; 生物评价; 抗病毒; 活性检测

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2011)08-1560-06

Bio-evaluation methods and optimization for *Isatidis Radix* quality control based on antiviral activity detection

LI Han-bing¹, YAN Dan², WU Yan-shu³, XIAO Xiao-he², TANG Hui-ying², ZHANG Shao-feng²

1. Department of Clinic Pharmacology, College of Pharmacy, Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China

2. Institute of Chinese Medicine, 302 Hospital of People's Liberation Army, Beijing 100039, China

3. Department of Pharmacy, The Second Hospital of Yulin, Yulin 719000, China

Abstract: Objective To establish and optimize a bio-evaluation method based on antiviral activity detection for *Isatidis Radix* quality control. **Methods** According to the fact that antiviral activity is the main pharmacological effect of *Isatidis Radix*, the means of hemagglutination activity detection and the means of influenza virus neuraminidase (NA) activity detection were used for establishing two antiviral activity detection methods for the bio-evaluation of *Isatidis Radix*. In addition, contrastive analyzation and optimization of the two methods were carried out in this study. **Results** The two methods could be used to evaluate and distinct the biological activities of different batches of *Isatidis Radix* samples and both methods have good repeatabilities (RSD = 7.0% and 5.78%). The result shows a good correlation ($P<0.01$, $r = -0.81$) between the neuraminidase inhibitory activity and the hemagglutination activity of *Isatidis Radix*. The relationship between agglutination activity and antiviral effect of *Isatidis Radix* was further verified. Agglutination detection method has the superiority to its safety, inexpensiveness, easiness, and practicality. **Conclusion** This novel method could reflect the pharmacodynamic activity of *Isatidis Radix* on anti-influenza virus and be helpful for the quality control of *Isatidis Radix*. This study provides reference for the bio-evaluation on the quality control of Chinese materia medica.

Key words: *Isatidis Radix*; quality control; bio-evaluation; antiviral; activity detection

收稿日期: 2010-08-25

基金项目: 国家杰出青年科学基金项目(30625042); 国家重大新药创制专项课题资助项目(2009ZX09502-022); 河南中医学院博士科研基金(BSJJ2009-09)

作者简介: 李寒冰(1973—), 男, 河南清丰人, 讲师, 博士, 主要研究方向为中药品质评价。Tel: (0371)65962746 E-mail: lhb8899@163.com

*通讯作者 肖小河 Tel: (010)66933325 E-mail: pharmacy302@126.com

鄢丹 E-mail: yd277@126.com

板蓝根为常用中药,来源于十字花科植物菘蓝 *Isatis indigotica* Fort. 的根,用于治疗流感等病毒感染性疾病,临床疗效确切。《中国药典》2010年版分别以精氨酸和告依春为定性、定量指标对其进行质量控制^[1],但板蓝根化学成分复杂,药效物质不明确,精氨酸等的检识对其质量控制的意义不明显^[2-3]。

当前,建立中药质量生物控制模式已成为中药质量研究的发展方向之一^[4-5],优选和建立与药效相关且符合药品检定要求的中药生物活性测定方法是实现中药质量生物控制的前提和关键^[6]。本研究从板蓝根主要功效——抗病毒的角度入手探索研究了生物测定方法^[7-8]。本课题组已报道了板蓝根体外抑制流感病毒神经氨酸酶(neuraminidase, NA)的生物活性,据此建立了板蓝根抗病毒生物效价检测方法^[9-10],该方法具有灵敏度高、重复性好、关联药效等特点。但该方法用于中药生物检定,涉及到病毒的制备、保存和使用,对实验条件要求较高,还有待于进一步完善和改进。

由鸡胚法等药理实验已证实,板蓝根抗流感病毒作用强弱与其红细胞凝集活性呈正相关^[8,11]。红细胞凝集活性测定是在适宜条件下,凝集素样成分与红细胞结合产生凝集反应,通过比较反应终点,以反映其凝集活性的强弱,常常作为研究药物抗病毒作用的试验之一^[12-13]。本研究按照药品生物检定的基本要求,建立了基于红细胞凝集活性测定的板蓝根质量生物测定方法,由板蓝根的凝集活性大小反映其抗病毒活性的强弱,进而从生物活性的角度评价板蓝根药材的品质;依据中药生物检测方法选取应遵循的原则^[14],将凝集活性检测法与NA活性检测法进行了对比和关联分析,以优选实用性较强的方法。

1 仪器与材料

1.1 药材及试剂

板蓝根药材部分采自安徽阜阳、河北玉田等板蓝根 GAP 种植基地以及甘肃、河南、黑龙江、内蒙古、陕西等地散种户,部分购自亳州药材市场。经解放军中药研究所肖小河研究员鉴定均为十字花科植物菘蓝 *Isatis indigotica* Fort. 的干燥根。

4-甲基伞形酮- α -N-乙酰基神经氨酸苷钠盐(MUNANA, Sigma 公司), NP-40 (Fluka 公司), DMEM (Gibco 公司), CaCl₂ (北京化工厂), 植物血球凝集素 (PHA-P, Sigma 公司)。其余试剂均为分析纯。

1.2 主要仪器

FLUOstar OPTIMA 荧光酶标检测仪(德国 BMG 公司), II 型生物安全柜(美国 Nuair 公司); MCO-15AC 恒温 CO₂ 细胞培养箱(日本 Sanyo 公司), CK40-F200 倒置显微镜(日本 Olympus 公司), 96 孔 V 型微量板(姜堰市新康医疗器械有限公司), 96 孔荧光酶标板(美国 Costar 公司)。

1.3 细胞系、病毒株及 NA

1%红细胞:兔混合红细胞,离心压积,用 PBS 制成 1%红细胞混悬液,4 °C 保存备用。

MDCK 细胞:第 18 代,军事医学科学院微生物传染病研究所冻存。

流感病毒:A/PR8/34,军事医学科学院微生物传染病研究所保存。

NA 的制备:参照文献方法^[15],进行细胞传代培养并接种病毒,待细胞完全被感染病变后取滤除细胞的病毒液,加 NP-40 灭活,0.22 μ m 滤器滤过后分装,作为 NA 的原酶液,-70 °C 冻存备用。

2 方法

2.1 板蓝根红细胞凝集活性测定方法

2.1.1 供试品溶液的制备 板蓝根药材净选,干燥至水份 \leq 6%,打粉(过 3 号筛),密封保存。用时称取本品粉末 5 g,精密称定,置圆底烧瓶中,精密加入 95%乙醇 50 mL,称定质量,充分搅拌,浸泡 30 min,加热回流 40 min,放冷,再称定质量,用 95%乙醇补足减失的质量,摇匀,滤过,精密量取续滤液 25 mL,置水浴上蒸干,残渣加 5 mL PBS 溶解,6 000 r/min 离心 5 min,取上清液滤过除菌即得。阳性对照药 PHA-P 直接用 PBS 溶解,制成初质量浓度 1 mg/mL 的溶液。

2.1.2 测定方法 在“V”形、底角呈 90° 的 96 孔微量板上,用 PBS 将供试品溶液做 2 倍系列稀释,每个供试品溶液做两排,每孔加入 50 μ L,每排最后 1 孔加入 50 μ L PBS 作为阴性对照。再向每孔加入 1%红细胞混悬液 50 μ L,轻拍微量板 30 s 混匀,4 °C 静置 2 h 观测结果。同时设 PHA-P 为阳性对照。

2.1.3 结果判定 将微量板置于白色背景之上,将供试品孔与阴性对照孔比较,红细胞沉于底部成一规则的圆点而孔壁未粘有红细胞判为阴性(-);孔壁上均匀附着一层红细胞,或红细胞未全部沉于底部,部分附着于孔壁上均判为阳性(+).

以供试品出现阳性的最高稀释倍数为其效价。如同批供试品溶液前后排结果相差在 1 个以上稀释

度时应重试；相差 1 个稀释度时，则以两排结果中出现阳性的较低稀释度为该供试品的效价。例如：某样品以倍比形式稀释，出现阳性结果的稀释倍数为 $1:2^n$ ，则该样品的红细胞凝集效价为 n 。

2.2 板蓝根抑制 NA 活性测定方法

2.2.1 样品制备 方法同“2.1.1”项。

2.2.2 反应条件与步骤 参考已广泛应用的 NA 活性测定方法^[15]，为便于对比，将反应设置在 96 孔荧光酶标板中进行。首先加入 25 μL 稀释的原酶液和 25 μL 样品溶液，室温下作用 30 min 后加 50 μL MUNANA，37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 60 min 后加入 200 μL 终止液（0.1 mol/L 甘氨酸，以 25% 乙醇配制，NaOH 调至 pH 10.7）终止反应，测定荧光强度值，设置激发波长 355 nm，发射波长 460 nm，测定温度 37 $^{\circ}\text{C}$ 。为便于活性比较，同时设样品测试组（NA+样品+MUNANA）、背景对照组（样品+MUNANA，缓冲液补足至相同体积）、酶活性对照组（NA+MUNANA，反应终止后加入同体积样品溶液）。

2.3 方法的验证、比较分析和优选

2.3.1 方法验证 依据《中国药典》2010 年版一部附录“中药生物活性测定指导原则”对测定方法的影响因素、精密度、适用性等进行验证。

2.3.2 方法相关分析 两种检测方法都旨在表征板蓝根的抗病毒活性大小，有必要对其进行关联分析，使其可行性得到相互印证。在本研究中以红细胞凝集效价为因变量，NA 抑制活性为自变量，以 20 份药材测定结果为统计分析样品，采用 Pearson 法考察两种方法检测结果的相关性。

2.3.3 方法的对比与优选 用于中药质量评价和控制的生物测定方法不同于常规的药理活性检测，除能够准确反映药物的生物活性外，还应符合药品质量检验的要求。本课题组依据药品检验工作对生物样品检定的特殊性要求、药理活性测定试验和中药的自身特点，制订了用于中药质量生物测定方法的选择原则依据，即“相关性、重复性、灵敏性、量化、快捷性、通用性、经济性、安全性”^[14]。

2.4 数据处理

2.4.1 板蓝根对 NA 抑制活性的反应抑制率 (I) 按以下公式计算：

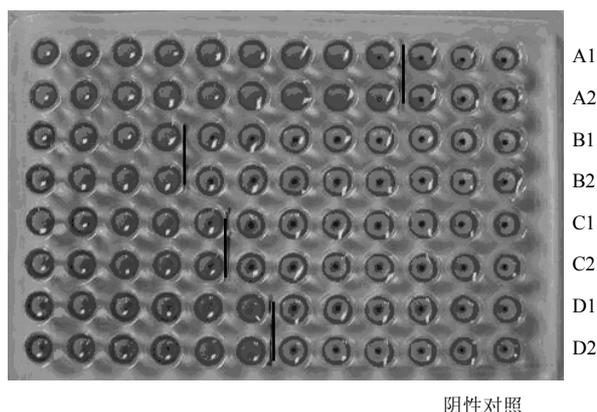
$$I = \frac{\text{酶活性对照荧光} - \text{样品作用后荧光}}{\text{酶活性对照荧光} - \text{背景荧光}}$$

2.4.2 相关性统计方法 相关性分析采用 SAS 8.12 统计软件计算。

3 结果与讨论

3.1 红细胞凝集活性检测方法的研究

3.1.1 板蓝根对红细胞凝集活性的影响 按“2.1”项下方法，取板蓝根样品 3 批及阳性对照药 PHA-P 制成供试品溶液，进行红细胞凝集活性检测，并于反应前后肉眼观察。结果见图 1。图 1 中黑色短线条为可观察到的阳性反应界线，可以看出板蓝根与阳性对照药 PHA-P 对红细胞均有明显的凝集活性，依据“2.1.3”项下采用的效价标准，阳性对照药及样品 B、C、D 凝集活性效价值依次为：8、3、4、5。



A-阳性对照药 PHA-P B~D-3 个板蓝根样品 1、2-平行复孔
A-PHA-P B~D-three samples of *Isatidis Radix* 1, 2-parallel cells

图 1 板蓝根及 PHA-P 对红细胞凝集活性的影响

Fig. 1 Effect of *Isatidis Radix* and PHA-P on hemagglutination activities

3.1.2 对红细胞凝集活性实验条件的考察

血源专属性考察：按“2.1”项下方法检测同一批板蓝根样品（产地为甘肃陇西）对不同动物来源的红细胞凝集活性的差异性，结果见表 1。可见，来源于家兔、大鼠和小鼠的红细胞与板蓝根凝集活性成分结合后，在上述实验条件下能产生凝集反应，有明显的凝集反应终点，且家兔红细胞的凝集反应更为灵敏。结果表明，板蓝根凝集活性成分的凝集反应有较强的血源专属性。故选择家兔耳动脉取血，经 PBS 洗涤等处理后的红细胞，作为本品生物活性测定用细胞。

观测条件考察：观测条件对凝集反应结果的判定和检测灵敏度的高低影响较大，本研究重点对凝集反应的环境温度和时间进行了考察。

(1) 环境温度：取板蓝根粉末（产地甘肃陇西）按“2.1”项下方法检测，分别于环境温度 4、25、37 $^{\circ}\text{C}$ 下观测。结果见表 2。结果显示供试品溶液与

表1 血源专属性考察结果

Table 1 Blood-specificity investigation

红细胞来源	加样量/g	观察结果	阳性反应的 最高稀释倍数
家兔	5.01	+	1:2 ⁹
大鼠	5.01	+	1:2 ²
小鼠	5.01	+	1:2 ³
绵羊	5.01	-	-
鸡	5.01	-	-
豚鼠	5.01	-	-

“-”表示未出现阳性结果;“+”表示出现阳性结果

“-” indicates no positive response occurred

“+” indicates positive response occurred

表2 环境温度考察结果

Table 2 Observation of environmental temperature

反应温度/℃	加样量/g	观察结果	阳性反应的 最高稀释倍数
4	5.08	+	1:2 ⁹
25	5.08	+	1:2 ⁵
37	5.08	+	1:2 ⁶

红细胞发生凝集反应在4℃时较为敏感,有利于提高检测灵敏度。

(2) 观测时间:方法同上,分别对板蓝根红细胞凝集反应观测0.5、1、1.5、2h,以确定最佳观测时间。结果见表3。供试品溶液与红细胞发生凝集反应以1.5~2h为最佳观测时间,为使反应完全,暂定观测时间2h。

表3 观测时间考察结果

Table 3 Observation of investigation period

反应时间/h	加样量/g	观察结果	阳性反应的 最高稀释倍数
0.5	4.89	-	-
1.0	4.89	-	-
1.5	4.89	+	1:2 ⁹
2.0	4.89	+	1:2 ⁹

3.1.3 方法学验证

重复性试验:取同批板蓝根粉末(产地甘肃陇西)5g,精密称定,共6份,按“2.1”项下平行操作,依法测定,结果分别为9、9、9、8、9、10,RSD为7.0%。同批6份样品实测结果表明,所建立方法重复性良好。

中间精密度:为考察实验室内部条件改变对测定结果的影响,本研究中分别对同实验室改变人员和不同工作日进行了考察。

(1) 不同实验人员:对6名实验人员进行编号,

分别称取同批板蓝根粉末各5g,精密称定,共6份,按“2.1”项下操作,依法测定,结果分别为9、10、10、9、8、8,RSD为9.9%。说明不同实验人员之间的中间精密度良好。

(2) 不同工作日(日间精密度):按上法精密称定样品6份,于第1、2、3、4、5、6天分别按“2.1”项下操作,依法测定。结果分别为9、10、8、8、9、10,RSD为9.9%。说明所建方法日间精密度良好。

重现性:在5个不同实验室,分别依上法测定。结果分别为9、9、8、9、10,RSD为7.9%。可以看出多个实验室对同一样品测定结果变异较小,说明所建方法重现性良好。

3.1.4 方法适用性考察 经上述“3.1.2”和“3.1.3”项下研究工作,建立了基于凝集活性检测的板蓝根质量生物测定方法。按所建方法对20批板蓝根药材质量进行了生物测定,结果见表4。不同批次板蓝根样品对红细胞的凝集活性的测定结果差异较大(RSD=46.6%);其中样品Blg01~10是采自安徽阜阳GAP基地同一地块的10批样品,其活性测定结果的差异较小(RSD=14.3%)。测定结果提示,所建立的方法有较好的适用性,可对不同批次的板蓝根药材进行区分。

3.2 板蓝根抑制NA活性检测方法的研究

通过前期基础研究已建立了测定方法^[9-10]。

3.3 板蓝根红细胞凝集活性测定与抑制NA活性测定的关联分析与方法优选

3.3.1 关联分析 分别按照“2.1”和“2.2”项下方法对20批板蓝根药材进行了红细胞凝集活性检测和抑制流感病毒NA活性的检测,结果见表4。

上述结果以红细胞凝集效价为因变量(x)、抑制NA活性(IC₅₀)为自变量(y),按照“2.4.2”项下统计方法进行相关性分析,结果见表5。

以上结果可以看出,板蓝根的红细胞凝集效价与其对流感病毒NA的抑制活性之间具有显著的相关性(P<0.01,r=-0.81),两种测定方法结果总体趋势一致(IC₅₀值越大,生物活性越小,相关系数r为负值)。此结果佐证了板蓝根红细胞凝集活性与其抗病毒活性的相关性以及方法学的可靠性。

3.3.2 方法的比较与优选 依据中药生物检测方法选取应遵循的原则^[14],结合各方法的自身特点设定了相应的对比项目及评判标准^[16-17],将凝集活性检测法与NA活性检测法进行了对比,结果见表6。

对表中的分析比较可见:(1)NA活性检测法

表 4 样品红细胞凝集活性和 NA 抑制活性 (IC₅₀) 检测结果

Table 4 Determination of hemagglutination activity and NA inhibitory activity (IC₅₀)

样品	来源	红细胞凝集效价	抑制 NA 活性 (IC ₅₀)/(mg·mL ⁻¹)	样品	来源	红细胞凝集效价	抑制 NA 活性 (IC ₅₀)/(mg·mL ⁻¹)
Blg01	安徽阜阳 GAP 基地	8	0.84	Blg11	陕西蓝田	4	1.10
Blg02	安徽阜阳 GAP 基地	7	1.06	Blg12	河南新乡	5	1.08
Blg03	安徽阜阳 GAP 基地	9	0.67	Blg13	河北玉田 GAP 基地	11	0.73
Blg04	安徽阜阳 GAP 基地	9	0.82	Blg14	内蒙古赤峰	4	0.95
Blg05	安徽阜阳 GAP 基地	10	0.82	Blg15	甘肃陇西	10	0.65
Blg06	安徽阜阳 GAP 基地	11	0.30	Blg16	安徽亳州药材市场	2	1.12
Blg07	安徽阜阳 GAP 基地	8	1.06	Blg17	安徽亳州药材市场	3	1.11
Blg08	安徽阜阳 GAP 基地	10	0.57	Blg18	安徽亳州药材市场	2	1.13
Blg09	安徽阜阳 GAP 基地	9	1.09	Blg19	黑龙江大庆	3	1.11
Blg10	安徽阜阳 GAP 基地	11	0.45	Blg20	黑龙江佳木斯	4	1.11

表 5 相关性分析

Table 5 Correlation analysis of samples

变量	样本数	平均值	标准差	最小值	最大值
x	20	7.00	3.26	2.00	11.00
y	20	0.89	0.25	0.30	1.13
r			-0.81**		

**P<0.01

表 6 两种生物活性检测法的比较结果

Table 6 Comparison of two bioassay methods

	凝集活性测定法	抑制 NA 活性测定法
相关性	+++	++++
定量化	++	+++
特异性	+++	++
重复性	++++	+++
敏感性	+++	+++
快捷性	++++	+-
经济性	++++	+++
安全性	++++	+-

与相关要求符合程度分为 5 个水平, 分别以++++、+++、++、+-、-表示
++++, +++, ++, +-, and - conform to five levels of request degree

测定板蓝根药材抗流感病毒效价, 优点是与抗病毒活性直接相关, 具有方法稳定、重复性好、高通量等特点, 适合大批样品的测定; 缺点是实验成本较高, 实验中要进行流感病毒的培养, 对实验室的安全、技术等条件要求高, 作为中药质量生物测定方法尚有待进一步优化。(2) 红细胞凝集活性测定法用于中药抗病毒活性的测定可以与药效相关联, 同时方法操作简单, 所需仪器设备常规, 成本低廉,

无毒害废弃物排放; 方法学验证结果表明重现性、耐受性均较好; 该方法属于生物活性的限值测定, 可以做到效价值的半定量; 故本研究中作为板蓝根抗病毒效价检测的优选方法。

4 讨论

抗病毒是板蓝根的主要药效作用, 临床试验及鸡胚法等药理实验已证实其抗流感病毒作用强弱与红细胞凝集活性呈正相关^[8,11], 本研究亦证明板蓝根提取物具有明显的红细胞凝集活性, 通过与流感病毒 NA 抑制活性测定结果关联分析, 进一步印证了该方法的药理相关性。据此, 本研究建立了基于凝集活性检测的板蓝根抗病毒效价限值测定方法, 用于对板蓝根进行药效评价和质量控制。

板蓝根成分复杂, 药效物质尚不十分明确, 而本实验所建立的凝集活性测定方法具有药效相关性, 常规的性状与理化鉴别有助于判别药材的“真伪”, 生物测定法则重在司控其“优劣”, 两种方法相辅相成, 共同用于板蓝根质量控制。因此生物测定法的应用, 进一步丰富了中药质量标准研究的内涵, 是对药效物质不明确或尚无合适化学定量测定方法的中药质量控制方法的有效补充和提高, 为中药质量控制实现“量而又准、关联药效、可控可评”^[18]的愿景提供新的视角、思路与方法。

参考文献

[1] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
 [2] 魏 丽, 李 远, 李寒冰, 等. 基于抗菌效价检测的板蓝根药材品质评价方法的初步研究 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2008, 10(2): 33-36.
 [3] 王 瑞, 杨海英, 杨琪伟, 等. 板蓝根的质量标准研究

- [J]. 中草药, 2010, 41(3): 478-480.
- [4] 肖小河, 肖培根, 王永炎. 中药科学研究的几个关键问题 [J]. 中国中药杂志, 2009, 34(2): 119-123.
- [5] 王平, 钱忠直. 《中国药典》2010年版编制大纲解读 [J]. 药物分析杂志, 2008, 28(2): 337-340.
- [6] 代春美, 彭成, 王伽伯, 等. 微量热法对小檗碱类生物碱抑菌作用的量效关系研究 [J]. 中草药, 2010, 41(7): 1136-1139.
- [7] 陈智伟, 吴灵威, 刘树滔, 等. 毛细管电泳法研究板蓝根水提物抗流感病毒的作用机制 [J]. 中国中药杂志, 2006, 31(20): 1715-1719.
- [8] 胡兴昌, 程佳蔚, 刘士庄. 板蓝根凝集素效价与抑制感冒病毒作用关系的实验研究 [J]. 上海中医药大学学报, 2001, 15(3): 56-57.
- [9] 李寒冰, 鄢丹, 王伽伯, 等. 基于神经氨酸酶活性检测的板蓝根品质生物评价的研究 [J]. 药科学报, 2009, 44(2): 162-166.
- [10] 李寒冰, 鄢丹, 金城, 等. 基于化学荧光测定的板蓝根抗病毒效价检测方法的建立 [J]. 光谱学与光谱分析, 2009, 29(4): 908-912.
- [11] 郑伟强, 许燕, 余沛涛, 等. 板蓝根凝集活性的测定及临床观察 [J]. 上海师范大学学报: 自然科学版, 1999, 28(2): 78-81.
- [12] 陈奇. 中药药理研究方法学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1994.
- [13] 宋振玉, 刘耕陶. 当代药理学 [M]. 北京: 北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社, 1997.
- [14] 肖小河, 金城, 赵中振, 等. 论中药质量控制与评价模式的创新与发展 [J]. 中国中药杂志, 2007, 32(14): 1377-1381.
- [15] Nayak D P, Reichl U. Neuraminidase activity assays for monitoring MDCK cell culture derived influenza virus [J]. *J Virol Methods*, 2004, 122(1): 9-15.
- [16] 李远. 板蓝根药材品质的生物评价与控制的初步研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2008.
- [17] 李寒冰. 板蓝根质量生物评价与控制方法的研究及应用 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2009.
- [18] 肖小河, 金城, 鄢丹, 等. 中药大质量观及实践 [J]. 中草药, 2010, 41(4): 505-508.

《广东地产药材研究》出版发行

由广州中医药大学附属中山医院梅全喜教授主编的《广东地产药材研究》专著于2011年5月由广东科技出版社正式出版发行, 该书是我国近年出版的一部有关广东地产药材研究的重要专著, 全书130余万字, 由总论、各论和附录三部分组成, 总论部分主要介绍广东的地理生态特点及地产药材资源、广东地产中药发展历史沿革、广东地产药材应用的典范—广东凉茶、论广东地产药材的研究与开发及开展广东地产药材研究应重视品种考证工作等方面内容。各论部分收载广东地产药材170余种, 附有170余张药用植物图片, 按别名、来源、性味、功能主治、用法用量、药用历史、化学成分、药理作用、临床应用、附注、参考文献等11个栏目内容来描述。其中最为重点的栏目是药用历史、化学成分、药理作用和临床应用。书的附录部分列举了本书编写涉及到的参考书目、药物中文名称索引及药用植、动、矿物学名索引, 方便读者查考阅读。

该书由国医大师、广州中医药大学邓铁涛终身教授题写书名, 中国工程院院士、中国医学科学院药用植物研究所名誉所长肖培根教授题词, 中国中医科学院副院长兼中药研究所所长黄璐琦教授和中国医学科学院药用植物研究所所长陈士林教授为本书写序。同时, 该书还获2010年度国家出版基金资助。

该书的出版也是梅全喜教授及其领导的团队致力于广东地产药材研究多年的成果结晶, 该团队先后开展了广东土牛膝、三角草、广昆布、三丫苦、蛇鳞草、布渣叶、蛇泡筋、黑面神等广东地产药材研究达10余项, 以广东地产药材为主药研制出医药新产品10余种, 获国家发明专利4项, 获广东省科技进步二、三等奖各一项, 中山市科技进步一、二、三等奖近10项。本书是在这些研究成果的基础上编写而成, 相信其出版对推动广东地产药材研究开发工作的广泛深入开展、更好发挥广东地产药材的特色和优势, 加快广东地产药材走向世界, 提高广东中医药地域文化的学术水平, 特别是深入研究挖掘广东地产药材在防治广东省地方常见多发病方面的独特疗效, 推动地方经济发展, 加快广东中医药强省建设都将产生积极、深远的影响。