

藏药短管兔耳草质量控制方法研究

王海霞^{1,3} 苑 祥² 邢书银¹ 曹长年^{1*} 赵红平^{3*}

(1. 青海大学化工学院, 青海 西宁 810016; 2. 中国科学院西北高原生物研究所, 青海 西宁 810000; 3. 清华大学生物力学与医学工程研究所, 北京 100084)

摘要:目的 建立短管兔耳草的质量控制方法, 为短管兔耳草的合理开发提供科学依据。方法 参照《中国药典》2010 年版附录相关方法, 对短管兔耳草的水分、酸不溶性灰分、浸出物进行测定; 以梓醇作为对照品建立短管兔耳草药材的薄层鉴别方法; 以松果菊苷、大车前苷和毛蕊花糖苷作为指标性成分建立高效液相色谱含量测定方法。结果 薄层色谱斑点清晰, 特征性强, 重复性好; 高效液相色谱定量分析中, 松果菊苷、大车前苷和毛蕊花糖苷线性范围分别为 0.11 ~ 37.67 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 、0.12 ~ 31.33 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 、0.15 ~ 28.65 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$; 平均加样回收率分别为 99.7%、98.9%、98.5%。结论 该文建立的实验检测方法科学合理, 操作简便, 稳定可靠, 重复性好, 可作为藏药短管兔耳草的质量控制方法。

关键词: 短管兔耳草; 质量控制; 薄层色谱鉴定法; 高效液相色谱法

DOI 标识: doi: 10.3969/j.issn.1008-0805.2016.10.016

中图分类号: R291.408 文献标识码: A 文章编号: 1008-0805(2016)10-2353-03

藏药短管兔耳草为玄参科兔耳草属短管兔耳草 *Lagotis brevifolia* Maxim. 的干燥全草, 产于西藏、青海、甘肃南部及四川等海拔 3900 ~ 4800 m 的高山阴坡碎石地带^[1], 其主要化学成分有挥发油类、黄酮类、苯丙素苷类、环烯醚萜类与脂溶性物质等^[2,3], 具有抗肿瘤、抗菌、抗炎等药理作用^[4-6], 在临床上常用于全身发热、肾炎、肺病、高血压、动脉粥样硬化与月经不调等的治疗, 收载于《藏药志》(1991 年版)^[7,8]。为了进一步科学、合理、规范地开发和利用该资源, 本实验对青海地区 11 个不同产地短管兔耳草药材的性状、水分、总灰分、酸不溶性灰分与浸出物等进行测定^[9], 以指标性成分梓醇作为对照品建立短管兔耳草药材的薄层鉴别方法(TLC)和以松果菊苷、大车前苷和毛蕊花糖苷作为指标性成分建立了高效液相色谱含量测定方法(HPLC), 规定其含量限度, 以期制定藏药短管兔耳草的质量控制提供科学依据。

1 仪器和试剂

1.1 仪器 1200 型 HPLC (含 DAD 二极管阵列检测器, ChemStation 工作站); C₁₈ Unitary 色谱柱 (250 × 4.6 mm 5 μm), BP211D 电子天平 (Sartorius 公司); KQ-500DB 型数控超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司); 薄层硅胶预制板 (青岛海洋化工厂)。

1.2 试剂 松果菊苷、大车前苷和毛蕊花糖苷对照品 (均购自中国药品生物制品检定所); 短管兔耳草对照药材 (购自西宁市藏医院); 水为超纯水, 甲醇与乙腈为色谱纯, 其余试剂为分析纯; 短管兔耳草药材采自青海省海北州、玉树州、果洛州等地区, 经中国科学院西北高原生物研究所梅丽娟研究员鉴定为短管兔耳草。

2 方法与结果

2.1 性状 全草长 5 ~ 15 cm; 根茎圆柱状且略弯曲, 节间紧缩, 形似蚕, 其表面灰褐色或浅紫褐色, 质脆易折, 断面呈棕褐色或灰

黄色, 有 3 ~ 4 个白点排列成环 (维管束); 根茎上端有芽, 包被有数层黑褐色鳞片, 微具光泽; 根茎周围和下端有数 10 条细长的根, 圆柱形, 扭曲状, 表面浅黄褐色或灰褐色, 有纵皱纹, 质脆易折断, 断面略平坦; 有的根茎上有叶 1 ~ 2 片, 多皱缩, 润展后完整叶成圆形或卵圆形, 先端钝圆, 中部边缘具圆齿, 基部宽楔形; 花序穗状; 核果长圆形, 黑褐色; 气微; 味微苦。

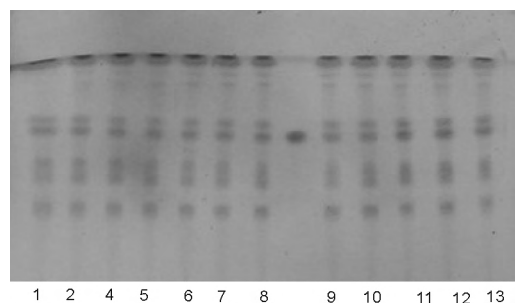
2.2 薄层色谱鉴定

2.2.1 对照品的制备 取梓醇对照品, 加甲醇制成每毫升含 1 mg 的溶液, 作为对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 分别取短管兔耳草全草, 去泥后自然条件下阴干, 粉碎并过 60 目筛, 备用。分别取粉碎过筛的短管兔耳草 2.0 g, 加甲醇 25 ml, 超声处理 40 min 后滤过, 滤液浓缩至干, 残渣加甲醇 2 ml 溶解, 作为供试品溶液。

2.2.3 对照药材溶液的制备 取短管兔耳草药材粗粉 1.0 g, 同法制成对照药材溶液。

2.2.4 薄层色谱图 参照薄层色谱法进行试验 [《中国药典》(2010 年版) 一部附录 VI B]。吸取样品溶液 5 ~ 10 μl , 对照品溶液 5 μl , 对照药材溶液 10 μl , 分别点于用 1% 氢氧化钠制备的同一硅胶 G 薄层板上, 以三氯甲烷 - 甲醇 - 水 (5: 5: 2) 为展开剂, 预饱和 15 min, 展开后取出晾干, 喷以 10% 硫酸乙醇试液, 在 105 $^{\circ}\text{C}$ 加热至斑点显色清晰, 结果如图 1 所示。由图 1 可知, 在供试品色谱中, 与对照药材及对照品色谱相应的位置上, 显现了相同颜色且清晰的斑点。



1 ~ 7 和 9 ~ 12 为供试药材, 8 为梓醇对照品, 13 为对照药材

图 1 短管兔耳草全草薄层色谱图

收稿日期: 2016-03-22; 修订日期: 2016-08-01

基金项目: 国家自然科学基金 (No. 11372162; No. 11432008)

作者简介: 王海霞 (1992-), 女 (汉族), 青海平安人, 青海大学与清华大学联合培养硕士研究生, 学士学位, 主要从事天然药物的提取与药理药效研究工作。

* 通讯作者简介: 赵红平 (1974-), 男 (汉族), 重庆人, 清华大学生物力学与医学工程研究所副教授, 博士学位, 主要从事生物力学与医学工程研究工作。

* 通讯作者简介: 曹长年 (1960-), 男 (东乡族), 天津人, 青海大学化工学院教授, 学士学位, 主要从事天然产物提取与分离工作。

2.3 水分测定 取本品,参照水分测定法[《中国药典》(2010 年版)一部附录 IX H 第一法]进行测定。11 批药材的测定结果见表 1。根据表 1 的测定结果,建议药材标准中水分不得过 12.0%。

2.4 总灰分 取本品,参照总灰分测定法[《中国药典》(2010 年版)一部附录 IX K]进行测定。11 批药材的测定结果见表 1,据

此建议药材标准中总灰分不得过 9.0%。

2.5 酸不溶性灰分 取本品,参照酸不溶性灰分测定法[《中国药典》(2010 年版)一部附录 IX K]进行测定。11 批药材测定结果见表 1。根据测定结果,建议药材标准中酸不溶性灰分不得过 4.0%。

表 1 短管兔耳草各地点水分、灰分和酸不溶性灰分测定结果

编号	地点	经纬度	海拔 /m	水分 /%	灰分 /%	酸不溶灰分 /%
ELS	青海省清根河	N 35°29'29.9" E 99°30'31.7"	4426	11.8	7.8	2.9
JLL	青海省降路岭	N 35°23'41.8" E 99°18'28.7"	4456	11.6	8.0	2.8
QLSYC	青海省祁连山垭口	N 38°7'23.8" E 100°19'6.8"	3900	11.5	8.2	3.1
DBS	青海省达坂山	N 37°20'50.5" E 101°24'2.8"	3983	11.2	7.8	2.9
MQX	青海省大武镇	N 34°29'58.3" E 100°4'58.2"	4305	11.2	7.2	3.2
QZS	青海省青珍乡垭口	N 34°13'54.6" E 100°14'9.7"	4390	11.3	7.5	2.7
ZQX	青海省知钦乡	N 32°47'50.9"E100°33'54.5"	4599	11.3	8.0	3.3
GLSBT	青海省巴塘镇	N 32°51'36.6" E 96°58'39.6"	395m	11.7	8.1	2.7
HXSYC	青海省哈秀山垭口	N 33°16'48.9" E 95°17'37.8"	4622	11.5	7.8	3.3
DJC	青海省当江乡	N 33°38'5.1" E95°50'47.7"	4618	11.3	7.6	2.8
CSTS	青海省长石头山	N 35°25'6.1" E98°9'6.5"	4211	8.5	8.5	2.1

2.6 浸出物 按《中国药典》(2010 年版)一部醇溶性浸出物测定法(附录 X A)进行测定。用稀乙醇作溶剂时 11 批样品的测定结果见表 2 据此建议药材标准中醇溶性浸出物不得少于 9.0%;

用纯水作溶剂时对 11 批样品的测定结果见表 2 据此建议药材标准中水溶性浸出物不得少于 8.0%。

表 2 短管兔耳草各地点浸出物测定结果

编号	地点	经纬度	海拔 /m	醇溶性浸出物 /%	水溶性浸出物 /%
ELS	青海省清根河	N 35°29'29.9" E 99°30'31.7"	4426	10.7	9.3
JLL	青海省降路岭	N 35°23'41.8" E 99°18'28.7"	4456	10.5	10.9
QLSYC	青海省祁连山垭口	N 38°7'23.8" E 100°19'6.8"	3900	10.5	10.3
DBS	青海省达坂山	N 37°20'50.5" E 101°24'2.8"	3983	11.0	8.3
MQX	青海省大武镇	N 34°29'58.3" E 100°4'58.2"	4305	10.4	10.5
QZS	青海省青珍乡垭口	N 34°13'54.6" E 100°14'9.7"	4390	10.7	10.4
ZQX	青海省知钦乡	N 32°47'50.9"E100°33'54.5"	4599	10.6	10.6
GLSBT	青海省巴塘镇	N 32°51'36.6" E 96°58'39.6"	3958	13.3	13.3
HXSYC	青海省哈秀山垭口	N 33°16'48.9" E 95°17'37.8"	4622	9.9	8.3
DJC	青海省当江乡	N 33°38'5.1" E95°50'47.7"	4618	10.4	10.1
CSTS	青海省长石头山	N 35°25'6.1" E98°9'6.5"	4211	10.8	10.2

2.7 含量测定

2.7.1 色谱条件 色谱柱: C₁₈ Unitary 250mm × 4.6 mm 5 μm; 流动相: 乙腈 - 0.4% 甲酸水 0 min ~ 40min 25% ~ 70% 乙腈梯度洗脱, 流速 1.0 ml/min, 进样量 10 μl 检测波长 254 nm。

2.7.2 对照品溶液和供试液的制备 称取毛蕊花糖苷、大车前苷和松果菊苷对照品适量, 加乙腈分别制成每毫升含毛蕊花糖苷 1.82 mg、大车前苷 1.70 mg 和松果菊苷 1.68 mg 的对照品溶液。

取本品 2.0 g, 加 25 ml 无水乙醇, 超声提取 40 min 后过滤, 滤液转移至 25 ml 容量瓶中, 补充溶剂至刻度摇匀, 制备供试品溶液。

2.7.3 方法学考察

2.7.3.1 线性关系考察 量取 1、3、5、7、9 与 11 μl 的毛蕊花糖苷、大车前苷和松果菊苷对照品溶液(其浓度分别为 1.82 mg/ml、1.70 mg/ml 和 1.68 mg/ml), 注入液相色谱仪, 测定峰面积, 以进样量(X)为横坐标, 峰面积(Y)为纵坐标, 作标准曲线, 分别得毛蕊花糖苷标准品溶液的回归方程: $Y = 534.51X - 4.2667$ ($R^2 = 0.9994$) 线性范围: 0.15 ~ 28.65 μg/μl; 大车前苷标准品溶液

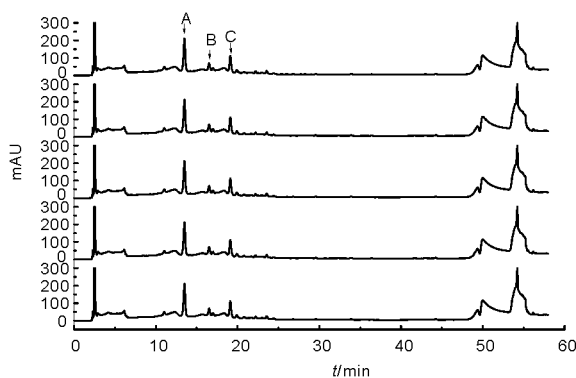
的回归方程: $Y = 417.99X - 29.89$ ($R^2 = 0.9988$) 线性范围: 0.12 ~ 31.33 μg/μl; 松果菊苷回归方程: $Y = 520.41X - 49.706$ ($R^2 = 0.9999$) 线性范围: 0.11 ~ 37.67 μg/μl。上述三种标准品溶液的进样量与峰面积均成良好的线性关系且标准曲线通过原点, 可采用外标一点法进行含量的测定。

2.7.3.2 精密度试验 量取对照品溶液, 按上述色谱条件下连续进样 6 次, 记录色谱峰面积, 结果表明松果菊苷、大车前苷、毛蕊花糖苷的峰面积 RSD 分别为 0.11%、0.21%、0.38%, 表明精密度良好。

2.7.3.3 重复性试验 称取短管兔耳草药材粉末(60 目) 6 份, 按“供试品溶液的制备”条件进行操作, 并按照上述色谱条件进行测定, 得到的松果菊苷峰、大车前苷与毛蕊花糖苷的峰面积 RSD 分别为 0.17%、0.44%、0.36%, 结果如图 2 所示, 表明重复性良好。

2.7.3.4 稳定性试验 称取“重复性试验”中同一批号的供试品溶液, 在上述色谱条件下, 分别于 0、2、4、6 与 8 h 测定, 记录色谱峰面积, 得到的松果菊苷、大车前苷与毛蕊花糖苷峰面积的 RSD 为 0.24%、0.69% 与 0.54%, 表明供试品溶液在 8 h 内稳定

性良好。



A: 松果菊苷; B: 大车前苷; C: 毛蕊花糖苷

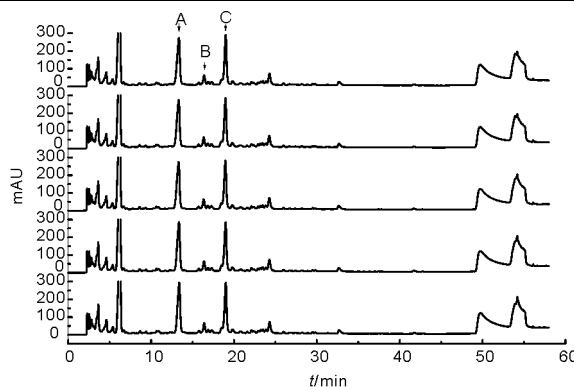
图2 重复性实验的 HPLC 图

表3 加样回收率试验

	药材中含量	加入量	测得总量	回收率	平均回收率
	/mg	/mg	/mg	%	%
松果菊苷	0.83	0.84	1.64	99.3	99.7 ± 1.230
	0.83	0.84	1.65	99.6	
	0.83	0.84	1.69	102.1	
	0.83	0.84	1.65	99.5	
	0.83	0.84	1.64	99.3	
大车前苷	0.83	0.84	1.63	98.5	98.9 ± 1.443
	0.13	0.85	0.97	98.9	
	0.13	0.85	0.99	101.0	
	0.13	0.85	0.95	96.9	
	0.13	0.85	0.97	98.9	
毛蕊花糖苷	0.13	0.85	0.96	98.0	98.5 ± 1.169
	0.13	0.85	0.98	100	
	0.53	0.91	1.45	100.6	
	0.53	0.91	1.42	98.6	
	0.53	0.91	1.41	97.9	
	0.53	0.91	1.42	98.6	
	0.53	0.91	1.40	97.2	
	0.53	0.91	1.41	97.9	

2.7.3.5 加样回收率试验 称取“重复性试验”中同一批号的 4.0 g 短管兔耳草药材粉末(60 目)6 份,分别等量加入松果菊苷、大车前苷、毛蕊花糖苷对照品 按“供试品溶液的制备”的条件进行操作,在上述色谱条件下进样测定并计算加样回收率,得到的松果菊苷、大车前苷与毛蕊花糖苷的平均回收率分别为 99.7%、98.9% 与 98.5%。结果见表 3 与图 3。

2.7.3.6 样品测定 分别称取样品粉末 2 g,按“2.2.2”的条件制成供试品溶液;分别吸取对照品溶液与供试品溶液 10 μl,注入液相色谱仪,测定并计算 11 批样品中松果菊苷、大车前苷与毛蕊花糖苷的含量,结果见表 4 和图 4。基于 11 批不同样品的检测结果,以本品干燥品计算,建议松果菊苷、大车前苷、毛蕊花糖苷的总含量分别不得低于 0.2%、0.01% 与 0.1%。

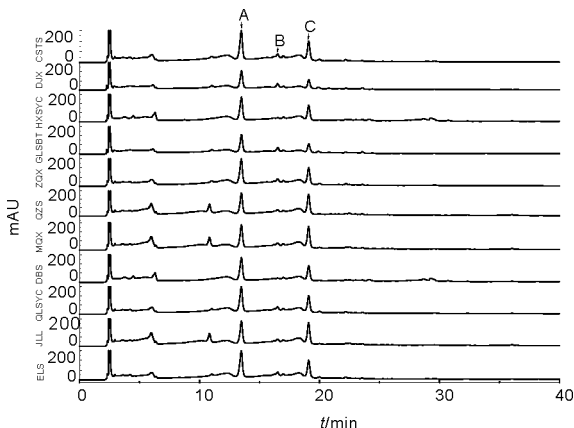


A: 松果菊苷; B: 大车前苷; C: 毛蕊花糖苷

图3 回收率实验的 HPLC 图

表4 样品中毛蕊花糖苷、大车前苷与松果菊苷的含量

编号	地点	经纬度	海拔 /m	松果菊苷/%	大车前苷/%	毛蕊花糖苷/%
ELS	青海省清根河	N 35°29'29.9" E 99°30'31.7"	4426	0.29	0.01	0.31
JLL	青海省隆路岭	N 35°23'41.8" E 99°18'28.7"	4456	0.18	0.02	0.17
QLSYC	青海省祁连山垭口	N 38°7'23.8" E 100°19'6.8"	3900	0.21	0.03	0.13
DBS	青海省达坂山	N 37°20'50.5" E 101°24'2.8"	3983	0.19	0.01	0.12
MQX	青海省大武镇	N 34°29'58.3" E 100°4'58.2"	4305	0.18	0.02	0.18
QZS	青海省青珍乡垭口	N 34°13'54.6" E 100°14'9.7"	4390	0.25	0.01	0.30
ZQX	青海省知钦乡	N 32°47'50.9" E 100°33'54.5"	4599	0.20	0.03	0.16
GLSBT	青海省巴塘镇	N 32°51'36.6" E 96°58'39.6"	3958	0.14	0.04	0.07
HXSYC	青海省哈秀山垭口	N 33°16'48.9" E 95°17'37.8"	4622	0.21	0.02	0.13
DJX	青海省当江乡	N 33°38'5.1" E 95°50'47.7"	4618	0.20	0.02	0.13
CSTS	青海省长石头山	N 35°25'6.1" E 98°9'6.5"	4211	0.23	0.03	0.14



A: 松果菊苷; B: 大车前苷; C: 毛蕊花糖苷

图4 含量测定实验的 HPLC 图

4 结论

本文考察了青海地区 11 个不同产地短管兔耳草药材的性状、水分、总灰分、酸不溶性灰分、水溶性浸出物等;以三氯甲烷-甲醇-水(5: 5: 2)为展开剂,以梓醇为对照品,建立薄层鉴别方法,展开显色后分离度较好,斑点清晰,重复性好,且方法简便、快捷、可行,故该方法可作为短管兔耳草药材的定性鉴别依据;利用高效液相色谱方法,以松果菊苷、大车前苷和毛蕊花糖苷作为指标性成分建立了短管兔耳草药材的含量测定方法,建议松果菊苷、大车前苷和毛蕊花糖苷的总含量分别不得低于 0.2%、0.01%、0.1%,为短管兔耳草药材质量控制进一步提供依据。

本文建立的短管兔耳草药材质量控制方法操作简便,具有较好的实用性和可靠性,可用于短管兔耳草药材的质量控制。

参考文献:

- [1] 于瑞涛,陶燕铎,邵 赞. 短管兔耳草的研究进展[J]. 时珍国医国药 2009 20(1):24.
- [2] 邵 峰. 藏药短管兔耳草化学成分研究[D]. 西南大学硕士学位论文 2009.
- [3] 史高峰,黄新异,卢润华. 藏药短管兔耳草的化学成分研究[J]. 中国中药杂志 2006 31(2):164.
- [4] Zong YY, Che CT. Glucosides from *Lagotis breviflora* [J]. *Planta Med.* 1995, 61:585.
- [5] 中国科学院西北高原生物研究所. 藏药志[M]. 西宁:青海人民出版社,1991.
- [6] 姜 平,杨 娜,吴国民 等. 短管兔耳草的抗炎作用[J]. 青海医药 1983 (3):14.
- [7] Brunelli C, Mosconi P, Boeri P, et al. Evaluation of quality of life in patients with malignant dysphagia[J]. *Tumor* 2000, 86(2):134.
- [8] 金 兰,陈 志. 短管兔耳草抗癌作用研究[J]. 青海师范大学学报(自然科学版) 2006 (2):86.
- [9] 李 翔,贾天柱,姜 丽 等. 团扇蛸质量标准研究[J]. 中成药, 2010, 32(6):1076.

资木瓜乙酸乙酯萃取物对 RBL-2H3 细胞脱颗粒的影响

郑倩倩 柳 蔚 喻玲玲 陈先勇 李世刚*

(三峡大学医学院 湖北 宜昌 443002)

摘要:目的 研究资木瓜乙酸乙酯萃取物对不同抗原诱导的 RBL-2H3 细胞脱颗粒的影响,并初步探讨其作用机制。方法 采用 MTT 法测定不同浓度资木瓜乙酸乙酯萃取物对细胞活性的影响,采用底物法检测不同浓度资木瓜乙酸乙酯萃取物对不同抗原引起的细胞内 β -氨基己糖苷酶释放的影响,采用流式细胞分析仪检测不同浓度资木瓜乙酸乙酯萃取物对细胞表面受体 $Fc\epsilon RI\alpha$ 表达的影响。结果 在一定浓度范围内,对细胞活性没有显著性影响的资木瓜乙酸乙酯萃取物可显著抑制细胞内 β -氨基己糖苷酶的释放和降低细胞表面受体 $Fc\epsilon RI\alpha$ 的表达,且呈量效关系。结论 资木瓜乙酸乙酯萃取物对 RBL-2H3 细胞脱颗粒具有显著的抑制作用,其作用可能与 RBL-2H3 细胞表面受体 $Fc\epsilon RI\alpha$ 的表达降低有关。

关键词: 资木瓜乙酸乙酯萃取物; RBL-2H3 细胞; 细胞活性; β -氨基己糖苷酶; $Fc\epsilon RI\alpha$

DOI 标识: doi: 10.3969/j.issn.1008-0805.2016.10.017

中图分类号: R285.5 文献标识码: A 文章编号: 1008-0805(2016)10-2356-03

Effects of *Chaenomeles speciosa* ethyl acetate extract on the degranulation of RBL-2H3 cells

ZHENG Qian-qian, LIU Wei, YU Ling-ling, CHEN Xian-yong, LI Shi-gang*

(Medical College of China Three Gorges University, Yichang Hubei 443002, China)

Abstract: Objective To investigate the influence of *Chaenomeles speciosa* ethyl acetate extract on the degranulation of rat basophilic leukemia cells (RBL-2H3) and to research the possible mechanism. **Methods** The effect of different density of *Chaenomeles speciosa* ethyl acetate on the cell viability of RBL-2H3 cells by MTT assay; The effect of different density of *Chaenomeles speciosa* ethyl acetate on the releasing rate of β -hexosaminidase enzyme of RBL-2H3 cells by Substrated method; The effect of different density of *Chaenomeles speciosa* ethyl acetate on the surface expression of receptor $Fc\epsilon RI\alpha$ of RBL-2H3 cells by Flow cytometry. **Results** *Chaenomeles speciosa* ethyl acetate extract has no significant effect on cell activity in some density, but it can significantly decrease the release of β -hexosaminidase and the expression of cell surface receptor $Fc\epsilon RI\alpha$. **Conclusion** *Chaenomeles speciosa* ethyl acetate extract can inhibit the degranulation of RBL-2H3 cells in a dose-dependent manner and the mechanism may related to the down-regulated expression of cell surface receptor $Fc\epsilon RI\alpha$.

Key words: *Chaenomeles speciosa* ethyl acetate extract; RBL-2H3 cells; Cell viability; β -hexosaminidase; $Fc\epsilon RI$

肥大细胞作为一种天然免疫效应细胞,参与机体多种免疫疾病的发生如过敏性疾病、皮肤炎症等,其脱颗粒反应在此发生发

展过程中发挥重要作用^[1,2]。因此,抑制肥大细胞脱颗粒可能是治疗相关疾病的关键所在。易于体外培养的大鼠嗜碱性粒细胞性白血病细胞(RBL-2H3)具有与肥大细胞相似的脱颗粒功能和脱颗粒途径,被认为是体外研究肥大细胞脱颗粒的最佳替代模型^[3,4]。 β -氨基己糖苷酶是 RBL-2H3 细胞脱颗粒的重要标志物,通过检测 β -氨基己糖苷酶的释放来反应细胞脱颗粒程度,以此评价药物的药效^[5]。现代药理学研究证实^[6],木瓜提取物具有抗炎镇痛、免疫调节等功效。本研究旨在细胞水平上,以抗原 A23187、DNP-BSA 为脱颗粒工具,以 β -氨基己糖苷酶为评

收稿日期: 2016-03-08; 修订日期: 2016-07-25

基金项目: 国家自然科学基金(No. 81274166)

作者简介: 郑倩倩(1989-),女(汉族),山东济宁人,三峡大学硕士研究生,学士学位,主要从事中药药效评价与新药研究工作。

* 通讯作者简介: 李世刚(1971-),男(汉族),甘肃兰州人,三峡大学副教授,博士学位,主要从事中药药效评价与新药研究工作。