

基于生物活性测定的注射用丹参多酚酸质量控制方法研究

梁佳威¹, 黄佳雯², 万梅绪^{3, 4}, 张燕欣^{3, 4}, 李德坤^{3, 4}, 鞠爱春^{3, 4*}

1. 湖南普瑞玛药物研究中心有限公司, 湖南 长沙 410331
2. 天地恒一制药股份有限公司, 湖南 长沙 410331
3. 天津天士力之骄药业有限公司, 天津 300410
4. 天津市中药注射剂安全性评价企业重点实验室, 天津 300410

摘要: 目的 以注射用丹参多酚酸(SAFI)体外抗血小板聚集活性为基础, 建立该制剂的生物活性测定方法, 并对30批样品进行测定, 从而探索一种反映其有效性的新质控方法。方法 以家兔全血为试验系, 一定浓度的SAFI与富血小板血浆混合后, 采用光学比浊法检测二磷酸腺苷(ADP)诱导的血小板聚集率, 通过与丹酚酸B对照品的测定结果进行比较, 运用斜率比例法计算相对效价, 并进行方法学考察验证。结果 方法学验证结果表明, 建立的体外抗血小板聚集生物活性测定法符合要求; 30批次样品的相对效价均值为0.366 1, RSD为9.43%。结论 SAFI具有较强的抗血小板聚集活性, 所建方法适用于SAFI体外抗血小板聚集活性测定, 对于补充调整SAFI的全面质量控制具有重要意义。

关键词: 注射用丹参多酚酸; 抗血小板聚集; 生物活性测定法; 质量控制

中图分类号: R285.6; R286.2 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2021)11-2408-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2021.11.017

Research on bioassay method for quality control of Salvianolic Acid for Injection

LIANG Jiawei¹, HUANG Jiawen², WAN Meixu^{3, 4}, ZHANG Yanxin^{3, 4}, LI Dekun^{3, 4}, JU Aichun^{3, 4}

1. Hunan Prima Pharmaceutical Research Center Co., Ltd, Changsha 410331, China
2. Hinye Pharmaceutical Co., Ltd, Changsha 410331, China
3. Tianjin Tasly Pride Pharmaceutical Co., Ltd., Tianjin 300410, China
4. Tianjin Key Laboratory of Safety Evaluation Enterprise of Traditional Chinese Medicine Injections, Tianjin 300410, China

Abstract: Objective To establish a bioassay method for Salvianolic Acid for Injection (SAFI) based on the *in vitro* anti-platelet aggregation activity and assay 30 batches of SAFI, so as to explore a novel quality control method reflecting its effectiveness. **Methods** Using rabbit whole blood as test system, a certain concentration of SAFI was mixed with platelet-rich plasma, and the ADP-induced platelet aggregation rate was measured by optical turbidimetric method. Comparing the results with those of salvianolic acid B, relative potency was calculated by the slope ratio method. In addition, the method was investigated by methodological validation. **Results** The methodological validation results showed that the established *in vitro* anti-platelet aggregation bioassay method met the requirements; the mean relative potency value of the 30 batches of samples was 0.366 1 with an RSD of 9.43%. **Conclusion** SAFI has strong anti-platelet aggregation activity, and the proposed method is applicable to the *in vitro* anti-platelet aggregation activity assay, which is important for complementary adjustment of the overall quality control of SAFI.

Key words: Salvianolic Acids for Injection (SAFI); anti-platelet aggregation; bioassay method; quality control

现行的中药理化检测质量控制方法包括药材外观形状鉴别、化学定性鉴别、指标成分检测、化学指纹图谱等, 上述方法侧重检验药材的“真伪”, 但不足以很好地反映中药有效性。因此, 当下亟需有整体观的评价方法与现行质量检测方法相互补充,

以提高中药质量的可控性。生物活性测定法是以药物的生物效应为基础, 通过生物统计工具和特定的实验设计, 测定药物有效性, 进而达到控制药品质量的一种方法^[1]。生物评价技术是继形状评价、化学评价之后, 促进中药质量标准走向临床、关联

收稿日期: 2021-07-30

第一作者: 梁佳威, 男, 药理学硕士, 研究方向为中药药理。E-mail: LiangJW2018@163.com

*通信作者: 鞠爱春, 男, 正高级工程师, 研究方向为中药注射剂工艺及质量控制。E-mail: juach@tasly.com

疗效的关键举措^[2]。近年来,《中国药典》和美国食品药品监督管理局(FDA)《植物药研发指导原则》均收录了生物活性测定方法^[3-4]。2020年12月,国家药品监督管理局药品审评中心(CDE)发布了《中药生物效应检测研究技术指导原则(试行)》^[5],鼓励探索研究中药生物效应检测方法,完善中药质量控制体系。由此可见,以生物活性作为中草药和植物药的质量评价指标已得到国内外认可,生物活性测定法应用于中药的质量控制将成为未来的发展趋势。

丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bge. 始载于《神农本草经》,具有活血祛瘀、通经止痛、清心除烦、凉血消痈的功效^[6]。注射用丹参多酚酸(SAFI)是以丹参的水溶酚酸类成分辅以甘露醇制备而成现代冻干粉针剂,具有活血通络功效,临床上用于卒中病中经络(轻中度脑梗死)恢复期瘀血阻络证的治疗^[7]。本研究从丹参活血化瘀的疗效出发,对SAFI抗血小板聚集生物活性测定方法进行考察,评估其用于产品质量控制的可行性,以期产品的质量研究方法学研究提供参考依据。

1 材料

1.1 实验动物

普通级日本大耳白兔40只,雌性,体质量2.0~2.2 kg,购于天津裕达实验动物养殖有限公司,许可证号码:SCXK(津)2016-0001。

1.2 仪器

Model 700 血小板聚集分析仪(美国 Chrono-Log 公司);XS105 Dual 电子分析天平(美国 Mettler Toledo 公司);Matrx VEM2 小动物麻醉机(美国 Mid Mark 公司);LDZ5-2 低速自动平衡离心机(北京医用离心机厂);P/N312 专业比色杯,P/N365 专业比色杯垫,#311 磁力搅拌子,均为美国 Chrono-Log 公司产品;Research plus 手动移液器(德国 Eppendorf 公司);容量瓶(德国 Blau Brand 公司,规格1、2、5 mL);G560E 涡旋振荡仪(美国 Scientific Industries 公司)。

1.3 试剂与试药

二磷酸腺苷(ADP,美国 Chrono-Log 公司,批号3490);二水柠檬酸钠(美国 Sigma 公司,批号SLBZ2215);异氟烷(北京易则佳科技有限公司,批号045739);0.9% NaCl 注射液(山东齐都药业有限公司,批号11B19090902);丹酚酸B标准品(天津天士力之骄药业有限公司,批号20140301);注射用丹参多酚酸(天津天士力之骄药业有限公司,规格:每瓶0.13 g,含丹参多酚酸100 mg;30批,批号分别为20180901、20180903、20180904、20180905、20181001、

20181002、20181003、20181004、20181005、20181006、20190102、20190103、20190301、20190402、20190403、20190404、20191201、20191202、20191203、20191204、20200101、20200102、20200103、20200104、20200105、20200201、20200202、20200203、20200204、20200205);甘露醇(天津天士力之骄药业有限公司,批号1807001、1810001、1901002)。

2 方法和结果

2.1 溶剂的选择

根据SAFI的临床用药说明,本检测方法中的所有溶液均使用生理盐水作为稀释溶剂进行配制。

2.2 血液材料的制备

提前预装3.8%柠檬酸钠抗凝剂3 mL于100 mL注射器中,防止采血过程中血液凝固。

富血小板血浆(PRP)的制备:将禁食的家兔放入异氟烷麻醉小室,麻醉后进行腹腔主动脉采血,以体积比1:9补足适量的抗凝剂,全血1 000 r/min离心10 min,观察上层PRP的量,以5 mL全血离心出2~2.5 mL PRP为佳;如不符合要求,则将离心后的全血混匀后降低(800 r/min)或升高(1 200 r/min)转速后再次离心,使得到符合要求的PRP,将离心后的PRP混装于1个离心管中,敞口放置30 min使其与空气充分平衡,之后分装于1.5 mL EP管中,待用。

贫血小板血浆(PPP)的准备:将取完PRP的剩余血浆重新放回离心机中,3 000 r/min离心10 min,取上清液即得PPP。

2.3 血小板聚集率的测定

取PPP 300 μL加入专业比色杯用于校准调零,另取PRP 274 μL加入专业比色杯,之后分别加入不同浓度的样品液20 μL,以生理盐水为阴性对照样本,37 °C孵育3 min,依次加入125 μmol/L ADP 6 μL,测定5 min内的最大血小板聚集率。

2.4 血小板聚集抑制率与相对效价的计算

血小板聚集抑制率的计算公式^[5]:

血小板聚集抑制率=(阴性样本聚集率-样品聚集率)/阴性样本聚集率

SAFI相对效价(ρ_{SAFI})的计算公式^[8]:

$$\rho_{SAFI} = \frac{K_{test}}{K_{standard}}$$

K_{test} 为测试SAFI样本浓度-抑制率曲线的斜率; $K_{standard}$ 为丹酚酸B对照品浓度-抑制率曲线的斜率

2.5 系统适用性

将20 μL生理盐水加入装有274 μL PRP的比色杯中作为阴性对照样本,按照“2.3”项下方法测定血

小板聚集率,4个阴性对照样本的聚集率应在40%~85%,且4个平行样本RSD不大于10%。若聚集率低于40%,则认为该家兔的血小板聚集率偏低,不符合规定,可能会影响实验结果,应弃去该只家兔的兔血,重新另取家兔,制备试验用血液材料。

2.6 专属性考察

分别配制如下溶液:(1)精密称取甘露醇适量,加入生理盐水配制成质量浓度为32.5 mg/mL的溶液,作为SAFI空白样本溶液;(2)精密称取SAFI适量,加入生理盐水配制成质量浓度为2.82 mg/mL的SAFI定量下限(LLOQ)溶液;(3)精密称取丹酚酸B适量,加入生理盐水配制成质量浓度为3.36 mg/mL的丹酚酸B LLOQ溶液。

精密吸取上述溶液按照“2.3”项下方法测定血小板聚集率,每批次空白样品重复3次测定,计算血小板聚集抑制率,结果见表1。3批次SAFI空白样本(20180901、20181001、20190102)的平均血小板聚集抑制率均低于SAFI和丹酚酸B线性范围最低点抑制率的20%,因此认为SAFI制剂中的辅料成分对其血小板聚集率的测定无影响。

表1 专属性试验结果(n=3)

Table 1 Results of specific test (n = 3)

批号	血小板聚集抑制率均值/%		
	SAFI空白样本	SAFI(LLOQ)	丹酚酸B(LLOQ)
20180901	-1.0	13.1	16.1
20181001	-2.4	16.3	20.2
20190102	-0.7	17.0	17.7

2.7 丹酚酸B溶液线性范围考察

精密称取丹酚酸B标准品适量,加入生理盐水配制成质量浓度为16.00、12.80、10.24、8.19、6.55、5.24、4.19、3.36 mg/mL溶液,混合均匀。精密吸取上述溶液测定血小板聚集率,计算血小板聚集抑制率。通过将浓度-抑制率进行线性拟合可知:丹酚酸B标准溶液在检测体系最终质量浓度0.1175~0.8800 mg/mL范围内线性关系良好,线性方程 $y=0.0677x+0.0767$, $R^2=0.9827$ 。

2.8 SAFI溶液线性范围考察

精密称取SAFI适量,加入生理盐水配制成质量浓度为28.11、21.08、15.81、11.86、8.89、6.67、5.00、3.75 mg/mL溶液,混合均匀。精密吸取上述溶液进行血小板聚集率测定,计算血小板聚集抑制率。通过将浓度-抑制率进行线性拟合可知:SAFI溶液在检测体系最终质量浓度0.1880~1.8778 mg/mL内

线性关系良好,线性方程 $y=0.3847x+0.0916$, $R^2=0.9805$ 。

2.9 回收率考察

分别配制如下溶液:(1)精密称取SAFI适量,加入生理盐水配制成质量浓度为32.5 mg/mL的溶液;(2)精密称取丹酚酸B适量,加入生理盐水配制成质量浓度为8.45、10.56 mg/mL的溶液;(3)分别往32.5 mg/mL的SAFI溶液中加入同体积的生理盐水、10.56 mg/mL和8.45 mg/mL的丹酚酸B溶液,均匀混合,分别得测试溶液mix-C、mix-H、mix-L。

精密吸取上述测试溶液mix-C、mix-H、mix-L进行血小板聚集率测定,重复3次,分别计算mix-H、mix-L与mix-C血小板聚集抑制率的差值。当日丹酚酸B抗血小板聚集量效标准曲线为 $y=1.3403x+0.0076$, $R^2=0.9912$,将上述抑制率差值代入标准曲线中反算得到对应的丹酚酸B浓度,将其与丹酚酸B的理论浓度相除,计算回收率,见表2。结果显示,10.56 mg/mL丹酚酸B标准溶液作为加标物,计算平均加标回收率为86.42%,其RSD值为5.06%;8.45 mg/mL丹酚酸B标准溶液为加标物,计算平均加标回收率为96.30%,其RSD为7.72%;两次加标回收率均满足试验要求(80%~120%)。

表2 相对准确度试验结果(n=3)

Table 2 Relative accuracy test results (n = 3)

10.56 mg·mL ⁻¹ 丹酚酸B	第1次 第2次 第3次		
	mix-C抑制率/%	50.0	50.0
mix-H抑制率/%	89.5	92.1	97.3
mix-H与mix-C抑制率差值/%	39.5	42.1	43.2
RSD计算值	0.29	0.31	0.32
RSD理论值		0.35	
回收率/%	81.56%	87.64	90.05
8.45 mg·mL ⁻¹ 丹酚酸B			
mix-L抑制率/%	84.2	89.5	91.9
mix-L与mix-C抑制率差值/%	34.2	39.5	37.8
RSD计算值	0.25	0.29	0.28
RSD理论值		0.28	
回收率/%	88.09	102.57	98.24

2.10 重复性试验

精密称取SAFI适量,分别配制成质量浓度为21.08、15.81、11.86 mg/mL的测试溶液,混合均匀。精密称取丹酚酸B适量,分别配制成质量浓度为16.00、12.80、10.24、8.19、6.55、5.24、4.19、3.36 mg/mL的系列标准溶液,混合均匀。

精密吸取上述溶液,测定各自的血小板聚集率,计算对应的血小板聚集抑制率,绘制SAFI的浓度-抑制率量效曲线和丹酚酸B标准品的浓度-抑制率标准曲线,计算斜率比值得到相对效价值。平行操作6次,结果见表3。6次测定的当日标准曲线斜率为0.778 6,相对效价均值为0.356 2,RSD值为7.72%,该方法的重复性符合规定($RSD \leq 20\%$)。

2.11 中间精密度试验

溶液配制及测定方法同“2.10 重复性试验”,但该项试验要求由不同人员在不同日期基于不同仪器使用不同来源的PRP测定同一批次SAFI(批号20180901)的相对效价,结果见表4。6次测定的当日标准曲线斜率为1.989 7,相对效价均值为0.320 6,RSD值为7.0%,该方法的中间精密度符合规定($RSD \leq 20\%$)。

2.12 样品检测

试验选取2018—2020年生产的30批SAFI,依据“2.10”项下方法,配制相应浓度的SAFI测试溶液和丹酚酸B系列标准溶液,分别测定其血小板聚集率,计算血小板聚集抑制率,每批次平行测定3次,依据拟合所得的线性方程,计算各批次SAFI的相对效价,结果见表5。30批次SAFI抗血小板聚集相对效价均值为0.366 1(0.292 7~0.425 9),其RSD值为9.43%,符合规定($RSD \leq 20\%$)。

3 讨论

抗血小板聚集是评价活血化瘀类中药对血小板功能影响的经典药理实验^[9],目前已有大量文献

研究表明SAFI^[10-11]、注射用丹参多酚酸盐^[12-13]、丹酚酸B^[14-17]、丹酚酸A^[18-20]、咖啡酸^[21]等丹参类制品具有抗血小板聚集的作用。本研究基于SAFI抗血小板聚集的药理作用,以考察血小板功能的“金标准”——光学比浊法^[22]作为检测手段,建立了一种操作便捷、重复性良好、测试结果准确可靠的SAFI抗血小板聚集相对效价测定方法。

在生物活性测定过程中,标准品的选择一直是难点。目前,生物活性测定的标准品主要分为4类,一是符合同质原则的标准品,包括成分基本相似的不同来源产品、标准对照药材、道地药材;二是具有相同药理作用的化学药品或生物制品;三是中药成分或组分;四是通过生物制品活性以间接换算中药生物效价^[23]。每130 mg SAFI中含有100 mg丹参多酚酸和30 mg辅料甘露醇,其中丹酚酸B的含量约占60%^[24],已有多项研究报道丹酚酸B等丹参酚酸类成分具有显著的抗血小板聚集作用,选用丹酚酸B作为标准品从一定程度上等同于使用具有相同药理作用的化学品作为标准品,因此,丹酚酸B单体符合标准品的纳入标准。

本试验方法的建立能够一定程度上为生物活性测定法应用于中药注射剂质量评价提供方法学借鉴。但质量评价方法的建立是一个长期的过程,在后续的研究中还需要不断地积累多批次检测数据,并且可以人为设计多个类别的不合格样品用以考察该生物学活性测定方法对于不合格产品的检出率,从而更加全面地优化该检测方法。不仅如

表3 重复性试验结果($n=6$)

Table 3 Repeatability test results ($n = 6$)

考察指标	重复性试验编号					
	1	2	3	3	5	6
斜率	0.296 1	0.258 0	0.264 8	0.260 0	0.296 1	0.289 0
R^2	0.962 0	0.979 1	0.928 2	0.928 2	0.962 0	0.979 1
相对效价	0.380 3	0.331 4	0.340 1	0.333 9	0.380 3	0.371 2
相对偏差/%	6.8	-7.0	-4.5	-6.2	6.8	4.2

表4 中间精密度试验结果($n=6$)

Table 4 Intermediate precision test results ($n = 6$)

考察指标	中间精密度试验编号					
	1	2	3	4	5	6
斜率	0.678 4	0.610 9	0.665 9	0.687 2	0.581 4	0.603 4
R^2	0.992 4	0.998 9	0.977 0	0.967 2	0.952 3	0.967 2
相对效价	0.341 0	0.307 0	0.334 7	0.345 4	0.292 2	0.303 3
相对偏差/%	6.4	-4.2	4.4	7.7	-8.9	-5.4

表5 30批SAFI样品测定结果(n=3)
Table 5 Batches determination results 30 batches of
SAFI (n=3)

样品批号	平均相对 效价	RSD/ %	样品批号	平均相对 效价	RSD/ %
20180901	0.292 7	9.12	20190103	0.358 5	4.93
20180903	0.371 6	8.60	20191201	0.391 4	5.36
20180904	0.302 3	6.87	20191202	0.425 9	5.19
20180905	0.336 6	5.35	20191203	0.415 4	5.80
20181001	0.359 9	6.37	20191204	0.388 4	1.31
20181002	0.406 7	3.01	20200101	0.353 7	4.99
20181003	0.333 8	5.63	20200102	0.367 9	5.50
20181004	0.355 4	4.86	20200103	0.314 9	2.63
20181005	0.379 5	9.16	20200104	0.346 2	1.90
20181006	0.327 3	6.88	20200105	0.332 9	8.47
20190301	0.407 1	8.43	20200201	0.330 8	4.35
20190402	0.405 2	4.21	20200202	0.403 9	2.33
20190403	0.391 0	1.14	20200203	0.382 4	9.03
20190404	0.388 0	8.35	20200204	0.350 3	3.62
20190102	0.371 3	7.64	20200205	0.391 5	8.59

此,中药的某一功效一般与多种药理作用相关,因此未来还需通过多项实验考察不同的生物效应指标,多角度地评价注射用丹参多酚酸的质量。对此,可以尝试探索采用生物标志物、生物效应表达谱等作为生物效应检测指标,运用现代科学技术不断完善基于生物活性测定的质量评价体系。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典[S].一部.2020.
Pharmacopoeia of the People's Republic of China [S]. Volume I. 2020.
- [2] 张 萌,封 亮,贾晓斌.基于生物活性与效应基准的中药质量评价技术发展现状与展望[J].世界中医药,2020,15(15):2234-2239.
Zhang M, Feng L, Jia X B. Development status and prospect of traditional Chinese medicine quality evaluation technology based on biological activity and efficacy benchmark [J]. World Chin Med, 2020, 15(15): 2234-2239.
- [3] 中国药典[S].四部.2020.
Pharmacopoeia of the People's Republic of China [S]. Volume IV. 2020.
- [4] Food and Drug Administration. Botanical Drug Development Guidance for Industry [EB/OL]. (2016-12) [2021-07-15]. <https://www.fda.gov/media/93113/download>.
- [5] 国家药品监督管理局药品审评中心.国家药监局药审中心关于发布《中药生物效应检测研究技术指导原则(试行)》的通告(2020年第50号)[EB/OL].(2020-12-17) [2021-07-15]. <http://www.cde.org.cn/news.do?method=viewInfoCommon&id=5f40f0e491c63db0>.
Center for Drug Evaluation, NMPA. Announcement of Center for Drug Evaluation, NMPA on the Publication of the Technical Guidelines for the Study of Biological Effects of Chinese Medicines (for Trial Implementation) (No. 50 of 2020) [EB/OL]. (2020-12-17) [2021-07-15]. <http://www.cde.org.cn/news.do?method=viewInfoCommon&id=5f40f0e491c63db0>.
- [6] 万新焕,王瑜亮,周长征,等.丹参化学成分及其药理作用研究进展[J].中草药,2020,51(3):788-798.
Wan X H, Wang Y L, Zhou C Z, et al. Advances in chemical constituents and pharmacological effects of *Salvia miltiorrhiza* [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2020, 51(3): 788-798.
- [7] 李德坤,苏志刚,万梅绪,等.注射用丹参多酚酸药理作用及临床应用研究进展[J].药物评价研究,2019,42(2):126-134.
Li D K, Su Z G, Wan M X, et al. Research progress on pharmacological effects and clinical application of Salvanolic Acids for Injection [J]. Drug Eval Res, 2019, 42(2): 126-134.
- [8] The United States Pharmacopieial Convention. The United States Pharmacopeia 40: General Chapters [S]. Washington D. C.: The United States Pharmacopieial Convention. 2017.
- [9] 汪 钟.活血化瘀中药对血小板功能调节的机理[J].中国中西医结合杂志,1992(9):567-570.
Wang Z. Mechanism of platelet function regulation by blood-activating and stasis-removing herbs [J]. Chin J Integr Tradit West Med, 1992(9): 567-570.
- [10] 房 阁.注射用丹参多酚酸治疗缺血性脑卒中的临床效果分析[J].中西医结合心脑血管病杂志,2017,15(6):725-727.
Fang G. Clinical effect analysis of ischemic stroke treated with Salvanolic Acid for Injection [J]. Chin J Integr Med Cardio/Cerebvas Dis, 2017, 15(6): 725-727.
- [11] 娄天宇,李瑞吉,刘金辉,等.基于体外抗血小板聚集活性的丹参注射液生物活性测定法[J].中国药理学通报,2020,36(6):875-879.
Lou T Y, Li R J, Liu J H, et al. Bioassay method of *Salvia* Injection based on *in-vitro* anti-platelet aggregation activity [J]. Chin Pharmacol Bull, 2020, 36(6): 875-879.

- [12] 刘磊. 丹参水溶性成分—丹参多酚酸盐对血小板活化的抑制作用及机制研究 [D]. 上海: 复旦大学, 2013: 2-3.
Liu L. Research on the effect of salvianolate on platelet inhibition, a water-soluble component from Danshen [D]. Shanghai: Fudan University, 2013: 2-3.
- [13] 朱培霞. 丹参多酚酸对健康人血小板聚集与黏附作用影响 [J]. 北方药学, 2017, 14(9): 133.
Zhu P X. Effect of Salvia polyphenolic acid on platelet aggregation and adhesion in healthy subjects [J]. North Pharm, 2017, 14(9): 133.
- [14] Wu Y P, Zhao X M, Pan S D, et al. Salvianolic acid B inhibits platelet adhesion under conditions of flow by a mechanism involving the collagen receptor alpha2 beta1 [J]. Thromb Res, 2008, 123(2): 298-305.
- [15] 李伟, 张军平, 徐士欣, 等. 丹酚酸B对血小板聚集及释放 sP-sel 和 sCD40L 的影响 [J]. 中华中医药学刊, 2013, 31(1): 48-50.
Li W, Zhang J P, Xu S X, et al. Effect of salvianolic acid B on the platelet aggregation and sP-sel and sCD40L release [J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2013, 31(1): 48-50.
- [16] Liu L, Li J, Zhang Y, et al. Salvianolic acid B inhibits platelets as a P2Y12 antagonist and PDE inhibitor: evidence from clinic to laboratory [J]. Thromb Res, 2014, 134(4): 866-876.
- [17] Xu S, Zhong A, Bu X, et al. Salvianolic acid B inhibits platelets-mediated inflammatory response in vascular endothelial cells [J]. Thromb Res, 2015, 135(1): 137-145.
- [18] 黄张森. 丹酚酸A通过抑制3-羧基磷脂酰肌醇激酶 (PI3K)途径降低血小板激活和动脉血栓形成 [D]. 杭州: 浙江大学, 2011: 17-30.
Huang Z S. Salvianolic acid A inhibits platelet activation and arterial thrombosis via inhibition of phosphoinositide 3-kinase [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2011: 17-30.
- [19] 范华英. 丹酚酸A抗血小板及抗血栓作用的研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2012: 29-43.
Fan H Y. Antiplatelet and antithrombotic activities of salvianolic acid A [D]. Changchun: Jilin University, 2012: 29-43.
- [20] Zhou A M, Xiang Y J, Liu E Q, et al. Salvianolic acid A inhibits platelet activation and aggregation in patients with type 2 diabetes mellitus [J]. BMC Cardiovasc Disord, 2020, 20(1): 15.
- [21] Lu Y, Li Q, Liu Y Y, et al. Inhibitory effect of caffeic acid on ADP-induced thrombus formation and platelet activation involves mitogen-activated protein kinases [J]. Sci Rep, 2015, 5: 13824.
- [22] 于茜, 王凡, 刘宏斌. 血小板功能评价方法 [J]. 中华老年多器官疾病杂志, 2016, 15(11): 868-872.
Yu X, Wang F, Liu H B. Methods for platelet function testing [J]. Chin J Mult Organ Dis Elderly, 2016, 15(11): 868-872.
- [23] 游云, 廖福龙, 黄璐琦. 基于生物活性测定开展中药质量控制的研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2018, 43(3): 452-456.
You Y, Liao F L, Huang L Q. Development of bioassay method in quality control of traditional Chinese medicine [J]. China J Chin Mat Med, 2018, 43(3): 452-456.
- [24] 徐静瑶, 刘小琳, 佟玲, 等. 高效液相色谱法测定注射用丹参多酚酸中6种水溶性成分的含量 [J]. 中国新药杂志, 2015, 24(14): 1599-1603.
Xu J Y, Liu X L, Tong L, et al. HPLC determination of six water-soluble chemical constituents in Salvianolic Acids for Injection [J]. Chin J New Drugs, 2015, 24(14): 1599-1603.

[责任编辑 李红珠]