

• 药理与临床 •

基于谱效关系的灯盏细辛体外抗血小板聚集活性成分研究

伍珊娜^{1,2}, 刘振杰², 章从恩², 何琴², 王玄³, 牛明^{2*}, 王伽伯², 肖小河²

1. 江西中医药大学, 江西 南昌 330004

2. 解放军第三〇二医院全军中医药研究所, 北京 100039

3. 首都医科大学中医药学院, 北京 100069

摘要: **目的** 通过生物活性检测结合化学指纹图谱分析, 探索灯盏细辛抗血小板聚集的活性成分。 **方法** 采用 UPLC-UV 分析技术建立不同批次灯盏细辛药材化学指纹图谱, 对不同批次灯盏细辛进行抗血小板聚集活性效价检测, 基于谱效关系推测可能的活性物质, 并对 5 个高相关性成分进行体外抗血小板聚集作用的验证, 根据 5 种单体化合物在灯盏细辛中的含量差异, 计算 5 个单体化合物的相对活性贡献度。 **结果** 通过化学指纹图谱与抗血小板聚集生物效价的谱效相关分析, 筛选并鉴定出与生物活性相关系数大于 0.5 的 5 个色谱峰, 分别鉴定为绿原酸、咖啡酸、野黄芩苷、异绿原酸 A、异绿原酸 C。进一步体外实验表明 5 个化合物在相同质量浓度下均有不同程度的抗血小板聚集作用 (抑制率 16.5%~85.5%), 相对活性强度顺序: 野黄芩苷 > 异绿原酸 C > 咖啡酸 > 异绿原酸 A > 绿原酸; 而 5 种成分从相对活性贡献度来看, 异绿原酸 C 与野黄芩苷的活性贡献度大于另外 3 种成分。 **结论** 建立了灯盏细辛体外抗血小板聚集生物效价的检测方法; 且野黄芩苷和异绿原酸 C 是灯盏细辛体外抗血小板聚集的主要活性成分。

关键词: 灯盏细辛; 化学指纹图谱; 抗血小板聚集; 生物效价; 谱效相关; 绿原酸; 咖啡酸; 野黄芩苷; 异绿原酸 A; 异绿原酸 C
中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2017)24-5179-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.24.019

Study on antiplatelet aggregation active components of *Erigeron breviscapus* in vitro based on spectrum-effect correlation analysisWU Shan-na^{1,2}, LIU Zhen-jie², ZHANG Cong-en², HE Qin², WANG Xuan³, NIU Ming², WANG Jia-bo², XIAO Xiao-he²

1. College of Pharmacy, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China

2. China Military Institute of Chinese Materia, 302 Military Hospital, Beijing 100039, China

3. School of Traditional Chinese Medicine, Capital Medical University, Beijing 100069, China

Abstract: Objective To explore the active components of antiplatelet aggregation of *Erigeron breviscapus*, chemical fingerprints and bioactivity detection were used to carry out spectrum-effect correlation analysis. **Methods** A fingerprinting method was established by ultra-high performance liquid chromatography with ultraviolet detection (UPLC-UV) and then used for fingerprinting of different batches of *E. breviscapus*. The antiplatelet aggregation biopotency of different batches of *E. breviscapus* was tested, and the possible active substances were deduced based on spectrum-effect correlation analysis. Furthermore, all five compounds were verified by antiplatelet aggregation *in vitro*, and the contribution value of relative activity of the five compounds was calculated according to the difference of the contents of five kinds of monomer compounds in *E. breviscapus*. **Results** Through the spectrum-effect correlation analysis of chemical fingerprints and antiplatelet aggregation biopotency of *E. breviscapus*, five chromatographic peaks with higher bioactivity correlation coefficient were screened and identified, including chlorogenic acid, caffeic acid, scutellarin, isochlorogenic acid A, and isochlorogenic acid C. Further *in vitro* experiments showed that the five compounds had different levels of antiplatelet aggregation at same concentration (inhibition rate: 16.5%—85.5%). The sequence of the relative activity contribution is scutellarin >

收稿日期: 2017-06-22

基金项目: 全军医学科技“十二五”科研项目; 中国军事本草的调研整理与推广应用 (BWS11J049, 负责人: 肖小河); 20 种道地药材优良品种质量生物评价技术研究 (201507002, 负责人: 肖小河); 第三〇二医院院长创新基金: 便携式野战中医药医疗箱研制 (QNPY2015021, 负责人: 牛明)

作者简介: 伍珊娜, 女, 在读硕士研究生。E-mail: 276805644@qq.com

***通信作者** 牛明, 男, 博士, 助理研究员, 主要从事网络药理学和代谢组学研究。Tel: (010)66933252 E-mail: nmbright@163.com

ischlorogenic acid C > caffeic acid > ischlorogenic acid A > chlorogenic acid. In terms of activity contribution of five compounds, chlorogenic acid C and scutellarin was larger than other compounds. **Conclusion** A method for the determination of antiplatelet aggregation biopotency of *E. breviscapus* in vitro was established. Moreover, scutellarin and ischlorogenic acid C are the main active substances of *E. breviscapus* in the aspect of antiplatelet aggregation in vitro.

Key words: *Erigeron breviscapus* (Vant.) Hand. -Mazz.; chemical fingerprints; antiplatelet aggregation; biological potency; spectrum-effect correlation; chlorogenic acid; caffeic acid; scutellarin; isochromic acid A; ischlorogenic acid C

灯盏细辛为菊科植物短葶飞蓬 *Erigeron breviscapus* (Vant.) Hand. -Mazz. 的干燥全草，具有活血通络止痛、祛风散寒的功效^[1]。目前，以灯盏细辛为主药的制剂有灯盏花素片、灯盏细辛注射液、复方灯盏细辛颗粒、灯盏生脉胶囊等，灯盏细辛及其制剂主要用于治疗脑梗死、脑卒中、心绞痛及冠心病等^[2-5]，占明显的市场份额。灯盏细辛制剂在临床上应用广泛，灯盏细辛的野生药材资源供不应求；野生资源被破坏，药材资源短缺导致假品、伪品数量也随之上升，药材的品质下降给制剂的质量带来极大的隐患。因此，加强和提高灯盏细辛药材以及相关制剂的质量管理水平意义重大。目前，灯盏细辛在质量控制方面研究还不够充分，《中国药典》2015年版质量标准仅控制其黄酮类成分野黄芩苷的含量，而已有研究资料表明，仍需要多个指标成分来评价其内在质量，如测定灯盏细辛中野黄芩苷成分、多酚类成分的含量等^[6-8]。即便如此，仅依靠化学成分检测仍然不能够完全反映药材的整体活性，为了确保药材的安全性和临床疗效，关联功效的中药质量控制非常重要^[9-10]。根据本课题组前期提出的“生物评价”研究思想^[11-13]，本实验针对灯盏细辛活血功效，建立基于抗血小板聚集的灯盏细辛的活血评价方法，比较不同批次的药材抗血小板聚集的作用差异，结合化学指纹图谱进行谱效相关分析，筛选出灯盏细辛体外抗血小板聚集的可能活性成分，进一步通过单体成分活性验证，初步确认灯盏细辛抗血小板聚集的主要活性成分，为构建关联临床功效的灯盏细辛质量评控方法提供参考依据。

1 材料

1.1 灯盏细辛药材

灯盏细辛药材由云南省曲靖市宣威市龙津生物科技有限责任公司提供，共8批次样品，批号及编号分别为1.2016003 (S1)、2.2016004 (S2)、3.2016005 (S3)、4.2016006 (S4)、5.2016007 (S5)、6.2016008 (S6)、7.2016009 (S7)、8.2016010 (S8)，所有样品经解放军第三〇二医院全军中医药研究所肖小河教授鉴定为菊科植物短葶飞蓬 *Erigeron breviscapus*

(Vant.) Hand. -Mazz. 的干燥全草，为正品药材。

1.2 试剂与仪器

阿司匹林 (批号 MKBT1587V, Sigma 公司); 二磷酸腺苷酸 (ADP, 批号 7-16-5366, Helena Laboratory 美国); 对照品绿原酸 (批号 140601, 质量分数≥98%)、咖啡酸 (批号 151103, 质量分数≥98%)、野黄芩苷 (批号 160217, 质量分数≥98%)、异绿原酸 A (批号 151028; 质量分数≥98%)、异绿原酸 B (批号 16060708, 质量分数≥98%)、异绿原酸 C (批号 160724, 质量分数≥98%) 均购于成都普菲德生物技术有限公司。

AggRAM 血小板聚集仪 (美国 Helena 公司); 160C 型医用离心机 (北京白洋医疗器械有限公司); E-3200H 型电子天平 (SHIMADZU); Waters Acquity 超高效液相色谱仪 (Waters 公司), 二极管阵列检测器 (DAD), Empower 2 色谱工作站; 40 kHz 超声仪 (南京新辰生物科技有限公司); L-550 台式低速大容量离心机 (湖南湘仪离心机仪器有限公司)。

1.3 实验动物

雄性 SD 大鼠 (军事医学科学院实验动物中心), SPF 级, 体质量 240~260 g, 动物许可证号 SCXK- (军) 2012-0004。

2 方法

2.1 灯盏细辛指纹图谱测定及分析

2.1.1 供试品溶液的制备 精密称定粉碎过 40 目筛的灯盏细辛样品 0.5 g, 精密加入 50%乙醇 50 mL, 称定质量, 超声 (500 W、40 kHz) 30 min, 放冷, 再称定质量, 用 50%乙醇补足减失的质量, 摇匀, 离心, 提取液经 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 供 UPLC 分析。

2.1.2 对照品溶液的制备 精密称取绿原酸、咖啡酸、野黄芩苷、异绿原酸 A、异绿原酸 B、异绿原酸 C 对照品适量, 置于 50 mL 棕色量瓶中, 用 50%乙醇溶解至刻度, 得到含绿原酸 (0.648 μg/mL)、咖啡酸 (0.648 μg/mL)、野黄芩苷 (2.944 μg/mL)、异绿原酸 A (1.808 μg/mL)、异绿原酸 B (0.768 μg/mL)、异绿原酸 C (0.572 μg/mL) 混合对照品溶液, 储存于 4 °C 的冰箱内备用。

2.1.3 UPLC 条件 Waters ACQUITY HSS T3 色谱柱 (100 mm×2.1 mm, 1.8 μm), 体积流量 0.2 mL/min, 检测波长为 290 nm, 柱温 30 °C, 流动相为乙腈 (A) 和 0.1%磷酸水溶液 (B), 梯度洗脱: 0~7 min, 10%~42% A; 7~10 min, 42%~80% A; 10~12 min, 80%~10% A; 12~17 min, 10%A。采用国家药典委员会编制的“中药色谱指纹图谱相似度评价系统 2004A 版”进行分析, 采用平均数法生成指纹图谱共有模式, 并以此共有模式对各批次灯盏细辛药材的指纹图谱进行相似度评价。应用 MetaboAnalyst 3.0 软件进行分析。

2.2 灯盏细辛生物效价测定

2.2.1 诱导剂的制备 每瓶含有 200 μmol/L ADP, 用去离子水 1 mL 复溶, 轻轻摇晃至完全溶解, 作为诱导剂储备液。吸取适量储备液用生理盐水 (1:1) 稀释, 作为诱导剂工作液。储备液在 2~6 °C 可稳定一周或在 -80 °C 保存 3 个月, 工作液应在制备后 3 h 内使用。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取阿司匹林 10.0 mg, 加 0.1% DMSO 去离子水溶液 500.0 mL, 超声使溶解, 制成 0.032 5~6.000 0 mg/mL 的对照品溶液, 并按剂距 1:0.5 稀释成各个浓度的对照品溶液^[14]。精密称取绿原酸、咖啡酸、野黄芩苷、异绿原酸 A、异绿原酸 C 各 4.6 mg, 加 0.1% DMSO 去离子水溶液 10 mL, 超声溶解, 配成相同的质量浓度 0.46 mg/mL, 待测。

2.2.3 供试品溶液的制备 分别称取 8 批次的灯盏细辛药材粉末 5.0 g 于 50 mL 锥形瓶中, 加入 50 mL 50%乙醇, 超声提取 30 min, 经纱布滤过, 将提取后滤液, 于 50 °C 水浴锅中加热蒸发, 得到灯盏细辛提取浸膏, 待用。精密称取浸膏适量, 加含 0.1% DMSO 的去离子水溶液, 超声使溶解, 3 000 r/min 离心 5 min, 取上清液, 配制成灯盏细辛药材生药终质量浓度为 3.125~571.400 mg/mL 的供试品溶液, 并按剂距 1:0.5 稀释, 即得。

2.2.4 富血小板血浆 (PRP) 和乏血小板血浆 (PPP) 的制备 大鼠 ip 0.12 mol/L 戊巴比妥钠 (60 mg/kg) 麻醉, 腹主动脉取血, 以 0.13 mol/L 枸橼酸钠 1:9 抗凝, 800 r/min 离心 15 min, 重复 1 次, 取 2 次合并上清液作为 PRP; 剩余部分以 3 000 r/min 离心 10 min, 吸取上清液即为 PPP, 以 PPP 调节 PRP 的血小板浓度至所需浓度。

2.2.5 血小板聚集率测定 精密量取 PPP 400 μL 加入测试杯, 进行仪器调零; 另取一个测试杯, 精

密加入 PRP 125 μL, 然后再精密加入供试样品溶液 100 μL, 完成后, 将测试杯置于测试孔中, 37 °C 温育 1 min, 加入磁珠搅拌均匀, 再加入 25 μL ADP, 迅速按下开始按钮, 记录血小板聚集曲线, 考察药物抑制血小板聚集的生物活性。

2.2.6 相对效价计算 按公式计算不同质量浓度的供试品与对照品 (阿司匹林) 的血小板聚集率抑制率, 参照《中国药典》和《药品生物检定》^[15]“质反应平行线法”进行相对效价计算。

抑制率 = (空白血浆的最大聚集率 - 供试品的最大聚集率) / 空白血浆的最大聚集率

2.2.7 谱效相关性分析 用 MetaboAnalyst 3.0 软件系统进行分析; 利用 SPSS 22.0 软件的双变量 (bivariate) 相关分析方法, 以 Spearman 相关系数 (R) 和显著性 (P) 表示。

3 结果

3.1 指纹图谱分析

8 批次灯盏细辛药材指纹图谱见图 1-A, 相似度分析结果结果表明, 8 批次灯盏细辛药材相似度分别为 0.985、0.988、0.988、0.987、0.988、0.986、0.986、0.989, 均在 0.985 以上, 相似度非常高。计算 8 批次灯盏细辛药材的 31 个共有色谱峰变异系数及其平均变异系数, 见表 1。

3.2 血小板聚集率测定条件的优化

根据上述测定方法对 8 批次灯盏细辛药材的血小板最大聚集率抑制率进行测定, 且每个相同质量浓度下的灯盏细辛药材重复 3 次, 计算其平均值, 然后用各不同质量浓度 3 次抑制率的均值来计算 8 个批次灯盏细辛药材对 ADP 诱导的血小板聚集的效价。

3.2.1 剂量与抑制率的坐标转换 根据生物检定质反应坐标转换原理, 实验中对对照品组和供试品组的给药剂量和抑制率进行了坐标转换。

3.2.2 精密度考察 取相同空白供试品溶液 6 份, 按上述方法测定 6 次其对血小板聚集抑制率, 其 RSD 值为 1.05%。

3.2.3 重复性考察 取灯盏细辛样品 (S1) 6 个梯度溶液, 于当日、次日、1 个月后分别按上述方法重复测定, 计算灯盏花素平均效价值为 13.287 U/g, RSD 值为 11.2%。

3.3 药材生物效价

对 8 批次的灯盏细辛提取物进行抗血小板聚集作用测定, 每批次重复测定 3 次, 取测定结果的平

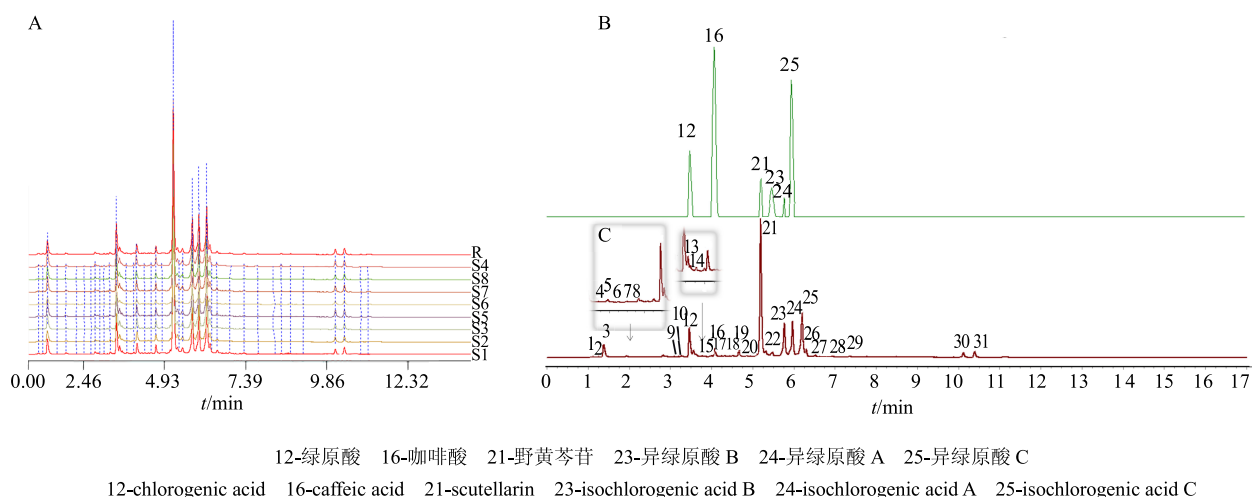


图 1 不同批次灯盏细辛药材的高效液相色谱指纹图谱 (A)、混合对照品溶液的 UPLC 图谱 (B) 和灯盏细辛药材共有的 UPLC 指纹图谱 (C)

Fig.1 UPLC fingerprints of different batches of *E. breviscapus* (A), UPLC of six standard solution (B), and UPLC fingerprints of *E. breviscapus* (C)

表 1 8 批次灯盏细辛药材 UPLC 指纹图谱各峰面积的变异系数及平均变异系数

Table 1 Peak area variation coefficient and average of fingerprint of eight batches *E. breviscapus*

峰号	变异系数/%	峰号	变异系数/%	峰号	变异系数/%	峰号	变异系数/%
P ₁	13.6	9	14.4	P ₁₇	29.8	P ₂₅	13.8
P ₂	19.9	10	29.1	P ₁₈	15.0	P ₂₆	19.9
P ₃	16.5	11	16.6	P ₁₉	14.4	P ₂₇	22.2
P ₄	15.7	12	30.0	P ₂₀	14.2	P ₂₈	35.9
P ₅	15.8	13	14.1	P ₂₁	15.3	P ₂₉	25.5
P ₆	15.8	14	14.6	P ₂₂	13.6	P ₃₀	49.9
P ₇	18.8	15	16.4	P ₂₃	15.4	P ₃₁	12.4
P ₈	25.3	16	18.1	P ₂₄	18.4	平均值	19.7

均值,通过质反应平行线法进行生物相对效价的计算,结果见图 2。由测定结果可知,批次 1、2、3、7 的灯盏细辛药材的相对效价较高,批次 4、5、6、8 的灯盏细辛药材的相对效价较低。本方法可以很好地区分不同批次灯盏细辛药材的活性差异,8 批次药材中,灯盏细辛抗血小板聚集的最高效价与最低效价相差 6 倍,提示单纯的化学指纹图谱难以反映灯盏细辛的活性和质量差异。

3.4 效价与指纹图谱各峰峰面积相关性分析

对 8 批次灯盏细辛药材的 31 个共有色谱峰峰面积与抗血小板聚集相对效价进行 Spearman 相关性分析,结果见图 3。其中 16 号峰 (P₁₆, $R=0.76$,

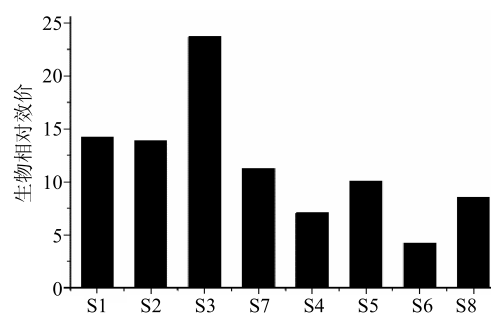


图 2 8 个批次灯盏细辛药材抗血小板相对效价

Fig. 2 Biopotency of eight batches of *E. breviscapus* based on antiplatelet aggregation

$P=0.028$)、12 号峰 (P₁₂, $R=0.67$, $P=0.07$)、21 号峰 (P₂₁, $R=0.6$, $P=0.12$)、22 号峰 (P₂₂, $R=0.76$, $P=0.028$)、24 号峰 (P₂₄, $R=0.5$, $P=0.207$)、25 号峰 (P₂₅, $R=0.74$, $P=0.037$) 的峰面积与抗血小板聚集相对效价具有较高相关性, R 均大于 0.5, 特别是 16、25 号峰, 具有较大的相关性。26 号峰的峰面积与效价相关性也很高, 但为未知成分。

3.5 单体化合物验证分析

通过与对照品比对,初步确定了灯盏细辛药材指纹图谱中 6 个主要色谱峰的归属,分别为绿原酸 (P₁₂, $t_R=3.28$ min)、咖啡酸 (P₁₆, $t_R=4.14$ min)、野黄芩苷 (P₂₁, $t_R=5.23$ min)、异绿原酸 B (P₂₃, $t_R=5.52$ min)、异绿原酸 A (P₂₄, $t_R=5.811$ min)、异绿原酸 C (P₂₅, $t_R=6.02$ min); 其他峰为未知化合物,因此,选取已鉴定的与活性相关性较高的峰

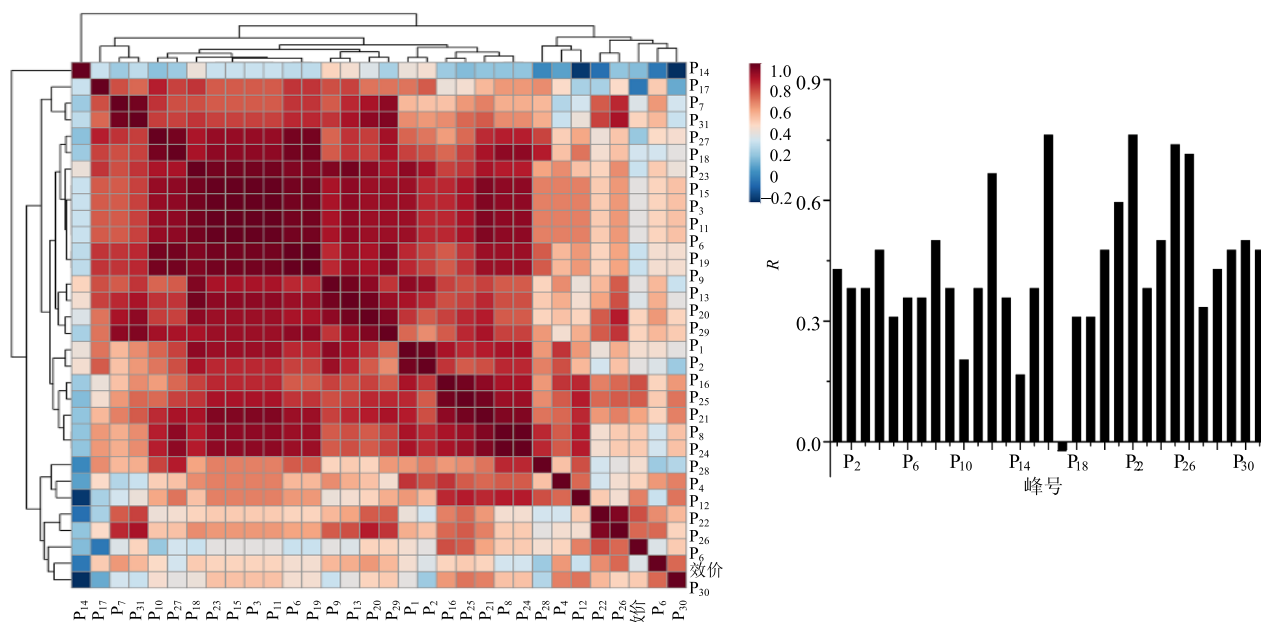


图 3 灯盏细辛药材色谱峰面积与相对效价的 Spearman 相关分析

Fig. 3 Spearman correlation analysis of peak area and biopotency of *E. breviscapus*

($P_{16} > P_{25} > P_{12} > P_{21} > P_{24}$) 共 5 个单体化合物进行下一步验证。测定相同质量浓度 (0.184 mg/mL) 下的咖啡酸, 野黄芩苷、绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 C 溶液的血小板聚集率抑制率, 结果见图 4。测定结果显示, 咖啡酸的血小板聚集率抑制率为 89%, 其次依次为异绿原酸 C、绿原酸、野黄芩苷、异绿原酸 A, 体外验证结果与谱效相关性程度一致。

另外, 计算各批次灯盏细辛药材中的成分的活性贡献度, 计算公式为活性贡献度 = 峰面积 $\times$ 平均抑制率, 取 8 批灯盏细辛药材的活性贡献度平均值做图。进一步比较 5 个相关系数较大单体的活性贡

献, 结果表明野黄芩苷和异绿原酸 C 两者的活性贡献很高, 是灯盏细辛体外抗血小板的主要活性成分 (图 4-B)。

4 讨论

灯盏细辛 (灯盏花) 为多年生草本植物, 其所含灯盏花素是目前治疗心脑血管疾病良好的天然药物。灯盏细辛在心脑血管方面具有调节心脏功能、改善心脏血流动力学、增加冠脉血流量、降低心肌氧耗量、抗纤维化的作用, 特别是具有很强抗血栓、抗血小板聚集作用^[16-20]。通过本研究发现 8 批次灯盏细辛的化学指纹图谱相似度很高, 而抗血

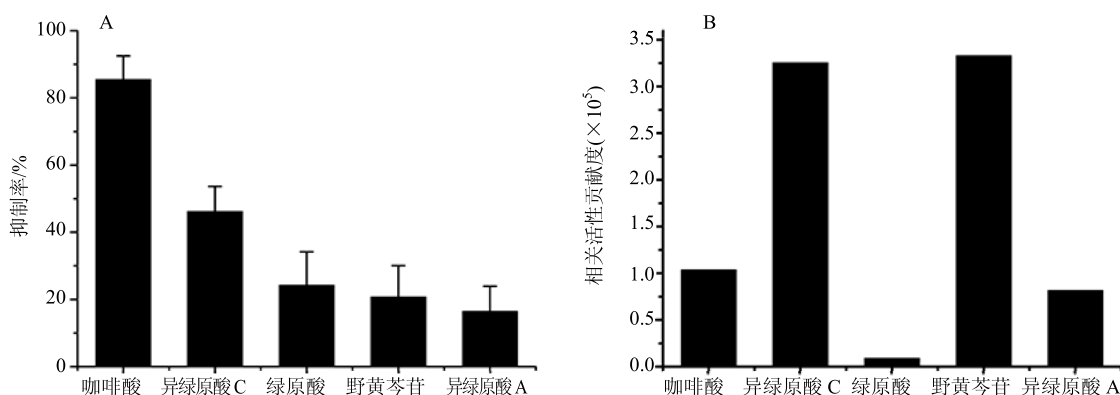


图 4 5 种单体在 0.184 mg/mL 下对血小板聚集的抑制率 (A) 和 5 个单体化合物对灯盏细辛抗血小板聚集活性的贡献度 (B)
Fig. 4 Inhibition rate of five 0.184 mg/mL monomer compounds on antiplatelet aggregation (A) and contribution value of five monomer compounds for evaluating antiplatelet aggregation of *E. breviscapus* (B)

小板聚集效价差异较大,可能的原因主要包括以下2方面:(1)《中药指纹图谱相似度软件评价系统A版》计算原理方法常采用夹角余弦法,一般情况下,相似度值主要由峰面积较大的色谱峰决定,而峰面积较小的色谱峰贡献被忽略^[21-22]。如21、23、24、25号峰峰面积占整个指纹图谱的总峰面积比例很高,但是其变异系数低于平均变异系数,说明批次间变异不大,故化学指纹图谱相似度很高。(2)指纹图谱相似性不一定反映成分含量上的不同^[23-24],也难以表征化学成分活性的差异。因此,本实验通过化学指纹图谱与生物活性评价相结合,基于谱效关系的研究,初步发现灯盏细辛抗血小板聚集的高相关活性系数物质分别为咖啡酸、异绿原酸C、绿原酸、野黄芩苷、异绿原酸A,同时体外抗血小板聚集实验验证了与在同一质量浓度下,5个单体化合物对血小板聚集抑制率结果与相关系数的高低一致。另外,有研究报道灯盏花中多酚类咖啡酸、绿原酸、异绿原酸A、异绿原酸C具有较强的抗血小板聚集作用^[25-26]。由于各化学成分在灯盏细辛中的色谱峰丰度存在差异,因此需要比较上述5种药效物质的活性贡献度,结果表明异绿原酸C、异绿原酸A、咖啡酸等酚酸类的总药效活性大于野黄芩苷,有文献报道灯盏细辛中的一系列酚酸性化合物具有扩张血管的作用和体内抑制血栓形成的作用^[27]。本研究结果提示在控制灯盏细辛质量时,应在高含量的野黄芩苷的基础上,应适当增加其他药效活性强的质控指标。此外,高相关性的22、26号峰,还有待进一步鉴定。

中药指纹图谱可以反映药材多种化学成分的整体性差异,而生物评价既关联临床功效又关联机制。因此,将化学指纹图谱与生物活性评价相结合,构建基于化学指纹图谱与抗血小板聚集效价的综合评控模式有利于对药材进行更合理的评控^[28-31]。本研究建立了基于化学指纹图谱和体外抗血小板聚集生物活性检测的灯盏细辛质量评价方法,并通过谱效相关性的研究,初步探讨了灯盏细辛抗血小板聚集的活性成分,同时也为灯盏细辛的质量控制提供参考。

参考文献

- [1] 中国药典[S].一部.2015.
- [2] 郁杰,黄成斌,廖名龙.灯盏细辛注射液临床应用新进展[J].现代中西医结合杂志,2004,13(2):277.
- [3] 苗建国,陈淑敏.灯盏细辛注射液联合胞磷胆碱钠胶

囊治疗脑梗死的临床研究[J].现代药物与临床,2016,31(1):41-44.

- [4] 莫静义.中草药灯盏花及其制剂—灯盏细辛合剂对心脑血管疾病防治的研究[A]//上海市老科学技术工作者协会学术年会会议论文集[C].上海:上海市老科学技术工作者协会,2008.
- [5] 巩晓英,胥冰,王继恒.灯盏花素注射液联合阿司匹林治疗急性缺血性脑梗死患者临床观察[J].药物评价研究,2016,39(3):429-432.
- [6] 王跃飞,潘桂湘,高秀梅,等.HPLC法同时测定不同产地灯盏细辛中4种有效成分的含量[J].药物分析杂志,2009,29(3):416-419.
- [7] 任琦,谢媛媛,祖双,等.灯盏细辛中多酚类成分定性、定量的分析[J].药物分析杂志,2013,33(7):1176-1184.
- [8] 李晓波,汪瑞波,沈勇,等.HPLC测定灯盏花不同部位绿原酸、灯盏乙素、3,5-二咖啡酰奎宁酸和4,5-二咖啡酰奎宁酸含量[J].中国中药杂志,2013,38(14):738-745.
- [9] 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.
- [10] 肖小河,张定堃,王伽伯,等.中药品质综合量化评控体系——标准评控力金字塔[J].中国中药杂志,2015,40(1):7-12.
- [11] 肖小河,鄢丹,袁海龙,等.基于成分敲除/敲入的中药药效组分辨识与质量控制模式的商建[J].中草药,2009,40(9):1345-1348.
- [12] Xiong Y, Yan D, Wang J B, et al. Biopotency assays: An integrated application to quality control of Chinese materia medica [J]. *Chin Herb Med*, 2014, 6(4): 256-264.
- [13] Liu C X. Biopotency assays, a model with integration feature for quality control research of CMM [J]. *Chin Herb Med*, 2014, 6(4): 255.
- [14] 霍志军,王金鑫,王瑞雪,等.阿司匹林抗血小板聚集的监测和机制研究[J].世界临床药物,2016,37(2):124-126.
- [15] 周海钧.药品生物检定[M].北京:人民卫生出版社,2005.
- [16] Lin L, Liu A J, Yu X, et al. Protective effects of scutellarin and breviscapine on brain and heart ischemia in rats [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2007, 50(3): 327-332.
- [17] Han Y L, Li D, Ren B, et al. Evaluation of impact of Herba Erigerontis injection, a Chinese herbal prescription, on rat hepatic cytochrome P450 enzymes by cocktail probe drugs [J]. *J Ethnopharmacol*, 2012, 139(1): 104-109.
- [18] Zhang H F, Hu X M, Wang L X, et al. Protective effects

- of scutellarin against cerebral ischemia in rats: evidence for inhibition of the apoptosis-inducing factor pathway [J]. *Plant Med*, 2009, 75(2): 121.
- [19] 刘宏, 杨祥良, 徐辉碧. 灯盏花的研究进展 [J]. 中草药, 2002, 33(6): 566-568.
- [20] 段为钢, 饶高雄, 郑明华. 灯盏细辛抗血小板活性成分研究进展 [J]. 云南中医学院学报, 2009, 32(3): 59-67.
- [21] 聂磊, 曹进, 罗国安, 等. 中药指纹图谱相似度评价方法的比较 [J]. 中成药, 2005, 27(3): 249-252.
- [22] 孙国祥, 宋扬, 毕雨萌, 等. 色谱指纹图谱全定性相似度和全定量相似度质控体系研究 [J]. 中南药学, 2007, 5(3): 263-267.
- [23] Niu C, Zhang J. Quantitative analysis and chromatographic fingerprinting of the *Semen Zizyphi Spinosae* by ultra-high-performance liquid chromatography coupled with diode-array detector [J]. *J Sep Sci*, 2011, 34(21): 2989-2996.
- [24] Wang P, Li L, Yang H, et al. Chromatographic fingerprinting and quantitative analysis for the quality evaluation of Xinkeshu tablet [J]. *J Pharm Anal*, 2012, 2(6): 422-430.
- [25] 樊宏伟, 肖大伟, 余黎, 等. 金银花及其有机酸类化合物的体外抗血小板聚集作用 [J]. 中国医院药学杂志, 2006, 26(2): 145-147.
- [26] 柯细彤, 章瑜芳, 朱兆云, 等. 灯盏细辛中咖啡酰奎宁酸防治缺血性脑卒中的研究进展 [J]. 中草药, 2017, 48(3): 609-615.
- [27] 孙汉董, 赵勤实. 防治心脑血管疾病药物——灯盏细辛酚的研究与开发 [J]. 化学进展, 2009, 21(1): 77-83.
- [28] 刘振杰, 史志龙, 王伽伯, 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, 2017, 45(5): 693-699.
- [29] 何琴, 涂灿, 王伽伯, 等. 基于谱效相关的何首乌抗血小板聚集药效物质研究 [J]. 中国中药杂志, 2017, 42(9): 1679-1684.
- [30] 徐晶晶. 基于抗氧化谱效关系分析的薄荷药材质量控制和评价方法研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2014.
- [31] 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.