

基于抗血小板聚集效价的小金丸质量评价研究

曹波¹, 慈志敏¹, 许润春¹, 冯碧¹, 许洪², 杜晓娟², 张定堃¹, 张海珠^{3*}, 韩丽^{1*}

1. 成都中医药大学药学院 西南特色中药资源国家重点实验室, 四川 成都 611137

2. 成都永康制药有限公司, 四川 成都 611137

3. 大理大学药学与化学学院, 云南 大理 671000

摘要: **目的** 旨在建立基于体外抗血小板聚集的小金丸生物效价检测方法, 评价其质量一致性, 筛选小金丸组方中发挥活血作用的中药。 **方法** 小金丸及其组方中的 10 味中药 (人工麝香、木鳖子、制草乌、枫香脂、醋乳香、醋没药、五灵脂、酒当归、地龙、京墨) 40% 甲醇超声提取, 以提取物为供试品通过血小板聚集仪测定其抗血小板聚集率。大鼠腹主动脉取血, 制备富血小板血浆 (PRP) 和乏血小板血浆 (PPP), 用二磷酸腺苷 (ADP) 诱导血小板聚集, 以阿魏酸钠作为标准对照物质, 根据简化概念单位法计算小金丸的抗血小板聚集生物效价。 **结果** 不同厂家、不同批次间小金丸的抗血小板聚集生物效价在 0.598~1.338 U/mg。小金丸组方中地龙、五灵脂和木鳖子抑制血小板聚集作用较强, 抑制率分别为 70.87%、31.83%、67.52%。 **结论** 不同厂家、不同批次小金丸质量一致性较差, 地龙、五灵脂和木鳖子可能是小金丸组方中发挥活血作用的关键中药。 **关键词:** 小金丸; 抗血小板聚集; 生物评价; 活血; 质量评价; 质量一致性; 二磷酸腺苷; 阿魏酸钠; 简化概念单位法; 生物效价; 人工麝香; 木鳖子; 制草乌; 枫香脂; 乳香; 没药; 五灵脂; 当归; 地龙; 京墨

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2020)05-1251-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.05.022

Quality evaluation of Xiaojin Pills based on antiplatelet aggregation biological potency assay

CAO Bo¹, Ci Zhi-min¹, XU Run-chun¹, FENG Bi¹, XU Hong², DU Xiao-juan², ZHANG Ding-kun¹, ZHANG Hai-zhu³, HAN Li¹

1. State Key Laboratory of Characteristic Chinese Medicine Resources in Southwest China, College of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China

2. Chengdu Yongkang Pharmaceutical Co., Ltd., Chengdu 611137, China

3. School of Pharmacy and Chemistry, Dali University, Dali 671000, China

Abstract: Objective To establish a biological potency assay for Xiaojin Pills against platelet aggregation *in vitro*, evaluate the quality consistency of Xiaojin Pills, and screen traditional Chinese medicines which play the role of promoting blood circulation in Xiaojin Pills. **Methods** Xiaojin Pills and ten Chinese medicines [artificial musk, *Momordica cochinchinensis*, *Aconitum kusnezoffii*, *Liquidambar formosana*, *Boswellia carterii*, *Commiphora myrrha*, *Faeces Troglodyteris*, *Angelica sinensis*, *Pheretima aspergillum*, Fragrant Ink] in its formula were extracted by ultrasound in 40% methanol. The antiplatelet aggregation rate of the extract was measured by platelet aggregation meter. The platelet-rich plasma (PRP) and platelet-poor plasma (PPP) were prepared from abdominal aorta of rats. The platelet aggregation was induced by adenosine diphosphate (ADP). With sodium ferulate as a standard reference material, the biological potency of antiplatelet aggregation of Xiaojin Pills was calculated by the simplified probit principle. **Results** The results showed that the biological potency of Xiaojin Pills was between 0.598 and 1.338 U/mg among different manufacturers and batches. In Xiaojin Pills group, *Pheretima*, *Faeces Troglodyteris*, and *Momordicae Semen* had stronger inhibitory effects on platelet

收稿日期: 2019-10-08

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81873232); 国家自然科学基金资助项目 (81960696); 成都中医药大学中药学学科特色创新科研团队 (CXTD2018006)

作者简介: 曹波, 男, 硕士研究生, 研究方向为药物新制剂、新工艺研究。E-mail: 809948417@qq.com

*通信作者 张海珠, 女, 博士, 教授, 研究方向为中药质量评控。E-mail: hzningjing@163.com

韩丽, 女, 教授, 博士生导师, 研究方向为中药制剂工艺原理与品质优化。E-mail: hanliy@163.com

aggregation with inhibition rates of 70.87%, 31.83% and 67.52%, respectively. **Conclusion** The quality consistency of Xiaojin Pills from different manufacturers and batches is poor, and *Pheretima*, *Faeces Troglodyter*, and *Momordica Semen* may be the key drugs for Xiaojin Pills to play the role of promoting blood circulation.

Key words: Xiaojin Pills; antiplatelet aggregation; biological evaluation; activating blood; quality evaluation; quality consistency; adenosine diphosphate; sodium ferulate; simplified probit principle; biological potency; artificial musk; *Momordica cochinchinensis* (Lour.) Spreng.; *Aconitum kusnezoffii* Reichb.; *Liquidambar formosana* Hance; *Boswellia carterii* Birdw.; *Commiphora myrrha* Engl.; *Faeces Troglodyter*; *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels; *Pheretima aspergillum* (E. Perrier); Fragrant Ink

小金丸, 又名“小金丹”, 为清代医家王洪绪《外科证治全生集》记载的经典名方, 由麝香、木鳖子、制草乌、枫香脂、醋乳香、醋没药、五灵脂、酒当归、地龙、京墨共 10 味药组成, 具有活血化瘀、散结消肿止痛等功效, 主要用于治疗痰气郁结所致的乳癖、乳岩等病症, 是当前临床治疗乳腺增生的首选中成药^[1-3]。

小金丸组方复杂, 药味组成特殊, 包含贵细药、树脂树胶类药物、动物药、粪便类药物、植物药和矿物药, 加之制备工艺中的混合均一性差, 导致小金丸质量可控性差^[4]。目前, 小金丸的品质评价方法大多依靠化学成分理化分析手段^[5-7], 但小金丸成分众多, 药效物质基础不明确, 仅用化学检测手段评价其质量一致性存在一定的弊端, 难以直接关联其活血的临床疗效。

生物评价是以药物的生物效应为基础, 以生物统计为工具, 运用特定的实验设计, 测定药物生物活性的一种方法, 具有药效相关、整体可控等优点, 符合中医药特点的质量标准控制模式及方法, 已成为中药质量评控的重要发展方向^[8-9]。活血化瘀是小金丸临床主要功效之一, 组方中包含传统活血类中药麝香、乳香、没药、当归和枫香脂, 以及现代研究发现的具有活血药理作用的中药五灵脂和地龙。因此, 本实验以小金丸临床活血化瘀疗效作为质量评价的出发点, 建立体外抗血小板聚集活性的生物评价方法, 比较不同厂家、不同批次小金丸的抗血小板聚集效价, 以期补充和完善小金丸现有的质量评价体系, 为小金丸的质量控制提供科学建议。

1 仪器与材料

1.1 仪器

AggRMA 血小板聚集分析仪, 美国 Helena 公司; XL5A 多管架自动平衡离心机, 湖南湘立科学仪器有限公司; SK2200H 超声仪, 53 kHz, 上海科导超声仪器有限公司; RE-52AA 旋转蒸发器, 上海亚荣生化仪器厂; Sdenz-100F 冷冻干燥机, 宁波新芝生物科技股份有限公司。

1.2 动物与试剂

雄性 SD 大鼠, 60 只, SPF 级, 体质量 240~260 g, 动物许可证号 SCXK-(湘) 2014-0011, 由长沙市天勤生物技术有限公司提供。戊巴比妥钠, 批号 201610, 质量分数 98%, Sigma 公司; 二磷酸腺苷 (ADP), 批号 716E021, 北京索莱宝科技有限公司; 阿魏酸钠, 批号 S31124, 质量分数 >98.0%, 上海源叶生物科技有限公司; 二甲基亚砜 (DMSO) 和甲醇均为分析纯, 水为超纯水。

1.3 小金丸样品及处方原料药物

本研究共收集共 9 个厂家 [A~I 分别代表厂家成都九芝堂金鼎药业有限公司、九寨沟天然药业集团有限责任公司、成都永康制药有限公司、西安自力中药集团有限公司、华润三九 (黄石) 药业有限公司、吉林省天光药业有限公司、南京同仁堂药业有限责任公司、北京同仁堂股份有限公司同仁堂制药厂和四川凯京制药有限公司] 30 个批次市售小金丸, 其样品编号及批次见表 1。人工麝香、木鳖子、制草乌、枫香脂、醋乳香、醋没药、五灵脂、酒当归、地龙和京墨均由成都九芝堂金鼎药业有限公司提供。经成都中医药大学药学院许润春副教授鉴定, 木鳖子为葫芦科植物木鳖 *Momordica cochinchinensis* (Lour.) Spreng. 的干燥成熟种子; 制草乌为毛茛科植物北乌头 *Aconitum kusnezoffii* Reichb. 的干燥块根; 枫香脂为金缕梅科植物枫香树 *Liquidambar formosana* Hance 的干燥树脂; 乳香为橄榄科植物乳香树 *Boswellia carterii* Birdw. 树皮渗出的树脂; 没药为橄榄科植物地丁树 *Commiphora myrrha* Engl. 的干燥树脂; 五灵脂为鼯鼠科动物复齿鼯鼠 *Trogopterus xanthipes* Milne-Edwards 的干燥粪便; 当归为伞形科植物当归 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels 的干燥根; 地龙为钜蚓科动物参环毛蚓 *Pheretima aspergillum* (E. Perrier) 的干燥体。

2 方法

2.1 小金丸抗血小板聚集效价测定

2.1.1 富血小板血浆和乏血小板血浆的制备 雄性

表 1 30 批次小金丸信息

Table 1 Detailed information about 30 batches of Xiaojin Pills

编号	批号	编号	批号	编号	批号
A1	180501	B11	1809008	C21	180903NO.015
A2	180101	B12	1803003	C22	190103NO.214
A3	180301	B13	1801002	D23	1609002Z
A4	180302	C14	170802NO.189	D24	20161101
A5	181102	C15	1811206	D25	20180102
A6	161102	C16	181207	E26	20180503
A7	171102	C17	181208	F27	20171005
A8	171001	C18	160806NO.073	G28	180501
B9	1712001	C19	180502NO.080	H29	17040028
B10	1804002	C20	180508NO.145	I30	20180703

SD 大鼠, 体质量 240~260 g, 先用戊巴比妥钠 (60 mg/kg) 麻醉, 再以 0.13 mol/L 枸橼酸钠 1:9 抗凝从腹主动脉取血, 血液置于离心机内 800 r/min 离心 10 min, 小心吸取上清液置于洁净的 5 mL EP 管内, 剩余血液重复操作 1 次, 小心吸取上清液置于前述 EP 管内, 得到富血小板血浆 (platelet-rich plasma, PRP); 剩余血液 3 500 r/min 离心 15 min, 小心吸取上清液置于另一支 5 mL EP 管内, 得到乏血小板血浆 (platelet-poor plasma, PPP), 备用。

2.1.2 诱导剂的制备 精密称取 12.8 mg 二磷酸腺苷 (ADP) 于 5 mL 量瓶中, 加入生理盐水定容至刻度, 轻轻摇晃直到完全溶解, 作为诱导剂储备液。吸取适量储备液用生理盐水按照 1:9 稀释储备液, 作为诱导剂工作液。

2.1.3 对照品溶液制备 精密称取 1 g 阿魏酸钠于 10 mL 量瓶中, 加入 5% DMSO 去离子水溶液, 超声溶解, 制成对照品储备液, 按剂间距 1:0.8 稀释成 80.0、64.0、51.2、40.7、32.6、26.0 mg/mL 6 个质量浓度的对照品溶液。

2.1.4 小金丸供试品溶液的制备 精密称取小金丸粉末 3 g, 置于具塞锥形瓶中, 精密加入 40% 甲醇 70 mL, 超声提取 40 min, 滤过, 滤渣提取第 2 次, 合并滤液, 减压回收溶剂得浓缩液, 浓缩液进行冷冻干燥得到小金丸提取物, 备用。准确称取各批次小金丸的冷冻干燥提取物适量, 加 5% DMSO 去离子水溶液, 超声溶解, 制成小金丸供试品储备液, 并按剂间距 1:0.8 分别稀释成 80.0、64.0、51.2、40.7、32.6、26.0 mg/mL 6 个质量浓度的供试品溶液。

2.1.5 血小板聚集率的测定 血小板聚集仪提前开

机预热 30 min 至 37 °C 后, 仪器调零; 在测试杯中加入 PRP 250 μL 和样品 25 μL 混匀, 加入磁珠, 预热 3 min, 加入 ADP 诱导剂 25 μL, 分别测定对照品 (standard) 和小金丸供试品 (sample) 的血小板最大聚集率, 平行测定 2 次。

2.1.6 相对效价计算方法 抑制率 (I) = (空白血浆的最大聚集率 - 样品的最大聚集率) / 空白血浆的最大聚集率。

参照《药品生物检定》^[10] 简化概率单位法的原理计算相对效价。实验中设定阿魏酸钠对照品的活血效价为 1 U/mg, 将供试品测试质量浓度和相应的抑制率输入生物效价质反应计算软件, 计算不同厂家、不同批次小金丸样品的生物效价和效价的可信限率 (FL, %), 并进行可靠性检验。

2.2 小金丸组方原料药抗血小板聚集活性测定

参照“2.1.4”项下小金丸供试品溶液的制备方法制备小金丸供试品溶液, 质量浓度为 100 mg/mL。并按小金丸组方比例, 分别称取药材粉末人工麝香 0.09 g、木鳖子 0.45 g、制草乌 0.45 g、枫香脂 0.45 g、醋乳香 0.21 g、醋没药 0.21 g、五灵脂 0.45 g、酒当归 0.21 g、地龙 0.45 g、京墨 0.03 g 置于具塞锥形瓶中, 按照小金丸提取方法制备 10 味小金丸原料药供试品溶液, 进行抗血小板聚集活性的测定, 平行测定 3 次。

2.3 统计学方法

应用 SPSS 21.0 软件对数据进行处理, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 t 检验进行两两比较, 多组比较采用方差分析。

3 结果

3.1 DMSO 的体积分数对血小板聚集的影响

在制备对照品溶液和供试品溶液时加入了助溶剂 DMSO, 而 DMSO 具有抗血小板聚集的作用^[11]。因此, 本研究考察了加入 0% (空白组)、5%、15%、25% DMSO 供试液的血小板聚集率, 平行测定 3 次。对组间聚集率进行单因素 ANOV 方差分析, 结果见表 2。结果表明, 5% DMSO 组与空白组之间无显著性差异, 15% DMSO 组与空白组之间有显著性差异 ($P < 0.05$), 25% DMSO 组与空白组之间存在极显著性差异 ($P < 0.01$)。表明 DMSO 的体积分数影响血小板聚集。故本研究采用 5% DMSO。

3.2 小金丸提取溶剂的选择

不同溶剂提取出的小金丸提取物的抗血小板聚集作用强度不同, 为了最有效的反映小金丸抗血小

板聚集活性,本研究比较了不同体积分数甲醇的提取效果。小金丸分别以 80%甲醇、40%甲醇和水为溶剂,超声提取,测定其对血小板聚集的抑制率,结果见表 3。结果表明,小金丸 40%甲醇提取物对血小板聚集的抑制率最强,为 $(85.23 \pm 2.00)\%$,故本研究选择 40%甲醇为小金丸样品的提取溶剂。

表2 不同 DMSO 体积分数对血小板聚集率的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Table 2 Effects of different DMSO volume fractions on platelet aggregation ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

DMSO 体积分数/%	血小板聚集率/%	P 值
0	62.9 ± 2.0	—
5	61.3 ± 1.3	>0.05
15	$56.1 \pm 2.0^*$	<0.05
25	$47.2 \pm 3.9^{**}$	<0.01

与空白组比较: $^*P<0.05$ $^{**}P<0.01$

$^*P<0.05$ $^{**}P<0.01$ vs blank control

表3 不同提取溶剂的小金丸提取物对血小板聚集的抑制率 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Table 3 Inhibition of platelet aggregation by extracts of Xiaojin Pills with different solvents ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

提取溶剂	抑制率/%	P 值
80%甲醇	77.12 ± 2.20	—
40%甲醇	85.23 ± 2.00	>0.05
水	$33.57 \pm 2.30^{**}$	<0.01

与 80%甲醇比较: $^{**}P<0.01$

$^{**}P<0.01$ vs 80% methanol

3.3 生物效价测定方法学考察

3.3.1 精密度考察 取同一份小金丸供试品 (C17) 溶液,按“2.1.5”项下方法连续测定 6 次,计算活血效价。结果显示小金丸的活血效价平均值为 1.204 U/mg, RSD 为 3.29%,表明仪器的精密度较好。

3.3.2 重复性考察 取同一批小金丸 (C17) 约 0.05 g,平行 6 份,精密称定,制成供试品溶液,按“2.1.5”项下方法测定,计算活血效价。结果显示,6 份小金丸 (C17) 的活血效价平均值为 1.210 U/mg, RSD 为 4.83%,表明重复性较好。

3.3.3 中间精密度考察 实验室 2 名不同实验人员在 2 个不同时间段内,分别按“2.1.5”项下方法重复测定 C19 小金丸样品 3 次,计算活血效价平均值为 1.004 U/mg, RSD 为 3.71%,说明不同实验人员对测定结果影响较小。

3.3.4 可靠性检验 可靠性结果表明,回归项有非

常显著意义 ($P<0.01$),说明随着小金丸测试剂量的增加,小金丸对血小板聚集的抑制率有规律地增加,即量-效呈直线线性关系。偏离直线和偏离平行不显著 ($P>0.05$),说明供试品和对照品呈平行直线关系。说明本方法可靠性检验的结果成立,可用于定量测定小金丸的抗血小板聚集活性。

3.4 小金丸及其组方原料药的活血效价测定结果

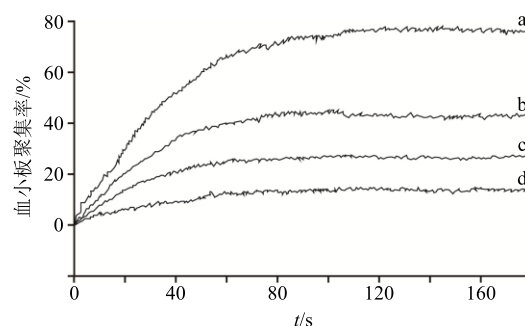
测定含有不同质量浓度小金丸供试品 (C17) 在 ADP 诱导下的血小板聚集率,典型的血小板聚集率波形图见图 1。

测定 30 批次小金丸的血小板最大聚集率,计算活血效价,结果见表 4。结果表明,30 批次小金丸的血小板聚集生物效价在 0.598~1.338 U/mg,最大相差 2.2 倍,其中 D 厂家的活血效价整体较低 (0.598~0.873 U/mg)。同一厂家不同批次之间的小金丸活血功效也有一定差异,A 厂家 8 批小金丸中,最高效价为 1.120 U/mg,最低效价为 0.819 U/mg; C 厂家 9 批小金丸中,最高效价为 1.338 U/mg,最低效价为 0.756 U/mg。目前市售小金丸活血效价存在差异,提示其质量一致性有待提升。

测定小金丸组方 10 味原料药物的血小板最大聚集率,计算抑制率,重复 3 次,结果见表 5。结果表明,单味药物地龙、五灵脂和木鳖子在小金丸方中具有较强的抑制血小板聚集作用,提示在小金丸发挥活血化瘀功效过程中,地龙、五灵脂和木鳖子起到关键性作用。

4 讨论

小金丸组方中有多种常用活血化瘀类中药,活血化瘀是其主要功效之一。现代研究表明,血栓的



a-空白对照 b~d-51.2、64.0、80.0 mg·mL⁻¹ 小金丸供试品溶液
a-blank group b~d-Xiaojin Pills 51.2, 64.0, 80.0 mg·mL⁻¹, respectively

图1 典型的含不同质量浓度小金丸供试品溶液抗血小板聚集波形图

Fig. 1 Typical oscillogram of antiplatelet aggregation rate with Xiaojin Pills at different concentrations

表 4 30 批小金丸样品抗血小板聚集效价测定结果 ($n = 2$)

Table 4 Anti-platelet aggregation bioassay results of 30 batches of Xiaojin Pills ($n = 2$)

样品	FL/%	抗血小板聚集 效价/(U·mg ⁻¹)	样品	FL/%	抗血小板聚集 效价/(U·mg ⁻¹)
A1	35.67	1.102	C16	46.97	1.338
A2	24.78	0.906	C17	44.29	1.210
A3	25.61	0.863	C18	31.50	0.756
A4	37.09	1.120	C19	37.51	0.989
A5	23.24	0.851	C20	50.39	1.147
A6	32.35	1.105	C21	38.25	1.098
A7	22.45	0.819	C22	34.47	1.042
A8	34.31	1.095	D23	29.27	0.873
B9	31.58	1.037	D24	22.27	0.598
B10	35.34	1.148	D25	26.75	0.598
B11	36.95	1.097	E26	30.99	0.933
B12	39.62	1.220	F27	40.13	1.134
B13	28.11	0.957	G28	21.56	0.796
C14	35.25	1.035	H29	37.32	1.171
C15	36.40	1.136	I30	38.22	0.896

表 5 小金丸及其组方中各药味对血小板聚集的抑制率 ($n = 3$)

Table 5 Inhibition of platelet aggregation by Xiaojin pills and its 10 constituent drugs ($n = 3$)

样品	抑制率/%	样品	抑制率/%
小金丸	82.22	醋没药	1.21
人工麝香	1.16	五灵脂	31.83
木鳖子	67.52	酒当归	1.62
制草乌	0.19	地龙	70.87
枫香脂	0.05	京墨	1.44
醋乳香	3.86		

形成与血小板聚集有直接关系^[12], 抗血小板聚集能够从一定程度上反映小金丸活血化瘀的功效。比浊法作为一种体外评价血小板聚集功能的检测方法, 在临床检验中被认可为检测血小板聚集作用的标准指南^[13-15]。本研究基于小金丸活血化瘀功效, 以血小板最大聚集率为评价指标, 用阿魏酸钠作为标准对照物质, 结合质反应计算软件定量计算活血效价值, 并通过优化小金丸的提取方法, 建立了定量测定小金丸抗血小板聚集活性的方法, 为小金丸结合临床功效的质量控制提供了有效的分析手段和科学依据。

对照品的选择是中药生物活性测定法的重要问

题之一。由于目前尚无用于生物效价研究的对照品, 临床上 ADP 受体拮抗剂的代表药物有噻氯吡啶和氯比格雷, 但它们都是前体药物, 在体外不具有抗 ADP 诱导血小板聚集的活性^[16]。阿魏酸是小金丸的有效成分之一; 阿魏酸及其相应的盐阿魏酸钠均具有体内、外抗 ADP 诱导血小板聚集的作用^[15-19], 而阿魏酸钠在水中的溶解度较好。故本实验选择阿魏酸钠作为参照物质, 标定小金丸的抗血小板聚集活性。理论上, 实验方法学考察的变异系数越小越好, 但是生物效价检测方法存在一定的因生物个体差异而引起的误差, 在准确度、精密度和可重复性方面与化学分析方法存在差距^[20-21]。本实验精密度、重复性、中间精密度的 RSD 值均小于 5%, 在生物活性测定法中属于合理范围。

本研究通过比较 30 批不同厂家、不同批次市售小金丸的抗血小板聚集效价, 客观地揭示了市售小金丸的质量差异。并通过处方分析, 筛选出小金丸组方中发挥活血作用的关键药味, 提示各厂家在投料时, 要加强地龙、五灵脂和木鳖子饮片的质量监控, 严格执行相关质量标准, 从生产源头进行药品质量控制。地龙和五灵脂作为传统中药, 均具有活血化癥功效。现代药理研究表明, 地龙具有较好的抗凝血、抗肿瘤、调节免疫、降压和抗心律失常等作用^[22]; 五灵脂具有较强的抗炎、活血化癥和抗溃疡等作用^[23]。木鳖子是一味传统的有小毒中药, 具有消肿散结、攻毒疗疮功效, 在方中用量较大。现代研究表明, 木鳖子具有抗癌、抗炎、抗菌等药理作用, 但木鳖子的活血化癥作用尚未见报道, 有文献报道其水提物及醇提物均含有一定的毒性, 主要有毒成分是木鳖子素和木鳖子皂苷类^[24], 本实验中木鳖子表现出较强体外抗血小板聚集作用是否与其毒性物质产生的细胞毒作用有关还需要进一步研究。

小金丸中其他传统活血药味在本实验中并未显示出抗血小板聚集活性, 主要原因可能是它们在小金丸处方中所占比例小, 有效成分含量较低, 未达到起效浓度。如人工麝香对大鼠体内血小板聚集有抑制效应^[25], 而其在小金丸处方中用量不到 3%, 本实验通过其在水提物中的比例计算得到较低实验剂量, 导致其未能表现出抗血小板聚集效应; 当归在体外抗血小板聚集实验中, 质量浓度在 120 mg/mL 时其血小板抑制率未达到 50%^[26], 本实验小金丸中当归的质量浓度只有 7.70 mg/mL, 故很难显

示出抗血小板聚集活性。

生物活性评价方法既能关联临床功效,又具有实际可操作性,在中药的质量评控中具有独特的优势。本研究首次采用关联临床功效的生物效价检测方法应用于小金丸的质量评价,不仅补充了小金丸的质量控制方法,也可以更加直观看到小金丸的抗血小板聚集效应,保证其临床使用的有效性和一致性。

参考文献

- [1] 孙利昆,柳芳,陈文倩,等.基于Meta分析的小金丸治疗乳腺增生疗效评价[J].中国药物评价,2016,33(5):448-451.
- [2] Xiong X, He Y N, Feng B, *et al.* Screening for the anti-inflammation quality markers of Xiaojin Pills based on HPLC-MS/MS method, COX-2 inhibition test and protein interaction network [J]. *Sci Rep*, 2018, <https://doi.org/10.1038/s41598-018-25582-7>.
- [3] 杨扬,龚护民,袁少洋.小金丸联合戈舍瑞林治疗子宫内腺异位症的临床研究[J].现代药物与临床,2018,33(9):2326-2330.
- [4] 熊茜,冯碧,曹波,等.小金丸现代研究概况及关键问题分析[J].中国中药杂志,2018,43(24):4801-4807.
- [5] 任桂林,韩丽,王小平,等.小金丸中制草乌单酯型生物碱类成分的含量测定[J].中国实验方剂学杂志,2014,20(21):123-126.
- [6] 蔡博,董林毅,王静,等.超高效液相色谱质谱联用技术同时测定小金丸中7种成分的含量[J].中国药理学杂志,2015,50(8):718-721.
- [7] 熊茜,潘媛,张婷,等.HPLC-MS/MS多组分定量测定结合化学计量学研究市售小金丸的质量一致性[J].中草药,2017,48(11):2189-2196.
- [8] 孙婷婷,马晓慧,李欣欣,等.中药生物效价研究现状及开发思路探讨[J].中草药,2017,48(9):1906-1911.
- [9] 肖小河,王伽伯,鄢丹.生物评价在中药质量标准化中的研究与应用[J].世界科学技术—中医药现代化,2014,16(3):514-518.
- [10] 周海钧.药品生物检定[M].北京:人民卫生出版社,2005.
- [11] Lehuu B, Curtis Prior P B. Effects of dimethyl sulphoxide (DMSO) on aggregation of human blood platelets [J]. *J Pharm Pharmacol*, 1987, 39(1): 62-63.
- [12] 陈奇.中药药理研究方法学[M].北京:人民卫生出版社,2011.
- [13] Harrison P. Platelet function analysis [J]. *Blood Rev*, 2005, 2(19): 111-123.
- [14] 杨雨,左建,李家明,等.苯丙烯酰胺类化合物的设计、合成及抗血小板聚集活性[J].药学学报,2017,52(1): 120-125.
- [15] 谭鹏,张海珠,李洋,等.基于活血生物效价检测大黄中10个蒽醌类成分抗血小板聚集作用初步研究[J].中草药,2018,49(4): 859-865.
- [16] 杨宏艳,王晓良.抗血小板药物研究进展[J].中国药理学杂志,2012,47(4): 250-254.
- [17] 胡益勇,徐晓玉.阿魏酸的化学和药理研究进展[J].中成药,2006,28(2): 253-255.
- [18] 高树伟,陈在嘉,陶寿淇,等.阿魏酸钠对冠心病患者血小板聚集及血小板TXA-2的影响[J].中西医结合杂志,1988,8(5): 263-265.
- [19] 王立霞,王枫,陈欣,等.阿魏酸钠的心脑血管药理作用研究进展[J].中草药,2019,50(3): 772-777.
- [20] 肖贵南,李瑾翡,陈浩桢.生物活性测定在中药质量控制中应用的可行性及研究思路[J].中药材,2008,31(4): 473-475.
- [21] 方艺霖.含小檗碱类中药品质生物评价与控制的初步研究[D].成都:成都中医药大学,2008.
- [22] 刘文雅,王曙东.地龙药理作用研究进展[J].中国中西医结合杂志,2013,2(33): 282-285.
- [23] 邱清华,邓绍云.五灵脂化学成分与药用研究进展[J].江苏科技信息,2015(11): 76-78.
- [24] 王铭章,陈执中.木鳖子及其活性成分的研究进展[J].食品与药品,2011,13(9): 364-365.
- [25] 李海涛,李婕,陈涛,等.人工麝香对急性寒凝血瘀模型大鼠凝血时间及血小板聚集率的影响[J].中国临床药理学与治疗学,2009,14(9): 1004-1007.
- [26] 陈二林,李喜香,伍珊娜,等.基于活血生物效价的当归质量评价研究[J].中药材,2019,42(4): 818-821.