

川芎及其中成药抗凝血作用测定方法的研究

华芳¹, 赵玉玲¹, 李莞¹, 王晓淇¹, 邓晶晶^{1*}, 谢晓芳¹, 王德建¹, 赵璐², 吕光华^{1,3*}

1. 成都中医药大学药学院, 四川 成都 611137
2. 四川省食品药品检验检测院, 四川 成都 611731
3. 成都中医药大学民族医药学院, 四川 成都 611137

摘要: 目的 以延长活化部分凝血活酶时间 (APTT) 为指标, 建立定量测定川芎抗凝血作用的方法, 评价川芎及其中成药的质量。方法 川芎先后用乙醇和水定量提取, 以总提取物为供试品, 体外测定延长 APTT 值。家兔心脏取血, 制备血浆, 加入 APTT 试剂后, 测定凝结时间。以 APTT 延长率为抗凝血活性的评价指标, 用阿魏酸钠标定川芎的延长 APTT 活性。根据量反应平行线法 (2.2) 计算川芎的抗凝血活性。并测定了 9 份川芎药材、饮片及中成药的抗凝血活性。结果 阿魏酸钠和川芎总提取物均具有显著的抗凝血活性, 且可靠性检验结果成立。阿魏酸钠的给药质量浓度 (1~5 mg/mL) 与其 APTT 延长率呈良好的线性关系 ($r=0.9955$)。供试品重复测定抗凝血活性的 RSD 为 9.34% ($n=6$), 可信限率为 15.98% ($n=6$)。不同川芎样品的抗凝血活性不同, 5 份川芎药材的抗凝血效价分别为 5.431~7.620 U/g, 川芎饮片及川芎酒炙饮片分别为 5.910、3.017 U/g, 通脉颗粒和血府逐瘀丸分别为 14.516、29.035 U/g。结论 建立的方法能准确测定川芎药材、饮片及其中成药的抗凝血活性并评价其质量。

关键词: 川芎; 抗凝血活性; 质量评价; 生物检定; 活化部分凝血活酶时间

中图分类号: R286.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2019)07-1698-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.07.030

Determination of anticoagulating bioactivity in *Chuanxiong Rhizome* and related Chinese patent medicines

HUA Fang¹, ZHAO Yu-ling¹, LI Wan¹, WANG Xiao-qi¹, DENG Jing-jing¹, XIE Xiao-fang¹, WANG De-jian¹, ZHAO Lu², LV Guang-hua^{1,3}

1. School of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China
2. Sichuan Institute for Food and Drug Control, Chengdu 611731, China
3. School of Ethnic Medicine, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China

Abstract: Objective To activate partial thromboplastin time (APTT) indicating the coagulation state in intrinsic coagulation system and the efficacy of anticoagulant drugs, and develop a bioassay method to quantify anticoagulating bioactivity in *Chuanxiong Rhizome* and related Chinese patent medicines for quality assessment. **Methods** *Chuanxiong Rhizome* powder was extracted in ethanol and water, respectively. The mixed extract was used as sample to quantify the level of extended APTT *in vitro*. The blood was taken from the heart of rabbit. The agglomerating time was determined after adding APTT reagent in plasma. The prolongation rate of APTT was chosen as biomarker for anticoagulating bioactivity. Sodium ferulate was chosen as reference. The amount of anticoagulating bioactivity was quantified in *Chuanxiong Rhizome* extract by the Amount reaction of parallel line analysis (2.2) method. Moreover, the amounts of anticoagulating bioactivity were quantified in the nine *Chuanxiong Rhizome* samples including *Chuanxiong Rhizome* raw materials, decoction pieces, and related Chinese patent medicines. **Results** Both sodium ferulate and *Chuanxiong Rhizome* extract showed significant anticoagulating bioactivity ($P < 0.01$). The reliability test for quantifying the level of anticoagulating bioactivity in solidum ferulate and *Chuanxiong Rhizome* extract was passed through, and the measured value was valid. The correlation coefficient

收稿日期: 2019-01-29

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81773846); 四川省重点研发项目 (2017SZ0156); 四川省教育厅资助科研项目 (17za0148); 四川高校科研创新团队建设计划 (18TD0017)

作者简介: 华芳, 女, 在读硕士, 从事中药品种、质量及资源研究。Tel: 18380445518 E-mail: 727868140@qq.com

*通信作者 吕光华, 博士生导师, 教授, 从事中药/民族药品种、质量及资源研究。Tel: (028)61800066 E-mail: lughcd@aliyun.com
邓晶晶, 实验师, 从事中药资源研究。Tel: (028)61800231 E-mail: dengjingjing-82@126.com

was 0.995 5 ($n = 5$) between the concentration of solidum ferulate in the range of 1 — 5 mg/mL and their rates of anticoagulating bioactivity. The RSD for the amounts of anticoagulating bioactivity was 9.34% ($n = 6$) by six replicated tests with the confidence limit rate of 15.98% ($n = 6$). The amounts of anticoagulating bioactivity were significant difference among various types of *Chuanxiong Rhizome* samples, i.e. 5.431 — 7.620 U/g for five *Chuanxiong Rhizome* raw materials, 5.910 and 3.017 U/g for *Chuanxiong* decoction pieces and processed slice with yellow wine, 14.516 and 29.035 U/g for Tongmai Granules and Xuefu Zhuyu Pills. **Conclusion** The developed method can accurately quantify the level of anticoagulating bioactivity in *Chuanxiong Rhizome* raw materials, decoction pieces and related Chinese patent medicines, and assess their quality.

Key words: *Chuanxiong Rhizome*; anticoagulating bioactivity; quantify assessment; bioassay; APTT

川芎药材来源于伞形科植物川芎 *Ligusticum chuanxiong* Hort. 的干燥根茎; 为常用的活血化瘀药, 具有活血行气、祛风止痛之功效, 主要通过活血祛瘀达到止痛的效果, 广泛应用于各种血瘀诸痛证^[1-4]。在现代研究的报道中^[5-8], 主要通过测定阿魏酸、藁本内酯、洋川芎内酯 A 等药效成分的含量评价川芎的质量。由于藁本内酯、洋川芎内酯 A 等苯酞类成分为挥发油, 不稳定, 难标化; 在《中国药典》2015 年版中以川芎的醇溶性浸出物 (>12%) 和阿魏酸的量 ($\geq 0.1\%$) 为指标, 评价川芎的质量^[1], 专属性不强。

功效是中药质量评价的准绳, 生物评价是中药质量评价的有效途径, 其关键因素在于药效指标的选择。现代研究表明^[9], 血瘀证与血栓性疾病息息相关。凝血系统异常是血栓性疾病的病理基础; 凝血系统激活后, 产生凝血酶, 催化纤维蛋白原形成纤维蛋白, 形成血栓^[10]。药物的抗凝作用是由于药物对凝血酶有抑制作用, 抑制纤维蛋白原形成不可逆的、牢固的、不可溶的凝块, 或者是由于纤维蛋白溶解系统的增加所致^[11]。活化部分凝血活酶时间 (APTT) 反映内源性凝血系统各凝血成分总和的凝血状况^[12-13], 指示药物的抗凝血作用, 故可作为活血化瘀功效的评价指标。

为此, 本研究收集了 9 份川芎药材、饮片及其中成药样品。先以川芎药材为对象, 参照生物检定的原理, 取家兔血液, 以 APTT 延长率为抗凝血活性的评价指标, 以阿魏酸钠为阳性药标定川芎抗凝血活性; 通过优化抗凝血活性的测定条件, 建立了定量测定川芎抗凝血活性的方法。再测定川芎药材、饮片及其中成药的抗凝血活性, 考察其适用范围, 为川芎的质量评价提供新的生物检测方法。

1 材料

1.1 动物

日本大耳白兔, 雄性, 体质量约 2.5 kg, 由成都达硕生物科技有限公司提供, 实验动物许可证号

SCXK (川) 2018-17。

1.2 试剂与药品

阿魏酸钠 (批号 S31124, 上海源叶生物科技有限公司) 质量分数 $\geq 98\%$; 0.9% 氯化钠注射液 (四川科伦药业股份有限公司); 枸橼酸三钠 (二水)、甲苯和无水乙醇均为分析纯, 由成都市科龙化工试剂厂生产。

APTT 检测试剂盒 (批号 R8028)、氯化钙溶液 (批号 R8026)、TC Butter 缓冲液 (批号 R8024)、全自动血液凝固分析装置清洗液 (批号 A7160) 均为希森美康生物科技有限公司产品。

7 份川芎药材及饮片样品来源于伞形科植物川芎 *Ligusticum chuanxiong* Hort. 的根茎, 由成都中医药大学吕光华教授鉴定。2 份含川芎的中成药从药店购买。样品信息见表 1。

1.3 仪器

CA-530 型全自动血凝仪 (日本 Sysmex 有限公司); Allegra X-30R 型超速冷冻离心机 (美国 Beckman Coulter 公司); RE-2000B 型旋转蒸发器 (上海亚荣生化仪器厂); SPSS 统计分析软件 (19.0 版, IBM); BS2000 生物统计软件。

表 1 川芎及其中成药样品的来源

Table 1 Source of *Chuanxiong Rhizome* and related Chinese patent medicines

样品编号	样品类型	产地或来源	收集时间
1	川芎药材	四川省彭州市敖平镇	2018-05
2	川芎药材	四川省什邡市隐峰镇	2018-05
3	川芎药材	四川省都江堰市柳街镇	2018-05
4	川芎药材	四川省崇州市梓潼镇	2018-05
5	川芎药材	四川省眉山市东坡区	2018-05
6	川芎饮片	四川国强中药饮片有限公司	2018-08
7	川芎酒炙饮片	成都康美药业生产有限公司	2018-12
8	通脉颗粒	贵州百灵正鑫药业有限公司	2018-08
9	血府逐瘀丸	内蒙古天奇中蒙制药股份有限公司	2018-08

2 方法

2.1 抗凝剂和阳性药的配制

2.1.1 枸橼酸三钠溶液抗凝剂的配制 称取枸橼酸三钠 3.2 g, 加生理盐水溶解, 转移至 100 mL 量瓶中, 再加生理盐水定容至刻度, 摇匀, 即得浓度 3.2% 枸橼酸钠溶液。

2.1.2 阳性药溶液的配制 精确称取阿魏酸钠 0.02 g, 置于 10 mL 量瓶中, 加入生理盐水定容至刻度, 摇匀, 得到质量浓度为 2 mg/mL 的阿魏酸钠高剂量溶液; 取 1 mL 阿魏酸钠高剂量溶液, 加入等体积的生理盐水稀释, 得质量浓度为 1 mg/mL 的阿魏酸钠低剂量溶液。

2.2 川芎供试品溶液的制备

2.2.1 川芎样品的提取 称取川芎或饮片粉末 (24 目) 60 g, 加入乙醇 600 mL, 回流提取 1 h, 滤过; 提取 3 次。滤过后的药渣再加水 600 mL, 回流提取 1 h, 滤过; 提取 3 次。合并醇提物和水提物, 减压浓缩至约 60 mL, 转移至锥形瓶中, 混合均匀, 称定质量, 即得川芎提取物。

2.2.2 川芎供试溶液的配制 取川芎提取物或中成药粉末 1.0 g, 置于 10 mL 量瓶中, 加入生理盐水溶解、定容至刻度。转移至离心管中, 离心 (6 000 r/min) 10 min; 取上清液, 即为高剂量供试溶液, 质量浓度为 100 mg/mL。取 1 mL 高剂量供试溶液, 加入等体积的生理盐水, 得到低剂量供试溶液, 质量浓度为 50 mg/mL。

2.3 血浆的制备

正常家兔心脏取血, 加枸橼酸三钠溶液与血液以 1:9 抗凝, 上下轻轻颠倒摇晃, 使抗凝剂和血液混合均匀; 3 000 r/min 离心 10 min, 收集上清液, 即得血浆。

2.4 APTT 的测定及延长率的计算

将上述制得的血浆吸入 5 支采血管中, 分别标记为生理盐水组 (空白), 阳性药高、低剂量组, 川芎供试液高、低剂量组, 置于样品支架上。取 5 个反应杯, 分别吸取 50 μ L 生理盐水、高剂量阳性药溶液、低剂量阳性药溶液、高剂量供试液和低剂量供试液。将反应杯放入反应杯支架中, 由仪器自动从相对应的采血管中吸取血浆 50 μ L, APTT 试剂 50 μ L, 37 $^{\circ}$ C 预热 1 min, 再加入 CaCl_2 溶液 50 μ L, 测定 APTT 值。

将空白组和川芎供试液组 (或阳性药组) 测得的 APTT 值代入下列公式, 计算 APTT 延长率。

$$\text{APTT 延长率} = [\text{APTT}_{\text{供试液 (或阳性药)}} - \text{APTT}_{\text{空白}}] / \text{APTT}_{\text{空白}}$$

2.5 川芎样品抗凝血活性的生物效价标定

按照《中国药典》2015 年版四部生物检定统计法中量反应平行线 (2.2) 法^[1], 选择相邻低、高剂量之间的比值为 0.5, 采用随机设计实验, 并进行可靠性检验结果的判断。定义每毫克阿魏酸钠的效价为 1 个活性单位 (U); 估计效价为 1 000 U/g, 标定川芎提取物或中成药的抗凝血活性。

2.6 样品生物效价的测定

2.6.1 川芎样品 APTT 的测定 9 份川芎药材、饮片及其中成药按“2.2”项方法制备供试品溶液, 测定 APTT 值。

2.6.2 川芎药材或饮片提取物含水量的测定 取川芎药材或饮片的提取物 3.0 g, 根据《中国药典》2015 年版四部水分测定法中甲苯法^[1], 测定该提取物的水分。每份川芎提取物平行测定 2 次, 计算平均含水量。

2.6.3 样品生物效价的计算 将川芎提取物 (或中成药) 和阳性药的 APTT 延长率代入 BS2000 生物统计软件, 计算提取物 (或中成药) 的生物效价。川芎药材或饮片抗凝血活性的生物效价需要根据提取物的提取率计算。

$$\text{药材 (饮片) 提取物的提取率} = [\text{提取物质量} \times (1 - \text{含水量})] / \text{药材或饮片质量}$$

$$\text{川芎药材 (饮片) 抗凝血活性的生物效价} = \text{提取物的生物效价} \times \text{提取物的提取率}$$

3 结果与分析

3.1 抗凝血活性定量测定方法的优化

3.1.1 血液离心转速的选择 在 2 000、2 500、3 000、3 500、4 000 r/min 离心血液, 制备血浆, 测定其 APTT 值, 分别为 (10.37 \pm 0.12)、(10.02 \pm 0.18)、(9.90 \pm 0.17)、(10.40 \pm 0.06)、(10.78 \pm 0.12) s ($n=6$)。经单因素 ANOVON 方差分析, 2 500 与 3 000 r/min 离心的 APTT 之间具有极显著性差异 ($P<0.01$); 2 000、3 500、4 000 与 3 000 r/min 离心的 APTT 值之间无显著性差异 ($P>0.05$)。由于 3 000 r/min 离心的 APTT 值最小, 故选择为离心制备血浆的转速。

3.1.2 血浆放置时间的考察 为了保证实验过程中血浆的活性, 对血浆的放置时间进行了考察。在血浆制备完成后 30、60、90、120、150、180、210 min 内分别测定 APTT 值, 分别为 (11.90 \pm 0.13)、(12.03 \pm 0.14)、(12.15 \pm 0.08)、(12.13 \pm 0.14)、(12.23 \pm 0.16)、(12.25 \pm 0.18)、(12.40 \pm 0.20) s

($n=6$)。经单因素 ANVON 方差分析, 60、90、120、150、180 与 30 min 时间段内放置血浆的 APTT 之间无显著性差异 ($P>0.05$); 而 210 min 与 30 min 时间段内放置血浆的 APTT 之间具有极显著性差异 ($P<0.01$)。表明从血浆制备完成后 180 min 内活化部分凝血活酶的活性基本不变。故在本研究中 APTT 的测定时间控制在 180 min 内。

3.2 阳性对照品阿魏酸钠线性回归方程的绘制

将阿魏酸钠配制成为 1、2、3、4、5 mg/mL 溶液, 加入到血浆中, 测定其 APTT, 并计算相应的 APTT 延长率。以阿魏酸钠的 APTT 延长率 (Y) 对质量浓度 (X) 进行线性回归, 得回归方程为 $Y=0.655 4 X-0.524 7(r=0.995 5)$ 。结果表明, 阿魏酸钠在 1~5 mg/mL 与 APTT 延长率呈良好的线性关系。

3.3 川芎提取物(中成药)抗凝血活性测定次数的考察

由于生物评价的准确性与测定次数相关, 为了既获得稳定、可靠的抗凝血活性结果(生物效价), 又节省动物量, 降低成本, 本研究对川芎提取物抗凝血活性的测定次数进行了考察。以川芎提取物为供试品, 分别测定 2、3、4、5、6 次。根据《中国药典》2015 年版中量反应平行线(2.2)法进行可靠性检验(要求回归项 $P<0.01$, 偏离平行项 $P>0.05$), 并计算供试品的抗凝血活性。结果表明, 当 $n=2$ 时, 回归项和偏离平行的 P 值未通过可靠性检验; 当 $n=3、4、5、6$ 时, 回归项和偏离平行项的 P 值均通过可靠性检验, 川芎提取物抗凝血活性的效价分别为 18.10、17.26、17.26、16.68 U/g, 可信限率分别为 11.15%、13.74%、15.10%、14.13%。由于可信限率反映方法的精密度和稳定性; 可信限率越小, 表明精密度越好。本研究测定 3 次以上的可信限率均小于 20%。故川芎提取物抗凝血活性的测定次数 3 次以上即可。

3.4 抗凝血活性定量测定的方法学验证

3.4.1 可靠性检验 根据量反应平行线(2.2)法可靠性检验结果成立的判别要求, 对定量测定川芎提取物抗凝血活性的结果进行了可靠性检验(表 2)。结果表明, 回归项极显著 ($P<0.01$), 说明随着阿魏酸钠和供试品给药剂量的增加, APTT 延长率增加呈规律性增加, 即量效呈直线线性关系。偏离平行不显著 ($P>0.05$), 表明供试品高、低剂量组的 APTT 延长率增加值构成的直线与阿魏酸钠高、低剂量组的 APTT 延长率增加值构成的直线呈平行关

表 2 川芎提取物抗凝血活性的可靠性检验

Table 2 Reliability test of anticoagulant activity for *Chuanxiong Rhizome* extract

变异来源	自由度	差方和	方差	F 值	P 值
试品间	1	0.074	0.074	1.676	<0.01
回归	1	1.084	1.084	24.589	<0.01
偏离平行	1	0.009	0.009	<1	>0.05
剂间	3	1.167	0.389	8.83	<0.01
误差	20	0.882	0.044		

系。说明本方法可靠性检验的结果成立, 可用于定量测定川芎提取物的抗凝血活性。

3.4.2 重复性考察 取同一份川芎样品, 称取 6 份, 先后经乙醇和水提取后, 测定总提取物的抗凝血活性, 计算可信限率, 再根据提取物的提取率和含水量, 计算川芎样品的抗凝血活性。结果表明, 6 份提取物抗凝血活性的可靠性检验结果均成立。其抗凝血活性和可信限率的 RSD 值分别为 9.34% 和 9.59%, 均小于 10%。表明方法的重复性良好。

3.5 方法的适应性考察

为了考察建立的定量测定川芎抗凝血活性方法的适用范围, 分别收集了 5 份川芎药材、2 种川芎饮片和 2 种含川芎的中成药样品, 测定其抗凝血活性(表 3)。结果表明, 这 3 类样品均有抗凝血活性, 并且抗凝血活性的差异较大, 表明本方法可以用于川芎药材、饮片及其中成药抗凝血活性的定量检测。

4 讨论

川芎为活血化瘀药, 其抗凝血活性可以反映活血化瘀功效。本研究以 APTT 延长率为抗凝血活性的评价指标, 用阿魏酸钠标定川芎的抗凝血活性, 通过优化抗凝血活性的测定条件, 建立了定量测定川芎抗凝血活性的方法。该方法测定结果的精密度高, 重现性好, 可准确测定川芎的抗凝血活性。通过对 5 份川芎药材、2 种川芎饮片、2 种含川芎的中成药样品的抗凝血活性的定量测定, 不同样品的抗凝血活性不同, 其质量不同。由此可见, 本方法可用于川芎药材、饮片及含川芎中成药的抗凝血活性的定量测定, 评价其质量。

由于血小板的数量和功能对 APTT 的影响很大^[14], 故检测 APTT 的标本应该是乏血小板血浆。通过离心可以将血液的血小板与红细胞、白细胞分开, 得到血浆。在不同离心转速下, 其分离效果不同^[15-16]。同时, 血浆标本存放的时间长短也会影响凝血因子的活性^[17]。为此, 本研究考察了血液离心的转速和血浆放置时间对 APTT 的影响。阿魏酸是

表 3 川芎及其中成药的抗凝血活性

Table 3 Anticoagulant activity of *Chuanxiong Rhizome* with related Chinese patent medicine

编号	样品类型	提取物的提取率/%	可信限率/%	提取物的抗凝血活性/(U·g ⁻¹)	样品的抗凝血活性/(U·g ⁻¹)
1	川芎药材	50.91	15.98	13.30	6.771
2	川芎药材	45.40	16.89	11.96	5.431
3	川芎药材	35.71	9.27	14.14	5.050
4	川芎药材	62.41	16.80	12.21	7.620
5	川芎药材	53.85	18.98	10.20	5.494
6	川芎饮片	57.38	4.33	10.30	5.910
7	川芎酒炙饮片	47.16	3.81	6.40	3.017
8	通脉颗粒	—	14.96	14.52	14.516
9	血府逐瘀丸	—	18.32	29.04	29.035

川芎的有效成分之一，是常用的抗凝药物。但是阿魏酸在水中的溶解度低，其相应的盐类化合物阿魏酸钠也具有较弱的抗凝作用^[18]；并且，在水中的溶解度较好。故选择阿魏酸钠作为延长 APTT 的阳性药，标定川芎的抗凝血活性。

本研究的结果表明，阿魏酸钠具有抗凝血作用；《中国药典》以阿魏酸为川芎药材质量评价的指标成分是有依据的。但是，川芎中的 3 大类成分酚酸类（如无机盐阿魏酸钠，人工合成盐类成分阿魏酸哌嗪盐、阿魏酸川芎嗪盐、阿魏酸川芎啉盐）、苯酞类（如洋川芎内酯 I）和生物碱类（如川芎嗪、川芎啉、人工合成衍生物 2-羟甲基-3,5,6-三甲基吡嗪、3,5,6-三甲基吡嗪-2-甲酸）均报道具有抗凝血作用。由此可见，川芎的抗凝血作用是多种成分的共同/协同作用；仅测定阿魏酸的含量难以有效评价川芎的质量；需要进一步研究、阐明川芎中哪些成分具有抗凝血作用，找出质量评价的标志物，进而建立快速、实用的川芎及其中成药质量评价方法，应用于中医药实际工作中。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [2] 张廷模. 临床中药学 [M]. 上海: 上海科技出版社, 2014.
- [3] Chen Z J, Zhang C, Gao F, et al. A systematic review on the rhizome of *Ligusticum chuanxiong* Hort. (Chuanxiong) [J]. *Food Chem Toxicol*, 2018, 119: 309-325.
- [4] 许珍晶. 丹参川芎嗪注射液治疗后循环缺血性眩晕的临床评价 [J]. *药物评价研究*, 2017, 40(9): 1334-1337.
- [5] 乔凤仙, 蔡皓, 屠鹏飞, 等. 单标多组分 HPLC 定量分析法在川芎质量评价中的应用 [J]. *药学学报*, 2015, 50(6): 749-754.
- [6] 田璐, 闫海霞, 傅欣彤, 等. 一测多评法同时测定川芎、当归饮片中多种化学成分的含量 [J]. *药物分析杂志*, 2014, 34(5): 848-854.
- [7] Zhang X L, Liu L F, Zhu L Y, et al. A high performance liquid chromatography fingerprinting and ultra high performance liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight mass spectrometry chemical profiling approach to rapidly find characteristic chemical markers for quality evaluation of dispensing granules, a case study on *Chuanxiong Rhizoma* [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2014, 88(4): 391-400.
- [8] He Y F, Li Q, Bi K S. Simultaneous determination of six active components by a single standard to determine multi-components combined with fingerprint analysis for the quality control of *Rhizoma Chuanxiong* [J]. *J Sep Sci*, 2015, 38(7): 1090-1099.
- [9] 潘祥龙, 郝二伟, 谢金玲, 等. 活血化瘀中药调节血瘀证的分子机制研究进展 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 24(24): 227-234.
- [10] 费鲜明, 陈艳, 吴万飞, 等. 仙鹤草水提物体外对血小板聚集、凝血功能及血液流变学的影响 [J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2013, 18(1): 10-16.
- [11] 孙小平, 林瑞云. 凝血参数检测与临床意义的研究 [J]. *中国社区医师*, 2009, 11(15): 15-16.
- [12] 梁进权, 宓穗卿, 王宁生. 水蛭、虻虫配伍的抗凝血和抗血小板聚集的作用 [J]. *中药材*, 2009, 32(9): 1347-1350.
- [13] 刘晓娟. PT 和 APTT 检测标本放置温度及时间对结果的影响 [J]. *医学检验与临床*, 2010, 21(6): 102-103.
- [14] 王瑾. 影响凝血试验测定结果的因素分析 [J]. *医学检验与临床*, 2008, 5(16): 封 4.
- [15] 洪兴金, 徐月河, 张起. 离心力对制备浓缩血小板聚集功能的影响 [J]. *现代检验医学杂志*, 2006, 21(5): 49.
- [16] Arora S, Doda V, Kotwal U, et al. Quantification of platelets and platelet derived growth factors from platelet-rich-plasma (PRP) prepared at different centrifugal force (g) and time [J]. *Transfus Apher Sci*, 2016, 54(1): 103-110.
- [17] 黎建安, 刘紫菱, 林珠. 存放时间和温度对凝血功能指标检测结果的影响 [J]. *检验医学与临床*, 2012, 9(1): 5-9.
- [18] 高毅滨. 阿魏酸哌嗪片和阿魏酸钠对小鼠凝血时间的影响 [J]. *中国医药指南*, 2013, 11(19): 485-486.