

调节是比较复杂的,IL-1 的细胞信号可能不是体内间质细胞功能或睾酮合成所必需的。

参考文献

- 1 Grinspon RP, Rey RA. Anti - müllerian hormone and sertoli cell function in paediatric male hypogonadism[J]. Hormone Research in Paediatrics, 2010, 73(2):81 - 92
- 2 王训立, 庄临之, 李荣皓, 等. 恒河猴睾丸内激素调控的离体研究 I — 恒河猴睾丸 Leydig 细胞的离体培养及激素分泌的研究[J]. 中国实验动物学报, 1998, 6(1):56 - 60
- 3 O'Shaughnessy PJ, Morris ID, Huhtaniemi I, et al. Role of androgen and gonadotrophins in the development and function of the sertoli cells and leydig cells: data from mutant and genetically modified mice[J]. Molecular and Cellular Endocrinology, 2009, 306(1):2 - 8
- 4 王训立, 庄临之, 李荣皓, 等. 恒河猴睾丸内激素调控的离体研究 II — 恒河猴睾丸 Sertoli 细胞的离体培养及激素分泌的研究[J]. 中国实验动物学报, 1998, 6(1):48 - 53
- 5 Elletier G. Localization of androgen and estrogen receptors in rat and primate tissue[J]. Histo Histopathol, 2000, 15(4):1261 - 1270
- 6 Willems A, Gendt KD, Allemeersch J, et al. Early effects of sertoli cell selective androgen receptor ablation on testicular gene expression

- [J]. International Journal of Andrology, 2010, 33(3):505 - 517
- 7 Oatley JM, Brinster RL. Regulation of spermatogonial stem cell self - renewal in mammals[J]. Annual Review of Cell and Developmental Biology, 2008, 24:263 - 286
- 8 Jonsson CK, Setchell BP, Martinelle N. Endotoxin - induced interleukin 1 expression in testicular macrophages is accompanied by down regulation of the constitutive expression in sertoli cells[J]. Cytokine, 2001, 14(5):283 - 288
- 9 Eman RM, Hofny MD, Mohamed E, et al. Semen parameters and hormonal profile in obese fertile and infertile males[J]. Fertility and Sterility, 2010, 94(2):581 - 584
- 10 Combes AN, Wilhelm D, Davidson T, et al. Endothelial cell migration directs testis cord formation[J]. Developmental Biology, 2009, 326(1):112 - 120
- 11 En H, Hardy MP, Zirkin BR. Age - related decreases in leydig cell testosterone production are not restored by exposure to LH in vitro [J]. Endocrinology, 2002, 143(5):1637 - 1642

(收稿:2011 - 08 - 17)

(修回:2011 - 09 - 05)

基于谱效相关的生地黄多指标成分定量分析方法的研究

王 梅 郭东艳 师延琼 王 幸

摘 要 **目的** 建立谱效相关的生地黄多指标定量分析方法。**方法** 采用高效液相色谱法建立生地黄止血作用指纹图谱,以梓醇为对照品,对达到基线分离的色谱峰进行定量,计算出各指纹峰相对于梓醇的含量。**结果** 确定出 13 个指纹峰,计算其相对于梓醇的含量。**结论** 所建方法简便、准确、可靠,可作为生地黄止血作用的质量控制方法。

关键词 生地黄 指纹图谱 多指标成分分析 梓醇

Multicomponent Quantitative Method of *Rehmannia Glutinosa* Libosch. Based on the Chromatographic Fingerprint and Pharmacological Effect Correlation. Wang Mei, Guo Dongyan, Shi Yanqiong, Wang Xing. The Preparation Center of Affiliated Hospital of Shaanxi University of Traditional Chinese Medicine, Shanxi 712000, China

Abstract **Objective** To investigate the quantitative method in the form of fingerprint peaks of *Rehmannia glutinosa* Libosch. as benchmark peak. **Methods** The fingerprints of *Rehmannia glutinosa* Libosch. were obtained by HPLC. The peaks which could separate from the baseline were defined as fingerprint peaks, and the peak of Catalpol was appointed as the benchmark peak. All the fingerprint peaks were quantified grounded on the peak of Catalpol. **Results** Thirteen fingerprint peaks were defined, and quantified rested on the peak of Catalpol. **Conclusion** A multicomponent quantitative method for *Rehmannia glutinosa* Libosch. was established, and the established method was feasible.

Key words *Rehmannia glutinosa* Libosch; Fingerprint; Quantitative method; Catalpol

基金项目:陕西省科技厅资助项目(2011K16 - 05 - 01)

作者单位:712000 咸阳,陕西中医学院附属医院制剂中心(王梅);药学院(郭东艳);712046 咸阳,陕西中医学院 2010 级研究生(师延琼、王幸)

通讯作者:郭东艳,博士,副教授,电子信箱:winter180@163.com

生地黄具有清热凉血、养阴生津之功效,主要用于治疗血热出血证,现代临床用以治疗原发性血小板减少性紫癜、功能性子宫出血等疾病^[1,2]。为控制生地黄药材的质量,笔者采用高效液相色谱法建立了生地黄止血作用的指纹图谱,以梓醇为对照品,对达到基线分离的色谱峰进行定量,计算出各指纹峰相对于梓醇的含量,并以其总量控制药材的质量。

材料与方法

1. 材料与仪器: Waters2695 高效液相色谱仪, Empower 色谱工作站, 2996 二极管阵列检测器; SB3200DT 超声波清洗机(宁波新芝生物科技股份有限公司); 梅特勒电子天平(万分之一); KZW-G 型仪表恒温不锈钢水浴锅(上海)。UV-1102 型可见—紫外分光光度计(上海天美科学仪器有限公司)。甲醇、乙腈均为色谱纯, 水为纯净水, 其他试剂均为分析纯。梓醇对照品(中国药品生物制品检定所, 供含量测定用, 批号 110808-200407)。生地黄购自西安盛兴中药饮片有限责任公司(批号分别为 20100810、20101018、20101209), 经陕西中医药大学生药教研室王继涛老师鉴定为玄参科植物地黄 *Rehmannia glutinosa* Libosch. 的干燥块根。

2. 方法: (1) 止血作用指纹图谱的建立: 色谱柱: Akasil-C18 柱(250.0mm × 4.6mm, 5 μ m), 流动相: 乙腈(A)-水(B)梯度洗脱, 0~5minA 由 0.3% 升至 1.0%, 5~10min 1.0% 升至 2.6%, 10~16min 2.6%, 16~32minA 由 2.6% 升至 8.0%, 32~40minA 由 8% 升至 15%, 40~65minA 由 15% 升至 30%; 检测波长为 210nm; 柱温: 30℃; 流速: 1ml/min。指纹图谱见图 1^[3]。(2) 指纹峰的标定: 根据图 1, 对达到基线分离的色谱峰进行标定, 确定为含量测定的对象。(3) 对照品溶液的制备: 取梓醇对照品适量, 精密称定, 加流动相溶解成每 1ml 含 0.13mg 的溶液, 即得。(4) 供试品溶液的制备: 精密称取生地黄粉末约 1g, 加入流动相 20ml 超声提取, 滤过, 取滤液蒸干, 残渣用流动相定容于 5ml 量瓶中, 以微孔滤膜(0.45 μ m)滤过, 即得。(5) 标准曲线的绘制: 分别精密吸取梓醇对照品溶液(浓度为 0.13mg/ml) 1、5、10、15、20 μ l, 按上述色谱条件注入色谱仪, 以峰面积 A 为纵坐标, 梓醇含量 C(μ g) 为横坐标绘制标准曲线, 回归方程为 $A = 270000.0000C + 14585.0000$, 相关系数 $r = 0.9999$, 梓醇在 0.13~2.60 μ g 呈良好的线性关系。(6) 精密度试验: 精密吸取对照品溶液 10 μ l, 按上述色谱条件重复进样 6 次, 记录峰面积, 结果 RSD 为 3.08%, 表明本方法精密度良好。(7) 重复性试验: 取同一批号(20100810)样品, 共 5 份, 按“供试品溶液的制备”项下方法制备供试品溶液, 分别精密吸取 10 μ l 进样, 在上述色谱条件下, 样品中梓醇的平均含量为 2.5236mg/g, RSD 为 2.25%, 表明此方法重复性良好。(8) 稳定性试验: 精密吸取同一供试品溶液(批号 20100810) 10 μ l, 分别于 0、2、4、8、12h 进样。结果 12h 内梓醇峰面积的 RSD ($n = 5$) 为 1.26%, 表明供试品 12h 内稳定。(9) 加样回收率试验: 取已知含量的生地黄(批号 20100810)

约 0.5g, 精密称定, 分别精密加入一定量的梓醇对照品, 按“供试品溶液的制备”项下方法及色谱条件进行试验, 结果梓醇的平均回收率为 98.47%, RSD 为 0.67% ($n = 5$)。

结 果

1. 生地黄止血作用多指标含量测定方法的建立: 经过方法学考察, 确定生地黄止血作用多指标含量测定的色谱条件为: 色谱柱: Akasil-C18 柱(250mm × 4.6mm, 5 μ m), 流动相: 乙腈(A)-水(B)梯度洗脱, 0~5minA 由 0.3% 升至 1.0%, 5~10min 1.0% 升至 2.6%, 10~16min 2.6%, 16~32minA 由 2.6% 升至 8.0%, 32~40minA 由 8% 升至 15%, 40~65minA 由 15% 升至 30%; 检测波长为 210nm; 柱温: 30℃; 流速: 1ml/min。梓醇在 0.13~2.60 μ g 呈良好的线性关系($r = 0.9999$), 平均回收率为 98.4%, RSD 为 0.67%。表明所建方法简便, 测定结果可靠。HPLC 色谱图见图 1。

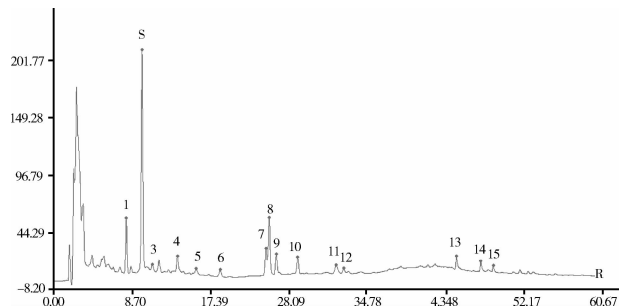


图 1 生地黄止血作用的 HPLC 指纹图谱

2. 样品含量测定: 取本品 3 批样品, 按“供试品溶液的制备”项下方法制备供试品溶液, 依上述色谱条件测定, 采用外标一点法计算样品中各指纹峰相对于梓醇的含量, 结果见表 1。

表 1 样品中各指纹峰相对于梓醇的含量测定($n = 3$)

批号	各指纹峰相对于梓醇的含量(mg/g)	RSD(%)
20100810	4.2038	0.78
20101018	4.3972	1.21
20101209	4.5821	0.96

讨 论

中药指纹图谱是指应用色谱及其联用技术最大限度地获取有用的化学信息, 结合化学计量学的理论与方法, 进行数据解析和特征信息的提取, 合理优化、量化指纹图谱, 建立多模式多柱色谱、多元检测、多水平评价的系统方法。其对控制中药及其制剂的质量控制起到了一定的积极作用。但是中药指纹图谱在

质量控制方面仍存在一定的局限性。如果能将中药的指纹图谱与药效结合进行研究,这样既能确保中药产品的有效、安全和稳定可控;同时又与中药自身的特色相契合,是当前在中药质控方面进行研究的科技工作者所面临的共同问题。目前正逐步发展起来的“谱”与“效”的相关研究在未来有可能成为解决这一难题的“钥匙”^[4]。基于以上原因,笔者在对生地黄止血作用物质基础筛选的基础上,建立了生地黄止血作用的指纹图谱^[3,5]。为了对指纹图谱进行定量分析,选择了以梓醇为基准峰,其他峰的面积与梓醇峰面积进行比较,得到各指纹峰的相对含量,这样一方面可以有效控制制剂的质量,同时又解决了其他对照

品难以获得,致使含量无法测定的问题。

参考文献

- 1 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[S]. 北京:化学工业出版社,2010:115-116
- 2 谢琦敏,叶忠伟. 张仲景运用地黄功用探讨[J]. 浙江中医药大学学报,2009,33(6):742-743
- 3 郭东艳,张丽娟,王梅,等. 生地黄止血有效部位 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(4):90-92
- 4 陈洪渊. 中药谱效相关研究的思路与方法[J]. 中国天然药物,2010,8(3):161
- 5 王梅,张丽娟,郭东艳,等. 生地黄止血作用药效物质基础的初步研究[J]. 时珍国医国药,2011,22(6):1938-1939

(收稿:2011-07-20)

(修回:2011-08-23)

止血带应用对下肢手术患者心、肝、肾功能的影响

王良荣 熊响清 金立达 白玉 赵喜越 姚海霞 吉伟 林丽娜

摘要 目的 观察止血带所致的缺血再灌注对下肢手术患者心、肝、肾功能的影响。**方法** 选择美国麻醉医师协会评分 I ~ II 级,年龄 25 ~ 60 岁,止血带充气 1.0 ~ 1.5h,择期单侧下肢手术病人 20 例,分别于扎止血带前、扎止血带后 1 h、止血带松开后 0.5、2、6 和 24h 记录血压、心率,并测定血清戊二醛、白介素-6、白介素-8、一氧化氮、内皮素-1、缺血修饰白蛋白、谷氨酸丙酮酸转氨酶、谷氨酸草酰乙酸转氨酶、胱抑素 C 和 β_2 -微球蛋白浓度。**结果** 与基础值比较,止血带松开后 2 ~ 24h 患者血清戊二醛、白介素-6、白介素-8、内皮素-1 浓度升高,而一氧化氮浓度与一氧化氮/内皮素-1 比值下降($P < 0.01$),各时点血压、心率、血清缺血修饰白蛋白、谷氨酸丙酮酸转氨酶、谷氨酸草酰乙酸转氨酶、胱抑素 C 和 β_2 -微球蛋白浓度改变均无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** 止血带应用可导致脂质过氧化、全身炎症反应及一氧化氮/内皮素-1 失衡,但不影响择期下肢手术患者心、肝、肾功能。

关键词 止血带 再灌注损伤 心功能 肝功能 肾功能

Effects of Tourniquet Application on Cardiac, Hepatic and Renal Function in Patients Undergoing Lower Extremity Surgery. Wang Lian-grong, Xiong Xiangqing, Jin Lida, Bai Yu, Zhao Xiyue, Yao Haixia, Ji Wei, Lin Lina. Department of Anesthesiology, The First Affiliated Hospital of Wenzhou Medical College, Zhejiang 325000, China

Abstract Objective To investigate the effect of tourniquet-induced ischemia reperfusion on cardiac, hepatic and renal function in patients undergoing lower extremity surgery. **Methods** Twenty patients with American Society of Anesthesiology (ASA) physical status I ~ II, aging 25 ~ 60year, tourniquet duration 1.0 ~ 1.5h, who scheduled for lower extremity surgery were studied. Serum levels of malondialdehyde (MDA), interleukin-6, 8 (IL-6, 8), nitric oxide (NO), endothelin-1 (ET-1), ischemia modified albumin (IMA), glutamate pyruvate transaminase (GPT), glutamate oxaloacetic transaminase (GOT), cystatin C and β_2 -microglobulin were measured just before tourniquet inflation, 1h after inflation and 0.5, 2, 6 and 24h after tourniquet deflation. **Results** In comparison with the baseline values, serum levels of MDA, IL-6, IL-8, ET-1 from 2h to 24h after tourniquet deflation were significantly increased ($P < 0.01$), while serum NO levels and NO/ET-1 ratios were decreased. However, no significant changes in blood pressure, heart rate,

基金项目:浙江省中医药科学研究基金资助项目(2010ZA087);浙江省医药卫生科研基金资助项目(2009A143);温州市科委课题资助项目(Y20100025)

作者单位:325000 温州医学院附属第一医院麻醉科(王良荣、熊响清、金立达、赵喜越、姚海霞、吉伟、林丽娜);450000 郑州大学附属肿瘤医院麻醉科(白玉)

通讯作者:林丽娜,教授,主任医师,电子信箱:wzlinlina@tom.com