[2] 龚建平, 韩本立, 罗 丁, 等. 急性胆道感染时肝腺泡酸性磷酸酶与细胞色素氧化酶活性的变化[J]. 第三军医大学学报, 1993, 15(1): 5-7.
[3] Duryee M J, Freeman T L, Willis M S, *et al*. Scavenger receptors on sinusoidal liver endothelial cells are involved in the uptake of aldehyde-modified proteins[J]. Mol Pharmacol, 2005, 68(5): 1423-1430.
[4] 乔安意, 钱以德, 杨 星, 等. 内毒素受体Tlr4及CD14基因在脓毒症大鼠肺、肝组织中的表达及其意义[J]. 中华实验外科杂志, 2005, 22(8): 952-953.
[5] Bilzer M, Roggel F, Gerbes A L. Role of Kupffer cells in host defense and liver disease[J]. Liver Int, 2006, 26(10): 1175-1186.
[6] Kolios G, Valatas V, Kouroumalis E. Role of Kupffer cells in the pathogenesis of liver disease[J]. World J Gastroenterol, 2006, 12(46): 7413-7420.
[7] Roberts R A, Ganey P E, Ju C, *et al*. Role of the Kupffer cell in mediating hepatic toxicity and carcinogenesis[J]. Toxicol Sci, 2007, 96(1): 2-15.
[8] Cubero F J, Nieto N. Kupffer cells and alcoholic liver disease[J]. Rev Esp Enferm Dig, 2006, 98(6): 460-472.
[9] Szabo G, Mandrekar P, Dolganiuc A. Innate immune response and hepatic inflammation[J]. Semin Liver Dis, 2007, 27(4): 339-350.
[10] Naito M, Hasegawa G, Ebe Y, *et al*. Differentiation and function of Kupffer cells[J]. Med Electron Microsc, 2004, 37(1): 16-28.

(编辑 龙 亮)

文章编号:1000-5404(2008)18-1717-01

个案与短篇

抗异散制剂的质量控制研究

吕经兰,黄明明,王凤琴 (河南省平顶山市妇幼保健院,河南 平顶山 467000)

抗异散是由黄柏、桃仁、牡丹皮、穿山甲(炙)、莪术、红花等十一味药材制成的散剂,为我院制剂,具有清热解毒,去瘀散结之功效,用于治疗子宫内膜异位症。本研究采用TLC法对方中的黄柏和红花进行定性鉴别,采用HPLC法对方中牡丹皮的主要成分丹皮酚进行含量测定,以有效控制该制剂的内在质量。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 仪器 日本岛津高效液相色谱系统:SPD-10AVP紫外检测器, LC-10ADVP输液泵,RHEODYNE 7725i手动进样阀20 μl定量环, CS-Light色谱工作站,Precisa 92SM-202A-DR型电子分析天平,SECOMAM UV IKON XL型紫外-可见分光光度计。

1.1.2 试药 黄柏对照药材(批号:121510-200501),红花对照药材(批号:120907-200407),盐酸小檗碱对照品(供鉴别用,批号:713-9003),丹皮酚对照品(供含量测定用,批号:0708-9704),均由中国药品生物制品检定所提供,乙腈为色谱纯(德国默克),其他试剂均为分析纯;抗异散样品由我院制剂室提供(批号:20070505、20070507、20070512)。

1.2 方法

1.2.1 黄柏TLC鉴别[1] 取本品粉末2 g,加甲醇10 ml,加热回流15 min,滤过,滤液作为供试品溶液。另取黄柏对照药材0.1 g,加甲醇5 ml,按供试品溶液制备方法制成对照药材溶液。再取盐酸小檗碱对照品,加甲醇制成每1 ml含0.5 mg的溶液,作为对照品溶液。按标准处方比例及工艺制备缺黄柏的阴性样品,按供试品溶液制备方法制成阴性对照溶液。吸取上述溶液各1 μl,分别点于同一硅胶G薄层板上,以甲苯-乙酸乙酯-甲醇-异丙醇-水(20∶10∶5∶5∶1)为展开剂,置氨蒸气预饱和的展开缸内,取出,晾干,置紫外光灯(365 nm)下检视。

1.2.2 红花TLC鉴别[1] 取本品粉末5 g,加80%丙酮溶液20 ml,密塞,振摇15 min,静置,吸取上清液,作为供试品溶液。另取红花对照药材0.5 g,加80%丙酮溶液5 ml,按供试品溶液制备方法制成对照药材溶液。按标准处方比例及工艺制备缺红花的阴性样品,按供试品溶液制备方法制成阴性对照溶液。吸取上述溶液各5 μl,分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶H薄层板上,以乙酸乙酯-甲酸-水-甲醇(7∶2∶3∶0.4)为展开剂,展开、取出、晾干[1]。

1.2.3 牡丹皮中主要成分丹皮酚的含量测定

1.2.3.1 对照品储备液、供试品溶液、阴性对照溶液的制备及色谱条件 精密称取丹皮酚对照品26 mg置100 ml量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,作为对照品储备液。取本品粉末约1 g,精密称定,置100 ml容量瓶中,加甲醇约70 ml,超声40 min,放冷,加甲醇稀释至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得供试品溶液。按标准处方比例配制缺牡丹皮的阴性对照样品,按供试品溶液的制备方法制成阴性对照溶液。色谱条件:色谱柱:Kromasil C18(200 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:甲醇-水(50∶50)[1];检测波长:274 nm;流速:1.0 ml/min;柱温:30 ℃。

1.2.3.2 线性关系考察 精密量取对照品溶液0.5、1.0、2.0、3.0、5.0 ml置25 ml量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,进样测定。

1.2.3.3 精密度试验 取同一对照品溶液(浓度10.4 μg/ml)连续进样5次。

1.2.3.4 重复性试验 取同一批样品(批号:20070505),5份,按样品测定项下的方法测定,并计算。

1.2.3.5 稳定性试验 取同一批样品溶液,分别在室温放置0、2、4、8、12、24 h后测定丹皮酚的峰面积积分值。

1.2.3.6 加样回收率试验 取已知含量的供试品(批号:20070505)0.5 g,9份,精密称定,分别加入丹皮酚对照品储备

(下转1725页)

作者简介:吕经兰,女,河南省平顶山市人,副主任药师,主要从事临床药学方面的研究,发表论文12篇。电话:(0375)4941001,E-mail: ljlpolss-bjy@sina.com

收稿日期:2008-07-28;修回日期:2008-08-20

EBs 的一维培养。EBs 悬浮其内,每个面充分接触培养基,使 EBs 有更充足的培养体系,一方面避免 EBs 中心坏死和 EBs 形成过程中在培养皿中贴壁,另一方面,RCCS 能制备数量多且体积均匀的 EBs,更适应干细胞组织工程的研究需要。

经过 RCCS 悬浮培养的拟胚体转移到分化培养基后,有近 90% 的拟胚体贴壁后分化为具有自发节律性收缩功能的心肌细胞,光镜下可见这些细胞。随着进一步培养,具有自发节律性收缩功能的心肌细胞数目逐渐增多,有的拟胚体在镜下可见多个有着独立收缩频率的收缩区域。免疫组织化学染色、α-sarcomeric actin、cTnT 表达阳性,这些结果表明抗坏血酸能很好地诱导小鼠胚胎干细胞定向分化为心肌细胞。在激光共聚焦显微镜下观察到红绿相间的肌原纤维束,进一步证明抗坏血酸诱导 mES 细胞源心肌细胞形态正常,具有自发节律性收缩功能。本研究应用 RT-PCR 对 α-MHC、β-MHC 在 ES 源心肌细胞中表达进行了检测,表明 ES 源心肌细胞和小鼠心肌一样表达心肌特异转录因子。可见体外诱导分化的心肌细胞可作为体外研究心脏基因表达和功能及心肌发育的实验模型。本实验结果证实:经抗坏血酸诱导小鼠胚胎干细胞能定向分化为形态、活力良好的心肌细胞,该实验体系可用于心脏疾病治疗药物的筛选和干细胞组织工程的研究。

参考文献:

[1] 曾　彬, 林国生, 罗　浩, 等. 体外诱导鼠胚胎干细胞向心肌细胞分化的实验研究[J]. 武汉大学学报: 医学版, 2006, 27(2): 184 - 187.

[2] 周　江, 杨　晓, 孙彦旬, 等. G418 抗性的小鼠胚胎干细胞滋养层的制备[J]. 军事医学科学院院刊, 2001, 25(1): 59 - 61.

[3] 钱海燕, 李庚山, 徐红新, 等. 诱导胚胎干细胞分化为心肌细胞的实验研究[J]. 武汉大学学报: 医学版,2004, 25(4): 383 - 386.

[4] Guo X M, Zhao Y S, Chang H X, *et al*. Creation of engineered cardiac tissue *in vitro* from mouse embryonic stem cells[J]. Circulation, 2006, 113(18): 2229 - 2237.

[5] E L L, Zhao Y S, Guo X M, *et al*. Enrichment of cardiomyocytes derived from mouse embryonic stem cells[J]. J Heart Lung Transplant, 2006, 25(6): 664 - 674.

[6] 林　钊, 贾竹青, 马康涛, 等. 定向诱导小鼠 ES 细胞向心肌细胞的分化[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2005, 21(2): 262 - 266.

[7] 张　良, 黄　冰, 唐仕波, 等. 体外培养拟胚体条件的探讨[J]. 中国病理生理杂志,2004, 20(4): 700 - 702.

[8] 谢　安, 汪　泱, 郭　菲, 等. BALB/C 小鼠胚胎干细胞的分离培养及初步鉴定[J]. 江西医学检验,2006, 24(1): 1 - 2, 6.

(编辑　吴培红)

(上接 1717 页)

液 2.0、3.0、4.0 ml 各 3 份,按供试品溶液制备方法制备,并按样品测定项下测定,计算含量。

1.2.3.7　样品测定　　取 3 个批号(20070505、20070507、20070512)的供试品,每批取样 3 份,每份取约 1 g,精密称定,按供试品溶液制备方法制备,进行测定。

2　结果

2.1　黄柏 TLC 鉴别结果

供试品色谱中,在与对照药材及对照品色谱相应的位置上显相同颜色的荧光斑点,阴性对照无干扰。

2.2　红花 TLC 鉴别结果

供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点。阴性对照无干扰。

2.3　牡丹皮中主要成分丹皮酚的含量测定结果

2.3.1　HPLC 色谱测定　　在此色谱条件下丹皮酚峰保留时间为 17.3 min ,理论塔板数 $n>5\ 000$,阴性对照无干扰。

2.3.2　线性关系考察　　以峰面积积分值为纵坐标,对照品浓度为横坐标,得线性回归方程为:$Y=116\ 603.4X-17\ 243.22$, $r=0.999\ 9$,结果表明在 5.2 ~ 52 μg/ml 范围内线性关系良好。

2.3.3　精密度试验结果　　测定丹皮酚峰面积积分值,RSD 为 0.2% 。

2.3.4　重复性试验结果　　丹皮酚含量的 RSD 为 0.86%。

2.3.5　稳定性试验结果　　6 次测定的丹皮酚峰面积积分值的 RSD 为 1.43%。

2.3.6　加样回收率试验结果　　平均回收率为 100.32%, RSD 为 1.08%。

2.3.7　样品测定结果　　批号 20070505:含量 2.35, RSD 1.08%;批号 20070507:含量 2.27, RSD 1.12%;批号 20070512:含量 2.29, RSD1.05%。

3　讨论

抗异散为我院制剂,方中红花性辛温,具有活血通经、散瘀止痛之功效,为君药;丹皮性苦辛,微寒,可清热凉血,活血化瘀,为臣药;黄柏性苦寒,具有清热燥湿、泻火除蒸、解毒疗疮的功效,为佐药。

中药成分复杂,鉴别仅以单一成分为对照,难以反映药品质量,在可能的情况下,应以有效成分和对照药材作对照。本研究采用 TCL 鉴别黄柏、红花专属性强,分离效果好。

丹皮酚为方中臣药牡丹皮的主要活性成分,在用高效液相色谱法测定时,方法稳定无干扰[2]。本研究采用高效液相色谱法测定丹皮酚的含量简便、快速、准确。

关键词: 抗异散;薄层色谱法;高效液相色谱法;质量标准
中图法分类号: R284.1　　**文献标识码**: B

参考文献:

[1] 中华人民共和国药典委员会. 中国药典:一部[S]. 北京:化学工业出版社, 2005: 103, 119, 214, 591.

[2] 姜　潇, 张广宏, 刘学起. HPLC 法测定牡丹皮中丹皮酚的含量[J]. 齐鲁药事, 2004, 23(6): 31.

(编辑　栾　嘉)