

注。Gao Y 等^[7]用 TLR4 抗体阻断后可减轻脑缺血小鼠脑组织海马 CA1 区和顶叶皮质缺血再灌注神经元损伤,提示 TLR4 参与脑缺血再灌注损伤的炎症反应机制。临床方面,Brea D 等^[8]发现 TLR4 与中风的预后及病灶梗死体积均独立相关。

在本研究中,我们用免疫组织化学法与免疫印迹法验证了大鼠脑缺血后 TLR4 蛋白表达有上调趋势,与文献报道一致^[9-10]。使用补阳还五汤干预后 TLR4 蛋白表达下降,在 14 d 均明显低于模型组($P < 0.05$)。但是用 RT-PCR 法发现,TLR4 的 mRNA 水平在模型组各时间点低于同时相的补阳还五汤组,第 7 天与第 14 天两组比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。其可能原因有二:一是由于模型组 TLR4 蛋白持续处于高水平,使得机体相应机制反馈性对 TLR4 基因表达进行负调控,使之表达相对减少或是降解速度加快;二是技术本身的局限,PCR 对体外 DNA 扩增是以指数倍进行,扩增达 100 万倍,灵敏、高效的同时对误差容忍度低。加之本研究采用的是 RT-PCR 两步法操作,任何细微误差都可导致效应增大。该实验尚需 Real-time PCR 检测多次重复。无论基因水平表达高低,蛋白质才是生物学功能的主要执行者。以上结果提示,补阳还五汤可能通过调节 TLR4 介导的炎症信号传导通路而减轻脑缺血后损伤,实现脑保护作用,这也可能是其治疗脑缺血后遗症的作用机制之一。

参考文献:

[1] Leung PY, Packard AE, Stenzel-Poore MP. It's all in the family:

- multiple Toll-like receptors offer promise as novel therapeutic targets for stroke neuroprotection[J]. Future Neurol, 2009, 4(2): 201-208.
- [2] 刘柏炎,蔡光先,刘维,等.补阳还五汤对大鼠局灶性脑缺血后血管内皮生长因子及其受体 Flk1 的影响[J].中草药,2007,38(3): 394-397.
- [3] 储利胜,俞天虹,刘志婷,等.补阳还五汤对大鼠局灶性脑缺血后海马齿状回神经干细胞增殖和存活的影响[J].浙江中医药大学学报,2011,35(3): 375-377.
- [4] Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats[J]. Stroke, 1989, 20(1): 84-91.
- [5] Bederson JB, Pitts LH, Tsuji M, et al. Rat middle cerebral artery occlusion: evaluation of the model and development of a neurologic examination[J]. Stroke, 1986, 17(3): 472-476.
- [6] Uematsu S, Akira S. Toll-like Receptors and Type I interferons[J]. J Biol Chem, 2007, 282(21): 15319-15323.
- [7] Gao Y, Fang X, Tong Y, et al. TLR4-mediated MyD88-dependent signaling pathway is activated by cerebral ischemia-reperfusion in cortex in mice[J]. Biomed Pharmacother, 2009, 63(6): 442-450.
- [8] Brea D, Blanco M, Ramos-Cabrera P, et al. Toll-like receptors 2 and 4 in ischemic stroke: outcome and therapeutic values[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2011, 31(6): 1424-1431.
- [9] Tu XK, Yang WZ, Shi SS, et al. Spatio-temporal distribution of inflammatory reaction and expression of TLR2/4 signaling pathway in rat brain following permanent focal cerebral ischemia[J]. Neurochem Res, 2010, 35(8): 1147-1155.
- [10] Hua F, Ma J, Ha T, et al. Differential roles of TLR2 and TLR4 in acute focal cerebral ischemia/reperfusion injury in mice[J]. Brain Res, 2009, 1262: 100-108.

(编辑:邓响潮)

金匱肾气丸对颌下腺切除大鼠生精调控的作用及机理研究

周仕轶¹, 于军桥², 邵继春³, 张蜀武⁴ (1. 成都中医药大学临床医学院, 四川 成都 611137; 2. 成都市东区医院, 四川 成都 610063; 3. 核工业部 416 医院, 四川 成都 610084; 4. 成都中医药大学附属医院, 四川 成都 610075)

摘要: **目的** 探讨金匱肾气丸对颌下腺切除大鼠生精调控的作用和机理。**方法** SD 大鼠经灌胃腺嘌呤复制成肾阳虚伴生精障碍模型,切除颌下腺将大鼠复制成唾液缺乏伴生精障碍模型。大鼠经灌胃给予金匱肾气丸混悬液,观察 1 个生精周期后大鼠附睾内成熟精子的数量与睾丸曲细精管的参数,采用免疫细胞化学法结合图像分析系统观察生精细胞凋亡相关蛋白 Bax 和 Bcl-2 的表达情况。**结果** 金匱肾气丸作用 1 个生精周期后,与其他 5 个实验组比较,肾阳虚+肾气丸组大鼠曲细精管中生精细胞出现增殖,同时生精细胞内 Bax 表达下调和 Bcl-2

收稿日期: 2012-10-24

作者简介: 周仕轶,男,博士,助理研究员,研究方向:从事男性泌尿生殖的基础和临床研究。Email: 708975441@qq.com。

表达上调 ($P < 0.01$), 与正常对照组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。肾阳虚合并颌下腺切除+肾气丸组、颌下腺切除+肾气丸组大鼠曲细精管中生精细胞有所增殖, 但与肾阳虚合并颌下腺切除组、颌下腺切除组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), Bax 和 Bcl-2 表达变化不明显 ($P > 0.05$)。结论 金匱肾气丸能通过调控生精细胞凋亡相关蛋白 Bax 和 Bcl-2, 促进肾阳虚伴生精障碍模型大鼠生精细胞增殖, 但对颌下腺切除的唾液缺乏伴生精障碍模型大鼠的 Bax 和 Bcl-2 表达基本没有调控作用, 生精细胞增殖促进能力有限。

关键词: 金匱肾气丸; 颌下腺切除; 生精调控

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1003-9783(2013)01-0021-05

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2013.01.006

Regulatory Effect and Mechanism of *Jinkui Shenqi* Pills on Spermatogenesis in Submaxillary Salivary Gland Excision Rats

ZHOU Shiyi¹, YU Junqiao², SHAO Jichun³, ZHANG Shuwu⁴ (1. Clinical Medical College of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137 Sichuan, China; 2. Chengdu Eastern District Hospital, Chengdu 610063 Sichuan, China; 3. No. 416 Hospital of Nuclear Industry, Chengdu 610084 Sichuan, China; 4. Affiliated Hospital of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610075 Sichuan, China)

Abstract: Objective To investigate the regulatory effect and mechanism of *Jinkui Shenqi* pills on spermatogenesis in submaxillary salivary gland excision rats. **Methods** SD rat model of kidney yang deficiency and spermatogenic obstacle was established by intragastric administration of adenine, and the submaxillary salivary gland was removed for the establishment of experimental model of saliva deficiency and spermatogenic obstacle. All rats were given the suspension of *Jinkui Shenqi* pills by intragastric administration for one spermatogenic period. The number of mature sperms in the epididymis and the parameters of testicular convoluted tubule were measured. The expression of apoptosis-related protein Bax and Bcl-2 in spermatogenic cells were examined by immunocytochemistry and with graphical analysis system. **Results** After treatment for one spermatogenic period with *Jinkui Shenqi* pills, the proliferation of spermatogenic cells occurred in testicular convoluted tubule of rats, the expression of Bax was down-regulated and the expression of Bcl-2 was up-regulated in the spermatogenic cells of the group of kidney yang deficiency+*Jinkui Shenqi* pills compared with the other 5 experimental groups ($P < 0.01$). None of the above indexes showed statistical significance as compared with the normal control group ($P > 0.05$). *Jinkui Shenqi* pills showed an effect on improving the proliferation of the spermatogenic cells in rats with salivary gland excision and in rats with kidney yang deficiency and submaxillary gland excision, but the difference was insignificant as compared with the model groups, and *Jinkui Shenqi* pills had no effect on the expression of Bax and Bcl-2 ($P > 0.05$). **Conclusion** *Jinkui Shenqi* pills can promote the proliferation of spermatogenic cells by regulating the expression of Bax and Bcl-2 in kidney yang deficiency and spermatogenic obstacle rats, but has little regulatory effect on protein expression and cell multiplication in saliva deficiency and spermatogenic obstacle rats.

Keywords: *Jinkui Shenqi* pills; Submaxillary salivary gland excision; spermatogenic regulation

肾为先天之本, “肾主生殖”是中医学的核心理论。近年来, 随着对颌下腺-睾丸轴的研究不断深入, “肾主生殖”的生理作用有了新的发展; 三大唾液腺之一的颌下腺分泌的表皮生长因子(EGF)在生精过程中, 能通过调节睾酮分泌而促进精子的发生和成熟^[1]。本研究旨在观察“补肾”经典方剂金匱肾气丸对颌下腺切除大鼠的生精调控作用, 探讨其作用机理, 以进一步论证颌下腺在“肾主生殖”生理功能中的重要意义。

1 材料与方法

1.1 药品及试剂 金匱肾气丸, 北京同仁堂科技发展股份有限公司制药厂, 批号: 1015851; 腺嘌呤, 中国医药(集团)上海化学试剂公司, 批号: F20110108; Bax 试剂盒(批号: H0106)、Bcl-2 试剂盒, (批号: 11206), 武汉博士德生物有限公司。

1.2 动物及分组 雄性 SD 大鼠 140 只, 由成都中医药大学动物实验中心提供, 体质量 120~150 g, 随机分为 7 组: 正常对照组, 肾阳虚组, 肾阳虚合并颌下

腺切除组, 颌下腺切除组, 肾阳虚+肾气丸组, 肾阳虚合并颌下腺切除+肾气丸组及颌下腺切除+肾气丸组, 每组 20 只。

1.3 实验方法

1.3.1 肾阳虚大鼠造模^[2] 肾阳虚组和肾阳虚合并颌下腺切除组大鼠于实验日的每天上午, 按 10 g·kg⁻¹ 剂量灌胃给予腺嘌呤溶液, 该方法不仅造成肾阳虚, 同时造成生精障碍。肾阳虚合并颌下腺切除组和颌下腺切除组同时切除颌下腺。肾阳虚+肾气丸组, 肾阳虚合并颌下腺切除+肾气丸组及颌下腺切除+肾气丸组于实验日每天下午灌胃给予相当于成人 20 倍剂量的金匱肾气丸混悬液 0.2 mL(0.4 g·kg⁻¹), 正常对照组灌胃等容积生理盐水。实验时间为 13 d(1 个生精周期)。末次给药后 24 h, 处死所有大鼠, 进行相关指标检测。

1.3.2 附睾内成熟精子计数^[3] 各组均取左侧附睾, 放入离心管内, 压迫组织使精子溢出, 通过双层擦镜纸过滤后弃去上清液, 用镊子蘸取少量沉淀物轻轻涂于玻璃片上, 干燥后经常规 HE 染色, 在 40 倍光镜下随机选取 5 个视野, 用 MIAS 图形分析系统计数(以密度表示)。

1.3.3 睾丸曲细精管参数测定^[3] 取下大鼠左侧睾丸后, 10 %中性甲醛溶液固定 48 h, 逐级酒精脱水, 石蜡包埋, 连续切片, 做 HE 染色, 在 100 倍光镜下随机选取 10 个视野, 用 MIAS 图形分析系统测量每个视野内曲细精管的管壁厚度和最大管腔直径。

1.3.4 Bax 和 Bcl-2 表达检测^[4] 分离左侧睾丸曲细精管的生精细胞, 采用免疫细胞化学染色(SP)法, DAB 显色, 10 倍光学显微镜下每组随机选择 50 个细胞, 观察阳性细胞数, 计算 Bax 和 Bcl-2 阳性细胞率。再用 MIAS 图形图像分析系统半定量检测阳性物质的积分吸光度(IA)值, IA 值越高, 代表蛋白表达越强。

1.4 统计学处理方法 所有资料均采用 SPSS 17.0 统计软件, 数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。各组间比较采用单因素方差分析, 其中方差齐者用 LSD 法, 方差不齐者用 Dunnett's 法检验。

2 结果

2.1 金匱肾气丸对大鼠附睾成熟精子数的影响 见表1。与正常对照组比较, 肾阳虚组、肾阳虚合并颌下腺切除组及颌下腺切除组大鼠附睾内成熟精子数目减少, 差异有统计学意义($P < 0.01$); 肾阳虚+肾气丸组大鼠成熟精子数明显增加, 与肾阳虚组比较, 差异

有统计学意义($P < 0.01$)。肾阳虚合并颌下腺切除+肾气丸组及颌下腺切除+肾气丸组大鼠成熟精子略有增加, 与正常对照组比较, 差异有统计学意义($P < 0.01$), 但与各对应模型组比较, 差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

表 1 各组大鼠附睾成熟精子数比较 ($\bar{x} \pm s$)
Table1 Comparison of the number of mature sperms among different groups

组别	n	剂量 /g·kg ⁻¹	精子计数($\times 10^3 \cdot L^{-1}$)
正常对照组	19	—	72.23 ± 10.01
肾阳虚组	17	—	33.63 ± 8.48**
肾阳虚合并颌下腺切除组	16	—	32.50 ± 8.71**
颌下腺切除组	14	—	32.44 ± 8.19**
肾阳虚 + 肾气丸组	16	0.4	68.87 ± 9.95 $\Delta\Delta$
肾阳虚合并颌下腺切除 + 肾气丸组	13	0.4	35.07 ± 9.02**
颌下腺切除 + 肾气丸组	14	0.4	34.84 ± 9.05**

注: 与正常对照组比较, ** $P < 0.01$; 与肾阳虚组比较, $\Delta\Delta P < 0.01$ 。

2.2 金匱肾气丸对大鼠曲细精管相关参数的影响 见表2。与正常对照组比较, 肾阳虚组、肾阳虚合并颌下腺切除组及颌下腺切除组大鼠睾丸曲细精管厚度(曲细精管管壁面积与其横截面积之比, 以百分数表示)低于正常对照组, 而管腔最大直径则大于正常对照组, 差异均有统计学意义($P < 0.01$), 说明 3 个模型组曲细精管厚度变薄导致管腔直径增大, 其生精能力均已严重下降。肾阳虚+肾气丸组大鼠曲细精管厚度明显增加、直径明显缩小, 与肾阳虚组比较, 差异有统计学意义($P < 0.01$)。肾阳虚合并颌下腺切除+肾气丸组及颌下腺切除+肾气丸组大鼠睾丸曲细精管厚度略有改善, 直径基本无变化, 与各对应模型组比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$), 与正常对照组比较差异均有统计学意义($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。

表 2 各组大鼠曲细精管参数比较 ($\bar{x} \pm s$)
Table 2 Comparison of parameters of convoluted tubules among different groups

组别	n	曲细精管厚度 /%	曲细精管管腔最大直径 / μm
正常对照组	19	0.7160 ± 0.0618	313.17 ± 15.03
肾阳虚组	17	0.5235 ± 0.0606**	347.34 ± 15.44**
肾阳虚合并颌下腺切除组	16	0.5077 ± 0.0598**	345.56 ± 15.17**
颌下腺切除组	14	0.5035 ± 0.0600**	348.03 ± 16.05**
肾阳虚 + 肾气丸组	16	0.6985 ± 0.0606 $\Delta\Delta$	316.07 ± 15.78 $\Delta\Delta$
肾阳虚合并颌下腺切除 + 肾气丸组	13	0.5132 ± 0.0533**	342.61 ± 14.97**
颌下腺切除 + 肾气丸组	14	0.5858 ± 0.0564*	340.88 ± 16.11*

注: 与正常对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与肾阳虚组比较, $\Delta\Delta P < 0.01$ 。

2.3 金匱腎氣丸對各組大鼠生精細胞 Bax 和 Bcl-2 表達的影響 见表 3。腎陽虛組、腎陽虛合併領下腺切除組和領下腺切除組 Bax 表達高於正常對照組，差異均有統計學意義($P < 0.05$, $P < 0.01$)，腎陽虛+腎氣丸組與腎陽虛組比較，差異有統計學意義($P < 0.01$)。腎陽虛合併領下腺切除+腎氣丸組及領下腺切除+腎氣丸組與各相應造模組比較，差異無統計學意義($P > 0.05$)，與正常對照組比較，差異有統計學意義($P < 0.01$)。

腎陽虛組、腎陽虛合併領下腺切除組及領下腺切除組 Bcl-2 表達低於正常對照組，差異均有統計學意義($P < 0.01$)，腎陽虛+腎氣丸組與腎陽虛組比較，差異有統計學意義($P < 0.01$)。腎陽虛合併領下腺切除+腎氣丸組及領下腺切除+腎氣丸組與各模型組比較，差異無統計學意義($P > 0.05$)，與正常對照組比較差異有統計學意義($P < 0.01$)。

表 3 各組大鼠生精細胞 Bax 和 Bcl-2 蛋白表達比較($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of the Bax and Bcl-2 expression in spermatogenic cells among different groups

組別	Bax 蛋白表達		Bcl-2 蛋白表達	
	百分率/%	IA 值($\times 10^4$ U)	百分率/%	IA 值($\times 10^4$ U)
正常對照組	52.4 $\pm$ 2.1	2.25 $\pm$ 0.23	64.4 $\pm$ 2.8	1.25 $\pm$ 0.43
腎陽虛組	62.2 $\pm$ 3.1*	3.12 $\pm$ 0.40**	37.2 $\pm$ 2.1**	0.53 $\pm$ 0.14**
腎陽虛合併領下腺切除組	75.1 $\pm$ 3.3**	3.15 $\pm$ 0.57**	33.3 $\pm$ 2.0**	0.38 $\pm$ 0.11**
領下腺切除組	70.3 $\pm$ 3.0**	3.15 $\pm$ 0.52**	35.1 $\pm$ 2.3**	0.48 $\pm$ 0.15**
腎陽虛+腎氣丸組	55.2 $\pm$ 2.4 $\Delta\Delta$	2.44 $\pm$ 0.27 $\Delta\Delta$	59.2 $\pm$ 1.8 $\Delta\Delta$	1.14 $\pm$ 0.37 $\Delta\Delta$
腎陽虛合併領下腺切除+腎氣丸組	75.5 $\pm$ 3.1**	3.20 $\pm$ 0.43**	35.5 $\pm$ 2.1**	0.58 $\pm$ 0.13**
領下腺切除+腎氣丸組	70.1 $\pm$ 3.7**	3.10 $\pm$ 0.44**	36.1 $\pm$ 2.7**	0.53 $\pm$ 0.10**

注：與正常對照組比較，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ ；與腎陽虛組比較， $\Delta\Delta P < 0.01$ 。

3 討論

現代研究證實，“腎主生殖”主要通過下丘腦-垂體-睪丸軸發揮生理作用。領下腺-睪丸軸中的各表皮生長因子和受體具有調節睪酮分泌、促進精子發生和成熟以及調控生精細胞凋亡等作用^[9]，說明領下腺與男性生殖功能具有非常密切的關係。領下腺具有外分泌和內分泌的雙重生理功能，其分泌的唾液中含有大量表皮生長因子，這些因子參與了領下腺-睪丸軸的生理功能^[6]。本研究基於上述理論，探討金匱腎氣丸對領下腺切除唾液缺乏大鼠的生精調控作用和機理，以進一步闡明領下腺在“腎主生殖”生理功能中的重要意義。

促凋亡基因 Bax 和凋亡抑制基因 Bcl-2 常以異二聚體 Bax/Bcl-2 的形式存在於生精細胞內，兩者的比

例對調控生精細胞的凋亡至關重要。研究表明^[7-8]，Bax 和 Bcl-2 參與了小鼠和大鼠生精細胞的生理性凋亡。王晨陽等^[9]通過熒光定量聚合酶鏈反應檢測發現，領下腺切除大鼠睪丸內 Bax 和 Bcl-2 mRNA 比值隨着領下腺切除時間增長而增加，生精細胞凋亡也增加，表明 Bax 和 Bcl-2 的表達在領下腺切除大鼠生精細胞凋亡中發揮了關鍵作用。

金匱腎氣丸出自著名醫家張仲景的《金匱要略》，是中醫學治療腎陽虛證的經典方劑。方中附子大辛大熱，為溫陽諸藥之首；桂枝辛甘而溫，乃溫通陽氣要藥，兩者共為君藥；重用干地黄，配以山茱萸和山藥，共為臣藥，體現“善補陽者，必陰中求陽”；再以澤瀉、丹皮、茯苓為使，補瀉結合。全方補腎填精、溫腎助陽，臨床多用於治療男性不育症、腎上腺皮質功能減退、甲狀腺功能低下、更年期綜合症和糖尿病等疾病^[10]。金匱腎氣丸對男性生殖系統的調控作用特別突出，張樹成等^[11]研究發現，金匱腎氣丸通過促進睪酮分泌，改善生精環境，達到促使精子生成的作用，藥理作用偏重於助“腎氣”；劉賀亮等^[12]研究發現，金匱腎氣丸能通過調控腎陽虛證大鼠生精細胞 Bax 和 Bcl-2 的表達，抑制生精細胞凋亡，保護生殖能力。同時，金匱腎氣丸具有治療“消渴”的功效，其具有溫陽化氣、助水津布散的藥理作用，臨床還可用於治療口乾口苦等病症。因此金匱腎氣丸是研究領下腺切除唾液缺乏大鼠生精功能調控的理想方劑。

本研究發現，金匱腎氣丸能通過抑制 Bax 表達，增強 Bcl-2 表達，改善腺嘌呤致腎陽虛伴生精障礙大鼠附睪成熟精子數，增加睪丸曲細精管厚度，從而提高其生精能力，這是其治療“腎陽虛”生精功能障礙的重要機理。但對於領下腺切除的唾液缺乏伴生精障礙大鼠以及腎陽虛合併領下腺切除大鼠的上述蛋白基本不具調控作用，對其生精能力改善不明顯。因此，本研究初步證實了領下腺在“腎主生殖”生理功能中的重要作用，並認為當其功能受損（如領下腺切除）時，金匱腎氣丸不能通過調控 Bax 及 Bcl-2 的表達來發揮生精作用。

參考文獻：

- [1] Geiger TL, Khan M, Whisnant CS, et al. Regulation of DNA synthesis in Leydig cells obtained from neonatal pig testes[J]. Domest Anim Endocrinol, 1999, 17(1): 65-75.
- [2] 邵命海, 肖靜, 王毅興, 等. 從“腎主生殖”角度評價腺嘌呤與氫化可的松誘導的腎陽虛模型[J]. 上海中醫藥雜誌, 2008, 42(2): 57-59.
- [3] 于軍橋. “腎主生殖”與領下腺-睪丸軸的關係[D]. 成都中醫藥大學,

- 2002; 3.
- [4] 董杰影, 楼哲丰, 赵惠玲. 甲醛对小鼠睾丸生殖细胞的 DNA 损伤及 Bcl-2、BAX 蛋白表达的影响[J]. 中国工业医学杂志, 2007, 20(2): 108-109.
- [5] 曹兴午. 颌下腺—睾丸轴[J]. 中国男科学杂志, 2008, 22(9): 62-65.
- [6] Rougeot C, Rosinski-Chupin I, Mathison R, et al. Rodent sub-mandibular gland peptide hormones and other biologically active peptides[J]. Peptides, 2000, 21(3): 443-455.
- [7] Rodriguez I, Ody C, Araki K, et al. An early and massive wave of germinal cell apoptosis is required for the development of functional spermatogenesis[J]. EMBO J, 1997, 16(9): 2262-2270.
- [8] Taylor MF, Woolveridge I, Metcalfe AD, et al. Leydig cell apoptosis in the rat testes after administration of the cytotoxin ethane dimethane-sulphonate: role of the Bcl-2 family members[J]. J Endocrinol, 1998, 157(2): 317-326.
- [9] 王晨阳, 马白坤, 侯林, 等. 荧光定量聚合酶链反应检测去颌下腺大鼠睾丸 Bax 和 Bcl-2 mRNA 的改变[J]. 生殖医学杂志, 2008, 17(3): 211-215.
- [10] 邓中甲. 方剂学[M]. 2 版. 北京: 中国中医药出版社, 2010: 171-172.
- [11] 张树成, 贺斌, 王尚明, 等. 五子衍宗丸和金匱肾气丸对动物生精功能影响的比较研究[J]. 中国计划生育学杂志, 2009, (7): 401-404.
- [12] 刘贺亮, 陈长生, 秦军, 等. 金匱肾气丸对肾阳虚证雄性大鼠生精细胞中凋亡相关蛋白 Bcl-2、Bax 的影响[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2011, 15(11): 2038-2041.

(编辑: 邓响潮)

桂枝甘草汤乙酸乙酯萃取部位的药效学研究

林 辉¹, 徐大量¹, 陈丽敏², 张 鹏¹(1. 广州中医药大学, 广东 广州 510006; 2. 佛山市顺德区中医院, 广东 佛山 528033)

摘要: **目的** 对桂枝甘草汤乙酸乙酯部位进行化学分离并探讨各分离组分的抗心律失常作用。**方法** 对桂枝甘草汤乙酸乙酯萃取所得浸膏, 采用 AB-8 大孔树脂进行分离, 得到 30%、60% 及 90% 乙醇洗脱物; 再采用氯仿诱发的心律失常模型对大孔树脂分离得到的各组分, 进行抗心律失常的药效筛选。**结果** 与模型组比较, 30% 乙醇洗脱组小鼠的心律失常发生率、心率均显著降低 ($P < 0.05$), 并可缩短小鼠的心律失常持续时间, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$); 与乙酸乙酯部位组、桂枝甘草汤原液组及肉桂酸组比较, 其作用效果相当 ($P > 0.05$)。**结论** 桂枝甘草汤乙酸乙酯部位的 30% 乙醇洗脱组分对氯仿致心律失常小鼠有一定的保护作用。

关键词: 桂枝甘草汤; 乙酸乙酯部位; 大孔树脂洗脱成分; 抗心律失常

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2013)01-0025-04

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2013.01.007

Separation of Ethyl Acetate Fractions in Ramuli Cinnamomi and Glycyrrhizae Decoction and Their Anti-arrhythmia Efficiency

LIN Hui¹, XU Daliang¹, CHEN Limin², ZHANG Peng¹(1. Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006 Guangdong, China; 2. Shunde Hospital of Traditional Chinese Medicine, Foshan 528000 Guangdong, China)

Abstract: **Objective** To separate the ethyl acetate fractions in Ramuli Cinnamomi and Glycyrrhizae Decoction and to study their antiarrhythmia efficiency. **Methods** The AB-8 macroporous resin was applied to the separation of extractum of ethyl acetate fractions. And then chloroform-induced arrhythmia mouse model was established for the screening of antiarrhythmia fractions from 30%, 60% and 90% ethanol eluates. **Results** In the antiarrhythmic experiment, the group of 30% ethanol eluate from ethyl acetate fractions through macroporous resin had lower arrhyth-

收稿日期: 2012-09-18

作者简介: 林辉, 男, 研究员, 硕士生导师。研究方向: 中药有效部位。Email: linhuijwc@gzucm.edu.cn。通讯作者: 徐大量, 助理研究员, Email: xudaliang@gzucm.edu.cn。

基金项目: 广东省中医药局科研项目(K2090068)。