

- 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. 五子衍宗丸和金匮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. 金匮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 arhyth-

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)。

mic incidence and heart rate than the model mice ($P < 0.05$), and had shorter duration of arrhythmia ($P < 0.05$). The results also showed that 30 % ethanol eluate from ethyl acetate fractions had the equivalent effect with ethyl acetate fractions, Ramuli Cinnamomi and Glycyrrhizae Decoction, and cinnamic acid ($P > 0.05$). **Conclusion** The 30% ethanol eluate from ethyl acetate fractions through macroporous resin shows certain anti-arrhythmia efficiency on chloroform-induced arrhythmia mouse.

Keywords: Ramuli Cinnamomi and Glycyrrhizae Decoction; Ethyl acetate fractions; Ethanol eluates through macroporous resin; Anti-arrhythmia

桂枝甘草汤出自《伤寒论》第 64 条,以桂枝、炙甘草 2 : 1 的比例组方而成,具有益心气、通心阳等功效,桂枝甘草配伍主治以心阳不足为病机,以心慌心悸为主症的疾病,常用于治疗心律失常等心脏疾患。临床上不论心动过速或心动过缓,只要是心阳不足证,皆可应用^[1]。由于复方煎剂成分复杂,因此笔者根据复方煎剂中各味药主要成分的理化性质,分离纯化获得几个不同的极性部位,进而对各极性部位逐级进行药效学跟踪筛选,试从化学角度探讨复方煎剂的药效物质基础。

1 材料与方法

1.1 药品及试剂 桂枝(批号:080420)、炙甘草(批号:081110),购自广州致信中药饮片有限公司,经广州中医药大学中药学院中药鉴定教研室张丹雁教授鉴定,分别为樟科樟属植物肉桂 *Cinnamomum cassia* Presl. 的干燥嫩枝和豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根及根茎;按桂枝:甘草=2:1 比例水提,得浓度为 $1 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的桂枝甘草汤水煎液;盐酸维拉帕米,广东华南药业集团有限公司,批号:080910,制备为 $10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 溶液;肉桂酸,中国药品生物制品检定所,批号:110786-200503,制备为 $0.3 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$;戊巴比妥钠,国药集团化学试剂有限公司,批号:wS20051129,制备为 $10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 溶液;AB-8 大孔树脂,安徽三星树脂科技有限公司;无水乙醇、氯仿均为分析纯。

1.2 动物及分组 昆明小鼠,体质量 25~35 g,雌雄各半,SPF 级,购自广州中医药大学实验动物中心,合格证号:SCXK(粤)2008-0020。小鼠随机分为正常对照组、模型组、盐酸维拉帕米组、桂枝甘草汤原液组、乙酸乙酯部位组、30 %乙醇洗脱物组(A)、60 %乙醇洗脱物组(B)、90 %乙醇洗脱物组(C)、肉桂酸组(D),每组 10 只。

1.3 主要仪器 BS210S 电子天平,德国 Sartorius 公司;N-1001D-W 直式旋转蒸发器,日本东京理化 EYELA;4 通道 PowerLab 生物信号采集处理系统,深圳瑞澳德生命科技有限公司。

1.4 实验方法

1.4.1 乙酸乙酯部位的分离与检测^[2-4]

(1)树脂的预处理 先在吸附柱中加入相当于树脂体积 0.5 倍的无水乙醇,然后将新树脂投入柱中,使液面高于树脂约 30 cm,浸泡 24 h,放出乙醇,至乙醇液面高于树脂柱床面 2 cm,再用 2 BV 的无水乙醇以 $2 \text{ BV} \cdot \text{h}^{-1}$ 的流速通过树脂层至乙醇液面高于柱床面 2 cm,浸泡 5 h,再用无水乙醇洗至加水不显白色为止。用纯化水以同样流速洗净乙醇,分别用 5 % HCl 和 NaOH 以 $4 \text{ BV} \cdot \text{h}^{-1}$ 流速流经树脂层,最后用纯化水以同样的流速洗至流出水 pH=7 为止。

(2)化学成分分离 桂枝甘草乙酸乙酯浸膏加少量无水乙醇溶解,拌大孔树脂(已经过预处理)充分浸润,待溶剂近干时湿法装入柱顶。先用纯水冲洗至无色,继用 15 %乙醇洗至无色,再分别用 4 BV 30 %、60 %、90 %乙醇洗脱,旋转蒸发器减压浓缩后水浴蒸干。

(3)色谱条件 吸附剂:GF254 薄层层析硅胶;展开剂:氯仿-乙酸-甲醇(90:5:5),展距 8 cm,展开前均需预平衡(吸附)15 min。UV254 nm 下检测荧光淬灭斑点,365 nm 下检测荧光斑点。

1.4.2 对照品溶液的制备 称取甘草苷、肉桂酸对照品各 1 mg,甲醇溶解并定容至 1 mL,备用。点样 5 μL ,按上述色谱条件上行展开。

1.4.3 供试品溶液的制备 称取各大孔树脂分离物 1 mg,甲醇溶解并定容至 1 mL,备用。点样 10 μL ,按上述色谱条件上行展开。

1.4.4 给药、模型复制^[5]与心电图检测^[6] 以氯仿诱发

的小鼠心律失常模型，观察各组的抗心律失常作用。各组分别给予 0.1 g·kg⁻¹ 盐酸维拉帕米、37 g·kg⁻¹ 桂枝甘草汤原液，37 g·kg⁻¹ 乙酸乙酯部位，30%、60% 及 90% 乙醇洗脱物组的给药剂量分别为 0.197, 0.104, 0.013 g·kg⁻¹, 0.003 g·kg⁻¹ 肉桂酸。各组连续灌胃给药 5 d，每天 1 次。模型组给予等量生理盐水。末次给药 1 h 后，将小鼠放置在 1000 mL 倒置烧杯中（内放浸有 4 mL 氯仿的棉球，以后每换一只小鼠添加 0.5 mL 氯仿），至呼吸微弱，活动停止，立即取出小鼠，进行心电图测定，分别记录各组小鼠心电图中心律失常（包括室速、室早及室颤）的发生率、心率计数、心率失常持续时间以及死亡率等。正常对照组用戊巴比妥钠麻醉后直接进行心电图的测定。

1.5 统计学处理方法 采用 SPSS 15.0 软件，用单因素方差分析方法。计量资料用均数±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示， $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 桂枝甘草乙酸乙酯浸膏中有效成分的分离提取 见表 1。甘草苷等黄酮类成分集中在 30% 乙醇洗脱物中，肉桂酸集中在 60% 乙醇洗脱物中，90% 乙醇洗脱物中基本不含黄酮类成分而主要为多糖类成分。

表 1 各洗脱部位甘草苷、肉桂酸含量

洗脱部位	甘草苷/%	肉桂酸/%
30% 醇洗	51.44	4.95
60% 醇洗	12.50	54.58
90% 醇洗	8.96	11.87
乙酸乙酯	20.40	-

2.2 各分离组分抗心律失常作用 见表 2 与图 1。结果表明，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 ($P < 0.05$)；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 ($P > 0.05$)。肉桂酸组与模型组比较，心率及心律失常发生率均有降低趋势。与模型组比较，除 90% 乙醇洗脱物组外，其余各组均可显著缩短小鼠的心律失常时间 ($P < 0.05$)；乙酸乙酯部位组与 30% 乙醇洗脱组及肉桂酸组比较，差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

3 讨论

文献报道^[7-9]含桂枝、甘草的诸多方剂对多种实

表 2 桂枝甘草汤、乙酸乙酯部位及不同浓度醇洗脱物抗小鼠心律失常实验 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of antiarrhythmic efficiency in various groups

组别	n	心律失常发生率/%	心率/次·min ⁻¹	心律失常持续时间/s	死亡率/%
正常对照组	10	0	342.0 ± 58.1*	-	0
模型组	10	90	559.9 ± 56.5	105.1 ± 60.5	10
维拉帕米组	10	30	384.1 ± 35.1*	28.9 ± 48.7*	10
桂枝甘草汤原液组	10	30	365.6 ± 80.1*	12.5 ± 21.4*	0
乙酸乙酯部位组	10	30	407.1 ± 78.3*	17.7 ± 29.0*	0
30% 乙醇洗脱物组	10	30	399.5 ± 63.8*	14.3 ± 20.3*	0
60% 乙醇洗脱物组	10	70	490.9 ± 77.7 [△]	41.7 ± 54.8*	0
90% 乙醇洗脱物组	10	80	476.7 ± 107.6 [△]	79.4 ± 68.6	10
肉桂酸组	10	40	433.6 ± 29.2 [△]	47.5 ± 55.3*	10

注：与正常对照组比较，[△] $P < 0.05$ ；与模型组比较，* $P < 0.05$ 。

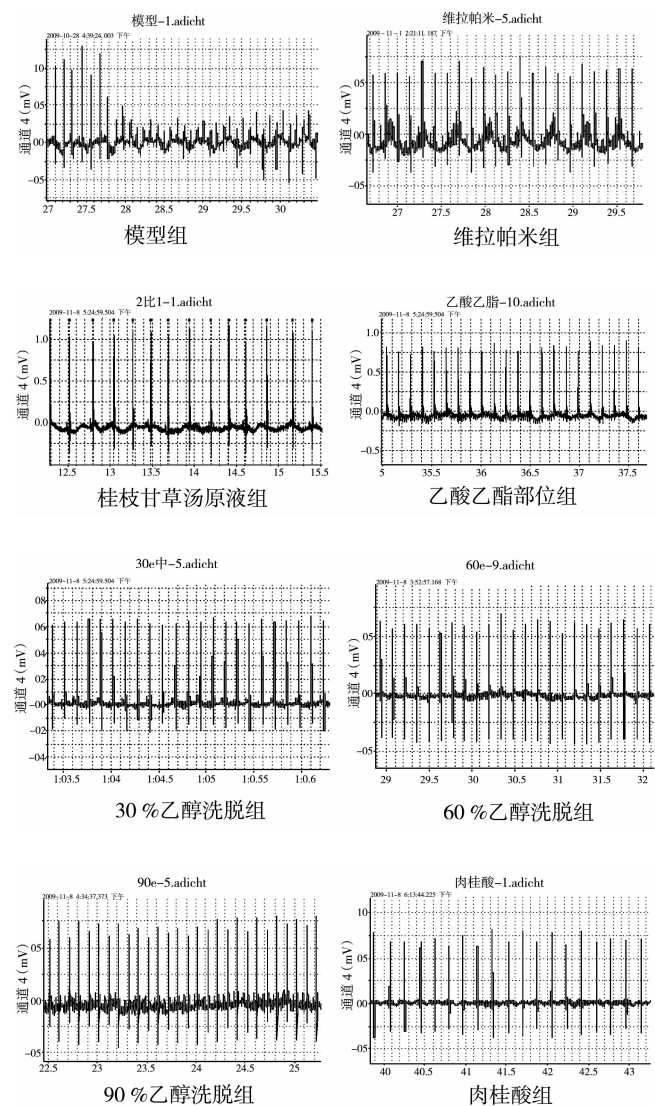


图 1 各给药组小鼠心电图

Figure 1 Electrocardiogram of Mice in each administration group

验性心律失常均有对抗作用，但对其化学物质基础

的研究还处于初期阶段。李冀等^[6,10]研究表明,桂枝甘草汤及水提取物组分、30%醇提组分对多种实验性心律失常有明显的对抗作用。目前,对单味桂枝,甘草药材的化学研究已有较多文献报道^[5,11],但对桂枝甘草汤煎剂的化学研究较少。

笔者曾对桂枝甘草汤水煎液各极性部位进行了抗心律失常的药效筛选,结果表明乙酸乙酯部位具有较好的抗心律失常作用^[12]。因此本文着重探讨乙酸乙酯部位各分离组分的抗心律失常药效作用,为桂枝甘草汤抗心律失常的药效物质基础的阐明提供了部分实验数据。

综上所述,本研究初步认为大孔树脂30%的乙醇洗脱组分为桂枝、甘草水煎液抗心律失常的主要有效部位;另外肉桂酸对氯仿诱发的小鼠心律失常也有一定的保护作用;60%的乙醇洗脱组分缩短小鼠心律失常持续时间可能与肉桂酸对抗心律失常的作用有关。推测乙酸乙酯部位对小鼠心律失常的保护作用可能为30%的乙醇洗脱组分与肉桂酸等成分的协同作用。

参考文献:

[1] 黄海. 试论经方的双向调节作用[J]. 江西中医学院学报, 2000, 12

(1): 26.

[2] 林辉, 徐大量, 陈丽敏, 等. 桂枝甘草汤对抗心律失常有效部位的筛选[J]. 广州中医药大学学报, 2012, 29(4): 436-438.

[3] 李仪奎. 中药药理实验方法学 [M]. 上海: 上海科技出版社, 1991: 378.

[4] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999: 1626.

[5] 杨琳, 赵庆春, 谭菁菁, 等. 桂枝的化学成分研究[J]. 实用药物与临床, 2010, 13 (3): 183-185.

[6] 李冀, 赵伟国, 李胜志, 等. 桂枝甘草汤及其提取物组分抗心律失常的作用的实验研究[J]. 中医药信息, 2009, 26(4): 41-43.

[7] 王秋, 王占石. 桂枝甘草汤温经通脉的药效学研究[J]. 中医药研究, 2002, 18(5): 41-42.

[8] 黄海. 桂枝甘草汤加减治疗心血管病[J]. 中医杂志, 2005, 46(1): 71.

[9] 于海. 桂枝甘草汤及其提取物组分对大鼠心肌缺血再灌注损伤保护作用的研究[D]. 黑龙江中医药大学. 2007.

[10] 李冀, 赵伟国, 李胜志, 等. 桂枝甘草汤提取物组分对大鼠心肌缺血再灌注损伤心律失常的影响 [J]. 时珍国医国药, 2009, 20(8): 2052-2054.

[11] 刘育辰, 陈有根, 王丹, 等. 甘草化学成分研究[J]. 药物分析杂志, 2011; 31(7): 1251-1255.

[12] 芮春兰. 国内对甘草化学成分的研究进展[J]. 中国校医, 2006, 20 (1): 105.

(编辑: 邓响潮)

化瘀止痛方及其拆方对人子宫腺肌病细胞 OTR mRNA、ERα mRNA 的影响

关永格¹, 李坤寅² (1. 广州中医药大学第一附属医院, 广东 广州 510405; 2. 广州中医药大学, 广东 广州 510006)

摘要: **目的** 观察化瘀止痛方及其拆方对人子宫腺肌病细胞缩宫素受体 (OTR)mRNA、雌激素受体α (ERα)mRNA 表达的影响。**方法** 将化瘀止痛方及其拆方分为化瘀止痛方高、低剂量组, 缓急止痛方高、低剂量组, 活血行气方高、低剂量组, 另设空白对照组、基质组及米非司酮(RU486)组, 每组5例, 采用胶原酶消化法培养人子宫腺肌病细胞, 采用荧光 RT-PCR 检测药物干预前后子宫腺肌病病灶细胞 OTR mRNA、ERαmRNA 表达的变化。**结果** 与空白对照组比较, 各给药组子宫腺肌病细胞的 OTR mRNA 表达均有不同程度下降, 化瘀止痛方高、低剂量组及活血行气高剂量组的 OTR mRNA 表达显著下降, 差异均有统计学意义 (P < 0.05); 与 RU486 组比较, 化瘀止痛方高、低剂量组 OTR mRNA 表达均有不同程度下降, 差异均有统计学意义 (P <

收稿日期: 2012-10-24

作者简介: 关永格, 女, 博士, 医师, 研究方向: 月经病与妇科肿瘤、中医妇科学。Email: guanyongge0322@sina.com。

基金项目: 高等学校博士学科点专项科研基金(20094425110001)。