

- [4] Lee YL, Yang J H, Mau J L. Antioxidant properties of water extracts from *Monascus* fermented soybeans [J]. *Food Chem*, 2008, 106: 1127-1137.
- [5] 金越, 吕勇, 韩国柱, 等. 槲皮素及异槲皮素、芦丁抗自由基活性的比较研究 [J]. *中草药*, 2007, 38(3): 408-412.
- [6] Ningappa M B, Dinesha R, Srinivas L. Antioxidant and free radical scavenging activities of polyphenol-enriched curry leaf (*Murraya koenigii* L.) extracts [J]. *Food Chem*, 2008, 106: 720-728.
- [7] 彭长连, 陈少薇, 林植芳, 等. 用清除有机自由基 DPPH 法评价植物抗氧化能力 [J]. *生物化学与生物物理进展*, 2000, 27(6): 658-661.
- [8] 刘杰, 王伯初, 彭亮, 等. 黄酮类抗氧化剂的构-效关系 [J]. *重庆大学学报*, 2004, 27(2): 120-124.

## 炙甘草汤对气血两虚心律失常大鼠血流动力学的影响

陈兰英<sup>1,2\*</sup>, 罗雄<sup>2</sup>, 胡瑞刚<sup>2</sup>, 龚琴<sup>1</sup>, 罗颖颖<sup>1</sup>, 胡宏辉<sup>1</sup>, 陈奇<sup>2</sup>

(1. 中药固体制剂制造技术国家工程研究中心, 江西 南昌 330006; 2. 江西中医学院, 江西 南昌 330006)

**摘要:**目的 观察炙甘草汤对气血两虚心律失常大鼠的血流动力学指标的影响。方法 在放血和环磷酰胺并用致使大鼠气血两虚的基础上, 用乌头碱诱导大鼠气血两虚心律失常模型, 观察炙甘草汤对气血两虚型心律失常大鼠血流动力学的影响。结果 炙甘草汤能够明显改善气血两虚心律失常大鼠的左心室压最大上升速率 (+ dp/dt<sub>max</sub>)、左心室压最大下降速率 (- dp/dt<sub>max</sub>)、动脉收缩压 (SBP)、动脉舒张压 (DBP) 以及平均动脉压 (MBP) 等血流动力学指标。结论 炙甘草汤可能是通过改善大鼠的血流动力学指标起到改善气血两虚心律失常的作用。

**关键词:**炙甘草汤; 心律失常; 气血两虚; 血流动力学

**中图分类号:** R285.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2670(2009)09-1438-03

炙甘草汤由炙甘草、生姜、桂枝、人参、生地黄、阿胶、麦冬等药物组成, 原方出自东汉张仲景的《伤寒论》, 是治疗“脉结代、心动悸”的经典名方。气血亏虚导致的心律失常在临床上很常见, 临床研究表明, 气虚会导致心脏的顺应性降低、心肌的收缩和舒张功能下降等一系列血流动力学障碍<sup>[1-3]</sup>。本实验从补气的角度观察炙甘草汤对气血两虚型心律失常大鼠血流动力学的影响。

### 1 材料与方

1.1 药物: 炙甘草汤原药材购于江西中医学院附属医院中药房, 经江西中医学院中药鉴定教研室鉴定, 均符合《中国药典》2005 年版标准, 将购得的炙甘草汤原药材加入适量的冷蒸馏水浸泡 0.5 h, 然后用武火加热, 待沸腾后再用文火煎煮 1 h, 重复 3 次, 合并 3 次水煎液, 加入阿胶烱化, 滤过, 浓缩至含生药 2.4 g/mL, 4℃ 储藏备用, 现用现配。

1.2 动物: SPF 级 SD 大鼠 110 只, 雄性, 体质量 (200 ± 20) g, 由上海西普尔-必凯实验动物有限公司提供, 动物质量合格证号为 SCXK(沪)2008-0016。

1.3 试剂: 环磷酰胺 (江苏恒瑞医药股份有限公司)、乌头碱 (中药固体制剂制造技术国家工程研究

中心中工对照品研究室提供)。

1.4 仪器: Swelab 血球仪 (瑞典)、Powerlab 电生理记录仪 (澳洲艾德)、Sysmex 全自动生化分析仪。

### 1.5 方法

1.5.1 分组: 所有 SD 大鼠适应性喂养 1 周后, 戊巴比妥钠 (40 mg/kg)<sup>[4]</sup> 麻醉, 用 Powerlab 电生理记录仪采集心电图, 筛选出心电图正常的大鼠。将心电图正常的 75 只大鼠随机分为对照组、乌头碱组、气血两虚 + 乌头碱组 (模型组)、炙甘草汤高剂量组以及炙甘草汤低剂量组, 每组 15 只大鼠。

1.5.2 造模及给药: 模型组大鼠, 在实验的第 1~9 天, 每隔 1 天眼眶后静脉放血 5.6 mL/kg<sup>[5-8]</sup>, 在实验的第 2~8 天, 每隔 1 天 ip 0.4% 环磷酰胺 (20 mg/kg)<sup>[8]</sup> 生理盐水溶液, 首剂加倍 (40 mg/kg); 于实验第 9 天用 20% 乌拉坦 (1.2 g/kg) 麻醉后, 左心室插管和股动脉插管, 然后舌下 iv 0.002% 乌头碱 (10 μg/kg)<sup>[6]</sup> 的生理盐水溶液诱导心律失常, 并同步观察血流动力学指标的变化。对照组和乌头碱组的大鼠以相同体积的生理盐水代替药物, 乌头碱组大鼠在实验的第 9 天舌下 iv 乌头碱诱导心律失常。炙甘草汤高剂量组和低剂量组大鼠的造模方法与观

\* 收稿日期: 2009-04-09

基金项目: 国家“十一五”科技支撑计划资助项目 (2006BAI08B04-10)

作者简介: 陈兰英 (1966—), 女, 博士, 教授, 研究方向为中药药效评价及作用机制研究。

Tel: (0791) 7119611 E-mail: clyxy2513@163.com

察指标同模型组,并从实验第 1 天开始每天 ig 炙甘草汤水煎液,连续 9 d,高剂量为生药 24 g/kg,低剂量生药 12 g/kg。

1.5.3 观察指标:大鼠心律失常的潜伏时间、维持时间;同步观察血流动力学和心电图的变化情况。

1.6 统计学方法:应用 SPSS 11.5 统计软件进行数据分析,计量资料是比较采用 One-Way ANOVA 分析。

## 2 结果

2.1 心律失常的变化情况:从表 1 可知,用乌头碱诱导心律失常后,与乌头碱组比较,模型组大鼠的心律失常潜伏时间显著缩短、维持时间明显延长。炙甘草汤高、低剂量组在造模的同时给予炙甘草汤后,心律失常的潜伏时间较模型组明显延长、维持时间较模型组显著缩短。

2.2 血流动力学变化:见表 2 和 3。同步观察的血流动力学图和心电图结果显示,模型组大鼠造模后

左心室收缩压(LVSP)、左心室舒张末期压(LVEDP)、左心室压最大上升速率( $+dp/dt_{max}$ )、左心室压最大下降速率( $-dp/dt_{max}$ )、动脉收缩压(SBP)、动脉舒张压(DBP)以及平均动脉压(MBP)与对照组和乌头碱组比较,差异有显著性意义( $P < 0.05$ );炙甘草汤高、低剂量组大鼠与模型组比较,各项指标均差异显著( $P < 0.05$ )。

表 1 炙甘草汤对气血两虚心律失常大鼠的影响  
( $\bar{x} \pm s, n = 15$ )

Table 1 Effect of Zhigancao Decoction on arrhythmia rats with syndrome of deficiency of both Qi and blood  
( $\bar{x} \pm s, n = 15$ )

组别	剂量	潜伏时间/min	维持时间/min
对照	-	-	-
乌头碱	10 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	10.06 $\pm$ 5.00 *	37.80 $\pm$ 16.91 **
模型	10 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	3.72 $\pm$ 1.87	68.90 $\pm$ 19.46
炙甘草汤	24 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	9.54 $\pm$ 3.13 *	17.21 $\pm$ 17.81 **
	12 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	9.09 $\pm$ 4.29 *	19.25 $\pm$ 17.68 **

与模型组比较: \*  $P < 0.05$  \*\*  $P < 0.01$

\*  $P < 0.05$  \*\*  $P < 0.01$  vs model group

表 2 炙甘草汤对气血两虚心律失常大鼠血流动力学的影响  
( $\bar{x} \pm s, n = 15$ )

Table 2 Effect of Zhigancao Decoction on hemodynamics indexes of arrhythmia rats with syndrome of deficiency of both Qi and blood ( $\bar{x} \pm s, n = 15$ )

组别	剂量	LVSP/mmHg	LVEDP/mmHg	$+dp/dt_{max}/(\text{mmHg} \cdot \text{s}^{-1})$	$-dp/dt_{max}/(\text{mmHg} \cdot \text{s}^{-1})$
对照	-	178.05 $\pm$ 26.92 *	0.11 $\pm$ 3.38 **	11 342.75 $\pm$ 2 957.46 *	-7 381.75 $\pm$ 2 032.31 **
乌头碱	10 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	176.20 $\pm$ 30.82 *	0.07 $\pm$ 3.39 **	10 845.98 $\pm$ 2 850.33 *	-7 686.21 $\pm$ 1 866.95 *
模型	10 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	129.29 $\pm$ 22.46	5.91 $\pm$ 4.82	7 364.89 $\pm$ 3 339.07	-4 886.47 $\pm$ 1 452.81 *
炙甘草汤	24 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	171.35 $\pm$ 37.38 *	0.42 $\pm$ 2.87 **	10 532.12 $\pm$ 1 812.88 *	-6 916.04 $\pm$ 1 819.52 *
	12 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	171.31 $\pm$ 52.19 *	0.50 $\pm$ 2.88 **	11 199.49 $\pm$ 2 028.10 *	-6 641.45 $\pm$ 1 448.74 *

与模型组比较: \*  $P < 0.05$  \*\*  $P < 0.01$

\*  $P < 0.05$  \*\*  $P < 0.01$  vs model group

表 3 炙甘草汤对气血两虚心律失常大鼠血压的影响  
( $\bar{x} \pm s, n = 15$ )

Table 3 Effect of Zhigancao Decoction on blood pressure of arrhythmia rats with syndrome of deficiency of both Qi and blood ( $\bar{x} \pm s, n = 15$ )

组别	剂量	SBP/mmHg	DBP/mmHg	MBP/mmHg
对照	-	149.59 $\pm$ 40.95 *	85.27 $\pm$ 27.50 *	106.68 $\pm$ 31.45 **
乌头碱	10 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	144.82 $\pm$ 31.67 *	80.31 $\pm$ 24.60 *	101.81 $\pm$ 25.45 **
模型	10 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	109.18 $\pm$ 19.82	66.35 $\pm$ 20.24	71.58 $\pm$ 15.66
炙甘草汤	24 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	143.92 $\pm$ 29.22 *	66.83 $\pm$ 19.68	95.73 $\pm$ 22.21 *
	12 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	146.71 $\pm$ 34.02 *	67.01 $\pm$ 27.53	97.67 $\pm$ 20.00 *

与模型组比较: \*  $P < 0.05$  \*\*  $P < 0.01$

\*  $P < 0.05$  \*\*  $P < 0.01$  vs model group

## 3 讨论

程志清等<sup>[9]</sup>认为心功能指标可作为评价心气虚的客观指标。本实验造模结束后,模型组大鼠与对照组相比,状态不佳,体质量减轻;心律失常潜伏时间明显缩短和维持时间明显延长; $+dp/dt_{max}$ 、 $-dp/dt_{max}$ 均明显下降,说明心肌的收缩舒张功能

下降,顺应性降低,LVSP、LVEDP 和血压的改变提示模型组大鼠舒缩功能的减退,泵血功能的减弱。以上结果表明,放血和环磷酰胺并用能够明显抑制大鼠的血流动力学指标;给予炙甘草汤后, $+dp/dt_{max}$ 、 $-dp/dt_{max}$ 、LVSP、LVEDP 等血流动力学指标均得到不同程度的改善,心律失常的潜伏时间明显延长、维持时间显著缩短。基于以上认识,心律失常的发生可能与血流动力学的障碍密切相关。

本实验制备了气血两虚型心律失常模型,采用了一种复合造模方法,即在中医药理论的指导下,先采用放血和环磷酰胺并用让大鼠出现气血两虚证,在此基础上,再用乌头碱诱发心律失常。这种造模方法复制出来心律失常模型伴有气血两虚的症状,与中医临床上“心悸”的病因之一体质虚弱,气血亏虚非常相似,符合中医学家提出的“动物症候模型的诊断依据必须与临床诊断依据一致,复制动物模型必须依据病因”。实验研究证明炙甘草汤对大鼠气

血两虚心律失常具有保护作用<sup>[10]</sup>,深入研究炙甘草汤对血流动力学的影响可进一步解释炙甘草汤诸药合用而使气血充实,阴阳调和,则“脉结代、心动悸”皆得其平的作用机制。

参考文献:

[1] 李绍芝, 谭日强, 颜文明, 等. 心气虚患者左心舒缩功能的初步研究 [J]. 中医杂志, 1998, 13(2): 50-52.

[2] 文旺秀. 心气虚证患者的心功能检查分析 [J]. 实用医学杂志, 1988, 14(1): 29-31.

[3] 廖家桢, 王硕仁, 吕希滢, 等. 参芪治疗心气虚证临床疗效和作用的原理 [J]. 中医杂志, 1999, 3(2): 51-53.

[4] 徐淑云, 卞如濂, 陈修, 等. 药理实验方法学 [M]. 第 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2001.

[5] 苗明三, 方晓艳, 苗艳艳. 大枣多糖对大鼠气血两虚模型胸腺、脾脏中淋巴细胞超微结构影响的可能途径 [J]. 中国临床康复, 2006, 10(27): 96-99.

[6] 郭平. 血虚证动物模型研究概况 [J]. 山东中医药大学学报, 2006, 30(1): 83-86.

[7] 杨岚, 祝彼得, 彭成. 血虚证动物模型的标准化研究初探 [J]. 四川动, 2006, 25(1): 160-164.

[8] 苗明三, 顾丽亚, 方晓艳, 等. 大鼠气血两虚动物模型的复制 [J]. 中药药理与临床, 2005, 21(1): 60-62.

[9] 程志清, 龚文波, 姚立, 等. SD 大鼠心气虚证动物模型的研制 [J]. 中国中医药科技, 2003, 10(6): 361-363.

[10] 陈兰英, 罗雄, 胡瑞刚, 等. 炙甘草汤对大鼠气血两虚型心律失常及免疫系统的影响 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2009, 15(1): 49-51.

## 曼宋酮 E 对白血病 K562 细胞增殖和凋亡的影响

王 一<sup>1</sup>, 张 玎<sup>1</sup>, 连小云<sup>1</sup>, 苗玉迪<sup>1</sup>, 王 晖<sup>1</sup>, 黄世亮<sup>2\*</sup>

(1. 陕西省人民医院 血液科, 陕西 西安 710068; 2. 中山大学药学院, 广东 广州 510052)

**摘要:**目的 观察曼宋酮 E 对 K562 细胞增殖的影响, 探讨其诱导凋亡作用及可能机制。方法 台盼蓝拒染实验检测曼宋酮 E 对 K562 细胞的生长抑制作用; 荧光显微镜观察细胞核形态的变化; 流式细胞仪测定细胞凋亡率; 免疫印迹法测定 caspase-3、caspase-8、caspase-9 及 PARP 的活性及 Bcl-2、Bax 和 Bcl-XL 的表达。结果 曼宋酮 E 抑制 K562 细胞增殖呈时间和浓度相关性; 12.5 μg/mL 的曼宋酮 E 处理 K562 细胞 0、12、24、48 h 细胞凋亡率分别为 (2.1 ± 0.8) %、(3.2 ± 1.6) %、(15.3 ± 8.9) %、(25.1 ± 11.4) %; 在曼宋酮 E 诱导 K562 细胞凋亡过程中, caspase-3 和 caspase-8 以及 PARP 出现活化断裂, caspase-9 表达无明显变化; Bcl-2 家族蛋白 Bcl-2、Bax 和 Bcl-L 表达无显著改变。结论 曼宋酮 E 可抑制诱导 K562 细胞增殖, 并通过 caspase-8 途径介导凋亡。

**关键词:**曼宋酮; 白血病 K562 细胞; 增殖; 凋亡

**中图分类号:**R285.91 **文献标识码:**A **文章编号:**0253-2670(2009)09-1440-04

曼宋酮类化合物 (mansonones) 是一类具有醌类结构或其前体的天然产物, 曼宋酮类化合物自 1965 年至今, 已发现近 20 种, 主要是从梧桐科植物曼宋梧桐及榆科无毛榆的心材中提取分离得到<sup>[1-4]</sup>。近期的研究结果提示 8 种从榉树心材中提取的曼宋酮类化合物有明显抗枯草杆菌、抗金黄色葡萄球菌以及抗粪肠球菌功能, 并且对多种肿瘤细胞具有明显抗肿瘤作用<sup>[5]</sup>。在 20 多种化合物中曼宋酮 E 具有较明显的抗肿瘤作用<sup>[5-7]</sup>。本研究以天然的曼宋酮 E 作为研究对象, 观察其对白血病 K562 细胞增殖及凋亡的影响, 初步研究曼宋酮 E 抗白血病作用及可能机制。

### 1 材料

1.1 肿瘤细胞株: K562 白血病细胞 (陕西省人民医院血液病研究室保存), 从液氮中复苏后, 培养至

对数生长期后备用。

1.2 药品与试剂: 曼宋酮 E 由中山大学药学院提取纯化, 质量分数 99% 以上。RPMI 1640 培养基和小牛血清购于 Gibcobl 公司; 台盼蓝购于 Sigma 公司; 碘化丙啶 (PI) 和 RnaseA 购于 Angus 公司; 鼠抗人 caspase-3 抗体、兔抗人 PARP 抗体、caspase-3、鼠抗人 caspase-8 抗体、兔抗人 caspase-9 抗体、鼠抗人 bcl-2 抗体、兔抗人 bcl-XL 抗体、鼠抗人 BAX 抗体、抗鼠-HRP 抗体和抗兔-HRP 抗体均购于美国 Santa cruz 公司; -actin 抗体为 Sigma 公司产品; 其余均为国产试剂。

### 2 方法

2.1 细胞增殖抑制实验: 将处于对数生长期的 K562 细胞以 1 × 10<sup>5</sup>/mL 加入 24 孔板中, 每孔 1 mL, 加入不同质量浓度的曼宋酮 E, 于 12、24、36、

\* 收稿日期: 2009-02-25

作者简介: 王 一 (1971 -), 女, 博士, 副主任医师, 主要从事血液病及肿瘤的基础和临床研究。

Tel: 13571936193 E-mail: wangyi5182003@yahoo.com.cn