

附子总碱及其模拟炮制品对大鼠离体心脏的毒性作用

杨龙坡¹, 孙桂波^{2*}, 陈荣昌², 斯建勇², 雷崎芳², 张强², 孙晓波²

(1. 哈尔滨商业大学 生命科学与环境科学研究中心, 哈尔滨 150076;
2. 中国医学科学院 北京协和医学院 药用植物研究所, 北京 100193)

[摘要] 目的:研究附子总碱及其模拟炮制品对大鼠离体心脏的毒性作用,探讨其作用机制。方法:建立SD大鼠的Langendorff离体心脏灌注模型。用附子总碱及其模拟炮制品的不同炮制时间点(0,20,40,60,80,120 min)炮制品以及不同累积给药剂量(0,50,100,150,300 μg)对灌注模型进行干预,以左心室收缩压(left ventricular systolic pressure, LVSP),左心室舒张末期压(left ventricular end-diastolic pressure, LVEDP),左心室舒张压(left ventricular developed pressure, LVDP),左心室内压最大上升速率(+ dp/dt),左心室内压最大下降速率(- dp/dt)等血流动力学参数以及心率(heart rate, HR)为指标,观察附子总碱及其模拟炮制品对大鼠离体心脏的影响。结果:与给药前平衡比较,模拟炮制80 min组累积给药100 μg时显示心脏毒性,炮制100,120 min组累积给药300 μg时才出现毒性($P < 0.05$)。附子总碱及其模拟炮制品都能增加心率,都能使LVSP, LVDP, ± dp/dt明显降低,并且与累积给药量呈正相关趋势,同时使LVEDP上升。结论:附子总碱及其模拟炮制品对大鼠离体心脏均呈现出毒性作用,随炮制时间的延长,毒性下降。

[关键词] 附子总碱; 模拟炮制品; 离体心脏; 心脏毒性; 左心室收缩压; 左心室舒张末期压; 左心室舒张压; 左心室内压最大上升速率; 左心室内压最大下降速率

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)03-0086-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2017030086

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20161118.1309.002.html>

[网络出版时间] 2016-11-18 13:09

Toxic Effect of Total Alkaloids and Simulation-Processed Product of Aconitine Radix in Isolated Hearts of Rats

YANG Long-po¹, SUN Gui-bo^{2*}, CHEN Rong-chang², SI Jian-yong²,
LEI Qi-fang², ZHANG Qiang², SUN Xiao-bo²

(1. *Research Center on Life Science and Environmental Science, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China*; 2. *Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences, Peking Union Medical College, Beijing 100193, China*)

[Abstract] **Objective:** To explore the toxic effects of total alkaloids and the simulation-processed product of Aconitine Radix in isolated hearts of rats. **Method:** Langendorff's heart perfusion models of SD rats were established to observe the effects of the drugs. Total alkaloids of Aconitine Radix and its simulation-processed products treated at different time points (0, 20, 40, 60, 80, 120 min) and different doses (0, 50, 100, 150, 300 μg) were adopted to intervene the perfusion model. The hemodynamics parameters were observed, including left ventricular systolic pressure (LVSP), left ventricular end-diastolic pressure (LVEDP), left ventricular developed pressure (LVDP), intraventricular pressure maximum upstroke velocity (+ dp/dt), intraventricular pressure maximum decrease velocity (- dp/dt) and heart rate (HR). **Result:** Compared with the 0 min group, the 80 min simulation processing group showed cardiac toxicity at the dose of 100 μg, and 100 min and 120 min

[收稿日期] 20160526(002)

[基金项目] 国家公益性行业科研专项(201507004)

[第一作者] 杨龙坡, 硕士, 从事心血管药理学研究, Tel:010-62898496, E-mail: yanglp001@163.com

[通讯作者] * 孙桂波, 博士, 研究员, 博士生导师, 从事心血管药理学研究, Tel:010-62898496, E-mail: sunguibo@126.com.cn

simulation processing groups showed cardiac toxicity at the dose of 300 μg ($P < 0.05$). Both total alkaloids and simulation-processed products of Aconitine Radix can increase HR, significantly decrease LVSP, LVDP, $\pm dp/dt$, and increase LVEDP at the same time, with positive correlation with accumulated dosage. **Conclusion:** Both total alkaloids and simulation-processed products of Aconitine Radix show heart toxicity, which declines with the extension of the processing time.

[Key words] total alkaloids of Aconitine Radix; simulation-processed products of Aconitine Radix; isolated heart of rat; heart toxicity; left ventricular systolic pressure (LVSP); left ventricular end-diastolic pressure (LVEDP); left ventricular developed pressure (LVDP); $+ dp/dt$; $- dp/dt$

附子具有回阳救逆,补火助阳,散寒止痛之功效,为“回阳救逆第一品药”^[1]。附子的毒性较大,可透皮吸收,其用药剂量与中毒剂量接近,稍有不慎即可引起中毒甚至死亡^[2-5]。周远鹏^[6]通过实验证明附子总碱小鼠静脉注射的半数致死量(LD₅₀)为(0.270 ± 0.002) $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,大鼠静脉注射的绝对致死量为(0.102 ± 0.008) $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,致大鼠心律失常的剂量(0.034 ± 0.004) $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。附子的毒性物质基础为双酯型二萜类生物碱,主要为乌头碱、新乌头碱、次乌头碱等乌头属类生物碱^[7]。双酯型二萜类生物碱经高热处理可水解为毒性较小的单酯型苯甲酰乌头胺,进一步分解为无酯键、毒性极低的乌头胺^[8]。附子的炮制最早见于《伤寒杂病论》,而据史书文献记载,附子炮制方式有 70 余种,因其毒性作用,多数炮制方法均注重减毒而非存效。《景岳全书·本草正》对炮制与毒效关系的阐述较为详尽,“附子之性虽云有毒而无不大毒,但制得其法,用得宜,何毒之有?故附子有毒须制用,制用失宜则毒存,制用得法则毒减而用宜。”可见,如何通过炮制来减毒存效甚至增效仍有待深入研究^[9]。根据预实验结果,当累积给药剂量达到 300 μg 时,炮制 0 min 组离体心脏停止搏动,炮制 120 min 组开始出现心脏毒性。因此,本实验以附子总碱模拟炮制 0, 20, 40, 60, 80, 100, 120 min 的炮制品为研究对象,采用 Langendorff 离体灌流技术,观察附子总碱模拟炮制品累积给药量达到 0, 50, 100, 150, 300 μg 时,对大鼠离体心脏的毒性作用,讨论炮制对附子是否有减毒作用,旨在为附子的临床应用提供实验依据。

1 材料

1.1 药物及试剂 附子购自四川江油,由北京中医药大学中药炮制中心李飞教授鉴定为毛茛科植物乌头 *Aconitum carmichaeli* 的子根加工品。附子总碱各时间点模拟炮制品由北京中医药大学制备,以附子为对象,提取分离得到附子总生物碱,参照水煎煮方

法,对总生物碱进行系列加热得到模拟炮制。NaCl, KCl, MgCl_2 , NaOH, KOH, NaHCO_3 , KH_2PO_4 , 4-羟乙基哌嗪乙磺酸(HEPEs), 葡萄糖(Glu), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, CaCl_2 (分析纯,北京化工厂)。

1.2 仪器 159914-220 双通道型 Langendorff 离体灌流系统(美国 Radnoti 公司); BL-420F 型生物机能实验系统(成都泰盟科技有限公司); AP-01P 型真空泵(天津奥特赛恩斯仪器有限公司); FE20 型 pH 计[美国梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司]; LSP01-2A 型恒流泵(保定兰格恒流泵有限公司)。

1.3 动物 SPF 级雄性 SD 大鼠,体重 330 ~ 380 g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,合格证号 SCXK(京)2006-0009。所有的动物实验操作均严格按照中国医学科学院北京协和医学院实验动物伦理委员会(编号 SLXD-2015092174)和北京实验动物行业协会规定,严格遵循 3R 原则。在恒温(21 ~ 23 $^{\circ}\text{C}$),恒湿(45% ~ 65%),各 12 h 明暗周期的饲养室饲养,自由进食和饮水。

2 方法

2.1 离体心脏灌流模型的建立 选取健康 SD 大鼠 42 只,随机分为附子总碱模拟炮制 0 min 组, 20 min 组, 40 min 组, 60 min 组, 80 min 组, 100 min 组, 120 min 组, 每组 6 只。大鼠腹腔注射肝素钠(25 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)进行肝素化,30 min 后断头开胸,迅速取心脏,分离主动脉,修剪后立即悬挂于 Langendorff 离体灌流装置上, K-H 液持续逆流灌流,流速为 10 ~ 15 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$,灌流液以 95% O_2 和 5% CO_2 充分饱和,并维持在 37 $^{\circ}\text{C}$ 。K-H 液: NaCl 6.891 2 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, NaHCO_3 2.09 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, KCl 0.350 15 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, KH_2PO_4 0.160 6 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, Glu 1.998 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.290 8 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, CaCl_2 0.283 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$,按上述质量浓度,准确称取各试剂,依次溶于超纯水 1 L,于室温下置于磁力搅拌器上搅拌至全部溶解,过滤,调节 pH7.4。灌流液现配现用。自制水囊置于左心室内用于感受传递压力,测定心室内压,心

率(HR),计算左心室各项心功能指标,左心室收缩压(LVSP),左心室舒张末期压(LVEDP),左心室发展压(LVDP),左心室内压最大上升速率(+dp/dt),左心室内压最大下降速率(-dp/dt),平衡 15 min。检测到心室内压稳定在 75 mmHg(1 mmHg = 133.32 Pa)左右,心率保持在 250 次/min 左右,节律稳定,无心律失常,即确定灌注模型成功。由恒流泵经导管于左心室给药,给药速度为 5 $\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$,药物质量浓度 2 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

2.2 血流动力学指标的测定 在左心耳根部剪一小口,从此处插入球囊(接 BL/420 信号采集系统)至左心室记录血流动力学指标,实时记录血流动力学指标 LVSP, LVDP, + dp/dt, - dp/dt, HR。

2.3 统计学分析 采用 SPSS 21.0 统计软件,符合正态分布的计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 进行描述。符合正

态分布的计量资料组内比较采用独立样本 *t* 检验,各组间比较采用单因素方差分析进行。所有检验以双侧 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对心脏血流动力学指标的影响 与给药 0 μg 比较,累积给药 50 μg 时,附子总碱模拟炮制 0 min 组,20 min 组 LVSP, LVDP, + dp/dt 明显降低($P < 0.05$),附子总碱模拟炮制 40, 80 min 组 LVSP, LVDP 显著降低($P < 0.01$),显示心脏毒性。与给药 0 μg 比较,模拟炮制 80 min 组累积给药 100 μg 时, LVSP, LVDP, + dp/dt 显著降低,出现心脏毒性($P < 0.01$),且在一定范围内与累积给药量成正相关,炮制 100, 120 min 组累积给药 300 μg 时才出现毒性($P < 0.01$)。附子总碱随着炮制时间的延长,毒性降低。见表 1~3。

表 1 附子总碱不同时间模拟炮制品对大鼠离体心脏 LVSP 的影响($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	给药 0 μg	给药 50 μg	给药 100 μg	给药 150 μg	给药 300 μg
炮制 0 min	105.30 \pm 21.74	72.42 \pm 8.84 ¹⁾	61.29 \pm 12.07 ¹⁾	57.54 \pm 9.13 ¹⁾	-
炮制 20 min	102.20 \pm 15.94	69.08 \pm 9.364 ¹⁾	56.28 \pm 11.20 ¹⁾	49.36 \pm 8.217 ¹⁾	44.62 \pm 11.67 ¹⁾
炮制 40 min	98.99 \pm 6.53	62.98 \pm 11.50 ²⁾	55.09 \pm 14.91 ¹⁾	44.38 \pm 12.68 ¹⁾	39.86 \pm 6.06 ¹⁾
炮制 60 min	114.95 \pm 9.32	89.55 \pm 2.69 ²⁾	77.21 \pm 7.87 ¹⁾	69.81 \pm 3.32 ¹⁾	48.92 \pm 9.67 ¹⁾
炮制 80 min	109.33 \pm 18.43	91.26 \pm 12.97	76.00 \pm 2.37 ²⁾	72.09 \pm 4.83 ²⁾	58.99 \pm 9.25 ²⁾
炮制 100 min	118.23 \pm 16.97	104.39 \pm 21.70	103.89 \pm 32.38	95.40 \pm 20.43	70.03 \pm 13.31 ²⁾
炮制 120 min	106.17 \pm 14.70	91.46 \pm 9.57	88.71 \pm 3.50	90.23 \pm 4.84	78.67 \pm 5.98 ²⁾

注:与给药 0 μg 组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;给药质量浓度均为 2 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ (表 2~4,6 同)。

表 2 附子总碱不同时间模拟炮制品对大鼠离体心脏 LVDP 的影响($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	给药 0 μg	给药 50 μg	给药 100 μg	给药 150 μg	给药 300 μg
炮制 0 min	99.44 \pm 21.38	70.93 \pm 9.93 ¹⁾	59.38 \pm 13.93 ¹⁾	46.06 \pm 14.15 ¹⁾	-
炮制 20 min	99.14 \pm 14.75	62.32 \pm 9.72 ¹⁾	49.17 \pm 12.33 ¹⁾	40.51 \pm 8.84 ¹⁾	25.62 \pm 7.411 ¹⁾
炮制 40 min	93.27 \pm 6.71	60.70 \pm 12.65 ²⁾	57.30 \pm 13.90 ²⁾	45.05 \pm 11.10 ¹⁾	40.17 \pm 12.80 ¹⁾
炮制 60 min	110.92 \pm 10.17	79.85 \pm 12.61 ²⁾	72.44 \pm 12.09 ²⁾	64.43 \pm 1.46 ¹⁾	45.84 \pm 11.60 ¹⁾
炮制 80 min	104.79 \pm 18.03	97.15 \pm 6.78	71.80 \pm 3.51 ²⁾	67.69 \pm 4.59 ²⁾	48.46 \pm 11.10 ¹⁾
炮制 100 min	113.69 \pm 18.54	99.56 \pm 33.02	98.98 \pm 33.72	90.78 \pm 20.76	63.26 \pm 12.36 ²⁾
炮制 120 min	102.58 \pm 15.04	89.14 \pm 9.76	87.14 \pm 5.51	87.89 \pm 6.13	77.19 \pm 8.07

3.2 对心脏血流动力学指标恢复率的影响 附子总碱随炮制时间的延长, LVSP, LVDP, + dp/dt, - dp/dt 各指标恢复率依次升高(附子总碱生品以炮制 0 min 计)。炮制 60 min 与炮制前、炮制 20 min 比较 LVSP, LVDP 恢复率明显升高($P < 0.05$),与炮制 40 min 比较无显著性差异;炮制 80 min 与炮制前、炮制 20 min 比较 LVSP, LVDP, + dp/dt 恢复率明显升高($P < 0.05$),与炮制 40, 60 min 无显著性差异;炮制 100 min 与炮制前、炮制 20 min 比较 LVSP, LVDP, + dp/dt, - dp/dt 恢复率明显升高,与 40, 60 min 比较 LVSP,

LVDP, + dp/dt 恢复率明显升高($P < 0.05$),与 80 min 比较无显著性差异;炮制 120 min 与炮制前,炮制 20 min 比较 LVSP, LVDP, + dp/dt, - dp/dt 恢复率明显升高,与 40, 60, 80 min 比较 LVSP, LVDP, + dp/dt 恢复率明显升高($P < 0.05$),与 100 min 比较无显著性差异。见表 1~4。各炮制组间比较,在累积给药 150 μg 时较炮制 0, 20 min 组,模拟炮制 60, 80, 100, 120 min 组 LVSP, LVDP 明显增高($P < 0.05$);较炮制 0, 20 min 组,模拟炮制 100, 120 min 组 + dp/dt, - dp/dt 明显增高($P < 0.05$)。见表 5。

表 3 附子总碱不同时间模拟炮制品对大鼠离体心脏 + dp/dt_{max} 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 3 Effect of FZZJ on + dp/dt_{max} of isolated rat hearts ($\bar{x} \pm s, n = 6$) mmHg·s⁻¹

组别	给药 0 μg	给药 50 μg	给药 100 μg	给药 150 μg	给药 300 μg
炮制 0 min	2 028.28 ± 314.9	1 756.77 ± 138.1 ²⁾	1 463.8 ± 251.3 ¹⁾	1 318.9 ± 303.6 ²⁾	-
炮制 20 min	1 819.10 ± 331.2	1 327.20 ± 133.9 ²⁾	1 207.6 ± 201.6 ¹⁾	1 136.4 ± 264.6 ¹⁾	853.6 ± 246.8 ¹⁾
炮制 40 min	1 714.17 ± 208.4	1 556.91 ± 201.2	1 299.0 ± 127.6	1 196.8 ± 132.1 ²⁾	1 086.1 ± 129.5 ²⁾
炮制 60 min	1 903.95 ± 293.8	1 669.66 ± 112.4	1 603.9 ± 303.8	1 540.8 ± 137.9	1 087.7 ± 114.3 ²⁾
炮制 80 min	1 975.09 ± 193.2	1 734.05 ± 132.9	1 525.6 ± 231.8	1 520.5 ± 44.6	1 282.5 ± 107.4 ¹⁾
炮制 100 min	2 040.19 ± 333.0	2 020.85 ± 387.7	1 963.0 ± 406.6	1 887.7 ± 385.0	1 423.9 ± 206.5
炮制 120 min	1 878.47 ± 274.6	1 797.11 ± 102.5	1 769.7 ± 155.0	1 763.9 ± 74.4	1 571.6 ± 136.2

表 4 附子总碱不同时间模拟炮制品对大鼠离体心脏 - dp/dt_{max} 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 4 Effect of FZZJ on - dp/dt_{max} of isolated rat hearts ($\bar{x} \pm s, n = 6$) mmHg·s⁻¹

组别	给药 0 μg	给药 50 μg	给药 100 μg	给药 150 μg	给药 300 μg
炮制 0 min	2 497.4 ± 432.2	2 049.7 ± 247.8 ¹⁾	1 740.7 ± 350.2 ¹⁾	1 434.6 ± 369.3 ¹⁾	-
炮制 20 min	2 309.7 ± 317.0	1 604.3 ± 202.8 ¹⁾	1 491.6 ± 316.0 ²⁾	1 361.8 ± 264.6 ¹⁾	992.4 ± 244.7 ¹⁾
炮制 40 min	2 197.1 ± 181.9	1 815.5 ± 306.8	1 658.6 ± 327.7	1 308.2 ± 197.3 ¹⁾	1 290.6 ± 225.7 ¹⁾
炮制 60 min	2 588.4 ± 200.0	2 102.3 ± 365.6	1 961.9 ± 374.2	1 868.3 ± 221.1 ²⁾	1 310.5 ± 256.7 ¹⁾
炮制 80 min	2 317.8 ± 373.9	2 048.4 ± 121.8	1 849.0 ± 176.9	1 697.5 ± 145.4	1 512.4 ± 196.7 ²⁾
炮制 100 min	2 350.4 ± 339.1	2 246.6 ± 402.1	2 230.0 ± 372.5	2 107.4 ± 354.4	1 671.2 ± 308.5
炮制 120 min	2 322.9 ± 299.3	2 075.8 ± 195.2	2 038.2 ± 142.5	2 035.9 ± 151.32	1 887.7 ± 396.7

表 5 附子总碱不同时间模拟炮制品对大鼠离体心脏血流动力学指标恢复率的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 5 Effect of FZZJ on hemodynamics parameters of isolated rat hearts ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	LVSP	LVDP	+ dp/dt	- dp/dt
炮制 0 min	0.558 ± 0.119	0.434 ± 0.164	0.575 ± 0.117	0.660 ± 0.178
炮制 20 min	0.568 ± 0.091	0.444 ± 0.109	0.593 ± 0.113	0.663 ± 0.158
炮制 40 min	0.572 ± 0.188	0.600 ± 0.179	0.692 ± 0.109	0.808 ± 0.186
炮制 60 min	0.611 ± 0.068 ^{1,2)}	0.615 ± 0.065 ^{1,2)}	0.727 ± 0.121	0.819 ± 0.111
炮制 80 min	0.673 ± 0.136 ^{1,2)}	0.662 ± 0.146 ^{1,2)}	0.741 ± 0.095 ^{1,2)}	0.875 ± 0.084
炮制 100 min	0.801 ± 0.062 ^{1,2,3,4)}	0.792 ± 0.062 ^{1,2,3,4)}	0.895 ± 0.024 ^{1,2,3,4)}	0.922 ± 0.079 ^{1,2)}
炮制 120 min	0.920 ± 0.113 ^{1,2,3,4,5)}	0.989 ± 0.046 ^{1,2,3,4,5)}	0.936 ± 0.109 ^{1,2,3,4)}	0.960 ± 0.108 ^{1,2)}

注:与炮制前比较¹⁾ $P < 0.05$;与 20 min 组比较²⁾ $P < 0.05$;与 40 min 组比较³⁾ $P < 0.05$;与 60 min 组比较⁴⁾ $P < 0.05$;与 80 min 组比较⁵⁾ $P < 0.05$ 。累积给药量均为 150 μg。

3.3 对累积给药心率变化的影响 与给药 0 μg 比较,模拟炮制 0,20 min 组在累积给药 50 μg 时心率显著增加 ($P < 0.01$),模拟炮制 40,60 min 组在累积给药 150 μg 时心率显著增加 ($P < 0.01$),模拟炮制

80,100,120 min 组在累积给药 300 μg 时心率明显增加 ($P < 0.05$)。附子总碱不同时间模拟炮制品均能不同程度的增加心率,并且随炮制时间的延长增加心率的程度降低。见表 6。

表 6 附子总碱不同时间模拟炮制品对大鼠离体心脏心率的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 6 Effect of FZZJ on HR of isolated rat hearts ($\bar{x} \pm s, n = 6$) 次/min

组别	给药 0 μg	50 μg	100 μg	150 μg	300 μg
炮制 0 min	239.75 ± 44.63	418.50 ± 22.97 ¹⁾	430.80 ± 41.72 ¹⁾	490.00 ± 38.23 ¹⁾	-
炮制 20 min	225.40 ± 45.81	404.80 ± 77.62 ¹⁾	428.00 ± 48.25 ¹⁾	488.60 ± 75.89 ¹⁾	608.80 ± 78.98 ¹⁾
炮制 40 min	240.50 ± 27.36	371.75 ± 66.63	404.80 ± 57.00	444.30 ± 46.02 ²⁾	582.80 ± 57.61 ¹⁾
炮制 60 min	236.67 ± 40.05	362.67 ± 78.14	400.00 ± 66.96	437.70 ± 63.90 ²⁾	568.00 ± 172.50 ²⁾
炮制 80 min	249.33 ± 43.73	314.00 ± 61.34	353.00 ± 68.04	356.70 ± 49.81	487.30 ± 75.12 ²⁾
炮制 100 min	226.00 ± 27.06	286.33 ± 65.08	299.30 ± 65.30	321.00 ± 78.39	396.70 ± 66.58 ²⁾
炮制 120 min	238.33 ± 20.07	289.00 ± 57.45	307.70 ± 73.01	318.00 ± 60.63	356.30 ± 61.93 ²⁾

4 讨论

药理学研究表明,附子具有增强心肌收缩力,舒张血管,抗炎镇痛,抗衰老,免疫调节等作用^[10-12]。但附子的毒性一直是限制附子大规模临床应用的关键问题,尤其是在肝脏、肾脏的累积毒性^[13]。附子毒性成分主要是剧毒的双酯型二萜生物碱,如乌头碱等。但同时毒性生物碱是附子镇痛作用的重要成分。此外,乌头碱类成分还具有扩张血管作用,小剂量时就具有抗急性心肌缺血作用。因此,附子的毒性成分是其发挥广泛药效的重要物质基础。

本实验通过检测附子总碱及其模拟炮制品对大鼠离体心脏的毒性作用,得出了附子总碱模拟炮制0,20,40 min之间毒性差别不大,提示附子总碱模拟炮制40 min之内尚未起到明显减毒作用;附子总碱模拟炮制60 min毒性开始明显下降,从各指标恢复率来看,附子总碱模拟炮制100,120 min时毒性已明显降低。附子总碱随炮制时间的延长,毒性大为降低的现象在给药15 min后有规律的显示出来。附子总碱不同时间模拟炮制品都能增加心率,造成正常心脏的心律失常,但随炮制时间的延长,附子总碱增加心率的程度明显下降,即随炮制时间的延长毒性降低,与上述由血流动力学指标得出减毒结果一致。造成这一结果的可能原因是随着炮制时间的延长,附子总碱含量发生了变化^[14]。本实验通过选取不同的炮制时间来探究其毒性,从而得到最佳炮制时间,避免减毒过甚导致毒失效尽。

附子中所含的双酯型生物碱毒性最强但性质不稳定,炮制后被水解或分解,使极毒的双酯型生物碱C8位上的乙酰基水解,失去1分子乙酸,得到相应的苯甲酰单酯型生物碱,其毒性为双酯型乌头碱的1/200~1/500;进一步水解则会使C14位上的苯甲酰基分解,失去1分子苯甲酸,得到亲水性氨基醇类乌头原碱,毒性为双酯型乌头碱的1/2 000~1/4 000。另一减毒的原因可能是炮制过程中酯酰基取代了C8位上的乙酰基,生成了毒性较低的酯碱型乌头碱^[15]。附子的炮制方法至今已演变约有70余种^[16],目的是在减毒的同时存效甚至增效。本实验虽然摸索出附子总碱及其模拟炮制品对心脏毒性的时间关系,但是仍存在不足,如探索附子总碱不同时间点模拟炮制品的量毒效关系,找到附子总碱模拟炮制的最佳时间点,即毒性最小药效最高的炮制时间点;不同的炮制方法对附子减毒作用效果的

影响以及不同炮制时间是否导致附子总碱含量发生变化等工作需要下一步深入研究。

[参考文献]

- [1] 高学敏. 中药学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2007:237.
- [2] 孟甄,丁怡,鲁静,等. 生、制乌头总生物碱对心脏功能及其毒性的比较[J]. 中国药理学通报, 2004, 20(7):801-803.
- [3] 陈荣昌,孙桂波,张强,等. 附子及其复方中药的药理作用研究进展[J]. 中草药, 2014, 45(6):883-888.
- [4] CHAN T Y. Aconite poisoning following the percutaneous absorption of Aconitum alkaloids [J]. Forensic Sci Int, 2012, 223(1):25-27.
- [5] 王瑞,展晓日,乔延江. 附子总碱提取物的急性毒性实验研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(8):102-103.
- [6] 周远鹏. 附子及其主要成份的药理作用和毒性[J]. 药学报, 1983, 18(5):394-400.
- [7] 王冬梅,王艳宏,李永吉,等. 附子毒性、药效物质基础及分析方法研究进展[J]. 黑龙江医药, 2011, 24(1):45-47.
- [8] 沈映君. 中药药理学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2000:490.
- [9] 李琳,平静. 附子毒-效关系探析[J]. 河南中医, 2015, 35(1):171-172.
- [10] 王晓芬,朱英. 附子化学成分分析方法及药理作用的研究进展[J]. 海峡药学, 2010, 22(11):37-40.
- [11] YU B, CAO Y, XIONG Y K. Pharmacokinetics of aconitine-type alkaloids after oral administration of Fuzi (Aconiti Lateralis Radix Praeparata) in rats with chronic heart failure by microdialysis and ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Ethnopharmacol, 2015, 165(1):173-179.
- [12] ZHAO D, WANG J, CUI Y, et al. Pharmacological effects of Chinese herb aconite (Fuzi) on cardiovascular system [J]. J Tradit Chin Med, 2012, 32(3):1-2.
- [13] Niitsu H, Fujita Y, Fujita S, et al. Distribution of Aconitum alkaloids in autopsy cases of aconite poisoning [J]. Forensic Sci Int, 2013, 227(1):111-117.
- [14] 赵纳,侯大斌,刘向鸿. 不同炮制方法对附子中乌头总碱和双酯型生物碱含量的影响[J]. 中药材, 2011, 34(1):39-42.
- [15] 龚千峰. 中药炮制学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2007:293-296.
- [16] 陈学习,彭成. 附子毒性控制的多因素探析[J]. 中华中医药学刊, 2007, 25(4):680-681.

[责任编辑 张丰丰]