

附子的回阳救逆量效关系研究

邓家刚¹, 范丽丽^{1*}, 郝二伟², 覃骊兰¹, 杜正彩¹

(1. 广西中医学院药学院, 南宁 530001; 2. 山东中医院大学基础医学院, 济南 250355)

[摘要] 目的: 探讨附子回阳救逆功效的量效关系, 为临床安全用药提供客观实验依据。方法: 制备附子供试药液, 采用低钙任氏液建立离体蛙心心衰模型, 测定振幅增长; 建立肾阳虚小鼠模型, 测定血浆环磷酸腺苷(c-AMP)、环磷酸鸟苷(c-GMP)、内皮素(ET)及免疫器官胸腺、脾脏指数, 统计实验数据绘制量效曲线, 线性回归分析剂量与相应实验指标的相关性。结果: 附子能有效增强离体正常及心衰蛙心心肌收缩力, 且在一定范围内给药剂量与此效应存在良好线性相关; 与模型组相比附子能有效降低肾阳虚小鼠血浆c-GMP, ET, 升高c-AMP, c-AMP/c-GMP值, 增加胸腺、脾脏指数, 改善阳虚体征, 且在0.72~5.78 g·kg⁻¹剂量与c-GMP, c-AMP/c-GMP、胸腺指数、脾脏指数分别呈良好线性关系, 在0.72~7.22 g·kg⁻¹剂量与c-AMP呈良好线性关系, 在0.72~4.33 g·kg⁻¹剂量与ET呈良好线性关系。结论: 附子回阳救逆功效显著, 且在一定剂量范围内存在量效关系, 一旦超出相应剂量范围易出现毒性反应, 影响动物存活, 多实验剂量换算提示附子临证的安全剂量范围可能为5.56~44.44 g·d⁻¹。

[关键词] 附子; 回阳救逆; 量效关系; 相关性

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)09-0150-05

Experimental Study on Dose-Effect Relationship of Chinese Medicine Prepared Aconite Root on Effect of Reviving Yang for Resuscitation

DENG Jia-gang¹, FAN Li-li^{1*}, HAO Er-wei², QIN Li-lan¹, DU Zhen-cai¹

(1. Faculty of Pharmacy, Guangxi Traditional Chinese Medical University, Nanning 530001, China;

2. Faculty of Pharmacy, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China)

[Abstract] **Objective:** To inquire the dose-effect relationship of Chinese medicine prepared aconite root (PAT) on effect of reviving the Yang for resuscitation, and to provide the experimental basis for security administration. **Method:** Build the isolated frog heart failure model with low calcium Ren liquid and measure the myocardial contractile force of isolated frog heart failure model; Build mouse deficiency of kidney-Yang model with irrigating the stomach giving Hydrocortisone and measure plasma cyclic adenosine monophosphate (c-AMP) content, cyclic guanosine monophosphate (c-GMP) content, and the ratio of c-AMP and c-GMP, endothelinimmune(ET), organs thymus, spleen coefficient of mouse. **Result:** There was direct correlation between dose of PAT and effect of changing growth rate of the myocardial contractile force within 2.5-20 g·L⁻¹; There was direct correlation between dose of PAT and effect of changing c-GMP, c-AMP/c-GMP, organs thymus and spleen coefficient within 0.72-5.78 g·kg⁻¹ dose range; There was direct correlation between dose of PAT and effect of changing c-AMP within 0.72-7.22 g·kg⁻¹ dose range; There was direct correlation between dose of PAT and effect of changing c-AMP within 0.72-4.33 g·kg⁻¹ dose range. **Conclusion:** The effect of reviving the Yang for resuscitation was notable and showed dose-effect relationship. The conclusion from these experiments could hint the range of 5.56-44.44 g·d⁻¹ as clinic

[收稿日期] 20100411(004)

[基金项目] 广西壮族自治区科技厅自然科学基金项目(0731055)

[第一作者] 邓家刚, 教授, 博士生导师, 从事中药基础理论与药效筛选研究

[通讯作者] * 范丽丽, Tel: 0771-3137561, E-mail: fanli228@163.com

dose range, or toxicity become apparent.

[Key words] Prepared Aconite Root; Reviving the Yang for Resuscitation; Dose-Effect Relationship; Dependability

附子与人参、熟地黄、大黄并称为“中药四维”，有“回阳救逆第一品药”之称，是临床常用的中药之一。但同时附子“毒”与“效”的矛盾在临床实践中一直困扰着历代医家，有“最有用而最难用当推附子”之说：有医家坚持“附子大毒，不可用，非用必小”，不可贸然用之^[1-2]；而另有以“火神派”为代表的医家认为“附子为百药之长”，“量小无效”，须重用，目前困惑临床医生的是附子大剂量应用有无必要，是否可行^[3]。笔者选用附子进行其回阳救逆功效的实验研究，探讨其量效关系，为临床安全用药规范提供实验依据，进而为中药剂量与功效的相关性研究提供客观实证参考。

1 材料

1.1 动物 野生青蛙，雌雄兼有，体重(50 ±10) g，由广西中医学院实验动物中心提供，合格证号 SCXK 桂 2003-0001；昆明种小鼠，清洁级，雌雄兼有，体重(22 ±2) g，由广西医科大学实验动物中心提供(SCXK 桂 2003-0003)。

1.2 仪器 蛙心套管，广西中医学院药理实验室提供；万能杠杆，广西中医学院药理实验室自制；医用张力传感器，中国北京航天医学工程研究所生产；生物机能系统，BL-410，成都泰盟科技有限公司生产；电子天平，EL204，梅特勒—托利多仪器有限公司生产；数显恒温水浴锅，HH-4，国华电器有限公司生产；旋转蒸发仪，RE-52AA，上海亚荣生仪器厂生产；微量进样器，宁波市镇海玻璃仪器厂生产；快速混匀器，XH-C，江苏省金坛市医疗仪器厂生产；放射性免疫计数仪，GC-911，中国科大中佳公司生产；低温超速离心机，TGL-16M，湖南塞特湘仪有限公司生产。

1.3 药物 附子，购自四川省成都市荷花池药材市场，经广西中医学院中药鉴定教研室鉴定为毛茛科植物乌头 *Aconitum carlincadi* Debx. 的子根加工炮制品，采用水煎 2 次，每次 1 h，1:2 乙醇醇沉，减压浓缩，配置成 4 g·mL⁻¹ 冰箱保存；氢化可的松注射液，扬州制药有限公司生产，规格 5 mL 25 mg，批号 070320；KCl(批号 050507)，NaCl(批号 050909)，CaCl₂(批号 050909)，NaHCO₃(批号 040801)，NaH₂PO₄(批号 050603)，葡萄糖(批号 050909) 均为

AR 分析纯，广东汕头市西陇化工厂生产。

2 方法

2.1 附子剂量对离体蛙心节律性活动的影响

2.1.1 对正常离体蛙心节律性活动的影响 青蛙，体重(50 ±10) g，雌雄均用，随机分空白组和 8 个附子给药剂量组，共 9 组。按文献记载方法^[4] 制备离体蛙心，保持蛙心套管内任氏液体积为 0.8 mL。蛙心夹经长线连于张力换能器，开启 BL-410 生物机能实验系统观察、记录心肌收缩振幅。记录振幅波形稳定 15 min 后，给药分别加入 18 0.025, 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.6, 2.4 g·mL⁻¹ 附子药液 20 μL，使药液终浓度分别为 0.625, 1.25, 2.5, 5, 10, 20, 40, 60 g·L⁻¹，观察记录药物对蛙心心率和振幅的影响，分别记录给药前后的心率与振幅，计算差值。

2.1.2 对离体蛙心心衰模型节律性活动的影响

青蛙，体重(50 ±10) g，雌雄均用，随机分空白组和附子给药 12 剂量组，共 13 组。处理同上，记录振幅波形稳定 15 min 后，蛙心套管里换成低钙任氏液后，分别加入 18 0.025, 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.2, 1.6, 2.0, 2.4, 2.8, 3.2 g·mL⁻¹ 附子药液 20 μL，使药液终浓度分别为 0.625, 1.25, 2.5, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 mg·mL⁻¹，观察记录药物对蛙心心率和振幅的变化，分别记录给药前后的心率与振幅，计算差值。

2.2 对肾阳虚小鼠环核苷酸系统的影响 昆明种小鼠(22 ±2) g，雌雄各半，随机分为空白组、模型组、附子各剂量给药组，共 8 组，每组 14 只。文献记载方法^[5] 空白组动物每日灌胃给予生理盐水，常规饲养；模型组和给药组动物每日灌胃氢化可的松注射液 1 mg/只/d，连续 10 d。于第 12, 14, 16 天灌胃给药后模型组、给药组继续造模给药，共 13 d。第 11 天开始给药，空白组、模型组均灌胃给予蒸馏水(0.02 mL·g⁻¹)，给药组按附子各剂量灌胃给药(0.02 mL·g⁻¹)，连续 6 d。于末次给药后 24 h，眼眶取血，抗凝，4 2 000 r·min⁻¹，10 min 分离血浆置于 -20 冰箱保存。动物取血后断头处死，迅速取出胸腺、脾脏，用滤纸吸干水分后称其湿重，以相应体重算出各免疫器官质量指数。血浆 c-AMP, c-

GMP, ET 测定参照试剂盒完成。

2.3 统计学方法 所有定量指标均用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 t 检验完成组间统计分析比较, 绘制量效关系曲线, 精确得出量效曲线中斜率最大一段, 该段即可定量的分析和阐明药物剂量与效应之间的规律。

3 结果

3.1 附子剂量对离体蛙心节律性活动的影响

3.1.1 对正常离体蛙心节律性活动的影响 附子能增强离体蛙心收缩力, 加快心率, 与空白组比较有显著性差异 ($P < 0.01$), 并且随着附子剂量不同其对蛙心的强心作用也有所变化。在 $0.625 \sim 60 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 随剂量增大收缩幅度增大, $2.5 \sim 20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 差异达到显著水平 ($P < 0.01$), 高于 $60 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 有蛙心出现心律不齐, 剂量达到 $80 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 大部分蛙心出现水肿, 搏动无力, 可能发生中毒, 提示此剂量接近蛙心中毒剂量范围下限。见表 1。

附子增强蛙心心肌收缩力, 在 $0.625 \sim 40 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 呈剂量依赖关系, 剂量对正常蛙心振幅增长影响的线性关系方程为 $Y = 0.0254X + 0.2265$, $r = 0.9332$, 从实验结果可以看出附子剂量与其增强蛙心心肌收缩力作用呈良好线性相关。

表 1 不同剂量附子对正常离体蛙心振幅增长的影响 ($n=6$, $\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 / $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	对数剂量	振幅增长 / g
空白	-	-	0.02 ± 0.01
附子	0.625	-0.20	$0.13 \pm 0.08^{1)}$
	1.25	0.10	$0.18 \pm 0.13^{1)}$
	2.5	0.40	$0.30 \pm 0.13^{2)}$
	5	0.70	$0.36 \pm 0.18^{1)}$
	10	1.00	$0.53 \pm 0.33^{1)}$
	20	1.30	$1.01 \pm 0.33^{2)}$
	40	1.60	$1.10 \pm 0.57^{2)}$
	60	1.78	$1.06 \pm 0.34^{2)}$
	80	1.90	$1.03 \pm 0.37^{2)}$

注: 与空白组比较, ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ 。(下同)

3.1.2 对离体蛙心心衰模型节律性活动的影响 在正常蛙心收缩稳定后, 将蛙心套管中任氏液换成低钙任氏液, 此时蛙心出现振幅明显减小, 心率也立即显著减慢, 短时间内即造成离体蛙心心衰模型。与模型组比较, 在 $0.625 \sim 80 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 给药各组心肌收缩力明显增强, 振幅均有所增大 ($P < 0.01$), 有统计学意义, 见表 2。同时发现附子 $80 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 剂量组有样本出现心律不齐; 附子 $90 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 剂量组样本心肌收

缩力明显减弱, 出现严重心律不齐, 有水肿现象产生, 提示离体蛙心衰竭, 证实此时附子给药剂量已进入中毒剂量范围。

统计试验数据发现附子能显著增强心衰蛙心心肌收缩力在 $0.625 \sim 70 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 呈剂量依赖关系, 附子对离体心衰蛙心振幅增长影响的线性关系方程为 $Y = 0.0260X + 0.6768$, $r = 0.9641$, 试验得出结论: 在 $0.625 \sim 70 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 附子剂量与其增强离体心衰蛙心心肌收缩力呈良好线性相关。

表 2 不同剂量附子对离体心衰蛙心振幅增长的影响 ($n=6$, $\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 / $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	对数剂量	振幅增长 / g
空白	-	-	0.01 ± 0.02
附子	0.625	-0.20	$0.55 \pm 0.11^{2)}$
	1.25	0.10	$0.59 \pm 0.21^{2)}$
	2.5	0.40	$0.64 \pm 0.09^{2)}$
	5	0.70	$0.70 \pm 0.20^{2)}$
	10	1.00	$1.03 \pm 0.32^{2)}$
	20	1.30	$1.31 \pm 0.45^{2)}$
	30	1.48	$1.67 \pm 0.40^{2)}$
	40	1.60	$1.98 \pm 0.52^{2)}$
	50	1.70	$2.13 \pm 0.51^{2)}$
	60	1.78	$2.16 \pm 0.67^{2)}$
	70	1.85	$2.17 \pm 0.47^{2)}$
80	1.90	$2.11 \pm 0.33^{2)}$	
90	1.95	1.14 ± 2.19	

3.2 附子剂量对肾阳虚小鼠环核苷酸系统的影响

3.2.1 一般状态观察 试验过程中, 除附子剂量 4 组灌胃出现死亡 1 只外, 模型组及附子给药剂量 1, 6 组均有 3 只小鼠死亡, 死亡率为 25%, 体重均低于 12 g。造模动物出现一系列类似于肾阳虚证症状, 如: 倦怠蜷缩, 反应迟钝, 活动减少, 被毛蓬松, 喜聚集于饲养笼内一侧, 反应迟缓, 取时挣扎无力, 摄食量明显减少, 被毛疏松无光泽, 阴囊皱缩, 肛周污秽等。取血脱颈椎处死动物后解剖发现, 模型组胸腺、脾脏、肾上腺等器官明显萎缩。

3.2.2 附子剂量对肾阳虚小鼠环核苷酸系统指标血浆含量的影响 造模过程中模型组及附子给药各组均出现阳虚体征, 而模型组及剂量 5, 6 组有动物死亡, 解剖发现肾上腺萎缩。模型组血浆 c-AMP 含量较空白对照组降低, 统计有显著性差异 ($P < 0.01$), 而附子各组较模型组升高, 除剂量 1 组与模

型组比较其差异无显著性, 其余各组均有统计意义 ($P < 0.01$)。模型组血浆 c-GMP 含量较空白对照组升高, 统计有显著性差异 ($P < 0.01$), 而附子各组较模型组降低, 除剂量 1 组与模型组比较其差异无显著性, 其余各组均有统计意义 ($P < 0.01, P < 0.05$)。模型组血浆 c-AMP/ c-GMP 值较空白对照组降低, 统计有显著性差异 ($P < 0.01$), 而附子各组较模型组升高, 有统计意义 ($P < 0.01$), 见表 3。

绘制量效关系曲线图呈良好线性相关, 统计实验数据完成直线回归分析: 在 $0.72 \sim 7.22 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 附子剂量与 c-AMP 量效方程: $Y = 0.3319X + 9.7972$, $r = 0.8480$; 在 $0.72 \sim 5.78 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 附子剂量与

c-GMP 量效方程: $Y = -0.5601X + 9.6984$, $r = 0.9861$; 在 $0.72 \sim 5.78 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 附子剂量与 c-GMP 量效方程: $Y = 0.2000X + 0.9116$, $r = 0.9887$ 。

3.2.3 附子不同剂量对肾阳虚小鼠血浆内皮素含量的影响 模型组血浆内皮素含量较空白对照组升高, 统计有显著性差异 ($P < 0.01$), 而附子各组较模型组降低, 除剂量 1, 5 组与模型组比较其差异无显著性, 其余各组均有统计意义 ($P < 0.05, P < 0.01$), 见表 3。

统计 $0.72 \sim 4.33 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 数据完成直线回归分析, 得到附子剂量与 ET 量效方程: $Y = -0.7557X + 68.792$, $r = 0.7876$ 。

表 3 附子不同剂量对肾阳虚小鼠血浆 c-AMP, c-GMP, c-AMP/c-GMP 及 ET 的影响 (均 $\pm s, n = 11$)

组别	给药剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	对数剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	c-AMP/ $\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$	c-GMP/ $\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$	c-AMP/c-GMP/ $\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$	ET/ $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$
空白	-	-	12.19 \pm 0.95 ²⁾	7.24 \pm 2.29 ²⁾	1.93 \pm 0.93 ²⁾	66.84 \pm 5.98 ²⁾
模型	-	-	7.85 \pm 1.46	10.54 \pm 1.88	0.77 \pm 0.20	76.47 \pm 7.99
附子	0.72	-0.14	9.23 \pm 1.80	9.48 \pm 1.39	1.00 \pm 0.26 ²⁾	69.23 \pm 10.74
	1.44	0.16	10.72 \pm 2.39 ²⁾	8.61 \pm 1.51 ¹⁾	1.29 \pm 0.39 ²⁾	66.87 \pm 8.13 ¹⁾
	2.89	0.46	11.05 \pm 1.70 ²⁾	8.09 \pm 2.47 ¹⁾	1.48 \pm 0.49 ²⁾	65.82 \pm 66.16 ²⁾
	4.33	0.64	11.64 \pm 1.39 ²⁾	7.45 \pm 2.18 ²⁾	1.72 \pm 0.63 ²⁾	66.16 \pm 13.11 ¹⁾
	5.78	0.76	11.87 \pm 1.09 ²⁾	6.37 \pm 3.05 ²⁾	2.10 \pm 0.61 ²⁾	69.40 \pm 12.07
	7.22	0.86	11.70 \pm 2.41 ²⁾	7.54 \pm 2.45 ²⁾	1.71 \pm 0.69 ²⁾	64.45 \pm 78.84 ²⁾

注: 与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ (下同)。

3.3.4 附子不同剂量对肾阳虚小鼠免疫器官体重指数的影响 模型组小鼠胸腺、脾脏指数明显降低与空白组比较存在显著性差异 ($P < 0.01$); 附子各组胸腺、脾脏指数较模型组均有所增加 ($P < 0.01, P < 0.05$), 见表 4。对 $0.72 \sim 7.22 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 数据完成直线回归分析, 得到剂量与胸腺指数量效方程: $Y = 1.6000X + 12.0400$, $r = 0.8760$ ($F = 12.099, P < 0.05$)。对 $0.72 \sim 7.22 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 数据完成直线回归分析, 得到附子剂量与胸腺指数量效方程: $Y = 6.188X + 47.013$, $r = 0.9103$ ($F = 19.745, P < 0.05$)。这一结果说明在 $0.72 \sim 7.22 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 附子剂量与其增加小鼠胸腺、脾脏指数作用分别呈良好线性相关。

与模型组相比附子能降低 c-GMP, ET, 升高 c-AMP, c-AMP/ c-GMP, 增加胸腺、脾脏指数, 改善阳虚体征, 且在一定范围内呈剂量依赖关系。分析实验数据, 并结合实验动物体征的记录, 认为模型组、剂量 1 组死亡动物系造模引起, 剂量 6 组 ($7.22 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量组) 3 只动物可能系给予附子后非正常死亡, 说明剂量增加时疗效并未有显著增强反而影

响试验动物存活, 这也提示临床改善阳虚症状的应该限定在一定剂量范围内, 本试验结果完成剂量换算, 提示安全剂量范围可能为 $5.56 \sim 55.56 \text{ g} \cdot \text{d}^{-1}$, 若超出此范围, 回阳救逆效应将不明显, 反而增大中毒概率。

表 4 附子不同剂量对肾阳虚小鼠血浆免疫器官指数的影响

(均 $\pm s$)

组别	n	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	胸腺指数/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	脾脏指数/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$
空白	14	-	2.993 \pm 0.875 ²⁾	4.831 \pm 1.000 ²⁾
模型	11	-	0.870 \pm 0.490	2.718 \pm 0.830
附子	11	0.72	0.983 \pm 0.441	5.750 \pm 3.463 ¹⁾
	13	1.44	1.734 \pm 1.068 ²⁾	5.648 \pm 2.934 ²⁾
	14	2.89	1.573 \pm 0.877 ¹⁾	6.186 \pm 4.491 ¹⁾
	11	4.33	2.106 \pm 0.983 ²⁾	6.977 \pm 4.468 ¹⁾
	13	5.78	2.153 \pm 0.101 ²⁾	7.608 \pm 5.020 ²⁾
	11	7.22	2.214 \pm 1.654 ¹⁾	10.570 \pm 5.003 ²⁾

4 讨论

附子为“回阳救逆第一品药”, 现代药理研究证

实, 附子能加强心血管循环、扩张血管、增强心肌收缩力、加快心率、增加心排出量和冠状动脉血流量等, 被广泛应用于临床治疗亡阳证、心肾阳虚等阳虚诸证。然附子奇效却有毒, 亟待完成量效关系研究, 规范其临床剂量。有研究称, 水煎生附子四逆汤及水煎醇沉生附子四逆汤在低浓度时离体蛙心收缩张力增加, 振幅增大。随着浓度的增加, 在高浓度时对离体蛙心有明显的抑制作用, 这与生附子的毒性有很大关系^[6]。笔者前期研究显示: 仅在 $0.75 \sim 6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ (折合正常成人剂量约为 $5.77 \sim 46.15 \text{ g} \cdot \text{d}^{-1}$), 附子剂量与其对冰醋酸所致小鼠镇痛作用呈良好正相关^[6]。这为进一步的量效关系实验研究提供了实验基础。

传统中医理论认为“亡阳证”系心肾阳虚, 寒邪入里而致真阳衰微, 阴寒独盛, 阳气欲脱。临证多表现为心力不全、循环障碍、代谢偏低、体温下降等。实验采用低钙任氏液建立离体蛙心心衰模型以亡阳证, 实验结果表明: 附子能增强离体正常及心衰蛙心肌收缩力, 且在一定剂量范围内给药剂量与此效应存在线性关系, 但剂量一旦超出此范围, 出现明显中毒反应甚至引起蛙心衰竭失活。这为进一步在体量效关系研究提供实验基础。

氢化可的松阳虚模型为经典阳虚证模型, 用一定量的外源性糖皮质激素(氢化可的松)使垂体前叶的促肾上腺皮质激素(ACTH)释放抑制, 转而使肾上腺皮质分泌类固醇激素的释放减少, 动物出现一系列的“耗竭”现象, 即拱背、蜷曲、被毛疏松, 失去光泽, 消瘦, 体温下降, 游泳存活时间缩短; 并出现肾上腺萎缩, 全身免疫器官、免疫细胞损害等病理变化^[7]。环核苷酸系统是体内重要的活性物质, 被称为第 2 信使, c-AMP 和 c-GMP 成为评价阴阳平衡金指标之一。c-GMP 升高、c-AMP/c-GMP 下降与阳虚有一定的对应关系^[8]。本试验模型小鼠血浆 c-GMP 明显升高, c-AMP/c-GMP 降低, 这提示小鼠体内副交感神经-M 受体-c-GMP 系统功能偏亢, 而附子能减少 M 受体数量, 降低 c-GMP 系统反应性, 使之趋于正常。同时试验结果显示附子改善阳虚体征的功效与其给药剂量呈良好线性关系。刘欣等^[9]研究认为肾阳虚时机体血浆 ET 水平升高而导致的分别以 ET, NO 为主的缩血管与舒张血管因素动态平衡失调为“阳虚则寒”寒证的分子机制之一。本实验附

子能有效升高 ET, 验证其补阳以疗寒的作用, 且在 $0.72 \sim 4.33 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 呈剂量依赖线性相关。

试验结果显示: 在一定范围内, 其回阳救逆功效随剂量增大而增强, 且呈线性相关关系验证量效关系; 但同时发现效应达到最高处时并不再随剂量增大而增强, 此时量效关系曲线发生起伏, 观察试验动物一般生理状态高剂量组伴随有中毒症状出现, 甚至导致试验动物死亡, 这说明附子剂量持续增加时疗效并未有显著增强反而影响试验动物存活, 提示临床附子用药剂量不可无限制增大, 通过换算可以初步确定附子临床有效剂量范围可能为 $5.56 \sim 44.44 \text{ g} \cdot \text{d}^{-1}$, 超出此范围回阳救逆功效并未有效增强, 反而毒性反应明显, 无法保证用药安全, 同时增加患者医疗成本, 不利于中药临证应用, 制约中药现代化的开展。

[参考文献]

- [1] 蔡秋杰, 曹洪欣. 张仲景运用附子浅析[J]. 中医药信息, 2006, 23(2): 52.
- [2] 徐成贺, 赵体浩. 《金匱要略》药物剂量的使用探讨[J]. 国医论坛, 2000, 15(5): 4.
- [3] 吴韵敏. 从吴佩衡临床经验探析附子的临床应用[J]. 云南中医中药杂志, 2003, 24(1): 43.
- [4] 章元沛, 苏怀德. 药理学实验[M]. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 1996: 61.
- [5] 陈英华, 欧阳轶强, 孙琪, 等. 肾阳虚证动物模型规范化研究中诊断指标的选择的初步探讨[J]. 中国中医基础医学杂志, 2003, 9(10): 26.
- [6] 宁康健, 张永虎, 吕锦芳, 等. 四逆汤对离体蛙心收缩性能的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2008, 14(9): 38.
- [7] 邓家刚, 范丽丽, 杨柯, 等. 附子镇痛作用量效关系的实验研究[J]. 中华中医药学刊, 2009, 11: 2249.
- [8] 吴启端, 熊带水, 梁文能. 肾阳虚动物模型的研究概况[J]. 中国实验方剂学杂志, 2001, 7(6): 54.
- [9] 李东涛, 田济远, 王守海, 等. 阳虚的内在实质研究回顾与展望[J]. 现代中西医结合杂志, 2000, 9(13): 1213.
- [10] 刘欣, 兰金美, 李冬梅, 等. “阳虚则寒”寒证的分子机制研究——肾阳虚小鼠血浆内皮素、一氧化氮含量的变化[J]. 中华中西医杂志, 2006, 7(14): 332.

[责任编辑 邹晓翠]