

附子新型炮制品中乌头类生物碱测定及其强心作用研究

贾雪岩¹, 林 华^{2*}, 沈玉巧², 邓广海²

1. 广州中医药大学, 广东 广州 510405

2. 广东省中医院 药学部, 广东 广州 510120

摘 要: **目的** 比较附子新型炮制品与传统炮制品中乌头碱类水平及强心作用, 为附子炮制工艺改进提供药理学依据。**方法** 采用高效液相 (HPLC) 色谱法测定生附子及黑顺片、高温片、高压片、微波片 4 种附子炮制品及其煎煮液中 6 种乌头类生物碱水平; 应用 Langendorff 大鼠离体心脏灌流法, 测定附子 4 种炮制品对心率 (HR)、左心室收缩压 (LVSP)、舒张末压 (LVEDP)、左心室内压变化速率 ($\pm dp/dt_{max}$) 的影响, 分析其强心作用。**结果** 与生附子比较, 附子经炮制后, 毒性成分双酯型生物碱减低, 单酯型生物碱逐渐增加; 与黑顺片比较, 高压片中生物碱得到最大限度保留, 单酯型生物碱水平高于黑顺片, 双酯型生物碱水平较低, 说明附子高压炮制是一种“低毒高效”的工艺; 而高温片和微波片中单、双酯型生物碱水平均有所降低, 其成分有一定的流失; 4 种炮制品煎煮液中 6 种生物碱溶出率与炮制品中生物碱水平呈正相关。与对照组比较, 4 种炮制品均能够显著升高离体大鼠心脏的 HR、LVSP、 $\pm dp/dt_{max}$, 降低 LVEDP, 且呈一定剂量相关性; 与黑顺片组比较, 3 种新型炮制品 HR、LVSP、LVEDP、 $\pm dp/dt_{max}$ 均差异不显著; 在相同剂量下, 高压片中 HR、LVSP、 $\pm dp/dt_{max}$ 值最高, LVEDP 值较低。**结论** 附子高压炮制工艺是一种“高效低毒”炮制工艺, 且强心作用效果较好。

关键词: 附子; 炮制; 乌头类生物碱; 高效液相; 强心作用

中图分类号: R965 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2016)02-0224-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2016.02.014

Determination of content of novel aconite processed products and their cardiotoxic effect

JIA Xue-yan¹, LIN Hua², SHEN Yu-qiao¹, DENG Guang-hai¹

1. Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangdong Guangzhou 510405, China

2. Dept. of Pharmacy, Guangdong Province TCM Hospital, Guangdong Guangzhou 510120, China

Abstract: Objective To compare aconite content and cardiac effects of model processed products and traditional processed products, and to improve the processing technology of aconite. **Methods** Using HPLC to determine four kinds of aconite processed products (black smooth sheets, high temperature sheets, high pressure sheets, and microwaving sheets) and contents of six kinds of alkaloids in its decoction. With isolated heart perfusion with Langendorff method, HR, LVSP, LVEDP and $\pm dp/dt_{max}$ and other content indicators were determined, and the cardiotoxic effects of different aconite processed products were analyzed. **Results** The alkaloid content in high pressure *Aconiti Lateralis Preparata* slice (Fu Pian) had maximum retention, mono-ester type high alkaloid content, and diester decreased significantly, high temperature, microwaving, and black smooth single and double ester alkaloid contents were low, and the component loss was obvious. Four kinds of processed products of decoction of six kinds of alkaloids dissolution rate and processed products of alkaloid content showed a positive correlation, compared with the control group: Four kinds of processed products could improve significantly higher in isolated rat hearts of HR, LVSP, and $\pm dp/dt_{max}$ values, decreased LVEDP values, and the pharmacodynamic effect and dose size showed a certain correlation; compared with the black smooth sheets, three model processed products in HR, LVSP, LVEDP, and $\pm dp/dt_{max}$ and other indicators had no significant difference. In the same dose, high pressure Fu Pian in HR, LVSP, and $\pm dp/dt_{max}$ values were the highest, and LVEDP value was lower. **Conclusion** Fuzi high pressure processing

收稿日期: 2015-07-12

基金项目: 广东省自然科学基金资助项目 (S2013010014082)

*通信作者 林 华, 女, 主任中药师, 硕士生导师, 研究方向为中药质量鉴定和品质评价。Tel: (020)81887233 E-mail: lh33895380@163.com

technology is a kind of efficient low toxicity processing technology, with better cardiac effects.

Keyword: aconite; processing; *Aconitum* alkaloids; HPLC; cardiostimulant effect

附子为毛茛科植物乌头 *Aconitum carmichaeli* Debx. 的子根加工品, 具有回阳救逆、补火助阳的作用^[1]。现代学者认为, 附子强心作用^[2]是其中医临床疗效的主要药理学依据之一。附子含有多种强心成分, 如去甲乌药碱、撑棍碱、去甲猪毛菜碱等^[3-5]。乌头类生物碱既是附子的活性成分, 也是有效成分^[3]。乌头类生物碱特别是双酯型生物碱, 如新乌头碱 (mesaconitine, MA)、次乌头碱 (hypoaconitine, HA) 和乌头碱 (aconitine, AC) 等, 毒性极大^[4], 在加热、酸碱条件下容易水解成毒性很小的单酯型生物碱如苯甲酰新乌头原碱 (benzoylmesaconitine, BMA)、苯甲酰次乌头原碱 (benzoylhypoaconitine, BHA)、苯甲酰乌头原碱 (benzoylaconitine, BAC) 等。因此附子的炮制历来讲究减毒, 附子经过各种繁琐的炮制后, 毒性往往大大降低, 但有效成分往往也降低^[5]。本课题组前期对附子高温^[6]、高压^[7]、微波^[8]炮制工艺进行了大量实验研究, 优选出了各种炮制工艺的最佳条件。张云琦^[9]采用离体蛙心考察附子炮制品和生附子强心作用, 而采用大鼠离体心脏灌流法评价附子新型炮制品强心作用未见文献报道。本研究采用大鼠离体心脏灌流法比较传统炮制品和新型炮制品的强心作用, 评价附子现代炮制工艺, 为附子新型炮制工艺的改良提供药理学依据。

1 材料

1.1 药材

附子 (批号 20130812, 产地为四川江油), 由康美药业股份有限公司提供, 经广东省中医院主任中药师林华鉴定为毛茛科植物乌头 *Aconitum carmichaeli* Debx. 的子根。附子炮制品高温片、高压片、微波片、黑顺片 (批号分别为 20140221、20131227、20140225、20131230), 均为自制。

1.2 药品与试剂

MA、AC、HA、BMA、BHA、BAC 对照品 (批号分别为 X-011-130402、W-006-130421、C-023-130402、B-009-130416、B-016-130416、B-010-130416, 质量分数均大于 98%), 成都瑞芬思生物科技有限公司; 氯化钠、碳酸氢钠、磷酸二氢钾等试剂均为分析纯, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 乙腈、四氢呋喃为色谱纯, 美国 Honeywell 公司; 醋酸乙酯、乙醚、乙酸铵均为分析纯, 西陇化

工股份有限公司; 水为超纯水。

1.3 仪器

Agilent-1200 高效液相色谱仪 (美国安捷伦科技公司); RV 10 basic V 型旋转蒸发仪 (德国 IKA 公司); 离体心脏灌流装置 (美国 Radnoti 公司); 多通道信号采集系统 (法国 emka 公司); 9012AA2Y 恒温水浴锅 (美国 PolyScience 公司); AU220 型分析天平 (日本岛津公司); Delta-312 型 pH 酸度计 (上海梅特勒-托利多仪器有限公司); P7021TP-6 型微波炉 (广东格兰仕集团); KQ-700UDB 型超声仪、GZZ500 型蒸煮夹层锅、GT7C5-3 型卧式灭菌锅 (周口制药机械厂有限公司); CT-C-II 型热风循环烘箱 (常州市第二干燥设备厂); A4DL 型自动纯水蒸馏器、11413 摇摆式四两装高速中药粉碎机 (瑞安市永历制药机械有限公司)、QGX-400 切片机、DHG-9140A 烘箱、611D1 型超纯水仪 (德国赛多利斯集团)。

1.4 动物

SPF 级 SD 大鼠, 雌雄各半, 体质量 180~220 g, 广东省医学实验动物中心提供, 动物生产许可证号 SCXK (粤) 2013-0002。

2 方法

2.1 6 种乌头类生物碱测定方法

2.1.1 色谱条件^[7] Agilent Eclipse Plus C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm)。流动相为 [乙腈-四氢呋喃 (25:15)] (A) - [0.1 mol/L 醋酸铵溶液 (加入 0.5 mL/L 冰醋酸)] (B)。梯度洗脱程序: 0~10 min, 16%~19% A; 10~40 min, 19%~22% A; 40~55 min, 22%~35% A; 55~70 min, 35% A; 体积流量 0.8 mL/min; 柱温 30 °C; 检测波长 235 nm; 进样量 10 μL。

2.1.2 溶液的制备

(1) 附子炮制品的制备 黑顺片: 按照《中国药典》2015 年版一部附子炮制项下要求进行炮制^[1]; 高温片^[6]: 取大小均匀的附子生品洗净, 24 h 换一次胆巴水, 泡至透心, 切片, 120 °C 烘制 12 h; 高压片^[7]: 取大小均匀的附子生品洗净, 喷洒适量胆巴水, 闷润 30 min, 0.1 MPa 压力下蒸制 150 min, 切片, 50 °C 烘至干; 微波片^[8]: 取大小均匀的附子生品洗净, 喷洒胆巴水适量, 使附子润至透心, 切

片, 微波炉中火炮制 25 min。

(2) 供试品溶液的制备 精密称定生附子 1.0 g 和各附子炮制品粉末 2.0 g (过 50 目筛), 置磨口锥形瓶中, 加入 3 mL 氨试液和 50 mL 异丙醇-醋酸乙酯 (1:1) 的混合溶液, 称重, 放置过夜; 超声 30 min, 放冷, 称重, 混合溶液补足减失的质量; 滤过, 精密移取续滤液 25 mL, 40 °C 以下减压回收溶剂至干; 精密加入 0.05% 盐酸甲醇液溶解, 摇匀, 过 0.45 μm 微孔滤膜, 即得。

(3) 煎煮液的制备及处理 取附子各炮制品 500 g 置于 10 L 圆底烧瓶中, 加 10 倍量水, 加热回流提取 1 h, 滤过; 残渣加入 8 倍量的水, 加热回流提取 30 min, 滤过; 合并 2 次滤液, 真空减压加热浓缩成 0.1 g/mL (生药浓度), 得不同炮制品煎煮液。取各煎煮液 10 mL, 3 000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 40 °C 以下减压回收溶剂至干, 0.05% 盐酸甲醇液 2 mL 溶解, 过 0.45 μm 微孔滤膜, 取续滤液, 即得。

(4) 混合对照品溶液的制备 分别精密称取 MA、AC、HA、BMA、BHA、BAC 对照品 1.90、2.29、1.90、3.11、3.10、3.01 mg, 置于 10 mL 棕色容量瓶中, 加 0.05% 盐酸甲醇液稀释到刻度, 得混合对照品 A 液, 稀释 10 倍, 得混合对照品 B 液。

2.1.3 方法学考察

(1) 线性关系考察 取混合对照品 A 液, 分别进样 2、4、6、8、10、12、16、20 μL; 取对照品 B 液, 分别进样 1、2、4、6、8、10 μL。除进样量外, 其余按照“2.1.1”项色谱条件测定 6 种生物碱峰面积, 以峰面积 (Y) 为纵坐标, 对照品质量 (X) 为横坐标, 绘制标准曲线, 得回归方程。

(2) 精密度试验 精密吸取含有 6 种生物碱的对照品 B 液 10 μL, 在“2.1.1”项色谱条件下, 重复进样 5 次。

(3) 稳定性试验 取同一批次 (批号 20130812) 的附子粉末, 按“2.1.2 (2)”项下方法制备样品, 在“2.1.1”项色谱条件下, 分别在 0、4、8、16、24 h 进样检测。

(4) 重复性试验 精密称取同一批次 (批号 20130812) 附子粉末 5 份, 按照“2.1.2 (2)”项方法制备样品, 在“2.1.1”项色谱条件下进样测定。

(5) 加样回收率试验 取同一批次 (批号 20130812) 的附子粉末 2 g, 共 6 份, 精密称定, 每份分别精密加入与药材中 MA、HA、AC、BMA、BHA、BAC 水平相当的混合对照品, 按“2.1.2 (2)”

项下方法制备样品, 进样 10 μL, 进行测定, 按下式计算回收率。

$$\text{加样回收率} = (\text{测得量} - \text{原有量}) / \text{加入量}$$

2.2 6 种乌头类生物碱水平测定

精密称取附子生品及炮制品适量, 按照“2.1.2 (2)、(3)”项下方法制备样品溶液及水煎液, 在“2.1.1”项色谱条件下, 测定 6 种生物碱水平。

2.3 附子炮制品强心作用研究

2.3.1 煎煮液的制备

取附子炮制品适量, 先加 10 倍量水浸泡 30 min, 大火煮沸后小火煎煮 1 h, 纱布滤过; 残渣再加 8 倍量水煎煮 30 min, 纱布滤过; 合并 2 次水煎液, 减压回收溶剂, 分别得生药质量浓度为 1.2 g/mL 的煎煮液, 配制成 14.0、6.0、1.5 mg/mL 的溶液各 100 mL, 8 °C 冰箱保存待用。

2.3.2 晶体灌注液 (K-H 液) 的配制^[9] 称取 20.67 g 氯化钠、6.27 g 碳酸氢钠、1.05 g 氯化钾、0.48 g 磷酸二氢钾、5.99 g 葡萄糖、0.87 g 七水硫酸镁于烧杯中, 加入去离子水 1 L, 使其充分溶解, 加入 0.85 g 无水氯化钙, 边加边搅拌。每次实验新鲜配制, 置于 4 °C 冰箱保存备用。

2.3.3 动物分组 取 SD 大鼠 78 只, 随机分为 5 组: 对照组 6 只, 黑顺片组、高温片组、高压片组、微波片组各 18 只, 各给药组分为高、中、低 (14.0、6.0、1.5 mg/mL) 3 个剂量组, 每组 6 只。

2.3.4 大鼠离体心脏的制备、给药及指标检测 大鼠 ip 30% 水合氯醛麻醉后, 迅速打开胸腔, 切断主动脉 (保留 1 cm 左右) 和上、下腔静脉, 取出心脏置于 0 °C 的 K-H 液中, 排出心腔残留血液, 防止血液结块凝固。分离主动脉, 修剪残余的组织, 经主动脉逆行插管并且固定于 radnoti 灌流装置大鼠心脏套管上^[10]。采用 Langendorff 法进行逆向灌流, 通入 (95% O₂+5% CO₂) 的混合气体和 37 °C、氧气饱和的 (K-H) 液, 在左心耳切一小口, 将压力传感器测压导管的球囊插入左心室, 压力传感器连接 emka 多道生理记录仪, 灌流液恒定体积流量为 10 mL/min, 调节球囊压力在 533.29~1 066.58 Pa。稳定 20 min 后, 对照组给予去离子水 0.2 mL, 黑顺片组、高温片组、高压片组、微波片组给予相应剂量炮制品煎煮液 0.2 mL, 记录左心室给药前及给药后 15 min 心率 (HR)、收缩压 (LVSP)、舒张末压 (LVEDP)、左室内压变化速率 ($\pm dp/dt_{\max}$)。

2.4 统计学分析

数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS 19.0 软件进行统计分析, 组间比较用单因素方差分析。

3 结果

3.1 方法学考察

3.1.1 专属性考察结果 分别取混合对照品、炮制

品、炮制品煎煮液, 按上述 HPLC 分析条件测定, 进样 10 μL , 结果见图 1, 表明方法专属性良好。

3.1.2 线性关系考察结果 6 种生物碱回归方程及线性范围结果见表 1。表明 6 种生物碱在其线性范围内均在呈良好的线性关系。

表 1 6 种乌头类生物碱的标准曲线

Table 1 Standard curves of six kinds of *Aconitum* alkaloids

乌头类生物碱	线性范围/ μg	回归方程	相关系数/ R^2
MA	0.018 6~0.186 2	$Y=863.31X-0.61$	0.999 96
	0.372 4~3.724 0	$Y=851.17X-2.79$	0.999 99
HA	0.018 6~0.186 2	$Y=922.19X-1.11$	0.999 93
	0.372 4~3.724 0	$Y=905.17X-3.35$	0.999 99
AC	0.022 4~0.224 4	$Y=916.74X-2.58$	0.999 70
	0.448 8~4.488 4	$Y=930.33X-9.65$	0.999 95
BMA	0.030 5~0.304 8	$Y=720.89X+0.24$	0.999 97
	0.609 6~6.095 6	$Y=716.99X-1.77$	0.999 98
BHA	0.029 5~0.295 0	$Y=781.17X+0.05$	0.999 98
	0.590 0~5.899 6	$Y=777.54X-5.20$	0.999 99
BAC	0.030 4~0.303 8	$Y=751.41X+0.07$	0.999 96
	0.607 6~6.076 0	$Y=739.00X+1.35$	0.999 98

3.1.3 精密度试验结果 HA、MA、AC、BAC、BMA、BHA 的 RSD 分别为 1.49%、0.67%、1.75%、0.29%、0.31%、0.33% ($n=5$), 表明精密度良好。

3.1.4 稳定性试验结果 MA、AC、HA、BMA、BAC 和 BHA 的 RSD 分别为 1.35%、2.93%、1.54%、1.46%、1.75%、1.66% ($n=5$), 表明供试品溶液稳定性良好。

3.1.5 重复性试验结果 6 种生物碱 MA、AC、HA、BMA、BAC 和 BHA 的 RSD 分别为 0.39%、2.58%、2.72%、0.91%、2.14%、1.49% ($n=5$), 表明方法重复性良好。

3.1.6 加样回收率试验结果 MA、AC、HA、BMA、BAC 和 BHA 的平均加样回收率分别为 96.86%、101.08%、102.24%、102.40%、99.82%、100.90%, RSD 分别为 2.17%、0.50%、1.89%、1.24%、3.10%、3.78% ($n=5$), 表明方法准确度良好。

3.2 6 种生物碱水平测定

结果表明, 与生附子比较, 经炮制后, 双酯型生物碱水平大大减低, 而单酯型生物碱水平却逐渐增加; 与黑顺片比较, 高压附片中生物碱水平得到最大限度保留, 单酯型生物碱水平明显升高, 而毒性成分双酯型生物碱水平明显降低, 说明附子高压炮制是一种“低毒高效”的工艺, 而高温炮制品和

微波炮制品中单、双酯型生物碱水平均有所降低, 其成分有一定的流失。同时 4 种炮制品煎煮液中 6 种生物碱溶出率与炮制品中生物碱水平呈一定的正相关。结果见图 1、表 2。

3.3 附子炮制品强心作用研究

结果表明, 与对照组比较, 4 种炮制品均能够提高显著升高离体大鼠心脏的 HR、LVSP、 $\pm dp/dt_{\max}$ 值, 降低 LVEDP 值, 且药效作用呈剂量相关性, 说明附子炮制品具有明显强心作用, 能改善心脏的血流动力学指标。与黑顺片组比较, 3 种新型炮制品中 HR、LVSP、LVEDP、 $\pm dp/dt_{\max}$ 均没有显著差异, 但相同剂量下, 高压片中 HR、LVSP、 $\pm dp/dt_{\max}$ 值最高, LVEDP 值较低, 说明高压片强心作用效果较好。结果见表 3。

4 讨论

研究表明, 采用 Langendorff 离体心脏灌注模型, 不仅可以使心脏寿命得以延长, 减少实验动物的使用数量, 而且模拟人体的生理环境也使实验数据更加接近人的数值, 具有更高的可信度, 且该模型操作简单, 稳定, 可同时观测心脏收缩及舒张的多个指标。实验选择 LVSP、LVEDP、 $\pm dp/dt_{\max}$ 等血流动力学为指标, 评价附子传统炮制品和新型炮制品的强心作用, 主要依据是, $\pm dp/dt_{\max}$ 、LVSP

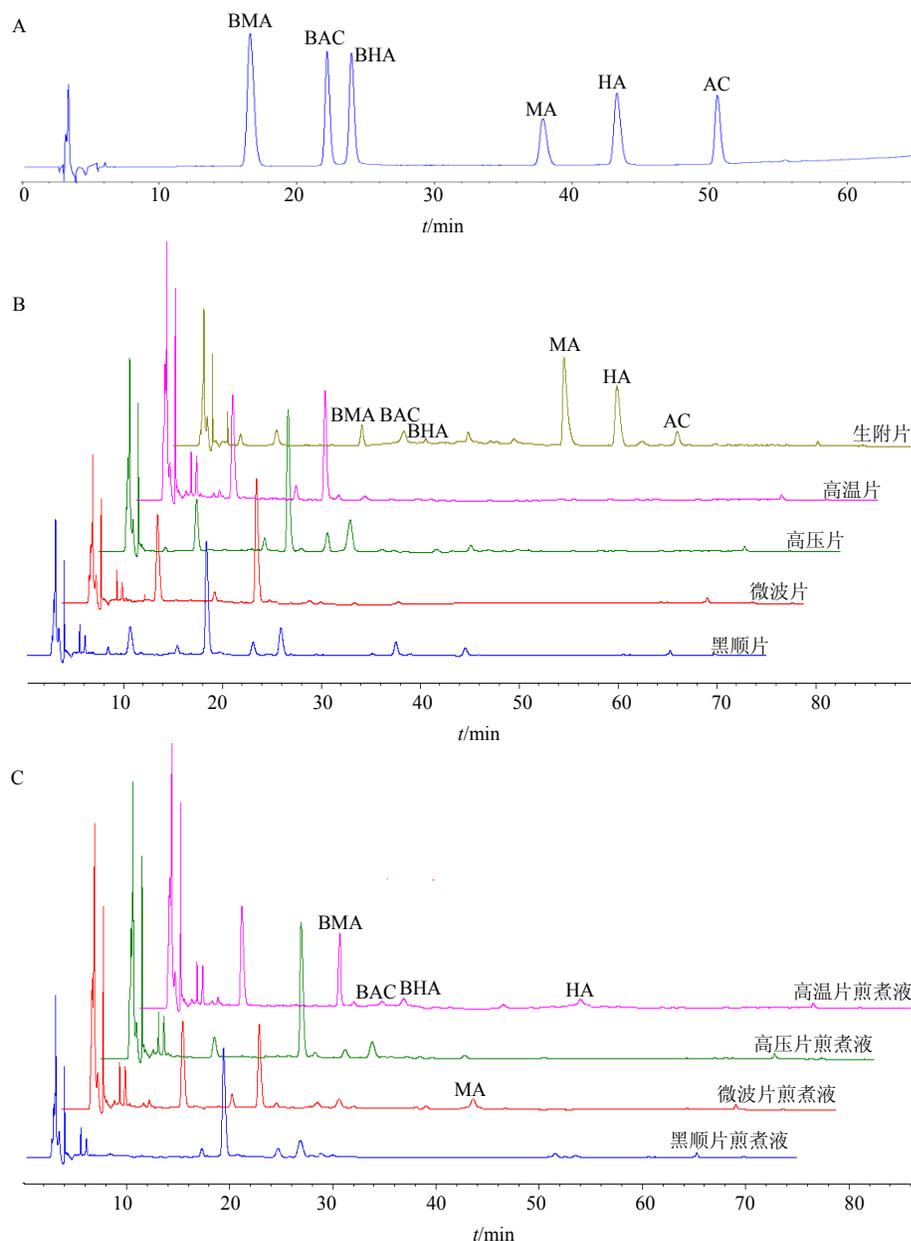


图 1 混合对照品 (A)、炮制品 (B)、煎煮液 (C) 6 种生物碱测定 HPLC 图

Fig. 1 HPLC of six alkaloid levels in mixed reference (A), processed products (B), and decoction (C)

表 2 附子、附子炮制品及其煎煮液中乌头类生物碱的测定结果 (n = 5)

Table 2 Determination of aconite, processed aconite, and decoction (n = 5)

组别	BMA/(mg·g ⁻¹)	BHA/(mg·g ⁻¹)	BAC/(mg·g ⁻¹)	MA/(mg·g ⁻¹)	HA/(mg·g ⁻¹)	AC/(mg·g ⁻¹)
生附子	0.655 8	0.070 0	0.025 7	1.143 5	0.336 1	0.191 0
黑顺片	1.210 4	0.179 4	0.119 5	0.016 9	0.083 0	—
高压附片	1.940 6	0.307 0	0.482 1	0.019 1	—	—
高温附片	0.774 3	0.100 0	0.063 9	0.108 5	0.051 3	—
微波附片	0.732 9	0.083 7	0.090 5	0.079 7	0.059 2	—
黑顺片水煎液	1.138 9	0.185 4	0.159 0	0.010 9	0.042 3	—
高压片水煎液	1.491 3	0.219 1	0.379 8	0.009 2	—	—
高温片水煎液	0.347 6	0.042 9	0.030 5	0.011 0	0.014 2	—
微波片水煎液	0.470 8	0.057 3	0.048 3	0.016 7	0.033 4	—

表 3 附子炮制品对大鼠离体心脏各项指标的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)
Table 3 Effect of processed aconite on indexes of isolated rat heart ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	HR/(次·min ⁻¹)	LVSP/kPa	LVEDP/kPa	+dp/dt _{max}	-dp/dt _{max}
对照	—	228.06±9.27	7.44±0.25	0.89±0.16	2 453±121	1 941±140
黑顺片	1.5	237.98±11.25*	9.04±0.45*	0.84±0.12	2 521±147	2 101±121
	6.0	245.79±7.14*	9.86±0.52*	0.71±0.12*	2 856±139*	2 166±96*
	14.0	254.09±4.54*	10.96±0.73*	0.62±0.13*	2 999±111*	2 392±163*
高温片	1.5	240.59±4.66*	8.58±0.49*	0.86±0.11	2 441±123	2 089±171
	6.0	251.78±4.71*	9.76±0.43*	0.74±0.08*	2 699±184*	2 199±138*
	14.0	256.56±3.76*	10.83±0.69*	0.63±0.07*	2 995±82*	2 377±183*
高压片	1.5	243.65±6.52*	8.88±0.23*	0.82±0.24	2 594±113	2 097±141
	6.0	252.48±2.89*	9.93±0.28*	0.69±0.06*	2 815±115*	2 258±152*
	14.0	264.52±5.43*	11.58±0.33*	0.54±0.03*	3 112±143*	2 496±114*
微波片	1.5	242.15±5.04*	8.92±0.55*	0.86±0.06	2 469±135	1 987±161
	6.0	248.09±4.85*	9.90±0.42*	0.74±0.06*	2 684±152*	2 149±137*
	14.0	256.72±3.97*	10.56±0.76*	0.63±0.04*	2 925±181*	2 369±255*

与对照组比较: *P<0.05

*P<0.05 vs control group

是心脏收缩功能评价的常用指标,与心肌收缩力具有直接的联系;-dp/dt_{max}、LVEDP是心脏舒张功能的常用评价指标,LVDP是反应左室内压的指标,可以随时监测左心室的压力变化,评价心脏的性能。

结果表明,高压片中单酯型生物碱水平较高,毒性成分双酯型生物碱水平大大降低,其有效成分保留明显高于黑顺片、微波片和高温片,其主要原因可能是高压炮制工艺减少了长时间浸泡过程,其减毒原理主要是高压蒸汽渗透至药材内部,在高温条件下促使毒性生物碱水解,整个过程既能降低药材毒性,同时也保留生物碱有效成分。同时强心药理实验结果表明,高压片能够显著升高离体大鼠心脏的HR、LVSP、±dp/dt_{max}值,降低LVEDP值,其强心作用优于黑顺片、高温片和微波片,是否提示高压片中单酯型生物碱高低与其强心作用强弱有一定相关性,或者高压片保留了其他未知强心成分,有待进一步进行研究。

参考文献

[1] 中国药典 [S]. 一部. 2015: 191-193.
[2] 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.
[3] Liu Y. Periodic solutions of nonlinear functional difference equations at nonresonance case [J]. *J Math Appl*, 2007, 327: 801.
[4] 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.
[5] 邵峰, 李赛雷, 刘荣华, 等. 附子不同炮制品镇痛抗炎作用研究 [J]. 时珍国医国药, 2011, 22(10): 2329.
[6] 林华, 方莉, 龚又明, 等. 附子高温烘制工艺的正交试验追加法优选 [J]. 时珍国医国药, 2014, 25(6): 1382.
[7] 方莉, 林华, 邓广海, 等. 正交试验法优选附子高压蒸制工艺 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(23): 20.
[8] 区炳雄, 龚又明, 林华, 等. 川乌微波炮制工艺优选 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(1): 39.
[9] 张云琦. 炮制对附子强心作用的影响 [J]. 黑龙江医药, 2011, 24(6): 884-886.
[10] 高枫, 孙桂波, 聂媛媛, 等. 丹酚酸 B 对大鼠离体工作心脏血流动力学的影响 [J]. 中国实验动物学报, 2011, 19(5): 396-399.
[11] 孙达, 张静, 陈金堂, 等. 香加皮中强心苷类对大鼠离体心脏的强心作用比较 [J]. 中华中医药学刊, 2011, 29(12): 2633-2635.