

## 附子对急性心力衰竭大鼠血流动力学影响及其机制研究

卢志强, 张艳军\*, 庄朋伟\*, 张金保, 周会芳, 陈卓, 孙萌, 徐利满

天津中医药大学 天津市中药药理重点实验室, 天津 300193

**摘要:**目的 复制急性心力衰竭模型, 基于 $\alpha$ 、 $\beta$ 肾上腺素能受体探讨附子抗急性心力衰竭药效作用及相关机制。方法 采用iv大剂量戊巴比妥钠的方法复制大鼠急性心衰模型, 分别设附子高、低剂量组及附子与 $\alpha$ 、 $\beta$ 肾上腺素能受体阻断药合用组, 动态监测模型大鼠左室收缩压(LVSP)、心率(HR)、左室内压上升/下降最大速率( $\pm dp/dt_{max}$ )等血流动力学相关指标, 评价附子对急性心衰大鼠心功能的影响。结果 与模型组相比, 附子具有显著升高血压、加快HR及加强心肌收缩力的作用( $P < 0.05$ 、 $0.01$ ), 且表现出一定程度的量-效、时-效关系。与附子给药组相比,  $\alpha$ 、 $\beta$ 受体阻断药均能显著拮抗附子升压作用,  $\beta$ 受体阻断药能显著拮抗附子加快HR作用( $P < 0.05$ 、 $0.01$ )。结论 附子对急性心衰大鼠具有明显的强心作用, 其部分机制与激动 $\alpha$ 、 $\beta$ 肾上腺素能受体有关。

**关键词:** 附子; 急性心力衰竭; 肾上腺素能受体; 强心作用; 血流动力学

**中图分类号:** R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2015)21-3223-05

**DOI:** 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.21.018

## Effect of *Aconiti Lateralis Radix Preparata* on hemodynamics of rats with acute heart failure and its mechanism

LU Zhi-qiang, ZHANG Yan-jun, ZHUANG Peng-wei, ZHANG Jin-bao, ZHOU Hui-fang, CHEN Zhuo, SUN Meng, XU Li-man

Key Laboratory of Pharmacology of Chinese Materia Medica, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

**Abstract: Objective** To observe the effects of *Aconiti Lateralis Radix Preparata* (ALRP) on hemodynamic indexes of rats with acute heart failure (AHF) and to study its possible mechanism of  $\alpha$  and  $\beta$  adrenergic receptor-related action. **Methods** The AHF model in Wistar rats was induced by injecting large doses of pentobarbital. Rats were received high and low doses of ALRP as well as  $\alpha$  and  $\beta$  adrenergic receptor blockers to observe the effect on hemodynamics (LVSP, HR, and  $\pm dp/dt_{max}$ ) in rats. **Results** ALRP could significantly increase blood pressure, heart rate, and myocardial contractility compared with the control group ( $P < 0.05$ ,  $0.01$ ), and it also exhibited a certain degree of volume-efficiency and time-effect relationship. The pressor effect of ALRP could be significantly reduced by  $\alpha$  and  $\beta$  adrenergic receptor blockers. Moreover the increasing heart rate effect of ALRP could be significantly reduced by  $\beta$  adrenergic receptor blocker ( $P < 0.05$ ,  $0.01$ ). **Conclusion** ALRP can significantly enhance the cardiac function in rats with AHF and the possible mechanism of this effect is associated with  $\alpha$  and  $\beta$  adrenergic receptors.

**Key words:** *Aconiti Lateralis Radix Preparata*; acute heart failure; adrenergic receptor; cardiac effects; hemodynamics

附子 *Aconiti Lateralis Radix Preparata* 为毛茛科植物乌头 *Aconitum carmichaeli* Debx. 子根的加工品, 是温里药中常用药物之一, 首载于《神农本草经》, 被称为“百药之长”, 又誉为“回阳救逆第一要药”<sup>[1]</sup>。附子属于大辛大热之品, 乃治阳虚诸证及寒凝痛证之要药, 尤能救治亡阳重证, 拯救生命于垂危, 历代文献皆有其功效的记载, 称其“有起

死回生之功”“功力为最”等, 为古今医家所喜用<sup>[2-3]</sup>。现代研究对附子“回阳救逆”的功效的科学解释为强心作用, 临床常用于心力衰竭、休克等的治疗, 但其强心作用主要成分及机制尚存争议<sup>[4]</sup>, 普遍认为其物质基础主要是生物碱类及附子苷类成分<sup>[5]</sup>, 而其可能机制主要与肾上腺素能受体、钙调磷酸酶等有关<sup>[4,6-7]</sup>。肾上腺素能神经系统(ANS)与心脏功

收稿日期: 2015-01-26

基金项目: 国家重点基础研究发展规划(“973”计划)项目(2011CB505300, 2011CB505302)

作者简介: 卢志强(1985—), 男, 博士研究生在读, 主要研究方向为中药药理。E-mail: luzq85@163.com

\*通信作者 张艳军(1967—), 男, 教授, 博士生导师。E-mail: zyjsunye@163.com

庄朋伟(1982—), 男, 副教授。E-mail: zhuangpengwei@163.com

能密切相关,本研究将系统评价附子抗急性心力衰竭药效作用以及与 $\alpha$ 、 $\beta$ 肾上腺素能受体相关的可能作用机制,为相关研究提供参考与支持。

## 1 材料

### 1.1 药品与试剂

附子饮片(产地为四川江油)购于中国药材总公司,经天津中医药大学中药鉴定教研室李天祥副教授鉴定为毛茛科多年生草本植物乌头 *Aconitum carmichaeli* Debx. 的干燥子根的加工品。戊巴比妥钠(批号 P8410,上海索莱宝生物科技有限公司);水合氯醛(天津福晨化学试剂厂);肝素钠注射液(12 500 U, 2 mL,河北常山生化药业股份有限公司),临用前用生理盐水稀释至 200 U/mL;普奈洛尔(质量分数 99%,批号 102H0612, Sigma);酚妥拉明(质量分数 99%,批号 P-7547, Sigma);异丙肾上腺素(ISO,批号 5e20002,上海禾丰制药有限公司)。

### 1.2 仪器

ML870 powerlab 八导电生理记录仪(ADInstruments Pty Ltd., 澳大利亚);WZS-50F6 双道微量注射泵(浙江史密斯医学仪器有限公司);F3×70A 型硬脊膜外麻醉导管(常州市乐佳医疗器械有限公司)。

### 1.3 实验动物

64 只雄性 Wistar 大鼠(200~220 g),SPF 级,购于中国医学科学院实验动物研究所,许可证号 SCXK(京)2009-0004。

## 2 方法

### 2.1 附子提取物的制备

称取附子干燥饮片 100 g,粉碎后加 10 倍量 75%乙醇,浸泡 30 min,回流提取 2 次,每次 1 h,滤过后合并 2 次滤液,减压浓缩至缓慢流动状态且无醇味为止,将浓缩后的浸膏用蒸馏水稀释至生药 3 g/mL,并置于 4 °C 保存,临用时用蒸馏水稀释。经分析鉴定,浸膏中主要成分为双酯型乌头碱、单酯型乌头碱及乌头原碱等成分。

### 2.2 实验分组

**2.2.1** 附子抗急性心衰药效学研究 大鼠随机分为 4 组,分别为模型组(等量生理盐水),附子高、低剂量(30、10 g/kg)组,ISO 阳性对照(ISO 5  $\mu$ g/kg)组,每组 8 只大鼠。

**2.2.2**  $\alpha$  受体阻断药对附子抗急性心衰作用的影响研究 大鼠随机分为 3 组,分别为模型组(等量生

理盐水)、附子组(30 g/kg)、酚妥拉明拮抗组(30 g/kg 附子+500  $\mu$ g/kg 酚妥拉明),每组 8 只大鼠。

**2.2.3**  $\beta$  受体阻断药对附子抗急性心衰作用的影响研究 大鼠随机分为 3 组,分别为模型组(等量生理盐水)、附子组(30 g/kg)、普奈洛尔拮抗组(30 g/kg 附子+300  $\mu$ g/kg 普奈洛尔),每组 8 只大鼠。

### 2.3 急性心力衰竭大鼠模型制备

将大鼠以 10%水合氯醛(3 mL/kg) ip 麻醉,仰卧固定于手术台上,剪去颈部鼠毛后用碘酊消毒手术部位皮肤。纵向切开颈部皮肤,分离右颈总动脉约 1.5 cm,结扎远心端,用动脉夹夹住血管近心端,从远心端用自制的钩针刺穿动脉,插入导管。用细线轻轻扎动脉壁于导管上,松紧以切口不漏血且导管能自由出入为度。导管中充满含 0.03%肝素的生理盐水,并与压力换能器连接,通过八导生理记录仪进行记录。观察示波器上所示压力波形的变化,轻轻夹住颈总动脉及导管,将导管插向左心室(3 cm 左右),当感到导管随心脏波动而明显抖动时,减慢插进速度并注意显示器血压波形变化,当血压波谷降至 0 mmHg(1 mmHg=0.133 kPa)附近,具有明显舒张期且顶峰平坦的波形时即表明导管已通过主动脉瓣进入左心室腔内,再送入导管 1~3 mm,若还保持心室波形则固定导管。信号输入至 Powerlab 八导生理记录仪自动记录血流动力学相关指标:心率(HR)、左室收缩压(LVSP)、左室内压上升/下降最大速率( $\pm dp/dt_{max}$ )。从尾静脉缓慢恒速给予 2%戊巴比妥钠 0.2 mL/(kg·min),并观察心功能指标变化,按文献报道<sup>[8]</sup>以  $dp/dt_{max}$  及 LVSP 降低 40%以上为心衰造模成功标准,随后以 0.6 mL/h 体积流量输入戊巴比妥钠至实验结束。

### 2.4 给药方法及指标测定

待心衰模型成功稳定 10 min 后,分离大鼠十二指肠并给予受试药物(附子或 ISO)或生理盐水;分离颈外静脉,建立受体阻断药(酚妥拉明、普奈洛尔)静脉给药通路。心功能指标于造模前、给药前(模型稳定后给药)以及给药后 2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、25、30、45、60 min 各采样记录 1 次。分析各指标的造模后及给药后的变化率,变化率=(Dtm-Dpm)/Dpm,其中 Dtm 表示造模后或给药后不同时间点数据, Dpm 表示造模前数据。

### 2.5 统计处理

数据采用统计软件 SPSS 16.0 进行统计分析,

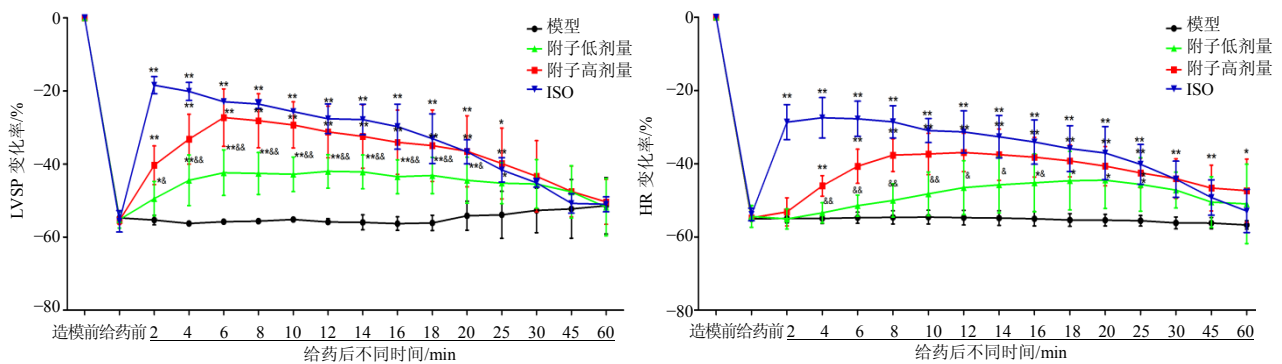
计量资料用  $\bar{x} \pm s$  表示, 组间比较采用两独立样本  $t$  检验。

### 3 结果

#### 3.1 附子对急性心衰大鼠血流动力学指标的影响

为了评价附子抗急性心力衰竭作用, 本研究采用 iv 戊巴比妥钠制备急性心衰模型, 检测血流动力学指标 LVSP、HR、 $\pm dp/dt_{max}$ , 结果见图 1~2。实验结果显示, 静脉输注戊巴比妥钠后使大鼠血流动力学相关指标均明显降低, 与造模前比较差异显著 ( $P < 0.01$ ), 模型组 LVSP 及  $dp/dt_{max}$  分别下降 54.76%、55.29% (均  $> 40\%$ ), 表明急性心衰模型成功。与模型组相比, 阳性药 ISO 给药后, 各血流动力学指标 (LVSP、HR、 $\pm dp/dt_{max}$ ) 在给药后显著升高, 2 min 左右作用效果最强; 附子高、低剂

量组给药后, LVSP 均有明显升高, 在给药后 2~25 min 差异均显著 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ ), 各组在给药后 6 min 作用最强, 其中附子高剂量组作用效果在 2~20 min 明显强于低剂量组 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ )。附子高剂量给药 4 min 后持续加快急性心衰大鼠 HR, 与模型组相比差异显著 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ ), 给药后 12 min 作用效果最强, 低剂量组起效时间较长, 在 16~30 min 表现出显著加快 HR 作用 ( $P < 0.05$ )。附子对急性心衰大鼠心肌收缩力的影响结果与 LVSP 类似, 与模型组相比, 高剂量组在给药后显著性升高  $+dp/dt_{max}$  以及降低  $-dp/dt_{max}$  ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ ), 且高剂量加强心肌收缩力的作用明显强于低剂量 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ ), 两组均在给药后 6 min 作用效果最强。



与模型组比较: \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$ ; 与附子高剂量组比较: &\* $P < 0.05$  &\*\* $P < 0.01$ , 图 2 同  
\* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  vs model group; &\* $P < 0.05$  &\*\* $P < 0.01$  vs ALRP high dose group, Fig. 2 is same

图 1 附子对急性心衰大鼠 LVSP 和 HR 的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

Fig. 1 Effects of ALRP on LVSP and HR in rats with AHF ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

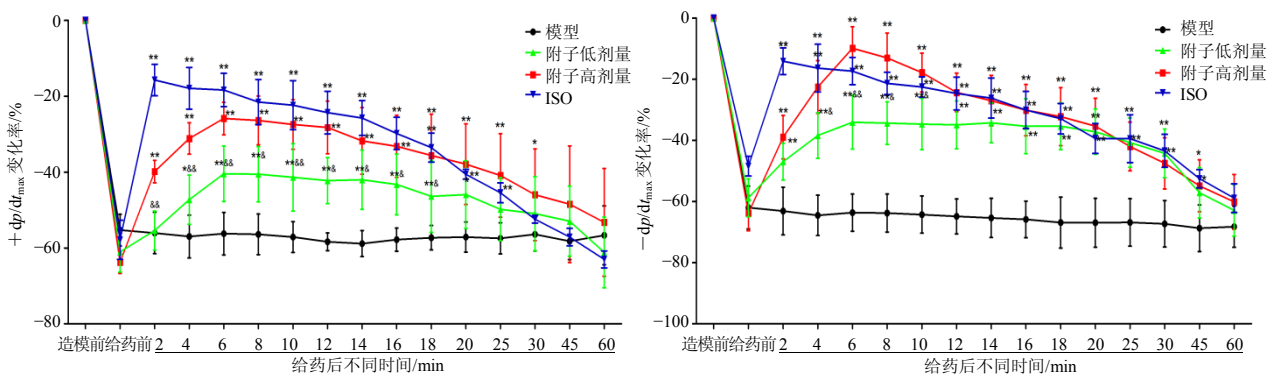


图 2 附子对急性心衰大鼠  $\pm dp/dt_{max}$  的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

Fig. 2 Effects of ALRP on  $\pm dp/dt_{max}$  in rats with AHF ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

#### 3.2 $\alpha$ 受体阻断药对附子抗急性心衰作用的影响

在大鼠急性心衰模型稳定后, iv 500  $\mu\text{g}/\text{kg}$  酚妥拉明, 然后立即十二指肠给予附子, 比较给予酚妥拉明前后附子对急性心衰大鼠的血流动力学影响,

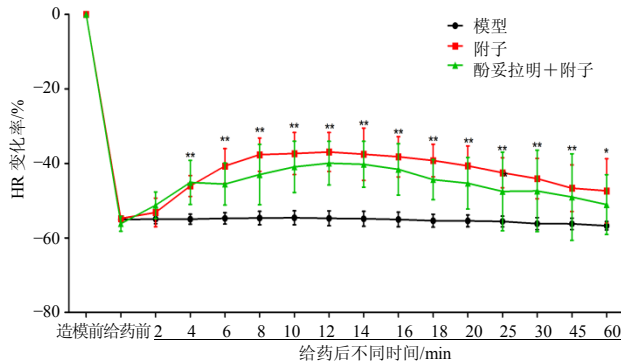
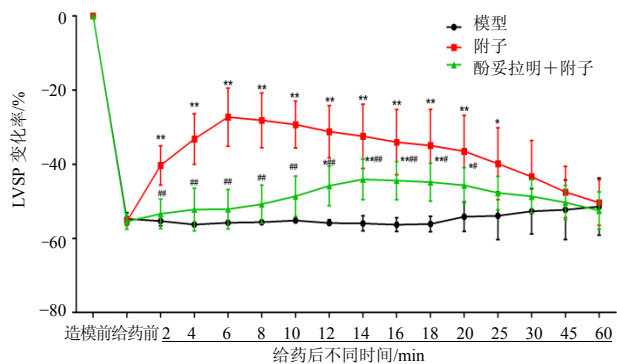
其结果见图 3。附子 (30  $\text{g}/\text{kg}$ ) 能显著升高 LVSP, 当给酚妥拉明阻断后, 其升压效果显著减弱。与附子组相比, 阻断  $\alpha$  受体后, 附子升压效果显著降低, 甚至有部分心衰大鼠血压先略为降低然后升高, 在

给药 2~20 min 后差异显著 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ )。与附子组相比, 酚妥拉明拮抗组 HR 略有下降, 但无显著性差异 ( $P > 0.05$ )。研究表明, 附子升压效果可以被  $\alpha$  受体阻断药酚妥拉明拮抗, 提示附子升高血压与激动  $\alpha$  受体有关。

### 3.3 $\beta$ 受体阻断药对附子抗急性心衰作用的影响

在大鼠急性心衰模型稳定后, iv 300  $\mu\text{g}/\text{kg}$  普奈洛尔, 然后立即十二指肠给予附子, 比较给普奈洛尔前后附子对急性心衰大鼠的血流动力学影响, 其结果见图 4。与附子组相比, 当给予普奈洛尔阻

断后, 普奈洛尔拮抗组升压效果显著减弱 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ ); 与模型组相比, 普奈洛尔拮抗组在给予附子后仍表现一定程度的升高 LVSP 的作用, 在 2~25 min 差异显著 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ ), 结果表明普奈洛尔能部分阻断附子升压作用。与附子组相比, 普奈洛尔拮抗组 HR 显著性降低 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ )。结果表明  $\beta$  阻断药普奈洛尔能完全阻断附子加快 HR 的作用以及一定程度上阻断其升高血压作用, 提示附子升高血压、加快 HR 作用与  $\beta$  受体有关。



与模型组比较: \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$ ; 与附子组比较: # $P < 0.05$  ## $P < 0.01$ , 图 4 同  
\* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  vs model group; # $P < 0.05$  ## $P < 0.01$  vs ALRP group, Fig. 4 is same

图 3  $\alpha$  受体阻断药对附子升高 LVSP 和加快 HR 作用的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

Fig. 3 Effects of  $\alpha$ -receptor blockers on increasing LVSP and HR in rats with AHF ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

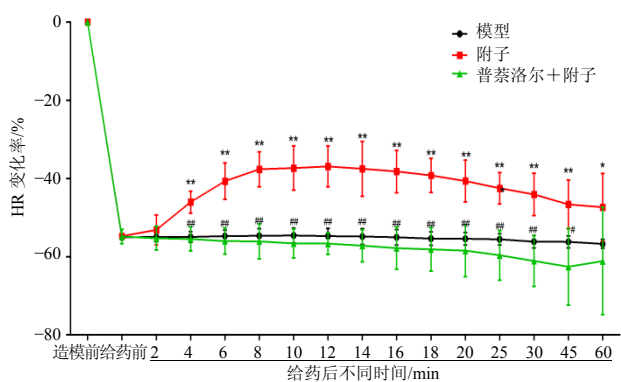
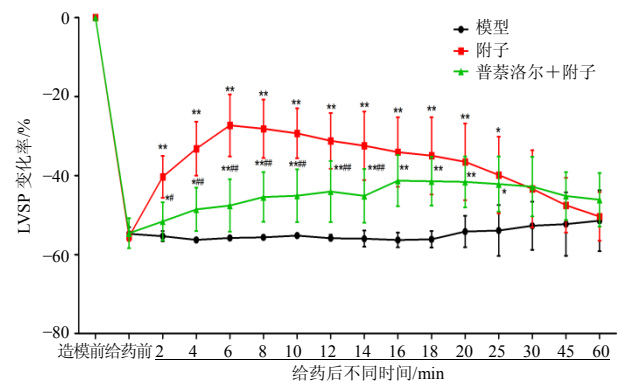


图 4  $\beta$  受体阻断药对附子升高 LVSP 和加快 HR 作用的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

Fig. 4 Effects of  $\beta$ -receptor blockers on increasing LVSP and HR in rats with AHF ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

## 4 讨论

附子为临床常用有毒中药, 属温热作用的药物, 适用于治疗阴寒内盛危重症, 具有强心、改善血流动力学指标、缓解心衰的治疗作用, 其应用与疗效备受中医药界重视。本研究采用戊巴比妥钠复制急性心衰模型, 戊巴比妥钠具有负性变力作用, 大剂量的戊巴比妥钠可严重抑制大鼠心肌收缩功

能而导致急性心衰, 主要表现为左室收缩功能的迅速减退, 具体在血流动力学方面表现为 LVSP、 $+dp/dt_{\text{max}}$ 、HR 的显著下降和  $-dp/dt_{\text{max}}$  的升高<sup>[9-10]</sup>。该模型常用于急性心衰方面的研究, 方法简单易控, 模型稳定,  $+dp/dt_{\text{max}}$  及 LVSP 降低 40% 以上并可维持 1~2 h, 适合本课题研究。LVSP、 $+dp/dt_{\text{max}}$  分别代表左室最大收缩压及左室压力上升最大速

率,其在一定程度上可以反映心功能状态及心肌收缩力,尤其是 $+dp/dt_{max}$ 对各种变力性因素高度敏感,是评价心肌收缩性能的最常用指标<sup>[11-12]</sup>,能够准确地反映左心收缩功能。

ANS与心脏功能密切相关,ANS对各种心血管效应发挥至关重要作用,其主要包括HR的加快(正性频率作用)、增加心肌收缩力(正性肌力作用)、加速心脏舒张、降低静脉血容量、收缩外周血管等<sup>[13-15]</sup>。所有这些效应目的都是提高心脏性能,为使机体的“战斗”或“逃跑”反应做准备。在细胞中,肾上腺素能受体与ANS释放的神经递质肾上腺素和去甲肾上腺素特异性结合而介导ANS相应的效应。肾上腺素能受体分为 $\alpha$ 和 $\beta$ 受体,这2种受体又可分为若干受体亚型: $\alpha$ 受体分 $\alpha_1$ 和 $\alpha_2$ , $\beta$ 受体分 $\beta_1$ 、 $\beta_2$ 和 $\beta_3$ 。这些受体广泛分布在人体不同器官与组织中,在心血管系统中起到关键作用。 $\alpha_1$ 受体主要分布在血管平滑肌(如皮肤、黏膜血管,以及部分内脏血管),激动时引起血管收缩; $\beta_1$ 受体主要分布于心脏、脂肪组织、肾血管床、血小板和胃肠道、肠系膜动脉,可使传导加速,心率加快,心肌收缩力增加,血管收缩,外周阻力增加,血压升高等; $\beta_2$ 受体主要分布于支气管平滑肌、血管平滑肌和心肌等,介导支气管平滑肌松弛、血管扩张等作用; $\beta_3$ 受体主要分布于脂肪、心脏、血管、肠道等组织,调节能量代谢,也介导心脏负性肌力及血管平滑肌舒张等作用<sup>[16]</sup>。

本研究系统评价了附子高、低剂量对急性心力衰竭的强心作用,附子具有非常强效的升高血压、加快HR及加强心肌收缩力的作用,起效时间短,维持时间较长,且表现出一定程度的量-效、时-效关系。在对附子与肾上腺素能受体相关的强心作用机制研究中,发现当阻断 $\alpha$ 受体时,附子升压作用可以在很大程度上被 $\alpha$ 受体阻断药酚妥拉明所对抗,但其加快HR作用基本无影响。这一结果表明,附子升高血压作用可能与 $\alpha$ 受体相关,而其加快HR作用则可能为其他机制。在进一步研究中,发

现当采用 $\beta$ 受体阻断药普萘洛尔拮抗附子时,其升压作用一定程度上被显著阻断,其加快HR作用几乎完全被阻断,这一结果提示附子升高血压、加快HR作用与 $\beta$ 受体有关。由此推测,附子的强心作用是其不同成分激动肾上腺素能受体的不同亚型,而表现为对ANS综合作用的结果。由于附子成分复杂,本研究尚未对其主要成分作用机制具体分析,其相关研究有待进一步深入。

#### 参考文献

- [1] 中国药典[S].一部.2010.
- [2] 平静,于鹰,王均宁.附子回阳救逆之运用[J].现代中医药,2013,33(5):97-99.
- [3] 邓家刚,范丽丽,郝二伟,等.附子回阳救逆量效关系的实验研究[J].时珍国医国药,2010,21(3):656-658.
- [4] 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.
- [5] 徐瞰海,赵洪峰,徐雅娟,等.四川江油生附子强心成分的研究[J].中草药,2004,35(9):9-11.
- [6] 尹玉柱,石岩殊.附子的应用体会与功效机制的现代研究[J].中国医药指南,2013,11(12):272-273.
- [7] 吴磊宏,高秀梅,王林丽,等.附子多成分作用靶点预测及网络药理学研究[J].中国中药杂志,2011,36(21):2907-2910.
- [8] 马淑骅,胡剑江,王玉敏,等.黄芪注射液对两种急性心衰模型的强心作用比较[J].中国中医基础医学杂志,2011,17(4):390-392.
- [9] 刘勤社,曹贵民,王朝宏.戊巴比妥钠致家兔心衰模型的方法探讨[J].陕西中医学院学报,1993,16(2):38-39.
- [10] 邓青秀,彭成.中医药心力衰竭动物模型的研究现状[J].四川动物,2011,30(2):296-300.
- [11] 张晓丹,张茹,余白云,等.补阳还五汤与黄芪对心力衰竭豚鼠强心作用的比较[J].中国心血管杂志,2005,10(6):421-423.
- [12] Wilfert K, Drischel K, Unbehaun A, et al. Vascular response to angiotensin II in atherosclerosis: role of the baroreflex[J]. Hypertension, 2000, 35(2): 685-690.
- [13] Lymperopoulos A, Rengo G, Koch W J. Adrenergic nervous system in heart failure: pathophysiology and therapy[J]. Circ Res, 2013, 113(6): 739-753.