

# 附子不同组分抗急性心力衰竭大鼠的实验研究

陈海媚<sup>1,2</sup>, 陈秋伶<sup>1</sup>, 李梦婷<sup>1,2</sup>, 谢晓芳<sup>1,2\*</sup>, 彭成<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>成都中医药大学药学院; <sup>2</sup>中药资源系统研究与开发利用省部共建国家重点实验室培育基地, 成都 611137

**摘要:**从血流动力学和神经体液因子两方面探讨附子不同组分对大鼠急性心力衰竭模型的治疗作用。采用盐酸普罗帕酮复制急性心力衰竭模型, 记录造模前后以及给药后 5、10、20、30、60 min 大鼠心脏频率(HR)、左心室最大上升速率( $+dp/dt_{max}$ )和左心室最大下降速率( $-dp/dt_{max}$ )值的变化, 并测定血清中 Ang-I、Ang-II、TNF- $\alpha$  和 ANP 含量。结果显示, 正常大鼠造模后, 其 HR 和  $+dp/dt_{max}$  明显降低,  $-dp/dt_{max}$  明显升高, 且 Ang-I、Ang-II、TNF- $\alpha$ 、ANP 均有升高趋势。与模型组比较, 总生物碱组和水溶性生物碱组可不同程度的升高模型大鼠各时间点的 HR、 $+dp/dt_{max}$ , 降低  $-dp/dt_{max}$ ; 且总生物碱组、水溶性生物碱组、脂溶性生物碱组和多糖组均有一定降低模型大鼠血清中 Ang-I、Ang-II、TNF- $\alpha$ 、ANP 水平含量的趋势。结果表明总生物碱对改善血流动力学作用最强, 其次是水溶性生物碱, 且两者均能显著降低血清中与心力衰竭有关的神经体液因子, 有效治疗急性心力衰竭, 由此可见, 附子水溶性生物碱以及总生物碱是其发挥强心作用的主要物质基础。

**关键词:**附子; 不同组分; 急性心力衰竭

中图分类号: R285.5; R965

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2019)3-0408-07

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2019.3.006

## Study on the effects of different components of Radix Aconiti Lateralis on rats with acute heart failure

CHEN Hai-mei<sup>1,2</sup>, CHEN Qiu-ling<sup>1</sup>, LI Meng-ting<sup>1,2</sup>, XIE Xiao-fang<sup>1,2\*</sup>, PENG Cheng<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Pharmacy College, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine;

<sup>2</sup>State Key Laboratory Breeding Base of Systematic Research, Development and

Utilization of Chinese Medicine Resources Co-founded by Sichuan Province and MOST, Chengdu 611137, China

**Abstract:** To study the effects of different components of Radix Aconiti Lateralis on rats with acute heart failure (AHF) in hemodynamics and neurohumoral factors. Use propafenone hydrochloride to copy the model rats of AHF. Then, observe and record the change of HR,  $+dp/dt_{max}$  and  $-dp/dt_{max}$  after administration 5, 10, 20, 30, 60 min, and measure the concentration of Ang-I, Ang-II, TNF- $\alpha$ , ANP by blood sampling after 60 min by ELISA. After modeling with propafenone hydrochloride, HR,  $+dp/dt_{max}$  were significantly decreased and  $-dp/dt_{max}$  was significantly increased, and Ang-I, Ang-II, TNF- $\alpha$ , ANP were trend to rise. Compared with the model group, total alkaloids and water-soluble alkaloids can increase the HR,  $+dp/dt_{max}$  and decrease the  $-dp/dt_{max}$  in varying degrees at all points of time; total alkaloids, water-soluble alkaloids, fat-soluble alkaloids and polysaccharides had the tendency to reduce the concentration of Ang-I, Ang-II, TNF- $\alpha$ , ANP, which were increased by modeling. In conclusion, the total alkaloids had the most significant effect of improving hemodynamics, followed by the water-soluble alkaloids, both of which could affect the neurohumoral factors associated with heart failure. Thus, it can be seen that the water-soluble alkaloids and total alkaloids are the main material basis in playing the role of cardiac.

**Key words:** Radix Aconiti Lateralis; different components; acute heart failure

收稿日期: 2018-09-17 接受日期: 2019-02-18

基金项目: 国家自然科学基金重点项目(81630101); 国家发改委标准化项目(ZYBZH-C-SC-51); 四川省中管局项目(2016ZY008); 国家科技部科技基础工作专项(2015FY111500-140); 四川省中央引导地方科技发展专项(2017JZYD0001)

\* 通信作者 E-mail: pengchengchengdu@126.com, xxfl4544@126.com

急性心力衰竭(Acute heart failure, AHF)系指急性的心脏病变引起心肌收缩力明显降低或心室负荷加重而造成急性心排血量骤降, 体循环或肺循环压力突然增高, 周围循环阻力增加, 最终导致组织器官灌注不足, 急性脏器淤血的临床综合征。临床上以

急性左心衰竭最为常见,表现为急性肺淤血、肺水肿,严重时出现心源性休克,其发生与交感神经系统和肾素-血管紧张素-醛固酮系统(RAAS)兴奋<sup>[1]</sup>、炎症细胞因子高表达<sup>[2]</sup>、血管内皮功能失常<sup>[3]</sup>、细胞能量缺失及信息传递系统障碍<sup>[4]</sup>等有关,现代医学的治疗手段也从早期单纯的强心、利尿、扩血管逐步转变为调节神经内分泌系统。

传统中药附子具有回阳救逆,补火助阳,散寒止痛的功效,尤能救治亡阳重证,被誉为“回阳救逆第一要药”。现代药理和临床研究表明,附子<sup>[5]</sup>及相关产品<sup>[6,7]</sup>,以及附子与干姜<sup>[8]</sup>、人参<sup>[9]</sup>配伍都具有强心、改变血流动力学、缓解心衰的治疗作用,具体表现在抑制血管紧张素以扩张血管,降低醛固酮含量以增强血管弹性,调节 RAAS 系统以减轻心脏负荷<sup>[10]</sup>,激动  $\alpha$ 、 $\beta$  肾上腺素能受体<sup>[11]</sup>以及调控 PI3K-Akt/Jak-STAT 通路<sup>[12]</sup>以改善心肌功能等,这也是对附子“回阳救逆”功效的科学解释。但其强心作用主要成分及机制尚存争议,本实验旨在从急性心力衰竭模型大鼠的血流动力学和神经体液因子两方面来筛选附子的强心组分,探索更多可能的强心物质基础,为相关研究提供参考和支持。

## 1 材料与仪器

### 1.1 实验动物

健康成年 SD 大鼠,SPF 级,雌雄各半,由四川省中医药科学院实验动物研究中心提供,质量合格证号:SCXK(川)2013-15。动物实验环境:成都中医药大学国家中医药管理局中药药理科研三级实验室(TCM-2009-315)。

### 1.2 药物与试剂

生附片:购自四川江浦中坝科技发展有限公司,经本校生药鉴定教研室高继海副教授鉴定为乌头 *Aconitum camichaeli*. Debx 的子根。附子总生物碱、水溶性生物碱、脂溶性生物碱、多糖以及脂溶性成分用蒸馏水配置成高、低二个剂量组(10 g 生药/kg,5 g 生药/kg),4 ℃ 储存,备用。

盐酸普罗帕酮注射液(广州白云山明兴制药有限公司生产,批号:171101);参附注射液(华润三九药业有限公司,批号:16111101002);肝素钠(成都市海通药业有限公司,效价 150 u/mg,批号:170904);乌来糖(成都市科龙化工试剂厂,批号:20130323);氯化钠注射液(四川科伦药业有限公司,批号:L117110808);Rat Ang-I ELISA Kit(Elabscience,批号:AK0018APR24012);Rat Ang-II ELISA

Kit(Elabscience,批号:AK0018APR24014);Rat TNF- $\alpha$  ELISA kit(Elabscience,批号:AK0018APR24010);Rat ANP ELISA Kit(Elabscience,批号:AK0018APR24008)。

### 1.3 仪器

BL-420 生物机能实验系统(成都泰盟科技有限公司);Varioskan Flash 2.4.3 全波长多功能读数仪(美国 Thermo 公司);离心机(Beckman Coulter,型号:Allegra X-30R Centrifuge);压力换能器等。

## 2 实验方法

### 2.1 附子不同组分的提取方法

据文献报道<sup>[13]</sup>,酸水有利于附子生物碱的提取,故本实验采用 0.1 mol/L 盐酸提取附子总生物碱,浓缩提取液,调节 pH = 3,酸水液通过苯乙烯系强酸性阳离子交换树脂,以 9% 氨水-70% 乙醇进行洗脱,减压回收氨水乙醇,即得附子总生物碱。附片粗粉经石油醚回流提取后,回收提取液,得附子脂溶性成分。5% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 浸润附片中粉,二氯甲烷加热回流提取,回收二氯甲烷,0.05 mol/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 萃取,将萃取所得酸水液加氨水调节 pH = 9 ~ 10,再用二氯甲烷萃取,回收二氯甲烷,得到附子脂溶性生物碱;挥干药渣中的二氯甲烷,加水回流提取,过滤,浓缩药液,加入高浓度乙醇,搅拌,静置至沉淀完全,回收乙醇至无醇味,加水稀释药液,调节 pH = 3,再通过苯乙烯系强酸性阳离子交换树脂,用 9% 氨水溶液洗脱,得到水溶性生物碱液,蒸干即可;除去醇沉后沉淀中的蛋白质,加水加热溶解,加入氯仿-正丁醇溶液,静止分层,水相浓缩即得附子多糖。

### 2.2 大鼠急性心衰模型的建立

取健康成年 SD 大鼠,雌雄各半,腹腔注射乌来糖 125 mg/kg,待大鼠麻醉后使其仰卧,固定四肢,纵向将其颈部腹侧偏右的皮肤剪开,于胸锁乳突肌内侧分离左颈总动脉,手术线结扎远心端,动脉夹夹住近心端,将充满肝素钠的导管沿颈动脉往心室方向插入,保证导管自由进出且切口处没有血液渗出,随即取掉动脉夹。后将导管插入左室腔,当感到导管随心脏搏动而明显抖动时,则应减慢插进速度。当显示器上的波形由血压波变成下沿达 0 mm Hg 附近具有明显舒张期而峰顶平坦的波形时表明导管已经通过主动脉瓣进入左室腔内,此时再送入导管约 0.1 ~ 0.3 cm,待波形平稳后,用动脉夹将导管固定于胸锁乳突肌上。传出的信号均同步记录在四道生理记录仪上,观察并记录一段正常值后,于股静脉缓慢注入盐酸普罗帕酮注射液(3.33 mL/kg)并观

察生理记录仪上的波形,当  $+dp/dt_{\max}$  下降到正常值的  $2/3$  时,且维持 5 分钟以上无明显上升趋势时,即视为急性心衰模型形成<sup>[14]</sup>。

### 2.3 大鼠心脏功能测定

将造模后的大鼠随机分组 ( $n=8$ ),分为模型对照组(蒸馏水)、阳性对照组(参附注射液 3.33 mL/kg)、附子不同成分给药组(总生物碱、水溶性生物碱、脂溶性生物碱、脂溶性成分和多糖高、低剂量组,即 10 g 生药/kg 和 5 g 生药/kg)。造模稳定后给药,其中阳性对照组股静脉注射给药,其余各组十二指肠给药。观察造模前后以及给药后 5、10、20、30、60 min 的 HR 及  $+dp/dt_{\max}$ 、 $-dp/dt_{\max}$  值的变化情况。

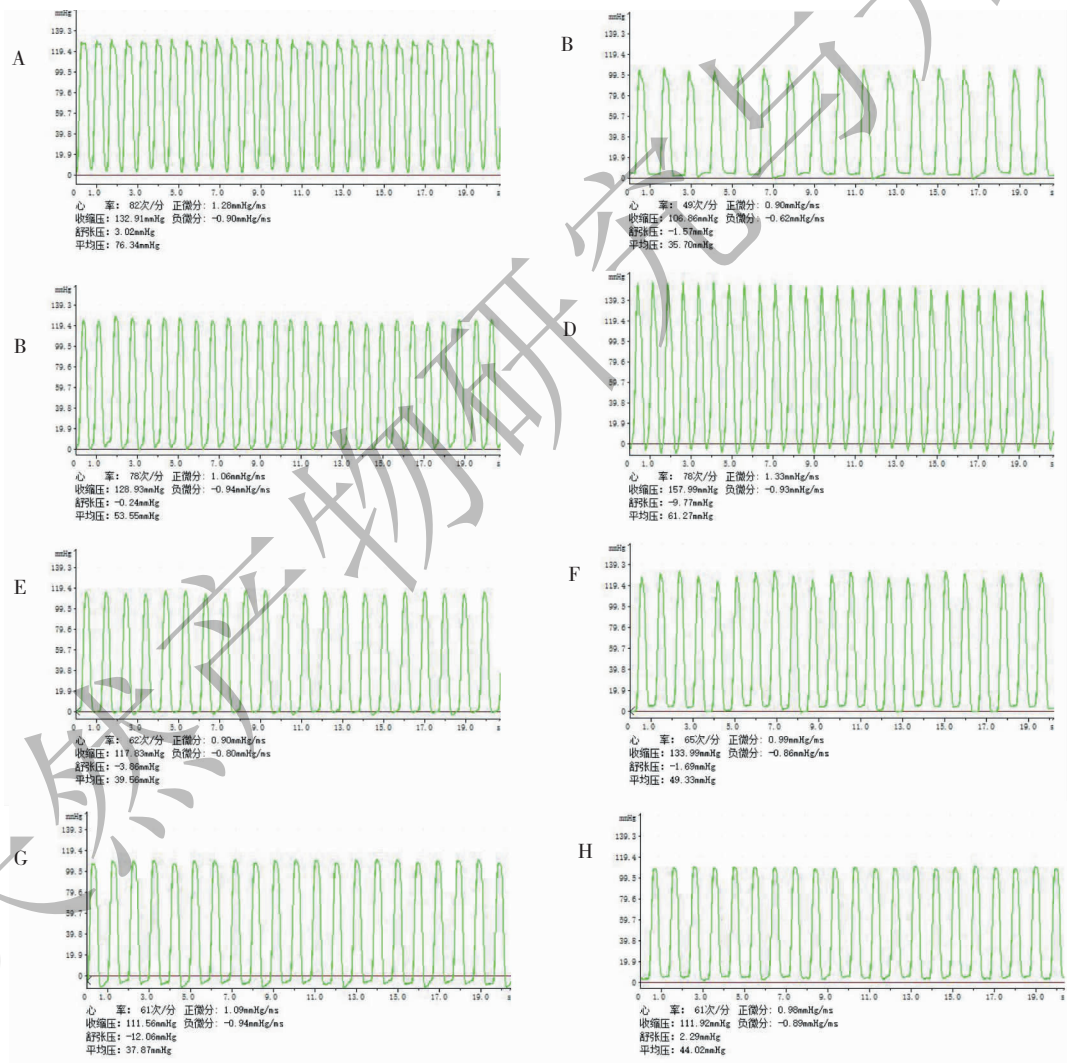


图 1 附子不同组分对急性心衰大鼠左室内压图的影响

Fig. 1 Effects of different components on left ventricular pressure chart of rats with acute heart failure

注: A. 造模前; B. 造模后; C. 参附注射液阳性组; D. 附子总生物碱高剂量组; E. 附子水溶性生物碱高剂量组;

F. 附子脂溶性生物碱高剂量组; G. 附子多糖高剂量组; H. 附子脂溶性成分高剂量组。

Note: A. before modeling; B. after modeling; C. ShenFu injection; D. high dose of total alkaloids; E. high dose of water-soluble alkaloids;

F. high dose of fat-soluble alkaloids; G. high dose of polysaccharides; H. high dose of fat-soluble components.

### 2.4 大鼠血清神经体液因子测定

将观察 60 min 后的各组大鼠进行腹主动脉取血,另取空白组 ( $n=8$ ) 以同样的方式采血,离心 15 min (4 000 rpm),取血清,采用酶联免疫法测定血清测定 Ang-I、Ang-II、ANP、TNF- $\alpha$  含量。

### 2.5 统计学处理

应用 SPSS 22.0 统计学软件进行处理,所得数据以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示,多组比较符合方差齐性采用单因素方差分析。两两比较用 q 检验。 $P < 0.05$  表明差异有统计学意义, $P < 0.01$  表明差异有非常显著的意义。

### 3 实验结果

#### 3.1 对急性心衰大鼠左心室内压图的影响

正常大鼠经左心室插管后,在生理记录仪上显示出具有一定规律的心室内压波形图,且 HR、+dp/dt<sub>max</sub>和-dp/dt<sub>max</sub>值稳定。经盐酸普罗帕酮注射液造模后,左心室内压波形图波间距增加,波形变矮变宽,心室 HR、+dp/dt<sub>max</sub>明显下降,心室内压-dp/dt<sub>max</sub>上升。经过一定时间后,波形图、HR、+dp/dt<sub>max</sub>、-dp/dt<sub>max</sub>值均有一定程度的恢复,各给药组恢复程度均优于模型组,且参附注射液阳性组和附子总生物碱高剂量组基本可恢复到造模前。各组心室内压变化详见图 1。

#### 3.2 对急性心力衰竭大鼠 HR 的影响

以大鼠造模前后自身频率差值(正常值-造模后值)为统计量做单因素方差分析,发现大鼠造模后 HR 值下降,表示心脏搏动次数减少,随着时间的

延长减小的幅度逐渐缩小,但仍低于正常值。给药后,参附注射液组和各给药组均有升高 HR 值的趋势,以总生物碱高剂量组作用最为明显,其 HR 基本可恢复到造模前。与模型对照组比较,总生物碱高剂量组在各时间点均有显著性差异( $P < 0.01$ );总生物碱低剂量组、水溶性生物碱高、低剂量组在给药后 5、10、20、30 min 时,具有显著性差异( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ );脂溶性生物碱高、低剂量组在各时间点均无显著性差异;多糖高剂量组在给药后 10、20、30 min 时,具有显著性差异( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ ),多糖低剂量组在给药后 5、10、20 min 时,具有显著性差异( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ );脂溶性成分高剂量组在给药后 10、20、30、60 min 时,具有显著性差异( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ ),脂溶性成分低剂量组在给药后 10、20、30 min 时,具有显著性差异( $P < 0.01$ )。详细结果见表 1。

表 1 附子不同组分对急性心衰大鼠心脏频率的影响( $n=8, \bar{x} \pm s$ )

Table 1 Effects of different components on HR of rats with acute heart failure ( $n=8, \bar{x} \pm s$ )

组别 Group	剂量 Dose (g/kg)	给药后 After dosing (HR)				
		5 min	10 min	20 min	30 min	60 min
模型 Model	-	29.38 ± 6.39	28.50 ± 6.44	26.50 ± 6.89	26.75 ± 7.63	25.00 ± 7.56
参附注射液 ShenFu injection	3.33 mL	27.75 ± 3.65	19.25 ± 6.94 *	13.88 ± 9.89 **	7.63 ± 12.81 **	5.63 ± 8.62 *
总生物碱 Total alkaloids	10	17.38 ± 7.31 **	10.13 ± 5.67 **	8.63 ± 3.38 **	3.75 ± 3.28 **	2.88 ± 4.42 **
	5	18.38 ± 6.84 **	10.00 ± 7.78 **	6.25 ± 6.14 **	8.25 ± 10.08 **	3.38 ± 12.34
水溶性生物碱 Water-soluble alkaloid	10	20.00 ± 6.09 *	14.25 ± 5.15 **	17.13 ± 5.33 *	15.38 ± 5.29 *	12.88 ± 8.77
	5	18.38 ± 6.82 **	16.25 ± 6.69 **	13.25 ± 10.18 *	11.25 ± 9.19 **	7.25 ± 16.95
脂溶性生物碱 Fat-soluble alkaloids	10	28.88 ± 8.39	23.38 ± 5.53	19.75 ± 7.52	18.88 ± 7.51	8.88 ± 10.84
	5	29.00 ± 6.80	23.25 ± 7.23	23.50 ± 7.69	21.00 ± 10.36	16.00 ± 10.78
多糖 Polysaccharides	10	23.75 ± 11.66	20.63 ± 9.56 *	14.88 ± 8.39 **	11.25 ± 11.13 *	9.38 ± 15.53
	5	22.11 ± 9.14 *	18.88 ± 10.37 *	14.75 ± 10.67 *	18.50 ± 8.49	10.25 ± 8.60
脂溶性成分 Fat-soluble components	10	22.38 ± 6.67	17.63 ± 6.65 **	14.13 ± 5.44 **	10.75 ± 8.96 **	7.00 ± 8.05 *
	5	22.13 ± 5.25	17.00 ± 5.40 **	11.25 ± 8.58 **	12.25 ± 10.22 *	12.63 ± 15.48

注:与模型对照比较,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ 。

Note:Composed with model group,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ .

#### 3.3 对急性心衰大鼠左心室内压最大上升速率 + dp/dt<sub>max</sub> 和最大下降速率-dp/dt<sub>max</sub> 的影响

大鼠造模后 + dp/dt<sub>max</sub>显著降低,以大鼠造模前后(正常值-造模后值) + dp/dt<sub>max</sub>为统计量做单因素方差分析,参附注射液组、总生物碱组和水溶性生物碱组具有一定升高 + dp/dt<sub>max</sub>的趋势。与模型对照组比较,总生物碱高剂量组在给药后 5、10、20 min 时,具有显著性差异( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ ),总生物

碱低剂量组在给药后 10 min 时,具有显著性差异( $P < 0.05$ );水溶性生物碱高剂量组在给药后 5、10 min 时,具有显著性差异( $P < 0.05$ ),水溶性生物碱低剂量组在给药后 10 min 时,具有显著性差异( $P < 0.05$ );多糖低剂量组在给药后 10 min 时,具有显著性差异( $P < 0.05$ )。详细结果见表 2。

大鼠造模后-dp/dt<sub>max</sub>有升高趋势,以大鼠造模前后(正常值-造模后值)-dp/dt<sub>max</sub>为统计量做单因

素方差分析,参附注射液组、总生物碱组、水溶性生物碱组和多糖组有一定降低-dp/dt<sub>max</sub>的趋势。与模

型对照组比较,总生物碱高剂量在给药后 10 min 时,具有显著性差异( $P < 0.01$ )。详细结果见表 3。

表 2 附子不同组分对急性心衰大鼠左心室 + dp/dt<sub>max</sub> 的影响 ( $n = 8, \bar{x} \pm s$ )

Table 2 Effects of different components on + dp/dt<sub>max</sub> of rats with acute heart failure ( $n = 8, \bar{x} \pm s$ )

组别 Group	剂量 Dose (g/kg)	给药后 After dosing (+ dp/dt <sub>max</sub> )				
		5 min	10 min	20 min	30 min	60 min
模型 Model	-	0.37 ± 0.15	0.36 ± 0.16	0.29 ± 0.03	0.22 ± 0.06	0.24 ± 0.08
参附注射液 ShenFu injection	3.33 mL	0.21 ± 0.14	0.17 ± 0.15 *	0.16 ± 0.22	0.16 ± 0.18	0.13 ± 0.19
总生物碱 Total alkaloids	10	0.16 ± 0.14 *	0.13 ± 0.17 **	0.19 ± 0.05 *	0.17 ± 0.06	0.08 ± 0.12
	5	0.24 ± 0.19	0.19 ± 0.14 *	0.13 ± 0.13	0.09 ± 0.13	0.08 ± 0.13
水溶性生物碱 Water-soluble alkaloid	10	0.19 ± 0.10 *	0.19 ± 0.09 *	0.14 ± 0.10	0.21 ± 0.09	0.19 ± 0.25
	5	0.22 ± 0.08	0.20 ± 0.08 *	0.21 ± 0.10	0.20 ± 0.10	0.04 ± 0.25 *
脂溶性生物碱 Fat-soluble alkaloids	10	0.39 ± 0.25	0.23 ± 0.23	0.20 ± 0.19	0.21 ± 0.21	0.08 ± 0.20
	5	0.40 ± 0.16	0.29 ± 0.10	0.30 ± 0.07	0.29 ± 0.11	0.25 ± 0.11
多糖 Polysaccharides	10	0.41 ± 0.22	0.34 ± 0.13	0.31 ± 0.21	0.23 ± 0.15	0.20 ± 0.15
	5	0.26 ± 0.12	0.20 ± 0.12 *	0.22 ± 0.20	0.28 ± 0.16	0.26 ± 0.17
脂溶性成分 Fat-soluble components	10	0.43 ± 0.19	0.38 ± 0.24	0.19 ± 0.14	0.46 ± 0.30	0.36 ± 0.27
	5	0.40 ± 0.16	0.26 ± 0.12	0.20 ± 0.08	0.18 ± 0.07	0.25 ± 0.18

注:与模型对照比较, \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ 。

Note: Composed with model group, \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ .

表 3 附子不同组分对急性心衰大鼠左心室 - dp/dt<sub>max</sub> 的影响 ( $n = 8, \bar{x} \pm s$ )

Table 3 Effects of different components on - dp/dt<sub>max</sub> of rats with acute heart failure ( $n = 8, \bar{x} \pm s$ )

组别 Group	剂量 Dose (g/kg)	给药后 After dosing (- dp/dt <sub>max</sub> )				
		5 min	10 min	20 min	30 min	60 min
模型 Model	-	-0.22 ± 0.13	-0.24 ± 0.08	-0.22 ± 0.07	-0.20 ± 0.05	-0.24 ± 0.05
参附注射液 ShenFu injection	3.33 mL	-0.11 ± 0.14	-0.13 ± 0.09	-0.09 ± 0.10	-0.10 ± 0.12	-0.13 ± 0.14
总生物碱 Total alkaloids	10	-0.02 ± 0.10	-0.0 ± 0.04 **	-0.14 ± 0.09	-0.10 ± 0.08	-0.12 ± 0.18
	5	-0.13 ± 0.11	-0.12 ± 0.10	-0.14 ± 0.10	-0.11 ± 0.12	-0.10 ± 0.19
水溶性生物碱 Water-soluble alkaloid	10	-0.17 ± 0.07	-0.17 ± 0.08	-0.19 ± 0.08	-0.21 ± 0.07	-0.20 ± 0.12
	5	-0.11 ± 0.11	-0.13 ± 0.11	-0.15 ± 0.09	-0.14 ± 0.14	-0.10 ± 0.18
脂溶性生物碱 Fat-soluble alkaloids	10	-0.26 ± 0.23	-0.22 ± 0.23	-0.25 ± 0.21	-0.21 ± 0.20	-0.26 ± 0.27
	5	-0.22 ± 0.16	-0.22 ± 0.08	-0.21 ± 0.12	-0.21 ± 0.11	-0.21 ± 0.14
多糖 Polysaccharides	10	-0.28 ± 0.21	-0.25 ± 0.16	-0.21 ± 0.20	-0.22 ± 0.20	-0.14 ± 0.18
	5	-0.16 ± 0.12	-0.13 ± 0.09	-0.17 ± 0.11	-0.17 ± 0.09	-0.11 ± 0.09
脂溶性成分 Fat-soluble components	10	-0.20 ± 0.09	-0.15 ± 0.09	-0.25 ± 0.19	-0.24 ± 0.14	-0.34 ± 0.26
	5	-0.22 ± 0.16	-0.13 ± 0.17	-0.15 ± 0.12	-0.13 ± 0.08	-0.25 ± 0.20

注:与模型对照比较, \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ 。

Note: Composed with model group, \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ .

### 3.4 对急性心衰大鼠神经体液因子的影响

大鼠经造模后,模型对照组 Ang- I、Ang-II、TNF- $\alpha$ 、ANP 均较空白组有所升高,其中 Ang- I、

Ang-II 和 ANP 升高明显,具有显著性差异( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。与模型对照组比较,参附注射液、总生物碱组、水溶性生物碱组、脂溶性生物碱组和多糖

组均有一定降低 Ang- I 的趋势,其中总生物碱低剂量组和水溶性生物碱低剂量组具有显著性差异( $P < 0.05$ );参附注射液、总生物碱组、水溶性生物碱组有一定降低 Ang-II 的趋势,其中总生物碱低剂量组和水溶性生物碱高、低剂量组具有显著性差异( $P$

$< 0.05$  或  $P < 0.01$ );参附注射液、总生物碱组、水溶性生物碱组有一定降低 TNF- $\alpha$  的趋势,但无统计学差异;除脂溶性成分外,各组均有降低 ANP 的趋势,且均有显著性差异( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。结果详见表4。

表4 附子不同组分对急性心力衰竭大鼠的神经体液因子影响( $n = 8, \bar{x} \pm s$ )

Table 4 Effects of different components on neurohumoral factors of rats with acute heart failure ( $n = 8, \bar{x} \pm s$ )

组别 Group	剂量 Dose (g/kg)	Ang- I (pg/mL)	Ang- II (pg/mL)	TNF- $\alpha$ (pg/mL)	ANP (pg/mL)
空白 Control	-	183.84 $\pm$ 35.61 *	403.88 $\pm$ 78.79 **	83.93 $\pm$ 4.42	314.12 $\pm$ 74.39 **
模型 Model	-	386.70 $\pm$ 93.96#	602.33 $\pm$ 45.81###	106.93 $\pm$ 17.29	512.23 $\pm$ 56.50###
参附注射液 ShenFu injection	3.33 mL	235.60 $\pm$ 46.81	429.54 $\pm$ 26.48 * *	91.49 $\pm$ 5.29	356.70 $\pm$ 47.84 * *
总生物碱 Total alkaloids	10	226.48 $\pm$ 31.68	441.24 $\pm$ 96.98	88.44 $\pm$ 9.57	319.06 $\pm$ 89.05 * *
	5	189.19 $\pm$ 60.74 *	395.14 $\pm$ 73.32 * *	90.65 $\pm$ 4.89	217.03 $\pm$ 54.90### * *
水溶性生物碱 Water-soluble alkaloid	10	214.61 $\pm$ 84.34	433.81 $\pm$ 73.83 *	93.82 $\pm$ 11.83	305.50 $\pm$ 77.79 * *
	5	194.83 $\pm$ 64.02 *	378.17 $\pm$ 30.25 * *	94.38 $\pm$ 7.76	278.36 $\pm$ 76.65 * *
脂溶性生物碱 Fat-soluble alkaloids	10	355.59 $\pm$ 117.07	691.32 $\pm$ 78.80###	109.90 $\pm$ 14.52	386.33 $\pm$ 78.95 * *
	5	333.45 $\pm$ 100.47	545.50 $\pm$ 75.96	104.20 $\pm$ 12.32	333.40 $\pm$ 72.04 * *
多糖 Polysaccharides	10	310.52 $\pm$ 85.25	661.21 $\pm$ 89.05###	110.66 $\pm$ 16.15	312.14 $\pm$ 59.69 * *
	5	356.09 $\pm$ 103.15	689.77 $\pm$ 95.13###	98.42 $\pm$ 9.60	416.33 $\pm$ 100.23###
脂溶性成分 Fat-soluble components	10	482.20 $\pm$ 137.73#	715.05 $\pm$ 117.60###	100.87 $\pm$ 14.07	467.92 $\pm$ 67.92###
	5	517.58 $\pm$ 151.20#	664.24 $\pm$ 101.46###	131.32 $\pm$ 16.32###	544.86 $\pm$ 81.44###

注:与空白组比较, # $P < 0.05$ , ### $P < 0.01$ ;与模型组比较, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ 。

Note: Composed with control group, # $P < 0.05$ , ### $P < 0.01$ ; composed with model group, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ .

#### 4 讨论

AHF 是指由于急性心脏病变引起心排出量急剧降低导致的组织器官灌注不足和急性瘀血综合征,其发生率及病死率相对较高,因此,尽可能的延缓病情发展、控制病死率成为目前研究的一大热点。当急性心力衰竭发生时,心脏收缩和舒张功能的紊乱导致  $+ dp/dt_{max}$  大幅下降和  $-dp/dt_{max}$  大幅上升, Ang-II 作为 RAAS 系统中一类重要的活性物质,血管紧张素原可在血液循环系统中经过与肾素的作用转化为 Ang-I,之后, Ang-I 则可通过血管紧张素转化酶的作用进一步转化为 Ang-II。因心衰时 RAAS 系统受到激活,肾素活性升高, Ang-I 的水平提高,故血液中含有显著升高的 Ang-II 可刺激血管加压素的分泌、血管的收缩、促交感神经递质的释放,使心脏的前后负荷加重,从而增加心肌的耗氧量。在心脏压力负荷增加的同时,又会引起 TNF- $\alpha$  mRNA 及蛋白质的表达,进而促进 TNF- $\alpha$  的产生和释放,进一步诱导细胞凋亡和心室重塑,恶化心力衰竭的发展,形成恶性循环<sup>[15]</sup>。心脏内分泌激素 ANP 在一定程度上可缓解心力衰竭引起的血容量增加、水钠潴留,减轻心脏负荷,使心功能暂时得到改善,还

可发挥局部抗纤维化的作用,但这是一种代偿反应,其作用远不敌其他细胞因子、神经内分泌激素等对心脏造成的损害,并不具备明显的对抗心衰的作用。随着心衰的发展和恶化, ANP 的分泌量增多,其含量与心衰的严重程度呈正相关,心衰越严重则 ANP 含量越高,所以 ANP 可视为判断心衰等级的一个评价指标。总而言之,在心力衰竭心室重构过程中,神经-体液-细胞因子之间相互作用,构成一个互相调节的体系,多种环节互相影响加重疾病进程<sup>[16]</sup>。

作为临床常见的急危重症之一,急性心力衰竭发作迅速,且发病人群没有显著的性别差异,因此,本实验研究选用雌雄各半的大鼠。经盐酸普罗帕酮造模后,模型大鼠左心室收缩和舒张功能迅速减退,具体在血流动力学方面表现为 HR、 $+ dp/dt_{max}$  的显著下降和  $-dp/dt_{max}$  的升高,血浆中神经体液因子 Ang-I、Ang-II、ANP 以及炎性细胞因子 TNF- $\alpha$  含量的增加,即大鼠心脏前后负荷增加, RAAS 系统兴奋,炎性细胞因子出现高表达,符合心力衰竭的发病机制。课题组前期通过一系列研究,已经确定了附子对心力衰竭的治疗作用,但其成分的复杂性和药效成分的不明确性会直接影响其体内作用规律的研究

究和临床用药的开展,在此基础上,本实验旨在筛选附子的强心组分,探索更多附子可能的强心物质基础,为其药效动力学研究以及临床应用提供参考和支持。本实验在给予附子不同组分后,就血流动力学方面,总生物碱组和水溶性生物碱组可不同程度的升高模型大鼠各时间点的 HR 和  $+dp/dt_{max}$ ,降低  $-dp/dt_{max}$ ,改善心肌功能;在神经体液因子调节方面,总生物碱组、水溶性生物碱组、脂溶性生物碱组和多糖组均有一定降低 Ang- I、Ang-II 的趋势,阻断 RAAS 系统介导的血管收缩、血压升高,下调炎症细胞因子 TNF- $\alpha$  的表达,最终减少心房本身合成和分泌的 ANP,减轻心脏的前后负荷,改善和延缓心室重构。

从所得数据分析可看出,总生物碱高剂量组对增强 HR、升高左心室  $+dp/dt_{max}$  和降低  $-dp/dt_{max}$  的作用最强,其次是水溶性生物碱低剂量,且两者均能显著降低血清中与心力衰竭有关的神经体液因子,有效治疗急性心力衰竭,由此可见,附子水溶性生物碱以及总碱是其发挥强心作用的主要物质基础。本研究仅在 10 g 生药/kg 和 5 g 生药/kg 两个剂量下对附子总生物碱和水溶性生物碱进行抗急性心力衰竭大鼠的实验研究,然而,附子的生物碱类成分对心率影响具有浓度依赖性,小剂量下能对抗心律失常,大剂量则诱发心律失常。因此,课题组接下来将会对附子不同组分对于心力衰竭的量-毒-效的作用靶点以及发生生理效应的下游机制进行深入探讨,弄清附子发挥药理作用的整个过程,并且对作用靶点、分子机制和药理作用之间的关系做进一步验证。

#### 参考文献

- Nielsen PM, Grimm D, Wehland M, et al. The combination of valsartan and sacubitril in the treatment of hypertension and heart failure-an update [J]. Basic Clin Pharmacol Toxicol, 2018, 122(1):9-18.
- Tang X, Chen XF, Wang NY, et al. SIRT2 acts as a cardioprotective deacetylase in pathological cardiac hypertrophy [J]. Circulation, 2017, 136:2051-2067.
- Jia G, Habibi J, Aroor AR, et al. Enhanced endothelium epithelial sodium channel signaling prompts left ventricular diastolic dysfunction in obese female mice [J]. Metabolism, 2018, 78:69-79.
- Zou R, Shi W, Tao J, et al. SIRT5 and post-translational protein modifications: A potential therapeutic target for myocardial ischemia-reperfusion injury with regard to mitochondrial dynamics and oxidative metabolism [J]. Eur J Pharmacol, 2018, 818:410-418.
- Zhou YX, Peng C, Liu JL, et al. Hemodynamic effect of Fupian fluid on model of rats with acute heart failure [J]. J Emerg Tradit Chin Med (中国中医急症), 2014, 23:382-384.
- Pan Y, Peng C, Zhou YX, et al. Experimental study of Shenfu injection in the treatment of acute heart failure rat with deficiency of heart Yang [J]. Guangming J Chin (光明中医), 2015, 30:1189-1191.
- Li Y, Dang J, Cao XY, et al. Pharmacokinetic study on active ingredients of Shenfu injection in normal and chronic heart failure rats [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2018, 30:475-479.
- Zeng DW, Peng C, Yu CH, et al. Effects of combination of Radix Aconiti Lateralis and Zingiberis Rhizoma on plasma renin-angiotensin-aldosterone system in acute heart failure rat with deficiency of heart Yang [J]. Pharm Clin Chin Mater Clin Med (中药药理与临床), 2011, 27(4):5-7.
- Li CY, Li YM, Zhang DF, et al. Effect of combination of Radix Aconiti Lateralis and Radix Ginseng on hemodynamics of acute heart failure rats [J]. Tradit Chin Drug Res Pharm (中药新药与临床药理), 2011, 22:593-596.
- He S, Dai O, Liu JL, Pueraria lobata dispersible tablet on protective effects of osteoporosis in ovariectomized rats [J]. Pharm Clin Chin Mater Clin Med (中药药理与临床), 2014, 30(2):89-92.
- Lu ZQ, Zhang YJ, Zhuang PW, et al. Effect of Aconiti Lateralis Radix Preparata on hemodynamics of rats with acute heart failure and its mechanism [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2015, 46:3223-3237.
- Wang QH, Gao JH, Chen HM, et al. Transcriptomics study on mechanism of Aconiti Lateralis Radix Praeparata in treatment of rats with acute heart failure [J]. Chin J Chin Materia Med (中国中药杂志), 2019, 44:131-140.
- Luo CM, Huang ZF, Tang YN, et al. Study on process of extraction and purification of water-soluble alkaloids from Aconiti Lateralis Radix Praeparata [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2017, 12:2415-2424.
- Zhang H, Peng C, Zhan HX, et al. Establishment of propafenone-induced acute heart failure in rat [J]. Sichuan J Zoology, 2018, 2:296-298.
- Tsutamoto T, Wada A, Maeda K, et al. Relationship between plasma Levels of cardiac natriuretic peptides and soluble Fas: plasma soluble Fas as a prognostic predictor in patients with congestive heart failure [J]. J Card Fail, 2001, 7:322-328.
- Bolton AE. Biologic effects and basic science of a novel immune-modulation therapy [J]. Am J Cardiol, 2005, 95(11A):24C-40C.