

附子总碱对大鼠心肌功能影响的研究

Research of effects on aconite total base in rat
myocardial function朱玉果^{1a}, 苏蕊雅^{1a}, 郭 胜^{1b}(1. 南阳医学高等专科学校 第一附属医院,
a. 冠心病监护病房; b. 心血管重症监护病房,
河南 南阳 473000)ZHU Yu-guo^{1a}, SU Rui-ya^{1a},
GUO Sheng^{1b}(1. a. Coronary Care Unit;
b. Cardiovascular Intensive Care Unit,
The First Affiliated Hospital of Nanyang
Medical College, Nanyang 473000, Henan
Province, China)基金项目: 河南省医学科技攻关联合共建基金
资助项目 (LHGJ20211359)作者简介: 朱玉果 (1992 -), 女, 主治医师, 主
要从事动脉粥样硬化和心力衰竭相
关研究

通信作者: 郭胜, 主任医师

MP: 13503878992

E-mail: 13503878992@126.com

摘要:目的 探究附子总碱对大鼠心肌功能的影响及其作用机制。方法 将 SPF 级 Wistar 大鼠分为空白组、对照组及低、中、高剂量实验组, 每组各 10 只。空白组灌胃给予 0.9% NaCl; 对照组灌胃给予 10 mg · kg⁻¹ 异丙肾上腺素; 低、中、高剂量实验组分别按 2.72、3.68、4.98 g · kg⁻¹ 的剂量灌胃给予附子总碱。5 组大鼠每天给药 1 次, 连续给药 5 d。给药 5 d 后, 记录大鼠心脏 T 波变化, 构建大鼠离体心脏灌注模型。观察各组大鼠离体心脏的心功能及心肌收缩功能, 比较各组大鼠心肌细胞的活性和丙二醛含量变化, 用实时荧光定量聚合酶链反应法检测心肌细胞过氧化物酶增殖激活受体 γ 辅助激活物 1 α (Pgc-1 α)、B 淋巴细胞瘤-2 (Bcl-2) 和 Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bax) mRNA 相对表达水平。

结果 低、中、高剂量实验组、空白组和对照组在注射后 30 min 的 T 波变化幅度分别为 (0.17 ± 0.07)、(0.29 ± 0.05)、(0.37 ± 0.04)、(0.30 ± 0.07) 和 (0.36 ± 0.04) mV, 心肌细胞活性分别为 (0.46 ± 0.05)、(0.44 ± 0.08)、(0.35 ± 0.07)、(0.45 ± 0.06) 和 (0.33 ± 0.05) Abs, 丙二醛含量分别为 (2.56 ± 0.28)、(2.55 ± 0.26)、(2.86 ± 0.28)、(2.49 ± 0.34) 和 (2.83 ± 0.25) mmol · mL⁻¹, Pgc-1 α mRNA 相对表达水平分别为 0.49 ± 0.05、0.41 ± 0.07、0.27 ± 0.05、0.48 ± 0.06 和 0.35 ± 0.05, Bax mRNA 相对表达水平分别为 1.10 ± 0.08、1.25 ± 0.09、1.36 ± 0.07、1.09 ± 0.09 和 1.33 ± 0.07, Bcl-2 mRNA 的相对表达水平分别为 0.58 ± 0.06、0.51 ± 0.05、0.44 ± 0.04、0.56 ± 0.08 和 0.45 ± 0.03。低剂量实验组的上述指标与中、高剂量实验组及空白组比较, 在统计学上差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。

结论 较低剂量的附子总碱对大鼠的心电 T 波、心功能及心肌收缩存在正向积极作用, 能提高其心肌细胞活性, 降低丙二醛含量, 但高剂量的附子总碱对其心肌功能存在药物不良反应。

关键词: 附子总碱; 离体心脏; 毒性作用; 心功能**DOI:** 10.13699/j.cnki.1001-6821.2025.17.014**中图分类号:** R28 **文献标志码:** A**文章编号:** 1001-6821(2025)17-2477-06

Abstract: Objective To investigate the effects of total alkaloids of *Aconitum carmichaelii* on myocardial function in rats and its underlying mechanisms. **Methods** SPF-grade Wistar rats were randomly assigned into five groups ($n = 10$ each): blank group (0.9% NaCl), control group (isoproterenol 10 mg · kg⁻¹), experimental-L group (2.72 g · kg⁻¹ total alkaloids of *A. carmichaelii*), experimental-M group (3.68 g · kg⁻¹), and experimental-H group (4.98 g · kg⁻¹). All groups were gavaged once daily for 5 consecutive days. Thirty minutes after the last injection, T-wave amplitude on electrocardiogram was recorded. An isolated heart perfusion model was established to evaluate cardiac function and myocardial contractility. Myocardial cell

activity and malondialdehyde content were measured, and real-time quantitative PCR was used to detect mRNA expression levels of peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1 alpha (*Pgc-1 α*), B-cell lymphoma 2 (*Bcl-2*) and Bcl-2-associated X protein (*Bax*). **Results** The T-wave amplitudes for the experimental-L, -M, -H groups, blank group and control group were (0.17 ± 0.07), (0.29 ± 0.05), (0.37 ± 0.04), (0.30 ± 0.07) and (0.36 ± 0.04) mV, respectively; the myocardial cell activities were (0.46 ± 0.05), (0.44 ± 0.08), (0.35 ± 0.07), (0.45 ± 0.06) and (0.33 ± 0.05) Abs, respectively; the while malondialdehyde contents were (2.56 ± 0.28), (2.55 ± 0.26), (2.86 ± 0.28), (2.49 ± 0.34) and (2.83 ± 0.25) mmol $\cdot$ mL⁻¹, respectively; the relative mRNA expression levels of *Pgc-1 α* were 0.49 ± 0.05 , 0.41 ± 0.07 , 0.27 ± 0.05 , 0.48 ± 0.06 and 0.35 ± 0.05 , respectively; the relative mRNA expression levels of *Bax* were 1.10 ± 0.08 , 1.25 ± 0.09 , 1.36 ± 0.07 , 1.09 ± 0.09 and 1.33 ± 0.07 , respectively; the relative mRNA expression levels of *Bcl-2* were 0.58 ± 0.06 , 0.51 ± 0.05 , 0.44 ± 0.04 , 0.56 ± 0.08 and 0.45 ± 0.03 , respectively. Compared with the experimental-M, -H groups and blank group, the above indexes of the experimental-L group were statistically significant (all $P < 0.05$). **Conclusion** Lower doses of *Aconitum carmichaelii* total alkaloids positively influence ECG T-wave amplitude, cardiac function, and myocardial contractility, improve myocardial cell activity, and reduce oxidative stress, whereas high doses exert cardiotoxic effects.

Key words: total alkali of *Aconitum carmichaelii*; isolated heart; toxic effect; heart function

附子是一种常见的中药材,具有散寒止痛、补火助阳的功效。现代药理学研究证实,附子的生物碱(如乌头碱等)具有镇痛、抗炎及心肌梗死治疗功效^[1],但是其较大的毒性使其无法被广泛使用^[2]。附子中的生物碱具有心脏毒性,可导致严重心律失常。为了保证用药安全性,临床在近年来致力于分析附子总碱中的毒性成分,以期达到减毒作用。有研究通过构建动物模型分析附子总碱诱发中毒症状,发现附子总碱在特定给药剂量下可导致实验动物出现特征性心电图改变,主要表现为ST段偏移和T波异常等心肌缺血样改变^[3]。然而,目前关于附子总碱剂量梯度与心肌功能损伤程度的相关性研究仍较为缺乏,特别是其对心肌收缩力和细胞活性的量效关系仍需进一步研究,临床实践中附子制剂用量存在较大差异,缺乏统一的剂量标准,有必要探究不同剂量附子总碱的心毒性作用^[4]。本研究旨在探究附子总碱对心肌功能的影响及其作用机制。

材料与方法

1 材料

动物 雄性 SPF 级 Wistar 大鼠,鼠龄 12~13 周、体质量 300~350 g,购自中国中医科学院医学实验中心。动物许可证号:SCXK(豫)-2024-0005。本实验经南阳医学高等专科学校第一附属医院动物伦理委员会批准(伦理批号:NYMYFY-IRB-2024-0012)。

药品与试剂 附子总碱,规格:每瓶 100 g,含量:

$\geq 95\%$,批号:20230401,亳州市鼎医堂中药科技有限公司生产;盐酸异丙肾上腺素,规格:每瓶 2 mL/1 mg,含量: $\geq 95\%$,批号:41240402,上海禾丰制药有限公司生产;胰蛋白和锥虫蓝酶,均由美国 Sigma-Aldrich 公司生产;Krebs-Henseleit 缓冲液,美国 Sigma 公司生产;5-溴脱氧尿苷和 TRIzol 试剂,均由美国 Invitrogen 公司生产;逆转录试剂盒和四甲基偶氮唑盐比色(methyl thiazolyl tetrazolium assay, MTT)试剂盒,均购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司;多聚酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)试剂盒,德国 Qiagen 公司生产;丙二醛检测试剂盒,南京建成生物工程研究所生产;过氧化物酶增殖激活受体 γ 辅助激活物 1 α (peroxisomeproliferative activated receptor- γ activation of auxiliary factor 1 α , Pgc-1 α)、B 淋巴细胞瘤-2(B-cell lymphoma-2, Bcl-2)、B 淋巴细胞瘤-2 相关 X 蛋白(Bcl-2 associated protein, Bax)一抗与辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔免疫球蛋白 G (immunoglobulin G, IgG)抗体(二抗),均购自美国 Abcam 公司。

仪器 159914-220 双通道 Langendorff 灌注系统,美国 Radnoti Glass Technology 公司产品;ABI Prism 7500 实时荧光定量 PCR 仪,美国 Applied Biosystems 公司产品;BL-Century 生物信号采集系统、BL-420F+生理记录仪,均为成都泰盟科技有限公司产品;CKX41 显微镜,日本 Olympus 公司产品。

2 实验方法

2.1 溶液配制

称取附子总碱粉末 1 150 mg,加入适量蒸馏水,

通过磁力搅拌器充分搅拌直至完全溶解。随后,将溶液转移至 1 000 mL 容量瓶中,继续加入蒸馏水定容,配制质量浓度为 $1.15 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 附子总碱溶液。将溶液存放于避光、低温环境中备用。

2.2 动物分组与给药方法

50 只大鼠用随机数表法分组,空白组、对照组和低、中、高剂量实验组各 10 只。空白组灌胃给予 0.9% NaCl;低、中、高剂量实验组分别按 2.72、3.68、4.98 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的剂量灌胃给予附子总碱溶液;对照组大鼠每日灌胃给予 10 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量异丙肾上腺素,所有实验组动物均按相同给药频率(每日 1 次)和疗程(连续 5 天)进行药物干预。

2.3 生理监测仪监测心电图^[5]

连续给药 5 d 后,对大鼠注射过量的垂体后叶素,在注射后,于 10、20、30、40、50 min 时用生理监测仪监测小鼠心电图,T 波变化率 = [(注射药物后的 T 波值 - 注射前 T 波值) / 注射前 T 波值] $\times 100\%$ 。

2.4 大鼠离体心功能变化情况^[6]

大鼠经 30% 水合氯醛麻醉后,开胸切断主动脉等大血管,迅速取出心脏置 K-H 液中。分离主动脉,连接 Radnoti 双通道 Langendorff 系统,以新鲜灌流液灌流。左心室内置压力传感器测压,同步监测心率与心排血量。

2.5 生物信号采集与分析系统监测心肌收缩功能^[7]

利用生物信号采集与分析系统,检测左心室舒张末期压(left ventricular end diastolic pressure, LVEDP),左心室收缩压(left ventricular systolic pressure, LVSP),左心室内压最大下降速率(maximum rate of decline of left ventricular pressure, $-\text{dp}/\text{dt}$),左心室内压最大上升速率(maximum rate of rise of left ventricular pressure, $+\text{dp}/\text{dt}$)。

2.6 离体心肌细胞培养^[8]

无菌条件下采集心组织并进行消化处理,用胰蛋白酶分离心肌细胞,将分离出的心肌细胞接种于 DMEM 培养基中,置于恒温培养箱(37°C , $5\% \text{CO}_2$)内进行培养。在细胞培养期间,定期观察细胞形态,更换培养基。

2.7 心肌细胞存活率和上清液中丙二醛含量检测^[9]

分离大鼠心室肌,洗涤幼红细胞,剪碎组织后加消化酶振荡,收集含心肌细胞的上清液并混入 10% 胎牛血清,用 MTT 法评估心肌细胞活性,在显微镜下计数至少 5 个视野的活(透明)与死(蓝色)细胞数量,计算细胞存活率。并通过超声裂解法处理细胞样本后,用酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosor-

ben assay, ELISA)方法定量分析细胞内丙二醛含量。

2.8 实时荧光定量 PCR 法检测 *Pgc-1 α* 、*Bax* 和 *Bcl-2* mRNA 的表达水平^[10]

取实验大鼠心肌组织,经 II 型胶原酶($0.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) 37°C 消化 20 min 后离心获取心肌细胞。用 TRIzol 试剂对心肌细胞进行 RNA 提取,通过分光光度法测定 RNA 纯度(A260/A280 比值 ≥ 1.8)及琼脂糖凝胶电泳验证其完整性,将提取的 RNA 逆转录为 cDNA。用实时荧光定量 PCR 法检测心肌细胞 *Pgc-1 α* 、*Bax* 和 *Bcl-2* mRNA 相对表达水平,样本设 3 个复孔, β -actin 为内参。PCR 反应程序:预变性(95°C , 10 min);扩增(共 40 个循环,每个循环包括 95°C 变性 15 s, 60°C 退火和延伸 1 min);最后进行溶解曲线分析(进行 95°C 15 s, 60°C 1 min, 95°C 15 s 的梯度升温)。扩增反应结束后,用仪器配套软件分析各样本的 Ct 值,并通过 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 计算目标基因相对于内参基因 β -actin 的相对表达水平。

2.9 蛋白质印迹法检测心肌细胞 *Pgc-1 α* 、*Bax* 和 *Bcl-2* 的表达水平

取大鼠心肌组织标本,按上述同样的方法提取心肌细胞。心肌细胞沉淀经 RIPA 裂解液充分匀浆后提取总蛋白,用 BCA 法进行蛋白浓度测定。蛋白样品经十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳分离后转至 PVDF 膜,先后与 *Pgc-1 α* 、*Bax* 和 *Bcl-2* 一抗(1:1 000 稀释)和相应 HRP 标记二抗(1:5 000 稀释)室温孵育 2 h。用化学发光法检测膜上信号强度,以 β -actin 为内参,用 Image J 软件分析蛋白相对表达水平。

3 统计学处理

用 SPSS 23.0 软件进行统计分析。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,比较用独立样本 *t* 检验。

结 果

1 5 组大鼠注射药物后心电图 T 波变化幅度的比较

低、中、高剂量实验组分别按 2.72、3.68、4.98 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的剂量给予附子总碱溶液;对照组灌胃给予 10 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 异丙肾上腺素;空白组给予 0.9% NaCl。

低剂量实验组在注射后 10、20、30、40、50 min 时 T 波变化幅度均显著低于空白组(均 $P < 0.05$);中剂量实验组各时间点与空白组比较,在统计学上差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$);高剂量实验组和对照组在各时间点的 T 波变化幅度均显著高于空白组(均 $P < 0.05$)。组间两两比较显示,T 波变化幅度随剂量升高而递增,低、中、高剂量实验组之间比较,在统计

学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。高剂量实验组与对照组间比较,在统计学上差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$)。结果见表1。

2 5组大鼠离体心脏心功能的比较

高剂量试验组的心率显著低于空白组和低、中剂量试验组(均 $P < 0.05$),低、中剂量试验组的心率与空白组比较,在统计学上差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$)。低、中、高剂量试验组的心排量均显著高于空白组(均 $P < 0.05$),其中,中剂量组显著高于低、高剂量试验组(均 $P < 0.05$)。低、中、高剂量试验组的冠状动脉流量均显著高于空白组,且与剂量呈正相关(均 $P < 0.05$),见表2。

3 5组大鼠离体心脏心肌收缩功能的比较

低、中、高剂量试验组的左心室收缩压、舒张末期压、左心室内压最大上升速率和下降速率均显著高于空白组(均 $P > 0.05$),其中中剂量试验组的上述指标均显著高于低、高剂量试验组(均 $P > 0.05$),见表3。

4 5组大鼠心肌细胞活性和丙二醛含量变化的比较

与中、低剂量实验组及空白组相比,高剂量实验组和对照组的心肌细胞活性均显著降低,丙二醛含量均显著升高(均 $P < 0.05$)。高剂量实验组的上述指标与对照组比较,在统计学上差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$)。结果见表4。

表1 5组大鼠注射药物后不同时间心电图T波变化幅度的比较(mV, $\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of T wave amplitude of electrocardiogram at different time after injection of drugs among 5 groups(mV, $\bar{x} \pm s$)

Group	<i>n</i>	Injection 10 min	Injection 20 min	Injection 30 min	Injection 40 min	Injection 50 min
Blank	10	0.28 ± 0.09	0.27 ± 0.07	0.30 ± 0.07	0.39 ± 0.07	0.33 ± 0.07
Experimental - L	10	0.17 ± 0.04 *	0.21 ± 0.04 *	0.17 ± 0.07 *	0.18 ± 0.09 *	0.23 ± 0.07 *
Experimental - M	10	0.23 ± 0.04 #	0.27 ± 0.03 #	0.29 ± 0.05 #	0.34 ± 0.11 #	0.31 ± 0.08 #
Experimental - H	10	0.35 ± 0.03 **△	0.34 ± 0.06 **△	0.37 ± 0.04 **△	0.49 ± 0.08 **△	0.41 ± 0.05 **△
Control	10	0.36 ± 0.04 **△	0.33 ± 0.05 **△	0.36 ± 0.04 **△	0.47 ± 0.04 **△	0.39 ± 0.04 **△

Blank group: Received 0.9% NaCl by gavage; Experimental - L, - M, - H groups: Received total alkaloid of *Aconitum carmichaelii* solution at doses of 2.72, 3.68 and 4.98 g · kg⁻¹, respectively, by gavage; Control group: Received isoproterenol at a dose of 10 mg · kg⁻¹ by gavage; Compared with blank group, * $P < 0.05$; Compared with experimental - L group, # $P < 0.05$; Compared with experimental - M group, △ $P < 0.05$.

表3 5组大鼠离体心脏心肌收缩功能的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of myocardial contractile function indexes of isolated hearts in each group ($\bar{x} \pm s$)

Group	LVSP (mmHg)	LVEDP (mmHg)	RILVP _{max} (mmHg · s ⁻¹)	RDLVP _{max} (mmHg · s ⁻¹)
Blank	105.40 ± 9.25	84.80 ± 9.35	2 021.59 ± 107.05	2 215.29 ± 131.28
Experimental - L	128.30 ± 10.08 *	102.30 ± 7.80 *	2 315.48 ± 178.26 *	2 554.17 ± 134.41 *
Experimental - M	138.50 ± 10.30 **	118.80 ± 7.11 **	2 515.27 ± 154.12 **	2 827.98 ± 198.14 **
Experimental - H	118.60 ± 9.99 **△	94.40 ± 8.10 **△	2 157.12 ± 114.27 **△	2 401.57 ± 158.59 **△
Control	117.40 ± 10.00 **△	93.40 ± 8.68 **△	2 149.49 ± 110.15 **△	2 375.15 ± 144.15 **△

Dose and *n* refer to table 1; LVSP: Left ventricular systolic pressure; LVEDP: Left ventricular end - diastolic pressure; RILVP_{max}: Maximum rate of increase in left ventricular pressure; RDLVP_{max}: Maximum rate of decrease in left ventricular pressure; Compared with blank group, * $P < 0.05$; Compared with experimental - L group, # $P < 0.05$; Compared with experimental - M group, △ $P < 0.05$.

5 5组大鼠心肌细胞Pgc-1α、Bax和Bcl-2 mRNA相对表达水平的变化

空白组、低剂量实验组大鼠的Pgc-1α和Bcl-2 mRNA和蛋白相对表达水平均显著高于中、高剂量实验组,且中剂量实验组显著高于高剂量实验组及对照组(均 $P < 0.05$);空白组、低剂量实验组大鼠Bax mRNA和蛋白表达水平均显著低于中、高剂量实验组,且中剂量实验组显著低于高剂量实验组及对照组(均 $P < 0.05$),但高剂量实验组的上述指标与对照组比较,在统计学上差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$)。结果见表5和图1。

表2 5组大鼠离体心脏心功能的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of cardiac function of isolated hearts in each group ($\bar{x} \pm s$)

Group	Heart rate (beat · min ⁻¹)	Cardiac output (mL · min ⁻¹)	Coronary flow (mL · min ⁻¹)
Blank	194.40 ± 13.26	5.75 ± 0.45	4.39 ± 0.76
Experimental - L	192.20 ± 18.21	6.75 ± 0.44 *	5.01 ± 0.30 *
Experimental - M	194.40 ± 15.87	7.33 ± 0.67 **	5.99 ± 0.35 **
Experimental - H	177.10 ± 13.20 **△	6.24 ± 0.40 **△	6.57 ± 0.66 **△
Control	175.50 ± 12.02 **△	6.22 ± 0.45 **△	5.50 ± 0.33 **△

Dose and *n* refer to table 1; Compared with blank group, * $P < 0.05$; Compared with experimental - L group, # $P < 0.05$; Compared with experimental - M group, △ $P < 0.05$.

表 4 5 组大鼠心肌细胞活性和丙二醛含量的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Comparison of myocardial cell activity and malondialdehyde content in each group ($\bar{x} \pm s$)

Group	Myocardial cell activity(Abs)	Malondialdehyde (mmol · mL ⁻¹)
Blank	0. 45 ± 0. 06	2. 49 ± 0. 34
Experimental - L	0. 46 ± 0. 05	2. 56 ± 0. 28
Experimental - M	0. 44 ± 0. 08	2. 55 ± 0. 26
Experimental - H	0. 35 ± 0. 07 ^{*#Δ}	2. 86 ± 0. 28 ^{*#Δ}
Control	0. 33 ± 0. 05 ^{*#Δ}	2. 83 ± 0. 25 ^{*#Δ}

Dose and *n* refer to table 1; Compared with blank group, * *P* < 0. 05; Compared with experimental - L group, # *P* < 0. 05; Compared with experimental - M group, Δ *P* < 0. 05.

表 5 5 组大鼠心肌细胞过氧化物酶增殖激活受体 γ 辅助激活物 1 α (*Pgc* - 1 α)、B 淋巴瘤细胞瘤 - 2 (*Bcl* - 2)、B 淋巴瘤细胞瘤 - 2 相关 X 蛋白 (*Bax*) mRNA 和蛋白相对表达水平的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 5 Comparison of the relative expression levels of peroxisomeproliferative activated receptor - γ activation of auxiliary factor 1 α (*Pgc* - 1 α), B - cell lymphoma - 2 (*Bcl* - 2) and Bcl - 2 associated protein (*Bax*) mRNA and protein in myocardial cells of each group ($\bar{x} \pm s$)

Group	mRNA			Protein		
	<i>Pgc</i> - 1 α	<i>Bax</i>	<i>Bcl</i> - 2	<i>Pgc</i> - 1 α	<i>Bax</i>	<i>Bcl</i> - 2
Blank	0. 48 ± 0. 06	1. 09 ± 0. 09	0. 56 ± 0. 08	0. 52 ± 0. 06	1. 13 ± 0. 1	0. 45 ± 0. 06
Experimental - L	0. 49 ± 0. 05	1. 10 ± 0. 08	0. 58 ± 0. 06	0. 51 ± 0. 08	1. 12 ± 0. 11	0. 47 ± 0. 07
Experimental - M	0. 41 ± 0. 07 ^{**}	1. 25 ± 0. 09 ^{**}	0. 51 ± 0. 05 ^{**}	0. 42 ± 0. 05 ^{**}	1. 26 ± 0. 07 ^{**}	0. 39 ± 0. 06 ^{**}
Experimental - H	0. 27 ± 0. 05 ^{*#Δ}	1. 36 ± 0. 07 ^{*#Δ}	0. 44 ± 0. 04 ^{*#Δ}	0. 31 ± 0. 04 ^{*#Δ}	1. 38 ± 0. 07 ^{*#Δ}	0. 30 ± 0. 05 ^{*#Δ}
Control	0. 35 ± 0. 05 ^{*#Δ}	1. 33 ± 0. 07 ^{*#Δ}	0. 45 ± 0. 03 ^{*#Δ}	0. 32 ± 0. 05 ^{*#Δ}	1. 34 ± 0. 07 ^{*#Δ}	0. 31 ± 0. 06 ^{*#Δ}

Dose and *n* refer to table 1; Compared with blank group, * *P* < 0. 05; Compared with experimental - L group, # *P* < 0. 05; Compared with experimental - M group, Δ *P* < 0. 05.

讨 论

附子常用于心血管治疗但其毒性受到关注,尤其是肝肾累积毒性已被临床确认^[11]。其生物碱能激活心肌钾离子通道,易致心律失常等^[12]。本研究用大鼠动物模型,系统评估了附子总碱的剂量依赖性毒性效应及其潜在作用机制。

与空白组相比,低剂量附子总碱显著降低大鼠心电图 T 波变化幅度,中剂量实验组与空白组比较,在统计学上差异无统计学意义,高剂量实验组及对照组大鼠的心电 T 波变化幅度较空白组升高,并随剂量增大而加剧。这种非线性变化与附子总碱中有效成分(如去甲乌药碱)和毒性成分(如乌头碱)的剂量 - 效应平衡密切相关:低剂量时有效成分通过兴奋迷走神经降低窦房结自律性,主导 T 波幅度下降;而高剂量时毒性成分积累,通过促进钙离子内流和去极化加速,引发 T 波异常升高^[13-14]。结合本研究,附子总碱兴奋迷走神经,降低窦房结自律性,致 T 波变化加剧且剂量依赖。

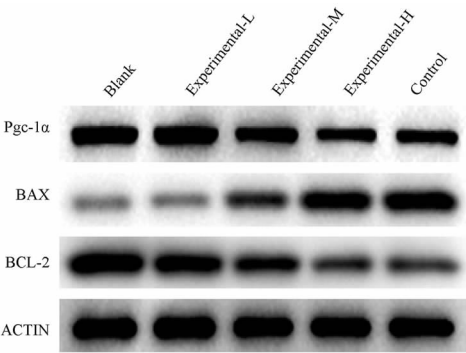


图 1 用蛋白质印迹法检测 *Pgc* - 1 α 、*Bax* 和 *Bcl* - 2 蛋白相对表达水平

Figure 1 The relative expression levels of *Pgc* - 1 α , *Bax* and *Bcl* - 2 proteins detected by Western blotting

高剂量实验组大鼠心率最低,其他组间心率比较,在统计学上差异无统计学意义。空白组、低剂量实验组、中剂量实验组大鼠的心排量逐渐升高,且组间两两比较在统计学上差异有统计学意义。高剂量实验组及对照组大鼠的心排量高于空白组,低于低、中剂量实验组,但高剂量实验组、对照组组间比较,在统计学上差异无统计学意义。心排血量的剂量依赖性平台效应提示,中剂量可能接近附子总碱的有效剂量上限,此时心肌收缩力增强达到最大效应,而高剂量时毒性成分(如乌头碱)通过抑制 $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATP 酶干扰离子转运,抵消了部分正性肌力作用。低、中剂量实验组左心收缩功能改善,表明低剂量附子总碱增强心功能,高剂量则具毒性。本研究发现附子总碱心效应呈剂量依赖性,低剂量保护,高剂量毒性,符合“量 - 时 - 毒”关系^[15-16]。高剂量实验组大鼠心肌细胞活性显著降低,丙二醛含量显著增加。乌头碱及其成分毒性包括心肌损伤、膜稳定性下降、代谢异常等。附子总碱虽可抗凋亡,但高剂量则毒性显现,抑制 $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATP 酶,干扰离子转运,致心肌细胞

死亡^[17-18]。高剂量乌头碱致心律失常、脂质过氧化,丙二醛水平上升,心肌细胞活性受抑,损伤严重^[19]。附子总碱毒性随剂量递增,与心肌氧化损伤密切相关。

进一步研究发现:高剂量实验组的 *Pgc-1 α* 和 *Bcl-2* 表达水平低于中剂量实验组、低剂量实验组和空白组;高剂量实验组的 *Bax* 表达水平高于中剂量实验组、低剂量实验组和空白组。附子总碱对心肌细胞基因表达的影响呈剂量依赖性。低剂量增强 *Pgc-1 α* 表达,促进能量平衡与抗氧化;同时上调 *Bcl-2*,抑制凋亡,增强细胞生存活力^[19]。*Bax* 水平上升是凋亡信号激活的标志^[20-21],高剂量附子总碱通过上调 *Bax*、下调 *Bcl-2* 触发心肌细胞凋亡。低剂量则激活 PI3K/Akt/*Pgc-1 α* 等通路,促进心肌健康。而高剂量则可能触发丝裂原活化蛋白激酶、c-Jun 氨基末端激酶等非保护途径,抑制抗凋亡基因并促进凋亡基因表达,从而损伤心肌细胞。

因此,附子总碱的心效应并非简单线性相关,而是“低剂量保护-中剂量平衡-高剂量毒性”的双向调节,其核心机制在于有效成分与毒性成分的动态平衡及不同剂量下激活的信号通路差异。本研究优势在于构建大鼠模型,分析附子总碱剂量与离体心毒性的关系,为临床提供科学依据。然中药靶点复杂,后续需多角度、大数据综合分析。

本研究提示:较低剂量的附子总碱对大鼠的心电 T 波、心功能及心肌收缩存在正向积极作用,能提高其心肌细胞活性,降低丙二醛含量,但高剂量的附子总碱对其心肌功能存在药物不良反应。本研究进一步阐明了附子总碱的剂量-药效关系,为其临床合理应用提供了重要参考。

参考文献:

- [1] GAO Y, FAN H, NIE A, *et al.* Aconitine: A review of its pharmacokinetics, pharmacology, toxicology and detoxification [J/OL]. *J Ethnopharmacol*, 2022, 293: 115270. 2022-07-15 [2025-01-20]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35405250/>.
- [2] YU X, LIU H, XU X X, *et al.* Pharmacokinetics of yunaconitine and indaconitine in mouse blood by UPLC-MS/MS [J/OL]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2021, 1179: 122840. 2021-08-01 [2025-01-20]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34225245/>.
- [3] ZHOU W, LIU H, QIU L Z, *et al.* Cardiac efficacy and toxicity of aconitine: A new frontier for the ancient poison [J]. *Med Res Rev*, 2021, 41(3): 1798—1811.
- [4] WANG N N, XU H H, ZHOU W, *et al.* Aconitine attenuates mitochondrial dysfunction of cardiomyocytes via promoting deacetylation of cyclophilin-D mediated by sirtuin-3 [J/OL]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 270: 113765. 2021-04-24 [2025-01-20]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33418031/>.
- [5] YANG L, CHEN Y, ZHOU J, *et al.* Aconitine induces mitochondrial energy metabolism dysfunction through inhibition of AMPK signaling and interference with mitochondrial dynamics in SH-SY5Y cells [J]. *Toxicol Lett*, 2021, 347(7): 36—44.
- [6] 王星禹, 朱国琴, 宁可, 等. 银杏酮酯激活 ATP 敏感的钾通道对心肌缺血再灌注损伤大鼠的预防作用 [J]. *中成药*, 2023, 45(9): 3052—3057.
- [7] 夏冰, 李心茹, 席宏, 等. 心肌缺血再灌注损伤对 L-型钙通道自抑制功能的影响 [J]. *中国循证心血管医学杂志*, 2024, 16(5): 586—592.
- [8] 朱贲贲, 海日汗, 王巍嵩, 等. 铁死亡抑制剂预培养的大鼠心肌细胞抵抗毒素诱导后细胞肥大程度及铁死亡相关蛋白表达观察 [J]. *山东医药*, 2023, 63(6): 24—27.
- [9] 谢锋, 段广靖, 李敏, 等. 基于网络药理学和体外实验探讨附子-干姜抗心肌缺血再灌注损伤的作用机制 [J]. *天然产物研究与开发*, 2023, 35(1): 151—158.
- [10] 董莉, 杨燕玲, 郑钰凡, 等. 益心方调控 SIRT1/PGC1 α 信号通路改善大鼠心肌缺血再灌注损伤 [J]. *上海中医药杂志*, 2023, 57(7): 58—65.
- [11] 曾祥琿, 谢庆凤, 颜芳, 等. 附子现代药理研究及临床应用差异探讨 [J]. *新中医*, 2022, 54(4): 159—163.
- [12] 许欣, 李刚敏, 孙晨, 等. 附子水溶性生物碱及其药理作用研究进展 [J]. *中药药理与临床*, 2021, 37(5): 213—219.
- [13] 杜兆远, 刘永武, 张娜, 等. 附子对心脏的毒性及配伍减毒相关研究 [J]. *北方药学*, 2021, 18(2): 187—189.
- [14] 庄开颜, 高硕, 柳晴, 等. 基于斑马鱼模型和网络药理学的甘草酸拮抗乌头碱心脏毒性生作用与机制研究 [J]. *药物评价研究*, 2021, 44(7): 1368—1376.
- [15] 彭伟, 王琳, 傅超美, 等. 基于网络药理学的附子抗心力衰竭作用和心脏毒性的毒效二重性研究 [J]. *中医杂志*, 2021, 62(6): 523—529.
- [16] FU Y P, ZOU Y F, LEI F Y, *et al.* Aconitum carmichaelii Debeaux: A systematic review on traditional use, and the chemical structures and pharmacological properties of polysaccharides and phenolic compounds in the roots [J/OL]. *J Ethnopharmacol*, 2022, 291: 115148. 2022-06-12 [2025-01-20]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35240238/>.
- [17] 刘言浩, 梁大虎, 孙华, 等. HPLC-MS/MS 法同时测定参附强心丸中制附子 6 种生物碱含量 [J]. *皖南医学院学报*, 2021, 40(1): 18—21.
- [18] WANG H, LIU Y, GUO Z, *et al.* Aconitine induces cell apoptosis via mitochondria and death receptor signaling pathways in hippocampus cell line [J]. *Res Vet Sci*, 2022, 143(8): 124—133.
- [19] 盛开, 田强强, 汪浩浩, 等. 附子总碱对大鼠心功能及离体心脏的损害作用及其机制 [J]. *基因组学与应用生物学*, 2019, 38(10): 4709—4714.
- [20] 兰青山, 杜杰, 易进海, 等. 基于全程质量控制理念的附子饮片标准化体系研究与构建 [J]. *中国现代中药*, 2023, 25(1): 192—201.
- [21] 万朝辉, 曾良, 周辉. Bax 抑制因子 1 过表达对急性心肌梗死大鼠心肌细胞凋亡的影响及其机制 [J]. *吉林大学学报(医学版)*, 2022, 48(1): 74—81.

(收稿日期 2025-03-20)