

率方面具有明显的量效相关性,但整体抗腹泻作用不强,需用较高浓度才表现出明显的抗腹泻作用,这与乌梅对肠腔积液的影响不显著有关。

本实验结果表明,乌梅提取物具有一定的抗腹泻作用,主要与其抑制小肠推进有关,同时本实验首次发现乌梅对肠液分泌的抑制作用不显著,因此单独使用乌梅来抗腹泻效果并不显著,应与其他具有抑制肠液分泌的中药合用才能更好地发挥抗腹泻作用。

REFERENCES

- [1] 中国药典.一部[S]. 2015: 79.
- [2] WANG S, ZHAO Y, ZHANG J Q. Antidiarrheal effect of *Alpinia oxyphylla* Miq. (Zingiberaceae) in experimental mice and its possible mechanism of action [J]. J Ethnopharmacol, 2015, 168(6): 182-190.

- [3] Wansi S L, NGUELEFACK-MBUYO E P, NCHOUWET M L. Antidiarrheal activity of aqueous extract of the stem bark of *sapium ellipticum* (Euphorbiaceae) [J]. Trop J Pharm Res, 2014, 13(6): 929-935.
- [4] NASRIN F, HAKIM M L. *In vivo* antidiarrheal study of ethanolic extracts of *Mikania cordata* and *Litsea monopetala* leaves [J]. Bangl J Pharmacol, 2015, 10(3): 562-565.
- [5] QNAIS E Y, ABDULLA F A, KADDUMI E G. Antidiarrheal activity of *Laurus nobilis* L. leaf extract in rats [J]. J Med Food, 2012, 15(1): 51-57.
- [6] 孙全林. 复方乌梅散预防仔猪腹泻的试验[J]. 中国畜牧兽医文摘, 2015, 31(5): 187-188.
- [7] WANG N, LI L H, LIU D M. Prescription and syndrome identification of Wumei Pills on curing antibiotic associated diarrhea [J]. J Sichuan Tradit Chin Med(四川中医), 2013, 31(6): 48-49.
- [8] QNAIS E Y, ELOKDA A S, ABU GHALYUN Y Y, et al. Antidiarrheal activity of the aqueous extract of *Punica granatum*. (Pomegranate) peels [J]. Pharm Biol, 2007, 45(9): 715-720.

收稿日期: 2015-08-19

附子新型炮制品对阳虚小鼠耳廓微循环的影响

邓广海¹, 沈玉巧¹, 贾雪岩², 林华^{1*} (1.广东省中医院药学部, 广州 510120; 2.广州中医药大学, 广州 510405)

摘要: 目的 探索附子新型炮制品对阳虚小鼠耳廓微循环的影响。方法 实验设空白组、模型组、4个炮制品给药组[黑顺片组、高温炮制品组、高压炮制品组、微波炮制品组, 每组设高、中、低3个剂量(0.75, 3.00, 5.63 g·kg⁻¹)], 连续灌胃给药9 d, 于末次给药24 h后, 用显微测微尺测量耳廓静脉与动脉血管管径及毛细血管网交叉点数等, 并根据炮制品生物碱含量分析其量效关系。结果 与模型组比较, 除微波炮制品0.75 g·kg⁻¹组动脉管径外, 各给药组小鼠耳廓动脉与静脉管径均有不同程度增加, 毛细血管网交叉点数逐渐变大($P<0.05$), 并与剂量大小呈正相关; 与黑顺片组比较, 高压炮制品5.63 g·kg⁻¹剂量组静脉管径显著增加($P<0.05$); 4个炮制品给药组相同剂量比较, 高压炮制品组动脉管径、静脉管径和毛细血管网交叉点数值均最高。结论 附子高压炮制品能显著增强阳虚小鼠耳廓微循环, 其作用优于黑顺片、高温炮制品和微波炮制品。

关键词: 附子; 炮制; 阳虚小鼠; 微循环

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2016)04-0410-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2016.04.006

Effects of Modern Processed Products of Aconiti Lateralis Radix Praeparata on Auricular Microcirculation in Mice with Yang Deficiency

DENG Guanghai¹, SHEN Yuqiao¹, JIA Xueyan², LIN Hua^{1*} (1. Pharmaceutical Department, Guangdong Provincial Hospital of TCM, Guangzhou 510120, China; 2. Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To explore the effects of processed products of Aconiti Lateralis Radix Praeparata on auricular microcirculation in mice with Yang deficiency. **METHODS** The mice were randomly divided into 14 groups: the control group, the model group, experimental groups (Heishunpian groups, high temperature groups, high pressure groups, microwave treatment group), each set were divided into high, medium and low drug dosage(0.75, 3.00, 5.63 g·kg⁻¹), all the mice were given

基金项目: 广东省自然科学基金(S2013010014082)

作者简介: 邓广海, 男, 硕士, 主管中药师 Tel: (020) 81887233-31202 E-mail: handsomehai@126.com *通信作者: 林华, 女, 硕士, 主任中药师, 硕士 Tel: (020)81887233-31202 E-mail: lh33895380@163.com

intra-gastric administration for 9 d. Twenty-four hours after the last administration, with the vascular diameter of vein and artery and capillary network cross points were measured by microscopic micrometer. The dose-effect relationship was analyzed according to the content of alkaloids of processed products. **RESULTS** Compared with the model group, the vascular diameter of vein and artery were increased of the processed products groups except 0.75 g·kg⁻¹ microwave treatment group, and the capillary network crossover points of the processed products groups were also increased($P<0.05$). The effect was positively correlated with the dose. Compared with Heishunpian group, the vascular diameter of artery was significantly increased of high-pressure processed products with the dose of 5.63 g·kg⁻¹($P<0.05$). Comparing 4 processed products administered group with the same dose, the vascular diameter of vein, artery and capillary network cross points of high pressure processed products were the highest. **CONCLUSION** The high pressure processed products could significantly enhance the microcirculation of mice with Yang deficiency, its effect is better than Heishunpian, high temperature processed products, or microwave processed products.

KEY WORDS: Aconiti Lateralis Radix Praeparata; processing; the mice with Yang deficiency; microcirculation

附子为临床常用药, 与人参、大黄、熟地被视为药中“四维”, 具有回阳救逆、补火助阳、散寒除湿、止痛的功效^[1]。现代药理研究表明, 强心、扩张血管等药效作用是附子“回阳救逆”主要药理学依据^[2-3]。微循环是指微动脉与微静脉之间的微血管血液循环, 增强血液循环能够更好地保证体内组织器官正常生理功能, 也是扩张血管的表现之一。耳廓位于血管最末梢, 其静脉与动脉血管管径及毛细血管网交叉点数等参数变化与血液流变学直接相关, 中药及复方对小鼠耳廓微循环影响是目前研究的热点。目前, 附子药理研究热点为对心血管系统、中枢系统、免疫系统作用及抗炎镇痛、抗肿瘤等方面^[4], 而附子炮制品促进微循环的研究未见报道。本课题组前期对附子传统炮制工艺进行改进, 结合现代技术优选出 3 种新型炮制工艺(微波炮制工艺、高温炮制工艺、高压炮制工艺), 其有

效成分能够较好地保留, 且毒性较低。本实验将考察 3 种新型炮制品对阳虚小鼠耳廓微循环的影响, 验证其对微循环系统的作用, 同时从药效学层面优选出更有效的炮制工艺, 以保证其临床疗效。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

AUY220 型分析天平(日本岛津); RV 10basic V 旋转蒸发仪(IKA); L790B 型生物显微镜(广州粤显光学仪器有限责任公司)。

黑顺片、高压炮制品、高温炮制品、微波炮制品由广东省中医药科学院制剂实验室制备并测定生物碱含量, 结果见表 1, 经广东省中医院药学部林华主任中药师鉴定为毛茛科植物乌头 *Aconitum carmichaeli* Debx. 的子根加工品; 注射用氢化可的松琥珀酸钠(烟台北方制药有限公司, 批号: 201308011, 规格: 50 mg×5)。

表 1 附子炮制品生物碱含量

Tab. 1 The content of alkaloid of processed products of Aconiti Lateralis Radix Praeparata

名 称	苯甲酰新乌头原碱	苯甲酰次乌头原碱	苯甲酰乌头原碱	新乌头碱	次乌头碱	乌头碱
黑顺片	1.210 4	0.179 4	0.119 5	0.016 9	0.083 0	—
高压炮制品	1.940 6	0.307 0	0.482 1	0.019 1	—	—
高温炮制品	0.774 3	0.100 0	0.063 9	0.108 5	0.051 3	—
微波炮制品	0.732 9	0.083 7	0.090 5	0.079 7	0.059 2	—

注: “—”表示未测得。

Note: “—” indicates not detected.

1.2 动物

SPF 级 KM 种小鼠 112 只, ♀♂各半, 体质量 18~22 g, 由广东省医学实验动物中心提供, 合格证号: 44007200013586。

1.3 方法

1.3.1 附子炮制品的制备 黑顺片: 取生附子 1 500 g, 按照中国药典 2010 年版一部^[1]附子项下黑顺片炮制方法进行炮制。高温炮制品: 取生附

子 1 500 g, 洗净, 加入适量胆巴水浸泡, 24 h 换 1 次, 泡至透心, 切片 2~4 mm, 在 120 ℃下烘制 12 h, 即得。高压炮制品: 取生附子 1 500 g, 洗净, 喷洒适量胆巴水, 闷润 30 min, 在 0.1 MPa 的压力下蒸制 150 min, 切片 2~4 mm, 50 ℃烘干, 即得。微波炮制品: 取生附子 1 500 g, 洗净, 喷洒胆巴水适量, 使附子润至透心, 切片 2~4 mm, 微波炉中火炮制 25 min, 即得。

1.3.2 煎煮液的制备 分别取附子 4 种炮制品(黑顺片、高压炮制品、高温炮制品、微波炮制品)各 1 000 g,加 10 倍量水,浸泡 30 min,第 1 次武火煮沸后文火煎煮 1 h,滤过,药渣加 8 倍量水煎煮 30 min,滤过,合并 2 次水煎液,65 ℃真空回收溶剂,每种炮制品分别浓缩成含药材剂量为 0.75, 3.00, 5.63 g·kg⁻¹ 的溶液,8 ℃冰箱保存待用。

1.3.3 分组与给药 取合格的 SPF 级 KM 小鼠,♀♂各半,随机分为空白组、模型组、黑顺片组、高压炮制品组、高温炮制品组、微波炮制品组。每个炮制品组分为高、中、低 3 个剂量组,给药剂量分别为 5.63, 3.00, 0.75 g·kg⁻¹, 总共 14 组,每组 8 只。参照文献[4]方法,模型组和各给药组每只小鼠每日灌胃给予注射用氢化可的松琥珀酸钠溶液 1 mg,空白组小鼠每日灌胃给予相同体积生理盐水。造模后 2 h,空白组及模型组小鼠灌胃给予蒸馏水 0.02 mL·g⁻¹,各给药组按照附子炮制品各剂量进行灌胃给药 0.02 mL·g⁻¹,连续造模给药 9 d,于给药第 1, 3, 5, 7, 9 天称重。

1.3.4 附子不同炮制品煎煮液对阳虚小鼠耳廓微循环的影响 末次给药 24 h 后,3%水合氯醛麻醉,

脱毛膏除去耳廓毛,将小鼠固定在观察台上(耳廓表面滴上少许香柏油),在透射光下,用 100 倍物镜观察小鼠耳廓微循环的变化,用显微测微尺测量耳廓中央静脉与中央动脉第 3 分支处血管管径及毛细血管网交叉点数等^[5]。

1.4 统计学处理

实验数据采用 SPSS 19.0 软件进行分析,计量指标均用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 对阳虚小鼠一般状态的影响

灌胃给予氢化可的松琥珀酸钠 9 d 后小鼠出现了一系列“耗竭”现象,如拱背、蜷曲、嗜卧少动、畏寒喜暖、小便增多、被毛疏松,失去光泽、摄食量减少,与空白组比较,小鼠体质量增长速度显著放缓。给予不同剂量的黑顺片、高压炮制品、高温炮制品、微波炮制品 3~7 d,小鼠精神状态有所好转,体质量较模型组均有所增长,各给药组间体质量没有显著差异;给药 9 d 后,与空白组比较,模型组及给药组小鼠体质量增长变慢,有显著性差异($P < 0.05$)。结果见表 2。造模、给药过程中未发现有动物死亡。

表 2 附子炮制品对阳虚小鼠体质量的影响($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Tab. 2 The effect of weight in mice of processed products of Aconiti Lateralis Radix Praeparata ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	给药前/g	给药 3 d/g	给药 5 d/g	给药 7 d/g	给药 9 d/g
空白组	—	25.13±0.83	26.75±1.16	29.13±1.46	31.13±1.89	33.13±2.36
模型组	—	24.38±1.06	24.75±1.28	25.75±1.58	26.63±2.39	27.50±2.88 ¹⁾
微波炮制品组	0.75	25.38±1.51	25.63±2.00	26.63±1.77	28.00±2.07	29.13±1.89 ¹⁾
	3.00	25.13±1.13	26.13±1.46	27.63±2.33	28.88±2.64	30.63±3.07 ¹⁾²⁾
	5.63	25.38±1.06	26.25±1.49	27.38±2.20	28.00±3.07	29.13±2.19 ¹⁾
黑顺片组	0.75	25.25±1.28	26.50±0.93	27.50±1.51	29.00±1.60	29.88±1.73 ¹⁾²⁾
	3.00	25.25±0.89	26.75±1.16	27.25±1.58	28.63±1.92	30.13±2.53 ¹⁾²⁾
	5.63	25.38±0.92	27.13±1.25	28.38±1.77	29.50±2.33	30.63±2.45 ¹⁾²⁾
高压炮制品组	0.75	24.75±1.04	25.50±2.10	26.75±1.28	28.13±1.36	29.75±1.67 ¹⁾²⁾
	3.00	24.38±0.74	24.88±0.64	26.50±1.07	28.50±1.20	30.00±1.41 ¹⁾²⁾
	5.63	25.13±1.46	25.88±2.03	27.25±2.49	28.13±2.47	30.13±2.70 ¹⁾²⁾
高温炮制品组	0.75	24.38±0.74	24.63±0.92	25.38±1.60	27.25±1.67	29.25±1.91 ¹⁾
	3.00	24.38±0.52	24.88±0.64	26.00±1.07	27.50±1.60	29.63±1.41 ¹⁾
	5.63	24.38±0.46	24.38±0.52	25.63±0.92	27.38±0.92	29.75±1.16 ¹⁾

注:与空白组比较,¹⁾ $P < 0.05$;与模型组比较,²⁾ $P < 0.05$ 。

Note: Compared with blank group, ¹⁾ $P < 0.05$; compared with the model group, ²⁾ $P < 0.05$.

2.2 对阳虚小鼠耳廓微循环的影响

与空白组比较,模型组小鼠耳廓动脉与静脉管径明显缩小($P < 0.05$),毛细血管网交叉点数也明

显减少($P < 0.05$),说明造模后阳虚小鼠耳廓微循环障碍增加。与模型组比较,除微波炮制品 0.75 g·kg⁻¹ 组动脉管径外,各给药组阳虚小鼠耳廓

细动脉与静脉管管径均有不同程度增加, 毛细血管网交叉点数逐渐变大($P<0.05$), 并与剂量大小呈正相关; 与黑顺片组比较, 高压炮制品 $5.63 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组静脉管径显著增加($P<0.05$); 4 个炮制品组相同剂量比较, 高压炮制品各剂量组动脉管径、静脉管径、毛细血管网交叉点数均最高。结果见表 3。

表 3 附子炮制品对阳虚小鼠影响耳廓微循环的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Tab. 3 The effects of processed products of Aconiti Lateralis Radix Praeparata on auricular microcirculation in mice with Yang deficiency($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	动脉管径/ μm	静脉管径/ μm	毛细血管网 交叉点数
空白组	—	6.38 ± 0.58	12.06 ± 1.52	4.88 ± 0.64
模型组	—	$4.44 \pm 0.50^{1)}$	$9.50 \pm 0.60^{1)}$	$3.75 \pm 0.46^{1)}$
微波炮制品组	0.75	$4.31 \pm 0.37^{1)}$	$9.88 \pm 1.62^{1)}$	$5.13 \pm 0.83^{2)}$
	3.00	$4.94 \pm 0.62^{1)}$	$10.94 \pm 0.68^{1)2)}$	$6.25 \pm 0.71^{1)2)}$
	5.63	$5.19 \pm 0.59^{1)2)}$	$11.31 \pm 0.70^{2)}$	$6.88 \pm 0.83^{1)2)}$
黑顺片组	0.75	$4.56 \pm 0.42^{1)}$	$10.44 \pm 1.18^{1)}$	$5.63 \pm 0.52^{1)2)}$
	3.00	$5.06 \pm 0.42^{1)2)}$	$11.44 \pm 0.86^{2)}$	$6.50 \pm 0.93^{1)2)}$
	5.63	$5.19 \pm 0.46^{1)2)}$	$11.61 \pm 0.70^{2)}$	$7.50 \pm 0.93^{1)2)}$
高压炮制品组	0.75	$5.00 \pm 0.71^{1)}$	$10.63 \pm 1.25^{1)}$	$6.13 \pm 0.64^{1)2)}$
	3.00	$5.19 \pm 0.59^{1)2)}$	$11.81 \pm 1.25^{2)}$	$7.00 \pm 1.07^{1)2)}$
	5.63	$5.31 \pm 0.53^{1)2)}$	$12.63 \pm 1.22^{2)3)}$	$7.75 \pm 1.04^{1)2)}$
高温炮制品组	0.75	$4.63 \pm 0.79^{1)}$	$10.00 \pm 1.34^{1)}$	$5.38 \pm 0.74^{2)}$
	3.00	$4.75 \pm 0.46^{1)}$	$10.38 \pm 0.79^{1)}$	$6.13 \pm 0.64^{1)2)}$
	5.63	$4.94 \pm 0.50^{1)}$	$11.44 \pm 0.62^{2)}$	$6.75 \pm 0.89^{1)2)}$

注: 与空白组比较, $^{1)}P<0.05$; 与模型组比较, $^{2)}P<0.05$; 与黑顺片组比较, $^{3)}P<0.05$ 。

Note: Compared with blank group, $^{1)}P<0.05$; compared with the model group, $^{2)}P<0.05$; compared with Heishunpian group, $^{3)}P<0.05$.

3 讨论

微循环是指微动脉与微静脉之间的微血管血液循环, 基本功能是向全身各个脏器、组织运送氧气及营养物质, 排泄代谢产物, 并且调节组织内液与血管内液。从小鼠阳虚模型发现, 阳虚能够导致一定程度上微循环障碍, 从而引起体内组织器官正常生理功能障碍, 导致疾病发生。而附子及其炮制品能改善阳虚小鼠耳廓微循环, 间接反映其对器官的微循环作用是扩张血管主要方面

之一, 该实验在一定程度上从药理学角度阐述了附子“回阳救逆”的科学内涵。

本实验结果表明, 附子高压炮制品改善小鼠微循环作用最为显著, 这可能与炮制工艺密切相关。黑顺片和高温炮制品均经过长时间的水浸泡, 使水溶性生物碱流失, 同时过高温度可能会使部分酯型生物碱裂解或者破坏, 使药效降低; 微波炮制通过使药物吸收微波能后以离子传导和偶极子转动这 2 种方式从内外同时加热, 在水分子的作用下使得酯型生物碱水解, 降低其毒性, 但容易使药物焦化或者分子结构破坏, 从而影响疗效; 而高压炮制品能够避免以上情况, 降低毒性的同时, 有效成分能够大大保留, 与炮制品成分含量测定的结果一致。单酯型生物碱是附子主要有效成分, 其含量由高到低依次为: 高压炮制品>黑顺片>高温炮制品>微波炮制品。本实验表明, 附子改善阳虚小鼠耳廓微循环是通过扩大毛细血管管径、增加毛细血管网交叉点数、加快血流速度, 而其作用的强弱, 除了与给药剂量呈正相关外, 与其炮制品成分含量高低也有密切关系, 4 种炮制品改善微循环障碍的强弱依次为高压炮制品>黑顺片>高温炮制品和微波炮制品。综上所述, 附子炮制过程中降低毒性的同时需要防止有效成分的流失, 其生物碱成分含量是促进微循环的关键。

REFERENCES

- [1] 中国药典. 一部[S]. 2010: 附录 315-316.
- [2] DENG J G, FAN L L, HAO E W, et al. Experimental study on dose-effect relationship of Chinese medicine prepared Aconite root on effect of reviving Yang for resuscitation [J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2010, 16(9): 150-154.
- [3] WU K H, TANG L Y, WANG Z J, et al. Advances in studies on chemical constituents and bioactivities of *Aconitum carmichaeli* [J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2014, 20(2): 212-220.
- [4] KAO Y P, LIU M J, YUAN Q Z. Chemical constituents and pharmacological activities of Aconite [J]. Shaanxi J Tradit Chin Med(陕西中医), 2010, 31(12): 1658-1660.
- [5] BAO X W, YAN X F, CHANG Y Z. The Effects of the extraction from *Capparis spinosa* on microcirculation of auricle in normal mice [J]. Chin Agric Sci Bull(中国农学通报), 2015, 31(2): 62-66.

收稿日期: 2015-10-19