

## 麻黄水煎液及拆分组分对肾阳虚水肿大鼠的影响

李苗<sup>1</sup>, 曾梦楠<sup>1</sup>, 张贝贝<sup>1</sup>, 樊慧<sup>1</sup>, 吴广操<sup>1</sup>, 冯卫生<sup>1,2</sup>, 匡海学<sup>3</sup>, 郑晓珂<sup>1,2\*</sup>

(1. 河南中医药大学, 郑州 450046; 2. 呼吸疾病诊疗与新药研发河南省协同创新中心, 郑州 450046;  
3. 黑龙江中医药大学, 哈尔滨 150040)

**[摘要]** **目的:**研究麻黄及各拆分组分对肾阳虚水肿模型大鼠的影响,探讨功效与药性之间的关系,并初步讨论其作用机制。**方法:**用氢化可的松联合盐酸多柔比星复制肾阳虚水肿大鼠模型,即造模第1, 8天分别尾静脉注射盐酸多柔比星(4, 3.5 mg·kg<sup>-1</sup>),与此同时,连续15 d腹腔注射氢化可的松注射液(3.75 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>)进行造模。造模结束后,将造模成功大鼠分为模型组,桂附地黄丸组(1.4 g·kg<sup>-1</sup>),麻黄水煎液低(1.17 g·kg<sup>-1</sup>),中(2.34 g·kg<sup>-1</sup>),高(4.68 g·kg<sup>-1</sup>)剂量组,麻黄生物碱(0.020 g·kg<sup>-1</sup>),非生物碱(0.105 g·kg<sup>-1</sup>),醇沉(0.132 g·kg<sup>-1</sup>),挥发油(0.933 3 × 10<sup>-3</sup> mL·kg<sup>-1</sup>)组,同时设立正常组,各组大鼠分别给予相应的药物(10 mL·kg<sup>-1</sup>),正常组和模型组给予同等体积生理盐水,连续灌胃给药28 d。给药结束后,大鼠代谢笼法检测24 h尿量;考马斯亮蓝G-250染料结合法(CBB法)检测各组大鼠24 h尿蛋白;酶联免疫吸附法(ELISA)测定检测血清环磷酸腺苷(cAMP),环磷酸鸟苷(cGMP),三碘甲状腺原氨酸(T<sub>3</sub>),甲状腺素(T<sub>4</sub>),雌二醇(E<sub>2</sub>),睾酮(T)含量;蛋白免疫印迹法(Western bolt)检测肾脏水通道蛋白1(AQP1),水通道蛋白2(AQP2)含量。**结果:**麻黄水煎液和生物碱拆分组分能够显著性增加大鼠24 h尿量,血清cAMP, T<sub>3</sub>, T<sub>4</sub>和E<sub>2</sub>的水平( $P < 0.05, P < 0.01$ );麻黄水煎液和生物碱组分能够显著性降低大鼠24 h尿蛋白, cGMP, T的含量以及肾脏AQP1和AQP2的表达( $P < 0.05, P < 0.01$ )。**结论:**麻黄具有显著的利尿消肿功效,生物碱为最佳有效组分,且其利尿消肿机制可能与降低肾脏AQP1和AQP2的表达有关。

**[关键词]** 麻黄; 生物碱组分; 肾阳虚水肿; 水通道蛋白

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)23-0091-06

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2017230091

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170906.1348.028.html>

**[网络出版时间]** 2017-09-06 13:48

## Effect of Ephedrae Herba Decoction and Its Splitting Fractions in Rats with Kidney-Yang Deficiency and Edema

LI Miao<sup>1</sup>, ZENG Meng-nan<sup>1</sup>, ZHANG Bei-bei<sup>1</sup>, FAN Hui<sup>1</sup>, WU Guang-cao<sup>1</sup>,  
FENG Wei-sheng<sup>1,2</sup>, KUANG Hai-xue<sup>3</sup>, ZHENG Xiao-ke<sup>1,2\*</sup>

(1. Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China; 2. Respiratory Disease Diagnosis and Treatment and New Drug Development of Collaborative Innovation Center of Henan Province, Zhengzhou 450046, China; 3. Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the effect of Ephedrae Herba and its splitting fractions on the rat models of kidney-Yang deficiency and edema, explore the relationship between efficacy and drug properties, and discuss its mechanism. **Method:** The rat models of kidney-Yang deficiency were established with hydrocortisone combined with doxorubicin hydrochloride. Doxorubicin hydrochloride (4, 3.5 mg·kg<sup>-1</sup>) was injected into the tail vein at day 1 and day 8, at the same time, hydrocortisone (3.75 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>) was injected intraperitoneally for 15 days. After modeling, the rats were divided into model group, Guifu Dihuang pill group (1.4 g·kg<sup>-1</sup>), Ephedrae Herba

**[收稿日期]** 20170707(007)

**[基金项目]** 国家重点基础研究发展计划(973计划)项目(2013CB531802)

**[第一作者]** 李苗, 硕士, 从事中药活性成分及作用机制研究, Tel: 15637165890, E-mail: 2567938883@qq.com

**[通讯作者]** \* 郑晓珂, 博士, 教授, 从事中药活性成分及作用机制研究, Tel: 13623855366, E-mail: zhengxk.2006@163.com

decoction low ( $1.17 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ), medium ( $2.34 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) and high ( $4.68 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) dose groups, ephedra alkaloid ( $0.020 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ), non-alkaloid ( $0.105 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ), alcoholic acid ( $0.132 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ), and volatile oil ( $0.933 3 \times 10^{-3} \text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) groups, and a normal control group was set up additionally. Rats in each treatment group were given with the corresponding drugs, and those in the normal and model groups were given with the same volume of normal saline, with *ig* administration for continuous 28 days. At the end of the administration, 24 h urine was measured by rat metabolic cage method. 24 h urinary protein was detected by Coomassie brilliant blue G-250 dye combination method (CBB method). The levels of cyclic adenosine monophosphate (cAMP), cyclic guanosine monophosphate (cGMP), triiodothyronine (T<sub>3</sub>), thyroxine (T<sub>4</sub>), estradiol (E<sub>2</sub>) and testosterone (T) were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Western blot was used to detect the contents of aquaporin 1 (AQP1) and aquaporin 2 (AQP2). **Result:** Ephedrae Herba decoction and its splitting fractions could significantly increase the levels of 24 h urine output, cAMP, T<sub>3</sub>, T<sub>4</sub> and E<sub>2</sub> in serum ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ); Ephedrae Herba decoction and alkaloid components could significantly reduce rat 24 h urinary protein, cGMP, T, AQP1 and AQP2 expression levels ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). **Conclusion:** Ephedrae Herba has significant diuresis promoting and detumescence effects, and alkaloids are the best effective components. Its mechanism may be related to the reduction of renal AQP1 and AQP2 expression.

[**Key words**] Ephedrae Herba; alkaloid components; kidney-Yang deficiency and edema; aquaporin

麻黄为麻黄科植物草麻黄、中麻黄或木贼麻黄的干燥草质茎<sup>[1]</sup>,具有发汗散寒,宣肺平喘,利水消肿<sup>[2]</sup>的功效。《本草经疏》中记载:“麻黄气温而无毒,是大辛之药,辛能散,使表邪汗出而解,咳逆上气自平;麻黄能行,可通调水道,从而利水消肿”<sup>[3]</sup>。中药一直被认为是“一味一性”,本项目主席提出“中药一药 X 味 Y 性,  $Y \leq X$  的假说,药味与药物的具体功效相关,药性是药物通过不同途径以影响药物疗效发挥或副作用发生有关的一类生物学效应,且中药性味的物质基础是可拆分的<sup>[4]</sup>。课题组采用中药性味可拆分性的研究模式,结合现代研究方法,应用“中药传统功效-化学组分-药理学实验”的研究思路,研究了麻黄拆分组分“辛温”发汗及利水的作用<sup>[2]</sup>。本实验基于此中药性味科学内涵新假说,选择具有利水功效的麻黄为研究对象,根据古文记载并结合现代中药药理学研究,将麻黄拆分为成分互不交叉的生物碱组分、非生物碱组分、醇沉组分和挥发油组分,初步阐释麻黄及拆分组分药性与功效之间的关系。

肾虚水肿是指先天禀赋不足,后天失养,或老年体衰,或久病失养以致肾阳虚衰,膀胱气化失司,水液停留体内,是肾病晚期比较常见的症状。文献报道肾虚水肿模型大鼠自主活动减少,大便溏泻,尿蛋白、环磷酸鸟苷含量增加;环磷酸腺苷,三碘甲状腺原氨酸和甲状腺素含量降低<sup>[5]</sup>。本实验采用腹腔注射氢化可的松联合尾静脉注射盐酸多柔比星的方法复制肾阳虚水肿大鼠模型,观察麻黄水煎液

及拆分组分对模型大鼠的影响,完善麻黄及各拆分组分利水消肿功效的评价研究,探讨麻黄性味拆分组分药性与功效之间的关系,并初步研究其作用机制,为中药性味的进一步研究提供实验依据。

## 1 材料

**1.1 动物** SPF 级雄性健康 SD 大鼠,体重 180 ~ 220 g,购自北京维通利华实验动物有限公司,合格证号 SCXK(京)2012-0001。在通风、湿度适宜的清洁级动物实验室内常规饲养,自由饮食、饮水。本研究获得河南中医药大学实验动物伦理委员会批准,实验均符合中国伦理委员会有关动物研究指导原则。

**1.2 药物** 麻黄购于河南省顺康医药有限责任公司中草药 31 部,经河南中医药大学陈随清教授鉴定为麻黄科植物草麻黄 *Ephedra sinica* 的干燥草质茎。麻黄水煎液的制备:取麻黄 1 kg,10 倍量水煎煮 3 次,每次 1 h,16 层纱布过滤,合并滤液,减压浓缩,得到麻黄水煎液,提取率为 15.80%。麻黄性味拆分组分的制备,麻黄饮片水蒸气蒸馏法得到挥发油组分(提取率为 0.004%)和水提液,水提液浓缩干燥后,少部分水溶解,上 AB-8 大孔吸附树脂柱,依次用水,30% 乙醇,95% 乙醇洗脱,得到水洗脱部位,30% 乙醇洗脱部位,95% 乙醇洗脱部位。水洗脱部位浓缩干燥后,用 80% 乙醇进行多次醇沉,离心,得到醇沉组分,提取率为 5.67%。醇沉上清液与 30% 洗脱部位合并,浓缩至无醇味,调 pH 2,上阳离子交换树脂,吸附在阳离子交换树脂上的为生物碱组分,

提取率为 0.87% ;其中阳离子交换树脂流出液浓缩,上 AB-8 大孔吸附树脂柱,分别采用水,30% 乙醇洗脱,其中水洗脱组分浓缩后经阴离子交换树脂,流出液与 30% 乙醇洗脱部位以及 95% 洗脱部位合并,浓缩,干燥后共为麻黄非生物碱组分,提取率为 4.50% 。氢化可的松注射液(上海现代哈森药业有限公司,批号 1501080231),盐酸多柔比星(山西普德药业股份有限公司,批号 02150401),桂附地黄丸(北京同仁堂科技发展股份有限公司制药厂,批号 14012258)。

**1.3 试剂** 尿蛋白试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号 20161119);环磷酸腺苷(cAMP),环磷酸鸟苷(cGMP),三碘甲状腺原氨酸(T<sub>3</sub>),甲状腺素(T<sub>4</sub>),睾酮(T),雌二醇(E<sub>2</sub>)酶联免疫吸附(ELISA)试剂盒(江苏卡尔文生物技术有限公司,批号均为 E20161201A);水通道蛋白 1(AQP1),水通道蛋白 2(AQP2), $\beta$ -肌动蛋白( $\beta$ -actin)抗体(Abcam 公司,批号分别为 GR270583-4,GR112488-11,GR52644-9);哺乳动物组织总蛋白提取试剂(武汉博士德生物有限公司,批号 11F28C01);BCA 蛋白浓度测定试剂盒(索莱宝生物科技有限公司,批号 20140425);超敏 ECL 化学发光试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司,批号 022316160415)。

**1.4 仪器** DYY7C 型电泳仪(北京六一仪器厂);Trans-Blot Turbo System 蛋白快速转膜仪,iMark 型酶标仪(美国 Bio-Rad 公司);Amersham Imager 600 型超灵敏多功能成像仪(美国 GE 公司);BIOMATE 3S 型紫外分光光度计(美国 Thermo Fisher Scientific 公司);AB204-N 型分析天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司);EYELA N-1100 型旋转蒸发仪,EYELA FDU-2110 型冷冻干燥机(上海爱朗仪器有限公司)。

## 2 方法

**2.1 造模<sup>[5]</sup>** SD 雄性大鼠适应性喂养 1 周后开始造模,第 1 天尾静脉注射盐酸多柔比星 4 mg·kg<sup>-1</sup>,第 8 天再次尾静脉注射盐酸多柔比星 3.5 mg·kg<sup>-1</sup>,与此同时每日腹腔注射 3.75 mg·kg<sup>-1</sup> 氢化可的松注射液,造模时间连续 15 d。与正常组比较,造模大鼠毛色无光,大便溏泄,精神萎靡,畏寒喜暖,自主活动和尿量减少,尿蛋白水平增加(24 h 尿蛋白 $\geq$  20 mg)视为造模成功。

### 2.2 分组与给药

**2.2.1 麻黄水煎液对肾阳虚水肿大鼠的影响** 将大鼠分为正常组,模型组,桂附地黄丸组,麻黄水煎

液低、中、高剂量组。造模成功后 24 h 开始,每日灌胃给药 1 次。麻黄低、中、高剂量组分别按照麻黄生药材(1.17,2.34,4.68 g·kg<sup>-1</sup>)给药,桂附地黄丸组按照(1.4 g·kg<sup>-1</sup>)给药。给药剂量是按照人临床用量,以体表面积折算为大鼠等效剂量的 7,14,28 倍量给药。正常组和模型组给予等体积生理盐水,连续灌胃给药 28 d。

**2.2.2 麻黄水煎液及拆分组分对肾阳虚水肿大鼠的影响** 将大鼠分为正常组,模型组,桂附地黄丸组,麻黄水煎液组,麻黄生物碱、非生物碱、醇沉、挥发油组。麻黄水煎液按前期实验筛选的最佳剂量(麻黄中剂量 2.34 g·kg<sup>-1</sup>)给药,各拆分组分的给药剂量按各拆分组分得率与水煎液中剂量相当折算,麻黄生物碱(0.020 g·kg<sup>-1</sup>),非生物碱(0.105 g·kg<sup>-1</sup>),醇沉(0.132 g·kg<sup>-1</sup>),挥发油(0.933 3  $\times$  10<sup>-3</sup> mL·kg<sup>-1</sup>)。正常组和模型组给予同等体积生理盐水,连续灌胃给药 28 d。

**2.3 标本采集与处理** 给药 28 d 后,将各组大鼠放置于代谢笼中,收集 24 h 尿液,量取尿量,并收集尿液,3 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min,取上清。用 10% 水合氯醛麻醉大鼠,右侧股动脉插管采血,静置 1 h 后,3 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min,取上清,取血后,快速摘除大鼠两侧肾脏,将尿液,血清和肾脏置于 -80 °C 冰箱保存,待测。

**2.4 CBB 法检测 24 h 尿蛋白含量** 取出收集的尿液,采用考马斯亮蓝 G-250 染料结合法(CBB 法)检测大鼠尿液中的尿蛋白含量,按照南京建成试剂盒说明书进行操作。

### 2.5 ELISA 法检测 cAMP,cGMP,T<sub>3</sub>,T<sub>4</sub>,T,E<sub>2</sub> 含量

取出收集的血清,往预先包被 cAMP 抗体的包被微孔中加入对照品和样本,每孔加入辣根过氧化酶(HRP)标记的检测抗体,封住反应孔,37 °C 恒温箱温育 60 min。重复洗板 5 次,每次 1 min,拍干,每孔加底物 A,B 各 50  $\mu$ L,37 °C 避光孵育 15 min,每孔加入终止液 50  $\mu$ L,450 nm 波长处测定各孔的吸光度 A。cGMP,T<sub>3</sub>,T<sub>4</sub>,T,E<sub>2</sub> 的检测方法同 cAMP。

**2.6 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测肾脏 AQP1,AQP2** 取出冻存的肾脏组织,按照哺乳动物总蛋白提取试剂盒操作,提取各组大鼠肾脏总蛋白,用 BCA 蛋白定量试剂盒测定总蛋白浓度,SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)将蛋白按照相对分子质量的大小分离成不同的条带,将内参蛋白和目的蛋白转移到 PVDF 膜上,用 5% 的脱脂奶粉封闭 2 h,加入一抗 AQP1,AQP2(1:500), $\beta$ -actin(1:1 000),

室温孵育 1 h 后, 4 ℃ 冰箱孵育过夜, 用 TBST 洗膜 6 次, 每次洗 5 min, 加入相对应的二抗 (1:2 000), 室温孵育 1 h, 再次用 TBST 洗膜, ECL 化学发光试剂盒显色, 采用超灵敏多功能成像仪采集蛋白条带, 用 Quantity One 软件对蛋白条带进行分析。

**2.7 统计学处理** 所有计量资料用  $\bar{x} \pm s$  表示, 采用 SPSS 18.0 软件统计分析, 多组间比较采用单因素方差分析,  $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

### 3 结果

#### 3.1 麻黄水煎液对肾阳虚水肿模型大鼠 24 h 尿

量, 尿蛋白, cAMP, cGMP, T3 和 T4 含量的影响 与正常组比较, 模型大鼠尿蛋白和 cGMP 含量明显升高 ( $P < 0.01$ ); 尿量, cAMP, T3 和 T4 含量明显降低 ( $P < 0.01$ )。与模型组比较, 麻黄中剂量和高剂量能够显著降低尿蛋白含量, 麻黄各剂量均能显著降低 cGMP 的含量 ( $P < 0.05, P < 0.01$ )。麻黄各剂量组均能增加大鼠尿量, 麻黄中剂量和高剂量升高 cAMP 和 T3 的含量 ( $P < 0.05, P < 0.01$ ), 麻黄各剂量均能降低 T4 的含量 ( $P < 0.01$ ), 见表 1。综合以上实验结果, 麻黄的中剂量为最佳给药剂量。

表 1 麻黄水煎液对肾阳虚水肿大鼠 24 h 尿量, 尿蛋白, cAMP, cGMP, T3 和 T4 含量的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

Table 1 Effect of Mahuang decoction on 24 h urine, urineprotein, cAMP, cGMP, T3 and T4 contents in rats with kidney-Yang deficiency and edema ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	尿量/mL·kg <sup>-1</sup>	24 h 尿蛋白/mg	cAMP/nmol·L <sup>-1</sup>	cGMP/nmol·L <sup>-1</sup>	T3/μg·L <sup>-1</sup>	T4/μg·L <sup>-1</sup>
正常	-	65.6 ± 6.80	14.58 ± 2.34	43.96 ± 2.76	14.06 ± 1.11	4.35 ± 0.60	217.93 ± 20.53
模型	-	43.5 ± 9.40 <sup>2)</sup>	354.12 ± 18.44 <sup>2)</sup>	33.58 ± 1.67 <sup>2)</sup>	15.65 ± 0.09 <sup>2)</sup>	3.41 ± 0.21 <sup>2)</sup>	167.93 ± 10.58 <sup>2)</sup>
桂附地黄丸	1.40	63.0 ± 5.60 <sup>4)</sup>	279.99 ± 12.00	43.06 ± 4.09 <sup>4)</sup>	14.07 ± 1.51 <sup>4)</sup>	4.33 ± 0.65 <sup>4)</sup>	216.15 ± 15.37 <sup>4)</sup>
麻黄水煎液	1.17	53.1 ± 10.2 <sup>3)</sup>	284.59 ± 27.85	40.02 ± 1.53 <sup>4)</sup>	15.02 ± 0.72	3.46 ± 0.25	193.44 ± 17.42 <sup>4)</sup>
	2.34	61.8 ± 8.30 <sup>4)</sup>	255.19 ± 34.80 <sup>3)</sup>	41.15 ± 3.58 <sup>4)</sup>	14.15 ± 1.02 <sup>4)</sup>	4.08 ± 0.57 <sup>4)</sup>	213.85 ± 15.75 <sup>4)</sup>
	4.68	56.2 ± 6.00 <sup>3)</sup>	237.28 ± 44.08 <sup>3)</sup>	40.07 ± 1.86 <sup>4)</sup>	14.38 ± 0.88 <sup>4)</sup>	3.98 ± 0.59 <sup>3)</sup>	206.84 ± 18.27 <sup>4)</sup>

注: 与正常组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.01$ ; 与模型组比较<sup>3)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>4)</sup>  $P < 0.01$  (表 2~3, 图 1 同)。

**3.2 麻黄各拆分组对肾阳虚水肿模型大鼠 24 h 尿量和尿蛋白含量的影响** 与正常组比较, 模型大鼠尿量降低, 而尿蛋白含量升高 ( $P < 0.01$ )。与模型组比较, 麻黄水煎液和生物碱组分能增加大鼠尿量, 降低尿蛋白含量 ( $P < 0.05, P < 0.01$ )。见表 2。

表 2 麻黄各拆分组对肾阳虚水肿大鼠 24 h 尿量和尿蛋白含量的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

Table 2 Effect of different components of Ephedrae Herba on 24 h urine and urine protein content in rats with kidney-Yang deficiency and edema ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	尿量/mL·kg <sup>-1</sup>	24 h 尿蛋白/mg
正常	-	76.4 ± 13.7	7.83 ± 1.39
模型	-	57.2 ± 14.1 <sup>2)</sup>	254.88 ± 39.81 <sup>2)</sup>
桂附地黄丸	1.40	75.8 ± 16.7 <sup>4)</sup>	208.24 ± 31.46 <sup>3)</sup>
麻黄水煎液	2.34	75.7 ± 10.8 <sup>4)</sup>	187.90 ± 20.04 <sup>4)</sup>
生物碱	0.020	72.3 ± 11.8 <sup>3)</sup>	208.16 ± 26.59 <sup>3)</sup>
非生物碱	0.105	62.7 ± 9.90	248.82 ± 60.67
醇沉	0.132	60.4 ± 13.6	237.35 ± 42.37
挥发油	0.933 × 10 <sup>-3</sup> <sup>5)</sup>	63.0 ± 16.9	235.36 ± 40.06

注: <sup>5)</sup> 剂量单位为 mL·kg<sup>-1</sup> (表 3 同)。

**3.3 麻黄各拆分组对肾阳虚水肿模型大鼠 cAMP, cGMP, T3, T4, E<sub>2</sub> 和 T 含量的影响** 与正常组相比, 模型大鼠的 cGMP 和 T 含量升高; cAMP,

T3, T4, E<sub>2</sub> 含量降低 ( $P < 0.05, P < 0.01$ )。与模型组比较, 麻黄水煎液和生物碱组分能降低 cGMP 和 T 含量 ( $P < 0.05, P < 0.01$ ), 麻黄水煎液、生物碱和挥发油组分能升高 cAMP, T3, T4 和 E<sub>2</sub> 含量 ( $P < 0.05, P < 0.01$ )。见表 3。

**3.4 麻黄及拆分组对肾阳虚水肿模型大鼠肾脏 AQP1 和 AQP2 含量的影响** 与正常组比较, 模型大鼠的肾脏 AQP1 和 AQP2 含量显著增加 ( $P < 0.05, P < 0.01$ ), 与模型组比较, 麻黄水煎液和麻黄有效部位 (生物碱组分) 能降低 AQP1 和 AQP2 的水平 ( $P < 0.05, P < 0.01$ )。见图 1。

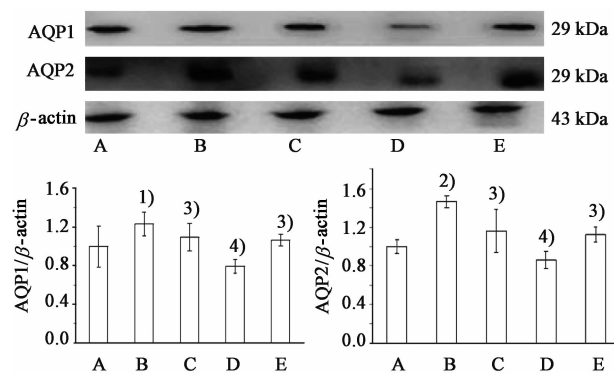
### 4 讨论

盐酸多柔比星是一种强效蒽醌类抗癌抗生素, 其肾脏毒性显著, 能损伤肾小球上皮细胞, 使脂质过氧化物及自由基形成, 导致肾小球滤过膜分子屏障和电荷屏障受损, 从而引发肾水肿<sup>[6]</sup>。有报道称它的代谢产物从 DNA 水平直接干预了 Nephin 蛋白的合成, 使足突裂孔隔膜结构发生紊乱, 造成足突融合, 从而使造模大鼠出现大量蛋白尿<sup>[7]</sup>。氢化可的松是一种糖皮质激素类药物, 它会使垂体前叶的促肾上腺皮质激素 (ACTH) 释放收到抑制, 从而使肾上腺皮质分泌类固醇激素减少, 导致大鼠出现体能

表 3 麻黄各拆分组对肾虚水肿大鼠 cAMP, cGMP, T3, T4, E<sub>2</sub> 和 T 含量的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

Table 3 Effect of different components of Ephedrae Herba on contents of cGMP, cAMP, T3, T4, E<sub>2</sub> and T in rats with kidney-Yang deficiency and edema ( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	cAMP/nmol·L <sup>-1</sup>	cGMP/nmol·L <sup>-1</sup>	T3/μg·L <sup>-1</sup>	T4/μg·L <sup>-1</sup>	E <sub>2</sub> /nmol·L <sup>-1</sup>	T/nmol·L <sup>-1</sup>
正常	-	9.37 ± 0.64	5.03 ± 0.73	11.41 ± 0.77	99.58 ± 14.55	29.91 ± 2.85	47.59 ± 14.55
模型	-	7.70 ± 0.50 <sup>2)</sup>	5.90 ± 0.28 <sup>1)</sup>	10.15 ± 0.26 <sup>2)</sup>	75.63 ± 15.59 <sup>2)</sup>	20.66 ± 3.12 <sup>2)</sup>	60.09 ± 5.23 <sup>1)</sup>
桂附地黄丸	1.40	9.44 ± 0.47 <sup>4)</sup>	5.10 ± 0.47 <sup>3)</sup>	10.72 ± 0.30 <sup>3)</sup>	94.79 ± 21.35 <sup>3)</sup>	26.91 ± 4.87 <sup>3)</sup>	51.30 ± 12.28
麻黄水煎液	2.34	9.10 ± 1.77 <sup>4)</sup>	5.14 ± 0.45	10.80 ± 0.33 <sup>3)</sup>	99.17 ± 17.85 <sup>4)</sup>	26.04 ± 5.79 <sup>3)</sup>	47.36 ± 10.02 <sup>3)</sup>
生物碱	0.020	9.02 ± 0.36 <sup>4)</sup>	5.08 ± 0.84 <sup>3)</sup>	10.83 ± 0.46 <sup>3)</sup>	95.42 ± 14.20 <sup>3)</sup>	26.52 ± 2.32 <sup>3)</sup>	48.52 ± 3.45 <sup>3)</sup>
非生物碱	0.105	8.51 ± 0.51	5.45 ± 0.48	9.66 ± 0.51	81.67 ± 9.86	25.60 ± 5.35	55.93 ± 6.77
醇沉	0.132	8.59 ± 0.30	5.57 ± 0.85	10.37 ± 0.55	78.54 ± 14.78	24.39 ± 6.25	58.70 ± 2.70
挥发油	0.933 3 × 10 <sup>-3 5)</sup>	8.60 ± 0.51 <sup>3)</sup>	5.58 ± 0.34	9.67 ± 0.40	80.00 ± 4.68	23.66 ± 2.78	55.69 ± 4.03



A. 正常组; B. 模型组; C. 桂附地黄丸组; D. 麻黄水煎液组; E. 麻黄生物碱组

图 1 麻黄及有效部位对肾虚水肿大鼠肾脏 AQP1 和 AQP2 蛋白表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Fig. 1 Effect of Ephedrae Herba and effective parts on expression of AQP1 and AQP2 protein in kidney of rats with kidney-Yang deficiency and edema ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

消耗殆尽的现象,此模型大鼠的症状符合中医肾阳虚水肿的临床表现<sup>[8]</sup>,因此,本实验采用氢化可的松联合盐酸多柔比星复制肾虚水肿模型的方法是可行的。

麻黄首载于《神农本草经》,被列为中品,其中记载“麻黄味苦,温,主中风、伤寒头痛,发表出汗,止咳逆上气”<sup>[9]</sup>,《本草纲目》中记载:麻黄用于“散目赤肿痛,水肿”。由此可见,麻黄很早便应用于发汗解表、利水、止咳和通阳。麻黄归肺与膀胱经,上宣肺气,使机体发汗解表,肌肤之水湿从毛孔向外排出,同时通调水道、助膀胱利尿之利,使尿液正常排泄。麻黄味辛性温,辛能行,使机体水液正常运行,水道畅通;辛能散,散皮毛之寒邪,补火助阳、回阳救逆;温能驱寒、温经通络,补机体之阳气。故本实验选用温阳且具有利水消肿功效的麻黄作为研究对象,考察其对肾虚水肿模型大鼠的影响。

阳虚表现为体寒,宜用温热药以致其阴,治寒以热,即中医主张的“寒者热之”。cGMP 和 cAMP 与中医理论中的阴阳相类似,它们是一对相互拮抗而又相互制约的物质,具有双向调控细胞的功能,阳虚时表现为 cGMP 含量升高而 cAMP 含量降低<sup>[10]</sup>。此外,阳虚大鼠还表现为倦怠嗜睡、畏寒喜暖、大便溏泄、活动减少、毛发枯疏<sup>[11]</sup>。本实验中,模型大鼠精神萎靡,畏寒喜暖,血清 cGMP 升高,cAMP 降低,给药后,麻黄水煎液及生物碱组分能使大鼠精神状况有所好转,且能使 cGMP 含量降低,cAMP 含量升高,可以看出性温的麻黄能够一定程度改善模型大鼠的阳虚状态。

文献报道肾阳虚水肿大鼠会出现下丘脑-垂体-甲状腺轴的障碍或功能低下,当甲状腺功能低下时,产热减少,能量代谢下降,全身机能减弱,此时 T3 和 T4 水平降低<sup>[12]</sup>。本实验中模型大鼠的血清 T3 和 T4 水平降低,给药后,麻黄水煎液和生物碱组分显著升高大鼠血清 T3 和 T4 含量,说明麻黄能够增强肾阳虚水肿大鼠甲状腺的功能。肾阳虚大鼠还会出现下丘脑-垂体-性腺轴的紊乱<sup>[5]</sup>,本研究中模型大鼠血清 E<sub>2</sub> 含量升高,而 T 含量降低,给药后麻黄水煎液及生物碱组分能使 E<sub>2</sub> 和 T 的含量趋于正常,说明麻黄能够调节肾阳虚水肿模型大鼠的性激素水平。

本实验中模型大鼠尿量减少,尿蛋白含量增加,给药后,麻黄水煎液及生物碱组分能增加大鼠的尿量,显著降低尿蛋白含量,这与麻黄利水消肿的功效密切相关。麻黄归肺经,能调理肺脏功能,使表气开达,肌肤之水湿从毛窍外散,肺脏行水有力,水道通畅;归膀胱经,膀胱的功能是贮尿、排尿,麻黄能通调水道、下输膀胱以下利尿之力,水从膀胱排出,从

而使得水液代谢逐渐恢复正常。正如《黄帝内经》中所描述,麻黄能:“开鬼门,洁净府”,所指的就是麻黄的此种功效,为了进一步明晰麻黄利水消肿功效的作用特点,本研究对水通道蛋白进行检测以初步讨论其作用机制。

水通道蛋白是具有高度选择性的水孔道特异蛋白,广泛存在于生物体中的各组织部位,影响生物机体的水液代谢。到目前为止,已从哺乳动物组织中鉴定出13种水通道蛋白亚型(AQP0-AQP12)<sup>[13]</sup>,其中AQP1和AQP2广泛存在肾脏中,主要通过胞吐、内吞作用使水通道蛋白在胞内贮存囊泡与质膜之间不断地循环<sup>[14]</sup>,从而调节膜对水的通透性,介导水的正常转运。研究发现,病变的肾小管上皮细胞内的表达增加,促进了液体进入囊泡及病变的发展<sup>[15]</sup>。本实验为了探讨麻黄水煎液及有效部位的作用机制,对肾脏组织中的AQP1和AQP2进行检测,实验发现本模型大鼠的肾脏AQP1和AQP2表达升高,给药后两者的表达均降低,推测麻黄的利水消肿功效与调节水通道蛋白的表达有关。

本课题组前期对麻黄的研究发现麻黄挥发油组分、醇沉组分和非生物碱组分味苦,性凉(寒);生物碱组分味辛,性温<sup>[2,4]</sup>,由此可见生物碱组分与麻黄水煎液的药性相似。有趣的是,本实验发现生物碱组分与水煎液所发挥的功效也相似,推测麻黄及生物碱组分的药性对肾阳虚水肿大鼠病理状态的改善起到一定促进作用。同时本实验通过对大鼠肾脏水通道蛋白的检测,发现麻黄水煎液及生物碱组分能降低大鼠肾脏AQP1和AQP2的表达,推测麻黄及生物碱组分有可能是通过降低AQP1和AQP2的表达以实现其利水消肿的功效。

#### [参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:320.
- [2] 王艳宏,王秋红,夏永刚,等. 麻黄化学拆分组分的性味药理学评价—麻黄化学拆分组分“辛温”发汗、利

水作用的实验研究[J]. 中国中医药科技,2011,18(6):489-491.

- [3] 范媛. 朱佳教授应用麻黄的经验研究[D]. 南京:南京中医药大学,2013.
- [4] 王艳宏,王秋红,夏永刚,等. 麻黄化学拆分组分的性味药理学评价—麻黄化学拆分组分“辛宣苦泄”平喘作用的研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(24):136-139.
- [5] 王洪玉,陈平平,董婉茹,等. 阿霉素诱发肾性水肿病症大鼠模型的建立[J]. 中国比较医学杂志,2016,26(12):5-9.
- [6] 郑晓珂,于洋,周静,等. 白术各化学拆分组分及其配伍对大鼠肾病综合征的影响[J]. 中药新药与临床药理,2016,27(4):467-474.
- [7] 杨维娜,于琳华,钱亦华,等. 阿霉素肾病大鼠模型动态变化及其足细胞数量和nephrin的表达变化[J]. 中山大学学报:医学科学版,2009,30(5):512-516,476.
- [8] 邹忠杰,龚梦鹃,谢媛媛,等. 氢化可的松诱导的肾阳虚大鼠尿液代谢组学研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(8):133-136.
- [9] 杨昕宇,肖长芳,张凯熠,等. 麻黄临床应用与药理作用研究进展[J]. 中华中医药学刊,2015,33(12):2874-2877.
- [10] 陈英华,欧阳轶强,孙琪,等. 肾阳虚证动物模型规范化研究中诊断指标选择的初步探讨[J]. 中国中医基础医学杂志,2003,9(10):26-30.
- [11] 叶艺,赵彩娇,谭敏,等. 肾阳虚证动物模型现代研究概况[J]. 中医学报,2014,29(5):695-697.
- [12] 崔凯恒,嵇冰. 肾阳虚证动物模型现代评价指标研究概述[J]. 甘肃中医药大学学报,2016,33(1):75-78.
- [13] 李姿慧,王键,蔡荣林. 湿病与水通道蛋白的相关性研究进展[J]. 中西医结合学报,2011,9(1):5-10.
- [14] 路炜,漆洪波. 水通道蛋白调节的研究进展[J]. 国外医学:妇幼保健分册,2005,16(1):42-44.
- [15] 安宇,张剑钊,李学军. 水通道蛋白的表达及其调节[J]. 国际药学研究杂志,2008,35(5):355-359.

[责任编辑 邹晓翠]