

· 配伍 ·

麻黄性味拆分组分对上焦水饮内停大鼠模型的影响

杨胜利¹, 孙亚萍¹, 司彦坡¹, 韩杜菀¹, 郑晓珂^{1,2}, 冯卫生^{1,2*}

(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)

[摘要] 目的:研究麻黄发挥作用的药效物质基础,并初步探讨其作用机制,进一步丰富麻黄的药性理论。方法:采用复合因素建立上焦水饮内停大鼠模型;将造模大鼠随机分为模型组,卡托普利组(4.38 mg·kg⁻¹),麻黄水煎液组(468 mg·kg⁻¹),多糖组(265.36 mg·kg⁻¹),挥发油组(2.34 mg·kg⁻¹),生物碱组(40.71 mg·kg⁻¹)和酚酸组(210.60 mg·kg⁻¹),同时设立正常组,各组大鼠分别给予相应的药物(10 mL·kg⁻¹),正常组和模型组给予同等体积生理盐水,灌胃给药4周,采用大鼠代谢笼法收集24 h尿量,光镜下观察大鼠心和肺组织形态变化,并检测大鼠的心脏指数,肺脏指数,左室射血分数(LVEF),左室短轴缩短率(LVFS),肺通透指数(LPI),肺干湿比(W/D),肌酸激酶同工酶(CK-MB),血管紧张素Ⅱ(AngⅡ),醛固酮(ALD),心脏水通道蛋白-1(AQP1),肺脏AQP1,水通道蛋白-3(AQP3)和肾脏AQP1,AQP2,白细胞介素-6(IL-6)和肿瘤坏死因子-α(TNF-α)的变化。结果:与正常组比较,模型组大鼠心、肺组织受损较严重,模型大鼠24 h尿量,LVEF,LVFS均显著降低($P < 0.01$);心脏指数,肺脏指数,CK-MB,LPI,AngⅡ,W/D,ALD,IL-6和TNF-α水平均明显升高($P < 0.05$, $P < 0.01$),上焦水饮内停大鼠模型建立成功;与模型组比较,生物碱组能显著升高大鼠24 h尿量,LVEF,LVFS($P < 0.05$, $P < 0.01$),显著降低心脏指数,肺脏指数,CK-MB,LPI,AngⅡ,W/D,ALD,IL-6和TNF-α水平($P < 0.05$, $P < 0.01$),且对上焦水饮内停大鼠心、肺病理状况有明显改善作用。结论:麻黄生物碱组分“辛”“温”,是其发挥作用的药效物质基础,其作用可能与肾素-血管紧张素-醛固酮系统(RAAS)的抑制及其抗炎有关。

[关键词] 麻黄性味拆分组分;上焦水饮内停;肾素-血管紧张素-醛固酮系统(RAAS)

[中图分类号] R2-0;R22;R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)03-0001-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20190335

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.r.20181115.0949.014.html>

[网络出版时间] 2018-11-19 09:37

Effect of Nature and Flavor Subdivision of Ephedrae Herba on Rats Model of Harmful Fluid Retention in Upper Jiao

YANG Sheng-li¹, SUN Ya-ping¹, SI Yan-po¹, HAN Du-wan¹, ZHENG Xiao-ke^{1,2}, FENG Wei-sheng^{1,2*}

(1. Henan University of Traditional Medicine, Zhengzhou 450046, China;

2. Collaborative Innovation Center for Respiratory Disease Diagnosis and Treatment & Chinese Medicine Development of Henan Province, Zhengzhou 450046, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effective substance foundation of Ephedrae Herba and explore its mechanism, in order to further enrich the theory of drug resistance of Ephedrae Herba. **Method:** In this experiment, a compound model was used to establish rat model of Harmful Fluid Retention in upper Jiao. The Rats were randomly divided into model group, captopril group (4.38 mg·kg⁻¹), Ephedrae Herba decoction group (468 mg·kg⁻¹), polysaccharide group (265.36 mg·kg⁻¹), volatile oil group (2.34 mg·kg⁻¹), alkaloid group (40.71 mg·kg⁻¹) and phenolic acid group (210.60 mg·kg⁻¹), and normal group (10 mL·kg⁻¹). The normal group and the model group were given the same volume of normal saline for four weeks. The 24 h urine volume of

[收稿日期] 20180703(004)

[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] 杨胜利,在读硕士,从事中药活性成分及作用机制研究,E-mail: 18237100727@163.com

[通信作者] *冯卫生,博士,教授,博士生导师,从事中药活性成分及作用机制研究,Tel:0371-60190296,E-mail: fwsh@hactem.edu.cn

rats was collected by metabolic cage method. The changes of heart and lung tissue morphology were observed under light microscope. The heart index, lung index, left ventricular ejection fraction (LVEF), left ventricular short axis shortening rate (LVFS) and pulmonary permeability index, number (LPI), lung dry-wet ratio (W/D), creatine kinase isoenzyme (CK-MB), angiotensin II (Ang II), aldosterone (ALD), cardiac aquaporin 1 (AQP1), lung AQP1, aquaporin-3 (AQP3) and kidney AQP1, aquaporin-2 (AQP2), interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) change were detected. **Result:** Compared with the normal group, heart and lungs of the model group were significantly damaged. The amount of 24 h urine, LVEF, LVFS of model rats were significantly reduced ($P < 0.01$); whereas heart index, lung index, CK-MB, LPI, Ang II, W/D, ALD, IL-6 and TNF- α were significantly increased ($P < 0.05$, $P < 0.01$), and the model of Harmful Fluid Retention in the Upper Jiaowas established successfully. The amount of 24 h urine, LVEF, LVFS, IL-6 and TNF- α were significantly increased ($P < 0.05$, $P < 0.01$) in the alkaloid group, and the heart index, the lung index, CK-MB, LPI, Ang II, W/D, ALD, IL-6 and TNF- α were significantly reduced ($P < 0.05$, $P < 0.01$). And the Alkaloid group can alleviate the heart and lung pathology in the Rats Model of Harmful Fluid Retention in the Upper Jiao. **Conclusion:** Alkaloid components “Wen” and “Xin” are the effective substance basis of its action. The mechanism may be related to the inhibition of renin angiotensin aldosterone system (RAAS) and the anti-inflammatory effect.

[**Key words**] nature and flavor subdivision of Ephedrae Herba; harmful fluid retention in the upper Jiao; renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS)

上焦水饮内停证为一典型的中医证候^[1],临床多表现为呼吸困难,气短喘促,咳吐涎沫,痰量多,舌苔白润或灰腻,舌质胖大,脉沉细^[2](胸腔积液、心包积液、渗出性胸膜炎、肺水肿)等。心、肺同居于上焦,心主血脉,上朝于肺,肺主宗气,贯通心脉,当肺失于宣降,司气的功能异常,可影响宗气贯心脉行血功能的正常发挥,进而出现血瘀证;同时,当心的功能失调时,血液瘀滞,影响肺气的宣降,发生水肿、喘促等病,一旦二者的功能失调,就会出现上焦水饮内停^[3]。

在传统的中药中,本研究选用了临床常用、性味归经不同的桑白皮、葶苈子、麻黄、薏苡仁、茯苓、黄芪、白术、川牛膝、汉防己、牵牛子、商陆、车前子、知母、黄芩、淫羊藿、玄参,共 16 味中药为研究对象,建立了 3 个中医证候动物模型(上焦水饮内停、脾虚水湿不化),对这 16 味中药的功效进行药理学研究,进一步丰富药物的药性理论研究,其中麻黄为草麻黄、中麻黄或木贼麻黄的干燥草质茎,辛、微苦,温,归肺、膀胱经,具有发汗散寒,利尿消肿^[4],宣肺平喘^[5]的作用。现代研究表明麻黄还具有正性肌力^[6]、利尿^[7]等作用。经过前期的研究,筛选出了麻黄水煎液的最佳作用剂量,本实验根据麻黄水煎液的最佳作用剂量对麻黄性味拆分组分进行折算^[8],研究其对上焦水饮内停动物模型的影响,并初步探讨其作用机制,进一步丰富麻黄的药性理论。

1 材料

1.1 动物 Wistar 大鼠,雌雄各半,体质量 180 ~ 220 g,北京维通利华实验动物技术有限公司提供,合格证号 SCXK(京)2012-0001,饲养于 18 ~ 22 °C 清洁级动物实验室内,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 麻黄由河南中医药大学陈随清教授、董诚明教授鉴定为草麻黄 *Ephedra sinica* 的干燥草质茎。麻黄水煎液的制备:称取麻黄,浸泡过夜,10 倍量水煎煮 3 次,每次 1.5 h,过滤,减压浓缩,得麻黄水煎液;麻黄性味拆分组分的制备:取麻黄 1 kg,按照麻黄的拆分的工艺^[8],获得挥发油组分 0.5 mL,生物碱组分 8.7 g,多糖组分 56.7 g,非生物碱组分 45.0 g。

1.3 试剂 盐酸异丙肾上腺素(ISO,美国 Sigma-Aldrich 公司,批号 BCBC7466V);0.9% 生理盐水(河南科伦药业有限责任公司,批号 H20003438);95% 乙醇(北京化工厂);卡托普利(哈药集团三精制药诺捷有限责任公司,批号 1507491);BCA 蛋白浓度测定试剂盒(北京索莱宝科技有限公司,批号 20150815);肌酸激酶同工酶(CK-MB),醛固酮(ALD)和血管紧张素 II(Ang II)酶联免疫吸附测定(ELISA)检测试剂盒(美国 R&D 公司,批号均为 E20160501A);心脏水通道蛋白 1(AQP1),AQP2,AQP3,白细胞介素-6(IL-6)和肿瘤坏死因子- α

(TNF- α) ELISA 试剂盒(江苏卡尔文生物科技有限公司,批号均为 E20170101A);苏木素,伊红(天津市科密欧化学试剂开发中心,批号分别为 141017,140925)。

1.4 仪器 HFL38 型彩色多普勒超声心诊断仪,13-6MHz 型超声仪系统探头(美国索诺声公司);Mettler Toledo 型电子分析天平(上海梅特勒-托利多仪器有限公司);iMark™型酶标仪(伯乐生命医学产品有限公司);SC-650G 型海尔立式冷藏柜(青岛海尔特种电冰柜有限公司);DHG 型真空干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司);Centrifuge-5804R 型小型高速低温冷冻离心机(德国 Eppendorf 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);LWK500LT 型生物显微镜(北京锦程隆科技有限公司)。

2 方法

2.1 模型的制备 大鼠给予 ISO 腹部皮下注射,第 1 天 20 mg·kg⁻¹,第 2 天 10 mg·kg⁻¹,第 3 天 5 mg·kg⁻¹,从第 4 天开始 3 mg·kg⁻¹,每天 1 次,连续 17 d,观察 2 周,正常组腹部皮下注射等量生理盐水。第 34 天,造模大鼠在洁净工作台上进行气管插管。术后,每天下午 2:00~6:00,将造模大鼠置于温度为 0℃的冰柜中 4 h,连续 7 d^[3]。造模完成后,将造模大鼠随机分为模型组、卡托普利组、麻黄水煎组、多糖组、挥发油组、生物碱组和酚酸组,灌胃给药 4 周后,进行指标检测。模型大鼠脏器湿重/脏器干重(W/D),LPI,CK-MB,肺脏指数和肺脏指数升高,表示上焦水肿,水液代谢失常,不能正常输布运行,表明造模成功。

2.2 给药剂量 麻黄水煎液按前期实验筛选的最佳作用剂量 468 mg·kg⁻¹(生药材)给予实验动物,以此作为参考,其各性味拆分组分的给药剂量按其在生药中含量的同等剂量给予动物。卡托普利组给药剂量为 4.38 mg·kg⁻¹,挥发油给药剂量为 2.34 mg·kg⁻¹,生物碱组分给药剂量为 40.71 mg·kg⁻¹,多糖组分给药剂量为 265.36 mg·kg⁻¹,酚酸组分给药剂量为 210.60 mg·kg⁻¹。灌胃给予实验动物,正常组和模型组给予蒸馏水。

2.3 大鼠一般状态的观察 观察大鼠在造模期间以及给药后的一般情况,包括毛发、活动状况、精神状态,大小便、口唇颜色以及口鼻分泌物等。

2.4 脏器指数的测定 称取大鼠心脏和肺脏的质量,计算脏器指数(脏器湿重/体质量)。

2.5 大鼠肺干湿比的检测 分离大鼠的肺脏,分离右肺,称质量后置 80℃恒温箱中,48 h 后称干重,计算脏器湿重/脏器干重(W/D)。

2.6 肺通透指数的测定^[9] 切开大鼠颈部皮肤,暴露气管,收集灌洗液,分装后置于 -80℃的冰箱中保存。采用 BCA 法蛋白浓度测定试剂盒检测肺泡灌洗液中总蛋白浓度以及血浆总蛋白浓度,求得肺通透指数(LPI) = 肺泡灌洗液中总蛋白浓度/血浆总蛋白浓度。

2.7 大鼠超声心动图检测 各组大鼠灌胃 4 周后超声心动图检测大鼠心功能变化。大鼠腹腔注射 10%水合氯醛麻醉(3 mL·kg⁻¹),动物仰卧位固定于鼠板,在心前区备皮,进行 M 型超声测量,计算得左室射血分数(LVEF)及左心室短轴缩短率(LVFS)^[10]。

2.8 ELISA 测定 CK-MB, Ang II, ALD, AQP1, AQP2, AQP3, IL-6 和 TNF- α 的水平 腹主动脉取血,冷冻高速离心机 3 000 r·min⁻¹离心 10 min,取上清;将大鼠心、肺和肾组织加入适量生理盐水进行匀浆。3 000 r·min⁻¹离心 10 min 后,取上清液,ELISA 法测定 CK-MB, Ang II, ALD, AQP1, AQP2, AQP3, IL-6 和 TNF- α 水平,严格按照试剂盒说明书进行。

2.9 收集大鼠 24 h 尿液 实验前禁食 12 h,末次给药前称定大鼠体质量,将大鼠置于代谢笼中,收集给药后 24 h 尿液,3 000 r·min⁻¹,4℃离心 20 min 得到尿液样本。

2.10 苏木素-伊红(HE)染色观察大鼠心、肺组织形态学变化 取心、肺组织,在 4%的甲醛溶液中固定 24 h,脱水,透明,浸蜡,石蜡包埋,HE 染色,显微镜下观察心、肺组织形态学变化。

2.11 统计学方法 全部数据采用 SPSS 18.0 统计软件进行分析,计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较用单因素方差分析统计处理, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对上焦水饮内停大鼠一般状况的影响 模型组大鼠口鼻有红色分泌物,口唇紫绀,活动量减少,出现掉毛、弓背、腹水现象;气管插管后,呼吸伴有“痰鸣”音。寒冷刺激后大鼠毛发蓬松,双耳发白,“便溏”。灌胃后,大鼠的状态好转,其中生物碱组大鼠状态最佳。

3.2 对上焦水饮内停大鼠心脏指数,CK-MB 水平, LVEF 及 LVFS 的影响 与正常组比较,模型组大鼠的心脏指数,CK-MB 水平显著升高($P < 0.01$),且 LVEF 及 LVFS 显著降低($P < 0.01$);与模型组

比较,各给药组 LVEF 及 LVFS 明显升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 挥发油组、生物碱组和酚酸组大鼠的心脏指数明显降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。见表 1。

表 1 麻黄性味拆分组分对上焦水饮内停大鼠心脏指数, LVEF, LVFS, CK-MB 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 1 Effect of nature and flavor subdivision of Ephedrae Herba on cardiac index, LVEF, LVFS and CK-MB in rats model of harmful fluid retention in upper Jiao ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	心脏指数/g·g ⁻¹	LVEF/%	LVFS/%	CK-MB/U·L ⁻¹
正常	-	0.002 8 ± 0.000 16	77.61 ± 3.46	48.62 ± 5.72	42.65 ± 5.72
模型	-	0.003 4 ± 0.000 26 ²⁾	64.61 ± 3.48 ²⁾	32.44 ± 3.66 ²⁾	55.20 ± 8.92 ²⁾
卡托普利	4.38	0.003 0 ± 0.000 11 ⁴⁾	75.80 ± 3.47 ⁴⁾	44.04 ± 6.14 ⁴⁾	42.11 ± 3.26 ⁴⁾
麻黄水煎液	468	0.002 9 ± 0.000 10 ⁴⁾	75.98 ± 2.34 ⁴⁾	45.11 ± 2.32 ⁴⁾	35.61 ± 6.39 ⁴⁾
多糖	265.36	0.003 2 ± 0.000 32	70.23 ± 4.58 ³⁾	39.44 ± 5.60 ³⁾	38.64 ± 4.45 ⁴⁾
挥发油	2.34	0.003 1 ± 0.000 35 ³⁾	72.12 ± 6.27 ⁴⁾	43.04 ± 6.32 ⁴⁾	43.14 ± 4.89 ³⁾
生物碱	40.71	0.002 9 ± 0.000 18 ⁴⁾	73.99 ± 0.63 ⁴⁾	44.11 ± 1.93 ⁴⁾	28.41 ± 4.60 ⁴⁾
酚酸	210.60	0.003 0 ± 0.000 13 ³⁾	72.83 ± 5.25 ⁴⁾	43.11 ± 4.72 ⁴⁾	5.29 ± 7.41 ⁴⁾

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$;与模型组比较³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$ (表 2~5 同)。

3.3 对上焦水饮内停大鼠肺脏指数, W/D, LPI 的影响 与正常组比较,模型组大鼠的肺脏指数, W/D, LPI 明显升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$);与模型组

比较,各给药组肺脏指数能明显降低,生物碱组和酚酸组的 LPI 明显降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$),生物碱组、挥发油组 W/D 明显降低 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 麻黄性味拆分组分对上焦水饮内停大鼠肺脏指数, LPI, W/D 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 2 Effect of nature and flavor subdivision of Ephedrae Herba on lung index, LPI, W/D in rats model of harmful fluid retention in upper Jiao ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	肺脏指数/g·g ⁻¹	W/D/g·g ⁻¹	LPI
正常	-	0.006 7 ± 0.001 6	7.54 ± 0.38	0.002 8 ± 0.000 28
模型	-	0.012 0 ± 0.001 9 ²⁾	10.92 ± 0.23 ¹⁾	0.005 9 ± 0.000 59 ²⁾
卡托普利	4.38	0.008 3 ± 0.002 0 ⁴⁾	7.41 ± 1.11 ³⁾	0.002 4 ± 0.000 52 ⁴⁾
麻黄水煎液	468	0.006 3 ± 0.000 8 ⁴⁾	6.27 ± 0.03 ³⁾	0.001 6 ± 0.000 75 ⁴⁾
多糖	265.36	0.009 3 ± 0.002 6 ³⁾	8.34 ± 2.31	0.003 7 ± 0.000 55
挥发油	2.34	0.009 6 ± 0.002 4 ³⁾	7.38 ± 0.98 ³⁾	0.004 6 ± 0.001 30
生物碱	40.71	0.008 5 ± 0.001 8 ⁴⁾	7.35 ± 0.84 ³⁾	0.003 0 ± 0.000 71 ⁴⁾
酚酸	210.60	0.008 8 ± 0.002 2 ⁴⁾	7.89 ± 0.56	0.003 9 ± 0.000 39 ³⁾

3.4 对上焦水饮内停大鼠 Ang II, ALD 及 24 h 尿量的影响 与正常组比较,模型组大鼠 Ang II, ALD 水平显著升高 ($P < 0.01$), 24 h 尿量显著降低 ($P < 0.01$);与模型组比较,生物碱组显著降低大鼠 Ang II, ALD 水平 ($P < 0.01$),生物碱组和酚酸组明显升高大鼠 24 h 尿量 ($P < 0.05$)。见表 3。

3.5 对上焦水饮内停大鼠心脏 AQP1, 肺脏 AQP1 和 AQP3 和肾脏 AQP1 和 AQP2 影响 与正常组比较,模型组大鼠心脏 AQP1, 肺脏 AQP1 和 AQP3 和

肾脏 AQP1 和 AQP2 水平无显著差异;与模型组比较,各给药组大鼠心脏 AQP1, 肺脏 AQP1 和 AQP3 和肾脏 AQP1 和 AQP2 水平无显著差异。见表 4。

3.6 对上焦水饮内停大鼠 IL-6 和 TNF- α 水平的影响 与正常组比较,模型组大鼠 IL-6, TNF- α 水平显著升高 ($P < 0.01$);与模型组比较,生物碱组显著降低大鼠 IL-6, TNF- α 水平 ($P < 0.01$)。见表 5。

3.7 对上焦水饮内停大鼠肺、心脏组织病变的影响 肺组织病理学观察,正常组大鼠可见肺组织结构

表 3 麻黄性味拆分组分对上焦水饮内停大鼠 Ang II, ALD 及 24 h 尿量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 3 Effect of nature and flavor subdivision of Ephedrae Herba on Ang II, ALD and 24 h urine volume in rats model of harmful fluid retention in upper Jiao ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	Ang II /ng·L ⁻¹	ALD /ng·L ⁻¹	24 h 尿量 /mL
正常	-	141.18 ± 8.83	133.08 ± 8.41	0.16 ± 0.02
模型	-	192.18 ± 10.28 ²⁾	157.25 ± 5.37 ²⁾	0.06 ± 0.01 ²⁾
卡托普利	4.38	166.06 ± 5.13 ³⁾	133.71 ± 4.65 ³⁾	0.18 ± 0.02 ⁴⁾
麻黄水煎液	468	169.93 ± 4.74 ³⁾	137.04 ± 3.51 ³⁾	0.12 ± 0.03 ³⁾
多糖	265.36	171.37 ± 5.03	149.96 ± 6.72	0.08 ± 0.00
挥发油	2.34	172.34 ± 2.58	149.12 ± 3.69	0.06 ± 0.02
生物碱	40.71	152.78 ± 11.84 ⁴⁾	127.67 ± 8.30 ⁴⁾	0.12 ± 0.01 ³⁾
酚酸	210.60	174.51 ± 5.43	159.96 ± 7.29	0.12 ± 0.03 ³⁾

清晰,肺泡壁结构正常、肺泡大小及形态正常,

表 4 麻黄性味拆分组分对上焦水饮内停大鼠心脏 AQP1, 肺脏 AQP1 和 AQP3 和肾脏 AQP1 和 AQP2 影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 4 Effect of nature and flavor subdivision of Ephedrae Herba on heart AQP1, lung AQP1 and AQP3, and kidney AQP1 and AQP2 in rats model of harmful fluid retention in upper Jiao ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	心 AQP1	肺 AQP1	肺 AQP3	肾 AQP1	肾 AQP2
正常	-	540.13 ± 39.58	644.62 ± 68.67	714.62 ± 23.61	268.21 ± 19.25	412.45 ± 28.48
模型	-	589.49 ± 40.42	626.03 ± 37.67	619.10 ± 68.42	316.43 ± 11.85	440.88 ± 14.13
卡托普利	4.38	479.87 ± 16.06 ³⁾	688.85 ± 60.65	602.53 ± 23.94	292.02 ± 16.22	345.29 ± 10.32 ³⁾
麻黄水煎液	468	619.61 ± 20.12	572.18 ± 36.79	587.72 ± 26.17	350.36 ± 25.40	442.84 ± 12.85
多糖	265.36	598.00 ± 12.38	634.00 ± 39.47	611.21 ± 17.23	310.59 ± 17.54	413.13 ± 9.53
挥发油	2.34	576.00 ± 15.68	656.00 ± 40.28	608.89 ± 24.42	298.96 ± 12.85	423.78 ± 12.49
生物碱	40.71	654.87 ± 17.44	602.31 ± 32.19	586.92 ± 15.74	292.02 ± 44.67	404.11 ± 24.39
酚酸	210.60	621.00 ± 18.39	623.00 ± 29.31	620.43 ± 13.84	325.12 ± 20.41	408.29 ± 17.31

表 5 麻黄性味拆分组分对上焦水饮内停大鼠 IL-6 和 TNF-α 水平影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 5 Effect of nature and flavor subdivision of Ephedrae Herba on IL-6 and TNF-α in rats model of harmful fluid retention in upper Jiao ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	IL-6	TNF-α
正常	-	51.57 ± 2.97	70.25 ± 3.74
模型	-	66.23 ± 5.18 ²⁾	99.13 ± 4.54 ²⁾
卡托普利	4.38	54.53 ± 2.53 ⁴⁾	54.53 ± 2.53 ⁴⁾
麻黄水煎液	468	53.73 ± 3.59 ⁴⁾	82.18 ± 2.35 ⁴⁾
多糖	265.36	64.51 ± 2.35	92.43 ± 2.31
挥发油	2.34	62.38 ± 4.27	62.38 ± 4.27
生物碱	40.71	51.49 ± 4.64 ⁴⁾	95.27 ± 0.98
酚酸	10.60	65.98 ± 1.61	89.35 ± 3.74

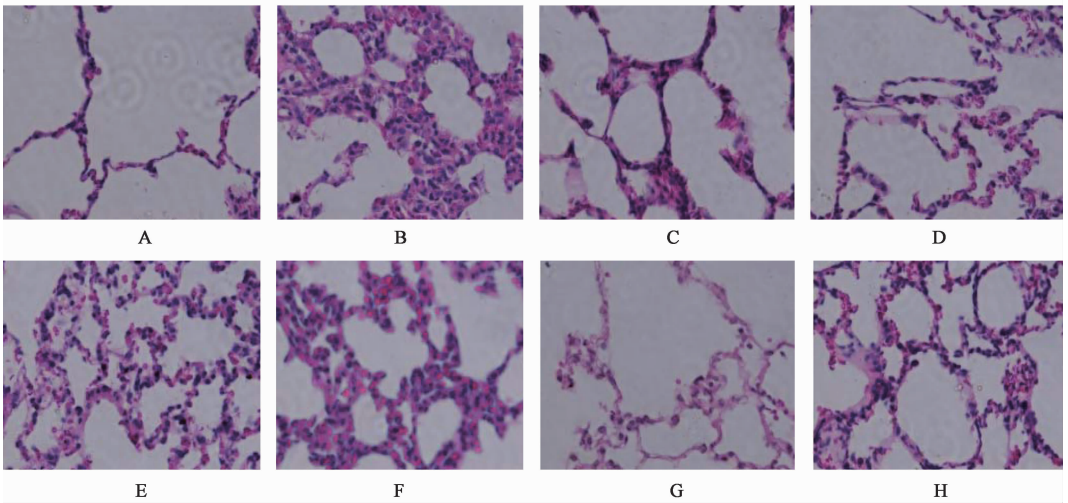
肺间质未见增生,肺泡腔清晰,结构完整,肺间隔均匀;模型组大鼠肺组织结构紊乱,肺泡壁结构异常、肺泡数量少,肺间隔增厚,肺间质水肿;而各组给药后,表现出不同程度的改善,其中生物碱组最为明显。见图 1。心脏组织病理学观察:正常组大鼠可见心肌细胞排列整齐,肌节明暗带清晰;模型组大鼠肌丝排列疏松、紊乱,肌丝明暗带模糊不清,心肌细胞肥厚。而各组给药后,表现出不同程度的改善,其中生物碱组最为明显。见图 2。

4 讨论

本实验采用复合因素(腹部皮下注射 ISO,结合大鼠气管插管和外加寒冷刺激)建立了上焦水饮内停大鼠模型,成功模拟了上焦水液代谢失常的病理过程。ISO 是一种 β 受体激动剂,可激动心肌细胞膜上的 β₁ 受体,加快心率以及加速心肌电信号传导,进一步发展,可导致心肌细胞肥大,诱导产生心肌肥厚^[11],从而使心脏功能发生障碍,造成心气

不足,影响肺的宣降;大鼠进行气管插管^[12]和外加寒冷刺激,使大鼠出现呼吸不利和寒冷伤肺^[13]的现象,造成肺宣降失常,进而使上焦水液代谢紊乱,从而引起上焦水饮内停。

本研究中,通过对大鼠心脏指数, LVEF, LVFS 及 CK-MB 的测定,来评估心脏功能。心脏指数在一定程度上反映大鼠心脏的损伤程度^[14]; LVEF, LVFS 用于评价心衰大鼠心功能状况^[15];血清中 CK-MB 表达的升高,是诊断心肌缺血的重要标志之一^[16]。与正常组比较,模型组大鼠的这 4 个指标出现显著升高,说明模型组大鼠心脏功能受到损伤,而给药组大鼠出现不同程度的改善,其中生物碱组最为明显。而对肺功能评估的指标有肺脏指数, W/D 和 LPI。



A. 正常组;B. 模型组;C. 卡托普利组;D. 麻黄水煎液组;E. 多糖组;F. 挥发油组;G. 生物碱组;H. 非生物碱组(图 2 同)

图 1 麻黄性味拆分组分对上焦水饮内停大鼠肺组织病变的影响(HE, ×400)

Fig.1 Effect of nature and flavor subdivision of Ephedrae Herba on lung pathological changes in each group in rats model of harmful fluid retention in upper Jiao(HE, ×400)

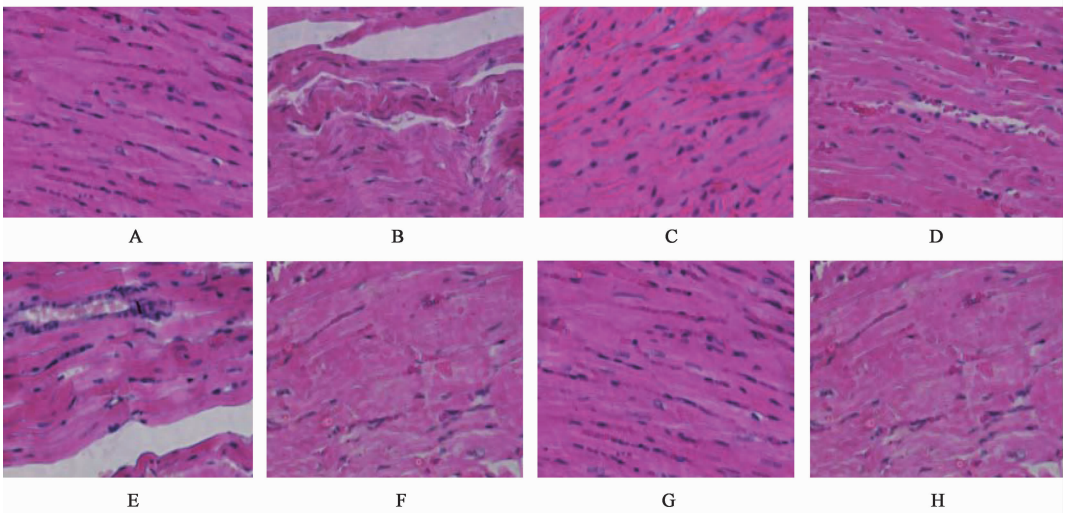


图 2 麻黄性味拆分组分对上焦水饮内停大鼠心脏组织病变的影响(HE, ×400)

Fig.2 Effect of nature and flavor subdivision of Ephedrae Herba on myocardial pathological changes in each group in rats model of harmful fluid retention in upper Jiao(HE, ×400)

肺脏指数一定程度上反映大鼠肺的损伤程度^[14]; LPI 是反应肺微循环功能的重要指标^[17]; W/D 肺干湿比是对肺水肿的严重程度进行评估^[18], 肺水肿导致的肺顺应性降低、肺气交换减弱。与正常组比较, 模型组大鼠的这 3 个指标出现显著升高, 说明模型组大鼠肺功能受到损伤, 而给药组大鼠出现不同程度的改善; 结合心、肺组织病理学观察, 得出生物碱组分是其发挥作用的药效物质基础。

麻黄辛、微苦、温, 归肺、膀胱经, 具有泻肺平喘、利水消肿的功能; 经本课题组前期对麻黄的研究, 发现生物碱组分味辛, 性温, 与麻黄水煎液的药性

相似。麻黄味辛发散, 性温散寒, 能宣肺气、开腠理、透毛窍而发汗解表, 能散寒; 辛散, 温通宣畅, 主入肺经, 外开皮毛之郁闭, 使肺气宣畅, 内降上逆之气, 以复肺司肃降之常, 能平喘; 上宣肺气, 发汗解表, 使肌肤之水湿从毛窍外散, 能通调水道、下输膀胱以下助利尿之力, 能消肺失宣降的水肿。因此麻黄生物碱组分对治疗上焦水饮内停大鼠的治疗作用, 是其“辛”“温”的体现。

此动物模型为上焦水证, 模型组大鼠的 W/D, LPI, CK-MB, 肺脏指数和肺脏指数显著升高, 提示上焦水肿, 水液代谢失常, 不能正常输布运行, 而麻黄

水煎液和生物碱能减轻大鼠上焦水肿,因此笔者从上焦心和肺及肾组织中的水通道蛋白研究麻黄利水消肿功效。但研究中发现麻黄水煎液和生物碱对大鼠心脏 AQP1,肺脏 AQP1 和 AQP3 和肾脏 AQP1 和 AQP2 并无显著影响,推测其发挥功效可能与水通道蛋白无关。

在本研究中,笔者发现模型组大鼠的 IL-6 和 TNF- α 水平显著升高,说明此动物模型可能有炎症反应的参与,而麻黄水煎液和生物碱能极显著降低大鼠 IL-6 和 TNF- α 水平,推测其发挥功效可能与其抗炎作用相关;同时笔者发现,模型组大鼠 24 h 尿量显著降低,Ang II 和 ALD 水平升高,上焦水饮内停模型大鼠的 RAAS 系统可能被激活,而麻黄水煎液组和生物碱组大鼠 24 h 尿量明显增加,Ang II,ALD 水平显著降低,推测其可能通过利尿和对 RAAS 系统的抑制而发挥作用。麻黄归肺、膀胱经,“肺主通调水道,下输膀胱”,麻黄和生物碱组分“辛”“温”,通过宣通肺气,条畅气机,水道通调,具有治疗上焦水肿的功效。并且麻黄生物碱组分是麻黄发挥“利水”“通调水道”功效的物质基础。

综上所述,麻黄生物碱组分是麻黄发挥“利水”“通调水道”功效的物质基础,是其“辛”“温”的体现,其作用可能与其对 RAAS 系统的抑制及其抗炎作用有关。

[参考文献]

[1] 田松,雷晓明. 中医证候动物模型研究现状的思考[J]. 天津中医药,2004,21(3):188-190.

[2] 赵淑平. 浅谈支饮证治[J]. 基层医学论坛,2013,17(13):1734-1735.

[3] 谢伟,季旭明,庞张祥. 上焦水饮内停大鼠模型的建立与评价[J]. 世界中医药结合杂志,2015,10(6):767-770.

[4] 杨继荣,王艳宏,关枫. 麻黄本草考证概览[J]. 中医药学报,2010,38(2):51-52.

[5] 全家羽,赵嵘,代云桃,等. 麻黄标准汤剂质量评价体系的建立[J]. 中国中药杂志,2017,42(5):823-829.

[6] 吴雪荣. 麻黄药理作用研究进展[J]. 中国中医药现

代远程教育,2010,8(5):173.

[7] Lahlo S, Tahraoui A, Israili Z, et al. Diuretic activity of the aqueousextracts of *Carum carvi* and *Tanacetumvulgare* in normal rats [J]. *J Ethnopharmacol*,2007,110(3):458-463.

[8] 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—化学拆分组分的制备及其解热作用的研究[J]. 中医药信息,2011,28(5):7-10.

[9] 胡星星,倪海滨,刘克琴,等. 大承气汤对脓毒症小鼠肺血管通透性影响[J]. 中国中医急症,2016,25(1):89-91.

[10] 郑晓珂,白义萍,张国顺,等. 桑白皮有效部位对心衰大鼠心功能的影响[J]. 中成药,2016,38(6):2093-2098.

[11] 罗时珂,李萍,程晓曙. 异丙肾上腺素诱导慢性心力衰竭大鼠模型的建立[J]. 重庆医学,2012,41(4):352-354.

[12] Bicer Y O, Koybasi S, Suslu A E, et al. Effect of heparin on inflammation; an animal model of tracheal stents [J]. *Laryngoscope*, 2014,124(9):E368-E372.

[13] 宋玉. 形寒寒饮伤肺理论及致病机制的实验研究[D]. 武汉:湖北中医药大学,2014.

[14] 贺显晶,和翀翼,王建发,等. 鱼油对断奶大鼠脏器指数及肠道菌群影响的研究[J]. 中国微生态学杂志,2008,20(6):555-557.

[15] 黄国情,刘虹,舒先红,等. 超声心动图评价粒细胞集落刺激因子动员自身骨髓干细胞对心肌梗死后左心室重构及心功能的影响[J]. 中华超声影像学杂志,2004,13(11):848-852.

[16] 汪云,李欣,张曦,等. 冠心苏合胶囊含药血清对乳鼠心肌细胞氧化损伤的保护作用[J]. 中国药理与临床,2012,28(3):28-30.

[17] 杨明会,张海燕,王文明,等. 益气活血中药对急性肺损伤模型大鼠肺组织微循环的影响[J]. 北京中医药,2011,30(9):704-707.

[18] ZHU T, WANG D X, ZHANG W, et al. (2013) Andrographolide protects against lps-induced acute lung injury by inactivation of NF- κ B[J]. *PLoS One*,2013,8(2): e56407.

[责任编辑 周冰冰]