

不同产地茯苓对肾阳虚下焦水肿大鼠的利水渗湿作用研究

李慧君, 王天合, 尤朋涛, 夏和元, 张丹丹, 韩思捷, 潘翔, 魏琼, 叶晓川 (湖北中医药大学中药资源与中药化学湖北省重点实验室, 湖北 武汉 430065)

摘要: **目的** 探讨不同产地茯苓对肾阳虚下焦水肿大鼠的利水渗湿作用。**方法** 采用盐酸多柔比星与氢化可的松联合注射的方法建立肾阳虚下焦水肿大鼠模型。将 96 只造模成功大鼠随机分为模型组、阳性药组(金匱肾气丸, $2.1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)、10 批次不同产地茯苓水煎液组(S1~S10, $7.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$), 另取 8 只正常大鼠作为正常组, 连续灌胃给药 21 d。观察记录大鼠的证候学表现及体质量变化; 采用代谢笼测定大鼠 24 h 尿量; 采用生化试剂盒测定 24 h 尿蛋白(UP)及血清白蛋白(ALB)、总蛋白(TP)水平; 采用 ELISA 法测定血清中抗利尿激素(ADH)水平及肾髓质中水通道蛋白 1(AQP1)、水通道蛋白 2(AQP2)水平; 采用层次分析法确定各单一指标对总药效的权重, 以总药效对不同产地茯苓进行聚类分析。**结果** 与正常组比较, 模型组大鼠的体质量、24 h 尿量、血清白蛋白及总蛋白水平明显降低, 24 h 尿蛋白、ADH 及 AQP1、AQP2 水平明显升高, 差异均有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$)。与模型组比较, 10 批次不同产地茯苓可明显上调大鼠体质量(S1、S2、S4~S10)、24 h 尿量(S1~S10)、血清白蛋白(S1、S2、S4~S10)、总蛋白(S1、S4~S6、S8、S9)水平, 明显下调 24 h 尿蛋白(S1~S10)、ADH(S1~S10)、AQP1(S1~S10)、AQP2(S1~S9)水平, 差异均有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$)。聚类分析结果显示, 10 批次不同产地茯苓被聚为 3 大类, S2、S4 为一类, S3、S6、S7 和 S8 为一类, S1、S5、S9、S10 为一类。总药效的强弱排序为: 阳性药(金匱肾气丸) > 湖北罗田(S2)、云南楚雄(S4) > 湖北恩施(S3)、福建南平(S6)、河南商城(S7)、湖南怀化(S8) > 湖北英山(S1)、云南大理(S5)、安徽岳西(S9)、云南丽江(S10)。**结论** 不同产地茯苓对肾阳虚下焦水肿大鼠均可产生利水渗湿作用, 可能与其调节 AQP1 及 ADH-AQP2 相关通路有关, 且其作用强弱存在产地差异。

关键词: 茯苓; 肾阳虚; 下焦水肿; 利水渗湿; 大鼠; 层次分析法; 聚类分析法

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2021)05-0632-07

doi: 10.19378/j.issn.1003-9783.2021.05.006

Clearing Damp and Promoting Diuresis Effect of *Poria cocos* from Different Origins on Lower Energizer Edema of Rat with Kidney-*yang* Deficiency

LI Huijun, WANG Tianhe, YOU Pengtao, XIA Heyuan, ZHANG Dandan, HAN Sijie, PAN Xiang, WEI Qiong, YE Xiaochuan (Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Resources and Chemistry of Traditional Chinese Medicine in Hubei Province, College of Pharmacy, Hubei University of Traditional Chinese Medicine, Wuhan 430065 Hubei, China)

Abstract: **Objective** To explore the eliminating dampness through diuresis effect of *Poria cocos* from different origins on the lower energizer edema of rat with kidney-*yang* deficiency. **Methods** Hydrocortisone combined with doxorubicin hydrochloride were used to establish kidney-*yang* deficiency and edema model. The general condition and body weight changes during the replication of the rat models were observed, and the 24-hour urine protein (UP) was detected. 96 successfully modeled rats were randomly divided into model group and positive drug group (*Jingui Kidney Qi* pills, $2.1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$), 10 batches of *Poria cocos* decoction groups from different origins ($7.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$), 8 normal rats were taken as the normal group. Rats were gavaged continuously for 21 days. Rats'

收稿日期: 2020-07-27

作者简介: 李慧君, 女, 硕士研究生, 研究方向: 中药及其制剂的物质基础研究。Email: 157967500@qq.com。通信作者: 叶晓川, 女, 博士, 教授, 研究方向: 中药及其制剂的物质基础研究。Email: yxxc1965@163.com。

基金项目: 国家重点研发计划项目(2017YFC1703004); 湖北省技术创新专项(重大项目, 2019ACA121)。

body mass was measured; metabolic cage was used to measure 24-hour urine output; biochemical kit was used to measure 24-hour urine protein (UP), the albumin (ALB), total protein (TP) in serum; and ELISA method was applied to measure levels of antidiuretic hormone (ADH), Aquaporin 1 (AQP1), Aquaporin 2 (AQP2). Analytic hierarchy process was used to determine the weight of each single index to the total efficacy, and the total efficacy was used for clustering analysis of *Poria cocos* from different producing areas. **Results** Compared with the normal group, the body weight, 24-hour urine output, serum ALB and TP contents of the model group rats were significantly reduced, and the 24-hour UP content, ADH, AQP1, AQP2 contents were significantly increased, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Compared with the model group, 10 batches of *Poria cocos* from different regions could increase body weight (S1, S2, S4-S10), 24-h urine volume (S1-S10), ALB (S1, S2, S4-S10), TP (S1, S4-S6, S8, S9), and down regulate 24-h UP (S1-S10), which could improve the water and dampness retention state of kidney-*yang* deficiency and edema rats by down regulating ADH (S1-S10), AQP1 (S1-S10) and AQP2 (S1-S9), all with significant differences ($P < 0.05$, $P < 0.01$). The results of clustering analysis showed that 10 batches of *Poria cocos* were clustered into three groups, which showed that, Hubei Luotian (S2) and Yunnan Chuxiong (S4) were clustered into one group, Hubei Yingshan (S1), Yunnan Dali (S5), Anhui Yuexi (S9) and Yunnan Lijiang (S10) were all genuine producing areas of *Poria cocos*. *Poria cocos* produced in Hubei Luotian (S2) and Yunnan Chuxiong (S4) had better eliminating dampness through diuresis effect than other producing areas, but worse than that of *Jingui Kidney Qi* pills; *Poria cocos* from the other producing areas (S3, S6, S7, S8) were clustered into one category, and the efficacy was between the two kinds of genuine *Poria cocos*. Rank of total efficacy by strength were *Jingui Kidney Qi* pills > Hubei Luotian (S2), Yunnan Chuxiong (S4) > Hubei Enshi (S3), Fujian Nanping (S6), Henan Shangcheng (S7), Hunan Huaihua (S8) > Hubei Yingshan (S1), Yunnan Dali (S5), Anhui Yuexi (S9), Yunnan Lijiang (S10). **Conclusion** *Poria cocos* has the effect of clearing damp and promoting diuresis in the lower energizer edema of rat with kidney-*yang* deficiency, and the strength of its effect varies from place of origin. The mechanisms may relate to regulating AQP1 and the pathways involving ADH-AQP2.

Keywords: *Poria cocos*; kidney-*yang* deficiency; lower energizer edema; clearing damp and promoting diuresis effect; rats; analytic hierarchy process; cluster analysis

肾阳虚下焦水肿是指肾阳不足,不能蒸腾气化,水湿泛滥肌肤,故身体浮肿,肾居下焦,阳虚气化不行,水湿趋下,故腰以下肿甚。肾阳虚下焦水肿是肾病较为常见的症状,可使水气犯脾,脾失健运;水气凌心,抑遏心阳;水寒射肺,肺失宣降。中药茯苓为多孔菌科真菌茯苓 *Poria cocos* (Schw.) Wolf 的干燥菌核,主产于湖北、云南、安徽、福建等地^[1],具有利水渗湿、健脾、宁心等功效,临床上用于治疗小便不利、水肿胀满、痰饮咳逆、惊悸、健忘等症。利水渗湿是茯苓的主要传统功效之一,其可利上、中、下三焦之水,临床上常配伍其他中药使用。研究表明,茯苓可改善大鼠上焦水饮内停^[2]及中焦脾虚水湿内停状态^[3],但茯苓对肾阳虚下焦水肿的作用尚未见报道。为全面探讨茯苓的利水渗湿作用,本研究拟采用“盐酸多柔比星+氢化可的松”联合注射的方法建立肾阳虚下焦水肿大鼠模型,通过

观察证候学表现,并以大鼠体质量、尿量、24 h 尿蛋白(UP)、血清白蛋白(ALB)、血清总蛋白(TP)、抗利尿激素(ADH)、水通道蛋白1(AQP1)、水通道蛋白2(AQP2)为评价指标,探讨10批次不同产地茯苓的利水渗湿作用,以期为茯苓的临床应用及开发利用提供实验依据。

1 药效学实验

1.1 材料与方法

1.1.1 动物 雄性SD大鼠,SPF级,体质量为200~220 g,购于湖北省实验动物研究中心,动物生产许可证号:SCXK(鄂)2015-0018,动物质量合格证号:42000600033192。

1.1.2 药物及试剂 湖北英山(S1)、湖北罗田(S2)、湖北恩施(S3)、云南楚雄(S4)、云南大理(S5)、河南商城(S7)、安徽岳西(S9)、云南丽江(S10)共8批

次不同产地茯苓，均为产地采收，去皮后切片、晾干；福建南平(S6)、湖南怀化(S8)2批次茯苓为当地市售饮片。上述10批次不同产地茯苓均经湖北中医药大学叶晓川教授鉴定为多孔菌科真菌茯苓 *Poria cocos* (Schw.) Wolf 的菌核。所有茯苓样品粉碎后，于50℃条件下恒温干燥48h，备用。茯苓水煎液制备：分别称取不同产地茯苓干燥粉末750g，用10倍量水浸泡过夜，回流提取2次(2h、1h)，滤过，合并2次滤液，浓缩至一定体积，冷却至室温，于1L容量瓶中定容，得相当于生药量0.75g·mL⁻¹的茯苓水煎液。

金匮肾气丸，北京同仁堂科技发展股份有限公司制药厂，批号：18030645；注射用盐酸多柔比星，深圳万乐药业有限公司，批号：1809E2；氢化可的松注射液，华中药业股份有限公司，批号：20180214。UP(批号：20190404)、ALB(批号：20190517)及TP(批号：20190419)定量试剂盒，均购自南京建成生物工程研究所；AQP1、AQP2及ADH酶联免疫分析试剂盒(批号：201906)，均购自上海抚生实业有限公司。

1.1.3 主要仪器 Spark 10M型酶标仪，瑞士TECAN公司；UV-1800型紫外可见分光光度计，日本岛津公司；5810R型高速冷冻离心机，德国Eppendorf公司；BSA423S型千分之一电子天平，赛多利斯科学仪器(北京)有限公司；10L ZNHW智能恒温电热套，天津工业实验室仪器有限公司。

1.1.4 肾阳虚下焦水肿大鼠模型复制^[4] 大鼠适应性喂养3d后开始模型复制，于第1天(4mg·kg⁻¹)和第8天(3.5mg·kg⁻¹)尾静脉注射盐酸多柔比星；同时，每日腹腔注射3.75mg·kg⁻¹氢化可的松，连续注射14d。模型复制结束后，与正常组大鼠比较，造模组大鼠毛色无光泽，大便溏泄，精神萎靡，畏寒喜暖，自主活动减少；造模组大鼠24h尿蛋白含量为(74.04±16.98)mg(n=96)，与正常组[(10.59±3.86)mg, n=8]比较，差异具有统计学意义(P<0.01)，提示模型复制成功。

1.1.5 分组及给药 选取模型复制成功的大鼠96只，按照体质量随机分为模型组、阳性药(金匮肾气丸，2.1g·kg⁻¹，相当于临床等效剂量的2倍)组及10个不同产地茯苓水煎液组(S1~S10组，7.5g·kg⁻¹)，每组8只。灌胃给药，每日1次，连续21d，正常组及模型组给予等量蒸馏水灌胃。

1.1.6 大鼠证候学观察 于模型复制开始前及模型复制过程中动态观察大鼠的精神状态、毛色、进食量

等情况的变化，并于末次给药当天进行大鼠体质量检测。

1.1.7 尿液相关指标检测 将大鼠置于代谢笼24h，量取尿量后，吸取尿液2mL，以3500r·min⁻¹离心10min(离心半径=8cm)，吸取上清液；依照试剂盒说明书检测24h尿蛋白。

1.1.8 血清相关指标检测 末次给药后禁食不禁水12h，以10%水合氯醛麻醉大鼠，腹主动脉取血，以3000r·min⁻¹离心15min(离心半径=8cm)，取上清液；依照试剂盒说明书测定血清白蛋白、总蛋白及ADH的水平。

1.1.9 肾髓质相关指标检测 给药结束后，迅速摘除大鼠双肾，剥离肾髓质，按照1:9加入PBS，制备组织匀浆；以3000r·min⁻¹离心20min(离心半径=8cm)，吸取上清液，于-20℃保存；按照试剂盒说明书操作步骤测定肾髓质中AQP1、AQP2水平。

1.1.10 统计学处理方法 采用SPSS 22.0统计软件进行数据分析，计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示；多组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA)，两两比较用*t*检验；以P<0.05为差异具有统计学意义。

1.2 结果

1.2.1 不同产地茯苓对肾阳虚下焦水肿大鼠证候学的影响 结果见表1。正常组大鼠体毛柔顺、有光泽，行动灵活，二便正常，饮食正常。模型组大鼠体毛枯萎，抱团少动，便溏，较正常组明显消瘦，体质

表1 不同产地茯苓对肾阳虚下焦水肿大鼠体质量的影响($\bar{x} \pm s$, n=8)

Table 1 Effect of *Poria cocos* from different origins on body weight of rats with kidney-*yang* deficiency and edema ($\bar{x} \pm s$, n=8)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	体质量/g
正常组	-	360.00 ± 21.83
模型组	-	203.00 ± 8.51**
阳性药组	2.1	256.50 ± 39.03 [#]
S1	7.5	242.20 ± 21.65 [#]
S2	7.5	254.00 ± 19.87 ^{##}
S3	7.5	231.25 ± 36.33
S4	7.5	272.00 ± 3.94 ^{##}
S5	7.5	254.38 ± 25.03 ^{##}
S6	7.5	252.25 ± 27.41 ^{##}
S7	7.5	270.57 ± 31.45 ^{##}
S8	7.5	270.71 ± 45.13 [#]
S9	7.5	230.86 ± 20.12 [#]
S10	7.5	257.14 ± 40.04 [#]

注：与正常组比较，**P<0.01；与模型组比较，[#]P<0.05，^{##}P<0.01

量明显降低($P < 0.01$)。与模型组比较, 给药组大鼠的一般症状均有明显改善; 除 S3 组外, 大鼠体质量明显增加, 差异均有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$)。结果表明, 茯苓可改善肾阳虚下焦水肿大鼠的一般证候学表现。

1.2.2 不同产地茯苓对肾阳虚下焦水肿大鼠 24 h 尿量、尿蛋白的影响 结果见表 2。与正常组比较, 模型组大鼠 24 h 尿量(尿量/体质量)明显减少, 24 h 尿蛋白显著升高, 差异均有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$)。与模型组比较, 各给药组大鼠的 24 h 尿量均明显增加, 24 h 尿蛋白明显降低, 差异均有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$)。结果表明, 不同产地茯苓均可降低肾阳虚下焦水肿大鼠的尿蛋白流失, 并具有利尿作用。

表 2 不同产地茯苓对肾阳虚下焦水肿大鼠 24 h 尿量、尿蛋白的影响($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Table 2 Effect of *Poria cocos* from different origins on 24 h urine volume and UP in rats with kidney-*yang* deficiency edema ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	24 h 尿量/(mL·kg ⁻¹)	24 h 尿蛋白/mg
正常组	-	51.17 ± 17.00	13.62 ± 3.40
模型组	-	19.22 ± 9.49*	78.61 ± 18.47**
阳性药组	2.1	56.40 ± 23.76 [#]	28.60 ± 11.60 ^{##}
S1	7.5	57.00 ± 20.09 [#]	41.03 ± 14.37 ^{##}
S2	7.5	46.20 ± 17.28 [#]	32.95 ± 14.93 ^{##}
S3	7.5	44.54 ± 5.00 ^{##}	30.38 ± 7.97 ^{##}
S4	7.5	45.18 ± 17.79 [#]	32.16 ± 12.07 ^{##}
S5	7.5	42.72 ± 15.03 [#]	39.64 ± 4.02 ^{##}
S6	7.5	52.21 ± 23.89 [#]	37.62 ± 19.14 [#]
S7	7.5	47.72 ± 19.43 [#]	50.90 ± 12.79 [#]
S8	7.5	52.53 ± 17.96 [#]	33.10 ± 7.46 ^{##}
S9	7.5	58.51 ± 12.57 ^{##}	52.48 ± 8.09 [#]
S10	7.5	48.73 ± 16.63 [#]	42.78 ± 10.23 ^{##}

注: 与正常组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$

1.2.3 不同产地茯苓对肾阳虚下焦水肿大鼠血清总蛋白、白蛋白、ADH 水平的影响 结果见表 3。与正常组比较, 模型组大鼠的血清总蛋白、白蛋白水平明显降低, ADH 水平明显升高, 差异均有统计学意义($P < 0.01$)。与模型组比较, S1、S4、S5、S6、S8、S9 组大鼠的血清总蛋白水平明显升高, 差异均有统计学意义($P < 0.05$); 除 S3 组外, 其余各给药组大鼠的血清白蛋白水平明显升高, 差异具有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$); 各给药组大鼠的血清 ADH 水平明显降低, 差异均有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$)。结果表明, 茯苓可通过调节血清总蛋白、

白蛋白的水平来调节胶体渗透压从而改善机体水液代谢障碍, 并可能通过抑制 ADH 的分泌产生利尿作用。

表 3 不同产地茯苓对肾阳虚下焦水肿大鼠血清总蛋白、白蛋白、ADH 水平的影响($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Table 3 Effect of *Poria cocos* from different origins on TP, ALB, and ADH in rats with kidney-*yang* deficiency edema ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	总蛋白/(mg·mL ⁻¹)	白蛋白/(mg·mL ⁻¹)	ADH/(ng·mL ⁻¹)
正常组	-	63.43 ± 2.28	35.37 ± 2.49	16.01 ± 0.65
模型组	-	45.36 ± 6.49**	17.54 ± 4.62**	19.05 ± 0.43**
阳性药组	2.1	56.54 ± 5.08 [#]	27.59 ± 6.19 ^{##}	15.07 ± 1.09 ^{##}
S1	7.5	54.73 ± 3.53 [#]	25.78 ± 6.61 [#]	16.50 ± 2.05 [#]
S2	7.5	52.02 ± 2.12	24.36 ± 2.69 [#]	15.02 ± 1.33 ^{##}
S3	7.5	51.75 ± 5.86	21.54 ± 1.16	14.60 ± 1.17 ^{##}
S4	7.5	55.01 ± 1.66 [#]	26.65 ± 4.86 ^{##}	15.96 ± 1.60 ^{##}
S5	7.5	55.25 ± 2.04 [#]	23.78 ± 2.41 [#]	15.78 ± 1.39 ^{##}
S6	7.5	55.12 ± 2.25 [#]	23.15 ± 1.90 [#]	15.23 ± 0.46 ^{##}
S7	7.5	51.13 ± 2.39	26.08 ± 4.05 [#]	15.40 ± 0.62 ^{##}
S8	7.5	53.34 ± 2.07 [#]	23.88 ± 1.98 [#]	14.79 ± 1.23 ^{##}
S9	7.5	55.70 ± 4.42 [#]	23.30 ± 1.73 [#]	15.80 ± 1.06 ^{##}
S10	7.5	52.63 ± 4.47	24.66 ± 3.91 [#]	15.59 ± 1.59 ^{##}

注: 与正常组比较, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$

1.2.4 不同产地茯苓对肾阳虚下焦水肿大鼠 AQP1、AQP2 水平的影响 结果见表 4。与正常组比较, 模型组大鼠肾髓质中的 AQP1、AQP2 水平明显升高,

表 4 不同产地茯苓对肾阳虚下焦水肿大鼠 AQP1、AQP2 水平的影响($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Table 4 Effect of *Poria cocos* from different origins on AQP1 and AQP2 in rats with kidney-*yang* deficiency edema($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	AQP1/(ng·mg ⁻¹)	AQP2/(pg·mg ⁻¹)
正常组	-	120.19 ± 13.13	80.10 ± 12.78
模型组	-	187.51 ± 12.80**	98.54 ± 11.41*
阳性药组	2.1	91.32 ± 8.90 ^{##}	77.03 ± 3.01 ^{##}
S1	7.5	114.18 ± 11.24 ^{##}	77.10 ± 11.18 [#]
S2	7.5	110.24 ± 10.14 ^{##}	74.78 ± 12.01 ^{##}
S3	7.5	120.19 ± 13.55 ^{##}	75.67 ± 9.45 ^{##}
S4	7.5	118.26 ± 6.58 ^{##}	72.28 ± 11.01 ^{##}
S5	7.5	146.12 ± 11.42 ^{##}	75.09 ± 11.82 ^{##}
S6	7.5	123.83 ± 15.69 ^{##}	78.10 ± 6.69 ^{##}
S7	7.5	127.80 ± 11.20 ^{##}	74.64 ± 12.04 ^{##}
S8	7.5	134.87 ± 8.07 ^{##}	80.36 ± 4.53 ^{##}
S9	7.5	130.55 ± 7.27 ^{##}	75.77 ± 11.05 ^{##}
S10	7.5	106.40 ± 22.57 ^{##}	85.73 ± 8.51

注: 与正常组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$

差异均有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$)。与模型组比较,各给药组大鼠肾髓质中 AQP1 水平明显降低,差异有统计学意义($P < 0.01$);除 S10 组外,其他各给药组大鼠肾髓质中 AQP2 水平明显降低,差异有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$)。结果表明,调节机体肾髓质水通道蛋白水平可能是茯苓发挥利尿渗湿作用的途径之一。

2 不同产地茯苓的总药效评价

单一药效指标无法客观评价茯苓的总药效。本研究拟构建不同产地茯苓药效评价指标体系,采用层次分析法确定权重系数,最后根据权重系数得出综合得分顺序^[5],结合聚类分析法评价不同产地茯苓的总药效。

2.1 总药效计算 层次分析法是一种定性定量相结合的决策方法,主要用于解决多目标的复杂问题的决策分析。其以决策者的经验来判断各衡量目标能否实现的标准之间的相对重要程度,并合理地给出每个决策方案的各标准的权数,利用权数求出各方案的优劣次序。层次分析法有 4 种求权重的计算方法,包括几何平均法、算术平均法、特征向量法、最小二乘法^[6]。各方法计算出的权重系数相差不大,本研究采用几何平均法求权重。

2.1.1 建立评价目标树 对总药效的评价可以通过各单一指标来反映,评价目标树见图 1。

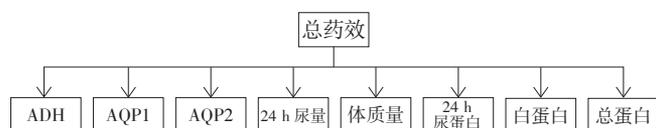


图 1 不同产地茯苓总药效评价目标树图

Figure 1 Target tree of the total efficacy analysis on *Poria cocos* from different producing areas

2.1.2 构建两两比较优先矩阵 根据各单药药效学指标的重要度,比对目标树评分表(见表 5),得到目标成对比较判断优先矩阵(见表 6)。

表 5 目标树图各层次评分表(通用)

Table 5 Score table for each level of target tree (general)

对比打分/分	相对重要程度	说明
1	同等重要	两者对目标的贡献相同
3	略为重要	根据经验一个比另一个评价稍有利
5	基本重要	根据经验一个比另一个评价更为有利
7	确实重要	一个比另一个评价更有利且在实践中得到证明
9	绝对重要	重要程度非常明显
2、4、6、8		两相邻程度的中间值需要折衷时采用

表 6 目标成对比较判断优先矩阵

Table 6 Priority matrix for pairwise comparison of targets

编号	目标	ADH	AQP1	AQP2	24 h 尿量	体质量	24 h 尿蛋白	白蛋白	总蛋白
W1	ADH	1	1	1	2	2	8	8	8
W2	AQP1	1	1	1	2	2	8	8	8
W3	AQP2	1	1	1	2	2	8	8	8
W4	24 h 尿量	1/2	1/2	1/2	1	1	5	5	5
W5	体质量	1/2	1/2	1/2	1	1	5	5	5
W6	24 h 尿蛋白	1/8	1/8	1/8	1/5	1/5	1	1	1
W7	白蛋白	1/8	1/8	1/8	1/5	1/5	1	1	1
W8	总蛋白	1/8	1/8	1/8	1/5	1/5	1	1	1

2.1.3 各指标成分权重系数计算 初始权重系数计算:

$W'_i = \sqrt[8]{a_{i1}a_{i2}a_{i3}a_{i4}a_{i5}a_{i6}a_{i7}a_{i8}}$, $i=8$; 归一化权重系数计算: $W_i = W'_i / \sum_{i=1}^8 W'_i$, $i=8$; 各指标归一化权重系数结果见表 7。

表 7 归一化权重系数结果

Table 7 Normalized weight coefficient results

编号	权重系数	编号	权重系数
W1	0.225 1	W5	0.122 4
W2	0.225 1	W6	0.026 6
W3	0.225 1	W7	0.026 6
W4	0.122 4	W8	0.026 6

2.1.4 一致性检验 定义 $CR=CI/RI$ 作为衡量所得权重系数是否合理的指标, CR 为随机一致性比率。 CI 为一致性指标, $CI=(\lambda_{max}-n)/(n-1)$, n 为目标层的目标数, 本研究中 $n=8$; 最大特征根 $\lambda_{max}=1/n \sum_{i=1}^n [\sum_{j=1}^n (a_{ij} \times W_j) \div W_i] = 8.014 011 332$, $CI=0.002 0$ 。 RI 为随机一致性指标(见表 8), 通过查表 8 计算得 $CR=0.001 42 < 0.1$ 。 结果表明, 8 项指标优先比较矩阵满足一致性要求, 故所得权重系数有效, 结果具有准确性。

表 8 平均随机一致性指标 RI 表

Table 8 Average random consistency index RI table

矩阵阶数	RI	矩阵阶数	RI
1	0.00	5	1.12
2	0.00	6	1.24
3	0.58	7	1.32
4	0.90	8	1.41

2.1.5 不同产地茯苓的总药效结果 不同产地茯苓水煎液

的各单药效指标改变率(C)见表 9。计算不同产地茯苓总药效(Total efficacy, TE): $TE_s = \sum_{i=1}^n W_i C_i$, n 为目标层的目标数, 本研究中 $n=8$, C 为目标层各目标的改变率; 由权重系数得到总药效计算结果, 见表 10。

表 9 不同产地茯苓的单药效指标改变率

Table 9 Change rates of single efficacy index of *Poria cocos* from different habitats

组别	降低率			升高率				
	ADH	AQP1	AQP2	24 h 尿蛋白	24 h 尿量	体质量	白蛋白	总蛋白
阳性药组	1.11	1.39	1.02	1.18	1.22	1.02	1.36	1.28
S1	0.71	1.06	1.01	0.89	1.24	0.74	1.12	1.08
S2	1.12	1.12	1.12	1.08	0.88	0.97	0.92	0.76
S3	1.24	0.97	1.08	1.14	0.83	0.54	0.54	0.73
S4	0.86	1.00	1.24	1.10	0.85	1.31	1.23	1.11
S5	0.91	0.60	1.11	0.92	0.77	0.98	0.85	1.14
S6	1.06	0.92	0.97	0.97	1.08	0.93	0.76	1.12
S7	1.02	0.86	1.13	0.65	0.93	1.28	1.16	0.66
S8	1.19	0.76	0.86	1.07	1.09	1.29	0.86	0.92
S9	0.90	0.82	1.08	0.62	1.28	0.53	0.78	1.19
S10	0.96	1.17	0.61	0.85	0.96	1.03	0.96	0.83

表 10 不同产地茯苓的总药效结果

Table 10 Total efficacy results of *Poria cocos* from different habitats

组别	总药效(TE)	组别	总药效(TE)
阳性药组	1.17	S6	0.99
S1	0.95	S7	1.01
S2	1.06	S8	1.00
S3	0.97	S9	0.92
S4	1.05	S10	0.93
S5	0.88		

2.2 不同产地茯苓总药效排序 由上述层次分析得到 10 批次不同产地茯苓及阳性药的总药效数据，采用 SPSS 22.0 统计软件，聚类统计量采用欧式距离 (Euclidean distance) 进行聚类分析，结果见图 2。由图 2 可知，当 d=10 时，10 批次不同产地茯苓和阳性药的总药效可聚为 4 类，其中阳性药为一类，S2 和 S4 为一类，S3、S6、S7 和 S8 为一类，S1、S5、S9、S10 为一类。

综合总药效计算结果和聚类分析结果，得出 10 批次不同产地茯苓及阳性药总药效的强弱排序为：阳性药(金匱肾气丸) > 湖北罗田(S2)、云南楚雄(S4) > 湖北恩施(S3)、福建南平(S6)、河南商城(S7)、湖南怀化(S8) > 湖北英山(S1)、云南大理(S5)、安徽岳西(S9)、云南丽江(S10)。

3 讨论

《本草纲目》记载：“茯苓气味淡而渗，其性上行，生津液，开腠理，滋水源而下降，利小便”，中医易水学派创始人张元素谓其属阳，浮而升。国医

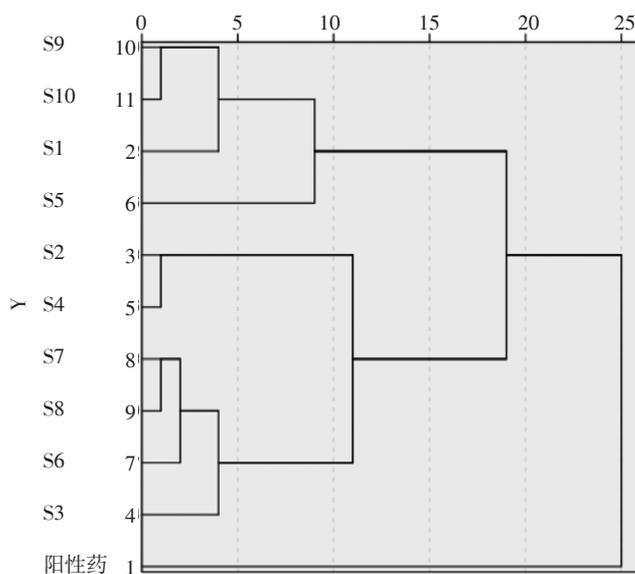


图 2 不同产地茯苓总药效聚类分析

Figure 2 Cluster analysis of the total efficacy analysis on *Poria cocos* from different producing areas

大师张志远认为茯苓既浮而升，又降而下，应属阳中之阴，故临床凡阴盛体质，气阳两虚，气化无力，易出现心悸气短、小便不利、颜面四肢浮肿、手足发凉，按压呈凹陷者皆可以茯苓治之，常见于水液代谢障碍、营养不良、蛋白缺乏、肾炎、心力衰竭、肝硬化腹水，中医谓之虚型水肿^[7]。故本研究针对茯苓“降而下”的特性，基于肾阳虚下焦水肿大鼠模型探讨了不同产地茯苓的利尿渗湿作用。

肾脏是机体排出水分的主要器官，肾脏疾病会导致水分不能正常排出体外，滞留在体内。盐酸多柔比星即阿霉素，是一种广谱、强效的抗肿瘤抗生素。Bertani 等^[8]首次提出用阿霉素复制的动物肾损伤模型能有效模拟人肾小球疾病的病理改变。阿霉素及其代谢产物能够直接损伤肾小球上皮细胞，促使羟基自由基、超氧阴离子等自由基大量形成，自由基与脂类快速反应，导致膜脂质过氧化，破坏肾小球滤过膜的分子屏障和电荷屏障，主要表现为大量蛋白尿、尿量减少、水肿及低蛋白血症^[9-10]。阿霉素还具有很强的心脏毒性，在造成肾源性水肿的同时亦会引起心源性水肿^[11]。为尽量准确地复制肾阳虚下焦水肿模型，本研究在尾静脉注射盐酸多柔比星的同时，又连续腹腔注射氢化可的松，以抑制下丘脑-垂体-肾上腺皮质轴，使动物出现阳虚状态，同时引起肾细胞代谢紊乱，进一步加重机体肾水肿。本研究结果表明，各给药组大鼠 24 h 尿蛋白(UP)水平出现不同程度的降低，血清白蛋白(ALB)、总蛋白(TP)

水平出现不同程度地升高,说明茯苓能够通过改善体内蛋白异常所致胶体渗透压改变的水肿状态。

水通道蛋白 1(AQP1)和水通道蛋白 2(AQP2)是体内重要的水通道蛋白,广泛分布于肾脏组织中^[12]。AQP1 位于肾脏近曲小管及亨利祥降支的顶质膜与侧膜上,主要参与原尿中约 75% 的水分重吸收^[13]。水分子通过 AQP1 主要由渗透压的方向决定,肾髓质 AQP1 升高可导致大鼠出现尿液浓缩功能增强,表现为少尿^[14]。AQP2 在肾小管和集合管的主细胞中表达,其在顶膜的表达受抗利尿激素(ADH)调控,ADH 是体内参与尿液浓缩和稀释的关键激素。在肾脏组织中,ADH 与远曲小管和集合管上皮细胞管周膜上的血管加压素受体 2 结合后,激活 cAMP-PKA 途径,使 AQP2 磷酸化,活性增加,从而促进肾脏远曲小管和集合管对水的重吸收,即产生抗利尿作用^[15-16]。本研究结果表明,各给药组大鼠肾髓质中的 AQP1、AQP2 水平呈不同程度的降低,血清 ADH 水平亦显著降低,说明茯苓可能通过调节 AQP1 及 ADH-AQP2 相关通路来实现其利尿渗湿作用。

有研究^[17-18]报道,不同产地茯苓中的主要活性成分多糖和三萜含量存在较大差异。而药材内在成分的质和量存在差异,可能导致其临床疗效不一致。相关研究^[18-19]从化学成分含量及多糖抗氧化等方面探讨了不同产地茯苓的品质,但从传统功效角度来评价不同产地茯苓则尚未见报道。故本研究在得到茯苓对肾阳虚下焦水肿大鼠可产生利尿渗湿作用的同时,联合使用层次分析和聚类分析法,以定性定量相结合的方式评价了不同产地茯苓的总药效。由总药效聚类结果可知,湖北英山(S1)、云南大理(S5)、安徽岳西(S9)、云南丽江(S10)聚为一类,湖北罗田(S2)、云南楚雄(S4)聚为一类,此 3 省 6 产地均为茯苓的道地产区;同时,湖北罗田(S2)、云南楚雄(S4)的茯苓总药效相对较优。然而,不同产地茯苓水煎液的总药效均低于阳性中药金匱肾气丸,体现了中药复方的配伍优势及中药“多成分、多靶点”的治疗优势,也进一步反映了茯苓在临床上多配伍使用的用药规律。本研究中的 10 批次不同产地茯苓对肾阳虚下焦水肿大鼠的利尿渗湿作用强弱不一,提示在临床上选用药材时应结合此特点加以区别和进行质控。

综上所述,茯苓对肾阳虚下焦水肿大鼠具有利尿渗湿作用,且其作用强弱存在产地差异。后期本课题组将进一步验证不同产地导致的药效差异,同时探讨不同产地可能的环境因素与药效的关系,并进

行利尿渗湿作用有效部位筛选,以进一步阐明茯苓利尿渗湿作用的物质基础及可能的机制。

参考文献:

- [1] 於小波, 管俊峰, 王金波, 等. 我国茯苓药材主要产区资源调查[J]. 时珍国医国药, 2011, 22(3): 714-716.
- [2] 杨婷, 徐旭, 窦德强. 茯苓对上焦水饮内停大鼠的利尿作用研究[J]. 辽宁中医杂志, 2017, 44(5): 1096-1099, 1122.
- [3] 李斌, 冉小库, 孙云超, 等. 茯苓对脾虚水湿内停大鼠的健脾利尿药效物质研究[J]. 世界中医药, 2015, 10(12): 1859-1867.
- [4] 白宛鑫, 赵良友, 张娜, 等. 生淫羊藿与炙淫羊藿对肾阳虚证水肿模型大鼠的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(5): 85-91.
- [5] 马萍. 基于文献计量层次分析法的研究综述[J]. 经济研究导刊, 2018, 14(32): 6-8.
- [6] 邓雪, 李家铭, 曾浩健, 等. 层次分析法权重计算方法分析及其应用研究[J]. 数学的实践与认识, 2012, 42(7): 93-100.
- [7] 潘琳琳, 孙君艺, 王淞, 等. 国医大师张志远运用茯苓经验[J]. 中华中医药杂志, 2020, 35(2): 699-702.
- [8] BERTANI T, POGGI A, POZZONI R, et al. Adriamycin-induced nephrotic syndrome in rats. Sequence of pathologic events[J]. Laboratory Investigation, 1982, 46(1): 16-23.
- [9] 许涛, 吕磊, 钱琛, 等. 大鼠阿霉素肾病的病理学观察[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2001, 6(1): 43-45.
- [10] OZ E, ILHAN M N. Effects of melatonin in reducing the toxic effects of doxorubicin[J]. Molecular & Cellular Biochemistry, 2006, 286(1-2): 11-15.
- [11] QUINN C J, BURNS P D, GIBSON N M, et al. Effects of chronic endurance exercise on doxorubicin-induced thymic damage[J]. Integr Cancer Ther, 2016, 15(4): 535-541.
- [12] FU Y, ZHU J, ZHANG Y, et al. Vitamin D regulates the expressions of AQP-1 and AQP-4 in mice kidneys[J]. Biomed Research International, 2019, 2019(4): 1-7.
- [13] BENGA G. The first discovered water channel protein, later called aquaporin 1: molecular characteristics, functions and medical implications[J]. Molecular Aspects of Medicine, 2012, 33(5/6): 518-534.
- [14] 陈颖. 从水通道蛋白1、2表达探讨健脾益肾针法对水负荷大鼠利尿的作用机制[D]. 昆明: 云南中医学院, 2015.
- [15] MOELLER H B, FUGLSANG C H, FENTON R A. Renal aquaporins and water balance disorders[J]. Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism, 2016, 30(2): 277-288.
- [16] ISHIBASHI K, HARA S, KONDO S. Aquaporin water channels in mammals[J]. Clinical & Experimental Nephrology, 2009, 13(2): 107-117.
- [17] 王妍妍, 施晓艳, 张越, 等. 一测多评法测定不同产地茯苓中4种三萜类成分的含量[J]. 中草药, 2018, 49(20): 4899-4904.
- [18] 张培, 胡怀娟, 程苑, 等. 不同产地茯苓多糖抗氧化活性研究[J]. 东莞理工学院学报, 2018, 25(1): 63-67.
- [19] 田双双, 刘晓谦, 冯伟红, 等. 基于特征图谱和多成分含量测定的茯苓质量评价研究. 中国中药杂志, 2019, 44(7): 1371-1380.

(编辑: 邹元平)