

## 牛蒡苷胶囊对阿霉素肾病大鼠的保护作用

李俊<sup>1,2</sup>, 董鑫鑫<sup>1</sup>, 罗颖颖<sup>1</sup>, 梁斌<sup>3</sup>, 陈兰英<sup>1,2\*</sup>

(1. 中药固体制剂制造技术国家工程研究中心, 南昌 330006;

2. 江西中医学院, 南昌 330004; 3. 贵州威门药业股份有限公司, 贵阳 550018)

**[摘要]** **目的:**研究牛蒡苷胶囊对阿霉素肾病大鼠的保护作用。**方法:**采用一次性尾静脉注射(阿霉素 ADR)复制微小病变型肾病模型, SD 雄性大鼠随机分为空白组、模型组、阳性药醋酸泼尼松片  $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  组、牛蒡苷胶囊高、中、低剂量组 ( $767, 383, 192 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), ig 给药 6 周。于每周末将大鼠放入代谢笼中, 收集 24 h 尿液, 用全自动生化仪测定尿蛋白含量。于末次给药后 24 h, 眼眶静脉丛采血, 于全自动生化仪测定白蛋白 (ALB)、甘油三酯 (TG)、胆固醇 (TC) 含量; 采用酶联免疫法测定血清转化生长因子- $\beta_1$  (TGF- $\beta_1$ ) 水平; 采用黄嘌呤氧化酶法和硫代巴比妥法分别测定血清超氧化物歧化酶 (SOD) 和丙二醛 (MDA); 肾组织病理学检测。**结果:**与模型组比较, 牛蒡苷胶囊高、中剂量能减少阿霉素肾病大鼠的尿蛋白含量, 提高血清 ALB 含量; 牛蒡苷胶囊 3 个剂量组能降低血清 TG 和 TGF- $\beta_1$  含量; 牛蒡苷高剂量 ( $767 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) 能提高血清 SOD 活性、降低血清 MDA 含量; 牛蒡苷胶囊 3 个剂量组能够促进肾组织病理改变的修复。**结论:**牛蒡苷胶囊对阿霉素肾病大鼠的保护作用可能与其清除氧自由基、抑制脂质过氧化反应、抑制肾小球纤维化等作用有关。

**[关键词]** 牛蒡苷胶囊; 阿霉素肾病; 尿蛋白; 脂质过氧化; 转化生长因子- $\beta_1$

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)07-0160-04

## Protective Effect of Arctinin Capsule on the Nephrotic Rat Induced by Adriamycin

LI Jun<sup>1,2</sup>, DONG Xin-xin<sup>1</sup>, LUO Ying-ying<sup>1</sup>, LIANG Bin<sup>3</sup>, CHEN Lan-ying<sup>1,2\*</sup>

(1. The National Pharmaceutical Engineering Center (NEPC) for Solid Preparation in Chinese Herbal Medicine, Nanchang 330006, China; 2. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China; 3. Guizhou Weimen Pharmaceutical, Co. Ltd, Guiyang 550018, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the protective effect of arctinin capsule on the nephritic rat induced by adriamycin (ADR). **Method:** Minimal change nephrotic rat model was induced by intravenous injection of ADR, male SD rat were randomly divided into 6 groups: Blank group, Model group, positive group, arctinin capsule high-dose group ( $767 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), middle-dose group ( $383 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) and low-dose group ( $192 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), treated for 6 weeks. **Result:** Compared with the rats in model group, arctinin capsule high-dose, middle-dose could reduced the proteinuria of the nephritic rat induced by adriamycin, increase the level of serum albumin (ALB); Arctinin capsule all the 3 doses could cut down the level of serum triglyceride (TG) and transforming growth factor- $\beta_1$  (TGF- $\beta_1$ ); Arctinin capsule high-dose ( $767 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) could increase the level of serum superoxide dismutase (SOD) and cut down the level of serum malondialdehyde (MDA); at the same time, arctinin capsule all the 3 doses could significantly ameliorated the change of pathology in renal. **Conclusion:** The protective action of arctinin capsule on the nephritic rat induced by adriamycin may be related to the purification on free-radical, the inhibition of lipid peroxidation and glomerular fibrosis.

**[收稿日期]** 20110824(004)

**[基金项目]** 国家科技部“十一五”重大新药创制专项项目(2009ZX09103-337)

**[第一作者]** 李俊, 讲师, 博士学位, 主要从事中药药理研究, Tel: 18070090101, E-mail: 21363492@qq.com

**[通讯作者]** \* 陈兰英, 教授, 博士学位, 主要从事中药药理研究, Tel: 13870965831. E-mail: clyxy2513@163.com

[Key words] arctinin capsule; adriamycin nephrosis; urinary protein; lipid peroxidation; transforming growth factor- $\beta_1$

牛蒡子为菊科植物牛蒡子 *Arctium lappa* L 的干燥成熟果实,牛蒡子味辛苦,性寒,归肺、胃经,具有疏散风热、宣肺祛痰,利咽透疹,解毒消肿等功效<sup>[1]</sup>。牛蒡子中提取的主要活性成分为牛蒡子苷及牛蒡子苷元,其中牛蒡子苷元为牛蒡子苷分解后的产物<sup>[2]</sup>。现代药理研究发现<sup>[3-6]</sup>牛蒡子具有抗肿瘤、抗炎、抗病毒、抗肾炎等药理活性,而其中牛蒡子在防治慢性肾病方面的作用越来越受关注,实验证明牛蒡子提取物在降低尿蛋白、防治慢性肾炎,肾病综合征及慢性肾衰方面具有显著作用<sup>[7]</sup>。牛蒡苷胶囊是由从牛蒡子中提取的有效成分牛蒡子苷组成的,牛蒡子苷含量大于90%。本研究采用阿霉素肾病模型<sup>[8]</sup>,观察牛蒡苷胶囊对阿霉素肾病的保护作用,并探讨其初步的作用机制,为其临床开发提供理论依据。

## 1 材料

**1.1 试验药物及试剂** 牛蒡苷胶囊,由贵州威门药业股份有限公司提供,每1g药粉相当于原生药5.6g;牛蒡苷胶囊原粉制备方法:取干燥牛蒡子,中药粉碎机粉碎,过80目筛,乙醇微波提取,石油醚脱脂,浓缩,大孔树脂纯化,喷雾干燥,其中牛蒡子苷含量为97.92%;注射用盐酸阿霉素,浙江正海药业股份有限公司,批号101203A;阳性药物(醋酸泼尼松片),浙江仙居制药股份有限公司,批号100725。超氧化物歧化酶(SOD),丙二醛(MDA)试剂盒购于南京建成生物工程研究所;转化生长因子- $\beta_1$ (TGF- $\beta_1$ )酶联免疫分析试剂盒购于上海朗顿生物科技有限公司;白蛋白(ALB)、甘油三酯(TG)、胆固醇(TC)生化试剂盒购于 Sysmex 公司。

**1.2 动物** SD大鼠,雄性,体重(180±20)g,由江西中医学院实验动物中心提供,许可证号SCXK(赣)2005-0001。

**1.3 仪器** Sysmex全自动生化分析仪、Thermo酶标仪。

## 2 方法

**2.1 分组与造模** SD雄性大鼠60只,适应性喂养1周,试验前将大鼠置于代谢笼中收集尿液,测定尿蛋白,结果均为阴性。然后将大鼠随机分为6组,每组10只。除空白组外,每只大鼠在无菌条件下尾静脉注射盐酸阿霉素6.5 mg·kg<sup>-1</sup>,于注射后ig给药,阳性组ig给予醋酸泼尼松片(5 mg·kg<sup>-1</sup>),牛蒡苷胶囊组给予高、中、低剂量(0.767,0.383,0.192 g·

kg<sup>-1</sup>)的牛蒡苷胶囊,模型组和空白组ig给予等量蒸馏水,连续给药6周。

## 2.2 检测指标

**2.2.1 24 h尿蛋白含量测定** 于每周末将大鼠放入代谢笼中,收集24 h尿液,离心取上清液,用全自动生化仪测定尿蛋白含量。

**2.2.2 血液指标测定** 于末次给药后24 h,眼眶静脉丛采血,离心取上清液,于全自动生化仪测定ALB, TG, TC含量。同时留取部分血清,采用酶联免疫法测定血清TGF- $\beta_1$ 水平、采用黄嘌呤氧化酶法和硫代巴比妥法分别测定血清SOD和MDA含量。

**2.2.3 肾组织病理学检测** 将取血后的大鼠处死,于无菌状态下取出肾脏,选取同一侧肾脏纵切后的1/2肾组织于10%甲醛溶液中固定,常规石蜡包埋切片,HE染色后在光镜下观察肾组织病理学变化。

**2.3 统计方法** 所用计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用SPSS 13.0 for windows统计软件进行数据分析,计量资料组间比较采用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 有统计学意义。

## 3 结果

**3.1 对阿霉素肾病大鼠24 h尿蛋白含量的影响** 与空白组比较,模型组从第2周开始,尿蛋白含量显著升高( $P < 0.01$ ),于第4周达到高峰;与模型组比较,第2周,牛蒡苷胶囊各给药组尿蛋白含量有降低的趋势,但无统计学意义;第4周,牛蒡苷胶囊中剂量组和高剂量组尿蛋白含量较模型组显著降低( $P < 0.05$ );第5周,牛蒡苷胶囊高剂量组尿蛋白含量较模型组显著降低( $P < 0.05$ );第6周,牛蒡苷胶囊各给药组尿蛋白含量较模型组均显著降低( $P < 0.05$ )。见表1。

**3.2 对阿霉素肾病大鼠血清白蛋白、甘油三酯和胆固醇含量的影响** 与空白组比较,模型组大鼠血清ALB含量显著降低( $P < 0.01$ ),TG,TC含量都显著升高( $P < 0.01$ );与模型组比较,牛蒡苷胶囊中、高剂量能够显著提高阿霉素肾病大鼠血清ALB含量,牛蒡苷胶囊各剂量均能够显著降低阿霉素肾病大鼠血清TG含量( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ),同时具有降低血清TC含量的趋势,但无统计学意义。见表2。

**3.3 对阿霉素肾病大鼠血清TGF- $\beta_1$ ,MDA含量及SOD活性的影响** 与空白组比较,模型组大鼠血清TGF- $\beta_1$ 含量显著升高( $P < 0.01$ );与模型组比较,

表 1 牛蒡苷胶囊对阿霉素肾病大鼠 24 h 尿蛋白含量的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

mg

组别	剂量 /mg·kg <sup>-1</sup>	n	第 1 周	第 2 周	第 3 周	第 4 周	第 5 周	第 6 周
空白	-	10	22.56 ± 12.35	21.54 ± 17.64	48.54 ± 31.05	45.21 ± 7.79	65.17 ± 26.82	67.09 ± 35.76
模型	-	10	24.34 ± 10.29	68.46 ± 27.44 <sup>4)</sup>	65.52 ± 35.60	190.47 ± 83.27 <sup>4)</sup>	143.98 ± 54.86 <sup>4)</sup>	177.11 ± 62.85 <sup>4)</sup>
泼尼松	5	10	28.13 ± 11.33	58.16 ± 38.88	92.64 ± 65.86	96.54 ± 63.32 <sup>1)</sup>	112.57 ± 35.16 <sup>1)</sup>	119.96 ± 42.18 <sup>1)</sup>
牛蒡苷胶囊	192	9	22.42 ± 16.05	62.68 ± 46.32	98.74 ± 41.31	150.06 ± 67.52	174.13 ± 81.10	115.9571 ± 38.03 <sup>1)</sup>
	383	10	23.25 ± 12.42	43.61 ± 25.92	109.84 ± 61.80	118.52 ± 90.46 <sup>1)</sup>	136.44 ± 80.66	119.97 ± 40.80 <sup>1)</sup>
	767	9	24.61 ± 10.52	74.65 ± 36.85	117.63 ± 62.08	114.67 ± 43.41 <sup>1)</sup>	111.99 ± 42.07 <sup>1)</sup>	118.49 ± 48.45 <sup>1)</sup>

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

表 2 牛蒡苷胶囊对阿霉素肾病大鼠血清白蛋白、甘油三酯和胆固醇含量的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量/mg·kg <sup>-1</sup>	n	ALB/g·L <sup>-1</sup>	TC/mmol·L <sup>-1</sup>	TG/mmol·L <sup>-1</sup>
空白	-	10	31.07 ± 1.15	1.67 ± 0.25	0.68 ± 0.19
模型	-	10	25.32 ± 2.65 <sup>4)</sup>	3.73 ± 1.39 <sup>4)</sup>	2.16 ± 0.71 <sup>4)</sup>
泼尼松	5	10	27.80 ± 1.70 <sup>1)</sup>	3.18 ± 1.33	1.17 ± 0.59 <sup>2)</sup>
牛蒡苷胶囊	192	9	27.17 ± 2.61	4.15 ± 2.40	1.2 ± 0.50 <sup>1)</sup>
	383	10	27.81 ± 2.45 <sup>1)</sup>	3.42 ± 1.31	1.02 ± 0.64 <sup>2)</sup>
	767	9	27.95 ± 2.55 <sup>1)</sup>	3.36 ± 0.79	1.37 ± 0.74 <sup>1)</sup>

牛蒡苷胶囊各剂量均能显著降低阿霉素肾病大鼠血清 TGF-β<sub>1</sub> 含量 ( $P < 0.05$ )。见表 3。

与空白组比较,模型组大鼠血清 MDA 含量显著升高 ( $P < 0.01$ ),SOD 活性显著降低 ( $P < 0.01$ );

与模型组比较,牛蒡苷胶囊高剂量能够显著降低阿霉素肾病大鼠血清 MDA 含量 ( $P < 0.05$ ),提高血清 SOD 活性;低、中剂量具有降低 MDA 含量和提高 SOD 活性的趋势,但无统计学意义。见表 3。

表 3 牛蒡苷胶囊对阿霉素肾病大鼠血清 TGF-β<sub>1</sub>,MDA 含量及 SOD 活性的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量/mg·kg <sup>-1</sup>	n	TGF-β <sub>1</sub> /ng·L <sup>-1</sup>	MDA/μmol·L <sup>-1</sup>	SOD/U·mL <sup>-1</sup>
空白	-	10	9.32 ± 1.87	1.02 ± 0.75	274.38 ± 35.65
模型	-	10	14.36 ± 1.71 <sup>4)</sup>	4.68 ± 1.73 <sup>4)</sup>	195.36 ± 28.91 <sup>4)</sup>
泼尼松	5	10	12.99 ± 1.32 <sup>1)</sup>	3.32 ± 1.08 <sup>1)</sup>	255.56 ± 25.67 <sup>1)</sup>
牛蒡苷胶囊	192	9	11.68 ± 3.72 <sup>1)</sup>	4.08 ± 1.61	215.12 ± 32.45
	383	10	11.78 ± 3.07 <sup>1)</sup>	3.96 ± 0.97	227.45 ± 30.17
	767	9	10.73 ± 3.69 <sup>1)</sup>	3.41 ± 0.96 <sup>1)</sup>	243.56 ± 27.37 <sup>1)</sup>

**3.4 对阿霉素肾病大鼠肾组织病理学的影响** 空白组大鼠肾组织未见异常,模型组大鼠肾小球球囊部分粘连,肾小球系膜区见中度至重度的系膜细胞增殖基质增生,呈弥漫性或结节状,部分区域出现局灶性肾小球硬化,有部分肾小球毛细血管腔狭窄或囊性扩张,肾小管结构紊乱,上皮细胞可见中度至重度颗粒样变性和空泡变性,偶见肾小管坏死,腔内可见大量蛋白管型,间质内有明显灶性或片状淋巴细胞

浸润,并有轻度至中度纤维化。与模型组比较,牛蒡苷胶囊高剂量组和醋酸泼尼松组肾小球病变明显改善,可见少数肾小球球囊粘连,系膜区轻度增生,肾小管结构清晰,偶见肾小管坏死,腔内可见部分蛋白管型,间质内有轻度灶性淋巴细胞浸润,并有轻度纤维化。牛蒡苷胶囊中剂量组和低剂量组病变程度介于模型组和高剂量组之间,病变程度有一定的改善。见图 1。

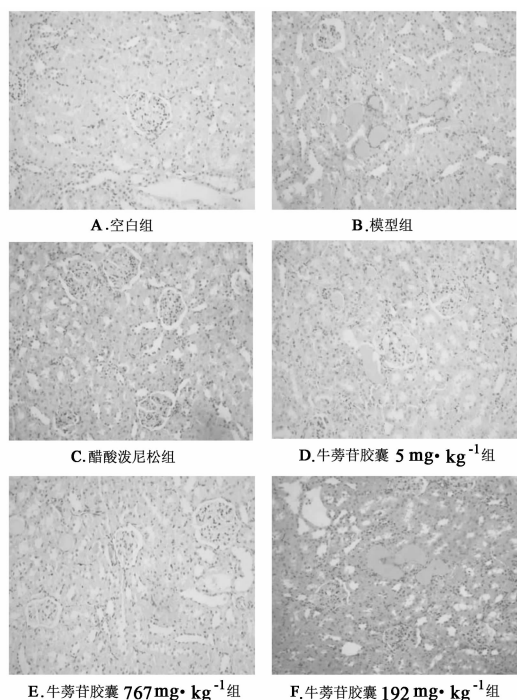


图1 牛蒡苷胶囊对阿霉素肾病大鼠肾组织病理改变的影响(HE, ×200)

#### 4 讨论

蛋白尿的出现是因为免疫损伤所致的肾小球基底膜分子结构的改变,滤过孔径变大及基底膜阴离子屏障的破坏,使带阴电荷的白蛋白自由通过,所以蛋白尿的多少反映了肾小球基底膜的病变程度<sup>[9]</sup>。一次性尾静脉注射阿霉素所复制的大鼠肾病模型,可出现典型的肾病综合征表现,其病理表现与人的微小病变肾病相似,是国内外公认的理想微小病变肾病模型<sup>[8]</sup>。阿霉素通过产生氧自由基和形成过氧化物造成肾小球的损伤,同时对肾小管上皮产生一定的毒性<sup>[10]</sup>。TGF- $\beta_1$ 是一个双向性,多功能的细胞因子,在肾脏纤维化过程中起着非常重要的作用,近曲小管上皮细胞,肾小球系膜细胞及上皮细胞均可分泌TGF- $\beta_1$ ,并通过这些细胞表面的特定受体与之结合而发挥生物学效应,许多学者发现在阿霉素肾病大鼠上,发现肾小球TGF- $\beta_1$ 蛋白表达和血清TGF- $\beta_1$ 含量显著增强<sup>[11-12]</sup>。

本实验模型组大鼠一次性尾静脉注射阿霉素后,从第2周开始出现蛋白尿,于第4周蛋白尿达到高峰,而且血清白蛋白含量显著降低,出现低蛋白血症,与文献<sup>[10,13]</sup>报道相一致,模型复制成功。本研究发现牛蒡苷胶囊干预组从第4周开始24h尿蛋白量显著降低,血清白蛋白含量显著升高,肾脏病理学结果也反映牛蒡苷胶囊干预组较模型组有明显改善,提示牛蒡苷胶囊对阿霉素肾病有较好的保护作

用。同时,牛蒡苷胶囊干预组血清TG、MDA水平较模型组大鼠均显著降低,血清SOD含量较模型组显著升高,这说明经牛蒡苷胶囊干预后阿霉素肾病大鼠所表现的脂质过氧化得到显著改善。另外,牛蒡苷胶囊干预组血清TGF- $\beta_1$ 含量也较模型组显著降低,这点提示牛蒡苷胶囊干预组大鼠肾小球纤维化程度有所缓解。总之,牛蒡苷胶囊对阿霉素肾病大鼠有显著的保护作用,其作用机制可能与其清除氧自由基、抑制脂质过氧化反应、抑制肾小球纤维化等作用有关。

#### [参考文献]

- [1] 高学敏. 中药学[M]. 北京:中国中医药出版社, 2002:76.
- [2] 李燕,孙敬勇,武海艳,等. 牛蒡子化学成分及药理作用研究进展[J]. 齐鲁药事, 2009, 28(12):738.
- [3] 郑国灿. 牛蒡子提取液的抗癌性研究[J]. 东南大学学报:医学版, 2003, 22(5):319.
- [4] Tzou-Chi Huang, Shinn-Shyong Tsai, Li-Fang liu. Effect of *Arctium lappa* L. in the dextran sulfate sodium colitis mouse model [M]. *World J Gastroenterol*, 2010, 16(33):4193.
- [5] 高阳,董雪,康廷国,等. 牛蒡子苷元体外抗流感病毒活性[J]. 中草药, 2002, 33(8):724.
- [6] 杨明正,张小如. 牛蒡子改善糖尿病大鼠肾脏病变机制的探讨[J]. 海峡药学, 2009, 21(12):49.
- [7] 郝娜,杨洪涛. 牛蒡子防治慢性肾脏病研究进展[J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2010, 11(12):1115.
- [8] 张悦,魏民,王谦,等. 阿霉素复制大鼠微小病变肾病模型的研究[J]. 北京中医药大学学报, 2002, 25(2):16.
- [9] 李锐,曹建宏,周玖瑶. 肾复康对大鼠实验性慢性肾炎的作用[J]. 广州中医药大学学报, 1999, 16(3):205.
- [10] 葛斌,谢梅林,顾振伦,等. 肾炎灵对阿霉素肾病大鼠肾脏的保护作用[J]. 苏州大学学报:医学版, 2009, 29(2):252.
- [11] 王军建,胡锐. 丹参酮II A对阿霉素肾病大鼠肾小球nephrin和TGF- $\beta_1$ 的表达影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(19):245.
- [12] 段晓虹,等. 肾小球硬化蛋白尿与转化生长因子- $\beta_1$ 相关性分析及活血补肾复方的干预作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2008, 14(10):34.
- [13] 任胜利. 阿霉素肾病与足细胞损伤[J]. 现代医药卫生, 2004, 20(3):170.

[责任编辑 聂淑琴]