

## · 论著 ·

## 百蕊草提取物对免疫球蛋白 A 肾病模型大鼠的治疗作用

闫俊<sup>1,2</sup>, 唐大海<sup>1</sup>, 宣伟东<sup>1</sup>, 范正平<sup>1</sup>, 胡水根<sup>1</sup> (1. 解放军 411 医院药学科, 上海 200081; 2. 江西中医学院药学院, 江西南昌 333004)

**[摘要]** 目的 考察百蕊草提取物对免疫球蛋白 A 肾病(IgAN)模型大鼠的治疗效果,以明确有效部位。方法 采用水煎提取百蕊草, AB-8 大孔树脂吸附, 乙醇梯度洗脱制备各部位。给予大鼠口服牛血清蛋白(400 mg/kg), 皮下注射蓖麻油、CCl<sub>4</sub> 联合尾静脉注射脂多糖造模。从第 8 周起, 对阳性组[雷公藤多苷(LGT), 10 mg/kg]、水提取物组(TT, 1.0 g/kg)、水溶性部位组(TTW, 0.4 g/kg)、极性部位组(TT20, 0.4 g/kg)和中等极性部位组大鼠(TT50, 0.4 g/kg)每天灌胃给药, 空白组和模型组给予生理盐水(n=8), 连续 5 周。观察各组大鼠 24 h 尿量、24 h 尿蛋白、尿沉渣红细胞计数, 实验结束后进行血液生化指标检测、免疫荧光检测、肾组织的病理学检查。结果 与空白组相比, 模型组大鼠的 24 h 尿蛋白、尿沉渣中红细胞数量、血清中肌酐、尿素氮水平均显著升高。与模型组相比, TT 组和 TT50 组的 24 h 尿蛋白(P<0.05)、尿沉渣中红细胞数量(P<0.01)、血清肌酐和尿素氮水平(P<0.05)降低。各给药组肾组织系膜区的免疫复合物沉积减少、肾小球增大、系膜基质增生、肾小管的损伤状况改善。结论 百蕊草水提取物及其中等极性部位对 IgA 肾病大鼠具有良好的治疗作用, 其效果优于阳性对照雷公藤多苷。

**[关键词]** 百蕊草; 免疫球蛋白 A 肾病; SD 大鼠; 中药治疗

**[中图分类号]** R965 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2015)01-0028-05

**[DOI]** 10.3969/j.issn.1006-0111.2015.01.007

Therapeutic effects of *Thesium chinensis* extracts on IgAN rats

YAN Jun<sup>1,2</sup>, TANG Dahai<sup>1</sup>, XUAN Weidong<sup>1</sup>, FAN Zhengping<sup>1</sup>, HU Shuigen<sup>1</sup> (1. No. 411 Hospital of PLA, Shanghai 200434, China; 2. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 333004, China)

**[Abstract]** **Objective** To evaluate the therapeutic effects of *Thesium chinensis* Turcz extracts on IgA nephropathy (IgAN) rats. **Methods** The hot water extracted solution of *Thesium chinensis* Turcz flow through the AB-8 macroreticular resin column repeatedly, then being eluted with different contents of ethanol to get four part of extract. The IgAN model of SD rats were established by oral intake of bovine serum albumin (BSA, 400 mg/kg) together with injection of lipopolysaccharide (LPS) and CCl<sub>4</sub>. Beginning with 8th week, the positive group (LGT, 10 mg/kg), water extract group (TT, 1.0 g/kg), water soluble group (TTW, 0.4 g/kg), high polarity group (TT20, 0.4 g/kg) and medium polarity group (TT50, 0.4 g/kg) rats were intragastric administrated drug daily, the normal group control and model control group rats were given with saline (n=8). During the next 5 weeks treatment process, the 24 h urine volume, 24 h urine protein concentration, and quantity of erythrocyte in urine were observed. The levels of TP, ALP, ALT, AST, Scr and BUN in serum were determined. The expression of IgA deposition was measured by immunofluorescence staining, and the pathological changes of kidney tissue were assayed after the therapy process. **Results** After 5 weeks therapy, the 24 h urine protein concentration, the quantity of erythrocyte in urine, and the level of Scr and BUN of TT and TT50 groups were significantly lower than model control. The fluorescence intensities in the mesangial area were weaker than model control. Also, the degrees of renal capsule expansion and mesangial matrix proliferations, and the kidney tubules damage of TT and TT50 groups were weaker than those of model control. **Conclusion** The water extract and its medium polarity fraction of *Thesium chinensis* Turcz show good therapeutic effects on IgAN rats.

**[Key words]** *Thesium chinensis* Turcz; IgAN; SD rats; TCD therapy

免疫球蛋白 A 肾病 (IgA nephropathy, IgAN) 是一种以 IgA 为主的免疫球蛋白伴补体 C<sub>3</sub>, 伴或不

伴有其他免疫复合物沉积, 呈颗粒状沉积于肾小球系膜区的病理综合征, 临床上以血尿或血尿伴蛋白尿为主要表现, 是最常见的一种肾小球肾炎<sup>[1]</sup>。百蕊草 *Thesium chinensis* Turcz 为檀香科百蕊草属多年生寄生草本, 有清热解毒、补肾固精之功效。课题组前期研究发现, 百蕊草具有利尿、消除水肿、降低尿蛋白、降血脂、提高血清蛋白等作用, 对肾病综合

**[基金项目]** 上海市卫生局局级科研课题 (2012085)

**[作者简介]** 闫俊, 硕士研究生. E-mail: yanjun0828@126.com

**[通讯作者]** 宣伟东, 博士, 副主任药师. 研究方向: 中药与天然药物, 医院制剂. E-mail: wdwxuan2010@126.com

征大鼠具有良好的治疗效果<sup>[2]</sup>。本研究采用改进的口服牛血清蛋白,皮下注射蓖麻油、四氯化碳,联合尾静脉注射脂多糖的方法建立 IgAN 大鼠模型<sup>[3]</sup>,考察百蕊草水提取物及其经 AB-8 大孔树脂吸附,不同浓度乙醇洗脱后得到的各组分对 IgAN 大鼠的治疗作用,以此评价百蕊草对 IgAN 的治疗效果,明确有效部位,探讨其可能的作用机制。

## 1 材料

**1.1 动物** SD 大鼠 56 只,CL 级,雄性,体重(180±10)g,由复旦大学实验动物科学部提供,动物合格证号:SCXK(沪)2010-0019。

**1.2 药物** 百蕊草,采集自湖北荆州,由第二军医大学药学院生药教研室黄宝康教授鉴定为檀香科百蕊草属百蕊草 *Thesium chinensis* Turcz. 雷公藤多苷片(LGT,上海复旦复华药业有限公司,批号:100503),临用前用生理盐水配制成混悬液。

**1.3 试剂与仪器** AB-8 大孔吸附树脂(天津欧瑞生物科技有限公司,批号:20100215);牛血清蛋白(BSA,国药集团化学试剂有限公司,批号:F20080603);脂多糖(LPS, SIGMA-ALDRICH,批号:118K4052);蓖麻油(国药集团化学试剂有限公司,批号:F20091217);四氯化碳(CCl<sub>4</sub>,国药集团化学试剂有限公司,批号:20091216);考马斯亮蓝(G250,国药集团化学试剂有限公司,批号:WF20080715)。电子分析天平(AB104-N,梅特勒-托利多);紫外分光光度计(UV-2550,岛津);光学显微镜(CHA-B<sub>2</sub>,奥林巴斯);荧光显微镜(奥林巴斯),全自动生化分析仪(HITACH7060,日立),代谢笼(由海军医学研究所实验动物中心提供)。

## 2 方法

**2.1 百蕊草提取物及其各部位的制备** 百蕊草全草洗净后加水煎煮 2 次,每次 2 h,合并煎液,过滤,减压浓缩,制成每毫升含有 1 g 生药的浓浸膏,即得百蕊草水提取物(TT)。另取百蕊草适量,按上述方法制备水煎液,过滤,滤液经 AB-8 大孔树脂吸附 2 次,纯化水洗涤。经吸附、洗涤后的水煎液合并,减压回收溶剂,得到百蕊草水溶性部位干浸膏(TTW)。AB-8 大孔树脂柱依次用 20%、50%乙醇梯度洗脱,减压回收洗脱液中的乙醇后分别得到百蕊草大极性部位(TT20)和中等极性部位(TT50)的干浸膏。上述百蕊草提取物及各部位干浸膏临用前用生理盐水配制成悬浮液。

**2.2 分组及造模<sup>[3]</sup>** SD 大鼠 56 只,适应性喂养 3 d 后,随机分为 7 组,每组 8 只,分别为空白对照

组、模型对照组、阳性对照组(LGT 10 mg/kg)、TT 组(1.0 g/kg)、TTW 组(0.4 g/kg)、TT20 组(0.4 g/kg)和 TT50 组(0.4 g/kg)。空白对照组隔日生理盐水灌胃,持续 12 周,其余各组均采用牛血清蛋白(BSA)、四氯化碳(CCl<sub>4</sub>)、脂多糖(LPS)联合用药的方法建立实验性 IgAN 模型。具体方法为:第 1 周开始,隔天以生理盐水配制的 BSA 灌胃,剂量为 400 mg/kg,持续 6 周;同时皮下注射蓖麻油 0.5 ml+CCl<sub>4</sub> 0.1 ml,每周 1 次,持续 9 周。各造模动物分别在第 6、8 周尾静脉注射 LPS 0.05 mg。

**2.3 给药** 从第 8 周起,各组大鼠每天灌胃给药 1.0 ml,连续 5 周。空白对照组和模型对照组给予生理盐水。

**2.4 一般状态及尿液测定** 各组每周称重 1 次,观察精神状态、体毛、浮肿、饮食状况以及活动情况等。各组每周 1 次置于代谢笼,收集 24 h 尿液,记录尿量。取 10 ml 尿液,加入防腐剂甲苯,采用考马斯亮蓝法测定尿蛋白浓度,计算 24 h 尿蛋白。第 5 周开始,取 0.5 ml 尿液离心,取沉渣涂片,随机观察 10 个视野,进行红细胞计数,计算平均数。

**2.5 血液生化指标测定** 试验结束时,腹主动脉取血 10 ml,用全自动生化分析仪测定血清总蛋白(TP)、血清清蛋白(ALB)、谷草转氨酶(AST)、谷丙转氨酶(ALT)、血清肌酐(Scr)、尿素氮(BUN)等各项指标。

**2.6 肾组织荧光观察** 实验结束后摘取肾脏。采取直接法染色,取部分新鲜组织冰冻切片,丙酮固定,PBS 液洗涤后加 FITC 标记的兔抗大鼠 IgA 抗体,37 °C 孵育 40 min,PBS 洗涤后甘油封片,荧光显微镜下观察。以镜下黄绿色荧光显示强度为评定标准:无荧光或极弱记为(-),有荧光记为(+),较强荧光记为(++),极强甚至刺眼荧光记为(+++)。

**2.7 肾组织光学显微观察** 取余下肾脏组织,用 10%甲醛(福尔马林)液固定,石蜡包埋切片,苏木素-伊红(HE)染色,显微镜下观察。

**2.8 统计学处理** 采用 SPSS 17.0 软件进行统计分析。各组实验数据以( $\bar{x} \pm s$ )表示,各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 一般状态** 空白组大鼠在整个实验过程中饮食活动正常,精神状态良好,毛色有光泽。其余各组大鼠均出现体毛干枯、食欲不振、精神萎靡、怠倦少动等现象,第 6 周尾静脉注射 LPS 后,上述现象更加明显。药物干预后,除模型组外,其余各组在体毛、精神、摄食等方面均有好转。各组动物在实验开

始前5周体重增加较快,第6周开始体重增加缓慢,但各组大鼠平均体重均无显著性差异。至实验结束,各组均无水肿、烂尾现象,无动物死亡。

**3.2 24 h 尿量** 与空白组相比,模型组、TT组和TT20组出现尿量减少。与模型组相比,给药后,LGT组、TT20组尿量减少,TT组、TT50组和TTW组尿量增加,但无显著性差异。

**3.3 24 h 尿蛋白** 与空白组相比,各组大鼠在造模第2周开始24 h尿蛋白即开始明显升高,至第8周显著升高。药物干预后,各给药组24 h尿蛋白总体为下降趋势。与模型组相比,LGT组、TT组和TT50组在给药1周后尿蛋白下降( $P<0.05$ ),TT组持续

作用2周,TT50组和LGT组持续作用4周,两组无显著性差异;TT20组和TTW组作用不明显(表1)。结果表明,百蕊草水提取物及其中等极性部位能降低IgAN大鼠尿蛋白,其效果与雷公藤多苷相当。

**3.4 尿沉渣中红细胞数量** 与空白组相比,各组大鼠在第5周开始尿沉渣中红细胞数量明显升高( $P<0.01$ )。与模型组相比,给药2周以后,各给药组大鼠尿沉渣中红细胞数量明显下降( $P<0.01$ ),至第12周,TT组、TTW组、TT20组、TT50组尿沉渣中红细胞数量与空白组无显著性差异(表2)。提示百蕊草水提取物及其各部位能有效改善IgAN大鼠血尿症状,其疗效优于雷公藤多苷。

表1 各组大鼠尿蛋白变化情况( $\bar{x}\pm s, n=8$ )

组别	尿蛋白(mg/kg)				
	第8周	第9周	第10周	第11周	第12周
空白	34.4±19.2	36.3±21.0	37.2±14.3	36.8±12.8	40.1±8.8
模型	62.6±14.0 <sup>2)</sup>	67.8±12.01 <sup>2)</sup>	55.7±11.0 <sup>1)</sup>	52.6±9.9 <sup>1)</sup>	51.3±12.7 <sup>1)</sup>
LGT	57.3±12.7 <sup>2)</sup>	57.1±10.4 <sup>3)</sup>	41.8±14.2 <sup>3)</sup>	42.1±13.1 <sup>3)</sup>	40.5±12.9 <sup>3)</sup>
TT	56.9±17.9 <sup>2)</sup>	47.3±15.5 <sup>4)</sup>	46.8±26.2 <sup>3)</sup>	48.8±16.7	47.0±18.8
TTW	62.2±12.2 <sup>2)</sup>	55.6±11.4	48.4±7.8	41.9±4.5 <sup>3)</sup>	53.4±15.1
TT20	58.5±25.4 <sup>2)</sup>	58.0±23.3	51.9±12.5	48.6±14.2	52.1±22.1
TT50	57.2±11.4 <sup>2)</sup>	52.4±6.5 <sup>3)</sup>	41.4±12.5 <sup>3)</sup>	43.3±14.0 <sup>3)</sup>	43.8±10.5 <sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>  $P<0.05$ , <sup>2)</sup>  $P<0.01$ , 与空白组比较; <sup>3)</sup>  $P<0.05$ , <sup>4)</sup>  $P<0.01$ , 与模型组比较

表2 各组大鼠尿沉渣中红细胞数量变化情况( $\bar{x}\pm s, n=8$ )

组别	红细胞数量(个)				
	第8周	第9周	第10周	第11周	第12周
空白	2.2±0.4	0.9±0.7	1.0±0.5	1.5±0.5	2.3±1.0
模型	4.6±2.4 <sup>2)</sup>	5.0±1.7 <sup>2)</sup>	7.1±0.8 <sup>2)</sup>	6.5±0.4 <sup>2)</sup>	7.5±0.7 <sup>2)</sup>
LGT	4.0±1.0 <sup>2)</sup>	5.1±1.6 <sup>2)</sup>	5.6±1.0 <sup>4)</sup>	5.9±0.8 <sup>2)</sup>	4.1±1.1 <sup>1),4)</sup>
TT	5.7±1.9 <sup>2)</sup>	4.4±0.6 <sup>2),3)</sup>	5.0±0.8 <sup>2),4)</sup>	4.5±0.3 <sup>1),4)</sup>	2.0±0.6 <sup>4)</sup>
TTW	4.8±0.4 <sup>2)</sup>	6.6±2.0 <sup>2)</sup>	5.0±0.7 <sup>2),3)</sup>	3.4±0.7 <sup>4)</sup>	3.5±0.9 <sup>4)</sup>
TT20	6.0±0.8 <sup>2)</sup>	5.3±1.2	5.1±0.4 <sup>2),4)</sup>	3.4±1.1 <sup>4)</sup>	2.8±0.7 <sup>4)</sup>
TT50	3.9±1.8 <sup>1)</sup>	6.9±1.3 <sup>2)</sup>	5.6±0.5 <sup>2),3)</sup>	3.9±0.8 <sup>4)</sup>	3.2±1.0 <sup>1),4)</sup>

<sup>1)</sup>  $P<0.05$ , <sup>2)</sup>  $P<0.01$ , 与空白组比较; <sup>3)</sup>  $P<0.05$ , <sup>4)</sup>  $P<0.01$ , 与模型组比较

**3.5 血液生化指标** 各组血清总蛋白(TP)、血清清蛋白(ALB)无统计学差异。与空白组相比,模型组和LGT组的ALT、AST水平升高( $P<0.05$ ),提示CCl<sub>4</sub>对造模的大鼠肝脏产生了影响。各给药组的ALT、AST水平低于模型组,TT50组的ALT水平、TT组的AST水平降低明显,表明百蕊草水提取物及其中等极性部位对造模引起的IgAN大鼠肝损伤有一定的保护作用。与空白组相比,模型组、LGT组、TT20组、TTW组的Scr、BUN水平升高( $P<0.05$ ),而TT组、TT50组则无显著性差异;与模型组相比,TT组、TT50组的Scr、BUN水平降低( $P<0.05$ ),提示百蕊草水提取物及其中等极性部

位对IgAN大鼠的肾脏具有保护作用,雷公藤多苷则作用不明显(表3)。

**3.6 肾组织免疫荧光检测** 空白组肾组织镜下除1只大鼠显示黄绿色荧光,其他大鼠均不出现荧光,系膜区无IgA沉积。模型组大鼠肾小球系膜区均出现线状中等荧光或团块状较强荧光,提示系膜区有IgA沉积。各给药组镜下荧光强度减弱,其中TT组和TT50组只有少数肾小球系膜区显示线状或颗粒状IgA沉积,较模型组明显减弱,表明百蕊草水提取物及其中等极性部位能有效改善免疫复合物在系膜区的沉积(表4)。

**3.7 肾组织光镜观察** 各组大鼠肾脏肉眼观察均

表3 大鼠血液生化指标检测结果( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

组别	TP(g/L)	ALB(g/L)	ALT(U/L)	AST(U/L)	Scr ( $\mu$ mol/L)	BUN(mmol/L)
空白	60.52 $\pm$ 2.34	31.22 $\pm$ 2.03	61.86 $\pm$ 13.09	93.0 $\pm$ 11.62	23.86 $\pm$ 2.12	6.39 $\pm$ 0.72
模型	60.13 $\pm$ 3.18	31.38 $\pm$ 1.06	69.75 $\pm$ 9.77 <sup>1)</sup>	105.00 $\pm$ 24.82 <sup>1)</sup>	30.25 $\pm$ 2.25 <sup>1)</sup>	8.2 $\pm$ 1.4 <sup>1)</sup>
LGT	61.86 $\pm$ 3.13	32.29 $\pm$ 0.95	66.57 $\pm$ 12.29 <sup>1)</sup>	116.43 $\pm$ 27.67 <sup>1)</sup>	31.00 $\pm$ 3.46 <sup>1)</sup>	8.4 $\pm$ 0.7 <sup>1)</sup>
TT	61.71 $\pm$ 3.25	32.14 $\pm$ 1.21	63.29 $\pm$ 5.68	90.57 $\pm$ 7.66 <sup>2)</sup>	25.03 $\pm$ 4.12 <sup>2)</sup>	6.5 $\pm$ 1.0 <sup>2)</sup>
TTW	59.71 $\pm$ 1.60	30.86 $\pm$ 1.07	64.00 $\pm$ 20.30	102.29 $\pm$ 30.54	29.00 $\pm$ 1.41 <sup>1)</sup>	7.10 $\pm$ 0.80
TT20	61.43 $\pm$ 2.30	32.14 $\pm$ 1.46	62.71 $\pm$ 7.80	96.14 $\pm$ 9.69	28.00 $\pm$ 2.89 <sup>1)</sup>	7.81 $\pm$ 1.08 <sup>1)</sup>
TT50	60.86 $\pm$ 2.61	31.29 $\pm$ 1.11	57.29 $\pm$ 7.52 <sup>2)</sup>	99.57 $\pm$ 12.95	26.37 $\pm$ 5.62 <sup>2)</sup>	6.80 $\pm$ 0.94 <sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> P<0.05,与空白组比较;<sup>2)</sup> P<0.05,与模型组比较

表4 大鼠肾组织免疫荧光检测结果(n=8)

组别	荧光强度			
	(-)	(+)	(++)	(+++)
空白组	7	1	0	0
模型组	0	2	2	4
LGT组	0	4	1	1
TT组	4	3	1	0
TTW组	1	3	1	2
TT20组	1	2	3	2
TT50组	5	3	0	0

无明显异常。空白组肾小球、肾小管形态与结构正常,肾间质除个别有局灶性慢性炎细胞浸润外,均未见明显病理变化。模型组全部大鼠肾小球毛细血管

基底膜不同程度增生,系膜增宽,肾小球囊腔扩大,有的可见肾小球内皮细胞数量增加,肾小囊变窄;全部大鼠肾近端小管存在不同程度的上皮细胞水样变性、胞核肿大呈淡染,有的肾小管萎缩,近曲小管管腔闭塞,上皮细胞排列不规则,相互靠拢;所有动物的肾间质细胞出现灶性增生。各治疗组与模型组比较,肾小球囊腔扩大、系膜基质增生和肾小管的损伤状况明显减轻。LGT组、TT组和TT50组均表现为肾小球基底膜轻度增生,肾小囊轻度扩大;近端小管上皮细胞水样变性、胞核肿胀。TT20及TTW组显示肾小球毛细血管扩张,基底膜变厚,肾小囊扩大,囊壁变厚;肾小管萎缩,近曲小管管腔闭塞,肾小管周围出现少量基质细胞增生(图1)。

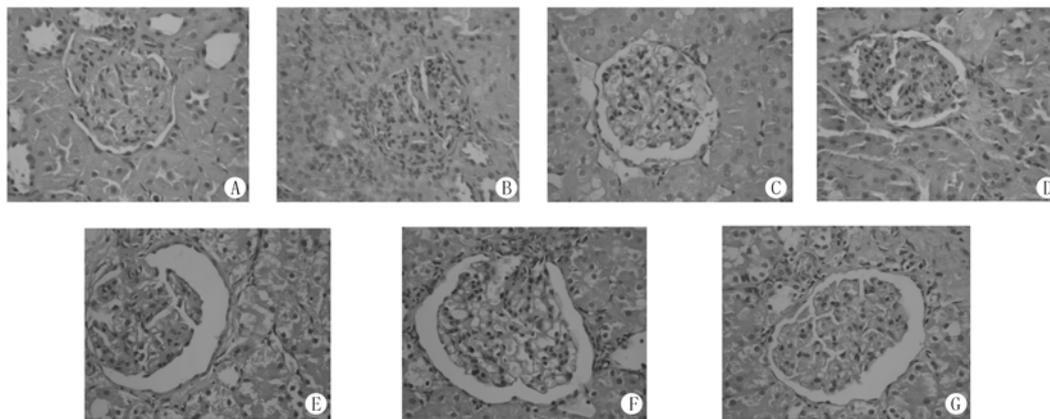


图1 各组大鼠病理组织检查结果(HE染色,×200)

A. 空白组;B. 模型组;C. LGT组;D. TT组;E. TTW组;F. TT20组;G. TT50组

#### 4 讨论

肾组织系膜区免疫复合物沉积所致的IgAN是全世界最常见的肾小球疾病。本研究采用改进后的大鼠IgAN模型<sup>[3]</sup>,实验结果显示,模型动物的24h尿蛋白、尿沉渣中红细胞计数、血清中肌酐、尿素氮水平均显著升高,符合IgAN动物模型<sup>[4,5]</sup>的特点。在病理变化方面,由于在免疫原(BSA)的刺激下,机体产生的IgA沉淀物沉积在肾小球毛细血管基底膜上,使基底膜出现不同程度的增厚,肾组织系膜区

免疫荧光显著增强。基底膜的增厚使得肾小球球后毛细血管的血流量减少,引起肾小管上皮缺血、缺氧,从而发生肾小管的变性,并诱发间质细胞的增生,导致肾小管狭窄、萎缩、闭塞。肾小管重吸收能力下降,反过来导致肾小球囊腔内压力增大,球囊扩大。上述病理变化均符合IgAN临床分类的特征<sup>[6]</sup>,提示本次实验造模成功。与文献报道<sup>[3]</sup>不同的是,模型动物的ALT、AST水平升高,提示造模过程中CCl<sub>4</sub>对大鼠肝脏产生了一定程度的损害,而百蕊草对造模

(下转第35页)

且药-时曲线高度重合。自制缓释片的相对生物利用度为109.07%，初步判定自制缓释片具有与参比制剂(Keppra XR)相类似的动物体内药动学特征。

### 【参考文献】

- [1] Cramer JA, Glassman M, Rienzi V. The relationship between poor medication compliance and seizures[J]. *Epilepsy Behav*, 2002, 3(4):338-342.
- [2] Claxton AJ, Cramer J, Pierce C. A systematic review of the

associations between dose regimens and medication compliance[J]. *Clin Ther*, 2001, 23(8):1296-1310.

- [3] Bialer M. Extended-release formulations for the treatment of epilepsy[J]. *CNS Drugs*, 2007, 21(9):765-774.
- [4] Sommerville KW. Bioequivalence in development of antiepileptic drugs[J]. *Epilepsy Res*, 2006, 68(1):82-85.
- [5] 何小爱, 刘智, 朱刚直. 左乙拉西坦片在健康人体内的生物等效性研究[J]. *中国药房*, 2013, 24(10):907-909.

[收稿日期] 2014-03-28 [修回日期] 2014-09-17  
[本文编辑] 顾文华

(上接第31页)

引起的动物肝损伤具有较好的治疗作用。

IgAN目前尚无有效的治疗方法,临床一般采用免疫抑制剂、抗血小板聚集、控制诱发因素等方式治疗。中医学把IgAN归属于“尿血、腰痛、虚劳”等范畴,其病机为风湿郁热、痹阻肾络之“肾痹症”,在治疗上以清热祛湿、宣痹通络立法。百蕊草具有清热解毒、消炎利湿的功效,在1g/kg剂量下对阿霉素肾病大鼠展现出良好的抗炎、利尿、降低尿蛋白浓度作用<sup>[2]</sup>。本实验结果显示,在同等剂量下,百蕊草水提取物(TT组)和大孔树脂50%乙醇洗脱部位(TT50组)不仅能够有效降低IgAN大鼠的尿蛋白、尿沉渣中红细胞数量、血清肌酐和尿素氮水平,而且可以减少肾组织系膜区的免疫复合物沉积,改善肾小球、肾小管的损伤状况,对IgAN大鼠具有良好的治疗作用,其效果优于阳性对照雷公藤多苷,而其他部位则效果不明显。上述结果表明,以大孔树脂吸附,不同浓度乙醇梯度洗脱作为活性部位分离和富集的方法较为合理,中等极性的大孔树脂50%乙醇洗脱组分为其有效成分富集部位。

百蕊草的主要化学成分为以山奈酚为母核的黄酮苷类化合物,其中含量较高的是紫云英苷和百蕊草素I<sup>[7,8]</sup>。研究发现百蕊草的乙酸乙酯部位为其抗炎、止痛作用的有效部位,其主要有效成分为山奈酚和紫云英苷<sup>[9]</sup>。现代药理研究表明,山奈酚及其黄酮苷类化合物具有良好的抗肿瘤、抗感染、抗病毒和抗炎作用。山奈酚的抗炎作用可能与其作为诱导性一氧化氮合成酶抑制剂(iNOS)有关,能够抑制上皮细胞内NO的释放和iNOS的表达。山奈酚还是一种天然的免疫抑制剂,能非竞争性地抑制钙调磷酸酶(calcineurin, CN)的活性,且不依赖中介蛋白<sup>[10]</sup>。山奈酚能直接作用于T淋巴细胞并抑制Th1型细胞因子的产生,从而抑制CD8<sup>+</sup>淋巴细胞在体外的形成,因此可用于治疗急性移植抗宿主性疾病<sup>[11]</sup>。实验显示,经AB-8大孔树脂吸附后以40%乙醇洗脱部位可获得含量较高的紫云英苷<sup>[12]</sup>,

由此可推断本实验中,百蕊草提取物及TT50中,对IgAN具有良好疗效的活性成分可能是以紫云英苷为代表的黄酮苷类化合物。此类黄酮苷水溶性更好,更易被胃肠道吸收,可能作为前药,在进入体内后C-3位葡萄糖水解,代谢为山奈酚而发挥作用,但其确切的作用机制值得进一步研究。

### 【参考文献】

- [1] Donadio JV, Grande JP. IgA nephropathy[J]. *N Engl J Med*, 2002, 347(10):738-748.
- [2] 宣伟东,唐大海,卞俊,等. 百蕊草对阿霉素肾病大鼠治疗作用的实验研究[J]. *药实践杂志*, 2012, 30(6):443-446.
- [3] 汤颖,娄探奇,成彩联,等. 实验性IgA肾病模型的改进[J]. *中山大学学报(医学科学版)*, 2006, 27(2):184-187.
- [4] 彭胜男,曾慧红,傅爱香,等. 大鼠IgA肾病模型肾脏变化分析[J]. *临床与实验病理学杂志*, 2012, 28(5):482-485.
- [5] 张君,姜欣,王莉,等. 消斑愈肾颗粒对大鼠IgA肾病免疫调节的研究[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2002, 8(4):37-38.
- [6] 余英豪,郑志勇. IgA肾病分类的国际共识:2009牛津分类法介绍[J]. *临床与实验病理学杂志*, 2011, 27(3):227-229.
- [7] Lee HK, Kim KH, Choi SU, et al. Phytochemical constituents of *Thesium chinense* Turcz and their cytotoxic activities *in vitro*[J]. *Nat Prod Sci*, 2009, 15(4):246-249.
- [8] 刘洋, Parveen Z, 邓玉林, 等. 百蕊草中黄酮类化合物的研究[J]. *中药材*, 2009, 32(4):518-520.
- [9] Parveen Z, Deng Y, Saeed MK, et al. Antiinflammatory and analgesic activities of *Thesium chinense* Turcz extracts and its major flavonoids, kaempferol and kaempferol-3-O-glucoside[J]. *Yakugaru Zasshi*, 2007, 127(8):1275-1279.
- [10] Wang H, Zhou CL, Lei H, et al. Kaempferol: a new immunosuppressant of calcineurin[J]. *IUBMB Life*, 2008, 60(8):549-554.
- [11] Okamoto I, Iwaki K, Koya-Miyata S, et al. The flavonoid kaempferol suppresses the graft-versus-host reaction by inhibiting type 1 cytokine production and CD8<sup>+</sup> T cell engraftment[J]. *Clin Immunol*, 2002, 103(2):132-144.
- [12] Parveen Z, Deng YL, Muhammad KS, et al. Optimizations of conditions for recovery of Astragaloside from *Thesium chinense* Turcz[J]. *J Appl Sci*, 2006, 6(13):2829-2832.

[收稿日期] 2013-12-04 [修回日期] 2014-07-03  
[本文编辑] 顾文华