

- 77-78.
- [7] 张定华, 史晓伟, 张东鹏, 等. 糖肾康含药血清对高糖诱导小鼠肾小球系膜细胞增殖及周期的影响[J]. 中药药理与临床, 2017, 33(4): 118-121.
- [8] 施新猷. 现代医学实验动物学[M]. 北京: 人民军医出版社, 2000: 333-335.
- [9] 于小函, 邸波. 肾小球系膜细胞与糖尿病肾病[J]. 医学研究杂志, 2015, 44(9): 7-9.
- [10] 王亚军, 孟建国, 黄淑凤, 等. 芪药消渴胶囊对高糖诱导肾小球系膜细胞增殖的抑制作用[J]. 河北中医, 2012, 34(3): 434-436.
- [11] 陈靖. 糖尿病肾病早期诊断及肾活检指征[J]. 肾脏病与透析肾移植杂志, 2011, 20(4): 349-351.
- [12] 王雪英. 水蛭、地龙注射液治疗糖尿病肾病血流变学的评价[J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2002, 3(1): 47.
- (责任编辑: 冯天保, 钟志敏)

## 不同组方艾康片对细菌性和急性血清病肾炎的疗效研究

徐玉辉<sup>1</sup>, 高英杰<sup>1</sup>, 时宇静<sup>1</sup>, 孙静<sup>1</sup>, 毛鑫<sup>1</sup>, 王彦礼<sup>1</sup>, 曲天歌<sup>2</sup>, 崔晓兰<sup>1</sup>

1. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700; 2. 北京中医药大学东直门医院, 北京 100700

**[摘要]** 目的: 研究不同组方的艾康片在实验动物肾炎模型中的疗效, 以获得更优药物组方。方法: SD 大鼠随机分为假手术组、模型组、阿莫西林组、原方大剂量组、原方小剂量组、缺苦参大剂量组、缺苦参小剂量组, 每组 10 只; 膀胱内注射大肠杆菌 (*E. coli*) 制备细菌性肾炎模型, 治疗后培养膀胱穿刺液; 日本大耳白兔随机分为正常组、模型组、雷公藤片组、原方大剂量组、原方小剂量组、缺苦参大剂量组、缺苦参小剂量组, 每组 6 只, 注射牛血清白蛋白制备急性血清病肾炎模型, 检测循环系统免疫复合物 (Circulating immune complexes, CIC)、血肌酐 (Creatinine, Cr) 和尿素氮 (Blood urea nitrogen, BUN)。结果: 在感染性细菌性肾炎模型中, 与假手术组比较, 模型组大鼠的膀胱穿刺液全部有细菌生长, 提示造模成功; 与模型组比较, 阿莫西林组、原方小剂量组、缺苦参小剂量组大肠杆菌培养阳性的大鼠比例均明显下降 ( $P < 0.05$ )。在急性血清病肾炎模型中, 与模型组比较, 所有给药组的血清 CIC 含量均明显降低 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。结论: 艾康片 2 种组方的较小剂量对于 *E. coli* 感染性大鼠模型具有较为显著的疗效; 在急性血清病肾炎模型中 2 种组方在降低 CIC 方面都显示出了有效性。综合 2 种疾病模型来看, 原方药效更优。

**[关键词]** 艾康片; 肾炎; 循环系统免疫复合物 (CIC); 血肌酐 (Cr); 尿素氮 (BUN); 动物实验; 大鼠; 日本大耳白兔

**[中图分类号]** R692.3 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0256-7415 (2018) 12-0004-04

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2018.12.002

## Study of Effect of Different Prescriptions of AiKang Tablets for Bacterial and Acute Serum Nephritis

XU Yuhui, GAO Yingjie, SHI Yujing, SUN Jing, MAO Xin, WANG Yanli, QU Tian'ge, CUI Xiaolan

**Abstract:** **Objective:** To observe the effect of different prescriptions of AiKang tablets in the models of experimental animal nephritis. **Methods:** Divided SD rats randomly into the sham operation group, the model group, the amoxicillin group, the high-dose group of the original prescription, the small-dose group of the original prescription, the high-dose group lacking Kushen, and the small-dose group lacking Kushen, 10 rats in each group. Made acute pyelonephritis models by means of intravesical injection of *Escherichia coli* (*E. coli*) and cultured bladder puncture drainage after treatment. Divided Japanese white rabbits randomly into the normal group, the model group, the tripterygium tablets group, the high-dose

**[收稿日期]** 2018-06-04

**[基金项目]** “重大新药创制”科技重大专项项目 (2014ZX09304306-006)

**[作者简介]** 徐玉辉 (1980-), 女, 助理研究员, 研究方向: 中药药理学。

**[通信作者]** 崔晓兰, E-mail: cuixiaolan2812@126.com。

group of the original prescription, the small-dose group of the original prescription, the high-dose group lacking Kushen, and the small-dose group lacking Kushen, 6 rabbits in each group. Prepared models of acute serum sickness nephritis by injecting with bovine serum albumin, and detected circulating immune complexes (CIC), creatinine (Cr) and blood urea nitrogen (BUN). **Results:** In the models of infectious pyelonephritis, compared with the sham operation group, all the bladder puncture drainage in the model group had bacterial growth, suggesting successful modeling; compared with the model group, the proportions of rats of positive culture of escherichia coli in the amoxicillin group, the small-dose group of the original prescription and the small-dose group lacking Kushen were all significantly decreased ( $P < 0.05$ ). In the models of acute serum sickness nephritis, compared with the model group, the content of serum CIC in all drug-administered groups was evidently reduced ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). **Conclusion:** The small-dose groups of Aikang tablets in the two different prescriptions have significant effects for infectious rat models with escherichia coli; in the models of acute serum sickness nephritis, the two different prescriptions show effectiveness in reducing CIC. In view of the two disease models, the original prescription is more effective.

**Keywords:** Aikang tablets; Nephritis; Circulatory immune complex (CIC); Creatinine (Cr); Blood urea nitrogen (BUN); Animal experiment; Rats; Japanese white rabbits

艾康临床经验方原方由川芎、茯苓、甘草、灵芝、金银花、野菊花、苦参等 13 味药组成。艾康去苦参方由不含苦参的其它 12 味药组成, 以避免苦参中含有的苦参碱、槐定碱、金雀花碱等毒性成分。目前缺乏艾康临床经验方用于治疗肾炎的研究, 尤其是缺乏组方中的苦参在治疗肾炎时的功效研究<sup>[1-2]</sup>。已知肾炎的病因有很多, 但是主要以细菌性肾炎和免疫性肾炎为主<sup>[3-4]</sup>。本研究分别以大肠杆菌(*E. coli*)导致的细菌性肾炎大鼠模型和日本大耳白兔急性血清病肾炎模型为研究对象, 以比较含苦参和去苦参组方在肾炎模型中的药效。

## 1 材料与方法

**1.1 实验动物及分组** SPF 级雄性健康 SD 大鼠, 70 只, 体质量( $220 \pm 10$ ) g, 购自北京维通利华试验动物技术有限公司, 动物许可证号: SCXK(京)2016-0011。随机分为假手术组、模型组、阿莫西林组、原方大剂量组、原方小剂量组、缺苦参大剂量组、缺苦参小剂量组, 每组 10 只。

日本大耳白兔(普通级), 42 只, 体质量 2.0~2.5 kg, 雌雄各半, 购自北京金牧阳实验动物公司, 动物许可证号: SCXK(京)2015-0005。随机分为正常组、模型组、雷公藤片组、原方大剂量组、原方小剂量组、缺苦参大剂量组、缺苦参小剂量组, 每组 6 只。

**1.2 实验药物及给药** 艾康片(批号: 20170223-5)和艾康缺苦参样品(批号: 20170217)由中国中医科学院中药研究所中药制剂研究中心生产。生药量都为: 1 g/mL。原方样品使用的大、小剂量分别为大鼠 1.4 g/(kg·d)和 0.7 g/(kg·d), 日本大耳白兔 0.8 g/(kg·d)和 0.4 g/(kg·d), 相当于人 0.25 g/(kg·d)和 0.13 g/(kg·d)。缺苦参样品使用的大、小剂量分别为: 大鼠 1.2 g/(kg·d)和 0.6 g/(kg·d), 日本大耳白兔 0.72 g/(kg·d)和 0.36 g/(kg·d), 相当于人 0.23 g/(kg·d)和 0.12 g/(kg·d)。阿莫西林(感染模型的阳性药)为哈药集团制药总厂产品, 产品批号: A1611005, 规格

0.5 g。人的使用剂量为 0.03 g/(kg·d); 大鼠的使用剂量为 0.18 g/(kg·d)。雷公藤多苷片(免疫模型的阳性药)为上海复旦复华有限公司产品, 产品批号: 150502, 规格 10 mg。人的使用剂量为 0.02 g/(kg·d); 日本大耳白兔的使用剂量为 4 mg/(kg·d)。

**1.3 实验菌株** 大肠杆菌(*E. coli*, 菌株编号: 1.0090)购自中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心, 在中国中医科学院中药研究所药理研究室进行传代, -80℃冰箱保存。

**1.4 实验试剂** 营养肉汤购自北京奥博星生物技术有限公司, 用于配制细菌培养液; 麦康凯琼脂购自中国药品生物制品检定所, 用于培养并计数膀胱穿刺液中的 *E. coli*; 用于制备大耳白兔的急性血清病免疫性肾炎模型的牛血清白蛋白(BSA)购自 VETEC 公司; 兔循环系统免疫复合物(Circulating immune complexes, CIC)检测试剂盒购自上海酶联生物科技有限公司; 动力法测定血尿素氮(Blood urea nitrogen, BUN)试剂盒和酶法测定肌酐(Creatinine, Cr)试剂盒购自北京万泰德瑞诊断技术有限公司, 全自动生化分析仪(TBA-40FR)购自日本东芝集团。

**1.5 大肠杆菌感染的肾炎模型制备及指标检测方法** 参考文献[5~7], 大鼠禁食水 24 h 后, 每只大鼠腹腔注射 10 mL/kg 3.5%水合氯醛麻醉。麻醉后动物仰卧固定手术台上, 腹部皮肤消毒, 下腹正中切开长约 2 cm, 逐层切开腹壁进入腹腔, 暴露膀胱, 用动脉夹夹闭阴茎, 之后结扎阴茎。除假手术组同等条件下膀胱注射生理盐水外, 其余各组用 1 mL 注射器向膀胱内缓慢注入 0.75 mL 浓度为  $1 \times 10^8$  个/mL 的 *E. coli* 菌液。然后清理腹腔, 逐层缝合腹壁切口, 2 h 后拆去阴茎结扎线, 6 h 后恢复饮水和喂食。手术后 24 h, 各给药组开始给药, 10 mL/(kg·d), 连续给药 5 天, 假手术组和模型组同等条件下灌胃蒸馏水。

给药 5 天后, 无菌条件下抽取膀胱穿刺液 0.1 mL, 并把穿刺液接种于麦康凯培养基上, 恒温培养箱 37℃培养 24 h, 观

察记录有无 E. coli 菌落生长, 有生长记为阳性, 并计算菌落数。

1.6 急性血清病肾炎模型的制备及 CIC、Cr 和 BUN 的测定参考文献[8~9], 将 BSA 用无菌生理盐水溶解, 除正常组, 其余各组以 250 mg/kg(2 mL/kg)的剂量 1 次经家兔耳缘静脉注射。正常组, 同等条件下, 耳缘静脉注射生理盐水。完成造模后, 分笼饲养。造模后的第 2 天灌胃给药, 给药量 5 mL/(kg·d), 正常组和模型组同等条件下灌胃蒸馏水。

造模后第 10 天从耳缘静脉处取清晨空腹家兔血 3 mL, 静置 2 h, 3 000 r/min, 离心 20 min, 分离血清, 于 -70℃ 冰箱中保存。ELISA 试剂盒检测 CIC 含量。全自动生化分析仪测定血 Cr 和 BUN 含量。

1.7 统计学方法 采用 SPSS17.0 统计分析软件进行数据分析。膀胱穿刺液的细菌培养阳性率的组间比较采用  $\chi^2$  检验。CIC、Cr 和 BUN 的测定结果的组间比较采用 *t* 检验, 数据用 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示。2 组间数据用 *t* 检验, 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 各组大鼠膀胱穿刺液细菌阳性率及菌落平均数量结果比较 见表 1。与假手术组比较, 模型组大鼠的膀胱穿刺液细菌阳性率及菌落平均数量均上升( $P < 0.01$ ); 与模型组比较, 阿莫西林组、原方小剂量组和缺苦参小剂量组大鼠的膀胱穿刺液细菌阳性率及菌落平均数量下降( $P < 0.05$ ); 与阿莫西林组比较, 缺苦参大剂量组大鼠的膀胱穿刺液细菌阳性率及菌落平均数量均升高( $P < 0.01$ )。

表 1 各组大鼠膀胱穿刺液细菌阳性率及菌落平均数量结果比较

组别	n	阳性率(%)	菌落平均数量(个/mL)
假手术组	10	0	0
模型组	10	100 <sup>①</sup>	215 <sup>①</sup>
阿莫西林组	10	20 <sup>②</sup>	30 <sup>②</sup>
原方大剂量组	10	60	203
原方小剂量组	10	50 <sup>②</sup>	76 <sup>②</sup>
缺苦参大剂量组	10	100 <sup>③</sup>	209 <sup>③</sup>
缺苦参小剂量组	10	50 <sup>②</sup>	100 <sup>②</sup>

与假手术组比较, ① $P < 0.01$ ; 与模型组比较, ② $P < 0.05$ ; 与阿莫西林组比较, ③ $P < 0.01$

2.2 各组日本大耳白兔 CIC、Cr、BUN 检测结果比较 见表 2。与假手术组比较, 模型组日本大耳白兔 CIC 显著升高( $P < 0.01$ ), BUN、Cr 没有差异; 与模型组比较, 雷公藤片组日本大耳白兔、原方大剂量组、原方小剂量组、缺苦参大剂量组、缺苦参小剂量组 CIC 显著降低, 差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), BUN、Cr 没有差异; 与雷公藤片组比较, 各组日本大耳白兔血清 CIC、BUN、Cr 均没有差异。

表 2 各组日本大耳白兔 CIC、Cr、BUN 检测结果比较

组别	n	CIC( $\mu$ g/mL)	Cr( $\mu$ mol/L)	BUN(mmol/L)
假手术组	6	16.41 $\pm$ 3.82	88.83 $\pm$ 11.37	7.73 $\pm$ 1.13
模型组	6	22.15 $\pm$ 2.58 <sup>①</sup>	91.50 $\pm$ 11.83	9.50 $\pm$ 2.72
雷公藤片组	6	15.43 $\pm$ 6.56 <sup>②</sup>	91.83 $\pm$ 22.94	8.22 $\pm$ 2.89
原方大剂量组	6	15.33 $\pm$ 6.63 <sup>②</sup>	89.83 $\pm$ 14.57	7.93 $\pm$ 2.13
原方小剂量组	6	15.39 $\pm$ 2.88 <sup>③</sup>	105.83 $\pm$ 51.92	12.98 $\pm$ 11.65
缺苦参大剂量组	6	15.50 $\pm$ 4.18 <sup>③</sup>	94.83 $\pm$ 41.45	8.73 $\pm$ 4.21
缺苦参小剂量组	6	17.10 $\pm$ 2.37 <sup>③</sup>	128.00 $\pm$ 45.26	15.03 $\pm$ 8.03

与假手术组比较, ① $P < 0.01$ ; 与模型组比较, ② $P < 0.05$ ; ③ $P < 0.01$

## 3 讨论

肾炎存在多种病因, 以感染性和急性免疫性为主。而艾康组方在这 2 种不同病因的肾炎中起作用的方式可能存在差别<sup>[4,10]</sup>。有关中药在肾炎中的组方研究已经有较多的报道<sup>[9,11-12]</sup>。但是有关艾康组方在肾炎方面的研究则较少。本研究在大鼠和日本大耳白兔中成功地制备了上述 2 种肾炎模型, 然后给予不同组方和剂量大小的艾康片, 以观察其对肾炎初步的干预效果。研究结果发现短期内艾康片对由 E. coli 感染引起的肾炎动物模型效果较为明显, 对急性血清病肾炎动物模型血清中的 CIC 水平有明显的降低作用。

在研究艾康片对由 E. coli 感染引起的肾炎有效性时, 本研究首先观察了培养的定性结果, 即是否有 E. coli 在培养基上生长。在此基础上, 我们又分析了阳性培养结果中的 E. coli 菌落数在不同处理组之间的差别, 结果进一步说明小剂量组膀胱穿刺液中细菌数较少, 大剂量组中的缺苦参大剂量组最多, 由此初步证明小剂量组的疗效更好。与复方蛇舌草冲剂和血尿安胶囊试验中小剂量效果更好的研究结果基本一致<sup>[13-14]</sup>。

在采用艾康组方治疗由 BSA 引起的急性血清病免疫性肾炎时, 与模型组比较, CIC 在血清中的含量在各用药组中都有明显降低。由于血清 CIC 能够介导产生毛细血管内增生性肾小球肾炎, 其降低对于治疗肾小球肾炎及预后意义重大<sup>[15]</sup>。BUN 和 Cr 的变化不大可能原因是模型组和正常对照组之间差异不明显造成的, 也不能排除本研究存在模型不够和给药时间短等原因, 为进一步明确艾康组方对免疫性肾炎的有效性, 在今后的实验研究中应增加动物模型以及延长给药时间。

本研究成功构建了 E. coli 感染引起的细菌性肾炎大鼠模型和 BSA 引起的急性血清病肾炎日本大耳白兔模型, 在此基础上通过进一步验证 2 种不同艾康组方及其剂量大小对肾炎的有效性, 证明艾康组方对感染性肾炎效果较为明显, 对急性血清病肾炎的有效性在血清 CIC 水平得到体现。

综合2个试验,2种组方都有效,但原方更优。方中苦参大苦大寒,其退热泄降,荡涤湿火之效,能杀湿热所生之毒,较之黄芩、黄连力量益烈,具有抗病原微生物、利尿等作用<sup>[6]</sup>。野菊花、金银花、薄荷疏风清热,以清肺卫之热毒;茯苓、苍术健脾祛湿,以祛脾胃之湿滞。共奏清热燥湿解毒之效。湿热一去,则阳亦衰微矣。故大队苦寒之中,少佐丁香、肉桂补火助阳以为反佐,防湿去阳微而功亏一篑,且少火亦可生气,可保人之元阳不熄。黄芪、灵芝益气扶正,固本培元。温阳与益气共用,可防止诸药苦寒太过,伤人脾胃。川芎、木香活血行气,通达气血,使气行血畅,壅滞之湿热毒邪自可随气血而去。甘草甘平缓急,调和诸药。苦参的活性成分复杂,苦参中苦参碱、氧化苦参碱、槐定碱、金雀花碱等毒性有确切报道<sup>[7]</sup>,临床也有苦参应用中毒的报道<sup>[8-10]</sup>,但是去除苦参后,疗效有所降低,因此可对缺苦参方继续进行研究,找到更有效的用药剂量和药物配伍。

#### [参考文献]

- [1] 武志明. 中药治疗系膜增生性肾小球肾炎的研究进展[J]. 中医学报, 2010, 25(3): 581-583.
- [2] 张雅兰, 程玉婷, 许正锦. 慢性肾炎的中医药治疗进展[J]. 光明中医, 2017, 32(22): 3235-3237.
- [3] 姚静, 杨彦坤, 杨柳, 等. 急性肾盂肾炎发病机制的研究进展[J]. 医学综述, 2017, 23(6): 1071-1075.
- [4] 燕宇. 感染相关性肾小球肾炎 - 老问题、新认识[J]. 临床内科杂志, 2018, 35(2): 77-80.
- [5] 侯芳玉, 高庆英, 郭超. 大鼠急性逆行性肾盂肾炎模型的制作[J]. 中国实验动物学杂志, 1998, 8(1): 31-34.
- [6] 何立群, 龚学忠, 郑东平, 等. 单纯膀胱内注射不结扎输尿管制备急性肾盂肾炎大鼠模型[J]. 上海实验动物科学, 2003, 23(3): 146-147.
- [7] 刘承, 张筱雨, 端梦莹, 等. 肾小球肾炎动物模型研究进展[J]. 吉林医药学院学报, 2013, 34(4): 298-301.
- [8] 董云鹏, 孟祥琪, 李保玉, 等. BSA 诱发家兔急性肾小球肾炎模型的研究[J]. 吉林医学院学报, 1983, 4(1): 55-59.
- [9] 孔欣冰, 张玉娟. 肾炎四味片对家兔急性血清病肾炎的免疫调节作用[J]. 黑龙江医药科学, 2001, 24(6): 30.
- [10] 吕金雷, 丁国华. 天然免疫分子在肾脏炎症反应及间质纤维化中的作用[J]. 中华肾脏病杂志, 2007, 23(10): 685-688.
- [11] 王文余, 赵育莹, 毕柳, 等. 雷公藤多甙与新鲜血浆联合应用治疗复合物型肾小球肾炎实验研究[J]. 哈尔滨医科大学学报, 1991, 31(2): 103-107.
- [12] 吴金国, 陈志龙, 张黎明. 慢性肾炎中药治疗研究进展[J]. 中医药信息, 2001, 18(4): 5-8.
- [13] 徐立然, 李建国. 复方蛇舌草冲剂治疗大鼠急性肾盂肾炎模型的病理学实验研究[J]. 中医研究, 1993(3): 17-19.
- [14] 李孟林, 梁斌, 唐靖雯, 等. 热淋清颗粒对肾盂肾炎模型大鼠的药效学研究[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(2): 153-155.
- [15] 李春珍, 张东风. 免疫复合物介导的儿童毛细血管内皮细胞增生性肾小球肾炎研究进展[J]. 中华儿科杂志, 2017, 55(3): 231-234.
- [16] 王绪平, 黄孝闻, 王妮娜, 等. 苦参配伍甘草的水煎液对小鼠急性毒性的影响研究[J]. 中华中医药学刊, 2015, 33(7): 1653-1655.
- [17] 戴五好, 钱利武, 王丽丽, 等. 苦参碱、氧化苦参碱对小鼠的毒性研究[J]. 安徽医药, 2012, 16(7): 904-905.
- [18] 王晓燕, 梁磊, 常建兰, 等. 苦参碱对小鼠的毒性研究[J]. 南方医科大学学报, 2010, 30(9): 2154-2155.
- [19] 岑艳, 朱婕好. 苦参碱注射液致不良反应3例[J]. 中国药物滥用防治杂志, 2012, 18(4): 245.

(责任编辑: 冯天保, 钟志敏)