

连钱草提取物对肾结石模型大鼠的防治作用

杨念云, 刘培, 郭建明(南京中医药大学江苏省方剂高技术研究重点实验室, 南京 210023)

摘要: 目的 观察连钱草提取物对肾结石模型大鼠的防治作用。方法 大鼠饲喂含乙二醇和氯化铵的水建立肾结石模型, 测定给药后各组大鼠 24 h 排尿量, 血清钙的含量, 以及肾组织钙和草酸的含量。观察肾组织病理学变化。结果 连钱草提取物可显著增加肾结石大鼠 24 h 排尿量, 明显降低肾组织草酸含量, 以及血清和肾组织中钙含量, 减少草酸钙结晶在肾组织中的沉积。结论 连钱草提取物可以增加尿量, 降低血清及肾组织中钙含量; 减轻大鼠肾组织因结石引起的损伤和病变, 减少肾内草酸钙结晶, 从而防治肾结石。

关键词: 连钱草; 肾结石; 草酸钙

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2014)08-0918-03

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2014.08.004

Preventive Effects of *Glechoma Longituba* Extract on Experimental Renal Calculus in Rats

YANG Nianyun, LIU Pei, GUO Jianming(Jiangsu Key Laboratory for High Technology Research of TCM Formulae, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the preventive effects of *Glechoma longituba* extract on experimental renal calculus in rats, and explore its mechanism. **METHODS** The rat model of renal calcium oxalate stones was induced by administrating ethylene glycol and ammonia chloride. The 24 h urinary output coefficient and histopathological status of kidneys, the serum calcium levels, the renal tissue calcium and oxalic acid contents were detected. **RESULTS** *G. longituba* extract could markedly increase the 24 h urinary outputs and decrease the calcium oxalate deposits in the kidneys and the pathological change degrees of the kidneys. The serum calcium levels were decreased significantly. The renal tissue calcium and oxalic acid contents were decreased significantly. **CONCLUSION** *G. longituba* extract can increase the urinary output, improve the elimination and metabolism of Ca^{2+} in the blood and kidneys, decrease the damage caused by the renal stone, and obviously inhibit the formation of the kidney calcium oxalate stone in rats.

KEY WORDS: *Glechoma longituba*; renal calculus; calcium oxalate

尿石症是泌尿学科的一种常见病、多发病, 其发病率高, 治愈后复发率高, 中医药辨治和预防尿路结石具有广阔前景。中医治疗尿路结石的特色在于把改善体质、消除产生结石的病理状态与促进排石结合起来^[1-2]。连钱草是唇形科活血丹 *Glechoma longituba* (Nakai) Kupr. 的干燥地上部分, 具有利湿通淋、清热解毒、散瘀消肿的功能, 有治疗热淋、石淋、湿热黄疸、疮痈肿痛等作用。临床上主要用于利小便、治疗肾结石、膀胱结石、输尿管结石、肾炎水肿、湿热黄疸、胆囊炎、胆石症等。现代药理研究表明, 连钱草水煎剂具有显著利尿作用, 并有利胆、溶解结石作用^[3-6], 文献报道连钱草主要含有有机酸类、黄酮类、萜类等活性成分^[6-10]。本实验观察连钱草水提醇沉提取物对肾结石模型大鼠的防治作用, 并初步探讨其作用机制。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

1.1.1 动物 SPF 大鼠, ♂, 体质量 29~34 g, 实验动物质量合格证号码: SCXK(浙)2012-0001, 由浙江省实验动物中心提供。

1.1.2 药物与试剂 连钱草药材采自江苏淮安(批号: 110911), 由南京中医药大学杨念云副研究员鉴定为 *Glechoma longituba* (Nakai) Kupr. 的干燥地上部分; 钙检测试剂盒(批号: 20121021)、血清尿素氮检测试剂盒(批号: 20120602)、肌酐检测试剂盒(批号: 20120605)均购自南京建成生物技术公司; 变色酸(上海研拓生物科技有限公司产品, 批号: 20121106)。排石颗粒(南京同仁堂药业有限责任公司, 批号: 20120601, 规格: 20 g·袋⁻¹); 乙二醇(批号: 20120202)、氯化铵(批号: 20111223)均购自国药集团化学试剂有限公司。

基金项目: 江苏高校优势学科建设工程资助项目(ysxk-2010); 南京中医药大学中药学一级学科开放课题资助项目(2011ZYX1-001)

作者简介: 杨念云, 男, 博士, 副研究员 Tel: (025)85811074 E-mail: nianyunyang@163.com

1.2 方法

1.2.1 连钱草提取物制备与成分分析 取连钱草(干燥)8 kg, 加蒸馏水煎煮提取 2 次, 每次 60 000 mL, 每次 2 h, 提取液合并后, 在减压回收器上减压回收溶剂, 浓缩至 8 000 mL, 药液放冷后, 边搅拌边缓慢加入乙醇使含醇量达 60%, 密闭冷藏 24 h, 上清液回收溶剂, 得到浸膏 620 g。采用高效液相色谱法对连钱草水提醇沉上清液进行分析测定, 结果表明主要含有咖啡酸、阿魏酸、迷迭香酸等有机酸类成分和木犀草苷、大波斯菊苷等黄酮类成分, 结果见图 1。

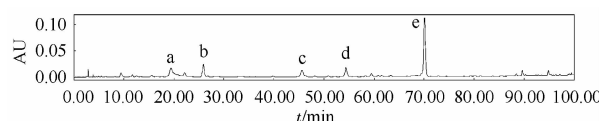


图 1 连钱草水提醇沉上清液提取物高效液相色谱图

a—咖啡酸; b—阿魏酸; c—木犀草苷; d—大波斯菊苷; e—迷迭香酸。

Fig. 1 HPLC chromatogram of *Glehoma longituba* extract a—caffeic acid; b—ferulic acid; c—2-propenoic acid; d—apigenin-7-glucoside; e—rosmarinic acid.

1.2.2 动物实验 大鼠自由摄食和饮水, 实验前观察适应一周。随机分为 6 组, 每组 10 只: 正常对照组, 给予正常饲料; 模型组, 每天让大鼠饮用 1% 乙二醇、1% 氯化铵的自来水; 阳性药组, 给予排石颗粒(每日以 $1\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 灌胃给药)与造模饮水; 连钱草高、中、低浓度剂量组, 分别给予连钱草(每日以 $1\,000, 500, 250\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 连钱草上清液提取物浸膏灌胃给药)与造模饮水。4 周后结束实验。实验结束前 1 d 用代谢笼分别收集各大鼠

24 h 空腹尿液, 测定 24 h 排尿量。末次给药 1 h 后, 大鼠采血, 离心取上层血清用于测定血清钙含量。大鼠处死后取右肾 10% 甲醛溶液固定, 用于肾组织病理学检查; 左肾超低温($-80\text{ }^{\circ}\text{C}$)保存, 肾组织匀浆, 用于测定肾组织总钙(Ca^{2+})和肾组织草酸含量。

1.2.3 统计学处理 实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 并采用 SPSS 13.0 统计软件进行数据整理和统计, 各组间比较采用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 为差异显著, $P < 0.01$ 为差异非常显著, 具有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 连钱草对结石大鼠肾组织病理学影响

正常对照组大鼠肾未见肾小管上皮细胞变性、坏死, 肾间质未见血管充血、水肿和炎细胞浸润; 肾皮质肾小囊内未见纤维素及炎细胞渗出, 肾小球毛细血管球细胞无增生, 肾小球未见硬化。模型组可见肾小管上皮细胞水样变性萎缩, 部分上皮坏死脱落, 部分肾小管扩张严重, 部分肾小管中可见大量结石, 肾间质血管充血较严重。连钱草提取物低剂量组可见部分肾小管上皮细胞变性萎缩, 部分肾小管扩张, 部分肾小管中可见少量结石, 肾间质血管充血。连钱草提取物中剂量组和阳性药组可见部分肾小管上皮细胞变性, 部分肾小管扩张, 部分肾小管中可见少量结石, 肾间质血管充血。连钱草提取物高剂量组可见肾小管上皮细胞轻微水样变性, 肾间质血管充血; 肾皮质肾小囊内未见纤维素及炎细胞渗出, 肾小球毛细血管球细胞无增生, 肾小球未见硬化。结果见图 2。

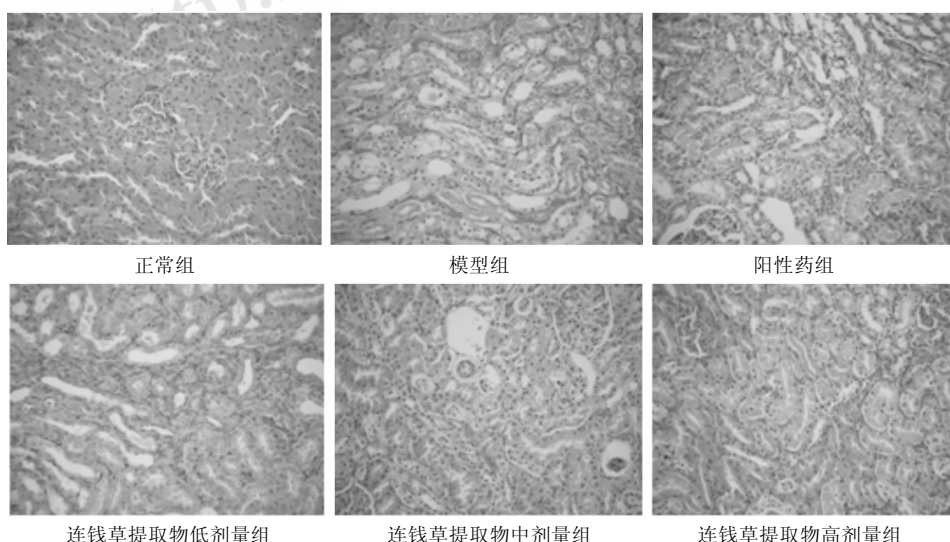


图 2 连钱草对肾结石大鼠肾组织病理形态学的影响

Fig. 2 Effects of *Glehoma longituba* on pathomorphological changes of rats with renal calculus

2.2 连钱草对结石大鼠 24 h 排尿量、肾组织钙、肾组织草酸及血清钙含量的影响

与模型组比较, 各给药组大鼠 24 h 排尿量显著增加($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。连钱草中、高剂量组大鼠肾组织钙含量明显降低($P<0.05$), 各给药组大鼠肾组织草酸显著降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。各给药组大鼠血清钙含量显著降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。结果见表 1。

表 1 连钱草提取物对结石大鼠 24h 排尿量、肾组织钙、肾组织草酸及血清钙含量的影响($n=10$, $\bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Effect of *Glechoma longituba* on 24 h urinary outputs, renal tissue Ca^{2+} , oxalic acid, and the serum Ca^{2+} ($n=10$, $\bar{x} \pm s$)

组别	24 h 尿量/ mL	肾组织 Ca^{2+} / $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$	肾组织草酸/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	血清 Ca^{2+} / $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$
正常对照组	6.91±0.30 ¹⁾	2.45±0.50 ²⁾	1.82±0.20 ²⁾	2.51±0.25 ¹⁾
模型组	6.09±0.19	5.50±1.10	10.83±1.06	3.49±0.41
阳性药组	7.55±0.88 ¹⁾	5.01±1.21	7.11±0.79 ¹⁾	2.40±0.39 ¹⁾
连钱草				
低剂量组	8.15±0.56 ¹⁾	4.89±1.30	7.81±0.87 ¹⁾	2.48±0.31 ¹⁾
中剂量组	10.00±0.67 ²⁾	4.01±0.67 ¹⁾	5.41±0.69 ²⁾	2.28±0.32 ¹⁾
高剂量组	11.87±0.79 ²⁾	3.15±0.58 ¹⁾	3.01±0.39 ²⁾	1.98±0.18 ²⁾

注: 与模型组比较, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$ 。

Note: Compared with model group, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$.

3 讨论

肾结石属祖国医学的石淋、砂淋、血尿、腰痛等病的范畴, 其临床以小便频数短涩, 滴沥刺痛, 欲出未尽, 小腹拘急或痛引腰腹, 尿出砂石为特征, 而草酸钙结石约占尿石症的 80%。大鼠肾草酸钙结石模型为尿石症实验研究的重要方法, 其中, 乙二醇加氯化铵法诱导大鼠肾草酸钙结石形成效果显著、简便、稳定。乙二醇是草酸的前体, 进入体内后转化成羟乙酸, 后者既可在羟乙氧化酶的作用下直接转化为草酸, 也可经乳酸脱氢酶的催化转化成乙醛酸, 乙醛酸又可以直接在非酶作用下转化为草酸。因此, 给动物喂食乙二醇进入体内代谢后最终转化为草酸, 经尿排出, 增加尿中草酸的浓度, 加服氯化铵, 肾内结石形成率提高^[11-12]。本实验研究初步证实连钱草提取物用于肾结石的确有整体调节的优势, 连钱草水提醇沉上清液中主要含有多多种有机酸类和黄酮类成分, 可以与 Ca^{2+} 形成可溶性的盐或络合物,

增加尿内结晶抑制物的浓度, 降低成石物浓度, 有利于减少草酸钙沉积, 有效抑制结石的形成, 还能使尿液变成酸性而溶解化散结石, 促进肾脏组织和血液中 Ca^{2+} 的排泄和代谢, 降低肾组织 Ca^{2+} 和草酸含量; 同时改善肾组织细胞的代谢和功能, 加速尿液排泄, 促进微结石排出体外, 减少肾组织中结石的形成, 减轻肾脏的损害, 从而保护肾组织, 防治大鼠肾结石^[13]。

REFERENCES

[1] LAI H B, GAO Y Q, WU S, et al. Clinical research progress of traditional Chinese medicine on urolithiasis [J]. China Pharm(中国药业), 2008, 17(11): 79-80.

[2] SHAO S F, WENG Z L, LI C D, et al. Inhibition effect of Chinese traditional medicine *Lysimachina christina*, *Pyrrosia* and *Plantago* on urinary calcium oxalate stone formation in rats [J]. Chin J Int Tradit West Nephrol(中国中西医结合肾病杂志), 2009, 10(10): 874-876.

[3] Ch.P(2010)Vol I (中国药典 2010 年版. 一部) [S]. 2010: 158.

[4] The Editorial Board of Chinese Materia Medica. Chinese Materia Medica (中华本草) [M]. Vol. 7. Shanghai Science and Technology Press, 2000: 6058.

[5] GE S X, PENG D Y, LIU J Q. Experimental study of *Glechomae Herba* on cholesterol calculus [J]. J Chin Med Mater(中药材), 2007(7): 88-91.

[6] ZHANG Q J, YANG X S, HAO X J. Chemical constituents and their pharmacological research progress in medicinal plants of *Glechoma* Linn [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2006, 36(7): 950-952.

[7] YANG N Y, DUAN J A, LI P. Flavonoids from *Glechoma longituba* (Nakai) Kupr [J]. J China Pharm Univ(中国药科大学学报), 2005, 36(3): 210-212.

[8] YANG N Y, DUAN J A, LI P. Chemical constituents of *Glechoma longituba* [J]. Chin J Nat Med(中国天然药物), 2006, 4(2): 98-100.

[9] YANG N Y, DUAN J A, LI P. Chemical constituents of *Glechoma longituba* [J]. Acta Pharm Sin(药科学报), 2006, 41(5): 431-434.

[10] ZHANG Q J, YANG X S, ZHU H Y. Triterpenoids of *Glechoma longituba* [J]. Chin Tradit Herbal Drugs(中草药), 2006, 37(12): 1780-1781.

[11] ZHONG L, XIONG A H, YANG Y Y. A comparison of the administration ways and methods for the establishment of renal calculus model in mice by means of glycol [J]. Chin J Pathophys(中国病理生理学杂志), 2000, 16(4): 381-382.

[12] CAO Z T, LIU J H, DUAN Y F. Comparison of several experimental renal calcium oxalate calculus models in rats [J]. Acta Med Univ Sci Technol Huazhong(华中科技大学学报: 医学版), 2002, 31(5): 556-559.

[13] OUYANG J M, ZHOU N. Coordination chemistry basis of Chinese herbal medicine in treatment of urolithiasis [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2004, 35(5): 579-581.

收稿日期: 2013-10-18