

黄芪注射液对盐水负荷模型大鼠的利尿作用研究

张永娜^{1*}, 赵秀莉¹, 陈秀英^{2#}, 王红娟²(1. 郑州大学附属肿瘤医院/河南省肿瘤医院药学部, 郑州 450008; 2. 郑州大学药学院, 郑州 450001)

中图分类号 R285.5 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)10-1366-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.10.22

摘要 目的: 研究黄芪注射液对盐水负荷模型大鼠的利尿作用。方法: 取大鼠 ig 给予去离子水(2.5 ml/100 g)复制水负荷模型, 取水负荷模型大鼠随机分为模型(生理盐水)组、阳性对照(呋塞米 0.01 g/kg)组和黄芪注射液低、中、高剂量[2.5、5、10 g(生药)/kg]组, 每组 10 只。各组大鼠 ig 给予 1% 氯化钠溶液(4 ml/100 g)复制盐水负荷模型, 复制模型 20 min 后 ig 给予相应的药物。给药后收集 6 h 内的尿液, 每 1 h 收集 1 次; 检测各组大鼠尿液中 Na⁺、K⁺、Cl⁻ 量及尿液 pH; 腹主动脉取血, 采用酶联免疫吸附(ELISA)法测定各组大鼠血浆中醛固酮(ALD)、心房钠尿肽(ANP)与抗利尿激素(ADH)的含量。结果: 与模型组比较, 黄芪注射液高剂量组和阳性对照组大鼠的总尿量均增加; 黄芪注射液中、高剂量组和阳性对照组大鼠尿液中 Na⁺、Cl⁻ 量均增加, K⁺ 量仅阳性对照组大鼠增加; 黄芪注射液中、高剂量组大鼠血浆中 ALD 含量均减少、ANP 含量均增加, 以上差异均具有统计学意义(P<0.05)。各组大鼠尿液 pH 和血浆中 ADH 含量均未见明显变化。结论: 黄芪注射液可明显增加盐水负荷模型大鼠的尿量, 其机制可能与增加血中 ANP 和减少 ALD 的分泌, 进而促进尿液中 Na⁺、Cl⁻ 的排泄有关。

关键词 黄芪注射液; 盐水负荷; 大鼠; 醛固酮; 心房钠尿肽; 抗利尿激素

Diuretic Effects of Astragali Radix Injection on Saline Water-loaded Model Rats

ZHANG Yong-na¹, ZHAO Xiu-li¹, CHEN Xiu-ying², WANG Hong-juan²(1. Dept. of Pharmacy, the Affiliated Cancer Hospital of Zhengzhou University/Henan Cancer Hospital, Zhengzhou 450008, China; 2. School of Pharmacy, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To study the diuretic effects of Astragalus radix injection on saline water-loaded model rats. **METHODS:** Rats were established water-loaded model by ig deionized water (2.5 ml/100 g). Model rats were randomly divided into model group (physiological saline), positive control group (furosemide 10 mg/kg) and the Astragali radix injection low-dose, medium-dose and high-dose groups [2.5, 5, 10 g (medicinal material)/kg], with 10 rats in each group. All rats were given 1% sodium chloride solution (4 ml/100 g) to establish saline water-loaded models and ig given corresponding drugs 20 min later, and then their urine were collected every 1 h within 6 h. The contents of Na⁺, K⁺ and Cl⁻ in their urine and the urine pH were detected. Blood was collected from the abdominal aortas of all rats, and the contents of serum aldosterone (ALD), atrial natriuretic peptide (ANP) and antidiuretic hormone (ADH) were determined by the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **RESULTS:** Compared with model group, the total volumes of urine in Astragali radix injection high-dose group and positive control group were increased; content of Na⁺ and Cl⁻ in urine in Astragali radix injection high-dose and medium-dose groups and positive control group were increased; content of K⁺ was increased only in the positive control group; contents of ALD in plasma in Astragali radix injection high-dose and medium-dose groups were decreased and ANP contents were increased, with significant differences (P<0.05). There was no obvious change in the urine pH and ADH content in plasma of all rats. **CONCLUSIONS:** Astragali radix injection can obviously increase the volumes of urine of saline water-loaded rats by a mechanism that may be related to the increasing of ANP and the decreasing of ALD in blood and thus promote the excretion of Na⁺ and Cl⁻ in urine.

KEYWORDS Astragali radix injection; Saline water-loaded; Rats; Aldosterone; Atrial natriuretic peptide; Antidiuretic hormone

黄芪为豆科植物蒙古黄芪 [*Astragalus membranaceus* (Fisch.) Beg. var. *mongholicus* (Beg.) Hsiao] 或膜荚黄芪 [*A. membranaceus* (Fisch.) Beg.] 的干燥根^[1], 性味甘, 归肺、脾经, 具有补气固表、利尿解毒、排脓、敛疮生肌之功效^[2]。现代药理学研究证明, 黄芪具有利尿、强心、增加免疫力等多种作用, 目前对黄芪增强免疫力、强心等研究比较多, 但是对黄芪利尿作用的研究比较少^[3-4]。黄芪 0.5 g/kg 的利尿效价与氨茶碱 0.05 g/kg 或

双氢氯噻嗪 0.000 2 g/kg 相当(大鼠 ih 给药)^[5]。黄芪注射液是由中药黄芪中提取的有效成分精制而成的, 含有黄芪皂苷类、黄芪多糖、氨基酸类及微量元素硒等多种成分^[6], 具有广泛药理作用, 能清除氧自由基、扩张冠状动脉、改善心功能、降低蛋白尿、减轻肾损伤、保护肾功能、降低血液黏度、改善血流变学等^[7]。本文主要研究了黄芪注射液对水负荷模型大鼠的利尿作用, 并探讨其可能的作用机制。

1 材料

1.1 仪器

DXL-10 型大鼠代谢笼(苏州冯氏实验动物设备有限公司); DS1905 型电解质分析仪、80-2B 型台式离心机(上海安亭

* 硕士。研究方向: 药理学。电话: 0371-65587775。E-mail: zhangna_2006@163.com

通信作者: 讲师, 硕士。研究方向: 药理毒理。电话: 0371-68968669。E-mail: chuxy@zzu.edu.cn

科学仪器总厂);Spectra Mr型全波长酶标仪(美国DYNE公司);PH S-3C型精密pH计(上海雷磁仪器厂);6400A型火焰分光光度计(上海科晓科学仪器有限公司);A3型原子吸收分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司);ICS-90型离子色谱仪[赛默飞世尔科技(中国)有限公司]。

1.2 药品与试剂

黄芪注射液[上海新亚药业高邮有限公司,批号:121223-1,规格:20 g(生药):10 ml];呋塞米注射液(天津药业集团新郑股份有限公司,批号:1305212,规格:20 mg:2 ml);戊巴比妥钠(德国默克公司,批号:K2208);大鼠抗利尿激素(ADH)酶联免疫吸附(ELISA)试剂盒(批号:20130513)、大鼠醛固酮(ALD)ELISA试剂盒(批号:20131027)、大鼠心房钠尿肽(ANP)ELISA试剂盒(批号:20130322)均购自南京建成生物工程研究所。

1.3 动物

SPF级SD大鼠,♂,体质量180~220 g,由河南省实验动物中心提供,实验动物生产许可证号:SCXK(豫)2010-0002。

2 方法

2.1 复制模型与分组、给药

取60只大鼠先进行为期1周的检疫。取经检疫合格的大鼠,按下述方法进行水负荷筛选:ig给予每只大鼠2.5 ml/100 g去离子水,记录2 h的尿量,尿量大于给水量40%的大鼠为水负荷模型复制成功,可用于以下实验。

将水负荷模型复制成功的50只大鼠,按体质量、尿量分层随机法分为5组,即模型(生理盐水)组、阳性对照(呋塞米0.01 g/kg)组和黄芪注射液低、中、高剂量[2.5、5、10 g(生药)/kg]组,每组10只。实验前禁食16 h,不禁水,每组大鼠均按4 ml/100 g ig给予1%氯化钠溶液,复制盐水负荷模型,模型复制成功20 min后,按1 ml/100 g分别ig给予相应剂量的药物。给药剂量根据《实验动物方法》(3版)将黄芪注射液临床上人体的常用剂量与大鼠进行换算。

2.2 指标检测

各组大鼠给药后,立即放入代谢笼中,每隔1 h收集1次尿液,共计6 h,测量各时间点的尿量和6 h的总尿量。采用PH S-3C型精密pH计测定各组大鼠各时间点尿液的pH,采用火焰分光光度计测定各组大鼠尿液中Na⁺、K⁺的浓度,采用离子色谱仪测定各组大鼠尿液中Cl⁻浓度,计算离子量。尿液收集结束后以3%的戊巴比妥钠麻醉各组大鼠,腹主动脉取血,3 000 r/min(离心半径:6 cm)离心10 min,取血浆按照ELISA试剂盒说明书操作,测定各组大鼠血浆中ALD、ANP和ADH的含量。

2.3 统计学处理

实验数据采用SPSS 17.0统计软件进行分析。数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,并进行单因素方差分析(One way ANOVA)及LSD组间多重比较检验。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 大鼠尿量变化

与模型组比较,给药后1 h黄芪注射液中、高剂量组和阳性对照组大鼠的尿量增加,差异具有统计学意义($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),其中阳性对照组效果最明显;给药后3 h各组大鼠尿量差异无统计学意义($P > 0.05$);但在给药后4 h,仅黄芪注射

液高剂量组大鼠的尿量增加,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。这表明黄芪注射液的作用较呋塞米持久。各组大鼠各时间点的尿量比较见图1,各组大鼠的总尿量比较见表1。

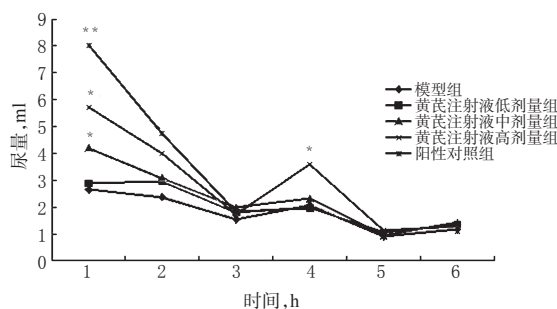


图1 各组大鼠各时间点的尿量比较($n=10$)

注:与模型组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$

Fig 1 Comparison of rats' urine volumes in all groups at different time points($n=10$)

Note: vs. model group,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$

表1 各组大鼠的总尿量比较($\bar{x} \pm s, n=10$)

Tab 1 Comparison of rats' total urine volumes in all groups ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量,g/kg	6h总尿量,ml
模型组		10.68±3.42
黄芪注射液低剂量组	2.5	12.02±0.78
黄芪注射液中剂量组	5	13.90±1.18
黄芪注射液高剂量组	10	17.42±1.84*
阳性对照组	0.01	18.02±3.03*

注:与模型组比较,* $P < 0.05$

Note: vs. model group,* $P < 0.05$

由表1可知,与模型组比较,黄芪注射液高剂量组和阳性对照组大鼠6 h内的总尿量均增加,差异具有统计学意义($P < 0.05$),表明黄芪和呋塞米具有明显的利尿作用。

3.2 大鼠尿液pH和Na⁺、K⁺、Cl⁻量变化

与模型组比较,黄芪注射液高、中剂量组和阳性对照组大鼠尿液中Na⁺、Cl⁻量均增加,K⁺量仅阳性对照组大鼠增加,差异具有统计学意义($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),表明黄芪的利尿作用可能与促进Na⁺、Cl⁻的排泄有关。各组大鼠尿液的pH差异无统计学意义($P > 0.05$)。各组大鼠尿液中Na⁺、K⁺、Cl⁻量及pH比较见表2。

表2 各组大鼠尿液中Na⁺、K⁺、Cl⁻量及pH比较($\bar{x} \pm s, n=10$)

Tab 2 Comparison of the contents of Na⁺, K⁺ and Cl⁻ in urine and urine pH in all groups($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量,g/kg	Na ⁺ ,mmol	K ⁺ ,mmol	Cl ⁻ ,mmol	pH
模型组		980.12±187.38	943.73±297.56	3 062.49±548.94	7.15±0.64
黄芪注射液低剂量组	2.5	1 028.00±226.4	1 139.65±328.67	3 174.91±668.23	7.48±0.59
黄芪注射液中剂量组	5	1 157.43±217.08*	1 085.44±253.79	3 895.15±251.36*	7.22±0.86
黄芪注射液高剂量组	10	1 359.62±254.00**	995.48±169.33	4 074.79±355.42*	7.08±0.15
阳性对照组	0.01	1 559.55±318.42**	1 238.09±378.52**	4 537.93±363.87**	7.11±0.28

注:与模型组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$

Note: vs. model group,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$

3.3 大鼠血浆中ALD、ANP和ADH含量的变化

与模型组比较,黄芪注射液高、中剂量组大鼠血浆中ALD含量均增加、ANP含量均减少,差异具有统计学意义($P <$

0.05), ADH 含量未见明显变化($P>0.05$), 表明黄芪的利尿作用与促进大鼠血浆中 ANP 的分泌、减少血浆 ALD 的含量有关。各组大鼠血浆中 ALD、ANP、ADH 的含量比较见表 3。

表 3 各组大鼠血浆中 ALD、ANP、ADH 的含量比较($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Tab 3 Comparison of the contents of ALD, ADH and ANP in the plasma in all groups($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量, g/kg	ALD, ng/L	ANP, ng/L	ADH, ng/ml
模型组		237.35 ± 46.18	214.11 ± 38.16	1.95 ± 0.81
黄芪注射液低剂量组	2.5	212.49 ± 57.58	195.21 ± 47.15	2.07 ± 0.44
黄芪注射液中剂量组	5	174.39 ± 25.54*	297.32 ± 24.58*	2.37 ± 1.07
黄芪注射液高剂量组	10	159.81 ± 33.69*	323.61 ± 57.83*	1.97 ± 0.29
阳性对照组	0.01	209.77 ± 46.57	204.19 ± 60.17	2.13 ± 0.52

注: 与模型组比较, * $P<0.05$

Note: vs. model group, * $P<0.05$

4 讨论

黄芪是补益药物中应用最为广泛的中药品种, 也是许多中药复方中的主药, 为历代中医最为常用的中药之一^[8], 其具有增强机体免疫功能、保肝、利尿、抗衰老、抗应激、降压和较广泛的抗菌作用。《神农本草经》和《本草纲目》中均有黄芪利尿托毒的记载。防己黄芪汤是治疗水肿、高血压的名方, 出自《金匮要略》, 同时文献中也有黄芪利尿的记载^[9-10]。笔者旨在研究黄芪的利尿作用, 并探讨其机制。

尿液作为最直观指标, 可以直接反映药物是否具有利尿作用^[11]。从表 1 可以看出, 高剂量黄芪注射液与呋塞米注射液对盐水负荷模型大鼠均有利尿作用, 总尿量均增加。从图 1 可以看出, 中剂量黄芪注射液仅在给药后第 1 小时有明显的利尿作用, 而高剂量黄芪注射液给药后在第 1、2、4 小时均有利尿作用, 且高剂量在第 1 小时的利尿作用较中剂量强, 表明黄芪的利尿作用具有剂量依赖性。与呋塞米注射液比较, 黄芪注射液在第 1、2 小时的利尿作用较弱, 但在第 4 小时仍表现出利尿作用, 故其作用较呋塞米持久。

尿液离子可以反映机体电解质的状态, 也可以一定程度上说明药物利尿的作用机制^[11]。呋塞米作为高效利尿剂, 可通过抑制髓袢升支粗段的 $\text{Na}^+ \text{K}^+ 2\text{Cl}^-$ 同向转运系统, 抑制尿液的稀释和浓缩过程, 促进尿液中 Na^+ 、 K^+ 、 Cl^- 的大量排出。本实验通过测定尿液中 Na^+ 、 K^+ 、 Cl^- 量发现, 黄芪注射液中、高剂量和呋塞米注射液有明显的促进盐水负荷模型大鼠尿液中 Na^+ 、 Cl^- 的排泄作用, 但是黄芪注射液的作用较呋塞米弱。本实验未发现黄芪注射液对尿液中 K^+ 的排泄与尿液 pH 有明显影响。

影响尿液生成的因素很多, 其中主要包括神经调节、体液调节等。本研究以影响尿液生成的主要体液因子为研究对象探讨黄芪注射液利尿作用的机制。ALD 是由肾上腺皮质球状

带细胞合成和分泌的一种类固醇激素, 通过肾素-血管紧张素-ALD 系统, 使 Na^+ 和水的重吸收增加、促进 K^+ 排泄、维持水-盐代谢的平衡。ANP 是由心房合成和分泌的活性多肽, 又称心房利钠因子或心房利钠肽, 具有强大的利钠、利尿、抑制肾素释放和 ALD 分泌的作用。ADH 由下丘脑分泌, 主要作用是促进水的重吸收。本研究发现黄芪注射液与呋塞米对 ADH 未见明显影响; 高、中剂量黄芪注射液可促进 ANP 的分泌、减少血浆 ALD 的含量。ANP 分泌增加会抑制 ALD 的分泌, 而 ANP 分泌增加及 ALD 减少均会促进 Na^+ 和水的排泄, 从而也解释了黄芪注射液可增加盐水负荷模型大鼠尿量与尿液中 Na^+ 、 K^+ 的排出。本实验中黄芪注射液对尿液 pH 和 K^+ 未见明显影响, 其具体机制仍待进一步研究。

参考文献

- [1] 段炼, 李会军, 闻晓东, 等. 黄芪治疗糖尿病研究进展[J]. 中国新药杂志, 2013, 22(7): 776.
- [2] 李淑芳. 中药黄芪药理作用研究进展[J]. 湖北中医杂志, 2013, 35(6): 73.
- [3] Wu JJ, Sun WY, Hu SS, et al. A standardized extract from Paeonia lactiflora and astragalus membranaceus induces apoptosis and inhibits the proliferation, migration and invasion of human hepatoma cell lines[J]. *Int J Oncol*, 2013, 43(5): 1 643.
- [4] Frkir H, Henningsen L, Metzдорff SB. Astragalus root and elderberry fruit extracts enhance the IFN- β stimulatory effects of lactobacillus acidophilus in murine-derived dendritic cells[J]. *PLoS One*, 2012, 7(10): 478.
- [5] 韩旭, 王家骥, 范圣凯. 黄芪注射液药理研究[J]. 北京中医, 2000(1): 44.
- [6] 吴文. 黄芪注射液治疗早期糖尿病肾病的研究进展[J]. 中国药房, 2010, 21(24): 2 296.
- [7] 徐春红. 黄芪注射液药理研究与临床应用[J]. 中国药师, 2006, 9(11): 1 048.
- [8] 梁丽娟, 屠鹏飞, 赵奎君. 黄芪多糖的药理作用研究进展[J]. 中国药房, 2010, 21(43): 4 113.
- [9] 刘小花, 蔺兴遥, 梁瑾, 等. 黄芪药材利尿作用的谱效关系研究[J]. 中国现代应用药学, 2013, 30(5): 491.
- [10] 李森, 谢人明, 孙文基. 茯苓、猪苓、黄芪利尿作用的比较[J]. 中药材, 2010, 33(2): 264.
- [11] 林妮, 潘竞镨, 官娜. 黄芪对小鼠利尿作用机制及其物质基础的研究[J]. 今日药学, 2014, 24(7): 483.

(收稿日期: 2014-10-24 修回日期: 2014-12-21)

(编辑: 邹丽娟)

《中国药房》杂志——《化学文摘》(CA) 收录期刊, 欢迎投稿、订阅