

甘草次酸衍生物对大鼠肾损伤的保护作用

崔李平^{1,2}, 王玉丽², 张士俊², 付海霞², 徐为人^{2*}, 汤立达², 王建武³

1. 天津医科大学基础医学院, 天津 300070

2. 天津药物研究院 天津市新药设计与发现重点实验室, 天津 300193

3. 山东大学 化学与化工学院, 山东 济南 250100

摘要:目的 研究甘草次酸衍生物(TY501)对大鼠肾脏的保护作用。方法 分别 ip 给予大鼠 100 mg/kg 庆大霉素和 8 mg/kg 顺铂造成肾损伤模型, ig 给予 TY501, 检测血清尿素氮(BUN)和肌酐(SCr)的变化。结果 大鼠 ig 不同剂量的 TY501 均能在不同程度上缓解庆大霉素和顺铂造成的肾损伤, 与模型组相比明显降低大鼠血清 BUN 和 SCr 值。结论 TY501 对急性肾损伤具有保护作用。

关键词: 甘草次酸; 衍生物; 肾损伤; 尿素氮; 肌酐

中图分类号: R285.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2011)06-1177-03

Effects of glycyrrhetic acid derivative on renal injury of rats

CUI Li-ping^{1,2}, WANG Yu-li², ZHANG Shi-jun², FU Hai-xia², XU Wei-ren², TANG Li-da², WANG Jian-wu³

1. College of Basic Medicine, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China

2. Tianjin Key Laboratory of Molecular Design and Drug Discovery, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

3. School of Chemistry and Chemical Engineering, Shandong University, Jinan 250100, China

Key words: glycyrrhetic acid; derivatives; renal injury; urea nitrogen; creatinine

近年来,随着多种药品的广泛应用,由药物引起的急性肾损伤越来越多,以肾小球滤过率下降及血中肌酐(SCr)和尿素氮(BUN)迅速上升为特点,目前尚无针对性的靶标药物,他汀类抗炎药通过多种机制改善肾小球的滤过率,但不良反应较大^[1]。有研究报道甘草锌对顺铂致小鼠的肾脏损伤有一定的保护作用^[2],甘草酸二铵注射液对大鼠肾缺血/再灌注损伤具有明显的保护作用^[3]。本课题组研究发现甘草次酸衍生物(地格氯唑, deoxyglycychoxazol, TY501)在抗炎、镇痛、抗肝损伤、抗肾损伤、抗胃溃疡等方面具有良好的效果。本实验就 TY501 对肾损伤的保护作用进行评价,希望为临床治疗急性肾损伤提供新的药物。

1 材料

1.1 药品和试剂

甘草次酸衍生物(TY501,天津药物研究院药物创新研究中心提供,结构式见图1),庆大霉素注射液

(天津药业焦作有限公司),顺铂注射液(云南生物谷灯盏花药业有限公司),肾炎康复片(批号 090415,天津同仁堂集团股份有限公司)。

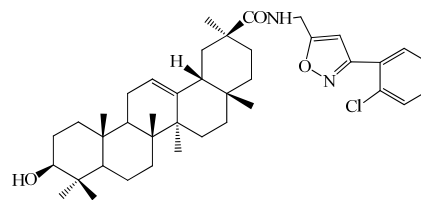


图1 TY501 结构式

Fig. 1 Structure of TY501

1.2 动物

健康 Wistar 大鼠,雄性,由中国医学科学院放射医学研究所实验动物中心提供,实验动物许可证号: SCKK 津 2008-0001。

1.3 主要仪器

SELECTAA—2 型自动生化分析仪,荷兰威图公司。

收稿日期: 2010-12-27

基金项目: 国家重大新药创制专项课题(2011ZX09401-009); 国家重大新药创制专项课题子课题(2010ZX09401-307); “十二五”国家重大新药创制专项(2011ZX09401-009)

*通讯作者 徐为人 Tel: (022)23006862 E-mail: xuwr@tjipr.com

2 方法

2.1 动物分组及给药剂量

Wistar 雄性大鼠 48 只, 体质量 200~240 g, 按体质量随机分为对照组、模型组、阳性药肾炎康复片组及 TY501 高、中、低 3 个剂量组。肾炎康复片剂量为 600 mg/kg, TY501 分别为 100、30、10 mg/kg 3 个剂量, 各组药物用 1% 羧甲基纤维素钠配制, 给药体积除肾炎康复片为 20 mL/kg, 其余各组均为 10 mL/kg, 对照组和模型组每次给予同体积 1% 羧甲基纤维素钠。

2.2 模型建立和给药方案

庆大霉素致大鼠肾损伤模型: 每日 8:00 禁食, 除对照组外其余各组每日 10:00 ip 给予庆大霉素, 剂量为 100 mg/kg, 给药体积为 10 mL/kg, 对照组 ip 给予等体积的生理盐水。给药组每日 14:00 ig 给药。每日给药后观察 2 h 内大鼠的一般活动情况, 称体质量, 连续 9 d。

顺铂致大鼠肾损伤模型: 上午 8:00 时禁食, 除对照组外其余各组 12:00 时 ip 给予顺铂, 剂量为 8 mg/kg, 给药体积为 10 mL/kg, 对照组 ip 给予等体积的生理盐水, 给药组当天 14:00 ig 给药。每日给药后观察 2 h 内大鼠的一般活动情况, 称体质量。连续给药 9 d, 顺铂仅 ip 给药 1 次。

2.3 检测指标

末次给药后 4 h (禁食 14 h) 腹主动脉取血, 柠檬酸钠抗凝, 离心取血清, 测定血液生化指标: BUN 和 SCr。

2.4 统计方法

采用 SPSS11.5 统计软件包处理数据, 根据数据特性, 采用方差分析方法 (one-way ANOVA) 对正态分布多组之间参数两两比较, 非正态分布数据用非参数方法, 结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示。

3 结果

3.1 对庆大霉素致大鼠肾损伤的影响

30、100 mg/kg TY501 对庆大霉素造成的大鼠急性肾功能损伤有显著的保护作用, 明显降低模型动物血清 BUN 和 SCr 水平 ($P < 0.05$ 、 0.01), 且剂量相关性明显, 结果见表 1。

3.2 对顺铂致大鼠急性肾损伤的影响

30、100 mg/kg TY501 对顺铂造成的大鼠急性肾损伤有显著的保护作用, 明显降低模型动物血清 BUN 和 SCr 水平 ($P < 0.05$ 、 0.01), 且剂量相关性明显, 结果见表 2。

表 1 TY501 对庆大霉素致大鼠急性肾损伤的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 1 Effects of TY501 on Gentamicin-induced renal injury of rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	BUN/(mmol·L ⁻¹)	SCr/(μmol·L ⁻¹)
对照	—	3.50 ± 1.86	43.0 ± 16.8
模型	—	19.87 ± 1.80	340.8 ± 108.1
TY501	100	6.64 ± 2.23**	93.9 ± 25.1**
	30	16.85 ± 4.37*	262.4 ± 91.2*
	10	18.51 ± 3.09	318.3 ± 74.8
肾炎康复片	600	6.37 ± 2.40**	93.6 ± 26.7**

与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs model group

表 2 TY501 对顺铂致大鼠急性肾损伤的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 2 Effects of TY501 on cisplatin-induced renal injury of rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	BUN/(mmol·L ⁻¹)	SCr/(μmol·L ⁻¹)
对照	—	3.24 ± 0.35	40.2 ± 5.5
模型	—	12.81 ± 2.26	111.4 ± 16.2
TY501	100	9.84 ± 2.10**	82.7 ± 13.5**
	30	10.80 ± 1.60*	92.2 ± 16.8*
	10	11.66 ± 1.61	101.0 ± 18.2
肾炎康复片	600	8.87 ± 1.21**	78.9 ± 16.2**

与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs model group

4 讨论

顺铂是临床化疗最常用的药物之一, 是一种广谱抗肿瘤药, 对实体肿瘤的疗效尤为明显, 其疗效与剂量成正比^[4]。顺铂肾毒性的表现形式多种多样, 包括从可逆的急性肾功能损伤到伴有显著肾组织学改变的不可逆的慢性肾功能衰竭^[5]。国外早期动物实验证实, 顺铂致肾毒性的病理机制有两种: 一是顺铂可引起血管收缩, 使肾血流量及肾小球滤过率下降^[6]; 二是顺铂可引起近端小管上皮细胞缺血、缺氧, 甚至坏死, 顺铂产生的自由基导致脂质过氧化增强在肾损伤中发挥了重要作用^[7]。

临床上药物引起的急性肾损伤中有 70% 是由庆大霉素引起的, 其在肾皮质内聚集的浓度高于血浆中的几倍, 肾内半衰期长达 109 h。造成肾损伤的机制为: (1) 抑制磷脂酶的活性, 用量过大则溶酶体增大增多, 最后导致肾小管上皮细胞坏死; (2) 干扰线粒体氧化磷酸化作用, 从而破坏肾小管上皮细胞的传输功能, 使细胞膜失去完整性; (3) 抑制细胞膜上细胞生存所必需的阴离子调节剂 Na⁺, K⁺-ATP

酶活性, 导致细胞内钾离子、镁离子丢失, 血管收缩因子和抑制肾血管扩张因子作用增加, 肾小管滤过率降低^[8]。

本实验选用的两种模型与临床相关性密切且具有代表性, 结果表明 TY501 具有较好的抑制急性肾损伤的作用。汤立达等^[9]研究的甘草次酸衍生物与 TY501 同属一类结构, 以小鼠耳肿胀、腹膜炎等模型评价具有很强的抗炎活性, 目前其抗肾损伤的作用机制尚不清楚。甘草次酸具有抗炎、调节免疫、肝保护、抗病毒、抗肿瘤等作用^[10-11], 其可能的机制有: 抑制 11- β -羟基类固醇脱氢酶 (11- β -HSD) 的活性, 稳定线粒体膜、溶酶体膜, 减轻脂质过氧化作用, 从而降低庆大霉素引起的大鼠血清 Scr 和 BUN, 缓解肾损伤^[12]。也可能是通过诱生肾组织中氧自由基清除剂, 提高 SOD 活性以及诱生脂质过氧化抑制剂而抑制氧自由基, 从而缓解顺铂引起的肾损伤, 起到肾保护作用^[13]。本课题组研究的 TY501 是一种甘草次酸衍生物, 其抗急性肾损伤的作用可能也有部分与上述机制类似, 与抗炎作用相关, 具体的机制还需要深入研究。

参考文献

- [1] 贾新末, 傅向华. 他汀类药物的多重肾脏保护作用 [J]. 临床荟萃, 2010, 25(5): 453-455.
- [2] 徐卓立, 郭爱华, 宋三泰. 甘草锌对顺铂毒性及抗癌效果的影响 [J]. 药学学报, 1993, 28(8): 567-571.
- [3] 陈雄. 甘草酸二铵注射液对大鼠肾缺血再灌注的保护作用 [J]. 时珍国医国药, 2007, 18(9): 2197-2198.
- [4] 罗明, 劳山. 顺铂肾损伤机制的研究及进展 [J]. 蛇志, 2008, 20(2): 135-138.
- [5] Terri L C, Eddie R. Nephrotoxicity and hydration management for cisplatin, carboplatin, and ormaplatin [J]. *Gynecol Oncol*, 1993, 50(2): 147-158.
- [6] Li Q, Bowmer C J, Yates M S. The protective effect of glycine in cisplatin nephrotoxicity: inhibition with *N*-nitro-*L*-arginine methyl ester [J]. *J Pharm Pharmacol*, 1994, 46(5): 246-351.
- [7] Gold R, Buttgerit F, Toyka K V. Mechanism of action of glucocorticosteroid hormones: possible implications for therapy of neuroimmunological disorders [J]. *J Neuroimmunol*, 2001, 117(1/2): 1-8.
- [8] 李利华, 杨润祥. 庆大霉素副作用机制及表现 [J]. 医药导报, 1998, 17(3): 182.
- [9] 汤立达, 王建武, 张士俊, 等. 新型含异恶唑的甘草次酸酰胺类衍生物的合成研究 [J]. 中草药, 2006, 37(3): 332-337.
- [10] 刘彬, 齐云. 甘草酸及甘草次酸的药理学研究进展 [J]. 国外医药: 植物药分册, 2006, 21(3): 100-104.
- [11] 柯文娟, 刘新月, 陈燕, 等. 甘草次酸对 K562 细胞增殖抑制作用及其机制研究 [J]. 中草药, 2008, 39(5): 714-718.
- [12] Safirstein R, Winston J, Moel D, et al. Cisplatin nephrotoxicity: Insights into mechanism [J]. *Int J Androl*, 1987, 10: 325-346.
- [13] 刘金城, 潘旭旺, 蒋小琴. 甘草次酸类固醇样药理作用及机制研究进展 [J]. 中国药业, 2001, 19(9): 86-88.