

白背三七萃取物对高尿酸小鼠的降尿酸作用

黄秀梅^{1,2}, 王明雄³, 王雅英^{1,2}, 萧慧美³, 林国清^{1,2}

(1. 厦门医学院, 福建 厦门 361008; 2. 福建省 道地药材生物工程重点实验室, 福建 厦门 361008;
3. 台湾嘉南药理科技大学, 台湾 73502304)

[摘要] 目的: 研究白背三七萃取物对高尿酸小鼠的降尿酸作用. 方法: 采用静脉注射氧嗪酸钾(PO)的方法建立高尿酸小鼠动物模型, 研究白背三七萃取物对高尿酸小鼠的尿酸, 黄嘌呤氧化酶(XOD)以及黄嘌呤脱氢酶(XDH)的影响. 结果: 白背三七萃取物显著降低因 PO 注射所造成的高尿酸现象, 尿酸抑制率可达 47.7%, XOD 活性的抑制率可达 10.1%, XDH 活性的抑制率可达 26.8%. 结论: 研究证实白背三七具有降尿酸作用, 其机制可能是通过抑制 XOD 和 XDH 酶活性达到降尿酸效果.

[关键词] 白背三七; 降尿酸; 黄嘌呤氧化酶; 黄嘌呤脱氢酶

[中图分类号] R285.5 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1000-9965(2016)05-0403-04

doi:10.11778/j.jdx.2016.05.009

The effect of *Gynura divaricata*(L.) DC. extract for lowering uric acid level on mice with hyperuricemia

HUANG Xiumei^{1,2}, WANG Mingxiong³, WANG Yaying^{1,2}, XIAO Huimei³, LIN Guoqing^{1,2}

(1. Xiamen Medical College, Xiamen 361008, China; 2. Fujian Provincial Key Laboratory of Genuine Regional Drug Bio-engineering, Xiamen 361008, China; 3. Chia Nan University of Pharmacy&Science, Taiwan 73502304)

[Abstract] **Aim:** Study on the effect of *Gynura divaricata* extract for lowering uric acid level of mice with experimental hyperuricemia. **Methods:** Mice models of hyperuricemia were made by injecting potassium oxonate (PO). Study the effect of *Gynura divaricata* extract on lowering the uric acid levels, inhibiting activity of xanthine oxidase (XOD) and xanthine dehydrogenase (XDH). **Results:** *Gynura divaricata* extract could lower the uric acid of mice with hyperuricemia caused by injecting PO, the uric acid inhibition rate was 47.7%, the inhibition rate of XOD activity was 10.1%, the inhibition rate of XDH activity was 26.8%. **Conclusion:** *Gynura divaricata* has the effect of lowering uric acid. The mechanism of lowering uric acid may be through inhibiting XOD and XDH activity.

[Key words] *Gynura divaricata* (L.) DC.; lowering uric acid; xanthine oxidase; xanthine dehydrogenase

随着经济发展及饮食习惯的改变,高尿酸血症 也有研究表明高尿酸血症与多种慢性疾病如糖尿
发病率呈逐年上升趋势^[1-3],高尿酸不仅造成痛风, 病、肥胖、心血管疾病、高血压、肾病等有着内在联

[收稿日期] 2016-04-11

[基金项目] 厦门市卫计委项目(XWJW201401-01);厦门医学院项目(Z2013-31;ZD201401-01)

[作者简介] 黄秀梅(1982-),女,讲师,研究方向:天然药物和基因蛋白质药物

通信作者:林国清,男,副教授, Tel:0596-5953834, E-mail:lgq8170@126.com

系^[4-6],高尿酸血症已严重危害着人类的健康,寻找健康有效的降尿酸药物是现在民众的迫切需求.本研究对象白背三七(*Gynura divaricata* (L.) DC.)为菊科菊三七属植物,又名白子菜、明日草等,分布于台湾至华南、西南一带,喜生于潮湿的阴地上,生长周期短,极易栽培.其根、茎、叶可药食两用^[7],具有清热解毒、抗氧化、抗肝病、止血、凉血、降血糖、健胃等功效,民间用于治疗高血压病、高血脂症、糖尿病等^[8-9],故亦有“神仙草”之称^[10].近年来科研报道中主要关注白背三七降糖作用^[11-14],降血压作用^[15],降血脂作用^[16-17],未见白背三七降尿酸的研究报道.本研究通过动物实验,证实白背三七有很好的降尿酸效应,为白背三七后续的开发利用提供参考.

1 材料与方法

1.1 材料

白背三七干叶购自上海白背三七种植基地,氧嗪酸钾、尿酸,黄嘌呤、别嘌呤、黄嘌呤氧化酶购自 Sigma 公司,尿酸试剂盒购自 UK Randox;ICR 品系小鼠,雄性,3 周大,购自乐斯科生物科技股份有限公司.

1.2 实验方法

(1)白背三七萃取物制备 取质量为 10 g 白背三七干叶,加入 1 000 mL 纯净水后,以煎药器加热煎煮 1.5 h,冷却后以 $6\,500\times g$,4℃离心 20 min,以 Whatman No.1 滤纸过滤,以上滤液均经减压浓缩后冷冻干燥至粉末.

(2)动物饲养 将订购 3 周大 ICR(Institute of Cancer Research,美国癌症研究所)品系雌性小鼠适应 1 周后,依样品不同分成 5 组,每组 7 只:空白组、模型组、别嘌呤治疗组、白背三七萃取物低剂量 GF1 组、白背三七萃取物高剂量 GF5 组.每组每天管喂给药 1 次,连续 7 d,其中空白组和模型组管喂生理盐水,别嘌呤治疗组管喂别嘌呤、白背三七萃取物低剂量组和高剂量组分别按质量分数为 100、500 mg/(kg·d)给药.每天给药后 1 h 进行高尿酸造模剂氧嗪酸钾(potassium oxonate,PO)注射,其中空白组注射等剂量 PO 的溶剂 0.5% 羧甲基纤维素钠(sodium carboxyl methyl cellulose,CMC),其余各组以质量分数为 250 mg/kg 给予腹腔 PO 注射,连续注射 7 d.每只小鼠分别饲养于不锈钢丝网笼中,动物饲养条件为温度维持在(23±2)℃,湿度为 50%~65%,自动光照及黑暗控制时间各 12 h(早上 8 点~晚上 8 点为光照期,其余时间为黑暗期),饲料与饮水皆采自

由给食的方式.

(3)动物牺牲血液及组织采集 各组小鼠经由管喂实验样品后 1 h 小时进行质量分数为 250 mg/kg 的腹腔 PO 注射(除空白组注射 0.5% CMC 外),连续 1 周后,动物在前晚上将饲料移走,使小鼠禁食过夜.牺牲当天动物称质量后使用 PO 以质量分数为 250 mg/kg 腹腔注射诱发高尿酸后 1 h,以 CO₂ 窒息牺牲,再以含有 EDTA 之真空采血管自下腔静脉采血后,剪取肝、肾以生理食盐水清洗后沥干秤质量以供均质.

(4)血浆分离与肝、肾均质液分离方法 血浆分离:取得的血液轻轻摇匀后,经 3 000 rpm 转速离心 5 min,取得上层血浆分装后冰于 -20℃冷冻库保存以供日后分析.称取适量的组织样品,加入浓度为 0.01 mol/L, pH=7.6 的磷酸二氢钾缓冲液(Potassium-phosphate buffer,PPB),以均质机在冰浴下进行均质,并定量体积使成为体积分数为 20%~25% 的组织均质液.而后取适量的组织均质液于 4℃10 000×g 离心 60 min,其上清液即为去粒线体上清液(PMS),保存于 -80℃备用.

(5)血清尿酸测定与肝脏酶活性分析 血清尿酸浓度采用市售尿酸试剂盒按说明书以磷钨酸还原方法进行测定.黄嘌呤氧化酶(XOD)活性测定,原理利用 XOD 在催化黄嘌呤氧化的反应中,每氧化 1 mol 黄嘌呤,将消耗 1 mol 分子氧和 1 mol 水,产生 1 mol 尿酸和 1 mol 水,尿酸的特征吸收峰为 290 nm.以 100 μL 的组织上清及尿酸溶液加入 4.9 mL 反应液(50 μmol/L 黄嘌呤及 5 mmol/L EDTA),于 37℃水浴 30 min,加入 500 μL 0.58 N HCl 终止反应后于 290 nm 下测定吸光值.以 1 mmol/L Uric acid 做出的标准曲线进而推算 XOD 活性.

黄嘌呤脱氢酶(XDH)活性测定,以 100 μL 的组织上清及尿酸溶液加入 4.9 mL 反应液(50 μmol/L 黄嘌呤、NADH 及 5 mmol/L EDTA),于 37℃水浴 30 min,加入 500 μL 0.58 N HCl 终止反应后于 290 nm 下测定吸光值.以 1 mmol/L Uric acid 做出的标准曲线进而推算 XDH 活性.活性单位以 uric acid/protein [nmol/(min·mg)]表示.

(6)统计分析 实验结果皆以平均值±标准偏差($\bar{x}\pm s$)表示,所有结果均以 SAS program 7.0 统计软件之单因素方差分析(One way ANOVA)检定组间差异之显著性,再以邓肯氏多变域测验(Duncan's multiple range test)作事后检定各组间差异之显著性. $P<0.05$ 为具显著性差异.

2 结果与分析

小鼠经由连续7 d 的 PO 注射以及白背三七萃取物之管喂后,降尿酸情形如表 1 所示,模型组血浆尿酸显著升高约为空白组的 2 倍;别嘌醇为临床上最常使用的降尿酸药物,本实验高尿酸动物模型经由别嘌醇之投与后(别嘌醇治疗组),显著降低血浆尿酸体积分数达 38.3% 的抑制率;由此可见本动物模型之诱导与治疗组模型成功建立.从表 1 也看到白背三七萃取物[质量分数 GF1 100 及 GF5 500 mg/(kg·d)]之给予亦能显著降低因 PO 注射所造成的高尿酸现象,尿酸抑制率约达 44.3%~47.7%.

体内合成黄嘌呤与尿酸之关键酶为肝脏中的黄嘌呤氧化酶(XOD)以及黄嘌呤脱氢酶(XDH).本实验所测定之 XOD 酶活性结果如表 2,白背三七萃取物亦可达到抑制 XOD 活性约 8.9%~10.1% 左右的抑制率.表 3 为 XDH 活性,以模型组的活性显著最高,表示 PO 注射透过 XDH 活性之提高进而增加血浆尿酸质量浓度,别嘌醇治疗组则显著降低 XDH 活性达 34.9% 的活性抑制率,白背三七萃取物亦可达到抑制 XDH 活性约 23.3%~26.8% 左右的抑制率.

表 1 白背三七萃取物对高尿酸诱导小鼠血浆尿酸质量浓度之影响¹⁾

Table 1 The effecttion of *Gynura divaricata* extract for lowering uric acid level

组别	<i>n</i>	$\rho_{尿酸}/(mg \cdot d^{-1} L^{-1})$	抑制率/%
空白组	7	0.71 ± 0.15 ^b	—
模型组	7	1.49 ± 0.24 ^a	—
别嘌醇治疗组	7	0.92 ± 0.12 ^b	38.3
GF1	7	0.78 ± 0.18 ^b	47.7
GF5	7	0.83 ± 0.20 ^b	44.3

1) 通过单因素方差分析,上标字母(a、b)不同的组间差异显著($P < 0.05$).

表 2 白背三七萃取物对于小鼠肝脏黄嘌呤氧化酶活性抑制率之影响¹⁾

Table 2 The inhibition rate of *Gynura divaricata* extract for XOD activity

组别	$XOD/(nmol \cdot min^{-1} \cdot mg^{-1})$	XOD 抑制率/%
空白组	0.022 2 ± 0.001 7 ^a	—
模型组	0.022 7 ± 0.002 4 ^a	—
别嘌醇治疗组	0.018 1 ± 0.002 3 ^b	20.3
GF1	0.020 7 ± 0.002 7 ^{ab}	8.9
GF5	0.020 4 ± 0.001 3 ^{ab}	10.1

1) 每个值代表平均值 ± 标准偏差($n = 7$);通过单因素方差分析,上标字母(a、b)不同的组间差异显著($P < 0.05$);活性抑制率% = (模型组 - 计算组)/模型组 × 100.

表 3 白背三七萃取物对于小鼠肝脏黄嘌呤脱氢酶活性抑制率之影响¹⁾

Table 3 The inhibition rate of *Gynura divaricata* extract for XDH activity

组别	$XDH/(nmol \cdot min^{-1} \cdot mg^{-1})$	XDH 抑制率/%
空白组	0.014 2 ± 0.002 4 ^b	—
模型组	0.021 6 ± 0.003 4 ^a	—
别嘌醇治疗组	0.014 1 ± 0.002 3 ^b	34.9
GF1	0.016 6 ± 0.001 4 ^b	23.3
GF5	0.015 8 ± 0.001 6 ^b	26.8

1) 每个值代表平均值 ± 标准偏差($n = 7$);通过单因素方差分析,上标字母(a、b)不同的组间差异显著($P < 0.05$);活性抑制率% = (模型组 - 计算组)/模型组 × 100.

3 讨论

目前的降尿酸药物主要是抑制尿酸合成或促进尿酸排泄的西药为主,如别嘌醇、非布索坦、丙磺舒、苯溴马龙等,以上这些药物虽然作用靶点清晰并且降尿酸作用明确,但存在较严重的不良反应,长期服用常会出现皮疹、发热、骨髓抑制和肝肾损害等^[18-21].白背三七为《中华草本》收录的珍贵中草药,民间以白背三七地上部分作为食药两用,使用历史悠久,副作用小,适合长期使用.本实验以 PO 注射诱发的高尿酸小鼠动物模型为研究对象,以不同质量分数的白背三七萃取物管喂小鼠,结果显示,白背三七萃取物可较好地抑制 XOD 和 XDH 两种酶的活性,具有显著的降尿酸效应,为降尿酸新药开发提供参考.但白背三七降尿酸的有效成分和机制还需要进一步研究与完善.

[参考文献]

[1] HAVLIK J,HUEBRA RGD,HEJTMANKOVA K, et al. Xanthine oxidase inhibitory properties of Czech medicinal plants[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2010, 132 (2):461-465.

[2] 徐 熠,徐玲玲. 中医药治疗痛风的研究进展[J]. 中国药房,2010,21(23):2195-2196.

[3] 王明军,张金荣,潘 玲,等. 广西城乡成年人高尿酸血症的流行病学调查[J],暨南大学学报(自然科学与医学版),2014,35(3):305-309.

[4] MARTINON F,PETRILLI V,MAYOR A. Gout-associated uric acid crystals activate the NALP3 inflammasome[J]. Nature,2006,440(7081):237-241.

[5] GUSTAFSSON D,UNIWIN R. The pathophysiology of hyperuricaemia and its possible relationship to cardiovascular disease,morbidity and mortality[J]. BMC Nephrology,

- 2013,14(1):1-9.
- [6] 罗来敏,陈钦开,杨小娟. 降尿酸治疗对痛风高尿酸血症患者 IL-1 β 和 NALP3 水平的影响[J]. 南昌大学学报(医学版),2016,56(1):63-66.
- [7] 吕金海,刘 鹏,周 芳,等. 菜药两用植物——白背三七[J]. 农业科技通讯,2012,(2):137-138.
- [8] 刘 翔,李紫微,张植玮,等. 民间降血糖草药白子菜的研究进展[J]. 重庆中草药研究,2014,(1):34-36.
- [9] 何立巍,徐晓芳,刘爱林,等. 白背三七现代研究进展[J]. 中国民族医药杂志,2014,20(10):61-65.
- [10] 冼寒梅,周 蓉,刘 雯,等. 白子菜不同药用部位挥发油的含量测定及其气相色谱-质谱联用分析[J]. 时珍国医国药,2008,19(4):858-859.
- [11] 马正东,陈 磊,宋洪涛,等. 白背三七水提取物对 2 型糖尿病大鼠的降血糖作用及其机制[J]. 中草药,2010,41(4):623-626.
- [12] 姜曼花,胡剑卓,邱文高,等. 白背三七多糖和黄酮降血糖及耐缺氧作用[J]. 中国医院药学杂志,2009,29(13):1074-1076.
- [13] 胡 勇,李维林,林厚文,等. 白背三七地上部分降血糖作用研究[J]. 西南林学院学报,2007,27(1):55-58.
- [14] 俞 浩,毛斌斌,周国梁,等. 白背三七总黄酮对糖尿病大鼠的降血糖作用[J]. 食品科学,2013,30(15):295-298.
- [15] 黄开珍,郝永靖,曾春晖,等. 白子菜水提物对自发性高血压大鼠降血压作用的实验研究[J]. 中成药,2009,31(10):1505-1508.
- [16] 童 娟,李东晓,李晓娟. 白子菜提取物对高脂血症模型大鼠的降血脂作用[J]. 江西中医学院学报,2012,24(5):70-72.
- [17] 袁六六,杨 娴,张国彬,等. 白子菜提取物对糖尿病小鼠血脂代谢和肝脏保护作用[J]. 中国医院药学杂志,2014,34(18):1572-1576.
- [18] 朱春胜,林志健,张 冰. 菊苣降尿酸作用的谱效关系研究[J]. 中草药,2015,46(22):3386-3389.
- [19] 闫云霞,杨中林,萧 伟,等. 虎杖降尿酸作用初步研究[J]. 亚太传统医药,2015,11(8):7-9.
- [20] 平成斌,陈冠容. 别嘌醇的药理作用及其临床新用途[J]. 中国社区医师,2007,23(3):19-20.
- [21] OKAMOTO K. Inhibitors of xanthine oxidoreductase[J]. Jpn J Clin Oncol,2008,66(4):748-753.

[责任编辑:刘蔚绥]