

栀子降尿酸有效部位研究

朱继孝, 曾金祥, 罗光明, 朱玉野*, 王晓云, 吴波, 师晶晶, 徐贇峰
(江西中医学院江西省中药种质资源工程技术研究中心, 南昌 330004)

[摘要] **目的:** 确定栀子降尿酸作用有效部位。**方法:** 用系统溶剂法提取分离得到 4 个部位, 分别为石油醚部位、乙酸乙酯部位、正丁醇部位和水液部位, 采用氧嗪酸钾盐诱导的小鼠急性高尿酸血症模型, 研究栀子总提物和 4 个部位对高尿酸血症小鼠血清尿酸水平和肝脏黄嘌呤氧化酶的影响。**结果:** 栀子总提物组、乙酸乙酯组和水组具有较好的降尿酸作用, 栀子总提物组、石油醚组和水组能够较好的抑制黄嘌呤氧化酶的活性。栀子总提取物和各部位提取物对正常小鼠血清尿酸水平没有显著影响。**结论:** 栀子乙酸乙酯提取部位和水液部位为降尿酸活性部位, 其降尿酸作用部分机制是通过抑制黄嘌呤氧化酶的活性。

[关键词] 栀子; 降尿酸; 有效部位; 黄嘌呤氧化酶

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)14-0159-03

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20120515.1604.026.html>

[网络出版时间] 2012-05-15 16:04

Study on Effective Part of Anti-hyperuricemia in Gardeniae Fructus

ZHU Ji-xiao, ZENG Jin-xiang, LUO Guang-ming, ZHU Yu-ye*,
WANG Xiao-yun, WU Bo, SHI Jing-jing, XU Yun-feng

(The Chinese Medicine Germplasm Resource Engineering Technology Research Center of Jiangxi Province,
Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

[Abstract] **Objective:** To determine the effective part of anti-hyperuricemia in Gardeniae Fructus. **Method:** Four fractions were obtained by systematic solvent extraction, petrol ether extract, ethyl acetate extract, butanol extract and water-soluble part. Total extract of Gardenia Fructus (TEG) and its different extracts were administrated to hyperuricemia mice induced by potassium oxonate, then the level of uric acid and xanthine oxidase in hyperuricemia mice were observed. **Result:** TEG, ethyl acetate extract and water-soluble part could obviously reduce the level of serum uric acid in hyperuricemia mice, TEG, petrol ether extract and water-soluble part could obviously inhibit the activity of and xanthine oxidase in the liver. TEG and its different extracts had no effect on the level of serum uric acid in normal mice. **Conclusion:** Ethyl acetate extract and water-soluble part from Gardeniae Fructus are the active fraction for anti-hyperuricemia, and the effect is related to its inhibition of xanthine oxidase.

[Key words] Gardeniae Fructus; anti-hyperuricemia; effective part; xanthine oxidase

栀子 (Fructus Gardeniae) 为茜草科植物栀子 (Gardenia jasminoides Ellis) 的干燥成熟果实^[1]。栀

子为常用中药, 在我国应用历史悠久, 《神农本草经》列为中品, 以后历代主要本草著作都有记载。

痛风 (gout) 是由于嘌呤类物质代谢紊乱, 产生尿酸过多和 (或) 尿酸排泄减少, 血尿酸浓度持续增高导致尿酸盐结晶沉积软组织所致的一组代谢性疾病^[2], 高尿酸血症是痛风最重要的生化基础^[3]。随着人们生活水平的不断提高和饮食结构的改变, 痛风和高尿酸血症的患病率在全球范围呈逐年上升的趋势。现有的用于治疗痛风的药物副作用比较多,

[收稿日期] 20111122(003)

[基金项目] 国家“十二五”科技支撑计划项目 (2011BAI04B01)

[第一作者] 朱继孝, 博士, 讲师, 从事药用植物研究, Tel: 0791-87118873, E-mail: zhujx81@sina.com

[通讯作者] *朱玉野, 硕士, 讲师, 从事中药资源品质评价, Tel: 0791-87118873, E-mail: zyy711@126.com

如临床使用较多的别嘌呤醇,有过敏、胃肠反应、荨麻疹、头痛、间质性肾炎、肝坏死等不良反应^[4-5]。本课题组前期研究发现栀子提取物能够显著降低高尿酸血症小鼠的血清尿酸水平,因此,本研究选择氧嗉酸钾盐诱导的小鼠急性高尿酸血症模型,采用不同的提取部位,观察各部分对小鼠血清尿酸的影响及其对小鼠肝脏黄嘌呤氧化酶(xanthine oxidase, XOD)的抑制率,以确定栀子降尿酸的有效部位及其可能的作用机制。

1 材料

1.1 药材来源 栀子 *Gardeniae Fructus* 购自江西黄庆仁棧华氏大药房(批号 1010004),经江西中医学院中药资源教研室赖学文教授鉴定为茜草科植物栀子 *Gardenia jasminoides* Ellis 的干燥成熟果实。

1.2 动物 昆明种小鼠,体重(20±2)g,雄性,150只,由江西中医学院动物中心提供,清洁级,实验动物使用许可证号:JZDW 2008-0042。实验期间室温(24±2)℃。

1.3 仪器设备 高速冷冻离心机(Beckman-Coulter 公司),超低温冰箱(美国 Thermo 公司),电热恒温水箱(上海博迅实业有限公司),电子分析天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司),旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂),UV2100 紫外-可见分光光度计(北京瑞利分析仪器公司)。

1.4 试剂与药品 氧嗉酸钾盐(批号 STBB0995,由 SIGMA-ALDRICH 公司生产),别嘌呤醇片(批号 100502,由上海信宜万象药业股份有限公司生产),尿酸测定试剂盒(批号 20110908),XOD 测定试剂盒(批号 20110824),考马斯亮蓝蛋白测试盒(批号 20110811),均由南京建成生物工程研究所提供,其他试剂均为分析纯。

2 方法

2.1 实验用药的制备 取栀子 100 g,加入 8 倍药材量的 60% 乙醇加热回流 3 次,每次 2 h,3 次回流所得滤液混合后浓缩至 200 mL,分别用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取,分取有机层,得到 4 个部分,石油醚层、乙酸乙酯层、正丁醇层、水层。将提取的各个部分分别减压回收溶剂至干,加适量 0.5% CMC-Na 超声溶解。配置的药液置冰箱中冷藏,临用前取出于室温融化供实验用。

2.2 给药剂量的确定 根据前期实验,选择人给药 12 g·d⁻¹ 折算为小鼠给药剂量,按生药量计为 1.56 g·kg⁻¹。

2.3 栀子各部位对高尿酸血症小鼠的影响

2.3.1 动物分组及给药 将 80 只小鼠随机分为 8 组,每组 10 只,分别为空白对照组、高尿酸血症组(模型组)、别嘌呤醇组、栀子总提物组、石油醚组、乙酸乙酯组、正丁醇组、水组。别嘌呤醇混悬于 0.8% CMC-Na 中,其剂量为 10 mg·kg⁻¹。空白对照组和模型对照组,ig 给予相应体积的生理盐水。按 15 mL·kg⁻¹ ig 给药。连续给药 7 d,每天 1 次,最后 1 次于造模 1 h 后给药。

2.3.2 高尿酸血症小鼠模型的建立 采用尿酸酶抑制剂氧嗉酸钾盐为化学诱导剂,抑制小鼠体内尿酸分解,造成小鼠高尿酸血症模型。于给药前 1 h,按照 400 mg·kg⁻¹ 剂量,对小鼠腹腔注射氧嗉酸钾盐(混悬于 0.8% CMC-Na 溶液)。空白对照组腹腔注射相应体积 0.8% CMC-Na 溶液。给药 1 h 后,小鼠眼眶后静脉丛采血,全血 2 500 r·min⁻¹ 离心 3 min,离心后上层血清置于 4℃ 冰箱中备用。并于冰台快速分取肝脏组织块,立即投入液氮中冷冻,取出后置于 -70℃ 冰箱中保存。

2.3.3 血清尿酸水平检测及肝脏 XOD 活性测定 取血清按照尿酸测定试剂盒规定方法测定血清尿酸水平;肝脏组织块称重后按体积比加 9 倍预冷的生理盐水制成 10% 匀浆,2 500 r·min⁻² 离心 10 min,取上清按照试剂盒规定方法测定蛋白含量和 XOD 活性。

2.4 栀子各部位对正常小鼠的影响 将 70 只小鼠随机分为 7 组,每组 10 只,分别为空白对照组、别嘌呤醇组、栀子总提物组、石油醚组、乙酸乙酯组、正丁醇组、水组。各组给药剂量同前。连续给药 7 d,每天一次。最后一次给药 1 h 后,小鼠眼眶后静脉丛采血,分离血清和肝脏组织块,检测血清尿酸水平。

2.5 数据处理 数据用 Excel 2003 版统计软件进行统计,采用 Student's *t*-检验双尾分析,结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示。 $P < 0.05$ 有统计学意义。

3 结果

3.1 对高尿酸血症小鼠血清尿酸水平的影响 结果见表 1。高尿酸血症模型组小鼠血清尿酸水平显著地高于正常小鼠血清尿酸水平($P < 0.01$)。阳性对照药别嘌呤醇在给药剂量为 10 mg·kg⁻¹ 时能显著地降低高尿酸血症小鼠血清尿酸水平,与模型组小鼠血清尿酸水平有极显著性差异($P < 0.01$),并将小鼠血清尿酸水平降低到正常小鼠以下。栀子总提物组、乙酸乙酯组、水组均可显著降低高尿酸血症小鼠血清尿酸水平($P < 0.01$)。表明栀子乙酸乙酯提取物和水液具有降尿酸作用。

表1 栀子不同提取部位对高尿酸血症小鼠血清尿酸水平的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	给药剂量 /g·kg ⁻¹	血清尿酸 /μmol·L ⁻¹	抑制率 /%
空白对照	-	164.54 ± 15.58	-
高尿酸模型	-	233.70 ± 20.18 ²⁾	-
别嘌呤醇	0.01	99.53 ± 12.01 ^{2,4)}	57.41
栀子总提物	1.56	122.07 ± 20.37 ^{1,4)}	47.76
栀子石油醚部位	1.56	204.39 ± 17.62 ²⁾	12.54
栀子乙酸乙酯部位	1.56	133.24 ± 14.62 ^{1,4)}	42.98
栀子正丁醇部位	1.56	193.39 ± 24.21 ²⁾	17.24
栀子水层	1.56	156.40 ± 13.98 ⁴⁾	33.07

注:与空白对照组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$;与高尿酸模型组比较³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$ 。

3.2 对高尿酸血症小鼠肝脏 XOD 活性的影响 别嘌呤醇组和栀子总提物组、石油醚组、水组对高尿酸血症小鼠肝脏 XOD 活性均有一定抑制作用,但其抑制程度与其相同剂量组对血清尿酸的抑制程度并不平行。见表 2。

表2 栀子不同提取部位对高尿酸血症小鼠肝脏 XOD 活性的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	给药剂量 /g·kg ⁻¹	XOD 活性 /μmol·L ⁻¹	抑制率 /%
空白对照	-	22.73 ± 3.09	-
高尿酸模型	-	23.15 ± 2.07	-
别嘌呤醇	0.01	15.12 ± 2.84 ¹⁾	34.68
栀子总提物	1.56	18.49 ± 2.32 ¹⁾	21.28
栀子石油醚部位	1.56	19.53 ± 2.56 ¹⁾	15.63
栀子乙酸乙酯部位	1.56	24.12 ± 3.69	0
栀子正丁醇部位	1.56	22.30 ± 3.67	3.6
栀子水层	1.56	13.16 ± 2.58 ¹⁾	43.15

注:与高尿酸模型组比较¹⁾ $P < 0.01$ 。

3.3 对正常小鼠血清尿酸水平的影响 别嘌呤醇 10 mg·kg⁻¹ 给药组小鼠的血清尿酸水平显著低于正常对照组($P < 0.01$)。而栀子总提物及各部位给药组对正常小鼠血清尿酸水平的影响并不显著。

4 讨论

痛风属中医“痹证”,临床表现为高尿酸血症、急性关节炎反复发作、痛风性肾病等^[6],尿酸水平

升高是痛风的生化基础,痛风必伴有高尿酸血症,因此采用尿酸酶抑制剂氧嗉酸钾盐为化学诱导剂,抑制小鼠体内尿酸分解,造成小鼠高尿酸血症模型,用于研究痛风发病的具体机制,评价不同药物对痛风的治疗效果。本试验研究结果表明,高尿酸血症模型组小鼠的尿酸水平显著地高于正常组小鼠的血清尿酸水平,该模型简便、灵敏度高、重复性好。

本课题组前期研究结果表明栀子总提物能在一定程度降低高尿酸血症小鼠血清尿酸水平,表明栀子具有一定的抗痛风作用。本研究进行了栀子降尿酸有效部位的筛选,确定了栀子乙酸乙酯萃取物和水液具有较好的降尿酸作用。黄嘌呤氧化酶是嘌呤核苷代谢途径的限速酶,是调控尿酸生成的最终环节,在高尿酸血症的发病中占有重要的地位。本研究结果表明栀子总提物、石油醚萃取物和水液对高尿酸血症小鼠肝脏黄嘌呤氧化酶活性具有一定的抑制作用,但各部位给药组对高尿酸血症小鼠肝脏 XOD 活性的抑制作用与其相同剂量组对血清尿酸水平的影响并不平行,同时栀子总提物和各部位给药组对正常小鼠血清尿酸水平没有影响,表明栀子降尿酸作用是部分通过抑制黄嘌呤氧化酶的活性从而降低血清尿酸水平,并可能存在其他降尿酸途径。

[参考文献]

- [1] 中国药典.一部[S]. 2010:231.
- [2] 杨田义,杨培民,冯明建,等. 以高尿酸血症小鼠模型优选痛风定颗粒的提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(7):28.
- [3] 陈光亮,段玉光,李莉,等. 加味四妙汤对高尿酸血症和痛风性关节炎防治作用的实验研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2008,14(3):48.
- [4] 平成斌,陈冠容. 别嘌呤的药理作用及其临床新用途[J]. 中国社区医师,2007,23(3):19.
- [5] Okamoto K. Inhibitors of xanthine oxidoreductase [J]. Jpn J Clin Oncol, 2008, 66(4): 748.
- [6] 李翎,方永奇,邹衍衍. 贞草痛风消胶囊治疗高尿酸血症的药效研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2008, 14(7): 48.

[责任编辑 聂淑琴]