

## 藏药菥蓂中黑芥子苷对黄嘌呤致小鼠高尿酸作用的研究

柯秀梅<sup>1,2</sup>, 杨荣平<sup>1,2</sup>, 王云红<sup>2</sup>, 刘楠<sup>1,2</sup>, 周文杰<sup>1,2</sup>, 张小梅<sup>1,2\*</sup><sup>1</sup>成都中医药大学药学院, 成都 611137; <sup>2</sup>重庆市中药研究院重庆市中药资源重点实验室, 重庆 400065

**摘要:**采用黄嘌呤致小鼠高尿酸模型, 将昆明种小鼠随机分为模型组、空白对照组、阳性组、未灭活水提液(WMHSTY)组、灭活水提液(MHSTY)组、醇提液(CTY)组和水提醇沉浓缩液(STCCNSY)组并分别给药, 以提取液对尿酸降低程度与提取液中黑芥子苷含量的关系阐明黑芥子苷与菥蓂治疗痛风作用的关系。结果, MHSTY和WMHSTY对黄嘌呤致小鼠高尿酸模型有显著的降低尿酸作用, 两者间无明显差异, 但黑芥子苷含量差异显著; CTY中黑芥子苷含量最高, 但对本模型无明显作用; STCCNSY中无法检测出黑芥子苷, 但对本模型有极显著作用。表明, 藏药菥蓂中黑芥子苷的含量与菥蓂对黄嘌呤致小鼠高尿酸模型的作用无明显关系。

**关键词:**藏药菥蓂; 黑芥子苷; 黄嘌呤; 高尿酸

中图分类号: R283.1

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2015.08.017

## Effect of Sinigrin on High Uric Acid in Mice Induced by Xanthanine

KE Xiu-mei<sup>1,2</sup>, YANG Rong-ping<sup>1,2</sup>, WANG Yun-hong<sup>2</sup>, LIU Nan<sup>1,2</sup>, ZHOU Wen-jie<sup>1,2</sup>, ZHANG Xiao-mei<sup>1,2\*</sup><sup>1</sup>Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China; <sup>2</sup>Key Laboratory of Chongqing

TCM resources, Chongqing academy of Chinese Traditional Materia Medica, Chongqing 400065, China

**Abstract:** In this study, high uric acid mice model was induced by xanthine. The model mice were randomly divided into: model control group, normal control group, positive group, WMHSTY group, MHSTY group, CTY group and STCCNSY group, and give medicine respectively. The correlation between the reducing levels of uric acid and content of sinigrin in the extract of *Thlaspi awogrle* L was investigated and used to illuminate the effects of *T. awogrle* and sinigrin on gout. As a result, MHSTY and WMHSTY both can notably decrease levels of uric acid on mice with high uric acid induced by xanthanine, and there was no significant difference between them, while the content of sinigrin were different; the content of sinigrin was the highest in CTY, but it did not affect the levels of uric acid; there was no sinigrin in STCCNSY while it can significantly decrease uric acid level of the model. These results suggested that sinigrin was not related to the effect of Tibetan medicine *T. awogrle* on lowering the uric acid level in mice induced by xanthanine.

**Key words:** Tibetan medicine *Thlaspi awogrle* L.; sinigrin; canthanine; high uric acid

痛风是由于嘌呤代谢紊乱, 产生尿酸过多和(或)尿酸排泄减少, 血尿酸浓度持续增高所致的一组疾病<sup>[1]</sup>, 高尿酸血症为其特征性表现之一。随着人们生活水平的提高及饮食结构的改变, 痛风发病率已日益增加<sup>[2]</sup>。有调查结果表明, 我国痛风患者占总人口的1%~2%<sup>[3]</sup>, 有人预计21世纪痛风患者在我国将成为仅次于糖尿病的代谢病<sup>[4]</sup>。现代医学对痛风的治疗已取得较大进展, 但短期疗效显著, 长期效果不理想, 且副作用大。传统医药独特的辩证体系在治疗、缓解本病病情方面具一定优势。

菥蓂为双子叶植物十字花科菥蓂 *Thlaspi arvense* L. 的干燥地上部分, 又叫遏蓝菜、苏败酱(江苏)、南败酱(湖北)、苦芥子等, 分布全国各地<sup>[5]</sup>, 为药食两用的藏药。其嫩苗、全草、种子皆可入药, 嫩苗和中益气、利肝明目; 全草具有清热解毒、消肿排脓<sup>[6]</sup>的功效, 主治目赤肿痛、泪出、脘腹胀痛, 胁痛, 肠痛, 水肿, 带下, 疮疖痈肿, 常用于治疗肾炎、子宫内膜炎<sup>[7]</sup>。在西藏民间常用来治疗痛风, 效果甚好。菥蓂全草含有黑芥子苷、芥子酶、吲哚类<sup>[8]</sup>、挥发油<sup>[9]</sup>和黄酮类<sup>[10]</sup>等成分。文献报道, 黑芥子苷能促进尿酸排泄, 有效治疗痛风<sup>[11]</sup>。课题组前期将菥蓂用于治疗痛风并对其进行系统研究, 在此基础上, 本文研究提取液中黑芥子苷的含量与其降低黄嘌呤致小鼠高尿酸模型尿酸程度作用的关系。

收稿日期: 2013-07-15 接受日期: 2014-03-07

基金项目: 国家科技重大专项(2010ZX09401-306-15)

\*通讯作者 Tel: 86-23-89029068; E-mail: ZX761@yahoo.com.cn

# 1 材料与amp;方法

## 1.1 药品、试剂与仪器

药材购于重庆储奇门药材市场,经重庆市中药研究院生药所秦松云副研究员鉴定为十字花科菘蓢植物的干燥地上部位;别嘌醇片(重庆青阳药业有限公司产品,批号为110301);黄嘌呤(美国SIGMA公司,批号为20100613);黑芥子苷对照品(美国SIGMA公司,批号为101016464,含量 $\geq 99.0\%$ );尿酸(中国医药集团上海化学试剂进口分装,批号为0001211);水为超纯水,乙腈为色谱纯,其他试剂皆为分析纯。

Waters 2695 高效液相色谱仪, Waters 2996 DAD 检测器, Waters Empower 工作站; 电热恒温鼓风干燥箱(巩义市予华仪器责任有限公司); FE20 型实验室 pH 计(梅特勒-托利多仪器上海有限公司); 电子天平(千分之一,上海精密科学仪器有限公司); 电子天平(万分之一,十万分之一,德国赛多利斯科学仪器北京有限公司)。

## 1.2 研究对象

7 周龄雄性 SPF 级昆明小鼠, 体重 18 ~ 22 g, 由重庆市中药研究院实验动物中心提供, 合格证号: SCXK(渝)2012-0007。

## 1.3 研究方法

### 1.3.1 提取液的制备

①灭活(MHSTY)菘蓢水提液的制备:称取经烘箱 120 °C 灭活 40 min 的菘蓢药材粗粉 100 g, 加水 1L 回流提取 2 次, 每次 1 h, 滤过, 合并滤液, 浓缩至 100 mL, 即得含生药材 1 g/mL 的水提液; ②未灭活(WMHSTY)菘蓢水提液的制备:称取菘蓢药材粗粉 100 g, 加水 1 L 回流提取 2 次, 每次 1 h, 滤过, 合并滤液, 浓缩至 100 mL, 即得含生药材 1 g/mL 的水提液; ③菘蓢醇提液(CTY)的制备:称取菘蓢药材粗粉 100 g, 加乙醇 1 L 回流提取 2 次, 每次 1 h, 滤过, 合并滤液, 回收乙醇至无醇味, 加水稀释至 100 mL, 即得含生药材 1 g/mL 的醇提液; ④菘蓢水提醇沉浓缩液(STCCNSY)的制备:称取菘蓢药材粗粉 300 g, 按“①”方法制备菘蓢水提液 300 mL, 加乙醇至含醇量为 50% 进行醇沉, 静置冷藏 24 h, 回收乙醇并浓缩至 100 mL, 即得含生药材 3 g/mL 的浓缩液。分别取上述提取液 1.0 mL, 加水 5.0 mL 稀释, 滤过, 取续滤液 10  $\mu$ L 进样, 供 HPLC 分析。

### 1.3.2 黑芥子苷 HPLC 分析方法的建立

#### 1.3.2.1 HPLC 条件

Boston ODS  $C_{18}$  色谱柱(4.6 mm  $\times$  250 mm, 5  $\mu$ m); 流动相:0.02 M  $C_{16}H_{37}NO_4S$  水溶液(用 1.3 M 氢氧化钠和 0.4 M 磷酸二氢钠水溶液调 pH=7)-乙腈(85:15); 柱温 25 °C, 检测波长 225 nm, 流速 1 mL/min。

#### 1.3.2.2 线性关系考察

精密称取经五氧化二磷减压干燥 24 h 的黑芥子苷对照品 10.50 mg 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得每 1 mL 含 0.42 mg 黑芥子苷的储备液。精密吸取适量储备液以甲醇配制成不同浓度(0.021、0.084、0.168、0.336 mg/mL)的对照品溶液, 按“1.3.2.1”项下方法进样分析。以峰面积(Y)对浓度(X)进行回归, 回归方程为  $Y = 9.82 \times 10^6 X + 1.84 \times 10^4$  ( $r = 0.99995$ )。结果表明黑芥子苷在 0.021 ~ 0.42 mg/mL 内色谱峰面积与浓度的线性关系良好。

#### 1.3.2.3 精密密度试验

精密吸取黑芥子苷对照品溶液连续进样 6 次, 每次进样 10  $\mu$ L, 按“1.3.2.1”项下方法测定, 并计算 6 次峰面积的 RSD% 为 1.02%, 表明仪器精密密度良好。

#### 1.3.2.4 重现性试验

取药材粗粉 100 g, 按“1.3.1①”项下方法制备供试品溶液, 平行 6 份, 按“1.3.2.1”项下方法测定各样品中黑芥子苷含量, 并计算 RSD 值为 1.68%, 表明本方法重现性好。

#### 1.3.2.5 加样回收率试验

称取药材粗粉 50 g, 加入黑芥子苷对照品 18.25 mg, 按“1.3.1①”项下方法制备供试品溶液, 平行 6 份, 按“1.3.2.1”项下方法测定各供试品溶液中黑芥子苷含量, 并计算平均回收率为 99.12%, RSD 值为 2.38%。

### 1.3.3 动物分组与给药

昆明小鼠随机分为 7 组:模型组、空白对照组、阳性组、未灭活水提液(WMHSTY)组、灭活水提液(MHSTY)组、醇提液(CTY)组和水提醇沉浓缩液(STCCNSY)组。每组灌服相应药物, 给药剂量为 5.0 g/kg, 阳性对照组给予别嘌醇片 0.12 g/kg, 模型组与对照组给予等量蒸馏水。各组均灌胃给药 5 d, 每日 1 次, 第 5 d 给药后造模:除正常对照组外, 各组均腹腔注射黄嘌呤悬液 0.02 mL/g, 1 h 后摘眼

球法取血,3000 rpm 离心,检测血清中尿酸含量。

### 1.3.4 数据分析

实验数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用 SPSS17.0 软件,进行单因素方差分析,方差齐性进行 LSD 比较,方差不齐进行 Dunnett T3 比较。

## 2 实验结果

### 2.1 黑芥子苷含测结果

HPLC 色谱图见图 1,含测结果(表 1)表明,菥蓂醇提液中黑芥子苷的含量最高,其次为灭活水提液,浓缩液中未检测出黑芥子苷。

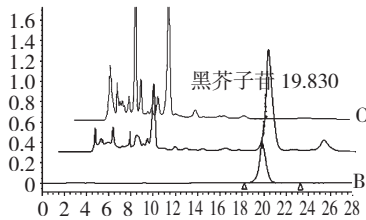


图1 对照品(A)、CTY(B)、和 STCCNSY(C)的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of standard (A), CTY (B) and STCCNSY (C)

表 1 藏药菥蓂提取液中黑芥子苷的含量

Table 1 Content of sinigrin in different extracts of *T. awogrle*

样品 Sample	WMHSTY	MHSTY	CTY	STCCNSY
黑芥子苷含量 Content of sinigrin (mg/g)	0.365	0.526	0.830	-

### 2.2 MHSTY 与 WMHSTY 对黄嘌呤致小鼠高尿酸模型的影响

表 2 MHSTY 与 WMHSTY 对黄嘌呤致小鼠高尿酸模型尿酸的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 2 Effect of MHSTY and WMHSTY on uric acid level of high uric acid in mice induced by xanthanine ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别 Group	剂量 Dose (g/kg)	尿酸值 Value of uric acid ( $\mu\text{mol/L}$ )
对照组 Control group	-	36.64 $\pm$ 14.21 * *
模型组 Model group	-	56.25 $\pm$ 18.47
别嘌醇片组 Allopurinol pill group	0.12	12.70 $\pm$ 4.45 * *
WMHSTY group	5	38.30 $\pm$ 23.96 *
MHSTY group	5	34.30 $\pm$ 9.90 * *

注:与模型组相比较, \*  $P < 0.05$ , \* \*  $P < 0.01$ 。  
Note: Compared with model group, \*  $P < 0.05$ , \* \*  $P < 0.01$ .

结果见表 2,与对照组比,模型组尿酸值显著升高,表明造模成功。与模型组比,MHSTY 和 WMHSTY 对黄嘌呤致小鼠高尿酸模型均有显著降低尿酸作用,其中 MHSTY 有极显著降低尿酸作用。

### 2.3 WMHSTY 和 CTY 对黄嘌呤致小鼠高尿酸模型的影响

结果见表 3,与对照组比,模型组尿酸值显著升高,表明造模成功。与模型组比,CTY 对黄嘌呤致小鼠高尿酸模型无明显影响,WMHSTY 对该模型有显著降低尿酸作用,表明菥蓂治疗痛风的有效作用部位在水提液部位。

表 3 WMHSTY 和 CTY 对黄嘌呤致小鼠高尿酸模型的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 3 Effect of WMHSTY and CTY on uric acid level of high uric acid in mice induced by xanthanine ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别 Group	剂量 Dose (g/kg)	尿酸值 Value of uric acid ( $\mu\text{mol/L}$ )
对照组 Control group	-	36.64 $\pm$ 14.21 * *
模型组 Model group	-	56.25 $\pm$ 18.47
别嘌醇片组 Allopurinol pill group	0.12	12.70 $\pm$ 4.45 * *
WMHSTY group	5	38.30 $\pm$ 23.96 *
CTY group	5	54.00 $\pm$ 25.72

注:与模型组相比较, \*  $P < 0.05$ , \* \*  $P < 0.01$ 。  
Note: Compared with model group, \*  $P < 0.05$ , \* \*  $P < 0.01$ .

### 2.4 STCCNSY 对黄嘌呤致小鼠高尿酸模型的影响

结果见表 4,与对照组比,模型组尿酸值显著升高,表明造模成功。与模型组比,STNSY 对黄嘌呤致小鼠高尿酸模型有极显著降低尿酸作用。

表 4 STCCNSY 对黄嘌呤致小鼠高尿酸模型的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 4 Effect of STNCCNSY on uric acid level of high uric acid in mice induced by xanthanine ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别 Group	剂量 Dose (g/kg)	尿酸值 Value of uric acid ( $\mu\text{mol/L}$ )
对照组 Control group	-	35.73 $\pm$ 13.30 * *
模型组 Model group	-	58.45 $\pm$ 17.68
别嘌醇片组 Allopurinol pill group	0.12	14.59 $\pm$ 4.86 * *
STCCNSY group	5	27.23 $\pm$ 7.65 * *

注:与模型组相比较, \*  $P < 0.05$ , \* \*  $P < 0.01$ 。  
Note: Compared with model group, \*  $P < 0.05$ , \* \*  $P < 0.01$ .

### 2.5 黑芥子苷含量与菥蓂对黄嘌呤致小鼠高尿酸模型作用的关系

图 2 表明,藏药菥蓂提取液中,CTY 中黑芥子苷含量最高,其次为 WMHSTY,STCCNSY 中 HPLC 法

无法检测出黑芥子苷;MHSTY 和 STCCNSY 对黄嘌呤致小鼠高尿酸模型有极显著降低尿酸作用,WMHSTY 对本模型有显著作用,而 CTY 对该模型无明显作用。表明藏药菥蓂中黑芥子苷与其对黄嘌呤致小鼠高尿酸模型作用无明显关系,其物质基础有待进一步研究。

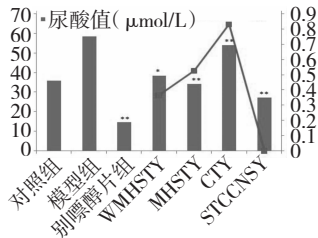


图2 藏药菥蓂中黑芥子苷含量与菥蓂对黄嘌呤致小鼠高尿酸模型作用的关系

Fig. 2 The relationship between sinigrin content in different extracts of *T. awogrle* and their effects on high uric levels

注:与模型组相比较,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ 。

Note:Compared with model group,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ .

### 3 结论

本试验中水提醇沉浓缩液中无法检测出黑芥子苷成分,预实验表明黑芥子苷对热不稳定。黑芥子苷是一种硫苷,它既能溶于水,又能溶于乙醇或含水醇,在常温、干燥条件下相对稳定,但在湿热条件下,易发生有酶(芥子酶)降解与无酶降解,其降解速率与温度和体系含水量有关,温度越高,含水量越高,降解越快。含有苷类等次生代谢产物的天然药物细胞内一般同时含有能分解苷类成分的酶,如黄芩苷、龙胆苦苷等。由于温湿度对黑芥子苷的稳定性有一定影响,故本实验采用了鼓风加热的方式迅速杀酶,而不是传统的蒸、清炒、焯等方法。预试验以黑芥子苷含量为指标,采用单因素试验法对藏药菥蓂药材灭活工艺主要影响因素灭活温度(110、120和130℃)和灭活时间(20、40 min和60 min)进行了考察,优选出120℃下鼓风加热40 min的灭活条件。

菥蓂经水提后收膏率约16%,就单味药而言,出膏率过高,不利于制剂成型工艺研究。水提醇沉法是较传统的一种除杂方法,其基本原理是根据物质溶解度差别进行分离,使一部分物质沉淀析出。具有操作简便,乙醇沸点适中,回收乙醇可重复使用的特点,能降低成本。本实验以黑芥子苷为含测指

标,结合药效试验结果,采用单因素试验对菥蓂水提醇沉工艺主要影响因素乙醇含量(30%、50%和70%)、药液浓度(以生药量计,0.5、1.0 g/mL和2.0 g/mL)和醇沉时间(6、12 h和24 h)进行了系统考察,优选出1.0 g/mL药液浓度加乙醇至含醇量为50%,醇沉24 h的醇沉工艺条件。

菥蓂为药食两用的藏药,西藏民间常用来治疗痛风。目前对藏药菥蓂的现代药理学研究较少,未见文献报道,其治疗痛风的物质基础不清楚。据报道,黑芥子苷能有效治疗痛风<sup>[12-14]</sup>。本文采用化学与药效评价相结合的试验方法,对藏药菥蓂中黑芥子苷与菥蓂治疗痛风的关系进行研究。结果表明,藏药菥蓂治疗痛风作用与其中所含的黑芥子苷无明显作用关系,其物质基础有待进一步研究。

课题组旨在研究菥蓂治疗痛风的作用及其物质基础,主要药效学研究通常需采用两种及两种以上的试验方法来互相佐证,而本文仅采用了黄嘌呤致小鼠高尿酸这一模型对其进行研究,不足以断定菥蓂对痛风的作用。作者将采用尿酸钠(MSU)诱导的关节炎模型进行进一步验证菥蓂中黑芥子苷与菥蓂治疗痛风的关系。

### 参考文献

- Mu YH, Yin HB, Shi B. To explore the prevention and cure of hyperuricemia and gout from the traditional Chinese medicine "preventive treatment of disease". *Beijing J TCM*, 2013, 32:44-46.
- Huang QM, Chen JC. The study progress of traditional Chinese medicine pathogenesis and treatment on treating gouty arthritis. *Rheumatism Arthritis*, 2013;57-63.
- Zhang LS, Liu XL. *Modern Pain Science*. Shijiazhuang: Hebei Science and Technology Press, 2002. 948.
- Kuang HT. Research overview of Chinese medicine treatment on gout. *Hunan J TCM*, 2005, 21(2):79-80.
- Chen Y, Zhou H, Wu LP, et al. HPLC determines sinigrin in seed of *Thlaspi awogrle* L. *West China J Pharm Sci*, 2012, 27:94-95.
- Wang LL, Chen C, Zhou H, et al. Determination of sinigrin in semen *Thlaspi* from Sichuan and Tibet using near infrared diffuse reflectance spectroscopy. *Spectroscopy Spectr Anal*, 2009, 29:2673-2676.
- Tu J, Zhang XS, Luo X, et al. Study on the chemical constituents of the essential oil in *Thlaspi arvense* L. *Chem Res Appl*, 2006, 18:1340-1342.

(下转第1500页)