

石花菜醇提物对小鼠高尿酸血症的拮抗效应

肖 为¹, 陶叶杏¹, 谷毅鹏¹, 陈秋扬¹, 贝泽祈¹, 张大艳¹, 刘华忠^{2*}¹广东海洋大学食品科技学院; ²广东海洋大学理学院, 湛江 524088

摘要: 本实验主要探讨了不同剂量(0.3 g/kg、0.6 g/kg、1.0 g/kg)的石花菜醇提物对小鼠高尿酸血症的拮抗效应。采用氧嗉酸钾盐对小鼠进行急性高尿酸血症造模, 测定小鼠血清中尿酸(UA)、肌酐(Cr)和尿素氮(BUN)水平, 以及小鼠肝脏匀浆液中黄嘌呤氧化酶(XOD)和腺苷脱氨酶(ADA)活性, HE染色观察其肾脏组织病理学变化。结果表明, 与空白组相比, 模型组小鼠血清中尿酸、肌酐和尿素氮水平显著升高($P < 0.01$), 同时, XOD活性也得到显著升高($P < 0.01$), ADA活性升高($P < 0.05$)。与模型组相比, 阳性对照组与各药物治疗组均能显著降低小鼠血清中尿酸、肌酐和尿素氮水平($P < 0.01$), 同时, 阳性对照组与各药物治疗组XOD活性均显著降低($P < 0.01$), 而两组ADA活性则均无统计学差异。光镜下与模型组相比, 阳性对照组和药物治疗组小鼠肾脏的肾小球损伤一定程度上恢复正常。总体而言, 石花菜醇提物对小鼠高尿酸血症具有很大程度的缓解作用, 其机制与体内抑制尿酸生成和促进尿酸排泄有关。

关键词: 石花菜; 高尿酸血症; 嘌呤代谢; 醇提物

中图分类号: Q493.9

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2015.08.021

Antagonistic Effect of *Gelidium amansii* Alcohol Extract Against Hyperuricemia in Mouse

XIAO Wei¹, TAO Ye-xing¹, GU Yi-peng¹, CHEN Qiu-yang¹, BEI Ze-qi¹, ZHANG Da-yan¹, LIU Hua-zhong^{2*}¹College of Food Science & Technology, Guangdong Ocean University;²College of Science, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China

Abstract: The paper mainly discussed about the antagonistic effect of different doses (0.3, 0.6, 1.0 g/kg) of *Gelidium amansii* alcohol extract against hyperuricemia in mouse. The acute hyperuricemia of mouse model was made by oxonic acid potassium salt. The levels of uric acid (UA), creatinine (Cr), blood urea nitrogen (BUN) in mouse serum, the liver homogenization buffer of xanthine oxidase (XOD) activity, adenosine deaminase (ADA) activity and the histopathological changes of HE staining were measured. The results showed that, compared to the blank group, the model group significantly elevated the levels of UA, Cr, BUN ($P < 0.01$) and the activity of XOD ($P < 0.01$), ADA ($P < 0.05$). In addition, the structure of renal corpuscle and renal tubule were damaged. Compared to the model group, the drug therapy group significantly reduced the levels of UA, Cr, BUN ($P < 0.01$) and the activity of XOD ($P < 0.01$). However, the activity of ADA had no statistical differences. To some degree, the drug therapy group can recover the structure of renal corpuscle and renal tubule induced by hyperuricemia. In general, the hyperuricemia in mouse was eliminated by *G. amansii* alcohol extract, which was related with the inhibition of uricogenesis and promotion of the uric acid excretion.

Key words: *Gelidium amansii*; hyperuricemia; purine metabolism; ethanol extract

尿酸是体内嘌呤代谢的最终产物, 当代谢过程发生紊乱时便有可能引发高尿酸血症^[1]。高尿酸可诱发多种疾病, 如痛风性关节炎、痛风性肾病、尿酸结石甚至尿毒症^[2]等。目前, 用于治疗高尿酸血症的化学药品主要包括黄嘌呤氧化酶抑制剂别嘌醇

和促尿酸排泄药物丙磺舒、苯溴马隆^[3,4]等, 不仅种类有限且对机体毒副作用较大。目前报道能够降低血清中尿酸的天然药物主要有茶树根、芒果苷、迷迭香、秦皮等^[5-8], 而石花菜醇提物的降尿酸功效笔者尚未见文献报道。

石花菜(*Gelidium amansii*)别名鸡毛菜、草珊瑚、海冬菜等, 属于红藻门石花菜科。为中国黄海、渤海、东海常见种类, 供食用, 也是提取琼胶的主要

原料^[9]。琼胶的用途十分广泛,主要可作为微生物培养基,用于水产、医药、酿造以及很多生物学部门研究开发^[10]。孙杰^[11]等对石花菜醇提取物的化学成分检测分析发现其含有多种活性成分,如糖类、生物碱等,均具有一定的生理和药理活性。本文主要研究不同剂量石花菜醇提取物对氧嗪酸钾盐诱导小鼠高尿酸血症的拮抗作用,为进一步开发和利用石花菜防治高尿酸血症提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

SPF 级性成熟的昆明雄性小鼠,生产许可证号:SCXK 桂 2009-0002,8 周龄共 60 只(24.11 ± 3.05 g),购自广西医科大学实验动物中心;石花菜(经广东海洋大学水产学院谢恩义教授鉴定)采自广东湛江硇洲岛。

尿酸(UA)、肌酐(Cr)、尿素氮(BUN)、黄嘌呤氧化酶(XOD)、腺苷脱氨酶(ADA)、考马斯亮蓝蛋白测定试剂盒(货号依次为:C012、C011-1、C013-1、A002、A048、A045-2),南京建成生物工程研究所;别嘌呤醇,美国 Sigma-Aldrich 公司;羧甲基纤维素钠(CMC-Na),天津市致远化学试剂有限公司;氧嗪酸钾盐,Aidrieh Chemical Company,其他试剂均为国产分析纯。

1.2 主要仪器

MP200A 型电子天平,上海精科天平;GZX-9140 MBE 型电热恒温鼓风干燥箱,上海博迅实业有限公司 SHZ-D III 真空泵,巩义市予华仪器有限责任公司;90-1 型台式低速离心机,上海手术器械厂;7200 型分光光度计,尤尼柯上海仪器有限公司;BX51 型多

功能显微镜;UC7 型超薄切片机,德国莱卡。

1.3 方法

1.3.1 石花菜醇提取物制备^[12]

新鲜石花菜样品采集后,除去附生生物,淡水冲净后冷冻保存。用前取出解冻,滤纸拭干藻体。取干燥藻体称量后用剪刀剪碎。将石花菜按 1:14 的料液比加入 50% 的乙醇溶液浸泡,在室温下放置 3 d,最后抽滤即得石花菜醇提取物。

1.3.2 实验动物分组与处理

将 60 只小鼠适应饲养一周后,随机分为 6 组,即空白组(A)、模型组(B)、阳性对照组(C)、治疗组 1(D)、治疗组 2(E)、治疗组 3(F),每组 10 只。将别嘌呤醇混悬于浓度 0.8% CMC-Na 中,阳性对照组灌胃该混悬液剂量为 $40 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ ^[13]。通过前期灌胃不同剂量石花菜醇提取物的预实验分析可知,3 个治疗组可分别设置灌胃石花菜醇提取物剂量为低剂量 $0.3 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 、中剂量 $0.6 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 、高剂量 $1.0 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 。严格控制饲养环境(温度 $22 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$,湿度 $55 \pm 5\%$,光照 12 h)自由摄入水和饲料。各组实验动物均连续处理 8 d,正常给水、喂食及饲养。

1.3.3 高尿酸血症小鼠模型的建立^[14]

采用氧嗪酸钾盐抑制尿酸分解的方法建立小鼠高尿酸模型。氧嗪酸钾盐用灭菌蒸馏水配制混悬液($250 \text{ mg}/\text{kg}$),每天在正常给药前 1 h,除正常组灌胃一定量生理盐水,其余各组分别灌胃等量氧嗪酸钾盐混悬液。药物治疗组在开始灌胃氧嗪酸钾盐时,每天对相应组别小鼠进行治疗药物灌胃,实验分组及药物处理如表 1 所示。

表 1 实验动物分组及药物处理

Table 1 The grouping and drug treatment of the experimental animals

| 组别 Group | 灌胃及剂量 Ig dose (mL) | 实验周期 Experimental period (d) |
|-------------------------------------|---|------------------------------------|
| 空白组 A Blank group A | 生理盐水 0.4 mL Saline 0.4 mL | 8 |
| 模型组 B Model group B | 250 mg/(kg·d) 氧嗪酸钾盐 0.2 mL + 生理盐水 0.2 mL 250 mg/(kg·d) Oxonic acid potassium salt 0.2 mL + Saline 0.2 mL | 8 |
| 阳性对照组 C Positive control group C | 250 mg/(kg·d) 氧嗪酸钾盐 0.2 mL + 40 mg/(kg·d) 别嘌呤醇 0.2 mL 250 mg/(kg·d) Oxonic acid potassium salt 0.2 mL + 40 mg/(kg·d) Allopurinol 0.2 mL | 8 |
| 治疗组 D Treatment group D | 250 mg/(kg·d) 氧嗪酸钾盐 0.2 mL + 0.3 mg/(kg·d) 石花菜醇提取物 0.2 mL 250 mg/(kg·d) Oxonic acid potassium salt 0.2 mL + 0.3 mg/(kg·d) Alcohol extract of <i>G. amansii</i> 0.2 mL | 8 |

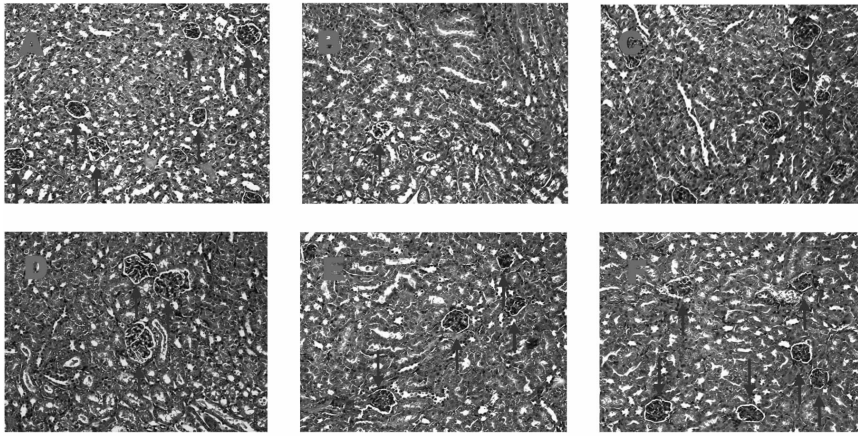


图1 石花菜醇提取物对肾脏组织病理学变化的影响

Fig. 1 Effect of *G. amansii* alcohol extract on kidney tissue pathological change

表2 石花菜醇提取物对小鼠血清尿酸水平的影响

Table 2 Effect of *G. amansii* alcohol extract on serum uric acid levels in mouse

| 组别 Group | 空白组 A Blank group A | 模型组 B Model group B | 阳性对照组 C Positive control group C | 治疗组 D Treatment group D | 治疗组 E Treatment group E | 治疗组 F Treatment group F |
|---------------------|----------------------------|------------------------------|--|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| 尿酸 Uric acid (mg/L) | 58.12 ± 3.39 ^{Aa} | 100.05 ± 10.11 ^{Cd} | 59.77 ± 7.69 ^{Aab} | 72.42 ± 5.97 ^{Bc} | 66.67 ± 2.64 ^{Ab} | 59.52 ± 3.92 ^{Aab} |

注:同行间多重比较差异性显著表达,大写字母, $P < 0.01$,小写字母, $P < 0.05$ 。下同。Note: Peer multiple comparison of expression differences, capital letters $P < 0.01$; lowercase letters $P < 0.05$. Same as below.

2.3 血清肌酐与尿素氮水平比较

表3 石花菜醇提取物对小鼠血清肌酐、尿素氮水平的影响

Table 3 Effect of *G. amansii* alcohol extract on Cr and BUN level in mouse

| 组别 Group | 空白组 A Blank group A | 模型组 B Model group B | 阳性对照组 C Positive control group C | 治疗组 D Treatment group D | 治疗组 E Treatment group E | 治疗组 F Treatment group F |
|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------|--|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| 肌酐 Cr ($\mu\text{mol/L}$) | 109.40 ± 8.79 ^{Aa} | 186.31 ± 23.48 ^{Bc} | 119.36 ± 17.65 ^{Aab} | 131.37 ± 5.61 ^{Aab} | 140.16 ± 10.36 ^{Ab} | 116.23 ± 15.46 ^{Aab} |
| 尿素氮 Bun (mmol/L) | 12.11 ± 1.24 ^{Aa} | 16.63 ± 0.88 ^{Bb} | 13.36 ± 1.41 ^{Aa} | 13.50 ± 0.99 ^{Aa} | 13.04 ± 0.33 ^{Aa} | 12.85 ± 1.62 ^{Aa} |

由表3可知,与空白组相比,模型组小鼠肌酐与尿素氮水平均显著升高($P < 0.01$),治疗组E的肌酐水平升高,其他各组小鼠的肌酐与尿素氮水平均无统计学差异。与模型组相比,阳性对照组与各药物治疗组在小鼠肌酐与尿素氮水平上均显著降低

($P < 0.01$),其中,肌酐与尿素氮水平均为治疗组F与空白组最为接近。说明,石花菜醇提取物能显著的降低高尿酸血症小鼠血清中肌酐与尿素氮水平,其中,均为治疗组F效果较其他药物组尤为显著。

2.4 肝脏XOD及ADA活性比较

表4 石花菜醇提取物对小鼠肝脏XOD及ADA活性的影响

Table 4 Effect of *G. amansii* alcohol extract on the XOD and ADA activities in mouse liver

| 组别 Group | 空白组 A Blank group A | 模型组 B Model group B | 阳性对照组 C Positive control group C | 治疗组 D Treatment group D | 治疗组 E Treatment group E | 治疗组 F Treatment group F |
|----------------|----------------------------|----------------------------|--|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| XOD (U/gprot) | 21.67 ± 3.08 ^{Aa} | 29.57 ± 1.83 ^{Bb} | 22.33 ± 1.76 ^{Aa} | 22.16 ± 1.92 ^{Aa} | 22.69 ± 2.38 ^{Aa} | 21.13 ± 1.66 ^{Aa} |
| ADA (U/mgprot) | 18.31 ± 2.02 ^b | 23.88 ± 5.85 ^a | 19.79 ± 2.28 ^{ab} | 20.19 ± 4.45 ^{ab} | 19.34 ± 5.52 ^{ab} | 20.13 ± 4.31 ^{ab} |

由表4可知,与空白组相比,模型组小鼠肝脏ADA的活性升高($P < 0.05$),且XOD活性显著升高

($P < 0.01$),而阳性对照组和各药物治疗组小鼠的肝脏中ADA与XOD活性均无统计学差异。与模型

组相比,阳性对照组与各药物治疗组小鼠肝脏 XOD 活性显著降低($P < 0.01$),而 ADA 活性无统计学差异。结果表明,石花菜醇提物能一定程度上恢复氧嗉酸钾盐致小鼠肝脏 XOD 水平的异常。

3 讨论

现在普遍认为,高尿酸血症与代谢综合征有十分紧密的联系,而临床药物治疗高尿酸血症主要采取促尿酸代谢和抑制尿酸在体内生成为主。目前,促尿酸排泄的药物苯溴马隆和抑制体内尿酸合成的别嘌醇,均存在一定的不良反应,如造血功能异常、肝肾功能障碍、痛风发作等使它们在临床应用上受到一定限制^[15]。所以探索具有促进体内尿酸排泄和抑制体内尿酸合成双重作用的天然药物对于治疗高尿酸血症有重要意义。古代医药典籍记载,石花菜味甘咸,性寒,全藻入药能清热解毒、缓泻,有利利尿之功效,可用于治疗肾盂、肾炎等症状。现代研究表明,石花菜所含的褐藻酸盐类物质有一定的降血压作用,所含多糖类物质淀粉类硫酸脂具有降脂功能,对高血压、高血脂也有一定的防治作用^[16]。基于此,本实验首次选用石花菜为研究对象,对其醇提物对高尿酸血症小鼠的拮抗效应进行研究。

根据本实验结果分析可知,与模型组相比,各药物组小鼠血清中尿酸(UA)、肌酐(Cr)和尿素氮(BUN)水平均极显著降低($P < 0.01$),且以 1.0 g/kg 的药物组 F 效果尤为明显,同时,肌酐和尿素氮水平也是间接反应肾功能的重要指标^[17],表明石花菜醇提物可一定程度上保护肾功能,对于促进尿酸在体内的代谢有十分积极的作用。

肝脏中的 XOD、ADA 均为体内尿酸合成中的关键性酶,在尿酸合成过程中发挥极其重要的作用,当肝脏中的 XOD、ADA 活性升高时,可促进体内核酸分解代谢,其可将次黄嘌呤、黄嘌呤氧化生成尿酸,从而影响尿酸水平使其升高^[18],目前,XOD、ADA 作为尿酸生成的关键酶,其抑制剂的研究是抗高尿酸血症和痛风药物开发的重点。由本实验分析可知,与模型组相比,各药物治疗组虽然对于小鼠肝脏 ADA 活性无统计学差异($P > 0.05$),但石花菜醇提物能一定程度上缓解氧嗉酸钾盐致小鼠肝脏 XOD 水平的异常,对 XOD 活性可显著降低($P < 0.01$)。说明石花菜醇提物对于抑制尿酸在体内的合成有一定的积极意义。

本文研究结果表明,石花菜醇提物能明显降低

模型小鼠血清中的尿酸、肌酐与尿素氮水平,并且可以通过抑制肝脏内 XOD 的活性,缓解高尿酸所致的肝、肾功能损伤,且综合实验数据以 1.0 g/kg 的石花菜醇提物的效果最佳。石花菜醇提物对小鼠高尿酸血症的治疗作用主要通过降低血清中尿酸、肌酐和尿素氮水平促进排泄,且可降低肝脏中 XOD 活性,一定程度上抑制尿酸在体内的合成,但其具体机制尚不清楚。

参考文献

- 1 He Q(何清). Study on the pathogen and epidemiology of hyperuricemia and gout. *Chin J Clin* (中国临床医生), 2009, 37:11-13.
- 2 Pan Y(潘媛), Xu L(徐立), Shi L(时乐), et al. Incidence of gouty arthritis and crystallization of uric acid sodium deposition. *Anhui Med Pharm J* (安徽医药), 2009, 13: 1305-1307.
- 3 Corrado A, D'Onofrio F, Santoro N, et al. pathogenesis, clinical findings and management of acute and chronic gout. *Minerva Med*, 2006, 97:495-509.
- 4 Choi HK, Curhan G. Coffee, Tea and caffeine, consumption and serum uric acid level. *Arth Rheum*, 2007, 57:816-821.
- 5 Yu XY(余雄英), Zhou J(周军), Tang K(唐科), et al. Effect of tea tree root extraction on the hyperuricemia in mouse. *Chin J Exp Tradit Med Form* (中国实验方剂学杂志), 2012, 18:193-194.
- 6 Hu QH(胡庆华), Zhang X(张宪), Wang W(王枉), et al. Mangiferin promotes uric acid excretion and kidney function improvement and modulates related renal transporters in hyperuricemic mice. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2010, 45: 1239-1246.
- 7 Huang YX(黄幼霞), Huang RG(黄荣桂), Zheng XZ(郑兴中), et al. Effect of rosmarinic acid on hyperuricemic. *Chin J Ethnomed Ethnopharm* (中国民族民间医药杂志), 2010, 19(6):19-20.
- 8 Zhang SY(张三印), Cao RZ(曹瑞竹), Dai Y(代勇), et al. Mechanistic study on cortex fraxini totalcoumarin reducing serum uric acid level in chronic hyperuricemic mice. *J Sichuan Tradit Chin Med* (四川中医), 2010, 28(9):48-50.
- 9 Pan YJ(潘迎捷). *Aquatic dictionary* (水产辞典). Shanghai: Shanghai Lexicographical Publishing House, 2007, 284-353.
- 10 Sun JY(孙静亚), Tian L(田丽). The improvement of technique extracting dietary fiber from *Divaricate gelidium* thalously by orthogonal test. *J Food Res Dev* (食品研究与开发), 2010, 31(6):63-66.

(下转第 1509 页)