

海滨锦葵块根生物活性成分的 动态分析及其降血尿酸活性研究

仲昭朝, 张焕仕, 张鹤云, 钦佩*

南京大学盐生植物实验室, 南京 210093

摘要: 本文研究了海滨锦葵在不同土壤条件, 不同季节和不同生长龄下块根生物活性的差异, 最终选择盐渍化多年生海滨锦葵块根为优选实验材料。用其根粉提取物对高尿酸血症造模小鼠进行胃内给药, 测定小鼠血尿酸和血糖等指标, 结果表明小鼠的血清尿酸和血糖均有显著降低, 去糖组尤其明显。因此在本实验条件下可见, 海滨锦葵根粉降血尿酸血糖效果明显, 和别嘌醇效果接近, 为开发天然资源药物抗痛风和高尿酸血症提供了新的思路。

关键词: 海滨锦葵; 活性成分; 盐渍化; 多年生; 高尿酸血症

中图分类号: Q591.3

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2017.3.001

Dynamic Analysis of Bio-active Components of *Kosteletzkya virginica* Root Tuber and Investigation of Its Activity of Lowering Serum Uric Acid

ZHONG Zhao-zhao, ZHANG Huan-shi, ZHANG He-yun, QIN Pei*

Halophyte Research Lab of Nanjing University, Nanjing 210093, China

Abstract: The study explored the effects of different soil, different seasons and different growing periods on the biological activity of *Kosteletzkya virginica*. The extract of the root tuber of salinized perennial *K. virginica*, chosen as the optimized experiment materials, was put into the hyperuricemia mice modeling by intragastric administration. Indicators of the mice, including blood uric acid and blood sugar were tested. The results showed that the serum uric acid and blood sugar of mice modeling have been reduced significantly, especially de-sugaring modeling. The study demonstrated the evident effect of the root power of *K. virginica*, analogous to allopurinol, on decreasing blood uric acid and blood sugar, providing a new perspective of the development of natural medicine against gout and hyperuricemia.

Key words: *Kosteletzkya virginica*; active ingredient; salinized; perennial; hyperuricemia

海滨锦葵 (*Kosteletzkya virginica*), 锦葵科海滨锦葵属多年生宿根盐生植物。海滨锦葵天然分布于美国东部沿海从特拉华州至得克萨斯州的海滨盐沼^[1]。南京大学盐生植物实验室钦佩教授于1993年引入我国, 经过20年的实验室和野外生理生态试验, 证明该物种没有对本地生态系统构成入侵威胁^[2], 本实验室另一篇文章《海滨锦葵根粉毒理学评价》(待发表)论证了其有效成分对哺乳动物无毒无致基因突变作用, 它的引种和利用是安全的^[3]。海滨锦葵根粉富含三大类活性成分: 多糖、皂苷和黄酮。经多次试验证明, 海滨锦葵根粉上述有效成分

具有很好的增强免疫和抗肿瘤作用^[4,5], 如以海滨锦葵根粉为原料开发的锦葵露酒和锦葵片剂均具有免疫增强、抗疲劳和降低人体血尿酸水平的作用^[6]。

植物活性成分的含量往往因时间和空间的变化而发生波动, 从而会影响其相关的活性^[7-9]。本文设计了相关试验, 比较了海滨锦葵多年生和一年生块根、上半年和下半年采集的块根、盐土和非盐土生长的块根中多糖、皂苷和黄酮含量的变化, 有利于我们对耐盐经济植物海滨锦葵的种植、收获以及开发对策的制定, 以选择最优质的海滨锦葵块根材料进行生物活性的研究与开发。

随着我国人民生活水平的提高, 饮食结构的改变, 近年来高尿酸血症的发病率明显增高。我们通过人群试验用海滨锦葵根粉治疗高尿酸血症已取得

一定观察效果,在此基础上进行动物试验,观察海滨锦葵根粉提取物对小鼠高尿酸血症血清尿酸水平的影响,为其进一步开发提供实验依据。

1 海滨锦葵块根生物活性成分的动态分析

1.1 试验样地

本试验样地分别位于江苏盐城市大丰区金海农场和江苏如皋市薛窑镇南通农科所,前者样地为盐土,土壤含盐量 > 5%,用于做海滨锦葵盐土种植试验和不同生长龄、不同采收季节的对比试验;后者为非盐土,用于做海滨锦葵非盐土种植对比试验。

1.2 实验材料

1.2.1 不同土壤条件下海滨锦葵块根的采集

2013年11月分别于金海农场盐土和南通农科所农田采收当年春天播种的海滨锦葵块根,每个采集地块选3个采样点采集块根,每个采样点随机采挖10个块根,用于不同土壤条件下,海滨锦葵块根的成分分析。

1.2.2 不同采样季海滨锦葵块根的采集

2013年11月和2014年4月在金海农场同一地块采收海滨锦葵块根,采样方法同1.1,用于进行不同采样季的海滨锦葵块根成分分析。

1.2.3 不同生长龄海滨锦葵的种植及其块根的采集

2013年春季在金海农场海滨锦葵种植基地播种,当年11月采集该地块一年生海滨锦葵块根;同时在多年生海滨锦葵(三年生)地块采集部分海滨锦葵块根;采样方法同1.1,用于进行不同生长龄的海滨锦葵块根成分分析。

1.3 实验方法

1.3.1 块根粉的制取

采收的海滨锦葵块根去泥后于晒场晒2~3d;清洗、切片,再晾晒2~3d;烘干、粉碎(<200目)。

1.3.2 三种成分的测定

多糖的测定方法见NY/T 1676-2008食用菌中粗多糖含量的测定;皂苷的测定方法见GB/T 22464-2008大豆皂苷含量测定;黄酮的测定方法见GB/T 16771-1997橙、柑、桔汁及其饮料-总黄酮的测定-分光光度法。

2 海滨锦葵块根降血尿酸的活性研究

2.1 实验材料与仪器

2.1.1 动物

清洁级昆明种小白鼠体重20~25g,雄性,江苏省实验动物中心提供。

2.1.2 试剂

造模剂次黄嘌呤,Aladdin Chemistry公司产品;阳性药别嘌呤醇、羧甲基纤维素钠(CMC-Na)系世贸天珍制药有限公司产品;海滨锦葵根粉,选取金海农场多年生块根粉碎过200目备用。

2.1.3 仪器

贝克曼LX20全自动生化分析仪,用于测定血尿酸,血糖等指标。

2.2 实验方法

2.2.1 溶液配制

0.8%羧甲基纤维素钠(CMC-Na)配制:称取0.8g CMC-Na,先调成糊状,再加水至100mL,煮沸使其完全溶解。50mg/mL次黄嘌呤的配制:称取1g次黄嘌呤,溶于20mL CMC-Na中。0.5mg/mL别嘌呤醇配制:称取10mg别嘌呤醇,溶于20mL CMC-Na中。

海滨锦葵根粉提取物及试液制备选用多年生盐土生长的海滨锦葵准备的根粉,准确称取500g,以95%乙醇旋蒸(70℃)提取3次,2h/次,合并3次提取液,过滤,减压回收乙醇,浓缩得浸膏备用,经检测,其中总皂苷含量为6.9%。

用上述CMC-Na溶液将海滨锦葵根粉醇抽提物(按总皂苷计)配制成1.5mg/mL,3.0mg/mL和4.5mg/mL三种剂量试液。另外选取一定量海滨锦葵根粉醇抽提物用70%乙醇沉淀多糖,选取上清用上述CMC-Na溶液配制成4.5mg/mL剂量(按总皂苷计),是为去糖组试液。

2.2.2 试验组别设计^[10-12]

取小鼠70只,适应性喂养一周后,随机分为7组,即(1)空白组(生理盐水)、(2)模型组(CMC-Na)、(3)试验药剂低剂量组(1.5mg/mL)、(4)试验药剂中剂量组(3.0mg/mL)、(5)试验药剂高剂量组(4.5mg/mL)、(6)试验药剂去糖组(4.5mg/mL)、(7)阳性药组(别嘌呤醇0.5mg/mL),每组10只。

2.2.3 给药处理及采血样

对1-6组动物分别进行胃内(i.g.)给药(0.1mL/10g),其中(1)组ig生理盐水,(2)组ig CMC-Na,(3~6)组ig不同剂量的海滨锦葵根粉提取物和去糖提取物,而(7)组ig别嘌呤醇。

每天给药一次(每天给药前称体重),连续给药7 d,第8 d最后一次给药后30 min,除生理盐水组,其他各组,腹腔(i. p.)注射(已配制的50 mg/mL次黄嘌呤)0.4 mL/20 g(剂量为1000 mg/kg)。在给药后30~40 min,立刻眼眶采血,置离心管中,在室温下,待血清渗出,取出离心(15000 rpm,4 min),吸取上层血清置带盖的样品管中,根据所得血清体积,用生理盐水配制到所需体积,立即送样至南京大学医院生化室。

2.2.4 统计学处理

所有数据经SPSS 11.5软件包处理,采用单因素方差分析,用均数±标准差(x±s)表示。

表1 不同土壤条件海滨锦葵块根三种活性成分的检测(%)

Table 1 Determination of 3 active ingredients in *K. virginicaroot* tuber from different soil(%)

地点与土壤 Site & Soil	活性成分 Active ingredient	样品1 Sample 1 [*]	样品2 Sample 2 [*]	样品3 Sample 3 [*]	均值 Average
南通农科所农田 Nantong College of Science & Technology's farmland	多糖 Polysaccharide	28.11 ± 2.76	25.63 ± 2.57	22.78 ± 2.01	25.51
	皂苷 Saponin	2.22 ± 0.18	2.26 ± 0.16	2.08 ± 0.11	2.19
	黄酮 Flavone	0.18 ± 0.02	0.23 ± 0.03	0.19 ± 0.02	0.20
金海农场盐土 Jinhai Farm's saline soil	多糖 Polysaccharide	30.23 ± 3.02	28.96 ± 2.61	27.06 ± 2.64	28.75
	皂苷 Saponin	3.08 ± 0.23	2.98 ± 0.21	2.66 ± 0.22	2.91
	黄酮 Flavone	0.45 ± 0.04	0.46 ± 0.03	0.45 ± 0.05	0.45

注: * 样品1、样品2、样品3即三个不同采样地所采集的10个块根的分析数据均值,表2、3同此。

Note: * Sample 1, sample 2, and sample 3 here refer to the average data of 10 root tubers from three sample sites. The same in Table 2 and Table 3.

表2 不同季节海滨锦葵块根三种活性成分的检测(%)

Table 2 Determination of 3 active ingredients in *K. virginicaroot* tuber from different seasons(%)

季节 Season	活性成分 Active ingredient	样品1 Sample 1	样品2 Sample 2	样品3 Sample 3	均值 Average
2014年4月 Apr. 2014	多糖 Polysaccharide	27.11 ± 2.67	25.35 ± 2.58	26.23 ± 2.71	26.23
	皂苷 Saponin	3.15 ± 0.26	3.26 ± 0.29	2.84 ± 0.21	3.08
	黄酮 Flavone	0.59 ± 0.05	0.57 ± 0.06	0.61 ± 0.05	0.59
2013年11月 Nov. 2013	多糖 Polysaccharide	30.23 ± 3.02	28.96 ± 2.61	27.06 ± 2.64	28.75
	皂苷 Saponin	3.08 ± 0.23	2.98 ± 0.21	2.66 ± 0.22	2.91
	黄酮 Flavone	0.45 ± 0.04	0.46 ± 0.03	0.45 ± 0.05	0.45

另2013年11月采集的大丰金海农场两批海滨锦葵块根材料,一批为多年生,另一批为一年生,经粉碎后分别对其中三种活性成分(皂苷、多糖、黄酮)进行检测,检测数据如表3。

经测试,海滨锦葵根粉提取物各剂量组(包括去糖组)都有不同程度的对高尿酸血症小鼠血清尿酸水平降低的影响,而且在本实验设计范围内,随剂

3 实验结果

由南京大学盐生植物实验室对大丰金海农场和南通农科所两地2013年秋季采集的两批海滨锦葵块根材料(均为一年生),经粉碎后分别对其中三种活性成分(皂苷、多糖、黄酮)进行检测,检测数据如下表:

而对大丰金海农场2013年11月份和2014年4月份两批海滨锦葵块根材料,经粉碎后分别对其中三种活性成分(皂苷、多糖、黄酮)进行检测,检测数据见表2。

量增加,降低水平愈显著,其中,去糖组的效果最好,更接近别嘌呤醇组的水平(表4)。

经测试,海滨锦葵根粉提取物各剂量组(包括去糖组)在本实验设计条件下,都有不同程度的对高尿酸血症小鼠血糖降低的影响,但与剂量关系不大,其中,去糖组的降糖效果最好,好过各试验组和别嘌呤醇组的水平,接近生理盐水组的水平(表5)。

表3 不同生长龄海滨锦葵块根三种活性成分的检测(%)

Table 3 Determination of 3 active ingredients in *K. virginica* root tuber from different growing periods(%)

植物材料 Plant materials	活性成分 Active ingredient	样品1 Sample 1	样品2 Sample 2	样品3 Sample 3	均值 Average
多年生根根 Perennial root	多糖 Polysaccharide	30.78 ± 3.15	35.79 ± 4.27	35.31 ± 5.11	33.99
	皂苷 Saponin	4.38 ± 0.34	4.44 ± 0.42	4.80 ± 0.51	4.54
	黄酮 Flavone	0.64 ± 0.06	0.65 ± 0.07	0.61 ± 0.07	0.63
一年生根粉 Power of one-year root tuber	多糖 Polysaccharide	30.24 ± 3.06	28.97 ± 2.95	27.07 ± 2.63	28.75
	皂苷 Saponin	3.08 ± 0.29	2.98 ± 0.29	2.66 ± 0.21	2.91
	黄酮 Flavone	0.45 ± 0.05	0.46 ± 0.05	0.45 ± 0.04	0.45

表4 海滨锦葵根粉醇提取物对高尿酸血症小鼠血清尿酸水平的影响(x ± s)

Table 4 The effect of ethanol extracts of *K. virginica* root tuber on serum uric acid level in hyperuricemia rats(x ± s)

组别 Group	剂量 Dose(mg/kg)	尿酸 Uric acid(μM)
生理盐水组 Physiological saline		133.94 ± 17.17
CMC 模型组 CMC Model		473.86 ± 127.08
JK 低剂量组 Low dose of JK	15	354.29 ± 86.92
JK 中剂量组 Medium dose of JK	30	310.37 ± 25.54 **
JK 高剂量组 High dose of JK	45	298.04 ± 102.49 **
JK 去糖组 Desugar of JK	45	256.81 ± 78.60 **
别嘌呤醇组 Allopurinol	5	154.17 ± 40.23 **

注:JK 表示海滨锦葵根粉提取物; ** 表示与 CMC 模型组相比具有非常显著差异。

Note:JK refer to the ethanol extracts of *K. virginica* root tuber; ** means compared with the CMC model group, there were extremely significant differences.

表5 海滨锦葵根粉醇提取物对高尿酸血症小鼠血糖水平的影响(x ± s)

Table 5 The effect of ethanol extracts of *K. virginica* root tuber on blood sugar level in hyperuricemia rats(x ± s)

组别 Group	剂量 Dose(mg/kg)	血糖 Blood sugar(mM)
生理盐水组 Physiological saline		7.27 ± 1.15
CMC 模型组 CMC Model		9.85 ± 0.74
JK 低剂量组 Low dose of JK	15	9.12 ± 1.15
JK 中剂量组 Middle dose of JK	30	8.87 ± 0.83 *
JK 高剂量组 High dose of JK	45	8.93 ± 0.39 *
JK 去糖组 Desugar of JK	45	7.85 ± 0.34 *
别嘌呤醇组 Allopurinol	5	8.93 ± 0.39 *

注:JK 表示海滨锦葵根粉提取物; * 表示与 CMC 模型组相比具有显著性差异。

Note:JK refer to the ethanol extracts of *K. virginica* root tuber; * means compared with the CMC model group, there were significant differences.

4 讨论

4.1 海滨锦葵块根生物活性成分的动态变化

根据不同土壤条件的两批样品的检测可见,苏北海滨盐土(大丰金海农场)引种的海滨锦葵三种活性成分含量均高于南通农科所同一季节采集样品中的相应成分含量,分别为多糖 28.75 > 25.51%;

皂苷 2.91 > 2.19%; 黄酮 0.45 > 0.20%。对不同季节的两批样品进行检测可见,苏北海滨盐土(大丰金海农场)引种的海滨锦葵秋冬季采集样品根粉中多糖的含量高于春季,为 28.75 > 26.23%; 而其他两种成分含量均为春季稍高于秋冬季,分别是皂苷 3.08 > 2.91 mg/g; 黄酮 0.59 > 0.45 mg/g。采集不同生长龄的两批样品检测可见,苏北海滨盐土(大

丰金海农场)引种的海滨锦葵秋冬季采集的块根样品中多年生的三种活性成分的含量均显著高于一年生的,两批次收获样品三类活性物质的对比情况是:多糖 33.99% (多年生)远大于 28.75% (一年生);皂苷 4.54% (多年生)远大于 2.91% (一年生);黄酮 0.63% (多年生)远大于 0.45% (一年生)。

从上述三个对比试验可知,海滨锦葵根粉中多糖、皂苷和黄酮类化合物含量随生长龄、土壤条件和采样季节不同而发生变化;盐渍化土壤中多年生的海滨锦葵块根是功效试验的优选材料。

4.2 海滨锦葵块根降血尿酸活性的探讨

当今社会,人们生活水平提高加上饮食结构的改变,由嘌呤代谢紊乱或尿酸排泄减少所引起的高尿酸血症患病率日益上升,并认为是痛风、肾结石等病症的重要生化基础,临床上无症状高尿酸血症亦十分常见,潜在危险性很大。尽管有抑制尿酸生成与促进排泄的药物,如别嘌呤醇、丙磺舒、苯溴马隆等,但此类药物会引起皮肤过敏、胃肠道反应等不良副作用,特别可能会诱发中毒性肝炎^[12,13],对肝脏损害较大,一般不主张在非痛风高尿酸血症中应用。因此从天然资源中寻找新型抗痛风和高尿酸血症药物依然是药学研究的一个热点^[14-16]。海滨锦葵根粉系纯植物源新食品原料,人群学应用降低血尿酸有明显效果。本实验结果表明海滨锦葵根粉提取物能不同程度降低高尿酸血症动物血清尿酸水平,具有一定的量效关系,其中高、中剂量组降低高尿酸血症小鼠血清尿酸水平均具有非常显著意义。在我们的实验条件下,海滨锦葵根粉提取物去糖处理组作用强度与别嘌呤醇相当接近,与迷迭香酸的作用强度相当^[17],说明海滨锦葵根粉提取物中主要功效物质是皂苷类化合物和黄酮类化合物,其降低血清尿酸的潜力值得关注和进一步探讨。此外,这种纯植物源新食品原料提取物在本次实验中不仅可以降低高尿酸血症动物血清尿酸水平,而且还可以降低造模引起的动物血糖的升高,其中又是去糖处理组作用最强,可以使受试动物的血糖恢复到近乎空白对照的水平。这充分说明,将海滨锦葵根粉用于降血尿酸,功效好,安全性也高,其作用机制有待深入研究。

参考文献

1 Yin JL(尹金来),Zhou CL(周春霖),Hong LZ(洪立州),

et al. The research of introduction and cultivation on the salt tolerant plant, *Kosteletzkya virginica*. *Jiangsu Agric Sci* (江苏农业科学),2000,6:29-31.

- 2 Zhou MX(周明曦),Qin P(钦佩),Zhao FG(赵福庚). Plant diversities of *Kosteletzkya virginica* plantation of the coast of North Jiangsu. *J Ecol Rural Environ*(生态与农村环境学报),2013,29:489-493.
- 3 Zhang HS(张焕仕),Zhong ZZ(仲昭朝),Yan T(严婷),*et al.* The toxicological evaluation for edible safety of *Kosteletzkya virginica* root powder. *J Toxicol*(毒理学杂志),in press.
- 4 Li SY(李思宇),Yuan YG(袁亚光),Qin P(钦佩),*et al.* Separation, purification, and cell proliferative effect of saponin and polysaccharides from root tuber of *Kosteletzkya virginica*. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发),2013,25:87-91.
- 5 Zhang HS(张焕仕),Liu X(刘鑫),Zhang HY(张鹤云),*et al.* Extraction, identification and cell proliferative effect of total flavonoids from root tuber of *Kosteletzkya virginica*. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发),2013,26:486-489.
- 6 Qin P, Han R, Zhou M, *et al.* Ecological engineering through the biosecure introduction of *Kosteletzkya virginica* (seashore mallow) to saline lands in China; A review of 20 years of activity. *Ecol Eng*,2015,74:174-186.
- 7 Mao JL(毛晶磊),Wang WK(王文凯). Determination of active constituents in *Hypericum ascyron* L. in medicinal part-sharvested at different time. *Central South Pharm*(中南药学),2012,10:594-597.
- 8 Cai ZQ, Wang WH, Yang J, *et al.* Growth, photosynthesis and root reserpine concentrations of two *rauwolfia* species in response to a light gradient. *Ind Crops Prod*,2009,30:220-226.
- 9 Du HY(杜红岩),Liu CY(刘昌勇),Li Q(李钦),*et al.* Seasonal variation of three main active constituent contents in leaves of *Eucommia ulmoides*. *J Central South Univ Forest Technol*(中南林业科技大学学报),2011,31(8):6-9.
- 10 Yu RL(于瑞丽),Chen SH(陈素红),Lv GY(吕圭源),*et al.* Effects of *Pueraria lobata* extracts on blood uric acid and blood lipid levels of hyperuricemia Rats. *J Zhejiang Chin Med Univ*(浙江中医药大学学报),2011,35:455-458.
- 11 Chen X(陈雪),Shen N(沈楠),Zhao LJ(赵丽晶),*et al.* The experimental study of rhizoma *Smilacis glabrae* on mouse hyperuricemia. *J Jilin Med Coll*(吉林医药学院学报),2011,32:211-212.
- 12 Zheng ZP(郑志萍),Huang YX(黄幼霞). Building on the mouse hyperuricemia model. *Strait Pharm*(海峡药学),2011,23(9):27-29.

(下转第 399 页)