

银杏叶提取物降尿酸及对黄嘌呤氧化酶抑制作用研究[※]

● 程虹毓¹ 朱继孝²▲

摘要 目的:探讨银杏叶提取物对高尿酸血症小鼠血清尿酸水平的影响及对黄嘌呤氧化酶(XOD)的抑制作用。方法:以银杏叶不同剂量提取物灌胃,观察氧嗪酸钾盐诱导的急性高尿酸血症小鼠血清尿酸及XOD的含量变化,以及提取物对正常小鼠血清尿酸的影响。结果:银杏叶提取物不同剂量给药组小鼠血清尿酸水平和肝脏XOD活性与高尿酸血症组相比均有显著下降。银杏叶提取物对正常小鼠血清尿酸水平没有显著影响。结论:银杏叶提取物能够降低高尿酸血症模型小鼠的血尿酸。抑制XOD活性是其降低高尿酸血症小鼠血清尿酸水平的可能机制。

关键词 银杏叶 高尿酸血症 黄嘌呤氧化酶

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,高尿酸血症是痛风最重要的生化基础。近年来,随着生活水平的提高和饮食结构的变化,痛风的发病率呈上升趋势,发病年龄呈现低龄化,给社会带来巨大的负担。银杏叶为银杏科植物银杏(*Ginkgo biloba* L.)的干燥叶。银杏叶中所含化学成分主要有黄酮类化合物、萜内酯类、多糖、酚酸类等多种化学成分,其中黄酮类化合物、萜内酯类是其主要有效成分^[1],银杏叶提取物中总黄酮在抗菌消炎、抗氧化等方面具有独特疗效^[2]。本研究在建立氧嗪酸钾盐诱导的小鼠急性高尿酸血症模型的基础上,探讨银杏叶对高尿酸血症小鼠血清尿酸水平的影响及其作用机理。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 研究对象 银杏叶(*Fructus Gardeniae*)购自江西黄庆仁棧华氏大药房(批号:1110004),经江西中

医学院中药资源教研室赖学文教授鉴定为银杏科植物银杏(*Ginkgo biloba* L.)的干燥叶。

1.1.2 供试动物 110只成年雄性昆明种小鼠,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:SCXK(赣)2011-0001。实验期间室温(24±2)℃。

1.1.3 主要试剂 氧嗪酸钾盐(批号:STBB0995),由SIGMA-ALDRICH公司生产;别嘌呤醇片(批号:110502),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:20120324),南京建成生物工程研究所;XOD测定试剂盒(批号:20120324),南京建成生物工程研究所;考马斯亮蓝蛋白测试盒(批号:20120311),南京建成生物工程研究所;其它试剂均为分析纯,水为双蒸水。

1.1.4 主要仪器 高速冷冻离心机,美国Beckman-Coulter公司;超低温冰箱,美国Thermo公司;电热恒温水浴箱,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。

1.2 方法

1.2.1 银杏叶样品制备 取银杏叶100g,加入8倍药材量的60%乙醇加热回流3次,每次2小时,3次回流所得滤液混合后浓缩至100ml,含生药量1.0g/ml,冷藏备用。银杏叶的给药剂量均按生药量计算。

▲通讯作者 朱继孝,男,讲师,博士。主要从事中药成分与作用机理研究工作。E-mail:zhujx81@sina.com

●作者单位 1.江西中医学院人文学院(330004);2.江西中医学院江西省中药种质资源工程技术研究中心(330004)

1.2.2 样品对高尿酸血症小鼠的影响

1.2.2.1 小鼠分组及给药 将 60 只小鼠随机分为 6 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(阳性药组)、银杏叶低剂量组、银杏叶中剂量组和银杏叶高剂量组。其中银杏叶低、中、高剂量组给药剂量分别为 1.17、2.34、4.68g/kg(根据成人每天服用 9g 换算为低剂量 1.17g/kg)。别嘌呤醇混悬于 0.8% CMC - Na 中,其剂量为 10mg/kg。空白对照和模型对照组,灌胃给予相应体积的生理盐水。按 0.15ml/10g 灌胃给药。连续给药 7 天,每天一次,最后一次于造模 1 小时后给药。

1.2.2.2 高尿酸血症小鼠模型的建立 采用尿酸酶抑制剂氧嗪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 小时,按照 400mg/kg 剂量,对小鼠腹腔注射氧嗪酸钾盐(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 小时后,小鼠眼眶后静脉丛采血,全血 2500 转/分离心 3 分钟,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。

1.2.2.3 血清尿酸水平检测 按照试剂盒规定方法测定血清尿酸含量。

1.2.2.4 肝脏黄嘌呤氧化酶(xanthine oxidase, XOD)活性测定 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,2500 转/分离心 10 分钟,取上清按照试剂盒规定方法测定蛋白含量和 XOD 活性。

1.2.3 样品对正常小鼠的影响

1.2.3.1 小鼠分组及给药 将 50 只小鼠随机分为 5 组,每组 10 只,分别为空白对照组、别嘌呤醇低剂量组、别嘌呤醇高剂量组、银杏叶低剂量组和银杏叶高剂量组。其中别嘌呤醇低、高剂量组给药剂量分别为 5 mg/kg 和 10 mg/kg,银杏叶低、高剂量组给药剂量分别为 2.34、4.68g/kg。空白对照组灌胃给予相应体积的生理盐水。按 0.15 ml/10g 灌胃给药。连续给药 7 天,每天一次。

1.2.3.2 小鼠取血和分取肝脏组织块 最后一次给药 1 小时后,小鼠眼眶后静脉丛采血,分离血清和肝脏组织块同 1.2.2.2 项。

1.2.3.3 血清尿酸水平检测 同 1.2.2.3 项。

1.3 数据处理 采用 Student's t - 检验双尾分析,结果以 $\bar{x} \pm SD$ 表示。

2 结果

2.1 样品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 10mg/kg 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差异有极显著性($P < 0.01$),与正常组小鼠血清尿酸水平差异没有统计学意义。银杏叶低、中、高剂量组均可显著降低高尿酸血症小鼠血清尿酸水平($P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.01$),但未能降低到正常小鼠的水平,与正常小鼠血清尿酸水平差异仍有显著性($P < 0.01$)。

表 1 银杏叶和别嘌呤醇对高尿酸血症小鼠血清尿酸水平的影响(n = 10)

组别	尿酸//mg/L	抑制率//%
空白对照组	42.14 ± 8.54	-
高尿酸血症组	104.79 ± 19.28 **	-
别嘌呤醇组	54.79 ± 12.93 $\Delta\Delta$	47.71
银杏叶低剂量组	88.45 ± 16.52 ** Δ	15.59
银杏叶中剂量组	79.41 ± 10.05 ** $\Delta\Delta$	24.21
银杏叶高剂量组	62.78 ± 20.60 ** $\Delta\Delta$	40.08

注: * 与空白对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; Δ 与高尿酸模型组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$ 。

2.2 样品对高尿酸血症小鼠肝脏 XOD 活性的影响

结果见表 2。别嘌呤醇组和银杏叶低、中、高剂量组对高尿酸血症小鼠肝脏 XOD 活性均有一定抑制作用,其抑制程度与其相同剂量组对血清尿酸的抑制程度基本平行。

表 2 银杏叶和别嘌呤醇对高尿酸血症小鼠肝脏 XOD 活性的影响(n = 10)

组别	XOD 活性// μ mol/L	抑制率//%
空白对照组	23.20 ± 2.29	-
高尿酸血症组	23.58 ± 4.31	-
别嘌呤醇组	13.20 ± 3.61 *	44.02
银杏叶低剂量组	19.46 ± 3.14 *	17.47
银杏叶中剂量组	17.58 ± 4.10 *	25.44
银杏叶高剂量组	16.11 ± 4.99 *	31.67

注: * 与高尿酸模型组比较, * $P < 0.01$ 。

2.3 样品对正常小鼠血清尿酸水平的影响

结果见图 1。别嘌呤醇 5、10mg/kg 给药组小鼠的血清尿酸水平显著地低于正常小鼠血清尿酸水平($P < 0.05$, $P < 0.01$)。而银杏叶低、高剂量组给药并不影响正常小鼠血清尿酸水平。

3 讨论

本实验采用的阳性药为临床使用较多的别嘌醇,其降尿酸作用和对 XOD 的抑制作用均较强,但别嘌醇在临床的副作用也较强,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^[3-4]。因此,痛风的发病机制及药物治疗和新药研发已越来越引起人们的重视。

有报道^[5]表明银杏叶提取物对慢性高尿酸血症肾病有一定的疗效,可减少慢性高尿酸血症患者尿微量蛋白的排出,保护肾脏。本研究结果发现银杏叶各剂量给药组均能在一定程度降低高尿酸血症小鼠血清尿酸水平,表明银杏叶具有一定的抗痛风作用。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^[6]。本研究结果表明银杏叶各剂量给药组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,且各剂量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基本平行,表明银杏叶降尿酸作用可能是通过抑制黄嘌呤氧化酶的活性从而降低血清尿酸水平。

黄酮类化合物具有广泛的药理作用,多项研究表明黄酮类化合物在体外对 XOD 具有抑制作用。植物中提取的一些黄酮类,如芦丁、槲皮素有降尿酸效果,表现出一定的抗痛风作用^[7]。银杏叶中含有大量的黄酮类化合物,如槲皮素、山奈酚、异鼠李素、芹菜素及木犀草素等,银杏叶提取物是否通过以上化合物发挥降尿酸作用,有待进一步研究。

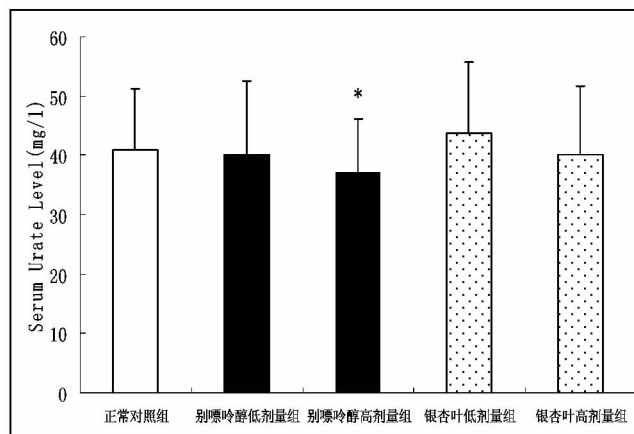


图1 银杏叶和别嘌醇对正常小鼠血清尿酸水平的影响(n=10)

注:与正常对照组比较,* $P < 0.05$ 。

参考文献

- [1] 夏晓晖,张宇,郝砚彬,等. 银杏叶化学成分研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2009,15(9):100-104.
- [2] 刘黎青,王媛,周盛年,等. 银杏叶提取物对神经系统疾病的影响及其作用机制[J]. 中华中医药学刊,2008,26(1):87-89.
- [3] 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.
- [4] Okamoto, K., Inhibitors of xanthine oxidoreductase [J]. Japanese Journal of Clinical Medicine. 2008, 66(4): 748-753.
- [5] 陈丕平,唐霞珠,王路宁,等. 银杏叶提取物对慢性高尿酸血症肾病的疗效[J]. 中国中西医结合肾病杂志,2001,2(11):644-645.
- [6] 朱继孝,曾金祥,罗光明,等. 槲皮降尿酸有效部位研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(14):140-143.
- [7] Zhu JX, Wang Y, Kong LD, et al. Effects of Biota Orientalis Extract and its Flavonoid Constituents, Quercetin and Rutin on Serum Uric Levels in Oxonate-Induced Mice and Xanthine Dehydrogenase and Xanthine Oxidase Activities in Mouse Liver[J]. Journal of Ethnopharmacology. 2004, 93: 133-140.

中药漫话

化湿行气春砂仁

传说很久以前,广东西部的阳春县发生了一次范围较广的牛瘟,全县境内方圆数百里的耕牛,一头一头地病死,惟有蟠龙金花坑附近村庄一带的耕牛,却没有发瘟,而且头头强健力壮。当地几个老农民感到十分惊奇,便召集这一带牧童,查问他们每天在哪一带放牧?牛吃些什么草?牧童们纷纷争说:“我们全在金花坑放牧,那儿生长一种叶子散发出浓郁芳香、根部发达结果实的草,牛很喜欢吃。”

老农们听后,就和他们一同到金花坑,看见那里漫山遍野的生长着这种草,将其连根拔起,摘下几粒果实,放口中嚼之,一股带有香、甜、酸、苦、辣的气味冲入了脾胃,感到十分舒畅。大家品尝了以后,觉得这种草既然可以治牛瘟,是否也能治人病?所以就挖了这种草带回村中,一些因受了风寒引起胃脘胀痛、不思饮食,连连呃逆的人吃了后,效果较好。后来人们又将这种草移植到房屋前后,进行栽培,久而久之成为一味常用的中药,这就是“砂仁”的由来。

砂仁又称为“阳春砂仁”、“春砂仁”,有化湿行气,温中止呕止泻,安胎的功效。可用于脾胃气滞引起的脘腹胀痛、不思饮食,多与陈皮、木香同用。若脾虚气滞,多配党参、白术、茯苓等药,如香砂六君子汤。用于妊娠呕吐、胎动不安,多与补气血、补肾药同用。