

藏药小大黄降尿酸有效部位研究

李波, 朱继孝, 钟国跃, 黎惠君, 欧阳林明, 王洪玲* (江西中医药大学中药资源与民族药研究中心, 江西南昌 330004)

摘要 [目的]对藏药小大黄总提物、乙酸乙酯部位和水部位进行降尿酸活性的研究,确定其降尿酸有效部位。[方法]称取藏药小大黄干燥的根 500.0 g,用 70% 乙醇提取浓缩,加入乙酸乙酯萃取,得乙酸乙酯部位和水部位,研究小大黄总提物、乙酸乙酯部位和水部位对高尿酸血症小鼠的血清尿酸(UA)、肝脏黄嘌呤氧化酶(XOD)、腺苷脱氨酶(ADA)、肌酐(Cre)以及血尿素氮(Bun)的影响。[结果]藏药小大黄总提物和水部位具有一定的降尿酸和抑制 XOD、ADA、Cre 以及 Bun 活性。[结论]水部位是藏药小大黄降尿酸有效部位,其降尿酸作用的机制之一是抑制 XOD 活性。

关键词 小大黄;高尿酸血症;降尿酸;有效部位

中图分类号 S567.23 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2017)34-0117-03

Study on Effective Part of Anti-hypertension in Tibetan Medicine *Rheum pumilum*

LI Bo, ZHU Ji-xiao, ZHONG Guo-yue, WANG Hong-ling* et al (Research Center for the Resourcing of Traditional Chinese Medicine and Minority Medicine, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang, Jiangxi 330004)

Abstract [Objective] The research aimed to study the effect of total extract of *Rheum pumilum* (TER), ethyl acetate extract, as well as water extract on the level of uric acid and define its active fraction. [Method] The root of the dried rhubarb was weighed 500.0 g, extracted with 70% ethanol, concentrated to a small amount of volume and extracted with ethyl acetate to obtain ethyl acetate and water. The level of uric acid (UA), xanthine oxidase (XOD), adenosine deaminase (ADA), creatinine (Cre) and blood urea nitrogen (Bun) on TER, ethyl acetate extract and water extract were analyzed. [Result] The TER and water extract had a certain effect on reducing the level of UA, XOD, ADA, Cre and Bun. [Conclusion] Water part of *Rheum pumilum* was the target area for anti-hyperuricemia, and the effect was related to its inhibition of XOD.

Key words *Rheum pumilum*; Hyperuricemia; Anti-hypertension; Effective part

痛风属中医“痹症”“痛风”“白虎历节”的范畴,在藏药中,多属“黄水病”范畴。痛风一病的发作,临床症状主要以关节红肿疼痛为主要表现,特别以下肢关节最为明显。关节红肿疼痛属藏医的“黄水病”范畴。藏医理论认为,所有疾病的发生是“三大因素”(即“龙”“赤巴”“培根”)失调所致,“龙”“赤巴”“培根”的失调可导致黄水病的产生。“黄水”流著于骨,临床上可见关节肿胀等。“黄水病”“恶性腹水”是藏区多发疾病,也是藏医学临床具有治疗优势的病种之一。“曲玛孜”类药材为常用治疗这类疾病的藏药材。文献记载各地藏医所用的“曲玛孜”类药材的基原植物有一定差异,涉及到蓼科大黄属多种大黄和同科蓼属植物西伯利亚蓼根或全草,《藏药标准》在“曲玛孜”条目下收录了蓼科植物小大黄(*Rheum pumilum*)和西伯利亚蓼(*Polygonum sibiricum* Laxm.),干燥全草入药^[1]。江西中医药大学中药资源与民族药研究中心研究组前期对“曲玛孜”的基原品种进行市场调研,发现小大黄(*R. pumilum*)和西伯利亚蓼(*P. sibiricum*)是“曲玛孜”的主流品种,目前关于西伯利亚蓼和小大黄的化学和药理作用研究较少^[2-5],其药效物质基础尚不清楚。王晓云等^[6]研究表明藏药西伯利亚蓼 70% 乙醇提取物具有降尿酸作用。王洪玲等^[7]对小大黄化学成分进行研究,发现其结构类型包括蒽醌类和二苯乙醇类化合物。基于此,该研究对藏药小大黄总提物、乙酸乙酯部位、水部位进行抗

痛风活性筛选,确定其活性部位及可能的作用机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验动物。湖南斯莱克景达实验动物有限公司体重(20±3)g的SPF级昆明种雄性小鼠120只,试验动物使用许可证号SCXK(湘)2011-0003,动物试验期间室温(22±2)℃。

1.1.2 药品及试剂。藏药小大黄采自西藏昌都,经江西中医药大学钟国跃研究员鉴定为*Rheum pumilum*。氧嗪酸钾盐(STBD5759V)和别嘌呤醇(081M112V)购买于Sigma-Aldrich;尿酸测定试剂盒[YZBIJAP4561-2012(398308)]、尿素氮测定试剂盒[YZBIJAP5441-2012(332213)]和肌酐试剂盒[YZBIJAP4550-2012(252203)]购自希森美康医用电子(上海)有限公司;腺苷脱氨酶测试盒(20151212)、黄嘌呤氧化酶测试盒(20151209)、考马斯亮蓝测试盒(20151210)购自南京建成生物工程研究所。

1.1.3 仪器。DY89-II型电动匀浆机(宁波新芝生物科技股份有限公司);旋转蒸发器(瑞士布奇公司);电子分析天平(上海浦春计量仪器有限公司);超低温冰箱(中科美菱低温科技有限责任公司);全自动干式生化分析仪(日本富士公司);高速冷冻离心机(美国Beckman公司);UV-2100紫外分光光度计(北京瑞利分析仪器公司)。

1.2 方法

1.2.1 小大黄样品的制备。称取小大黄干燥的根 500.0 g,粉碎后加入 4.0 L 70% 乙醇,超声提取 2 次,每次 2 h,将提取液合并浓缩,用乙酸乙酯萃取,浓缩得乙酸乙酯部位和水部位,将小大黄总提物、乙酸乙酯部位和水部位加适量的 0.5% 羧甲基纤维素钠,得各个部位的低、中、高剂量组(2.0、4.0、

基金项目 国家自然科学基金项目(31660098);江西省教育厅科技项目(160857);江西中医药大学博士启动基金(2014BS010)。

作者简介 李波(1991—),男,河南驻马店人,硕士研究生,研究方向:中药药效物质基础。*通讯作者,讲师,博士,从事中药尤其是民族药药效物质基础研究。

收稿日期 2017-10-11

8.0 g/kg,按生药计),放置冰箱冷藏备用。

1.2.2 小大黄各部位小鼠高尿酸血症的影响。昆明雄性小鼠 120 只随机分为正常组、模型组、别嘌呤醇组(0.01 g/kg)、小大黄总提取物低、中、高剂量组、小大黄乙酸乙酯部位中、高剂量组以及小大黄水部位低、中、高剂量组,正常组与模型组灌以生理盐水,别嘌呤醇组灌以别嘌呤醇 0.01 g/kg,连续给药 7 d,第 7 天 08:00 加强给药一次,12:00 腹腔注射氧嗪酸钾盐(10 min 一组),13:00 灌胃,14:00 取血,采用自动生化分析仪检测血清尿酸(UA)、肝脏黄嘌呤氧化酶(XOD)、腺苷脱氨酶(ADA)、肌酐(Cre)以及血尿素氮(Bun)活性。

1.3 数据统计 运用 SPSS 18.0 软件进行分析,用均数 \pm

标准差($\bar{x} \pm S$)表示。组间比较采用 t 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 小大黄各部位对高尿酸血症小鼠 UA 水平作用 由表 1 可见,模型组小鼠血清尿酸水平显著高于正常组血清尿酸水平($P < 0.01$);在剂量为 0.01 g/kg 时,别嘌呤醇可显著降低高尿酸血症小鼠血清尿酸水平($P < 0.01$);小大黄总提取物和水部位低、中、高剂量组均可降低小鼠血清尿酸水平($P < 0.05, P < 0.01$),表明小大黄总提取物和水部位具有一定的降尿酸作用。

表 1 小大黄各部位对高尿酸血症小鼠血清 UA 含量的影响($n=10$)

Table 1 Effect of various parts of *Rheum pumilum* on serum uric acid in hyperuricemia mice

分组 Group	给药剂量 Administration dosage//g/kg	UA//mmol/L	抑制率 Inhibition rate//%
正常组 Normal group	—	1.25 \pm 0.18	—
模型组 Model group	—	2.41 \pm 0.35 **	—
别嘌呤醇组 Allopurinol group	0.01	0.82 \pm 0.09 $\Delta\Delta$	66.0
小大黄总提取物低剂量组 Low dose group of total extract from <i>R. pumilum</i>	2.0	1.94 \pm 0.32 Δ	19.5
小大黄总提取物中剂量组 Medium dose group of total extract from <i>R. pumilum</i>	4.0	1.85 \pm 0.31 Δ	23.2
小大黄总提取物高剂量组 High dose group of total extract from <i>R. pumilum</i>	8.0	1.03 \pm 0.13 $\Delta\Delta$	57.3
小大黄乙酸乙酯部位低剂量组 Low dose group of ethyl acetate part from <i>R. pumilum</i>	2.0	1.91 \pm 0.31 Δ	20.7
小大黄乙酸乙酯部位中剂量组 Medium dose group of ethyl acetate part from <i>R. pumilum</i>	4.0	1.90 \pm 0.30 Δ	20.3
小大黄乙酸乙酯部位高剂量组 High dose group of ethyl acetate part from <i>R. pumilum</i>	8.0	2.07 \pm 0.27	14.1
小大黄水部位低剂量组 Low dose group of water part from <i>R. pumilum</i>	2.0	1.86 \pm 0.29 Δ	22.8
小大黄水部位中剂量组 Medium dose group of water part from <i>R. pumilum</i>	4.0	1.62 \pm 0.33 $\Delta\Delta$	32.8
小大黄水部位高剂量组 High dose group of water part from <i>R. pumilum</i>	8.0	1.68 \pm 0.33 $\Delta\Delta$	30.3

注:与正常组比较, ** $P < 0.01$;与模型组比较, $\Delta P < 0.05, \Delta\Delta P < 0.01$

Note: Compared with the normal group, ** $P < 0.01$; compared with the model group, $\Delta P < 0.05, \Delta\Delta P < 0.01$

2.2 小大黄各部位对高尿酸血症小鼠肝脏 XOD 及 ADA 作用 由表 2 可知,别嘌呤醇组 0.01 g/kg、小大黄总提取物和水部位中、高剂量组均可降低高尿酸血症小鼠肝 XOD 水平($P < 0.05, P < 0.01$),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。别嘌呤醇组、小大黄总提取物中、高剂量组和水部位中、高剂量组对模型小鼠肝脏 ADA 活性均有一定抑制活性($P < 0.05$)。

表 2 小大黄各部位对高尿酸血症小鼠肝脏 XOD 和 ADA 活性的影响($n=10$)

Table 2 Effect of various parts of *Rheum pumilum* on the activity of XOD and ADA in liver of hyperuricemia mice

分组 Group	给药剂量 Administration dosage//g/kg	XOD//mmol/L	ADA//mmol/L
正常组 Normal group	—	26.35 \pm 3.58	34.80 \pm 4.48
模型组 Model group	—	39.15 \pm 3.67 **	43.40 \pm 6.53 *
别嘌呤醇组 Allopurinol group	0.01	19.88 \pm 4.15 $\Delta\Delta$	33.43 \pm 5.16 Δ
小大黄总提取物低剂量组 Low dose group of total extract from <i>R. pumilum</i>	2.0	29.50 \pm 5.04 Δ	39.18 \pm 5.84
小大黄总提取物中剂量组 Medium dose group of total extract from <i>R. pumilum</i>	4.0	30.70 \pm 4.00 Δ	33.57 \pm 4.28 Δ
小大黄总提取物高剂量组 High dose group of total extract from <i>R. pumilum</i>	8.0	27.86 \pm 4.83 Δ	34.24 \pm 3.38 Δ
小大黄乙酸乙酯部位低剂量组 Low dose group of ethyl acetate part from <i>R. pumilum</i>	2.0	36.17 \pm 6.31	44.82 \pm 8.65
小大黄乙酸乙酯部位中剂量组 Medium dose group of ethyl acetate part from <i>R. pumilum</i>	4.0	41.09 \pm 4.67	38.83 \pm 4.74
小大黄乙酸乙酯部位高剂量组 High dose group of ethyl acetate part from <i>R. pumilum</i>	8.0	33.29 \pm 5.05 Δ	36.32 \pm 4.40
小大黄水部位低剂量组 Low dose group of water part from <i>R. pumilum</i>	2.0	22.24 \pm 3.29 $\Delta\Delta$	36.71 \pm 3.22
小大黄水部位中剂量组 Medium dose group of water part from <i>R. pumilum</i>	4.0	20.74 \pm 3.42 $\Delta\Delta$	33.30 \pm 4.72 Δ
小大黄水部位高剂量组 High dose group of water part from <i>R. pumilum</i>	8.0	23.80 \pm 3.15 $\Delta\Delta$	32.29 \pm 3.94 Δ

注:与正常组比较, ** $P < 0.01$;与模型组比较, $\Delta P < 0.05, \Delta\Delta P < 0.01$

Note: Compared with the normal group, ** $P < 0.01$; compared with the model group, $\Delta P < 0.05, \Delta\Delta P < 0.01$

2.3 小大黄各部位对高尿酸血症小鼠 Cre 与 Bun 作用 由表 3 可知,别嘌呤醇组可以显著地降低高尿酸血症小鼠 Cre 水

平($P < 0.01$),但对 Bun 无抑制作用;小大黄总提取物、乙酸乙酯部位和水部位均可降低高尿酸血症小鼠 Cre 和 Bun 的水平。

表 3 小大黄各部位对高尿酸血症小鼠血清 Cre 与 Bun 含量的影响 ($n = 10$)Table 3 Effect of various parts of *Rheum pumilum* on Cre and Bun levels in serum of hyperuricemia mice

分组 Group	给药剂量 Administration dosage // g/kg	Cre // mmol/L	Bun // mmol/L
正常组 Normal group	—	0.14 ± 0.03	18.21 ± 3.45
模型组 Model group	—	0.29 ± 0.05 ^{**}	26.28 ± 4.65 [*]
别嘌呤醇组 Allopurinol group	0.01	0.16 ± 0.04 ^{△△}	27.05 ± 3.45
小大黄总提物低剂量组 Low dose group of total extract from <i>R. pumilum</i>	2.0	0.17 ± 0.04 ^{△△}	20.98 ± 1.64 [△]
小大黄总提物中剂量组 Medium dose group of total extract from <i>R. pumilum</i>	4.0	0.10 ± 0.01 ^{△△}	20.70 ± 3.02 [△]
小大黄总提物高剂量组 High dose group of total extract from <i>R. pumilum</i>	8.0	0.11 ± 0.02 ^{△△}	20.46 ± 2.00 [△]
小大黄乙酸乙酯部位低剂量组 Low dose group of ethyl acetate part from <i>R. pumilum</i>	2.0	0.13 ± 0.03 ^{△△}	21.28 ± 2.62 [△]
小大黄乙酸乙酯部位中剂量组 Medium dose group of ethyl acetate part from <i>R. pumilum</i>	4.0	0.10 ± 0.02 ^{△△}	20.95 ± 1.97 [△]
小大黄乙酸乙酯部位高剂量组 High dose group of ethyl acetate part from <i>R. pumilum</i>	8.0	0.20 ± 0.03 [△]	21.70 ± 2.01 [△]
小大黄水部位低剂量组 Low dose group of water part from <i>R. pumilum</i>	2.0	0.13 ± 0.02 ^{△△}	19.20 ± 4.00 [△]
小大黄水部位中剂量组 Medium dose group of water part from <i>R. pumilum</i>	4.0	0.10 ± 0.01 ^{△△}	16.30 ± 1.94 [△]
小大黄水部位高剂量组 High dose group of water part from <i>R. pumilum</i>	8.0	0.11 ± 0.02 ^{△△}	15.08 ± 1.77 ^{△△}

注:与正常组比较, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta \Delta P < 0.01$

Note: Compared with the normal group, ** $P < 0.01$; compared with the model group, $\Delta P < 0.05$, $\Delta \Delta P < 0.01$

3 讨论

痛风是严重威胁人类健康的代谢性疾病, 现有治疗痛风药物主要有别嘌呤醇、苯溴马隆等^[8], 但由于副作用较多, 患者难以长期服用和耐受^[9], 远远不能满足临床需求。因此, 亟需开发高效低毒、作用机制新颖、价格相对低廉的抗痛风药物。该研究采用高尿酸血症模型对小大黄进行降尿酸作用的研究, 发现其总提物和水部位具有一定的降尿酸作用, 提示小大黄的有效部位为水部位, 但小大黄总提物对肝脏 XOD 活性的抑制水平与其降尿酸作用并不平行, 推测其降尿酸的作用除抑制 XOD 活性外还可能存在着其他机制。肾脏在尿酸排泄过程中起着重要作用, 因此高尿酸症常常伴随着肾脏功能损害。血肌酐和尿素氮是检验肾功能的重要指标, 可以反映肾小球滤过和肾小管重吸收的功能。小大黄水部位的中、高剂量 (4.0、8.0 g/kg) 可显著降低高尿酸血症小鼠肌酐和尿素氮的水平 ($P < 0.01$), 表明小大黄的水部位还具有保护肾脏作用。

藏药小大黄和西伯利亚蓼为藏药曲玛孜的代表性基原品种, 二者都具有降尿酸的功效, 那么二者的药效物质是否相同呢? 王洪玲等^[10]对二者挥发油进行比较研究, 发现其化学成分组成相差较大, 因此二者具体药效物质基础还有待进一步的研究。此外, 前期研究发现小大黄中含有蒽醌和二苯乙醇类化合物^[5,7], 而蒽醌类 (大黄酸、大黄素)^[11]和二苯乙醇类 (白藜芦醇)^[12]均具有一定的抗痛风作用, 因此下一

步将对其分离得到的化合物进行 XOD 活性研究, 找到其有效成分, 为以后藏药小大黄的开发和利用提供一定的依据。

参考文献

- [1] 四川省卫生局. 藏药标准[M]. 青海: 青海人民出版社, 1978: 35-36.
- [2] 郑俊华, 张立力, 楼之岑. 大黄属植物化学成分分析[J]. 北京医科大学学报, 1991, 23(1): 51-53.
- [3] 戴晓明, 吴慧平, 陈亮, 等. 小大黄对 ox-LDL 诱导血管平滑肌细胞增生的影响[J]. 中国中医药科技, 2007, 14(5): 345-347.
- [4] 王索安, 完德才让, 李跃华. 小大黄对药物性肝细胞损伤影响的实验研究[J]. 江苏中医药, 2003, 24(1): 51-53.
- [5] 董红娇, 陈晓虎, 曾锐. UPLC-Q-Exactive 四级杆-静电场轨道阱高分辨质谱联用快速分析民族药小大黄的化学成分[J]. 中草药, 2016, 47(14): 2428-2435.
- [6] 王晓云, 王洪玲, 张亚梅, 等. 西伯利亚蓼醇提物对高尿酸血症小鼠尿酸生成和非泄的影响研究[J]. 中药新药与临床药理, 2015, 26(5): 626-631.
- [7] 王洪玲, 梁文娟, 钟国跃, 等. 小大黄根部酚类成分的研究[J]. 中成药, 2016, 38(10): 2197-2200.
- [8] 承良凤, 陆进明. 痛风药物治疗新进展[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2015, 20(9): 1066-1071.
- [9] YUE C S, HUANG W, ALTON M, et al. Population pharmacokinetic and pharmacodynamics analysis of pegloticase in subjects with hyperuricemia and treatment-failure gout[J]. Clin pharmacol, 2008, 48(6): 708-718.
- [10] 王洪玲, 朱继孝, 任刚, 等. 藏药曲玛孜挥发油化学成分的 GC-MS 分析[J]. 安徽农业科学, 2016, 44(21): 88-90.
- [11] MA L P, ZHAO L, HU H H, et al. Interaction of five anthraquinones from rhubarb with human organic anion transporter 1 (SLC22A6) and 3 (SLC22A8) and drug-drug interaction in rats[J]. J Ethnopharmacol, 2014, 153(3): 864-871.
- [12] 王鹏, 丁慧, 孙晓方, 等. 白藜芦醇对急性痛性关节炎大鼠的影响[J]. 现代生物医学进展, 2014, 14(15): 2871-2874.

(上接第 68 页)

- [21] 姜涛, 李岚, 杜阳, 等. 绿茶粗提物对耻垢分枝杆菌的生长抑制研究[J]. 天然产物研究与开发, 2012, 24(1): 84-88.
- [22] BOURASSA P, CÔTÉ R, HUTCHANDANI S, et al. The effect of milk alpha-casein on the antioxidant activity of tea polyphenols[J]. Journal of

photochemistry and photobiology B, 2013, 128: 43-49.

- [23] HATANO T, TSUGAWA M, KUSUDA M, et al. Enhancement of antibacterial effects of epigallocatechin gallate, using ascorbic acid[J]. Phytochemistry, 2008, 69(18): 3111-3116.