

## 绞股蓝皂苷对高尿酸血症大鼠血尿酸的影响

史 珅<sup>1,2,3\*</sup>, 王 娜<sup>1,2</sup>, 尚小玉<sup>1,2</sup>, 张荣涛<sup>1,2</sup>, 李 森<sup>3</sup>, 张泽生<sup>3</sup>

<sup>1</sup> 天狮集团有限公司, 天津 301700; <sup>2</sup> 天津市天狮生命科学与技术研究院, 天津 301700;

<sup>3</sup> 天津科技大学食品工程与生物技术学院, 天津 300457

**摘要:** 高尿酸血症是近年来日益多发的代谢综合征。本研究探讨绞股蓝皂苷提取物对高尿酸血症大鼠血清尿酸的影响及作用方式。研究采用高尿酸血症大鼠动物模型, 生化检测, 代谢实验方法等, 对摄入绞股蓝皂苷提取物的实验大鼠的血清尿酸水平, 尿酸生成关键酶黄嘌呤氧化酶活性, 24 h 尿液酸碱度、尿酸浓度及尿酸排泄量等指标进行监测。结果发现, 绞股蓝皂苷可以通过抑制尿酸生成, 促进排泄, 抑制机体的血尿酸水平升高, 有益于改善高尿酸血症患者健康状况。

**关键词:** 绞股蓝; 绞股蓝皂苷; 高尿酸血症; 大鼠

中图分类号: R281.5; Q591.3

文献标识码: A

## Effect of Gypenoside on Serum Uric Acid of Hyperuricemic Rats

SHI Shen<sup>1,2,3\*</sup>, WANG Na<sup>1,2</sup>, SHANG Xiao-yu<sup>1,2</sup>, ZHANG Rong-tao<sup>1,2</sup>, LI Sen<sup>3</sup>, ZHANG Ze-sheng<sup>3</sup>

<sup>1</sup> *Tiens Group Co. Ltd, Tianjin 301700, China;* <sup>2</sup> *Tianjin Tiens Academy of Life Science and Technology,*

*Tianjin 301700, China;* <sup>3</sup> *Tianjin University of Science and Technology, Food Engineering and Biotechnology College, Tianjin 300457, China*

**Abstract:** Hyperuricemia is an increasing risk of metabolic syndrome in recent years. This study explored the effect and mechanism of gypenoside on serum uric acid concentration in hyperuricemic rats. The secondary hyperuricemia rat model induced by unreasonable dietary structure was made by intragastric administration of yeast and potassium oxonate. Indicators of hyperuricemic rats, including serum uric acid concentration, oxidase activity of xanthine in serum and uric acid excretion in 24 hours, were monitored. The results of biochemical detection showed that the concentration of serum uric acid in hyperuricemic rats of each gypenoside group were obviously lower than those in model group. In addition, the oxidase activity of xanthine in serum and uric acid excretion in 24 hours of gypenoside groups with different dosages had no significant differences. Hence, it was hypothesized that gypenoside played a role in inhibiting uric acid generation without inhibiting the activity of xanthine oxidase. On the other hand, there was no obvious difference in pH value of each group, while the concentration of serum uric acid in each gypenoside group were obviously higher than those in model group. Hence, it was hypothesized that gypenoside promoted the dissolution of serum uric acid in the urine. Based on these experimental results, it was concluded that gypenoside was beneficial for improving health status in patients with hyperuricemia by reducing the body's serum uric acid concentration via inhibiting generation and promoting excretion.

**Key words:** gynostemma; gypenoside; hyperuricemia; rats

高尿酸血症是指机体嘌呤代谢异常, 细胞外液的尿酸盐呈超饱和状态的一种生理状态, 通常认为血尿酸盐  $\geq 417 \mu\text{mol/L}$  时应考虑为高尿酸血症。可能引发痛风性肾炎、痛风性关节炎等疾病, 并与心脑血管疾病、代谢综合症等有高度相关性。体内嘌呤可以来自食物分解或在体内自行合成, 大部分嘌呤氧化代谢变成尿酸, 再经肾脏和肠道排出。长期

尿酸过量生成, 或排泄受阻, 大量尿酸存在于血液, 可能造成机体血液缓冲体系发生偏酸趋势, 进而导致尿酸溶解度降低滞留体内引起恶性循环, 引发高尿酸血症和痛风。绞股蓝皂苷是绞股蓝全草的主要有效成分, 白色至浅棕色粉末, 味苦, 无气味, 现已从绞股蓝中分离鉴定了 80 多种与人参皂苷有类似骨架的达玛烷型绞股蓝皂苷<sup>[1]</sup>。绞股蓝皂苷具有抗氧化<sup>[2]</sup>、抗炎<sup>[3]</sup>、抗癌<sup>[4]</sup>、降血脂<sup>[5]</sup>、调节心率增强心脏功能<sup>[6]</sup>等多种生物活性。绞股蓝可用于生产药物制剂, 如绞股蓝丹、绞股蓝总苷胶囊、绞股蓝滴丸等<sup>[7]</sup>。也可用于生产保健食品以及作为食品添

加剂添加到各种功能性食品中。

本文通过采用酵母膏与氧嗪酸钾联合灌胃实验大鼠制作高尿酸血症模型,其中酵母膏可以模拟日常的高嘌呤饮食,使实验动物体内的尿酸水平上升;氧嗪酸钾为尿酸酶抑制剂,可以抑制啮齿类动物特有的尿酸酶催化尿酸分解为尿素迅速排出体外的过程。通过最大程度模拟非遗传性高尿酸血症致病过程,制作实验大鼠模型对绞股蓝皂苷提取物进行活性研究,初步探讨其对尿酸代谢的影响和调节尿酸水平的作用方式,对该类活性物质的功效及其作为主要功能成分应用于保健食品提供科学参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

大鼠代谢笼(天津市天宇实验仪器有限公司),高速冷冻离心机(力康发展有限公司),Uvmini-1240紫外可见分光光度计(日本岛津公司),奥立龙酸度计(美国赛默飞世尔科技公司)。绞股蓝皂苷对照品 98%(天津一方科技有限公司),氧嗪酸钾 $\geq 99\%$ (Sigma),酵母膏(北京奥博星生物技术有限责任公司),别嘌醇片(上海信谊万象药业股份有限公司),尿酸生化试剂盒、黄嘌呤氧化酶生化试剂盒、尿素氮生化试剂盒,购自南京建成生物工程研究所。

Wistar 大鼠,SPF 级,雄性,体重  $250 \pm 20$  g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,合格证号:SCXK(京)2012-0001。

绞股蓝皂苷 $\geq 80\%$ ,购自上海森一生物科技有限公司,阴凉干燥处贮存。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 绞股蓝皂苷含量的测定

采用香草醛-高氯酸法<sup>[8]</sup>,绞股蓝总皂苷对照品制作标准曲线,检测紫外可见分光光度计 555 nm 波长吸光度值,测定样品总皂苷含量。

#### 1.2.2 高尿酸血症动物模型的建立方法

动物饲养条件:屏障系统动物房,温度( $22 \pm 2$ ) $^{\circ}\text{C}$ ,相对湿度 40% ~ 60%,控制照明时间为 12:12 h。每笼 5 只分笼饲养,自由饮水,及时更换垫料,定期清洗鼠笼,适应一周后开始实验。

参考并改进文献<sup>[9]</sup>中的造模方法,实验中高尿酸血症模型的建立采用酵母膏(15 g/kg·bw/d)与氧嗪酸钾(200 mg/kg·bw/d)进行造模。实验时将酵母膏与氧嗪酸钾混合,生理盐水助溶,高速匀浆机制备匀浆,即为造模剂。

实验动物适应一周后开始造模,空白组灌胃生理盐水,其余各组均灌胃造模剂。造模 14 d 后内眦取血,测定血清尿酸水平。若各个灌胃造模剂的实验组间血尿酸水平无显著差异,且都显著高于空白组( $P < 0.05$ ),则造模成功,高尿酸血症模型建立。

#### 1.2.3 实验动物分组

实验大鼠随机分成 6 组,每组 10 只,分别为空白对照组、模型对照组、阳性对照组和绞股蓝皂苷三个剂量组。高尿酸血症大鼠模型建立后,继续给药造模剂及生理盐水,并开始给阳性对照组大鼠的造模剂中添加别嘌醇,剂量为 20 mg/kg·bw/d;在给药剂大鼠的造模剂中添加相应剂量绞股蓝皂苷,详见表 1。

表 1 各实验组给药剂量表

Table 1 Administration dosages of drugs for each group

组别 Groups	灌胃混合物 Mixture of I. G.	灌胃剂量 Dose of I. G.
空白对照组 Control	生理盐水 Physiological saline	-
模型对照组 Model	酵母膏 Yeast extract cream 氧嗪酸钾 Potassium oxonate	15 g/kg·bw/d 200 mg/kg·bw/d
阳性对照组 Positive	酵母膏 Yeast extract cream 氧嗪酸钾 Potassium oxonate 别嘌醇 allopurinol	15 g/kg·bw/d 200 mg/kg·bw/d 20 mg/kg·bw/d
低剂量绞股蓝皂苷 Low dose of GYP	酵母膏 Yeast extract cream 氧嗪酸钾 Potassium oxonate 80% 绞股蓝皂苷 80-GYP	15 g/kg·bw/d 200 mg/kg·bw/d 100 mg/kg·bw/d
中剂量绞股蓝皂苷 Medium dose of GYP	酵母膏 Yeast extract cream 氧嗪酸钾 Potassium oxonate 80% 绞股蓝皂苷 80-GYP	15 g/kg·bw/d 200 mg/kg·bw/d 300 mg/kg·bw/d
高剂量绞股蓝皂苷 High dose of GYP	酵母膏 Yeast extract cream 氧嗪酸钾 Potassium oxonate 80% 绞股蓝皂苷 80-GYP	15 g/kg·bw/d 200 mg/kg·bw/d 500 mg/kg·bw/d

给药 7 d 后,将实验动物放入大鼠代谢笼内进行代谢实验,收集 24 h 尿液;内眦采血,收集血清样本,分析血液及尿样相关生化指标。

#### 1.2.4 动物实验样本的采集方法

血液:内眦采血,4 ℃ 静置。血液凝固后,4 ℃ 3000 rpm 离心 10 min,取上清,获取血清样本。-20 ℃ 低温保存,待测尿酸、黄嘌呤氧化酶活性、尿素氮。

尿液:代谢实验收集 24 h 尿液,待测尿酸、pH、尿液体积。

#### 1.2.5 实验样本的检测方法

血清样本得到后进行的指标测定包括尿酸浓度(Uric Acid,UA)、黄嘌呤氧化酶活性(Xanthine Oxidase,XOD)和血尿素氮水平(Blood Urea Nitrogen,BUN);尿液样本的指标指标包括尿液体积、pH、尿酸浓度。

尿酸的测定:无蛋白滤液中的尿酸在碱性状态下还原磷钨酸生成钨蓝、尿囊素和二氧化碳,蓝色深浅与尿酸浓度成正比。

黄嘌呤氧化酶活性的测定:黄嘌呤氧化酶可催化次黄嘌呤生成黄嘌呤,与此同时产生超氧阴离子自由基,当有电子受体及显色剂存在的情况下,生成紫红色结合物,根据后者生成量推算 XOD 的活力。

血尿素氮的测定:在加热和强酸条件下,尿素氮与二乙酰脲缩合成红色的联吡啶称之 Fearon 反应。根据色泽的深浅计算尿素氮的含量。

测定方法:按照南京建成生物工程研究所血尿素氮(BUN)测试盒说明书。

#### 1.2.6 数据分析处理

实验统计分析采用方差分析(ANOVA),所有的数据进行统计分析均采用 SPSS 软件(SPSS 11.5 版)处理。数据结果均用 Mean ± SD 的形式表示。

## 2 结果与讨论

### 2.1 绞股蓝提取物的皂苷含量

经检测,绞股蓝提取物总皂苷含量达到 84.1% ± 0.9%。

### 2.2 造模剂对实验大鼠血清尿酸水平的影响

实验大鼠灌胃造模剂 14 d 后采血,检测血清尿酸水平,结果见图 1。造模各组血清尿酸水平显著高于空白对照组( $P < 0.01$ ),且各造模组间无显著差异。高尿酸血症模型实验动物造模成功,可以开始进行不同剂量的绞股蓝皂苷给药。

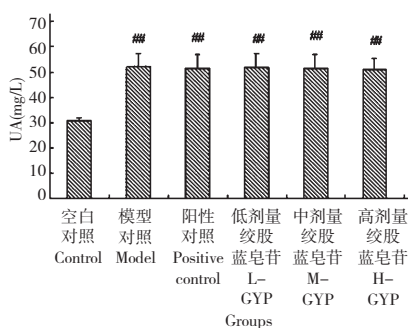


图 1 造模 14 d 各组大鼠血清尿酸水平

Fig. 1 Concentrations of serum uric acid of rats after 14 d' modeling

注:与空白对照组比较,### $P < 0.01$ 。

## $P < 0.01$ , compare with control group.

### 2.3 给药绞股蓝皂苷 7 d 对实验大鼠各生化指标的影响

#### 2.3.1 绞股蓝皂苷对大鼠血清尿酸水平的影响

对高尿酸血症实验大鼠灌胃不同剂量的绞股蓝皂苷 7 d 后,测定血清尿酸水平结果如图 2 所示。由图可见,与模型组比较,各给药组大鼠血清尿酸水平均有显著降低,且绞股蓝给药组值均介于正常组健康大鼠和模型组高尿酸血症大鼠之间。表明给药 7 d 后,可显著抑制血清尿酸浓度的增高,且中剂量(300 mg/kg · bw/d)和高剂量(500 mg/kg · bw/d)效果更优于低剂量(100 mg/kg · bw/d)。

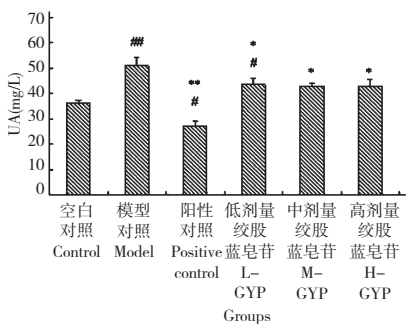


图 2 给药绞股蓝皂苷 7 d 对大鼠血清尿酸水平的影响

Fig. 2 Concentrations of serum uric acid of rats after 7 d' administration of geniposide

注:与模型对照组比较,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ ;与空白对照组比较,# $P < 0.05$ ,## $P < 0.01$ 。

Note: Compare with model group, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ ; compare with control group, # $P < 0.05$ , ## $P < 0.01$ 。

#### 2.3.2 绞股蓝皂苷对大鼠血清黄嘌呤氧化酶活性的影响

尿酸是嘌呤代谢复杂过程的终产物,其生成的

关键步骤是在黄嘌呤氧化酶催化作用下,黄嘌呤、次黄嘌呤氧化生成尿酸的过程,因此,黄嘌呤氧化酶活性是尿酸生成速率的重要标志之一。图3为给药不同剂量的绞股蓝皂苷7 d后,实验大鼠血清黄嘌呤氧化酶的活性。由图可见,在给药7 d后,各剂量组实验大鼠血清黄嘌呤氧化酶的活性较模型组未见显著降低。初步推断,在此阶段绞股蓝皂苷对高尿酸血症大鼠体内的黄嘌呤氧化酶活性未见显著影响,其降低血尿酸的作用途径并非通过抑制关键酶活性来发挥的。

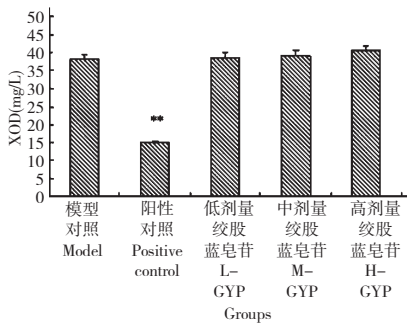


图3 给药绞股蓝皂苷7 d对大鼠血清XOD的影响

Fig. 3 Serum XOD activities of rats after 7 d' administration of gypenoside

注:与模型对照组比较, \*\*  $P < 0.01$ 。

\*\*  $P < 0.01$ , compare with model group.

### 2.3.3 绞股蓝皂苷对大鼠24 h尿酸排泄量的影响

机体尿酸水平,取决于尿酸生成和排泄的平衡,而尿液是尿酸排泄的主要途径之一。通过24 h代谢实验可以对实验动物的尿酸排泄有一个相对直接的评估。由图4可见,模型组和绞股蓝各剂量组尿

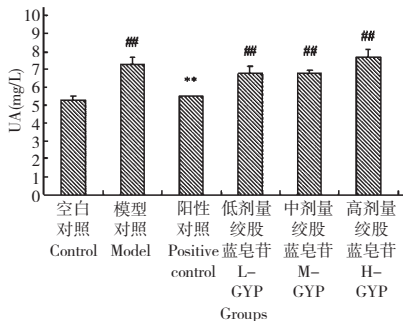


图4 给药绞股蓝皂苷7 d对大鼠24 h尿酸排泄量的影响

Fig. 4 Excretion of uric acid in 24 h after 7 d' administration of gypenoside

注:与模型对照组比较, \*\*  $P < 0.01$ ;与空白对照组比较, ##  $P < 0.01$ 。

Note: Compare with model group, \*\*  $P < 0.01$ ; compare with control group, ##  $P < 0.01$ .

酸排泄量较空白组均有显著升高,即符合高尿酸血症患者均有排泄量同期升高的特征,而各给药组与模型组比较未见统计学差异。

各绞股蓝给药组在尿酸水平显著低于模型组的情况下(见图2),保持与模型组相当的排泄量,保证了可以抑制机体尿酸的进一步升高,或使尿酸水平趋于降低。相对的,绞股蓝皂苷各剂量组血清尿酸水平较模型组已见不同程度的显著降低,而尿酸排泄量较模型组未见显著升高,因此可以初步推断,绞股蓝皂苷尿酸水平的机制,虽然不是抑制黄嘌呤氧化酶活性,但仍可能与抑制尿酸的生成有关。

### 2.3.4 绞股蓝皂苷对大鼠24 h尿液pH值的影响

尿液是机体尿酸排泄的主要途径之一,但伴随尿液中尿酸浓度的升高,尿液呈现酸化趋势,从而降低尿酸这一酸性物质的溶解度,达到饱和后会阻滞尿酸的经肾排泄,甚至对肾脏形成病理和功能性的损伤。通过代谢实验可以监测实验动物24 h尿液的pH值,辅助分析尿酸排泄情况。绞股蓝皂苷7 d

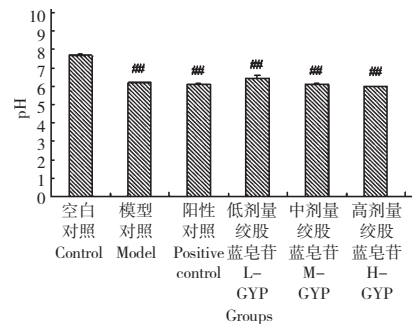


图5 给药绞股蓝皂苷7 d对大鼠24 h尿液pH值的影响

Fig. 5 pH value of 24 h urine after 7 d' administration of gypenoside

注:与空白对照组比较, ##  $P < 0.01$ 。

Note: Compare with control group, ##  $P < 0.01$ .

对大鼠24 h尿液pH值的影响情况如图5所示。绞股蓝皂苷各剂量组24 h尿液的pH值与模型组无显著差异,初步判断其对尿液pH变化无显著影响。

### 2.3.5 绞股蓝皂苷对大鼠24 h尿液中尿酸浓度的影响

如2.3.4中提到的,尿液中尿酸的浓度与pH值存在关联,同时决定了尿酸的排泄。图6为给药绞股蓝皂苷7 d时各组尿液尿酸浓度,可见,各摄入造模剂组大鼠24 h尿液中尿酸含量都较空白组显著升高,且绞股蓝各剂量组尿酸浓度表现出同期显著升高,参考图5中显示的各造模大鼠尿液pH值

的相近水平,可以推断,绞股蓝皂苷使尿液对尿酸的溶解度有所提升,从而有利于尿酸经肾的排泄,同时可能对保护肾脏功能有益。由此推测,绞股蓝皂苷可能通过缓解体液因大量尿酸滞留的酸化趋势,从而缓解尿酸在关节以及其他部位的沉积,进而预防痛风的发生。

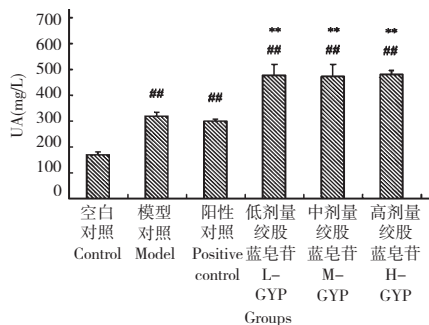


图6 给药绞股蓝皂苷7 d对大鼠24 h尿液中尿酸浓度的影响

Fig. 6 Uric acid concentration of 24 h urine after 7 d' administration of gypenoside

注:与模型对照组比较, \*  $P < 0.01$ ;与空白对照组比较, <sup>##</sup>  $P < 0.01$ 。

Note: Compare with model group, \*  $P < 0.01$ ; compare with control group, <sup>##</sup>  $P < 0.01$ 。

### 2.3.6 绞股蓝皂苷对大鼠血清尿素氮水平的影响

上述研究发现,绞股蓝皂苷的摄入可能对高尿酸血症患者的肾脏功能损伤有一定的缓解和抑制的作用。尿素氮是较直接的反应机体肾脏功能的生理指标,这里进行检测辅助研究,图7为检测结果。由图可知,给药7 d时,绞股蓝各剂量组大鼠较模型组

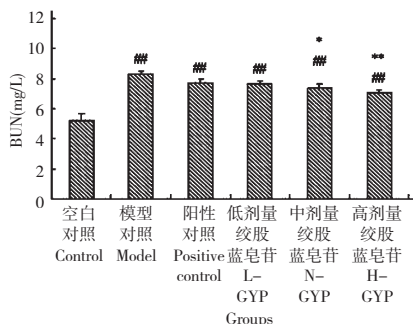


图7 给药绞股蓝皂苷7 d对大鼠血清BUN水平的影响

Fig. 7 Serum BUN concentration of rats after 7 d' administration of gypenoside

注:与模型对照组比较, \*  $P < 0.05$ , \* \*  $P < 0.01$ ;与空白对照组比较, <sup>##</sup>  $P < 0.01$ 。

Note: Compare with model group, \*  $P < 0.05$ , \* \*  $P < 0.01$ ; compare with control group, <sup>##</sup>  $P < 0.01$ 。

的血清尿素氮水平均呈降低的趋势,尤其中剂量组(300 mg/kg · bw/d,  $P < 0.05$ )和高剂量组(500 mg/kg · bw/d,  $P < 0.01$ )更有显著降低,对高尿酸血症相关的肾脏功能损伤有缓解作用,与2.3.5推断相一致。

## 3 结语

绞股蓝是近年来研究者日益关注的天然物质,其皂苷提取物已经被证实具有多种生物活性,是有益于人体健康的天然产物。而伴随人类生活水平的提高,尤其是膳食结构多脂肪、多嘌呤、多蛋白的发展趋势和高速紧张的生活节奏,使高尿酸血症和痛风日益多发并表现出由中老年转向中青年的趋势,从而引起更多的关注。本研究发现绞股蓝皂苷提取物具有抑制尿酸生成,增加体液尿酸溶解度,保护肾脏功能,促进尿酸排泄,从而有效降低高尿酸血症机体的血尿酸水平的功能。其作为改善高尿酸血症患者健康状况的保健食品研发原料有巨大的开发潜力和重要的药用价值。

## 参考文献

- Liu MY (刘美玉), Liu TH (刘铜华). Advances in antidiabetic effects of *Gynostemma pentaphyllum*. *Chin J Inf Tradit Chin Med* (中国中医药信息杂志), 2008, 15: 97-99.
- Wang ZJ, Luo DH. Antioxidant activities of different fractions of polysaccharide purified from *Gynostemma pentaphyllum* Makino. *Carbohydr Polymers*, 2007, 68: 54-58.
- Zhang WP (张蔚屏), Li ZH (李正红). Effects of gypenosides on contraction of isolated duodenum smooth muscle of rabbits. *Chin J Clin Pharm Therap* (中国临床药理学与治疗学), 2008, 13: 435-437.
- Chen JC, Lu KW, Tsai ML, et al. Gypenosides induced G0/G1 arrest via CHK2 and apoptosis through endoplasmic reticulum stress and mitochondria-dependent pathways in human tongue cancer SCC-4 cells. *Oral Oncol*, 2009, 45: 273-283.
- La Cour B, Molgaard P, Yi Z. Traditional Chinese medicine in treatment of hyperlipidaemia. *J Ethnopharmacol*, 1995, 46: 125-129.
- Circosta C, De Pasquale R, Occhiuto F. Cardiovascular effects of the aqueous extract of *Gynostemma pentaphyllum* Makino. *Phytomed*, 2005, 12: 638-643.
- Wei Q (卫强). Survey of the development and application of *Gynostemma pentaphyllum*. *J Tradit Chin Med* (中兽医医药杂志), 2008, 6: 73-75.