

车前草醇提液降大鼠血尿酸作用的研究

钱莺¹, 傅旭春^{2*}, 白海波³, 扈荣³ (1.浙江大学医学院附属妇产科医院, 杭州 310006; 2.浙江大学城市学院药物研究所, 杭州 310015; 3.杭州华东医药集团生物工程研究所有限公司, 杭州 310012)

摘要:目的 研究车前草醇提液的降血尿酸作用。方法 将大鼠随机分成空白对照组、模型组、别嘌醇组(0.10 g·kg⁻¹·d⁻¹)、车前草醇提液高(生药 8.00 g·kg⁻¹·d⁻¹)、中(生药 2.67 g·kg⁻¹·d⁻¹)、低(生药 0.89 g·kg⁻¹·d⁻¹)剂量组, 采用皮下注射氧嗪酸和灌胃次黄嘌呤建立急性大鼠高尿酸血症模型; 用 HPLC 测定大鼠血清中尿酸含量。结果 与模型组相比, 车前草醇提物高、中、低剂量可显著降低大鼠血尿酸水平($P<0.05$)。结论 车前草醇提物具有降血尿酸的作用。

关键词: 车前草; 血尿酸; 高尿酸血症

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2011)05-0406-03

Hypouricuria Effects of Alcoholic Extract of *Plantaginis Herba* on Rats

QIAN Ying¹, FU Xuchun^{2*}, BAI Haibo³, HU Rong³ (1. *Women's Hospital, School of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310006, China*; 2. *Department of Pharmacy, Zhejiang University City College, Hangzhou 310015, China*; 3. *Hangzhou East China Pharmaceutical Bioengineer Institute Company, Hangzhou 310012, China*)

作者简介: 钱莺, 女, 硕士 Tel: (0571)88014858 E-mail: hzyxqy@126.com
Tel: (0571)88018711 E-mail: fuxc@zucc.edu.cn

*通信作者: 傅旭春, 男, 博士, 教授, 硕导

ABSTRACT: OBJECTIVE To observe the hypouricuria effect of alcoholic extract of *Plantaginis* Herba. **METHODS** Rats were divided into six groups randomly as follows: control group, model group, allopurinol group, alcoholic extract of *Plantaginis* Herba groups (high-dose group, mid-dose group, low-dose group). Rats model of hyperuricemia were established by the subcutaneous injection of oteracil potassium and intragastric administration of hypoxanthine. The level of serum acid was determined by HPLC. **RESULTS** Compared with model group, the high-dose, mid-dose and low-dose medication administration groups could decrease the serum uric acid levels of hyperuricemic rats significantly ($P < 0.05$). **CONCLUSION** *Plantaginis* Herba suggests considerable hypouricuria effect.

KEY WORDS: *Plantaginis* Herba; serum uric acid; hyperuricemia

高尿酸血症是一种嘌呤代谢性疾病, 是血液中尿酸浓度超出正常范围的一种机体状态(一般认为血尿酸 $> 420 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 即 $7 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时为高尿酸血症), 是痛风的前提与生化基础^[1]。车前草又名车前、猪耳草、车轮菜、钱串草等, 为车前科植物车前 *Plantago asiatica* L. 或平车前 *Plantago Willd.* 的干燥全草, 含车前子胶、车前苷、环烯醚萜、苯乙酰咖啡酰糖酯、三萜类等主要成分, 具有清热利尿通淋, 祛痰、凉血、解毒的功效, 用于热淋涩痛, 水肿尿少, 暑湿泄泻, 痰热咳嗽, 吐血衄血, 痈肿疮毒^[2]。有研究报道, 车前草乙醇提取物可抑制马肾脏 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活性, 促进水、氯化钠、尿素与尿酸的排泄^[3]; 车前草注射液还可引起家犬输尿管上端腔内压力增高和输尿管蠕动频率增加, 导致尿量增加, 表明车前草中某些成分有利尿作用^[4]。

迄今为止, 关于车前草治疗痛风及高尿酸血症实验研究的报道较少。本试验采用皮下注射氧嗪酸和灌胃次黄嘌呤建立急性大鼠高尿酸血症模型, 研究车前草醇提液的降血尿酸作用。

1 材料与试剂

1.1 实验动物

60 只 SD 大鼠, ♂, 清洁级, 体重 180~220 g, 由浙江省实验动物中心提供, 实验动物质量合格证号: SCXK(浙)2003-0001。动物饲养于清洁实验室, 自由摄取食物和饮水, 光照与黑暗 12 h 交替, 室温 23~25 °C, 相对湿度 70%。

1.2 药品及试剂

车前草饮片(批号: 20091101, 江西亳州市远光中药饮片厂); 尿酸标准品(纯度: 99%, 批号: 037K0694, Sigma 公司); 氧嗪酸钾(纯度: 97%, 批号: 03610PE, Sigma-Aldrich 公司); 次黄嘌呤(纯度 $> 99\%$, 批号: 20090403, Sigma H-9377 分装, 杭州昊天生物技术有限公司); 别嘌呤醇(纯度:

99%, 批号: 090102, 重庆青阳药业有限公司); 甲醇、乙酸均为分析纯, 乙醇为工业纯。

1.3 仪器

Agilent 1200 高效液相色谱仪(美国安捷伦公司); Rotavapor R-210 旋转蒸发仪(瑞士步琪公司); 64R Centrifuge 高速离心机(美国贝克曼库尔特有限公司); 美国 Millipore RiOs and Elix 纯水仪。

2 实验方法

2.1 车前草醇提液的制备

称取车前草饮片 100 g, 加 10 倍量 60%乙醇回流提取 2 次, 每次 2 h, 滤过, 合并滤液, 旋转蒸发, 至乙醇完全被蒸出后, 用纯水定容至 250 mL, 即配成浓度为生药 $0.40 \text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的车前草醇提液, 备用。

2.2 大鼠急性高尿酸血症模型的建立

将 60 只大鼠随机分成空白对照组、模型组、车前草醇提物高、中、低剂量组和别嘌呤醇对照组, 每组 10 只。除空白对照组外, 其余各组大鼠以 $1 \text{mL}\cdot(100 \text{g})^{-1}$ 的给药剂量灌胃 $50 \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 次黄嘌呤混悬液, 同时以 $0.25 \text{mL}\cdot(100 \text{g})^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 的给药剂量皮下注射 $50 \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的氧嗪酸钾乳剂, 5 h 后再次给予相同剂量的次黄嘌呤混悬液, 连续造模 2 d。空白对照组给予灌服相同体积的纯水和皮下注射相同体积的生理盐水。

2.3 给药方式

在次黄嘌呤灌胃 1 h 后, 给药组用车前草醇提液分别按生药 4.00 、 1.33 和 $0.44 \text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的剂量灌胃给药, 别嘌呤醇组按 $0.05 \text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的剂量灌胃给药, 空白对照组和模型组给予相同体积的纯水, 2 次 $\cdot\text{d}^{-1}$, 连续给药 2 d。于末次给药 3 h 后, 从大鼠眼眶后静脉丛毛细血管取血。

2.4 分析方法

采用 HPLC 测定大鼠血清中尿酸的含量。

2.4.1 血样处理方法

取大鼠血清 0.5mL , 置

37 °C 水浴锅 20 min 后, 3 700 r·min⁻¹ 离心 10 min。取血清 100 μL, 加入 900 μL 甲醇, 涡旋混匀, 10 000 r·min⁻¹ 离心 10 min。取上清液 400 μL, 加入 400 μL 的 0.2% 乙酸水, 涡旋混匀, 过 0.45 μm 滤膜, 进行尿酸含量测定。

2.4.2 色谱条件 色谱柱: phenomenex C₁₈ 柱 (4.6 mm×250 mm, 4 μm); 流动相: 甲醇-0.2% 乙酸水溶液(6:94); 流速: 1 mL·min⁻¹; 柱温: 30 °C; 检测波长: 288 nm; 进样量: 10 μL。用外标法测定。

2.5 数据处理

有关数据的数理统计用单因素方差分析 (one-way ANOVA), 用 SPSS 16.0 软件完成, $P < 0.05$ 为有统计学差异。

3 结果与讨论

3.1 结果

与空白对照组比较, 模型组大鼠血清尿酸含量显著升高 ($P < 0.01$), 显示造模成功; 与模型组比较, 车前草醇提取物高、中、低剂量给药组大鼠的血尿酸水平均显著降低 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$); 高、中、低 3 个给药剂量组之间没有统计学差异。结果见表 1。

表 1 车前草醇提取物对急性高尿酸血症模型大鼠血尿酸水平的影响 ($n=10$, $\bar{x} \pm s$)

Tab 1 Effects of alcoholic extract of *Plantaginis* Herba on the serum uric acid levels of the hyperuricemic rats ($n=10$, $\bar{x} \pm s$)

组别	给药剂量/ g·kg ⁻¹ ·d ⁻¹	血清尿酸水平/ μg·mL ⁻¹
空白对照组	0	4.21±0.92
模型组	0	86.73±13.55 ¹⁾
高剂量组	8.00	67.92±12.55 ²⁾
中剂量组	2.67	61.60±18.11 ²⁾
低剂量组	0.89	68.56±16.49 ³⁾
别嘌呤醇组	0.10	15.45±6.52 ²⁾

注: 与空白对照组比较, ¹⁾ $P < 0.01$; 与模型组比较, ²⁾ $P < 0.01$, ³⁾ $P < 0.05$
 Note: Compared with blank control group, ¹⁾ $P < 0.01$; compared with model group, ²⁾ $P < 0.01$, ³⁾ $P < 0.05$

3.2 讨论

大鼠品系稳定, 易于获得, 饲养方便, 和人类亲缘性较近, 常用于建立高尿酸血症模型^[5-6]。本实验采用皮下注射氧嗪酸钾和灌服次黄嘌呤构建高尿酸血症大鼠模型。次黄嘌呤在大鼠体内水解

产生含氮的有机碱和磷酸, 干扰机体正常的嘌呤代谢, 致使大鼠体内嘌呤代谢紊乱, 从而增加了尿酸的生成; 氧嗪酸钾能有效抑制尿酸的分解, 从而使尿酸在大鼠体内大量积聚。徐立等^[7]用羊毛脂和石蜡油按质量比 3:2 混合的溶剂配制氧嗪酸钾混悬液进行造模, 具有尿酸水平高和维持时间长的特点, 但笔者在预实验中发现用羊毛脂和石蜡油造模易引起大鼠皮下组织化脓性病变。本实验改用吐温 80 和纯水(体积比为 1:9)与氧嗪酸钾一起研磨制成乳剂, 大鼠皮下注射后未引起组织化脓性病变。

目前西药治疗高尿酸血症主要分为抑制尿酸合成药和促进尿酸排泄两类, 前者主要是别嘌呤醇, 后者多用苯溴马龙, 但是这些药物毒副作用大, 患者难以坚持长期治疗^[8]。中药毒副作用小, 具有整体调节、多靶点治疗的特点, 研究开发治疗高尿酸血症的中药, 很有必要。本实验结果表明, 车前草醇提取物可以有效降低高尿酸血症大鼠的血尿酸水平, 在给药剂量按生药 0.89~8.00 g·kg⁻¹·d⁻¹ 之间, 降血尿酸作用没有统计学差异。

REFERENCES

- [1] XIE Y, RAO B X. Hyperuricemia and gout [J]. World J Med Today(世界今日医学杂志), 2005, 6(4): 282-283.
- [2] Ch.P(2010)Vol I (中国药典 2010 年版. 一部) [S]. 2010: 64.
- [3] REN Y J, ZHOU H, YANG Y R, et al. Research situation of plantain [J]. J Anhui Agri Sci(安徽农业科学), 2009, 37(18): 8467-8469.
- [4] LIU X W, WU X S, HUANG H L, et al. Herbalogical study on *Plantago asiatica* L [J]. J Chin Med Mater(中药材), 2002, 25(1): 46-48.
- [5] XU L, SHI L. Establishment of hyperuricemia rat model with different doses of hypoxanthine and oxonic acid potassium salt [J]. Chin J Pharmacol Toxicol(中国药理学与毒理学杂志), 2008, 22(4): 306-310.
- [6] CHE G L, XU S Y. Research progress for animal hyperuricemia model [J]. Chin Pharmacol Bull(中国药理学通报), 2004, 20(4): 369-373.
- [7] XU L, SHI L. Exploratory development of uricase inhibitor for replicating acute animal model of hyperuricemia on rat [J]. Chin J Comp Med(中国比较医学杂志), 2007, 3(17): 142-146.
- [8] ZHU S Y, ZHOU Y D, DU G H. Advances in the study of prevention and treatment of gout drug [J]. Her Med(医药导报), 2006, 25(8): 803-805.

收稿日期: 2010-07-27