

DOI: 10.11830/ISSN.1000-5013.202301006



柏苓颗粒的降尿酸效果 及其初步作用机制

丁飞艳¹, 郑茗冉¹, 吴振², 王立强¹, 侯志勇^{1,3}

(1. 华侨大学 生物医学学院, 福建 泉州 362021;

2. 厦门大学 药学院, 福建 厦门 361102;

3. 中国人民解放军联勤保障部队第962医院, 黑龙江 哈尔滨 150086)

摘要: 将42只雄性大鼠随机分为空白组、模型组、阳性对照组(非布司他组)、柏苓汤剂组及柏苓颗粒高、中、低剂量组,使用氧嗪酸钾灌胃,建立高尿酸血症(HUA)大鼠模型,连续给药14 d,每天1次。采用酶联免疫吸附法测定血清与肝脏黄嘌呤氧化酶(XOD)、腺苷脱氨酶(ADA)活性,血清中尿酸(SUA)、肌酐(Cr)、尿素氮(BUN)水平及肝脏次黄嘌呤鸟嘌呤磷酸核糖转移酶(HGPRT)活性。采用蛋白免疫印迹法测定肾脏中有有机阴离子转运体1(OAT1)及尿酸阴离子转运体1(URAT1)蛋白的相对表达水平。结果表明:与模型组相比,柏苓颗粒可显著降低SUA水平、XOD和ADA活性,趋势呈剂量依赖性;所有组别大鼠的血清Cr和BUN浓度及肝脏HGPRT活性无统计学意义;柏苓颗粒高剂量组能极显著抑制URAT1蛋白相对表达水平并上调OAT1蛋白的相对表达水平,作用与柏苓汤剂组和非布司他组相当。

关键词: 柏苓颗粒; 高尿酸血症; 黄嘌呤氧化酶; 有机阴离子转运体1

中图分类号: R 971.1

文献标志码: A

文章编号: 1000-5013(2023)05-0615-07

Effect of Bailing Granules on Reducing Uric Acid and Its Preliminary Action Mechanism

DING Feiyan¹, ZHENG Mingran¹, WU Zhen²,
WANG Liqiang¹, HOU Zhiyong^{1,3}

(1. School of Biomedical Sciences, Huaqiao University, Quanzhou 362021, China;

2. School of Pharmaceutical Sciences, Xiamen University, Xiamen 361102, China;

3. The 962nd Hospital of the Joint Service Support Force of the Chinese People's Liberation Army, Harbin 150086, China)

Abstract: 42 male rats were randomly divided into blank group, model group, positive control group (febuxostat group), Bailing decoction group and high, medium and low dose groups of Bailing granules. The rat model of hyperuricemia (HUA) was established by intragastric administration of potassium oxonate once a day for 14 days. Activities of xanthine oxidase (XOD) and adenosine deaminase (ADA) in serum and liver, levels of serum uric acid (SUA), creatinine (Cr) and urea nitrogen (BUN) in serum and the activity of hypoxanthine guanine phosphoribosyltransferase (HGPRT) in liver were measured by enzyme linked immunosorbent assay method. The relative protein expression levels of organic anion transporter 1 (OAT1) and uric acid anion transporter 1 (URAT1) in the kidney were determined by protein immunoblotting method. The results show

收稿日期: 2023-01-06

通信作者: 王立强(1970-),男,教授,博士,主要从事药理学和创新药物研发的研究. E-mail: wlq1599@163.com.

基金项目: 国家重点研发计划项目(2016YFF0101700); 福建省高校产学研合作重大项目(2019Y4007)

that, compared with model group, Bailing granules can significantly reduce SUA level, XOD and ADA activities, and the trend is dose-dependent. There are no statistical significance in concentration of Cr and BUN in serum and the activity of HGPRT in liver among all groups of rats. The high-dose group of Bailing granules can significantly inhibit the relative expression level of URAT1 protein and up-regulate the relative expression level of OAT1 protein, which are equivalent to that of Bailing decoction group and febuxostat group.

Keywords: Bailing granules; hyperuricemia; xanthine oxidase; organic anion transporter 1

血清尿酸盐浓度过高是痛风发生的最重要因素,人的血尿酸饱和阈值是 $0.408\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$,临床诊断的高尿酸血症(HUA)即血尿酸浓度达到或超过饱和阈值.当血尿酸浓度持续超过饱和阈值,且没有及时治疗时,血浆中会析出尿酸钠晶体,高尿酸血症会进一步导致慢性痛风^[1].在中药复方治疗 HUA 的应用中,不仅可以通过辨证下药给患者提供多元化治疗选择,而且配伍加减可以在很大程度上增强治疗效果,减少可能存在的副作用^[2-3].柏苓汤剂是国内医院院内制剂,全方由黄柏、苍术、土茯苓、薏苡仁、鸡血藤、忍冬藤、甘草与牛膝组成,黄柏、苍术清湿热、除实火为君药,薏苡仁、土茯苓祛湿除痹为臣药,忍冬藤、鸡血藤祛风通络、清热活血为佐药,甘草、牛膝补益肝肾为使药.全方共奏祛风除湿、退痹通络之效,是治疗 HUA 与急性痛风性关节炎的复方制剂.为改善柏苓汤剂的应用性,本文对柏苓颗粒的降尿酸效果及其初步作用机制进行研究.

1 实验材料

1.1 实验试剂

柏苓颗粒(实验室自制);氧嗪酸钾(上海市颀心实验室生产);非布司他(浙江省杭州市朱养心药业有限公司);黄嘌呤氧化酶(XOD)试剂盒、腺苷脱氨酶(ADA)检测试剂盒、尿酸(SUA)试剂盒、肌酐(Cr)试剂盒、尿素氮(BUN)试剂盒(江苏省南京市建成科技有限公司);羧甲基纤维素钠(安徽省淮南市山河药辅有限公司);乙醚(上海市国药集团);质量分数为 10%的水合氯醛、次黄嘌呤鸟嘌呤磷酸核糖转移酶(HGPRT)试剂盒、有机阴离子转运体 1(OAT1)抗体、尿酸阴离子转运体 1(URAT1)抗体(广东省深圳市华诺生物科技有限公司);二喹啉甲酸(BCA)试剂盒、放射免疫沉淀(RIPA)裂解液(强)、5×蛋白上样缓冲液、增强型化学发光(ELC)试剂盒(河南省郑州市普利莱生物科技有限公司);快速 SDS-PAGE 凝胶制备试剂盒、脱脂奶粉、辣根过氧化物酶(HRP)标记的二抗(北京市庄盟国际生物基因科技有限公司).

1.2 实验仪器

TGL-16 型台式高速冷冻离心机(上海市亚速旺公司);InfiniteM 200 型多功能酶标仪(瑞士帝肯公司);DYY-74 型电泳仪(北京市六一仪器厂);LC-SFJ-10 型手持式高速匀浆机(上海市力辰邦西仪器科技有限公司);凝胶成像仪(北京市大龙仪器有限公司).

1.3 实验动物

SPF 级雄性 SD 大鼠质量为 $(200\pm 20)\text{ g}$ (福建省福州市吴氏实验动物贸易有限公司),许可证号为 SCXK(京)2019-0008.

2 实验方法

2.1 溶液的配制

柏苓颗粒的人用剂量为 $70.00\text{ g}\cdot\text{d}^{-1}$,大鼠临床等效剂量为 $6.30\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (根据体表面积等效剂量折算表^[4]),柏苓颗粒高、中和低剂量组剂量分别按大鼠临床等效剂量的 4、2 和 1 倍进行设置,分别为 $25.20,12.60,6.30\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$.氧嗪酸钾与非布司他不溶于水,均使用质量分数为 1.2%(称取 6.00 g 羧甲基纤维素钠,加热搅拌溶解于 500 mL 蒸馏水)的羧甲基纤维素钠溶液制成混悬液给药.称取 3.00 g 氧嗪酸钾,溶于 100 mL 的羧甲基纤维素钠溶液,制得氧嗪酸钾混悬液,以 $0.30\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量给药.将非布司他研碎成细粉末,称取 0.18 g 非布司他粉末.溶于 500 mL 的羧甲基纤维素钠溶液,制得非布司他混悬液,以 $0.0036\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量给药.所有药物均当天现配.

2.2 分组与造模给药

将 42 只雄性大鼠随机分为 7 组，分别为空白组、模型组、阳性对照组（非布司他组）、柏苓汤剂组、柏苓颗粒高、中、低剂量组。大鼠 HUA 模型建立如下：给空白组大鼠灌胃蒸馏水，其余各组大鼠灌胃氧嗪酸钾混悬液，每天给药 1 次，连续造模 10 d；最后一次灌胃 1 h 后，使用乙醚麻醉，对眼眶进行采血并检测 SUA 浓度；统计分析后，确定造模成功，即所有模型组大鼠的 SUA 浓度与空白组大鼠的差异有统计学意义($P<0.05$)，停止造模并开始给药；给空白组和模型组大鼠灌胃蒸馏水，给其余实验组大鼠灌胃相应剂量的药物，每天给药 1 次，连续 14 d。

2.3 状况的观察

从实验造模开始，在第 1,10,17,24 天称取大鼠的体质量，同时观察大鼠的活动、行为状态，饮食饮水量及尿液粪便排泄情况。

2.4 血清尿酸浓度的测定

造模第 10 d，给大鼠灌胃氧嗪酸钾 1 h 后，使用乙醚麻醉，采用 0.05 mm 毛细管取 1 mL 的眼眶血，常温条件下静置 2 h，析出血清，于 $3\,500\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 低速离心 10 min($4\text{ }^{\circ}\text{C}$)，分离得到血清，参照 SUA 试剂盒说明，每个样本设置 3 个复孔，平行测定 3 次血清给药前 SUA 浓度并取平均值。

末次分组灌胃给药后，各组大鼠禁食不禁水过夜，按大鼠体质量每 100 g 腹腔注射水合氯醛 1 mL 进行麻醉，心脏取血后，静置 2 h，于 $3\,500\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 低速离心 10 min($4\text{ }^{\circ}\text{C}$)，分离得到血清，参照 SUA 试剂盒说明，将每个样本设置 3 个复孔，平行测定 3 次血清给药后 SUA 浓度并取平均值。

2.5 血清 ADA 和 XOD 活性的测定

参照 ADA 和 XOD 试剂盒说明，每个样本设置 3 个复孔，平行测定 3 次血清 ADA 和 XOD 活性并取平均值。

2.6 肝脏 ADA,XOD 与 HGPRT 活性的测定

将肝组织用磷酸缓冲盐溶液(PBS 缓冲液)洗去表面血渍，将肝组织与质量分数为 0.9%生理盐水按质量体积比为 1:9 的比例进行混合，在冰上充分匀浆，于 $3\,500\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 分离两次，每次 5 min。取上清液，参照 XOD,ADA 与 HGPRT 试剂盒说明，分别测定肝组织上清液 OD 值，每个样本设置 3 个复孔，平行测定 3 次肝脏给药后 XOD,ADA 与 HGPRT 活性并取平均值。

2.7 血清 Cr 和 BUN 浓度的测定

参照肌酐(Cr)与尿素氮(BUN)试剂盒说明，每个样本设置 3 个复孔，分别平行测定 3 次血清 Cr 和 BUN 浓度并取平均值。

2.8 肾脏 OAT1 和 URAT1 蛋白相对表达水平的测定

将肾组织与裂解液按质量体积比为 1:10 的比例混合，于冰上裂解，再使用匀浆机进行间隔 10 s 匀浆 3~5 s 的处理，充分裂解 30 min，置于 $3\,500\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ ($4\text{ }^{\circ}\text{C}$)条件下离心两次，每次 5 min，取上清液匀浆蛋白，总蛋白质量浓度使用 BCA 试剂盒测定。将各样品与蛋白上样缓冲液按质量体积比为 4:1 的比例混匀，煮沸 10 min，变性后，放于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存。按照凝胶制备试剂盒的使用说明制胶，并以 $120\text{ }\mu\text{g}$ 蛋白上样量进行蛋白凝胶电泳，并采用湿转法进行转膜。使用质量分数为 5%的脱脂奶粉室温封闭膜 1 h，加入一抗，于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下孵育过夜；再次洗膜后，加入 HRP 标记的二抗充分覆盖膜表面，室温孵育 1 h；最后，使用 ECL 进行发光显影，用 ImageJ 软件分析各目标条带的灰度值并进行统计分析，使用 β -actin 作为内参蛋白，观察并计算各组 OAT1 和 URAT1 蛋白相对表达水平。

2.9 统计学处理

用 SPSS 20.0 软件统计并分析数据，数据结果以($\bar{x}\pm s$)表示，组间数据比较使用单因素方差分析， $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 实验结果与分析

3.1 大鼠状况

实验过程中，各组大鼠行为活泼，反应迅速，精神良好，毛发光洁干燥，进食、饮水量保持正常。造模期间，所有大鼠粪便软硬程度适中，除空白组外，灌胃氧嗪酸钾的大鼠尿液偏黄，尿液增多。在给药期间，

所有大鼠粪便软硬程度适中,除模型组大鼠尿液偏黄外,其他组大鼠尿液颜色正常.实验期间,所有大鼠体质量有所增长.大鼠体质量的变化情况,如图 1 所示.图 1 中: m 为大鼠质量; t 为天数;高、中、低剂量组分别为柏苓颗粒高、中、低剂量组.由图 1 可知:在同一时间内,与空白组相比的模型组、非布司他组、柏苓汤剂组及柏苓颗粒高、中、低剂量组大鼠体质量差异不具有统计学意义($P>0.05$),说明各实验组用药对大鼠的生存状况没有明显影响.

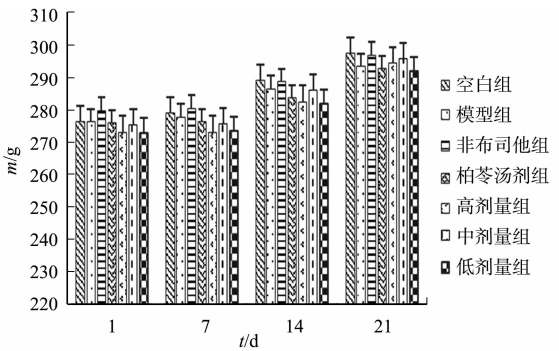


图 1 大鼠体质量的变化情况
Fig. 1 Changes in body mass of rats

3.2 柏苓颗粒对给药前后血清尿酸浓度的影响

各组大鼠给药前、后血清 SUA 浓度,如表 1 所示.
表 1 中: n 为大鼠数量; c_0 (SUA)为给药前 SUA 浓度; c_1 (SUA)为给药后 SUA 浓度.

表 1 各组大鼠的给药前、后血清 SUA 浓度($\bar{x}\pm s$)

Tab. 1 Concentration of SUA in serum of each group of rats before and after administration ($\bar{x}\pm s$)			
组别	n	c_0 (SUA)/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	c_1 (SUA)/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$
空白组	6	73.89 \pm 13.91	78.07 \pm 8.83
模型组	6	423.35 \pm 65.39 ^{##}	116.81 \pm 13.12 ^{##}
非布司他组	6	422.72 \pm 71.9 ^{##}	86.86 \pm 16.56 ^{**}
柏苓汤剂组	6	383.86 \pm 56.58 ^{##}	89.28 \pm 12.21 [*]
柏苓颗粒低剂量组	6	381.74 \pm 44.73 ^{##}	89.08 \pm 12.08 [*]
柏苓颗粒中剂量组	6	390.87 \pm 34.28 ^{##}	88.79 \pm 11.31 ^{**}
柏苓颗粒高剂量组	6	403.82 \pm 59.52 ^{##}	88.21 \pm 12.82 ^{**}

注:与空白组比较,^{##}表示 $P<0.01$;与模型组比较,^{*}表示 $P<0.05$,^{**}表示 $P<0.01$.
由表 1 可知:经氧嗪酸钾灌胃造模的其他组大鼠血清尿酸极显著高于空白组大鼠,说明 HUA 模型建立成功;模型组大鼠血清 SUA 浓度极显著高于空白组大鼠,说明结果有意义,具有参考价值;非布司他组大鼠及柏苓颗粒高、中剂量组大鼠的给药后 SUA 浓度极显著低于模型大鼠,柏苓汤剂组大鼠与柏苓颗粒低剂量组大鼠的给药后 SUA 浓度显著低于模型组大鼠,柏苓颗粒剂组大鼠的给药后 SUA 浓度呈剂量性降低趋势,说明柏苓颗粒与柏苓汤剂都具有显著的降尿酸效果,且高、中剂量柏苓颗粒的降尿酸效果比柏苓汤剂更显著,与非布司他相当.

3.3 柏苓颗粒对血清 XOD 和 ADA 活性的影响

各组大鼠的给药后血清 XOD 与 ADA 活性,如表 2 所示.表 2 中: z_s (XOD)/ $\text{nkat}\cdot\text{L}^{-1}$ 为给药后血清 XOD 活性; z_s (ADA)/ $\text{nkat}\cdot\text{L}^{-1}$ 为给药后血清 ADA 活性.

表 2 各组大鼠的给药后血清 XOD 与 ADA 活性($\bar{x}\pm s$)

Tab. 2 Activity of XOD and ADA in serum of each group of rats after administration ($\bar{x}\pm s$)			
组别	n	z_s (XOD)/ $\text{nkat}\cdot\text{L}^{-1}$	z_s (ADA)/ $\text{nkat}\cdot\text{L}^{-1}$
空白组	6	6.04 \pm 0.10	10.50 \pm 0.50
模型组	6	7.10 \pm 0.16 ^{##}	15.32 \pm 0.94 ^{##}
非布司他组	6	6.26 \pm 0.28 ^{**}	15.17 \pm 0.56
柏苓汤剂组	6	6.28 \pm 0.34 ^{**}	12.7 \pm 0.43 ^{**}
柏苓颗粒低剂量组	6	6.78 \pm 0.23 [*]	14.23 \pm 0.59 [*]
柏苓颗粒中剂量组	6	6.23 \pm 0.19 ^{**}	12.94 \pm 0.71 ^{**}
柏苓颗粒高剂量组	6	6.12 \pm 0.14 ^{**}	10.84 \pm 0.45 ^{**}

由表 2 可知:模型组大鼠的血清 XOD 和 ADA 活性极显著高于空白组大鼠,非布司他组大鼠的血清 XOD 活性的影响对比模型组大鼠极显著下降,而对血清 ADA 无明显影响;柏苓汤剂组、柏苓颗粒高、中剂量组大鼠的血清 XOD,ADA 活性对比模型组大鼠极显著下降,柏苓颗粒低剂量组大鼠的血清 XOD,ADA 活性显著下降,说明柏苓颗粒能显著抑制血清 XOD 和 ADA 活性.

3.4 柏苓颗粒对肝脏 XOD,ADA 和 HGPRT 活性的影响

各组大鼠的给药后肝脏 XOD, ADA 与 HGPRT 活性,如表 3 所示.表 3 中: z_1 (XOD)为给药后肝脏 XOD 活性; z_1 (ADA)给药后肝脏 ADA 活性; z_1 (HGPRT)为给药后肝脏 HGPRT 活性.

表 3 各组大鼠的给药后肝脏 XOD, ADA 与 HGPRT 活性($\bar{x}\pm s$)
Tab. 3 Liver XOD, ADA, and HGPRT activity in each group of rats after administration ($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	z_1 (XOD)/nkat·L ⁻¹	z_1 (ADA)/nkat·L ⁻¹	z_1 (HGPRT)/nkat·L ⁻¹
空白组	6	421.81±32.87	0.38±0.01	0.56±0.02
模型组	6	513.92±15.29 ^{##}	0.48±0.01 ^{##}	0.54±0.02
非布司他组	6	405.39±29.06 ^{**}	0.48±0.01	0.54±0.02
柏苓汤剂组	6	442.59±30.97 ^{**}	0.43±0.01 ^{**}	0.54±0.03
柏苓颗粒低剂量组	6	479.46±20.11 ^{**}	0.44±0.01 ^{**}	0.54±0.02
柏苓颗粒中剂量组	6	444.93±13.22 ^{**}	0.43±0.01 ^{**}	0.55±0.02
柏苓颗粒高剂量组	6	394.47±26.13 [*]	0.39±0.01 ^{**}	0.56±0.02

由表 3 可知:模型组大鼠的肝脏 XOD 和 ADA 活性极显著高于空白组大鼠,其中,非布司他组、柏苓颗粒高、中剂量组大鼠的肝脏 XOD 活性对比模型组大鼠极显著下降,柏苓颗粒低剂量组大鼠的肝脏 XOD 活性显著下降;除非布司他组大鼠外,其他给药组大鼠的肝脏 ADA 活性均极显著低于模型组大鼠;模型组大鼠的肝脏 HGPRT 活性较空白组大鼠有下降趋势,但无统计学意义,柏苓颗粒组大鼠的肝脏 HGPRT 活性有呈剂量上升趋势,但与模型组大鼠相比,无统计学意义,说明柏苓颗粒能显著降低 XOD 与 ADA 活性,对 HGPRT 活性无明显影响.因此,柏苓颗粒对嘌呤代谢酶具有选择性,而 XOD 与 ADA 是其主要作用靶点,降尿酸作用也与 XOD,ADA 作用靶点有一定相关性.

3.5 柏苓颗粒对 BUN 和 Cr 浓度的影响

BUN 和 Cr 是评估肾功能的两个指标,能反映肾小球的滤过率,当肾小球滤过功能损坏,肾功能降低时,血清 BUN 和 Cr 浓度会异常升高.各组大鼠的血清 BUN 和 Cr 浓度,如图 2 所示.图 2 中: c (BUN)为 BUN 浓度; c (Cr)为 Cr 浓度.由图 2 可知:各组大鼠的血清 BUN 和 Cr 的浓度差异无统计学意义,说明氧嗪酸钾造模方法不会损害大鼠肾脏,以及柏苓颗粒与柏苓汤剂对 HUA 大鼠无肾损伤,安全性良好.

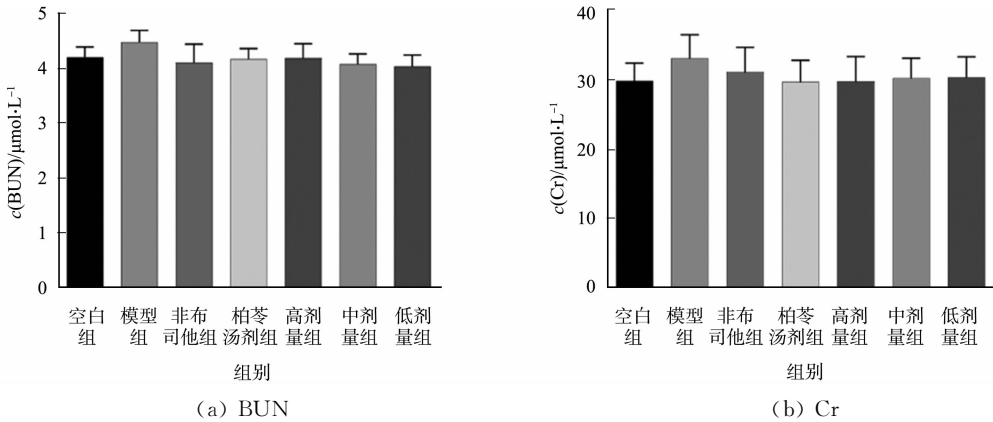


图 2 各组大鼠的血清 BUN 和 Cr 浓度
Fig. 2 Concentrations of BUN and Cr in serum of each group of rats

3.6 柏苓颗粒对 OAT1 和 URAT1 蛋白相对表达水平的影响

OAT1 和 URAT1 蛋白免疫印迹条带图,如图 3 所示.各组大鼠的肾脏 OAT1 与 URAT1 蛋白相对表达水平,如图 4 所示.由图 4 可知:高剂量柏苓颗粒与非布司他、柏苓汤剂对比模型组能极显著上调肾脏 OAT1 蛋白相对表达水平,中剂量柏苓颗粒能显著上调 OAT1 蛋白相对表达水平,低剂量柏苓颗粒对 OAT1 蛋白相对表达水平的影响不显著;对比模型组,高、中剂量柏苓颗粒与柏苓汤剂均有极显著抑制效果,非布司他与低剂量柏苓颗粒对 URAT1 相对表达水平均无统计学意义.因此,高剂量柏苓颗粒对 OAT1 和 URAT1 蛋白相对表达水平的影响与柏苓汤剂相当,其促进尿酸排泄机制可能与促进尿酸的分泌与重吸收的 OAT1 及 URAT1 蛋白有关.

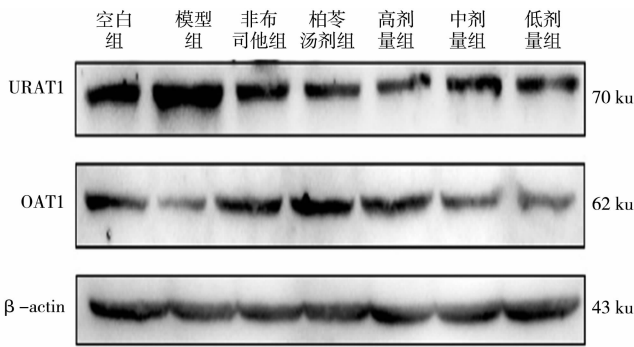
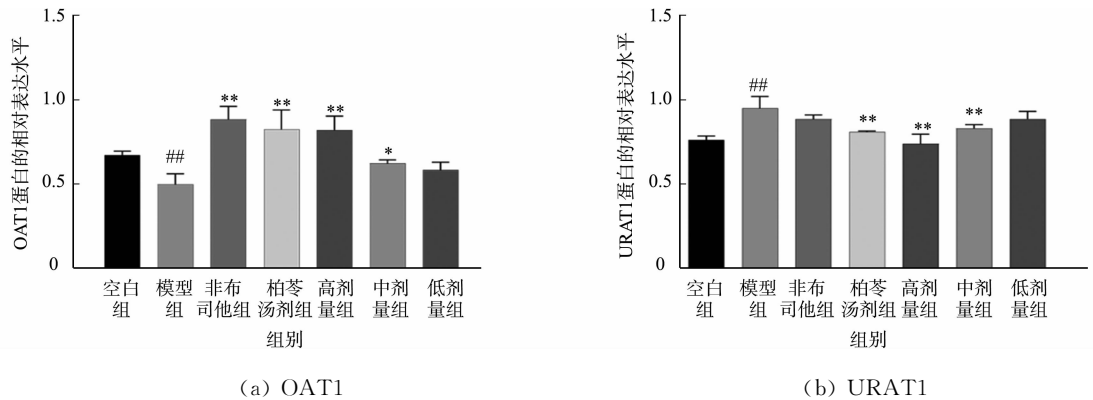


图 3 OAT1 和 URAT1 蛋白免疫印迹条带图

Fig. 3 Western blot band diagram of OAT1 and URAT1 proteins



(a) OAT1 (b) URAT1

图 4 各组大鼠的肾脏 OAT1 与 URAT1 蛋白相对表达水平

Fig. 4 Relative expression levels of proteins of OAT1 and URAT1 in kidneys of each group of rats

4 结论

氧嗪酸钾作为尿酸酶的竞争性抑制剂,它能结合大鼠体内的尿酸酶并显著降低尿酸酶活性,从而阻碍尿酸分解.采用灌胃氧嗪酸钾持续 10 d,建立 HUA 模型,效果显著.但由于后续 14 d 的给药期间停止造模,除空白组外其他组大鼠血尿酸都有所下降,说明结果有意义,具有参考价值.

肝脏是嘌呤合成及回收的主要部位,嘌呤碱基在肝脏中可直接合成产生尿酸的原料(嘌呤核苷酸).催化嘌呤分解代谢的酶主要分为抑制尿酸合成酶与促进尿酸合成酶两类,HGPRT 是肝脏中一种抑制尿酸的生成的主要代谢酶,能促进鸟嘌呤与次黄嘌呤回收,防止嘌呤碱滞留^[5].HGPRT 参与嘌呤回收过程并控制尿酸的合成,HGPRT 质量分数升高,可增加嘌呤碱回收量,进而减少尿酸合成的机会,相反地,HGPRT 质量分数减少,嘌呤碱回收减少,尿酸合成的原料增多,血尿酸水平亦随之升高.ADA 和 XOD 是嘌呤代谢过程中促尿酸合成的关键酶,分别限制着腺嘌呤与黄嘌呤形成尿酸的速率,其活性越高,尿酸合成水平随之升高.HGPRT,ADA 与 XOD 的活性相对反应了鸟嘌呤、腺嘌呤与次黄嘌呤代谢生成尿酸的情况.柏苓颗粒对肝脏 HGPRT 浓度无显著影响,而抑制了 ADA 这一合成尿酸前产物次黄嘌呤核苷的关键酶活性,以及抑制了生成尿酸的 XOD 的活性,说明柏苓颗粒降尿酸的靶点可能与抑制 XOD 与 ADA 活性有关,而与 HGPRT 无关.

除了抑制尿酸生成的关键酶外,增加尿酸的排泄量是另一降尿酸的途径.大部分尿酸盐的排泄需经过肾小管上皮的尿酸重吸收与排泄转运蛋白^[6].OAT1 蛋白是肾脏中一个与尿酸分泌密切相关的蛋白^[7],其相对表达水平增加可促使体内尿酸排出体外,而达到降低尿酸的作用.URAT1 蛋白位于肾脏近曲小管,是介导大部分尿酸重吸收的蛋白,也是目前研究较为广泛的尿酸排泄蛋白^[8].实验主要研究了柏苓颗粒对大鼠肾脏中控制尿酸盐重吸收及排泄的 URAT1 与 OAT1 蛋白的影响.在中医的理论中,湿热是痛风发作的致病因素,而清利湿热的方剂是用药首选,其中,利水祛湿的中药能显著增加尿酸排泄的效果^[2],柏苓颗粒中的土茯苓、薏苡仁都有利水渗湿的功效,能促进尿酸经肾脏排泄,且对肾脏有

一定保护作用^[9-12]。因此,柏苓颗粒降尿酸效果良好,无明显毒副作用,其作用机制与抑制 ADA 与 XOD 的活性及减少 URAT1 蛋白相对表达水平、增加 OAT1 蛋白相对表达水平相关。

参考文献:

- [1] DALBETH N,GOSLING A L,GAFFO A,*et al.* Gout[J]. The Lancet,2021,397(10287):1843-1855. DOI:10.1016/S0140-6736(21)00569-9.
- [2] YU Xianing,WU Haiyan,DENG Yuanping,*et al.* “Yellow-dragon Wonderful-seed Formula” for hyperuricemia in gout patients with dampness-heat pouring downward pattern: A pilot randomized controlled trial[J]. Trials,2018,19(1):1-10. DOI:10.1186/s13063-018-2917-8.
- [3] XI Shijun,SHAO Zhiguo,LI Lu,*et al.* Tongbixiao pills improve gout by reducing uric acid levels and inhibiting inflammation[J]. Dose-Response,2022,20(2):1-11. DOI:10.1177/15593258221090340.
- [4] 赵伟,孙国志.不同种实验动物间用量换算[J]. 畜牧兽医科技信息,2010(5):52-53. DOI:10.3969/J. ISSN. 1671-6027. 2010. 05. 032.
- [5] MAIUOLO J,OPPEDISANO F,GRATTERI S,*et al.* Regulation of uric acid metabolism and excretion[J]. International Journal of Cardiology,2016,213(2):8-14. DOI:10.1016/j.ijcard.2015.08.109.
- [6] JENKINS C,HWANG J H,KOPP J B,*et al.* Review of urate-lowering therapeutics: From the past to the future[J]. Frontiers in Pharmacology,2022,13(1):8-14. DOI:10.3389/fphar.2022.925219.
- [7] MIZUNO N,TAKAHASHI T,IWASE Y,*et al.* Human organic anion transporters 1 (hOAT1/SLC22A6) and 3 (hOAT3/SLC22A8) transport edaravone (MCI-186; 3-methyl-1-phenyl-2-pyrazolin-5-one) and its sulfate conjugate[J]. Drug Metabolism and Disposition,2007,35(8):1429-1434. DOI:10.1124/dmd.106.013912.
- [8] SHI Xiaoyu,ZHAO Tong,DA SILVA JUNIOR S E,*et al.* Novel urate transporter 1 (URAT1) inhibitors: A review of recent patent literature (2020-present)[J]. Expert Opinion on Therapeutic Patents,2022,32(12):1175-1184. DOI:10.1080/13543776.2022.2165911.
- [9] ZHANG Dong,ZHAO Mojiao,LI Yumei,*et al.* Natural xanthine oxidase inhibitor 5-O-Caffeoylshikimic acid ameliorates kidney injury caused by hyperuricemia in mice[J]. Molecules,2021,26(23):1-15. DOI:10.3390/molecules26237307.
- [10] ZENG Yawen,YANG Jiazhen,CHEN Jia,*et al.* Actional mechanisms of active ingredients in functional food adlay for human health[J]. Molecules,2022,27(15):1-25. DOI:10.3390/molecules27154808.
- [11] SUI Yingling,XU Deping,SUN Xiulan. Identification of anti-hyperuricemic components from coix seed[J]. Food Bioscience,2023,52(3):1-11. DOI:10.1016/j.fbio.2023.102461.
- [12] WU Hao,WANG Yu,ZHANG Bing,*et al.* Smilax glabra roxb: A review of its traditional usages, phytochemical constituents, pharmacological properties, and clinical applications[J]. Drug Design, Development and Therapy, 2022,16(1):3621-3643. DOI:10.2147/dddt.s374439.

(责任编辑: 陈志贤 英文审校: 刘源岗)