

菊苣降尿酸有效成分及机制研究

朱春胜¹, 张冰^{2*}, 林志健², 白云飞²

1. 郑州大学第一附属医院, 河南 郑州 450052

2. 北京中医药大学, 北京 100102

摘要: **目的** 初步探讨菊苣降尿酸的有效成分, 并对其降尿酸机制、安全性进行初探。**方法** 迪法克鹌鹑 50 只(雄性), 随机分为 5 组, 即对照组、模型组、苯溴马隆组(20 mg/kg)、混合物大剂量组(菊苣酸、绿原酸、秦皮甲素剂量均为 150 mg/kg)、混合物小剂量组(菊苣酸、绿原酸、秦皮甲素剂量均为 50 mg/kg), 每组 10 只。除对照组喂鹌鹑普通饲料外, 其余各组均给予高嘌呤饲料(普通饲料拌入酵母提取物 15 g/kg)复制高尿酸血症模型。给药 3 周, 动态观察鹌鹑血清尿酸(UA)水平、肝功能指标丙氨酸转氨酶(ALT)和天冬氨酸转氨酶(AST)水平、肾功能指标肌酐(Cr)和尿素氮(BUN)水平、UA 代谢相关酶黄嘌呤氧化酶(XOD)和腺苷脱氨酶(ADA)活性的变化。**结果** 造模期间, 与对照组相比, 第 7~21 天模型组鹌鹑血清 UA 水平显著升高($P < 0.05$); 与模型组相比, 第 7~21 天混合物大、小剂量组鹌鹑血清 UA 水平显著降低($P < 0.05$); 混合物大、小剂量组鹌鹑血清的 ALT、AST、Cr、BUN 水平未显著升高($P > 0.05$), 且各给药组鹌鹑血清 XOD、ADA 活性均显示不同程度的抑制。**结论** 菊苣降尿酸活性成分可能为绿原酸、秦皮甲素、菊苣酸, 安全性较好, 其发挥药效的机制可能与抑制 XOD、ADA 活性有关。

关键词: 菊苣; 高尿酸血症; 绿原酸; 菊苣酸; 秦皮甲素; 黄嘌呤氧化酶; 腺苷脱氨酶

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2017)05-0957-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.05.020

Uric acid-lowering active ingredients and mechanism of *Cichorium intybus*

ZHU Chun-sheng¹, ZHANG Bing², LIN Zhi-jian², BAI Yun-Fei²

1. The First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China

2. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102

Abstract: Objective To investigate the active ingredients of chicory on uric acid-lowering, and make a preliminary study on the safety as well as mechanism of uric acid-lowering. **Methods** Fifty quails were evenly randomized into five groups, namely normal group, model group, benzbromarone (20 mg/kg) group, high-dose and low-dose mixture groups (150, and 50 mg/kg), 10 quails in each group. Except for the normal group, the quails in other groups were given high purine diet (ordinary forage mixed with 15 g/kg of yeast extract powder) to induce hyperuricemia model. And then we observed the changes of UA, ALT, AST, Cr, BUN, XOD, and ADA levels in serum during the treatment. **Results** During the molding period, model group of serum UA level significantly increased ($P < 0.05$) compared with normal group in 7—21 d; Compared with the model group, the serum UA level of high-dose and low-dose mixture groups significantly decreased ($P < 0.05$), ALT, AST, Cr and BUN levels did not significantly increase ($P > 0.05$) in 7—21 d; The XOD and ADA levels showed different degrees of inhibition. **Conclusion** Chlorogenic acid, aesculin, as well as chicoric acid has the effect on lowering serum uric acid level in quail hyperuricemia model, which may be associated with reducing the activities of XOD and ADA levels.

Key words: *Cichorii Herba*; *Cichorii Radix*; hyperuricemia; chlorogenic acid; aesculin; chicoric acid; XOD; ADA

菊苣 *Cichorii Herba*/*Cichorii Radix* 为菊科植物 苣 *Cichorium intybus* L. 的干燥地上部分或根, 其味毛菊苣 *Cichorium glandulosum* Boiss. et Huet. 或菊 微苦、咸, 凉, 具有清肝利胆、健胃消食、利尿消

收稿日期: 2016-09-21

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81403152); 教育部高等学校博士学科点专项科研基金(20130013120001, 20120013130002); 北京中医药大学青年教师专项自主课题(2013-QNJSZX008); 北京中医药大学科研创新团队(2011-CXTD-014)

作者简介: 朱春胜(1987—), 男, 硕士研究生, 研究方向为中药防治代谢性疾病的研究。E-mail: zhuchunsheng6@163.com

***通信作者** 张冰, 医学博士, 教授, 博士生导师, 研究方向为中药防治代谢性疾病的基础与临床研究、中药药性理论实质研究、中药不良反应与警戒理论研究。Tel: (010)64286335 E-mail: zhangbing6@263.net

肿的作用,临床中常用于治疗湿热黄疸、胃痛食少、水肿尿少等症^[1]。菊苣中主要含有酚酸类、香豆素、倍半萜、三萜、多糖、生物碱类成分^[2-3]。现代药理研究表明,菊苣具有降血糖、调血脂、降尿酸、保肝等作用^[4-6]。实验室前期采用谱效关系研究发现菊苣发挥降尿酸的药效成分可能与其含有的绿原酸、秦皮甲素、菊苣酸、异绿原酸 B 和异绿原酸 A 等化学成分有关^[7-8]。然而是否是这些成分起主要作用还未得到验证,因此本实验以绿原酸、秦皮甲素、菊苣酸 3 种单体为对象初步验证谱效关系研究筛选结果的合理性,并对其发挥降尿酸的药效机制和安全性进行考察,初步阐明菊苣发挥降尿酸作用的药效物质基础,同时为菊苣的质量控制提供参考和依据。

1 材料

1.1 药品

绿原酸(质量分数>99%,批号 20150416)、菊苣酸(质量分数>90%,批号 20150317),均购自陕西西安帕尼尔生物科技有限公司;秦皮甲素(质量分数>98%,批号 20150520),购自陕西西安泽邦生物科技有限公司;阳性药苯溴马隆片,德国赫曼大药厂生产,批号 1211945。

1.2 试剂

尿酸(UA)试剂盒(批号 141161),中生北控生物科技股份有限公司;黄嘌呤氧化酶(XOD)试剂盒(批号 20150929)、腺苷脱氨酶(ADA)试剂盒(批号 20150630);天冬氨酸转氨酶(AST)试剂盒(批号 20151009)、丙氨酸转氨酶(ALT)试剂盒(批号 20151010)、尿素氮(BUN)试剂盒(批号 20150915)、肌酐(Cr)试剂盒(批号 20150623),均购自南京建成生物工程研究所;羟甲基纤维素钠(CMC-Na),国药集团化学试剂有限公司;酵母提取物粉末(批号 1267856-03),英国 OXOID 工司。

1.3 仪器与设备

Sunrise 酶标仪,帝肯集团奥地利有限公司;LXJ-II 恒温高速离心机,上海医用分析仪器厂生产;恒温水浴锅,北京医疗设备厂。

1.4 实验动物

雄性迪法克鹌鹑 50 只(38 日龄),体质量(150±10)g,购自北京顺义德岭鹌鹑养殖场。

2 方法

2.1 供试药品溶液的制备

本实验将菊苣酸、绿原酸、秦皮甲素 3 种单体

物质制成混合物供给药使用。分别设 2 个剂量,大剂量菊苣酸、绿原酸、秦皮甲素剂量均为 150 mg/kg,采用 0.4% CMC-Na 溶解;小剂量菊苣酸、绿原酸、秦皮甲素剂量均为 50 mg/kg,采用 0.4% CMC-Na 溶解。

2.2 造模方法

参考文献方法^[9]采用酵母提取物粉末复制鹌鹑高尿酸血症模型。

2.3 动物分组

雄性迪法克鹌鹑 50 只(38 日龄),适应环境 7 d 后,按体质量及尿酸水平随机分为 5 组,每组 10 只,分别为对照组、模型组、苯溴马隆阳性对照组、混合物大剂量组、混合物小剂量组。对照组自由摄取普通鹌鹑饲料,其余各组均予造模饲料(含酵母提取物粉末 15 g/kg)^[9],食后补充普通饲料,自由饮水。阳性组 ig 给予苯溴马隆 20 mg/kg(溶于 0.4% CMC-Na 水溶液),混合物大剂量组、混合物小剂量组分别 ig 给予 150、50 mg/kg 的混合物溶液;对照组和模型组 ig 给予以同体积 0.4% CMC-Na 水溶液,给药体积为 12 mL/kg,各组均每天给药 1 次,实验周期为 21 d。

2.4 检测指标

每周记录鹌鹑体质量,取血前 12 h 禁食不禁水,在实验第 7、14、21 天颈静脉取血,3 000 r/min 下离心 10 min,分离血清,分别按照试剂盒说明方法测定血清中 UA、AST、ALT、BUN、Cr、XOD、ADA 水平。

2.5 数据处理

实验结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示,实验数据用 SPSS 17.0 统计分析软件进行处理,先进行方差齐性检验,两组间均数比较采用 *t* 检验。

3 结果

3.1 各组鹌鹑体质量变化

实验第 7~21 天,与对照组相比,模型组鹌鹑体质量未见显著差异($P>0.05$);与模型组相比,各给药组鹌鹑体质量未见显著差异($P>0.05$)。结果见表 1。

3.2 各组鹌鹑血清 UA 变化

实验第 7~21 天,与对照组相比,在 3 周内模型组鹌鹑血清 UA 水平显著升高($P<0.05$),说明鹌鹑高尿酸血症造模持续成功;与模型组相比,第 14 天,苯溴马隆组鹌鹑血清 UA 显著降低($P<0.05$);第 7~21 天,混合物大剂量、小剂量组鹌鹑

表 1 各组鹌鹑体质量和血清尿酸水平比较 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)Table 1 Comparison on body weight and UA level in serum of quail in each group ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	体质量/g			UA/(μmol·L ⁻¹)		
		第 7 天	第 14 天	第 21 天	第 7 天	第 14 天	第 21 天
对照	—	164.36±11.02	169.97±12.11	174.75±13.17	302.61±76.89	246.13±81.65	295.88±60.28
模型	—	160.26±9.44	165.65±9.86	169.19±9.47	396.37±105.16 [#]	316.70±41.16 [#]	389.32±82.05 [#]
苯溴马隆	20	166.68±10.27	170.47±10.15	172.33±9.38	320.87±89.89	253.77±94.81 [*]	337.73±104.21
混合物	150	166.34±8.43	165.49±11.54	168.90±7.32	298.37±41.51 [*]	249.66±79.39 [*]	287.49±96.06 [*]
	50	162.51±10.63	165.54±10.76	167.59±11.08	301.60±82.09 [*]	240.97±80.30 [*]	287.50±112.26 [*]

与对照组比较: [#] $P < 0.05$, 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$, 下同[#] $P < 0.05$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ vs model group, same as below

血清 UA 均显著低于模型组 ($P < 0.05$); 苯溴马隆组第 7、21 天与模型组比较血清 UA 未见显著差异 ($P > 0.05$)。结果见表 1。

3.3 各组鹌鹑血清 AST 和 ALT 变化

实验第 7~21 天, 与对照组相比, 模型组鹌鹑血清 AST 水平未见显著差异 ($P > 0.05$); 与模型组相比, 第 21 天混合物小剂量组鹌鹑血清 AST 水平显著降低 ($P < 0.05$), 其余各给药组鹌鹑血清 AST 未见显著差异 ($P > 0.05$)。结果见表 2。

实验第 7~21 天, 与对照组相比, 模型组鹌鹑血清 ALT 未见显著差异 ($P > 0.05$); 与模型组相比, 第 14 天, 混合物小剂量组鹌鹑血清 ALT 显著降低 ($P < 0.05$); 其余各给药组鹌鹑血清 ALT 未见显著

差异 ($P > 0.05$)。结果见表 2。

3.4 各组鹌鹑血清 BUN 和 Cr 变化

实验第 7~21 天, 与对照组相比, 模型组鹌鹑血清 BUN 未见显著差异 ($P > 0.05$); 与模型组相比, 各给药组鹌鹑血清 BUN 未见显著差异 ($P > 0.05$)。结果见表 3。

实验第 7~21 天, 与对照组相比, 模型组鹌鹑血清 Cr 未见显著差异 ($P > 0.05$); 与模型组相比, 第 7 天, 苯溴马隆组、混合物小剂量组鹌鹑血清 Cr 显著降低 ($P < 0.05$); 第 14 天, 苯溴马隆组鹌鹑血清 Cr 显著降低 ($P < 0.05$); 其余各给药组鹌鹑血清 Cr 未见显著差异 ($P > 0.05$)。结果见表 3。

表 2 各组鹌鹑血清 AST 和 ALT 水平比较 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)Table 2 Comparison on AST and ALT in serum of quail in each group ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	AST/(U·L ⁻¹)			ALT/(U·L ⁻¹)		
		第 7 天	第 14 天	第 21 天	第 7 天	第 14 天	第 21 天
对照	—	35.34±9.23	30.06±5.85	27.58±5.10	2.69±1.31	2.68±1.59	2.96±1.37
模型	—	42.85±17.81	30.96±4.65	27.31±4.41	3.26±0.74	2.87±1.20	4.20±2.30
苯溴马隆	20	42.25±14.98	33.25±6.56	28.31±2.57	3.20±2.05	2.14±0.97	3.96±1.88
混合物	150	43.80±11.29	31.75±4.90	27.39±2.72	4.14±2.61	2.44±1.10	5.45±3.25
	50	41.19±15.25	29.27±5.58	23.58±3.05 [*]	2.42±2.09	1.46±1.06 [*]	4.26±2.16

表 3 各组鹌鹑血清 BUN 和 Cr 水平比较 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)Table 3 Comparison on BUN and Cr in serum of quail in each group ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	BUN/(mmol·L ⁻¹)			Cr/(μmol·L ⁻¹)		
		第 7 天	第 14 天	第 21 天	第 7 天	第 14 天	第 21 天
对照	—	3.48±1.61	3.05±2.09	3.65±1.97	102.69±24.54	114.07±14.18	112.84±9.53
模型	—	2.70±1.13	2.54±1.26	3.77±1.68	118.79±19.06	115.36±18.54	121.28±17.35
苯溴马隆	20	2.38±1.18	2.18±1.13	3.09±1.57	102.06±16.31 [*]	88.28±12.76 [*]	110.85±19.62
混合物	150	3.77±1.85	2.74±1.83	4.08±2.14	111.98±13.51	125.79±10.90	129.85±19.31
	50	2.92±1.26	1.86±0.66	2.70±2.12	88.74±20.36 [*]	128.49±11.98	117.18±18.81

3.5 各组鹌鹑血清尿酸生成相关代谢酶的变化

实验第 14~21 天, 与对照组相比, 模型组鹌鹑血清 XOD 显著升高 ($P<0.05$); 第 7 天, 模型组鹌鹑血清 XOD 未见显著差异 ($P>0.05$); 与模型组相比, 第 7 天, 混合物大剂量组鹌鹑血清 XOD 显著降低 ($P<0.05$); 第 14 天, 混合物大、小剂量组鹌鹑血清 XOD 显著降低 ($P<0.05$); 第 21 天, 苯溴马隆及混合物大、小剂量组鹌鹑血清 XOD 显著降低 ($P<0.05$); 其余各给药期间鹌鹑血清 XOD

均降低但未见显著差异 ($P>0.05$)。结果见表 4。

实验第 21 天, 与对照组相比, 模型组鹌鹑血清 ADA 显著升高 ($P<0.05$); 第 7~14 天, 模型组鹌鹑血清 ADA 未见显著差异 ($P>0.05$); 与模型组相比, 第 14 天, 苯溴马隆组、混合物大剂量组鹌鹑血清 ADA 显著降低 ($P<0.05$); 第 21 天, 苯溴马隆及混合物大、小剂量组鹌鹑血清 ADA 显著降低 ($P<0.05$); 其余各给药期间鹌鹑血清 ADA 未见显著差异 ($P>0.05$)。结果见表 4。

表 4 各组鹌鹑血清 XOD 和 ADA 活性比较 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 4 Comparison on XOD and ADA activities in serum of quail in each group ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	XOD/(U·L ⁻¹)			ADA/(U·mL ⁻¹)		
		第 7 天	第 14 天	第 21 天	第 7 天	第 14 天	第 21 天
对照	—	3.01±0.58	2.94±0.66	2.43±0.59	17.20± 6.27	16.67±5.30	15.70±4.77
模型	—	3.39±0.41	3.68±0.95 [#]	3.11±0.51 [#]	21.43±10.35	18.48±5.77	20.00±4.53 [#]
苯溴马隆	20	3.07±0.50	3.05±0.86	2.68±0.48 [*]	15.03± 3.18	13.59±4.14 [*]	15.00±3.72 [*]
混合物	150	2.96±0.53 [*]	2.95±0.43 [*]	2.69±0.30 [*]	24.88± 6.48	13.80±2.62 [*]	14.35±2.04 [*]
	50	3.12±0.67	2.80±0.72 [*]	2.49±0.41 [*]	27.02± 6.23	15.43±6.33	12.28±3.87 [*]

4 讨论

近年来, 大量临床研究表明高尿酸血症不仅是痛风的生化中心, 还是 2 型糖尿病、心血管疾病、高血压等疾病的独立危险因素^[10-12], 因此高尿酸血症的预防及治疗亟需解决。目前临床中常用的降尿酸化学药多集中于 2 大类, 一种是通过抑制尿酸生成途径即通过抑制生成途径的关键酶黄嘌呤氧化酶的活性来达到降尿酸药效, 如别嘌呤醇; 另一种是通过促进尿酸排泄即通过促进肾脏对尿酸的排泄达到降尿酸药效, 如苯溴马隆^[13]。药物流行病学研究发现, 以上这些药物虽然作用靶点清晰且降尿酸作用明确, 但长期服用常会出现胃肠道系统损害、皮疹、骨髓抑制和肝肾损害等严重的不良反应^[14-16]。鉴于我国目前临床上使用降尿酸药物治疗的现状, 研究安全有效作用机制清楚的药物势在必行。

本实验结果显示, 在鹌鹑高尿酸血症造模期间, 混合物大、小剂量组鹌鹑在第 7~21 天给药期间均有显著的降尿酸药效 ($P<0.05$), 与阳性药苯溴马隆相比具有更好的持续降尿酸优势。在对肝功能指标 AST、ALT 水平的影响方面, 混合物小剂量组分别在第 21、14 天鹌鹑血清 AST、ALT 水平显著降低 ($P<0.05$), 说明小剂量可能具有保护肝功能的作用; 在对肾功能指标 Cr 水平影响方面, 混

合物小剂量组在第 7 天鹌鹑血清水平出现一过性显著降低 ($P<0.05$), 说明小剂量可能具有保护肾功能的作用。对鹌鹑 UA 代谢相关酶活性影响方面, 与对照组相比, 在第 7~21 天模型组鹌鹑血清 XOD 水平显著升高 ($P<0.05$), 与模型组相比, 给药期间, 混合物大、小剂量组均能显著降低鹌鹑血清 XOD 水平 ($P<0.05$); 在对鹌鹑血清中的 ADA 水平影响方面, 与模型组相比, 各给药组均显示了不同程度的降 ADA 作用, 由此可见混合物大、小剂量组发挥降尿酸药效的机制可能与抑制 XOD、ADA 酶活性有关。

综上所述, 混合物大、小剂量均显示出了持续的降尿酸药效, 同时未出现显著的肝、肾功能损伤, 在降尿酸机制方面, 上述二者发挥降尿酸的机制可能与抑制 XOD、ADA 活性有关。本研究不仅初步揭示了菊苣发挥降尿酸药效的物质基础, 验证谱效关系筛选结果的合理性, 同时也为进一步丰富菊苣的质量控制以及降尿酸药物的深入开发提供依据和参考。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [2] Street R A, Sidana J, Prinsloo G. *Cichorium intybus*: traditional uses, phytochemistry, pharmacology and

- toxicology [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2013, doi.org/10.1155/2013/579319.
- [3] 周俊, 张冰, 林志健, 等. 菊苣药材质量评价的研究进展 [J]. 中医药信息, 2014, 31(3): 154-158.
- [4] 孙博喻, 张冰, 林志健, 等. 菊苣的药理药效研究进展 [J]. 中华中医药学刊, 2015, 33(7): 1577-1579.
- [5] 凡杭, 陈剑, 梁呈元, 等. 菊苣化学成分及其药理作用研究进展 [J]. 中草药, 2016, 47(4): 680-688.
- [6] 龙婷, 高颖, 牛亚军, 等. 菊苣属植物化学成分和药理作用研究进展 [J]. 海峡药学, 2014, 26(6): 1-6.
- [7] Zhu C S, Zhang B, Lin Z J, *et al.* Relationship between high-performance liquid chromatography fingerprints and uric acid-lowering activities of *Cichorium intybus* L. [J]. *Molecules*, 2015, 20(5): 9455-9467.
- [8] 朱春胜, 林志健, 张冰, 等. 菊苣降尿酸作用的谱效关系研究 [J]. 中草药, 2015, 46(22): 3386-3389.
- [9] 张冰, 刘小青, 丁正磊, 等. 鹌鹑高尿酸血症模型发病机理研究 [J]. 北京中医药大学学报, 2006, 29(9): 595-598.
- [10] De Cosmo S, Viazzi F, Pacilli A, *et al.* Serum uric acid and risk of CKD in type 2 diabetes [J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2015, 10(11): 1921-1929.
- [11] Testa A, Prudente S, Leonardis D, *et al.* A genetic marker of hyperuricemia predicts cardiovascular events in a meta-analysis of three cohort studies in high risk patients [J]. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 2015, doi.org/10.1016/j.numecd.2015.08.004.
- [12] Mancia G, Grassi G, Borghi C. Hyperuricemia, urate deposition and the association with hypertension [J]. *Curr Med Res Opin*, 2015, 31(2): 15-19.
- [13] 刘永贵, 赵丽嘉, 崔艳丽, 等. 抗高尿酸血症药物研究进展 [J]. 现代药物与临床, 2015, 30(3): 345-350.
- [14] Lee H Y, Ariyasinghe J T, Thirumoorthy T. Allopurinol hypersensitivity syndrome: A preventable severe cutaneous adverse reaction? [J]. *Singapore Med J*, 2008, 49(5): 384-387.
- [15] Kaufmann P, Török M, Hänni A, *et al.* Mechanisms benzarone and benzbromarone-induced hepatic toxicity [J]. *Hepatology*, 2005, 41(4): 925-935.
- [16] Azevedo V F, Buiar P G, Giovannella L H, *et al.* Allopurinol, Benzbromarone, or a combination in treating patients with gout: Analysis of a series of outpatients [J]. *Int J Rheumatol*, 2014, doi.org/10.1155/2014/263720.