

不同药性成分对 OAT4、URAT1 抑制作用及对急性高尿酸血症小鼠血尿酸水平的影响

王 泽^{1,2}, 慈小燕², 崔 涛¹, 魏滋鸿², 张洪兵³, 刘 睿¹, 李亚卓², 伊秀林^{2,3}, 张铁军³, 谷 元², 武卫党^{2*}, 刘昌孝^{1,2,3*}

1. 天津中医药大学, 天津 300193

2. 天津药物研究院新药评价有限公司, 国家释药技术及药代动力学重点实验室, 天津 300301

3. 天津药物研究院, 天津 300193

摘 要: **目的** 研究不同药性中药成分对尿酸重吸收转运体尿酸转运蛋白 1 (URAT1) 和有机阴离子转运蛋白 4 (OAT4) 的抑制作用及对急性高尿酸血症小鼠尿酸水平的影响。 **方法** 应用 OAT4、URAT1 过表达单克隆细胞株 (MDCK-hOAT4、HEK293-hURAT1), 检测各药性中药单体对 OAT4、URAT1 的抑制作用及半数抑制浓度 (IC₅₀); 运用黄嘌呤联合氧嗪酸钾制备急性高尿酸血症小鼠模型, 研究原儿茶酸、甘草素、异甘草素对急性高尿酸血症小鼠血清尿酸的影响。 **结果** 苦味药中的川陈皮素, 甘味药中的甘草素、异甘草素、甘草查耳酮 A 对 OAT4 抑制作用较强, IC₅₀ 分别是 0.556、18.40、6.831、6.825 μmol/L。酸味药中的原儿茶酸、甘味药中的甘草素对 URAT1 具有较强的抑制作用, IC₅₀ 分别是 7.709、14.540 μmol/L。甘草素能显著降低急性高尿酸血症小鼠的血尿酸水平, 增加尿酸排泄量, 降低血清肌酐、尿素氮的含量。 **结论** 川陈皮素、甘草素、异甘草素、甘草查耳酮 A 对 OAT4 具有较强的抑制作用, 原儿茶酸、甘草素对 URAT1 具有较强抑制作用。甘草素能显著降低急性高尿酸血症小鼠血尿酸水平, 其作用机制可能是抑制 OAT4、URAT1 对尿酸的重吸收, 并具有一定的肾脏保护作用。

关键词: 中药成分; 药性; 尿酸重吸收转运体; 高尿酸血症; 尿酸转运蛋白 1; 有机阴离子转运蛋白 4; 川陈皮素; 甘草素; 异甘草素; 甘草查耳酮 A

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2019)05-1157-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.05.020

Effects of Chinese herb ingredients with different properties on OAT4, URAT1 and serum uric acid level in acute hyperuricemia mice

WANG Ze^{1,2}, CI Xiao-yan², CUI Tao¹, WEI Zi-hong², ZHANG Hong-bing³, LIU Rui¹, LI Ya-zhuo², YI Xiu-lin^{2,3}, ZHANG Tie-jun³, GU Yuan², WU Wei-dang², LIU Chang-xiao^{1,2,3}

1. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

2. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research New Drug Evaluation Research, State Key Laboratory of Drug Release Technology and Pharmacokinetics, Tianjin 300301, China

3. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

Abstract: Objective To study the effects of Chinese herb ingredients with different properties on transporters (URAT1 and OAT4) involved in renal urate reabsorption and serum uric acid level in acute hyperuricemia mice. **Methods** The OAT4, URAT1-overexpressed monoclonal cell line (MDCK-hOAT4, HEK293-hURAT1) was constructed. The inhibition effect and the half maximal inhibitory concentration (IC₅₀) of different ingredients to transport activity of OAT4 and URAT1 mediating ¹⁴C-uric acid were determined. The effects of protocatechuic, liquiritigenin and isoliquiritigenin on serum uric acid levels in acute hyperuricemia mice

收稿日期: 2018-07-17

基金项目: 国家自然科学基金重点项目 (81430096); 国家自然科学基金青年科学基金项目 (81503154); 国家重点研发计划项目 (2016YFE0121400)

作者简介: 王 泽 (1994—), 男, 硕士研究生, 研究方向为中药学。Tel: (022)84845243 E-mail: wangze9452@163.com

***通信作者** 刘昌孝, 中国工程院院士。Tel: (022)23006860 E-mail: liuchangxiao@163.com

武卫党, 助理研究员, 博士。Tel: (022)84845243 E-mail: wuweidang1985@126.com

were studied by the acute hyperuricemia mice induced by potassium oxonate and xanthine. **Results** The results indicated that nobiletin, liquiritigenin, isoliquiritigenin, licochalcone A with bitter flavor showed strong inhibition to OAT4. The IC_{50} of nobiletin, liquiritigenin, isoliquiritigenin, and licochalcone A on OAT4 were 0.556 $\mu\text{mol/L}$, 18.40 $\mu\text{mol/L}$, 6.831 $\mu\text{mol/L}$, and 6.825 $\mu\text{mol/L}$, respectively. Protocatechuic acid and liquiritigenin showed strong inhibition to URAT1 with IC_{50} of 7.709 $\mu\text{mol/L}$ and 14.54 $\mu\text{mol/L}$, respectively. Liquiritigenin can significantly reduce the level of serum uric acid of acute hyperuricemia mice, increase the excretion of uric acid, and reduce the level of serum creatinine and blood urea nitrogen. **Conclusion** Nobiletin, liquiritigenin, isoliquiritigenin and licochalcone A can inhibit the transport activity of OAT4, while protocatechuic acid and liquiritigenin can inhibit the transport activity of URAT1. Liquiritigenin can significantly reduce the level of serum uric acid in acute hyperuricemia mice and protect kidney, the mechanism of which may be associated with the decreasing reabsorption of uric acid by inhibiting the activity of URAT1 and OAT4.

Key words: Chinese herb ingredients; properties; uric acid transporters; hyperuricemia; urate transporter 1; organ anion transporter 4; nobiletin; liquiritigenin; isoliquiritigenin; licochalcone A

尿酸是人体嘌呤代谢的终末产物, 由于人体缺乏尿酸氧化酶, 血液中的尿酸在肾脏中经过肾小球滤过、肾小管和集合管重吸收、分泌及分泌后再吸收后 10% 的尿酸以原型随尿液排泄, 因此长期高嘌呤饮食或尿酸排泄减少是引起高尿酸血症的主要病因^[1]。高尿酸血症不仅会导致尿酸单钠盐结晶在关节和某些组织沉积, 引发痛风, 还与代谢综合征、2 型糖尿病、高血压、心血管疾病、慢性肾病等密切相关^[2]。随着生活水平的不断提高, 我国高尿酸血症患者数量呈现高速增长的趋势, 因此寻找新的治疗靶点从而开发高尿酸治疗药物成为研究热点^[3]。尿酸转运蛋白 1 (URAT1) 和有机阴离子转运蛋白 4 (OAT4) 主要位于肾皮质近曲小管刷状缘上皮细胞的腔管侧, 人体肾小管中大约 90% 以上的尿酸在 URAT1 和 OAT4 的重吸收作用下回到血液, 因此 URAT1 和 OAT4 对人体血尿酸 (SUA) 水平具有重要的调节作用, 是治疗高尿酸血症的重要靶点^[4]。目前降低尿酸水平的策略主要包括抑制黄嘌呤氧化还原酶, 减少尿酸的生成; 抑制肾小管尿酸转运体, 减少尿酸重吸收^[5]。由于高尿酸血症及其合并症为一种慢性发展性疾病, 化学药在取得显著疗效的同时, 也带来了一些不可避免的副作用。因此, 针对这种疾病的特点, 近年来针对“尿酸转运体组”的中药降尿酸作用机制研究得到逐步开展。

中医传统理论认为高尿酸血症以“本虚标实”为主要表现, 本虚可见脾虚, 临床研究还兼有肾虚、气虚、肝肾不足; 标实可见浊毒、湿浊、湿热, 临床研究还兼有瘀血阻滞、痰瘀互结等, 中药中延胡索、白芷、儿茶、陈皮、甘草具有燥湿、健脾、利水、清热、化瘀等功效^[6]。中药现代研究及网络药理学分析也显示, 延胡索、白芷、儿茶、陈皮、甘草中的成分具有抗炎、镇痛、活血等作用^[7-9]。根据

电子鼻及药理学研究结果, 本课题组通过选取苦味药中的延胡索乙素、巴马汀、原阿片碱, 辛味药中的川陈皮素、欧前胡素、异欧前胡素, 酸味药中的没食子酸、原儿茶酸、 β -甘草次酸, 甘味药中的橙皮苷、甘草苷、甘草素、异甘草苷、异甘草素和甘草查耳酮 A^[6], 研究不同药性中药单体对 URAT1、OAT4 的抑制作用, 预测其对尿酸重吸收的影响, 从而考察不同药性成分对 SUA 水平的影响, 探讨其治疗高尿酸血症的可能性。

1 材料

1.1 细胞与动物

人 OAT4 过表达单克隆细胞 (MDCK-hOAT4)、人 URAT1 过表达的细胞 (HEK293-hURAT1)、空白载体转染细胞 (MDCK-Mock、HEK293-Mock) 均由天津药物研究院新药评价有限公司、国家释药技术及药代动力学重点实验室提供。

昆明种小鼠, 雄性, 体质量 25~30 g, 购自北京维通利华实验动物有限公司, 生产许可证号 SCXK (京) 2016-0011。实验前适应环境 1 周, 自由饮水、进食, 每日 12 h 照明, 室温 (25 $\pm$ 2) $^{\circ}\text{C}$ 。

1.2 药物与试剂

杜氏磷酸缓冲液 (DPBS)、胎牛血清 (FBS), Gibco 公司; 二甲基亚砜 (DMSO, Solarbio 公司); 100 $\times$ 青链霉素混合液 (Solarbio 公司); DMEM 培养基 (Hyclone 公司); ^{14}C -尿酸 (^{14}C -uric acid)、UTIMA Gold 闪烁液, PerkinElmer 公司; 延胡索乙素 (质量分数 $\geq$ 98%, 批号 J140303) 购自上海将来试剂有限公司; 原阿片碱 (质量分数 $\geq$ 99.46%, 批号 MUST-15032410)、欧前胡素 (质量分数 $\geq$ 98%, 批号 MUST-15030910)、异欧前胡素 (质量分数 $\geq$ 98%, 批号 MUST-15040214)、橙皮苷 (质量分数 $\geq$ 98%, 批号 MUST-14081916)、川陈皮素 (批号

MUST-15110911)、没食子酸(质量分数 $\geq 98\%$, 批号 MUST-15011211)、原儿茶酸(质量分数 $\geq 98\%$, 批号 MUST-16032112)均购自成都曼思特生物科技有限公司; 甘草苷(质量分数 $\geq 98\%$, 批号 17030801)、甘草素(质量分数 $\geq 98\%$, 批号 17022104)、异甘草苷(质量分数 $\geq 98\%$, 批号 17031204)、异甘草素(质量分数 $\geq 98\%$, 批号 17012503)、甘草查耳酮 A(质量分数 $\geq 98\%$, 批号 17032501)、巴马汀(质量分数 $\geq 98\%$, 批号 110732-200506)均购自中国食品药品检定研究院; β -甘草次酸(批号 1129A022, Solarbio 公司); 黄嘌呤(质量分数 $\geq 98\%$, 批号 AJ0722MA14)、氧嗪酸钾(质量分数 $\geq 98\%$, 批号 R16J7X9072)均购自上海源叶生物科技有限公司; 肌酐试剂盒、尿素氮试剂盒均为南京建成生物工程研究所产品; 苯溴马隆(批号 038F0014V, Sigma 公司)。

1.3 仪器

BS124S 分析天平, 瑞士 Sartorius 公司; HERAcell 150i 二氧化碳培养箱, 美国 Thermo Scientific 公司; Tri-Carb 2910 TR 放射性液体闪烁仪, 美国 Perkin Elmer 公司; TR-2AR Thermal Robo 恒温水槽, 日本亚速旺株式会社; FLE712AA 多孔滤器, 日本 Advantec 公司; 单人超净生物安全柜, 力康生物医疗科技控股有限公司; EA-11 型血糖尿酸测试仪, 三诺生物传感股份有限公司; 752 型紫外-可见光光度计, 上海菁华科技仪器有限公司。

2 方法

2.1 不同药性中药单体成分对 OAT4、URAT1 介导的尿酸跨膜转运活性的影响

MDCK-hOAT4、HEK293-hURAT1、MDCK-Mock、HEK293-Mock 细胞经过复苏和传代培养后, 用胰酶消化使其分散为单细胞悬液, 之后用培养基稀释至 1.5×10^5 个/mL, 将细胞悬液以每孔 1 mL 接种至 24 孔细胞培养板, 在 37°C 、 5% CO_2 、饱和空气湿度(95%)的培养箱内培养 2~3 d 使细胞长满各孔。移去培养板内培养液, 用 DPBS 或者 Hanks (无 Cl^-) 缓冲盐溶液清洗 1 次, 每孔加入 37°C DPBS 缓冲液孵育 10 min, 以 500 μL 含放射性标记的探针底物 ^{14}C -尿酸及 100 $\mu\text{mol/L}$ 各中药单体(延胡索乙素、巴马汀、原阿片碱、川陈皮素、欧前胡素、异欧前胡素、没食子酸、原儿茶酸、 β -甘草次酸、橙皮苷、甘草苷、甘草素、异甘草苷、异甘草素和甘草查耳酮 A) 的缓冲盐溶液置换旧缓冲盐溶

液。给药 2 min 后, 用冷 DPBS 或者 Hanks (无 Cl^-) 缓冲液终止反应, 清洗细胞 3 次, 弃上清, 每孔添加 400 μL 0.1 mmol/L NaOH 裂解细胞^[10-11]。取细胞裂解液于液闪瓶中, 添加 3 mL 的闪烁液, 并用 Tri-Carb 2910 TR 放射性液体闪烁仪测定样品中的放射性强度。

以 500 μL 含放射性标记的探针底物和不同浓度(0、1、3、10、30、100 $\mu\text{mol/L}$) 各中药单体的混合溶液置换 DPBS, 每个浓度设置 3 个复孔, 计算各中药单体对细胞的半数抑制浓度 (IC_{50})。

2.2 不同药性中药单体成分对高尿酸血症小鼠的影响

2.2.1 高尿酸模型的制备 采用尿酸酶抑制剂氧嗪酸钾盐为化学诱导剂, 抑制小鼠体内尿酸分解, 制备小鼠高尿酸血症模型。黄嘌呤用生理盐水配成 15 mg/mL 混悬液, 按照 600 mg/kg 的剂量 ig 给药。氧嗪酸钾盐用生理盐水配成 15 mg/mL 的混悬液, 按照 300 mg/kg 的剂量 ip 给药。模型组及各给药组 ig 黄嘌呤后 ip 氧嗪酸钾盐, 对照组给予相应体积生理盐水。

2.2.2 分组及给药 将 60 只小鼠随机分为 6 组, 每组 10 只, 分别为对照组、模型组、苯溴马隆组(阳性药组)、原儿茶酸组、甘草素组和异甘草素组。对照组和模型组小鼠 ig 给予相应体积的生理盐水。苯溴马隆、原儿茶酸、甘草素、异甘草素用生理盐水溶解, 混匀, 配成 2 mg/mL 溶液, 按照 10 mg/kg ip 给药。各组小鼠给药后 0.5、1.0、1.5、2.0 h 尾静脉取血, 用血糖尿酸测试仪测定 SUA 浓度, 收集尿液测定尿液尿酸浓度。摘眼球取血, 以 3 000 r/min 离心 10 min, 取血清, 参照试剂盒方法测定肌酐、尿素氮浓度。

2.3 数据处理

将仅含放射性标记的探针底物 ^{14}C -尿酸的转运体细胞的转运值设为 U_c (单位为 DPM), 扣除本底组即 Mock 细胞的转运值 U_0 , 即 $(U_c - U_0)$ 定义为 100%。以此为标准计算对照组、抑制剂组、待测化合物组的转运值 U , 相对转运活性 $= (U - U_0) / (U_c - U_0)$ 。每个数值代表 1 个实验组的平均值, 用 Microsoft Excel 2010 软件中统计学公式计算。通过 Prism 5.0 软件计算各成分对各转运体转运活性的 IC_{50} 。各数值间的差异性分析采用 t 检验。

3 结果

3.1 不同药性中药单体成分对 OAT4 介导的尿酸跨膜转运活性的影响

各中药单体对 OAT4 介导的尿酸跨膜转运活性

的影响见图 1。结果表明苦味药中的川陈皮素, 甘味药中的甘草素、异甘草素、甘草查耳酮 A 对 OAT4 的抑制作用相对较强, 能将 OAT4 介导的尿酸跨膜转运活性抑制至 $(18.60 \pm 1.07)\%$ 、 $(39.37 \pm 2.10)\%$ 、 $(2.53 \pm 0.52)\%$ 、 $(16.92 \pm 0.60)\%$ 。川陈皮素、甘草素、异甘草素、甘草查耳酮 A 对 OAT4 抑制作用的 IC_{50} 分别为 3.365 0、5.526 0、1.427 1、3.987 0 $\mu\text{mol/L}$ (图 2)。表明苦味药中的川陈皮素和甘味药中的甘草素、异甘草素、甘草查耳酮 A 对 OAT4 具有较强的抑制作用。

3.2 不同药性中药单体成分对 URAT1 介导的尿酸跨膜转运活性的影响

各中药单体对 URAT1 介导的尿酸跨膜转运活

性的影响见图 3。结果表明原儿茶酸、甘草素对 URAT1 具有较强的抑制作用, 分别能将 URAT1 的跨膜转运活性抑制至 $(36.33 \pm 1.14)\%$ 、 $(53.76 \pm 0.47)\%$ 。不同浓度的原儿茶酸和甘草素对 URAT1 的作用见图 4。原儿茶酸、甘草素对 URAT1 抑制作用的 IC_{50} 分别为 7.709、14.540 $\mu\text{mol/L}$ 。表明酸性药中的原儿茶酸和甘性药中的甘草素对 URAT1 介导的尿酸重吸收具有较强的抑制作用。

3.3 原儿茶酸、甘草素、异甘草素对高尿酸血症小鼠的影响

为了进一步验证各药性中药单体对 SUA 的影响, 通过小鼠高尿酸血症模型考察原儿茶酸、甘草素、异甘草素对小鼠 SUA 的影响, 结果见表 1。与

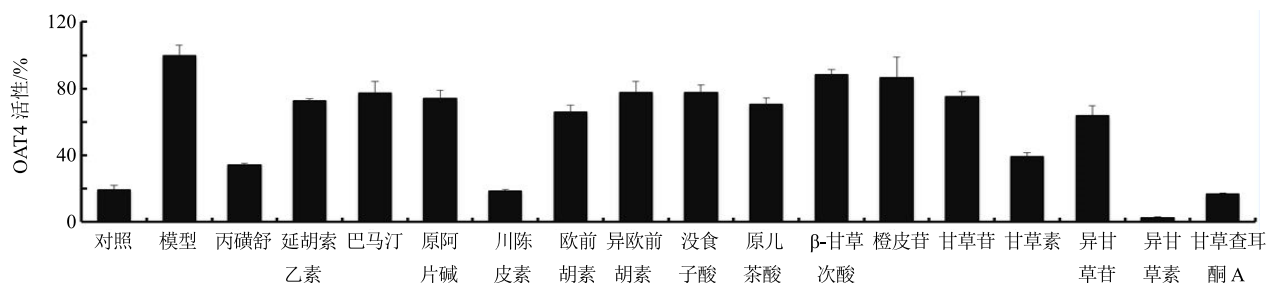


图 1 各中药单体对 OAT4 介导的尿酸跨膜转运活性的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 1 Effects of different compounds on transport activity of OAT4 mediating ^{14}C -UA ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

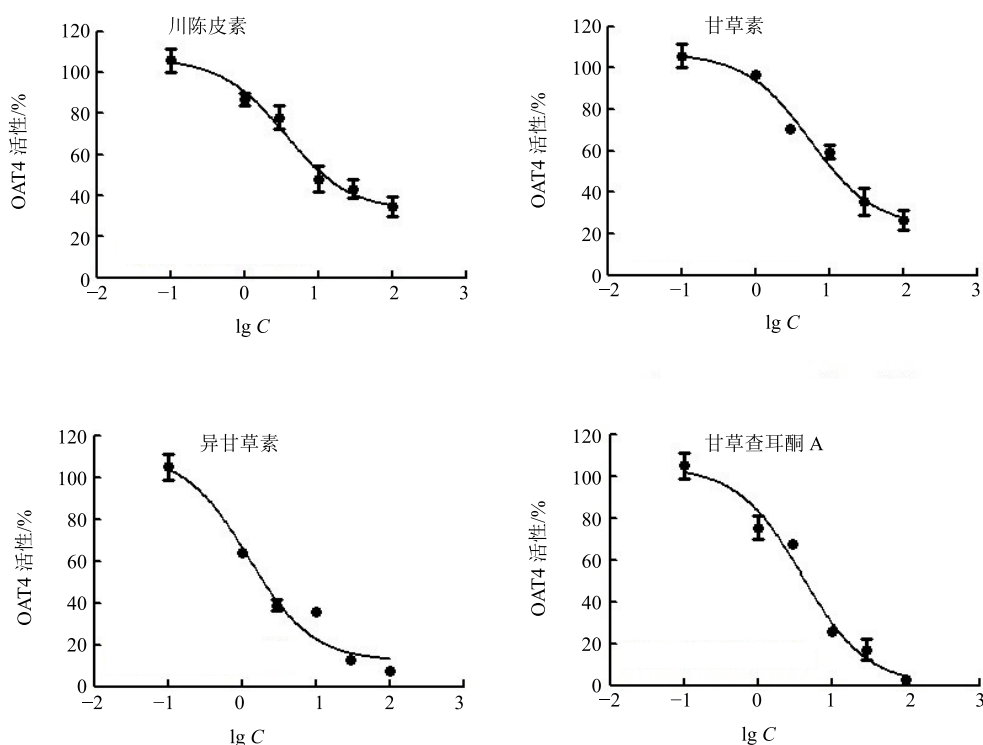


图 2 川陈皮素、甘草素、异甘草素、甘草查耳酮 A 对 OAT4 介导的尿酸跨膜转运活性的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 2 Effects of nobiletin, liquiritigenin, isoliquiritigenin, and licochalcone A on transport activity of OAT4 mediating ^{14}C -UA ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

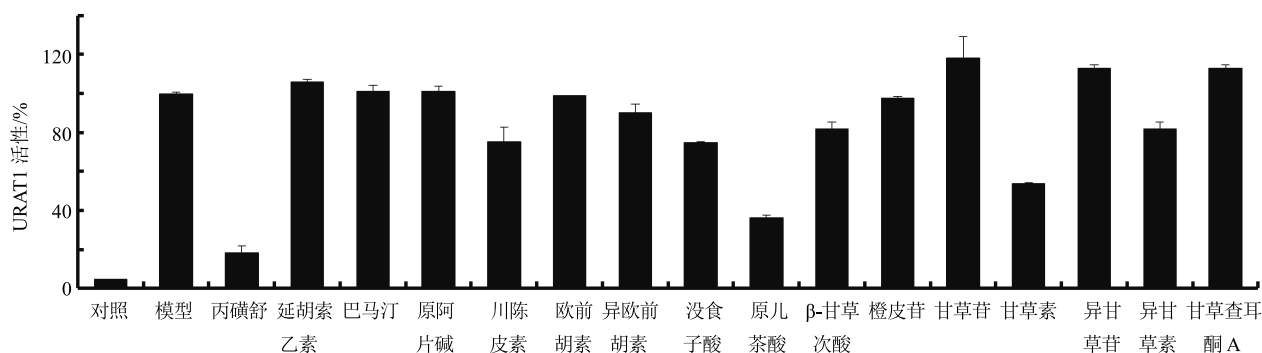


图 3 各中药单体对 URAT1 介导的尿酸跨膜转运活性的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 3 Effects of different compounds on transport activity of URAT1 mediating ^{14}C -UA ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

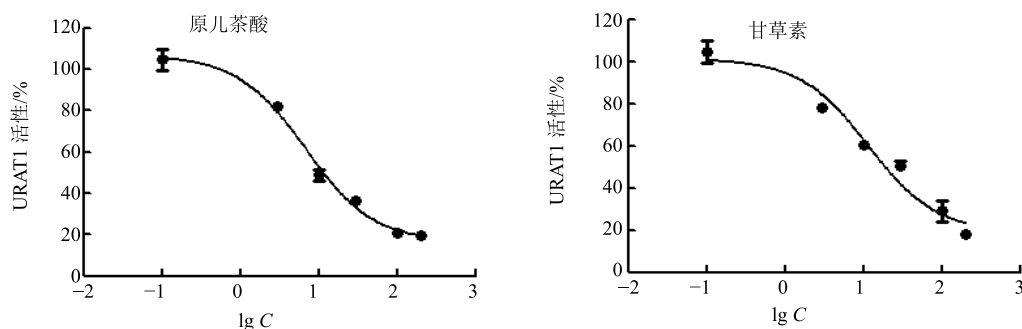


图 4 原儿茶酸和甘草素对 URAT1 介导的尿酸跨膜转运活性的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 4 Effects of protocatechuic acid and liquiritigenin on transport activity of URAT1 mediating ^{14}C -UA ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

表 1 原儿茶酸、甘草素、异甘草素对高尿酸血症小鼠 SUA 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 1 Effects of protocatechuic, liquiritigenin, and isoliquiritigenin on SUA levels in acute hyperuricemia mice ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	SUA/(μmol·L ⁻¹)			
		0.5 h	1 h	1.5 h	2 h
对照	—	205.00±11.08	191.00± 4.57	193.00± 7.35	195.00± 7.63
模型	—	208.00±19.48	327.00±10.25 [#]	378.00±10.03 [#]	276.00±13.50 [#]
苯溴马隆	10	201.00±17.71	280.00± 4.81 [*]	264.00± 2.17 ^{**}	204.00±12.17 [*]
原儿茶酸	10	191.00±14.57	306.00±11.73	327.00±22.09	295.00±31.50
甘草素	10	193.00±18.81	223.00±26.81 ^{**}	239.00±26.03 ^{**}	181.00± 2.10 ^{**}
异甘草素	10	192.00±17.45	321.00±42.55	307.00±32.16	293.00±15.95

与对照组比较: [#] $P < 0.05$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$, 下同

[#] $P < 0.05$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group, same as below

对照组比较, 模型组小鼠在 ip 氧嗪酸钾 2 h 后 SUA 水平显著升高 ($P < 0.05$), 表明高尿酸血症模型制备成功。与模型组比较, 苯溴马隆组、甘草素组小鼠在给药后 0.5、1.0、1.5、2 h, SUA 水平均显著降低 ($P < 0.05$), 表明苯溴马隆、甘草素能够显著降低高尿酸血症小鼠 SUA 水平。而原儿茶酸组、异甘草素组给药后小鼠 SUA 水平无显著变化。

为进一步验证各药性中药单体对尿酸排泄的影响, 对各给药组小鼠的尿酸排泄情况进行了测定, 结果见图 5。与对照组比较, 模型组小鼠尿

酸排泄量在 1.0 h 后显著提高 ($P < 0.05$)。与模型组比较, 苯溴马隆组、甘草素组小鼠在 1.0~1.5 h、1.5~2.0 h 的尿酸排泄量都显著增加 ($P < 0.05$), 且给药后 0~2 h 尿酸总排泄量也显著增加, 表明苯溴马隆、甘草素对促进尿酸排泄具有重要作用。而原儿茶酸、异甘草素组小鼠尿液中总尿酸量无显著增加。

为了评估各药性中药单体对高尿酸血症小鼠肾功能的影响, 对小鼠血清和尿液中肌酐、尿素氮进行了测定, 结果见表 2。与对照组比较, 模型组小鼠

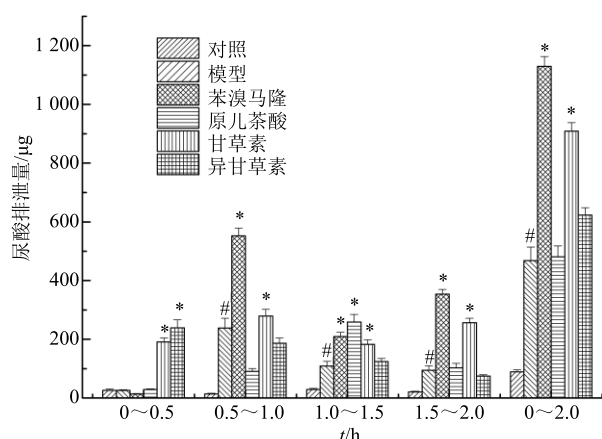


图 5 原儿茶酸、甘草素、异甘草素对高尿酸血症小鼠尿酸排泄量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 5 Effects of protocatechuic, liquiritigenin and isoliquiritigenin on fractional excretion of uric acid levels of hyperuricemia mice ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

表 2 原儿茶酸、甘草素、异甘草素对高尿酸血症小鼠血清中肌酐、尿素氮的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 2 Effect of protocatechuic, liquiritigenin and isoliquiritigenin on level of creatinine, urea nitrogen of hyperuricemia mice ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	血肌酐/ (μmol·L ⁻¹)	血尿素氮/ (μmol·L ⁻¹)
对照	—	89.9 ± 5.33	5.03 ± 1.51
模型	—	104.9 ± 7.53 [#]	7.53 ± 1.24 [#]
苯溴马隆	10	102.4 ± 10.74 [*]	7.08 ± 1.15
原儿茶酸	10	101.7 ± 6.68	5.68 ± 1.29
甘草素	10	92.4 ± 4.48 [*]	1.69 ± 0.27 [*]
异甘草素	10	94.5 ± 6.45 [*]	0.89 ± 0.35 [*]

血清肌酐、尿素氮水平显著升高 ($P < 0.05$), 与模型组比较, 甘草素组和异甘草素组小鼠血清肌酐、尿素氮水平显著降低 ($P < 0.05$)。实验结果表明, 甘草素和异甘草素对高尿酸血症小鼠的肾功能有一定的保护作用。

4 讨论

灵长类在进化过程中, 由于编码尿酸酶的基因发生突变导致尿酸酶缺乏, 故人类 SUA 水平远高于鸟类、爬行及其他携带尿酸酶的物种 (啮齿类)。人体内的尿酸约 2/3 经肾脏排泄, 近端肾小管对尿酸重吸收增加或分泌减少是尿酸排泄减少的主要原因。目前已证实, 90%以上原发性高尿酸血症是因肾近端小管对尿酸的重吸收增加或分泌减少所致。URAT1 和 OAT4 主要位于肾皮质近曲小管的上皮细胞刷状缘, 主要参与尿酸在肾近曲小管的重吸收,

对人体肾脏调节尿酸水平具有重要生理学意义, 是促尿酸排泄药物研究的重要靶点。由于高尿酸血症及其合并症为一种慢性发展性疾病, 患者长期使用化学药会产生一些不可避免的副作用。欧洲临床研究发现, 苯溴马隆有引起爆发性肝炎的风险, 法国、美国也因其不良反应拒绝批准该药上市。作为抗高尿酸血症一线用药的别嘌醇也因致命的过敏反应制约了其在临床的应用^[12]。由于中药多成分、多靶点的特点, 近年来中医药治疗高尿酸血症的研究受到广泛关注, 并取得了一定的成绩, 越来越多的中药降尿酸的作用机制被证实是通过尿酸转运体达到的, 中药调控尿酸转运体已成为研究热点^[13]。中药中不同的药性成分是药物发挥药效作用的物质基础, 但中药在治疗痛风方面存在成分复杂、无法确定功效成分、局限于疗效验证、作用机制研究较浅等不足。本研究从尿酸重吸收机制方面筛选出辛味药中川陈皮素, 甘味药中甘草素、异甘草素、甘草查耳酮 A 对 OAT4 抑制作用较强, 酸味药中的原儿茶酸、甘味药中的甘草素对 URAT1 抑制作用较强, 并进一步研究了原儿茶酸、甘草素、异甘草素对高尿酸血症小鼠 SUA 的影响, 结果表明甘草素能显著降低高尿酸血症小鼠的 SUA 水平, 其机制可能是抑制尿酸转运体 OAT4、URAT1 对尿酸在肾小管处的重吸收, 从而导致尿酸排泄增加, 因此对临床高尿酸血症具有潜在的治疗作用。

高尿酸血症导致机体尿酸水平升高, 易引起肾功能损伤, 使得肌酐、尿素氮排泄障碍, 从而引起机体肌酐、尿素氮水平的升高。本实验结果显示, 模型组、苯溴马隆组、原儿茶酸组小鼠血清肌酐、尿素氮水平都有不同程度的升高, 而甘草素、异甘草素可显著降低高尿酸血症小鼠血清肌酐和尿素氮水平, 提示其对肾功能有保护作用。

参考文献

- [1] Maiuolo J, Oppedisano F, Gratteri S, *et al.* Regulation of uric acid metabolism and excretion [J]. *Inter J Cardiol*, 2016, doi: 10.1016/j.ijcard.2015.08.109.
- [2] Eleftheriadis T, Golfinopoulos S, Pissas G, *et al.* Asymptomatic hyperuricemia and chronic kidney disease: Narrative review of a treatment controversial [J]. *J Adv Res*, 2017, 8(5): 555-560.
- [3] 刘金畅, 王涛. 治疗高尿酸血症药物研发现状与思考 [J]. *天津中医药*, 2017, 34(5): 291-294.
- [4] Burckhardt G. Drug transport by organic anion

- transporters (OATs) [J]. *Pharmacol Therap*, 2012, 136(1): 106-130.
- [5] 尧贵林, 王海勇, 陆涛. 促尿酸排泄药物研究进展 [J]. 中国药科大学学报, 2016, 47(4): 491-496.
- [6] 李琳, 张敏, 李苒, 等. 中药治疗高尿酸血症实验研究进展 [J]. 天津中医药, 2013, 30(3): 190-192.
- [7] 韩彦琪, 孟凡翠, 许浚, 等. 基于网络药理学方法的元胡止痛滴丸治疗原发性痛经的配伍合理性研究 [J]. 中草药, 2017, 48(3): 526-532.
- [8] 李晓芳, 张健康, 王慧鸾, 等. 陈皮的研究进展 [J]. 江西中医药, 2014, 45(3): 76-78.
- [9] 姜雪, 孙森凤, 王悦, 等. 甘草药理作用研究进展 [J]. 化工时刊, 2017, 31(7): 25-28.
- [10] Sun S, Wang K, Lei H, *et al*. Inhibition of organic cation transporter 2 and 3 may be involved in the mechanism of the antidepressant-like action of berberine [J]. *Prog Neuro Psychoph*, 2014, doi: 10.1016/j.pnpbp.2013.11.005.
- [11] Khanna D, Fitzgerald J D, Khanna P P, *et al*. 2012 American college of rheumatology guidelines for management of gout. part 1: Systematic nonpharmacologic and pharmacologic therapeutic approaches to hyperuricemia [J]. *Arthrit Care Res*, 2012, 64(10): 1431-1446.
- [12] 周盼, 徐先祥, 李沧海, 等. 中药干预尿酸转运体研究进展 [J]. 中药药理与临床, 2015, 31(6): 226-230.
- [13] 牛艳芬, 高丽辉, 刘旭, 等. 芒果苷对氧嗪酸钾所致慢性高尿酸血症大鼠尿酸及肝肾功能的影响 [J]. 中国药理学通报, 2012, 28(11): 1578-1581.