

青梅提取物防治氧嗉酸钾致小鼠高尿酸血症的研究

夏道宗^{1,2}, 潘东曼², 龚金炎^{1,3}, 邵奇佳²

(1. 浙江省农产品化学与生物加工技术重点实验室, 浙江杭州 310023)

(2. 浙江中医药大学药学院, 浙江杭州 310053) (3. 浙江科技学院生物与化学工程学院, 浙江杭州 310023)

摘要: 本文采用尿酸酶抑制剂氧嗉酸钾建立小鼠高尿酸血症模型, 研究青梅核醇提取物乙酸乙酯相 (PMS-E) 和青梅花醇提取物正丁醇相 (PF-B) 对小鼠高尿酸血症的防治作用。小鼠血尿酸水平的测定采用碱性磷酸盐法, 血清生化指标 (肌酐、尿素氮和白球比) 以及血清和肝脏中黄嘌呤氧化酶 (XO) 活性的测定采用试剂盒法。实验结果表明, PMS-E 和 PF-B 在中、高剂量时均能显著降低高尿酸血症小鼠血尿酸水平 ($p < 0.01$); PF-B 的降肌酐能力要强于 PMS-E, 但降尿素氮能力却弱于 PMS-E; PMS-E 和 PF-B 对血清白球比的影响与正常组比较均不显著 ($p > 0.05$)。PF-B 的降肝脏 XO 能力要强于 PMS-E, 但在血清 XO 的降低方面两者差异不显著。本研究结果为青梅提取物用于开发降尿酸、抗痛风的功能性食品和膳食补充剂奠定了基础。

关键词: 青梅; 高尿酸血症; 尿酸酶抑制剂; 功能性评价

文章编号: 1673-9078(2013)1-8-10

Study on the Prevention and Treatment of *Prunus mume* Extracts against Potassium Oxonate Induced Hyperuricemia in Mice

XIA Dao-zong^{1,2}, PAN Dong-man², GONG Jin-yan^{1,3}, SHAO Qi-jia²

(1. Zhejiang Provincial Key Lab for Chem. & Bio. Processing Technology of Farm Product, Hangzhou 310023, China)

(2. Zhejiang Chinese Medical University College of Pharmaceutical Sciences, Hangzhou 310053, China) (3. Zhejiang

University of Science and Technology School of Biological and Chemical Engineering, Hangzhou 310023, China)

Abstract: This paper mainly studied the prevention and treatment of ethyl acetate fraction of *Prunus mume* seed extract (PMS-E) and *n*-butanol fraction of *Prunus mume* flower extract (PF-B) against potassium oxonate (uricase inhibitor) induced hyperuricemia in mice. The serum uric acid level of mice was measured by alkaline phosphotungstate method; serum biochemical indexes, such as creatinine, urea nitrogen and albumin and globulin ratio, and xanthine oxidase (XO) in serum and liver were measured by corresponding kit. The results indicated that the serum uric acid level in middle and high dose groups of PMS-E and PF-B significantly lower than hyperuricemic group ($p < 0.01$); PF-B and PMS-E could decrease the serum creatinine and urea nitrogen levels significantly, but had no significantly influence on albumin and globulin ratio ($p > 0.05$). In addition, PMS-E and PF-B could inhibit XO activity in serum and liver significantly. This study laid a foundation for *Prunus mume* extracts exploitation to functional foods and dietary supplements for lowering uric acid and anti-gout.

Key words: *Prunus mume* Sieb. et Zucc; hyperuricemia; uricase inhibitor; functional evaluation

青梅 (*Prunus mume* Sieb. et Zucc.) 是蔷薇科李属植物, 我国每年因梅肉加工而废弃的梅核有数万吨, 造成了严重的浪费和环境污染。此外, 梅花是我国的传统食用花卉, 大多数青梅品种退化花在 15~65% 之间, 自花结实率也很低^[1-2]; 在不影响梅果产量的前提下, 每亩梅林可收集梅花干品 3 kg 左右, 使果农收入

提高 30% 以上。

随着我国居民生活条件的改善, 高嘌呤、高脂肪膳食摄入比例不断增加, 使高尿酸血症和痛风的发病率逐年升高^[3]。目前, 高尿酸血症平均患病率已超过 15%, 痛风患病率已超过 2%, 且以每年 10% 的速度递增, 接近于欧美发达国家水平^[4-6]。

当前国内外对青梅的研究更多着重于青梅果实 (果肉部分), 对于青梅果核和花的功能学研究很少。我们前期研究表明, 青梅核醇提取物乙酸乙酯相 (PMS-E) 和青梅花醇提取物正丁醇相 (PF-B) 具有良好的抗氧化活性, 且对高嘌呤膳食诱导的高尿酸血症的关键控制酶-黄嘌呤氧化酶 (xanthine oxidase, XO)

收稿日期: 2012-05-27

基金项目: 浙江省农产品化学与生物加工技术重点实验室开放基金 (2010KF0516); 国家自然科学基金 (81102861); 浙江省教育厅科研项目 (Y201016348)

作者简介: 夏道宗 (1978-), 男, 博士, 副教授, 研究方向为天然产物与功能性食品

活性具有较强的抑制能力^[7-8]。因此,本文采用尿酸酶抑制剂氧嗉酸钾建立小鼠高尿酸血症模型,研究PMS-E和PF-B对小鼠高尿酸血症的防治作用。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 材料与试剂

PMS-E、PF-B,本实验室自制^[9];肌酐、尿素氮、总蛋白、白蛋白、XO测定试剂盒,南京建成生物工程研究所;氧嗉酸钾、别嘌呤醇,美国Sigma-Aldrich公司;磷钨酸试剂,自制^[9]。其他试剂均为分析纯。

1.1.2 动物

实验用清洁级雄性ICR小鼠由浙江中医药大学动物实验中心提供,来源于上海西普尔-必凯实验动物有限公司,动物生产许可证号SCXK(沪)2008-0016。

1.1.3 仪器

7020全自动生化分析仪,日本Hitachi公司;GL-12B高速冷冻离心机,上海安亭科学仪器厂;UV-2600紫外可见分光光度仪,尤尼柯(上海)仪器有限公司;FA1004型电子天平,上海精密科学仪器有限公司。

1.2 试验设计

1.2.1 PMS-E和PF-B对氧嗉酸钾致小鼠高尿酸血症的防治作用

90只清洁级雄性ICR小鼠分为正常对照组、模型组、别嘌呤醇组(10 mg/kg)、PMS-E低中高三个剂量组(PMS-E1、PMS-E2、PMS-E3,剂量分别为100、300、500 mg/kg)和PF-B低中高三个剂量组(PF-B1、PF-B2、PF-B3,剂量分别为100、300、500 mg/kg)共9组,每组10只动物。给予受试物前1.5 h禁食不禁水,正常对照组、模型组灌胃给予蒸馏水,小鼠每天称重,连续7 d。除正常对照组外,其余各组动物在最后给药前30 min腹腔注射氧嗉酸钾(280 mg/kg)。各组动物在灌胃30 min后,摘眼球取血,37℃孵育1 h,3000 r/min离心10 min分离血清;快速取肝脏并于冰浴中匀浆。碱性磷钨酸盐法测定各组小鼠血清尿酸水平,试剂盒法测定血清肌酐、尿素氮、总蛋白、白蛋白水平和血清、肝脏中黄嘌呤氧化酶的活性^[8-10]。

1.2.2 数据处理

采用SPSS 13.0统计软件进行数据处理。数据均采用均值±标准差($\bar{x} \pm SD$)的表示方法,不同处理间的差异采用t检验和单因素方差分析进行比较,以 $p < 0.05$ 为有显著性。

2 结果与讨论

2.1 PMS-E和PF-B对高尿酸血症小鼠血清尿酸水平的影响

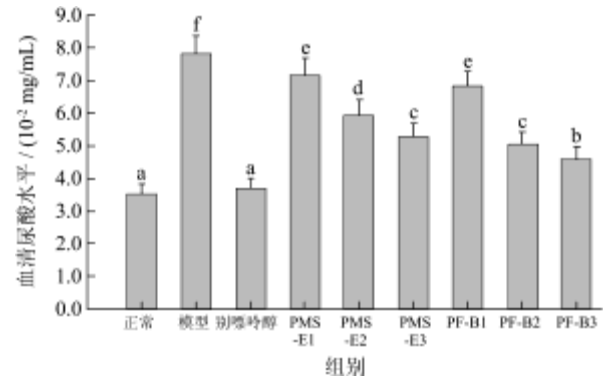


图1 PMS-E和PF-B对氧嗉酸钾致高尿酸血症小鼠血清尿酸水平的影响

Fig.1 The effect of PMS-E and PF-B on serum uric acid levels of hyperuricemic mice induced by potassium oxonate

如图1所示,腹腔注射氧嗉酸钾30 min后,模型组小鼠血清尿酸水平为0.0780 mg/mL,与正常组小鼠相比,升高了121%,差异极显著($p < 0.01$),提示造模成功。青梅提取物对高尿酸血症小鼠血清尿酸的降低作用均表现出一定的剂量依赖关系。与模型组相比,青梅提取物在剂量为100 mg/kg时,降尿酸作用较弱。但随着剂量的增大,表现出很强的降尿酸能力,如梅核醇提取物乙酸乙酯相高剂量组(PMS-E3, 500 mg/kg)小鼠血清尿酸平均水平为0.0526 mg/mL,比模型组下降了约33%;梅花醇提取物正丁醇相高剂量组(PF-B3, 500 mg/kg)小鼠血清尿酸平均水平为0.0461 mg/mL,比模型组下降了约41%。在该试验模型下,梅花提取物的降尿酸能力要强于梅核提取物。阳性对照别嘌呤醇的降尿酸能力最强,可使高尿酸血症小鼠血清尿酸恢复到正常水平。

2.2 PMS-E和PF-B对高尿酸血症小鼠血清肌酐、尿素氮水平和白球比的影响

如表1所示,与正常组相比,模型组小鼠血清肌酐水平显著升高($p < 0.01$),升幅约为81%。青梅提取物对高尿酸血症小鼠血清肌酐的降低作用均表现出一定的剂量依赖关系。低中高剂量梅核醇提取物乙酸乙酯相可使高尿酸血症小鼠血清肌酐水平分别下降8.2%、13.5%、18.3%。低中高剂量梅花醇提取物正丁醇相可使高尿酸血症小鼠血清肌酐水平分别下降12.1%、24.3%、30.7%。在该试验模型下,梅花提取物的降肌酐能力要强于梅核提取物。阳性对照别嘌呤醇的降肌酐能力最强,可使高尿酸血症小鼠血清肌酐恢复到正常水平。

如表1所示,与正常组相比,模型组小鼠血清尿素氮水平显著升高($p < 0.01$),升幅约为42%。青梅

提取物对高尿酸血症小鼠血清尿素氮的降低作用均表现出一定的剂量依赖关系。低中高剂量梅核醇提取物乙酸乙酯相 (PMS-E) 可使高尿酸血症小鼠血清尿素氮水平分别下降 11.6%、19.5% 和 25.5%。低中高剂量梅花醇提取物正丁醇相 (PF-B) 可使高尿酸血症小鼠血清尿素氮水平分别下降 5.0%、13.2% 和 20.1%。在该试验模型下, 梅核提取物的降尿素氮能力要强于梅花提取物。阳性对照别嘌呤醇的降尿素氮能力与低剂量 PMS-E 和中剂量 PF-B 相当, 但低于中高剂量 PMS-E 和高剂量 PF-B。

表 1 PMS-E 和 PF-B 对氧嗪酸钾致高尿酸血症小鼠血清肌酐、尿素氮水平和白球比的影响 (n=10)

Table 1 The effect of PMS-E and PF-B on serum creatinine, nitrogen levels and the albumin and globulin ratio in hyperuricemic mice induced by potassium oxonate

组别	剂量/(mg/kg)	肌酐/($\mu\text{mol/L}$)	尿素氮/(mmol/L)	白球比
正常组	-	33.80 \pm 2.84 ^a	6.53 \pm 0.38 ^a	1.75 \pm 0.11 ^b
模型组	-	61.20 \pm 4.56 ^f	9.29 \pm 0.57 ^e	1.63 \pm 0.12 ^a
别嘌呤醇	10	35.27 \pm 2.16 ^a	8.15 \pm 0.48 ^d	1.78 \pm 0.11 ^b
	100	56.20 \pm 5.20 ^e	8.21 \pm 0.75 ^d	1.67 \pm 0.13 ^{ab}
PMS-E	300	52.91 \pm 3.94 ^{de}	7.48 \pm 0.52 ^c	1.73 \pm 0.11 ^{ab}
	500	50.00 \pm 4.04 ^d	6.92 \pm 0.47 ^{ab}	1.72 \pm 0.11 ^{ab}
	100	53.78 \pm 3.73 ^e	8.83 \pm 0.80 ^e	1.69 \pm 0.13 ^{ab}
PF-B	300	46.33 \pm 3.45 ^c	8.06 \pm 0.57 ^d	1.72 \pm 0.11 ^{ab}
	500	42.40 \pm 4.20 ^b	7.42 \pm 0.68 ^{bc}	1.73 \pm 0.11 ^{ab}

注: 同列肩标相同字母者表示差异不显著 ($p>0.05$), 标不同字母者表示差异显著 ($p<0.05$)。

青梅提取物对高尿酸血症小鼠血清白球比的影响如表 1 所示。与正常组相比, 模型组小鼠血清白球比显著降低 ($p<0.05$), 降幅约为 6.9%。青梅提取物及别嘌呤醇对高尿酸血症小鼠血清白球比的影响与正常组比较均不显著 ($p>0.05$)。

2.3 MS-E 和 PF-B 对高尿酸血症小鼠血清和肝脏 XO 活性的影响

如表 2 所示, 与正常组相比, 腹腔注射氧嗪酸钾可使小鼠血清和肝脏 XO 活性分别升高 62.9% 和 70.0%, 差异极显著 ($p<0.01$)。青梅提取物对高尿酸血症小鼠血清和肝脏 XO 的降低作用均表现出一定的剂量依赖关系。低中高剂量梅核醇提取物乙酸乙酯相 (PMS-E) 可使高尿酸血症小鼠血清 XO 活性分别下降 5.6%、14.7% 和 19.4%, 使肝脏 XO 活性分别下降 5.9%、10.8% 和 17.8%。低中高剂量梅花醇提取物正丁醇相 (PF-B) 可使高尿酸血症小鼠血清 XO 活性分别下降 5.9%、10.8% 和 17.8%, 使肝脏 XO 活性分别下

降 15.3%、18.9% 和 23.2%。在该试验模型下, 梅花提取物的降肝脏 XO 能力要强于梅核提取物, 但在血清 XO 的降低方面两种提取物差异不显著。阳性对照别嘌呤醇对血清和肝脏 XO 活性的降低效果是最好的, 这与文献报道一致^[1]。

表 2 PMS-E 和 PF-B 对氧嗪酸钾致高尿酸血症小鼠血清和肝脏黄嘌呤氧化酶 (XO) 活性的影响 (n=10)

Table 2 The effect of PMS-E and PF-B on the activity xanthine oxidase in serum and liver of hyperuricemic mice induced by potassium oxonate

组别	剂量/(mg/kg)	血清 XO/(U/mL)	肝脏 XO/(U/gprot)
正常组	-	35.42 \pm 2.17 ^b	7.52 \pm 0.69 ^a
模型组	-	57.70 \pm 4.02 ^f	12.76 \pm 0.74 ^g
别嘌呤醇	10	27.65 \pm 2.06 ^a	9.24 \pm 0.56 ^b
	100	54.48 \pm 3.54 ^e	12.01 \pm 1.01 ^f
PMS-E	300	49.24 \pm 2.98 ^d	11.38 \pm 0.74 ^{ef}
	500	46.50 \pm 2.96 ^{cd}	10.49 \pm 0.66 ^{cd}
	100	52.64 \pm 3.22 ^e	10.81 \pm 0.69 ^{de}
PF-B	300	47.82 \pm 3.06 ^{cd}	10.35 \pm 0.94 ^{cd}
	500	45.79 \pm 3.14 ^c	9.80 \pm 0.61 ^{bc}

注: 同列肩标相同字母者表示差异不显著 ($p>0.05$), 标不同字母者表示差异显著 ($p<0.05$)。

3 结论

小鼠腹腔注射氧嗪酸钾 30 min 后, 模型组小鼠血尿酸水平为 7.80 mg/100 mL, 与正常组小鼠相比, 升高了 121%, 差异极显著 ($p<0.01$), 提示造模成功。本研究表明, 青梅提取物的降尿酸能力要强于梅核提取物。氧嗪酸钾诱导的小鼠高尿酸血症可引起血清肌酐、尿素氮水平显著升高和白球比的下降, PMS-E 和 PF-B 在试验剂量范围内均对上述异常变化均可起到一定的改善作用。腹腔注射氧嗪酸钾可使小鼠血清和肝脏 XO 活性分别升高 62.9% 和 70.0%; 青梅提取物的降肝脏 XO 能力要强于梅核提取物, 但在血清 XO 的降低方面两种提取物差异不显著。本研究结果表明, 青梅核和花提取物可有效防治实验性高尿酸血症, 在功能性食品、膳食补充剂领域有着很大的开发潜力。

参考文献

- [1] 陈赞朝, 席常辉, 陈育荣. 粤、浙 4 个青梅品种的开花结果习性观察研究[J]. 现代农业科技, 2008, 5: 14, 16
- [2] 苏爱国, 孙长花, 张素华. 食用花卉的营养价值及开发前景[J]. 中国食物与营养, 2008, 2: 19-21
- [3] Puig JG, Martínez MA. Hyperuricemia, gout and the

- metabolic syndrome [J]. *Current Opinion in Rheumatology*, 2008, 20(2): 187-191
- [4] 樊培新.深圳地区痛风的流行病学调查[J].*中国误诊学杂志*,2008,8(31):7807-7808
- [5] 毛玉山,周丽诺,黄童,等.高尿酸血症患病率与代谢综合征组分数的关系[J].*中国糖尿病杂志*,2008,16(3):451-452
- [6] Reinders MK, van Roon EN, Houtman PM, et al. Biochemical effectiveness of allopurinol and allopurinol probenecid in previously benzbromarone-treated gout patients [J]. *Clinical Rheumatology*, 2007, 26(9): 1459-1465
- [7] Xia DZ, Wu XQ, Shi JY, et al. Phenolic compounds from the edible seeds extract of Chinese Mei (*Prunus mume* Sieb. et Zucc) and their antimicrobial activity [J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2011, 44(1): 347-349

现代食品科技