

• 实验研究 •

排毒养颜胶囊对尿酸酶缺失大鼠的降血尿酸作用*

董鲜祥¹, 范楠¹, 云宇¹, 陈欢², 段为钢^{2△}

(1. 昆明医科大学基础医学院药理学系, 云南 昆明 650500;

2. 云南中医药大学云南省中医药学分子生物学重点实验室, 云南 昆明 650500)

摘要: **目的** 观察排毒养颜胶囊对尿酸酶缺失大鼠的降血尿酸作用。**方法** 取 7 只体质量 180~220 g 的雄性尿酸酶缺失大鼠, 灌胃排毒养颜胶囊悬液(0.42 g/kg), 连续灌胃 5 d。给药前和末次给药后 2 h 取血制备血清, 用磷钨酸法测定血尿酸水平。同时收集给药前 24 h 和给药第 5 天 24 h 尿液和粪便, 也用磷钨酸法测定排泄物中的尿酸含量并计算总量。**结果** 对比给药前, 给药 5 d 后大鼠的血尿酸水平显著降低($P<0.05$), 粪便中 24 h 尿酸总量显著增加($P<0.05$), 但 24 h 尿液中的尿酸总量反而有减少趋势, 差异无统计学意义($P=0.109$)。**结论** 口服排毒养颜胶囊能通过增加尿酸在粪便中的排泄量而降低尿酸酶缺失大鼠的血尿酸水平。

关键词: 尿酸酶缺失大鼠; 高尿酸血症; 排毒养颜胶囊; 通便排毒

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1000-2723(2020)03-0001-04

DOI: 10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2020.03.001

Paidu Yangyan Capsules Lowered Serum Uric Acid in Uricase-deficient Rats

DONG Xianxiang¹, FAN Nan¹, YUN Yu¹, CHEN Huan², DUAN Weigang²

(1. The Department of Pharmacology, School of Basic Medicine, Kunming Medical University, Kunming 650500, China;

2. Yunnan Provincial Key Laboratory of Molecular Biology for Sinomedicine, Yunnan University of Chinese Medicine, Kunming 650500, China)

ABSTRACT: **Objective** To observe pharmacological effect of Paidu Yangyan (PDYY) capsules on lowering serum uric acid (SUA) in uricase-deficient rats. **Methods** Seven male uricase-deficient rats weighting 180-220 g were orally administrated with the suspension of PDYY capsule at the dose of 0.42 g/kg for 5 d. Before and 2 h after the fifth administration, collected the blood, urine and feces. The SUA, uric acid in urine and feces were determined by uric acid kits with the phosphotungstic acid method, then the total uric acid in urine and feces were calculated. **Results** Compared with those before administration, SUA was significantly lowered ($P<0.05$), and the total uric acid in feces in 5 d significantly increased ($P<0.05$). While, the total uric acid in urine in 5 d decreased without significance ($P=0.109$). **Conclusion** Orally administration of PDYY capsule was able to lower SUA, and the mechanism may be associated with increasing uric acid excretion via feces.

KEY WORDS: uricase deficient rat; hyperuricemia; Paidu Yangyan Capsules; bowel detoxification

尿酸是人类嘌呤代谢的终产物,高尿酸血症已成为危及人们身体健康的“第四高”^[1]。经典的降尿酸途径主要是抑制黄嘌呤氧化酶减少尿酸合成,和/或促进尿酸肾脏排泄,但这种全身式的用药容易导致全身性的安全问题^[2]。有报道称肠道也是尿酸分布的重要器

官,具有很强的排泄尿酸潜力^[3]。排毒养颜胶囊是一种通便排毒的中成药,该药的通便排毒作用是否包括“促尿酸肠道排泄”尚不清楚,本研究试图回答该问题。

1 材料方法

1.1 材料 雄性尿酸酶基因敲除(Uox^{-/-})大鼠,即

收稿日期: 2020-01-26

* 基金项目: 国家自然科学基金项目(81860162)

第一作者简介: 董鲜祥(1996-),女,在读硕士研究生,研究方向:痛风和高尿酸血症防治新策略研究。

△通信作者: 段为钢, E-mail: deardwg@126.com

Kunming-DY 大鼠,体质量 180~220 g,由实验室自制^[4]。排毒养颜胶囊(0.4 g/粒)由云南盘龙云海药业有限公司生产,批号 180321;尿酸试剂盒由南京建成生物工程研究所生产(货号:C012-1-1);Tecan 酶标仪(Infinity 200Pro)由奥地利生产。

1.2 分组及给药 取 13 粒排毒养颜胶囊,去胶囊壳,加 125 mL 蒸馏水,搅成混悬液。取 7 只 $Uox^{-/-}$ 大鼠,置于代谢笼中。给药前于 30 ℃断尾取血制备血清样品,收集 24 h 排泄物。随后按体重灌胃排毒养颜胶囊混悬液(0.42 g/kg),连续给药 5 d,末次给药 2 h 后断尾脉取血,并收集第 5 天 24 h 的排泄物。排泄物置于-20 ℃冰箱中保存备用。

1.3 尿酸测定 尿酸测定采用磷钨酸法,操作按照说明书进行。血清样品直接测定。排泄物样品先自然解冻。尿液摇匀后,取 10 μ L,用 50 mmol/L 的 $NaHCO_3$ ^[5] 稀释 10 倍后检测。粪便样品加 2 倍重量的 100 mmol/L 的氨丁三醇溶液^[6],摇匀,离心取上清液检测。

1.4 统计分析 实验结果采用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用配对 t 检验。以 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 血清尿酸水平 正常情况下,雄性 $Uox^{-/-}$ 大鼠的

血尿酸处于较高水平;给予排毒养颜胶囊 5 d 后,大鼠的血清尿酸水平下降了近一倍。与给药前相比,差异具有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

表 1 大鼠给药前后的血尿酸浓度($\bar{x}\pm s$, μ g/mL)

鼠号	给药前	给药后	后-前
1	67.45	25.48	-41.97
2	121.11	17.73	-103.38
3	62.83	45.26	-17.57
4	60.04	56.35	-3.69
5	11.45	12.90	1.45
6	120.26	49.95	-70.31
7	88.64	39.14	-49.5
($\bar{x}\pm s$)	75.97 $\pm$ 38.34	35.27 $\pm$ 16.73*	-40.71 $\pm$ 37.78436
P		0.029	

注:与给药前相比,* $P<0.05$ 。

2.2 大鼠给药前后 24 h 排泄物中的尿酸总量变化 正常情况下, $Uox^{-/-}$ 大鼠的尿酸排泄以尿液为主。给予排毒养颜胶囊后,大鼠粪便中的尿酸排泄量明显增加($P<0.05$),尿液中的尿酸排泄总量呈现减少趋势($P=0.109$)。与给药前相比,粪便的尿酸排泄量增加了 83.7%,肾脏排泄减少了 50.8%,见表 2。

表 2 大鼠给药前后的 24 h 尿酸排泄量($\bar{x}\pm s$, μ g)

鼠号	尿液			粪便		
	给药前	给药后	后-前	给药前	给药后	后-前
1	9386.6	14327.7	4941.1	1278.0	2564.7	1286.7
2	15550.5	5067.8	-10482.7	1210.8	2968.6	1757.8
3	16890.0	9871.3	-7018.7	1356.8	3583.2	2226.4
4	20270.2	5416.4	-14853.8	1295.2	1744.5	449.3
5	2908.8	4513.1	1604.3	963.6	1081.2	117.6
6	7126.8	6448.8	-678.0	1227.6	1704.8	477.2
7	27214.1	3200.0	-24014.1	1673.2	2899.3	1226.1
($\bar{x}\pm s$)	14192.4 $\pm$ 8326.3	6977.9 $\pm$ 3853.7	-7214.6 $\pm$ 10161.7	1286.5 $\pm$ 211.4	2363.8 $\pm$ 879.7*	1077.3 $\pm$ 766.5
P		0.109			0.010	

注:与给药前相比,* $P<0.05$ 。

2.3 大鼠给药前后 24 h 排泄物尿酸相对量变化 大鼠几乎不排汗,尿液和粪便排泄的尿酸总量可视为尿酸的总排泄量(100%)。将表 2 数据转化后可见:正常情况下,雄性 $Uox^{-/-}$ 大鼠的尿液尿酸排

泄量约占 90%,粪便排泄量约 10%;给予排毒养颜胶囊后,大鼠的尿液尿酸排泄量减少到约 70%,粪便排泄量升高到约 30%;差异均具有统计学意义,见表 3。

表3 大鼠给药前后尿液粪便的占比($\bar{x} \pm s, \%$)

鼠号	尿液		粪便	
	给药前	给药后	给药前	给药后
1	88.0	84.8	12.0	15.2
2	92.8	63.1	7.2	36.9
3	92.6	73.4	7.4	26.6
4	94.0	75.6	6.0	24.5
5	75.1	80.7	24.9	19.3
6	85.3	79.1	14.7	20.9
7	94.2	52.5	5.8	47.5
($\bar{x} \pm s$)	88.9 $\pm$ 6.9	11.1 $\pm$ 6.9*	72.7 $\pm$ 11.3	27.3 $\pm$ 11.3*
P	0.040		0.040	

注:与给药前相比,* $P < 0.05$ 。

2.4 大鼠给药前后的排泄量变化 排毒养颜胶囊具有促进排便的作用。正常情况下,成年雄性 $U_{ox}^{-/-}$ 大鼠的 24 h 尿量约 25 mL;给予排毒养颜胶囊后,尿量减少到 18.5 mL,减少约 20%(23.2%)。正常的粪便排泄量约 6 g,用药后增加到 8 g,增加约 40%(38.9%),差异具有统计学意义。但将大小便排泄总量进行比较,发现用药后约只减少 10%,差异无统计学意义,见表 4。

2.5 大鼠给药前后排泄物尿酸含量的变化 考虑到排毒养颜胶囊能改变大小便的排泄比例,为了考查该药能否改变排泄物中的尿酸含量(浓度),对排泄物尿酸浓度进一步分析发现,用药后尿液中尿酸浓度呈下降趋势,粪便中的尿酸含量呈增加趋势,但差异没有统计学意义,见表 5。

表4 大鼠给药前后 24 h 尿液粪便量的变化

鼠号	尿液/mL			粪便/g			大小便总量/g		
	给药前	给药后	后-前	给药前	给药后	后-前	给药前	给药后	后-前
1	29.80	30.40	0.60	7.20	7.48	0.28	37.00	37.88	0.88
2	15.44	14.86	-0.58	7.06	10.08	3.02	22.5.0	24.94	2.44
3	34.62	25.30	-9.32	6.86	11.20	4.34	41.48	36.50	-4.98
4	32.02	19.12	-12.9	4.18	6.36	2.18	36.20	25.48	-10.72
5	16.58	13.50	-3.08	4.84	6.08	1.24	21.42	19.58	-1.84
6	18.24	17.44	-0.80	4.78	5.90	1.12	23.02	23.34	0.32
7	24.28	10.76	-13.52	6.24	10.06	3.82	30.52	20.82	-9.7
($\bar{x} \pm s$)	24.43 $\pm$ 7.86	18.77 $\pm$ 6.92*	-5.66 $\pm$ 6.09	5.88 $\pm$ 1.25	8.17 $\pm$ 2.22*	2.29 $\pm$ 1.51	30.31 $\pm$ 8.14	26.93 $\pm$ 7.32	-3.37 $\pm$ 5.24
P	0.049			0.007			0.139		

注:与给药前相比,* $P < 0.05$;假定尿液的比重为 1。表5 大鼠给药前后 24 h 排泄物尿酸含量($\bar{x} \pm s, \mu\text{g/g}$)的变化

鼠号	尿液			粪便		
	给药前	给药后	后-前	给药前	给药后	后-前
1	315.0	471.3	156.3	177.5	342.9	165.4
2	1007.2	341.0	-666.1	171.5	294.5	123.0
3	487.9	390.2	-97.7	197.8	319.9	122.1
4	633.0	283.3	-349.8	309.9	274.3	-35.6
5	175.4	334.3	158.9	199.1	177.8	-21.3
6	390.7	369.8	-21.0	256.8	288.9	32.1
7	1120.8	297.4	-823.4	268.1	288.2	20.1
($\bar{x} \pm s$)	590.0 $\pm$ 354.8	355.3 $\pm$ 63.3	-234.7 $\pm$ 391.2	225.8 $\pm$ 52.6	283.8 $\pm$ 52.1	58.0 $\pm$ 78.5
P	0.164			0.099		

注:与给药前相比,* $P < 0.05$;假定尿液的比重为 1。

3 讨论

Uox^{-/-}大鼠是我们采用 CRISPR/Cas9 技术研制的新型大鼠(以 SD 大鼠为背景)^[4]。相比野生型 SD 大鼠^[6],该大鼠由于缺乏尿酸酶,血尿酸值明显升高。Uox^{-/-}雄鼠的尿酸值接近成年男性的血尿酸值,甚至达到高尿酸血症的标准。可喜的是,该大鼠可以长期存活,是研究高尿酸血症的“理想模型动物”。

一般认为尿酸的排泄主要通过肾脏,因为该途径占到排泄总量的 2/3 以上,只有不到 1/3 的尿酸从肠道排泄^[2-6]。然而,课题组前期研究发现,有大量的尿酸分布在大鼠肠液中,其总量约为血液量的 2~3 倍,且与血尿酸水平存在较好的相关性^[3]。由于尿酸在肠道下段存在重吸收现象,因此肠道排泄的尿酸总量仍然较小^[3]。如果加速肠道尿酸排出,理应具有一定的降血尿酸作用,可能还兼具有不良反应少而轻的特点。

排毒养颜胶囊是国家药物监督管理部门批准上市的通便排毒中成药,由大黄、西洋参、白术、青阳参、小红参、荷叶、枳实等药物组成。由于尿酸在肠道具有较高分布^[3],通便应该有利于粪便排出,继而有利于肠道中的尿酸排出,从而产生降血尿酸效果。通常,体内的尿酸 2/3 由内源性嘌呤代谢而来,由食物摄入嘌呤生成的尿酸不到 1/3^[2-6]。本研究采用 Uox^{-/-}大鼠,对大鼠没有进行饮食限制,比较接近临床发病情况。由于排毒养颜胶囊具有通便作用,本研究也就避免了灌胃造模可能出现的假阳性治疗效果。从对大鼠大、小便尿酸排泄量的结果看,用药后小便尿酸排泄量减少,但大便尿酸排泄量增加。因此,本研究中,大鼠的血尿酸水平降低可以用促进肠道排泄尿酸来解释。服用药物后,大鼠的小便排泄减少,大便排泄增加;但从大、小便排泄总量来看,变化并不明显,平均只减少了约 10%,差异无统计学意义(表 4);这间接提示用药

对大鼠饮食总量的影响较小。从大、小便尿酸含量(浓度)看,用药后粪便量排泄增加,且粪便中尿酸含量也有增加趋势,提示排毒养颜胶囊还具有一定的促肠道分泌尿酸的作用,但由于本研究样本量偏小,未见统计学差异。

虽然有采用尿酸吸附剂蒙脱石口服降尿酸的报道^[7],但传统促尿酸排泄的途径仍是促进肾脏排泄^[2]。在高尿酸血症的背景下,该途径可能进一步加重肾脏负担。通过肠道排尿酸,理论上是有利于降低肾脏负担的。在本研究中可以看到,使用排毒养颜胶囊后,血尿酸下降的同时,尿中排出的尿酸总量和浓度也是减少的,显然这对保护肾功能有利。

综上所述,排毒养颜胶囊可以通过增加肠道尿酸排泄降低血尿酸水平。

参考文献:

- [1] 金剑. 高尿酸血症危险的第四高 [J]. 江苏卫生保健, 2016 (23):23.
- [2] 胡欣瑜, 张楠, 董鲜祥, 等. 高尿酸血症的防治策略研究进展[J]. 昆明医科大学学报, 2019, 40(3): 131-135.
- [3] YUN Y, YIN H, GAO Z, et al. Intestinal tract is an important organ for lowering serum uric acid in rats [J]. PLoS One, 2017, 12(12):e0190194.
- [4] 张楠, 董鲜祥, 云宇, 等. 尿酸酶缺失 Kunming-DY 大鼠的研制[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2019, 33(10):931.
- [5] 云宇, 李月, 杨榕, 等. 氨丁三醇在体外促尿酸溶解的作用 [J]. 华西药学杂志, 2018, 33(1):37-41.
- [6] 张楠, 胡欣瑜, 董鲜祥, 等. 高尿酸血症动物模型的研究进展[J]. 昆明医科大学学报, 2019, 40(6): 129-134.
- [7] MA Z, LONG L H, LIU J, et al. Montmorillonite adsorbs uric acid and increases the excretion of uric acid from the intestinal tract in mice [J]. Journal of Pharmacy and Pharmacology, 2009, 61(11):1499-1504.