

广西特色壮药金边蚂蟥抗痛风 活性成分研究*

刘喜华¹, 黄思诗¹, 黄敏琪¹, 熊万娜¹, 周维海², 甄汉深³, 刘安韬^{1**}

(1. 广西卫生职业技术学院 南宁 530023; 2. 南宁市金海科康生物医药科技有限公司 南宁 530001; 3. 广西中医药大学 南宁 530001)

摘要:目的:研究金边蚂蟥中具有抗痛风作用的活性成分。方法:采用次黄嘌呤复制小鼠高尿酸血症模型,二甲苯诱导小鼠耳郭肿胀模型,热板法、扭体法筛选金边蚂蟥的活性部位,筛选金边蚂蟥活性成分,观察金边蚂蟥抗痛风作用的物质基础。结果:金边蚂蟥水溶性部位是其抗痛风的活性部位,可降低次黄嘌呤诱导的高尿酸血症小鼠的血清尿酸水平,可抑制二甲苯诱导的小鼠耳郭肿胀,可减少醋酸诱导的小鼠扭体反应和增加小鼠热板痛阈;水溶性部位中水蛭素是主要活性成分。金边蚂蟥活性成分(水蛭素)0.8 g/kg和0.4 g/kg及金边蚂蟥续滤粉2.0 g/kg可显著降低血清尿酸水平,血清尿酸水平由模型组的 232.73 ± 50.93 $\mu\text{mol/L}$ 分别下降到 140.70 ± 25.97 $\mu\text{mol/L}$ 、 149.07 ± 39.28 $\mu\text{mol/L}$ 、 176.45 ± 44.33 $\mu\text{mol/L}$ ($P < 0.01$);金边蚂蟥活性成分(水蛭素)0.8 g/kg、0.4 g/kg和0.2 g/kg及金边蚂蟥续滤粉2.0 g/kg可明显抑制二甲苯引起小鼠耳郭肿胀,肿胀度由 22.80 ± 2.86 mg分别抑制到 20.10 ± 2.18 mg、 19.80 ± 2.57 mg、 20.10 ± 1.66 mg、 20.85 ± 1.60 mg ($P < 0.05$);金边蚂蟥活性成分(水蛭素)0.8 g/kg,可明显降低醋酸引起的小鼠扭体次数,次数由 22.80 ± 2.86 次降到 20.10 ± 2.18 次 ($P < 0.05$)。结论:金边蚂蟥抗痛风的活性部位是水溶性部分,其中水蛭素是其主要活性成分。

关键词:金边蚂蟥 水蛭素 高尿酸 炎症 镇痛

doi:10.11842/wst.2018.06.018 中图分类号:R29 文献标识码:A

金边蚂蟥系医蛭科动物菲牛蛭 *Poecilobdella manillensis* Lesson 的干燥全体,为常用壮、瑶药,中医药具有破血通经、逐瘀消癥之功,用于治疗血瘀经闭、症瘕痞块、中风偏瘫、跌打扭伤等,壮医药认为其具有调龙路、散淤肿之功,用于京瑟(闭经)、呗农(痛疮)、麻邦(中风)、扭像(扭挫伤)^[1]。现代药理研究表明,金边蚂蟥具有较强的抗凝血、抗血栓、抗血小板聚集、降血脂作用,广西民间多应用金边蚂蟥防治痛风,笔者的前期研究也证实其具有良好的抗高尿酸痛风作用^[2],但该药理活性的物质基础及其作用机制笔者还未见文献报

道。本研究利用次黄嘌呤复制小鼠高尿酸血症模型,二甲苯诱导小鼠耳郭肿胀模型,热板法、扭体法观察金边蚂蟥提取物的药理活性,为阐明其抗高尿酸血症和抗痛风作用的物质基础及临床抗痛风应用提供依据。

1 材料

1.1 药品与试剂

1.1.1 水提物和石油醚提取物的制备

分别取金边蚂蟥冻干粉(南宁市金海科康生物医药科技有限公司,批号:20160903)300 g,在常温下分别加入蒸馏水及石油醚(分析纯)溶液,浸泡48 h,渗滤

收稿日期:2018-05-22

修回日期:2018-06-11

* 广西科技厅广西自然科学基金青年项目(2015GXNSFB139150):广西特色壮药金边蚂蟥抗高尿酸血症物质基础研究,负责人:刘喜华;广西教育厅广西高校中青年骨干教师基础能力提升项目(2017KY1228):广西特色壮药金边蚂蟥抗高尿酸血症物质优选研究,负责人:刘喜华;广西科技厅广西科学研究与技术开发重大专项计划(桂科重:1355001-5-9):广西菲牛蛭新品种选育及室内无土立体养殖技术研发,负责人:农韦健。

** 通讯作者:刘安韬,副教授,主要研究方向:中药、天然药物研究。

得到续滤液,低温挥干既得。得到水提取物 82.3 g,石油醚提取物 28.4 g。实验时剂量换算成每克相当于金边蚂蟥冻干粉剂量单位。

1.1.2 水蛭素及金边蚂蟥续滤粉的制备

取金边蚂蟥活体(南宁市德营生物科技科技有限公司,批号 20170801),经广西科学院生物研究所周维官研究员鉴定为医蛭科牛蛭属动物菲牛蛭(金边蚂蟥) *Poecilobdella manillensis* Lesson。将吸饱 2%氯化钠的金边蚂蟥活体置于容器中,加入一定量的硫酸锌与乙醇的混合液使其吐出体内的唾液,即天然水蛭素提取液,天然水蛭素提取液经纯化后加入辅料进行冷冻干燥得到的粉末即为天然水蛭素产品(质量分数 96%,凝血酶滴定约 5200 ATU/g),实验用水蛭素加入蒸馏水配成含水蛭素 200 ATU/g 溶液。提取水蛭素的金边蚂蟥粉末干燥后,得到金边蚂蟥续滤粉。

1.1.3 药品与试剂

别嘌醇片(批号:319002),重庆科瑞制药有限责任公司;醋酸地塞米松片(批号:20100803),重庆西部制药有限公司;罗通定片(批号:A090702),山西云鹏制药有限公司生产;次黄嘌呤和尿酸,均为 Sigma 公司产品;尿酸试剂盒(批号:20170426),南宁建成生物工程研究所。

1.2 动物

昆明种小鼠,SPF 级,广西医科大学实验动物中心,动物合格证号:SCXK 桂 2009-0003。

1.3 仪器

3960 型 iMark 酶标仪,Japan Bio-rad 公司

2 方法

2.1 活性部位筛选

2.1.1 金边蚂蟥不同极性溶剂提取物对高尿酸血症小鼠血清尿酸的影响^[3]

选取体质量 18~22 g 昆明种小鼠 100 只,雄性,随机分为 10 组,每组 10 只,即对照组,模型组,阳性药别嘌醇(0.01 g·kg⁻¹)组,金边蚂蟥冻干粉(2.0 g·kg⁻¹)组,金边蚂蟥水提物高、中、低剂量(2.00、1.0、0.5 g·kg⁻¹)组,金边蚂蟥石油醚提取物高、中、低剂量(2.0、1.0、0.5 g·kg⁻¹)。各组灌胃给药,每天 1 次,对照组和模型组灌胃给予等体积蒸馏水,连续 12 d。除对照组外,各组末次给药 1 h 后,腹腔注射次黄嘌呤 600 mg·kg⁻¹,1 h 后眼球取血,3000 r·min⁻¹离心 10 min,取上清液测定血清尿酸水平(磷钨酸比色法)。

2.1.2 金边蚂蟥不同极性溶剂提取物对二甲苯引起小鼠耳郭肿胀的影响^[3]

取昆明小鼠 90 只,雄性,体重(20±2) g。随机分为 9 组,每组 10 只,即对照组,地塞米松组(0.005 g·kg⁻¹),金边蚂蟥冻干粉(2.0 g·kg⁻¹)组,金边蚂蟥水提物高、中、低剂量(2.0、1.0、0.5 g·kg⁻¹)组,金边蚂蟥石油醚提取物高、中、低剂量(2.0、1.0、0.5 g·kg⁻¹)。灌胃给药,1 次/d,连续 10 d。末次给药后 1 h,在各小鼠左耳朵前后两面均匀涂抹二甲苯,30 min 后处死小鼠,沿耳廓基线剪下两耳,用打孔器(直径 8 mm)分别在同一部位打下耳片,称重,计算肿胀度和抑制率,肿胀度以小鼠左右耳片重量之差来计算,肿胀率=(左耳重-右耳重)/右耳重。

2.1.3 金边蚂蟥不同极性溶剂提取物对醋酸引起引起小鼠扭体反应和热板痛阈值的影响^[3]

(1)小鼠热板痛阈的影响

取 90 只预先经筛选的雌性小鼠(剔除痛阈值<5 S 或痛阈值>30 S 的小鼠),随机分成 9 组,即对照组,阳性对照组(罗通定,0.05 g·kg⁻¹),金边蚂蟥冻干粉(2.0 g·kg⁻¹)组,金边蚂蟥水提物高、中、低剂量(2.0、1.0、0.5 g·kg⁻¹)组,金边蚂蟥石油醚提取物(2.0、1.0、0.5 g·kg⁻¹)。各组灌胃给药 1 次,对照组给予等量生理盐水。各组于给药后 60 min 采用热板法检测痛阈值。

(2)小鼠扭体反应的影响

取昆明种小鼠 90 只,雄性,随机分为 9 组,每组 10 只。分组、给药方法同上。给药后 1 h,腹腔注射 0.6% 醋酸溶液 0.2 mL,5 min 后,计数各小鼠 10 min 内出现的扭体反应次数。

2.2 活性成分筛选

2.2.1 金边蚂蟥不同组分对高尿酸血症小鼠血清尿酸的影响^[3]

选取体质量 18~22 g 昆明种小鼠 90 只,雄性,随机分为 9 组,每组 10 只,即对照组,模型组,阳性药别嘌醇(0.01 g·kg⁻¹)组,金边蚂蟥冻干粉(2.0 g·kg⁻¹)组,金边蚂蟥活性成分(水蛭素)高、中、低剂量(2.00、1.0、0.5 g·kg⁻¹)组,金边蚂蟥续滤粉(2.0、1.0、0.5 g·kg⁻¹)。各组 ig 给药,每天 1 次,对照组和模型组灌胃给予等体积蒸馏水,连续 12 d。除对照组外,各组末次给药 1 h 后 ip 次黄嘌呤 600 mg·kg⁻¹,1 h 后眼球取血,3000 r·min⁻¹离心 10 min,取上清液用磷钨酸比色法测定血清尿酸水平。

2.2.2 金边蚂蟥不同组分对二甲苯引起小鼠耳郭肿胀的影响^[3]

取昆明小鼠 90 只,雄性,体重(20±2) g。随机分为

9组,每组10只,即对照组,地塞米松组($0.005\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$),金边蚂蟥干粉($2.0\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)组,金边蚂蟥活性成分(水蛭素)高、中、低剂量(2.0 、 1.0 、 $0.5\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)组,金边蚂蟥续滤粉(2.0 、 1.0 、 $0.5\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)。灌胃给药,1次/d,连续10 d。末次给药后1 h,在各小鼠左耳朵前后两面均匀涂抹二甲苯,30 min后处死小鼠,沿耳廓基线剪下两耳,用打孔器(直径8 mm)分别在同一部位打下耳片,称重,计算肿胀度和抑制率,肿胀度以小鼠左右耳片重量之差来计算,肿胀率=(左耳重-右耳重)/右耳重。

2.2.3 金边蚂蟥不同组分对醋酸引起引起小鼠扭体反应和热板痛阈值的影响^[3]

(1)对小鼠热板痛阈的影响

将90只预先经筛选的雌性小鼠(剔除痛阈值 $<5\text{ S}$ 或痛阈值 $>30\text{ S}$ 的小鼠),随机分成9组,即对照组,阳性对照组(罗通定, $0.05\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$),金边蚂蟥冻干粉($2.0\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)组,金边蚂蟥金边蚂蟥活性成分(水蛭素)(2.0 、 1.0 、 $0.5\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)组,金边蚂蟥续滤粉(2.0 、 1.0 、 $0.5\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)。各组灌胃给药1次,对照组给予等量生理盐水。给药60 min后,采用热板法检测痛阈值。

(2)对小鼠扭体反应的影响

取雄性小鼠90只,分组,给药方法同(1)。每只小鼠给药后1 h,腹腔注射0.6%醋酸溶液0.2 mL,5 min后,开始计各小鼠在10 min内的扭体反应次数。

2.3 统计学方法

数据采用SPSS 11.0统计软件分析,计量用 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间采用单因素方差分析, $P<0.05$ 为有统计学意义。

3 结果

3.1 活性组分筛选结果

3.1.1 金边蚂蟥不同极性溶剂提取物对高尿酸血症小鼠血清尿酸的影响

表1结果显示,和对照组比较,模型组血清尿酸水平显著升高($P<0.01$);与模型组比较,别嘌醇 $0.01\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$,金边蚂蟥冻干粉 $2.0\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$,金边蚂蟥水提物 2.0 、 1.0 和 $0.5\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 可显著降低血清尿酸水平($P<0.01$, $P<0.05$),金边蚂蟥石油醚提取物各剂量对高尿酸小鼠血清尿酸水平无显著影响。

3.1.2 金边蚂蟥不同极性溶剂提取物对二甲苯引起小鼠耳郭肿胀的影响

表2结果显示,和对照组比较,地塞米松组 $0.005\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$,金边蚂蟥冻干粉 $2.0\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$,金边蚂蟥水提物 2.0 、 1.0 和 $0.5\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 可明抑制二甲苯引起的小鼠

表1 金边蚂蟥不同溶剂提取物对高尿酸血症小鼠血清尿酸的影响($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	剂量/($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	尿酸/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)
对照组		99.38±26.58**
模型组		172.49±42.22
别嘌醇	0.01	46.07±22.58**
金边蚂蟥冻干粉	2.0	84.53±15.26**
金边蚂蟥水提物	2.0	90.62±39.95**
金边蚂蟥水提物	1.0	128.32±46.39*
金边蚂蟥水提物	0.5	122.61±31.36**
金边蚂蟥石油醚提取物	2.0	140.12±40.95
金边蚂蟥石油醚提取物	1.0	155.73±39.03
金边蚂蟥石油醚提取物	0.5	138.98±48.56

与模型组比较:* $P<0.05$,** $P<0.01$

表2 金边蚂蟥不同溶剂提取物对二甲苯引起小鼠耳郭肿胀的影响($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	剂量/($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	肿胀度/mg	抑制率/%
对照组	-	23.20±2.86	-
地塞米松	0.005	17.30±6.29**	25.43
金边蚂蟥冻干粉	2.0	20.30±2.06*	12.50
金边蚂蟥水提物	2.0	18.40±4.84*	20.69
金边蚂蟥水提物	1.0	19.10±3.51*	17.67
金边蚂蟥水提物	0.5	21.10±3.03*	9.05
金边蚂蟥石油醚提取物	2.0	20.90±2.92	9.91
金边蚂蟥石油醚提取物	1.0	20.30±2.87	12.50
金边蚂蟥石油醚提取物	0.5	20.70±2.54	10.78

与对照组比较:* $P<0.05$,** $P<0.01$

耳郭肿胀($P<0.05$),金边蚂蟥石油醚提取物各剂量对二甲苯引起的小鼠耳郭肿胀无显著影响。

3.1.3 金边蚂蟥不同极性溶剂提取物对醋酸引起引起小鼠扭体反应和热板痛阈值的影响

表3结果显示,和对照组比较,罗通定 $0.05\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$,金边蚂蟥冻干粉 $2.0\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$,金边蚂蟥水提物 $2.0\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 $1.0\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 可降低醋酸引起的小鼠扭体次数($P<0.01$, $P<0.05$),金边蚂蟥石油醚提取物各剂量对醋酸引起的小鼠扭体次数无显著影响。

3.2 活性成分筛选

3.2.1 金边蚂蟥金边蚂蟥不同组分对高尿酸血症小鼠血清尿酸的影响

表4结果显示,和对照组比较,模型组血清尿酸显著升高($P<0.01$);与模型组比较,别嘌醇 $0.01\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$,金边蚂蟥活性成分(水蛭素) 0.8 、 0.4 和 $0.2\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$,金边蚂蟥续滤粉 $2.0\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 $1.0\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 可降低血清尿酸水平($P<0.01$, $P<0.05$)。

表3 金边蚂蟥不同溶剂提取物对醋酸引起引起小鼠扭体反应和热板痛阈值的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	扭体次数/次	痛阈值	
			1 h/s	2 h/s
对照组		23.30±4.88	23.00±4.88	22.70±3.025
罗通定	0.005	11.30±5.58**	50.70±12.21**	51.80±10.44**
金边蚂蟥冻干粉	2.0	16.20±6.39**	30.10±11.54	32.00±14.16
金边蚂蟥水提取物	2.0	15.10±6.26**	30.90±10.98	38.40±11.10
金边蚂蟥水提取物	1.0	17.20±6.43*	30.60±11.61	30.70±12.28
金边蚂蟥水提取物	0.5	19.30±6.29	28.80±12.22	30.70±12.47
金边蚂蟥石油醚提取物	2.0	19.50±6.08	29.70±11.06	29.50±11.80
金边蚂蟥石油醚提取物	1.0	19.10±6.52	28.70±11.80	29.00±11.62
金边蚂蟥石油醚提取物	0.5	19.40±5.78	27.50±5.40	29.60±12.46

与对照组比较: *P < 0.05, **P < 0.01

表6 金边蚂蟥活性成分(水蛭素)对醋酸引起引起小鼠扭体反应和热板痛阈值的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	扭体次数/次	痛阈值	
			1 h/s	2 h/s
对照组	-	21.50±7.50	27.40±8.00	33.30±10.38
罗通定	0.05	12.20±5.20**	49.60±16.63**	51.10±13.76**
金边蚂蟥冻干粉	2.0	15.20±5.67*	38.70±12.28	44.90±10.94
水蛭素	0.8	15.20±4.89*	38.40±15.20	42.60±11.01
水蛭素	0.4	16.10±4.28	36.60±13.64	37.50±14.91
水蛭素	0.2	15.30±6.57	35.60±13.33	37.90±12.43
金边蚂蟥续滤粉	2.0	16.20±4.57	35.70±12.58	43.10±13.40
金边蚂蟥续滤粉	1.0	16.60±4.14	36.30±14.66	38.40±14.26
金边蚂蟥续滤粉	0.5	17.90±6.79	37.10±14.94	41.80±12.07

与对照组比较: *P < 0.05, **P < 0.01

表4 金边蚂蟥活性成分(水蛭素)对高尿酸血症小鼠血清尿酸的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	尿酸/(Umol·L ⁻¹)
对照组	-	126.63±27.61**
模型组	-	232.73±50.93
别嘌醇	0.01	61.23±29.84**
金边蚂蟥冻干粉	2.0	169.99±46.07
水蛭素	0.8	140.70±25.97**
水蛭素	0.4	149.07±39.28**
水蛭素	0.2	177.59±38.59*
金边蚂蟥续滤粉	2.0	176.45±44.43**
金边蚂蟥续滤粉	1.0	183.30±51.09*
金边蚂蟥续滤粉	0.5	219.42±41.68

与模型组比较: *P < 0.05, **P < 0.01

3.2.2 金边蚂蟥不同组分对二甲苯引起小鼠耳郭肿胀的影响

和对照组比较,地塞米松组 0.005 g·kg⁻¹,金边蚂

表5 金边蚂蟥活性成分(水蛭素)对二甲苯引起小鼠耳郭肿胀的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	肿胀度/mg	抑制率/%
对照组		22.80±2.86	
地塞米松	0.005	19.80±1.14**	13.16
金边蚂蟥冻干粉	2.0	20.60±1.90*	9.65
水蛭素	0.8	20.10±2.18*	11.84
水蛭素	0.4	19.80±2.57*	13.16
水蛭素	0.2	20.10±1.66*	11.84
金边蚂蟥续滤粉	2.0	20.85±1.60*	8.55
金边蚂蟥续滤粉	1.0	20.50±2.27	10.09
金边蚂蟥续滤粉	0.5	20.70±1.77	9.21

与对照组比较: *P < 0.05, **P < 0.01

蟥活性成分(水蛭素)0.8、0.4和0.2 g·kg⁻¹,金边蚂蟥续滤粉 2.0 g·kg⁻¹可明显抑制二甲苯引起小鼠耳郭肿胀(P < 0.05)(表5)。

3.2.3 金边蚂蟥不同组分对醋酸引起引起小鼠扭体反应和热板痛阈值的影响

表6结果显示,和对照组比较,罗通定,0.05 g·kg⁻¹,金边蚂蟥活性成分(水蛭素)0.8 g·kg⁻¹,可明降低醋酸引起的小鼠扭体次数(P < 0.05),金边蚂蟥续滤粉各剂量对醋酸引起的小鼠扭体无明显影响。

4 讨论

尿酸是鸟类和爬行类动物嘌呤代谢的最终产物,嘌呤的代谢紊乱,导致高尿酸血症发生。本病患病率受到多种因素的影响,与遗传、性别、年龄、生活方式、饮食习惯、药物治疗和经济发展程度等有关。尿酸是痛风的生化基础,并与高血压、高脂血症、动脉粥样硬化、肥胖、胰岛素抵抗、肾病、炎症、感染性疾病的严重程度、肿瘤溶解综合征、更年期综合征、器官移植并发症和某些疑难病症(阻塞性睡眠呼吸暂停、原发性干燥综合征等)的发生密切相关^[4-6],所以控制高尿酸血症对治疗痛风及高尿酸血症相关的疾病具有重要意义。基于金边蚂蟥良好的抗痛风作用且具有高效低毒等特点^[2],笔者试图通过不同的药理学方法探讨其抗痛风作用的物质基础。

本研究从大小两头极性溶剂(水、石油醚)提取金边蚂蟥筛选研究抗高尿酸痛风作用的活性成分,结果表明,金边蚂蟥抗痛风的主要活性部位是水溶性部位,其中水溶性成分水蛭素是主要的抗高尿酸痛风作用的

活性成分。由于加热易破坏活性成分,金边蚂蟥提取时在常温中进行。实验提示,金边蚂蟥续滤粉由于提取水蛭素不完全,表现出抗高尿酸痛风作用,提示可进一步回收利用。

现代药理学研究表明,水蛭素具有广泛的药理活性,在抗肿瘤^[7]、心脑血管疾病^[8]、肾脏^[9]、关节炎^[10]等方面都具有良好活性。但水蛭素在抗高尿酸、痛风的药理活性研究中,目前笔者未见国内(外)报道,本研究证实了水蛭素新的应用领域。

目前,临床上用于抗高尿酸血症的药物主要涉及减少尿酸生成和增加尿酸排泄两方面。近年来,人们

在植物药及中药复方中筛选出许多具有抗高尿酸血症的药物,为抗高尿酸血症药物的研究提供了研究基础^[11-12]。在动物类药物特别是昆虫类药物中也筛选出一些具有研究价值的药物,拟黑多刺蚁具有较好的抗高尿酸血症的作用^[13]。引起高尿酸的病理学基础尚未完全阐明,对高尿酸的研究主要集中在尿酸的合成和尿酸的排泄两个方向,影响尿酸合成的靶点主要为尿酸合成的关键酶-黄嘌呤氧化酶^[14],影响尿酸排泄主要关注肾脏小管的尿酸转移因子 Glut、OAT等^[15,16]。金边蚂蟥及其活性成分抗高尿酸作用的分子机制还有待进一步研究。

参考文献

- 广西壮族自治区食品药品监督管理局. 广西壮族自治区壮药质量标准, 2011.
- 刘喜华, 黄敏琪, 林忠文, 等. 金边蚂蟥抗痛风作用研究. 中草药, 2014, 45(12): 1747-1750.
- 李仪奎. 中药药理实验方法学. 上海: 上海科学技术出版社, 2006.
- Adachi S I, Yoshizawa F, Yagasaki K. Hyperuricemia in type 2 diabetic model KK-Ay/Ta mice: a potent animal model with positive correlation between insulin resistance and plasma high uric acid levels. *BMC Res Notes*. 2017, 10(1): 577.
- Wu J, Lei G, Wang X, et al. Asymptomatic hyperuricemia and coronary artery disease in elderly patients without comorbidities. *Oncotarget*, 2017, 8(46): 80688-80699.
- Palazzuoli A, Ruocco G, De Vivo O, et al. Prevalence of hyperuricemia in patients with acute heart failure with either reduced or preserved ejection fraction. *Am J Cardiol*, 2017, 120(7): 1146-1150.
- 吴晓强, 李豪侠. 重组水蛭素对人肝细胞癌生长的影响及分子机制研究. 中华中医药学刊, 2015, 32(6): 1634-1437.
- 张颖, 冯加纯, 吴江, 等. 水蛭素对大鼠实验性脑出血急性期保护作用的研究. 中国药理学杂志, 2006, 41(1): 69-72.
- 徐海燕, 陈学勋, 刘蒙蒙, 等. 水蛭素对肾病综合征患者凝血酶激活的纤溶抑制物的影响及疗效观察. 中成药, 2015, 37(4): 918-921.
- 张鸽, 黄炜. 脉血康胶囊联合甲氨蝶呤治疗类风湿性关节炎的临床观察. 中国药房, 2013, 44(24): 4167-4169.
- 任丽, 欧水平, 陈灵, 等. 虎杖提取物及其有效部位的大鼠抗痛风性关节炎试验. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(19): 111-115.
- 梁少瑜, 曾永长, 俞励平, 等. 基于尿酸转运蛋白的四妙散改良方降尿酸作用及机理探讨. 中药材, 2016, 39(11): 2610-2614.
- 韦桂宁, 苏启表, 曾宪彪, 等. 拟黑多刺蚁乙醇提取物石油醚部位抗痛风作用及物质基础研究. 中药药理与临床, 2013, 29(1): 99-103.
- 牛艳芬, 刘恺, 高丽辉, 等. 3,5,2',4'-四羟基查尔酮对小鼠血尿酸及肝脏 XOD/XDH 的影响. 中国药理学杂志, 2015, 50(1): 34-38.
- Frédéric P. Glut9 is a major regulator of urate homeostasis and its genetic inactivation induces hyperuricosuria and urate nephropathy. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(36): 15501-15506.
- Mandal A K, Mount D B. The molecular physiology of uric acid homeostasis. *Annu Rev Physiol*, 2015, 77: 323-345.

Study on Active Ingredients of Anti-gout in *Poecilobdella Manillensis* of Guangxi Featured Zhuang Medicine

Liu Xihua¹, Huang Sishi¹, Huang Minqi¹, Xiong Wanna¹, Zhou Weihai², Zhen Hanshen³, Liu Antao¹

(1. Guangxi Medical College, Nanning 530021, China; 2. Nanning Jinhai Keyken Biopharmtechnology Co. Ltd., Nanning 530001, China; 3. Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530001, China)

Abstract: Objective: To study the anti-gout effect of active ingredients in *Poecilobdella manillensis*. Methods: Hypoxanthine was used to replicate mouse model of hyperuricemia, and xylene was used to induce mouse auricle swelling model. The hot plate method and writhing method were used to screen the active site of *Poecilobdella manillensis*, and then the active

ingredients were screened. The material basis of anti-gout effect of *Poecilobdella manillensis* was observed. Results: The water-soluble fraction of *Poecilobdella manillensis* was the active site against gout, which could reduce the level of serum uric acid in hypoxanthine-induced hyperuricemic mice and inhibit xylene-induced auricular swelling in mice, deduce acetic acid-induced writhing reaction in mice and increase the hot plate pain threshold in mice; Hirudin was the main active ingredient in water-soluble parts. *Poecilobdella manillensis* active ingredient 0.8 g/kg and 0.4 g/kg and *Poecilobdella manillensis* residue 2.0 g/kg could significantly reduce serum uric acid levels. The serum uric acid levels decreased from 232.73 ± 50.93 umol/L in model group to 140.70 ± 25.97 umol/L, 149.07 ± 39.28 umol/L, 176.45 ± 44.33 umol/L, respectively ($P < 0.01$). *Poecilobdella manillensis* active ingredients 0.8 g/kg, 0.4 g/kg and 0.2 g/kg and *Poecilobdella manillensis* residue 2.0 g/kg could significantly inhibit xylene-induced ear auricle swelling in mice. The swelling degree was inhibited from 22.80 ± 2.86 mg to 20.10 ± 2.18 mg, 19.80 ± 2.57 mg, 20.10 ± 1.66 mg and 20.85 ± 1.60 mg respectively ($P < 0.05$). *Poecilobdella manillensis* 0.8 g/kg active ingredient could significantly reduce the number of writhing mice caused by acetic acid. The number of times was reduced from 22.80 ± 2.86 times to 20.10 ± 2.18 times ($P < 0.05$). Conclusion: *Poecilobdella manillensis* anti-gout activity is in water-soluble parts, and Hirudin is the main active ingredient.

Keywords: *Poecilobdella manillensis*, hirudin, high uric acid, inflammation, analgesia

(责任编辑:周哲琦 张娜娜,责任译审:王 昭)