

照组和积雪草苷各剂量组大鼠海马组织中IL-6、TNF- $\alpha$ 表达明显减少,PPAR- $\gamma$ 蛋白表达明显增加( $P < 0.01$ ),结果见表2、图2。

表2 各组大鼠海马组织中IL-6、TNF- $\alpha$ 和PPAR- $\gamma$ 蛋白表达水平测定结果( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Tab 2 The levels of IL-6, TNF- $\alpha$  and protein expression of PPAR- $\gamma$  in hippocampus tissue of rats in each group ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	IL-6, pg/ml	TNF- $\alpha$ , pg/ml	PPAR- $\gamma$ / $\beta$ -actin	A $\beta_{1-42}$
假手术组	480.40 $\pm$ 22.31	381.17 $\pm$ 33.71	0.92 $\pm$ 0.11	2.73 $\pm$ 0.07
模型组	1 250.56 $\pm$ 58.77**	1 490.97 $\pm$ 80.57**	1.15 $\pm$ 0.05**	32.51 $\pm$ 3.10**
积雪草苷低剂量组	780.55 $\pm$ 51.22**	810.56 $\pm$ 32.67**	1.25 $\pm$ 0.07**	15.70 $\pm$ 1.07**
积雪草苷中剂量组	750.51 $\pm$ 41.30**	742.38 $\pm$ 27.55**	1.29 $\pm$ 0.03**	11.72 $\pm$ 1.30**
积雪草苷高剂量组	670.14 $\pm$ 37.89**	680.24 $\pm$ 54.71**	1.38 $\pm$ 0.09**	10.57 $\pm$ 3.19**
阳性对照组	725.61 $\pm$ 32.47**	691.23 $\pm$ 25.19**	1.32 $\pm$ 0.05**	5.11 $\pm$ 2.47**

注:与假手术组比较, \*\* $P < 0.01$ ;与模型组比较, \*\* $P < 0.01$

Note: vs. sham operation group, \*\* $P < 0.01$ ; vs. model group, \*\* $P < 0.01$

0.01

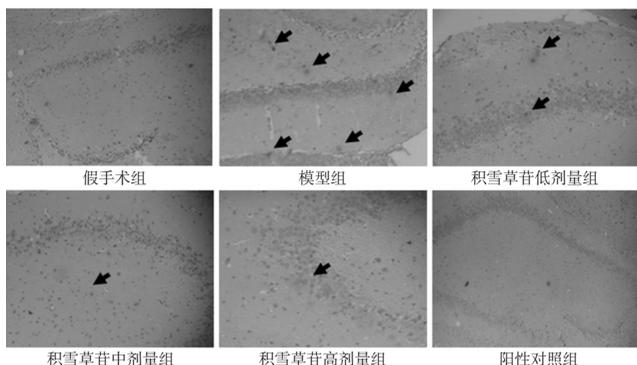


图1 各组大鼠海马组织中A $\beta_{1-42}$ 表达的免疫组化图( $\times 200$ )

Fig 1 Immunohistochemistry plot of the expression of A $\beta_{1-42}$  in hippocampus tissue of rats in each group ( $\times 200$ )

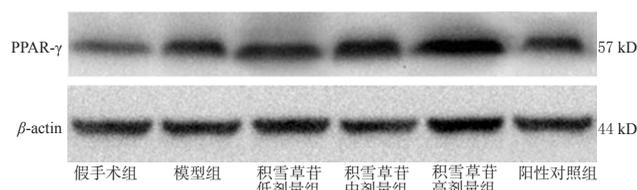


图2 各组大鼠海马组织中PPAR- $\gamma$ 蛋白表达的电泳图

Fig 2 Electrophoretogram of the protein expression of PPAR- $\gamma$  in hippocampus tissue of rats in each group

#### 4 讨论

目前认为,炎症反应可能是导致AD患者脑内病理特征形成和发展的因素之一,而A $\beta$ 是造成炎症反应的原因之一。A $\beta$ 沉积可以造成小胶质细胞激活,启动信号反应途径,产生炎症因子如IL-1、IL-6、TNF- $\alpha$ 等,最终导致神经元凋亡或死亡<sup>[8]</sup>。本研究通过在脑内注射A $\beta_{1-42}$ 模拟经典的大鼠AD模型。结果证实,积雪草苷干预后大鼠平均潜伏期缩短、跨越原平台次数增加,这提示积雪草苷可以改善脑内注射A $\beta_{1-42}$ 后大鼠空间学习能力。由于学习记忆能力与海马功能有关,本实验进一步观察了大鼠海马组织内中A $\beta_{1-42}$ 沉积情况。结果显示,积雪草苷干预后大鼠海马组织中A $\beta_{1-42}$ 沉积明显减少,这提示积雪草苷可能通过减少A $\beta_{1-42}$ 沉积从而改善大鼠的学习记忆能力。多奈哌齐片属于胆碱酯酶抑制剂,可以单独或者与其他药物联合应用治疗AD<sup>[9]</sup>,效果显著,因此在本研究中以其为阳性对照药。研究结果显示,积雪草苷在改善大鼠学习记忆能力的作用上与多奈哌齐片相似,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

A $\beta$ 造成的炎症反应包含了炎症因子TNF- $\alpha$ 和IL-6的释放,也涉及了PPAR- $\gamma$ 的激活。TNF- $\alpha$ 和IL-6作为两个重要的炎症因子,主要由中枢活化的小胶质细胞和血源性巨噬细胞产生。已有研究显示,AD患者脑脊液、皮质中IL-6表达明显增加,这与AD患者的老年斑呈现强烈的相关性(老年斑的形成与A $\beta$ 沉积有关),提示IL-6可能参与了A $\beta$ 沉积<sup>[10]</sup>。TNF- $\alpha$ 是介导AD患者脑内炎症性病理反应的关键性因子,也能促进小胶质细胞释放其他炎症因子,在AD患者海马各区表达明显增加<sup>[11]</sup>。本实验结果显示,A $\beta_{1-42}$ 脑内注射后大鼠海马组织中炎症因子TNF- $\alpha$ 、IL-6表达明显增加,积雪草苷干预后二者表达明显减少,这提示积雪草苷能够抑制炎症因子的生成。

PPAR- $\gamma$ 具有抑制炎症生成的作用,可能参与了AD的发生发展。在A $\beta$ 诱导下AD患者早期脑中PPAR- $\gamma$ 蛋白水平提高,这提示在AD早期PPAR- $\gamma$ 增加以抑制A $\beta$ 产生的炎症反应,从而产生一定代偿保护效应;之后PPAR- $\gamma$ 不再增加,失代偿后炎症损伤加重<sup>[12]</sup>。本实验结果显示,A $\beta_{1-42}$ 脑内注射后模型组大鼠海马组织中PPAR- $\gamma$ 蛋白表达明显增加,这提示A $\beta_{1-42}$ 脑内注射后可刺激PPAR- $\gamma$ 蛋白的表达。积雪草苷干预后大鼠海马组织中PPAR- $\gamma$ 蛋白表达进一步增加,这提示积雪草苷可能通过进一步诱导PPAR- $\gamma$ 蛋白的生成从而产生抗炎作用。

综上,积雪草苷可能通过诱导PPAR- $\gamma$ 蛋白生成、抑制TNF- $\alpha$ 和IL-6的释放,从而产生抗炎作用、减少A $\beta_{1-42}$ 沉积、改善大鼠的空间学习记忆能力。

#### 参考文献

- [1] Shie FS, Nivison M, Hsu PC, *et al.* Modulation of microglial innate immunity in Alzheimer's disease by activation of peroxisome proliferator-activated receptor gamma [J]. *Curr Med Chem*, 2009, 16(6):643.
- [2] Cai Z, Zhao B, Ratka A. Oxidative stress and  $\beta$ -amyloid protein in Alzheimer's disease[J]. *Neuromolecular Med*, 2011, 13(4):223.
- [3] Liu J, Wang LN, Jia JP. Peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  agonists for Alzheimer's disease and amnesic mild cognitive impairment: a systematic review and meta-analysis[J]. *Drugs Aging*, 2015, 32(1):57.
- [4] Hossain S, Hashimoto M, Katakura M, *et al.* Medicinal value of asiaticoside for Alzheimer's disease as assessed using single-molecule-detection fluorescence correlation spectroscopy, laser-scanning microscopy, transmission electron microscopy, and in silico docking[J]. *BMC Complement Altern Med*, 2015, 15(15):118.
- [5] Cai Z, Hussain MD, Yan LJ. Microglia, neuroinflammation, and  $\beta$ -amyloid protein in Alzheimer's disease[J]. *Int J Neurosci*, 2014, 124(5):307.
- [6] 石秋艳,张琪,孙鹏,等.多奈哌齐对血管性痴呆大鼠海马CA1区NF- $\kappa$ B及COX-2表达的影响[J]. *中风与神经疾病杂志*, 2010, 27(12):2.
- [7] 黄强,朱小区,吴春明,等.积雪草苷对非酒精性脂肪肝大鼠氧化应激的影响[J]. *江苏中医药*, 2016, 48(3):81.
- [8] 方芳,蒋安杰,晏勇,等.炎症因子及脂质代谢在阿尔茨海默病和血管性痴呆中的临床意义[J]. *中国老年学杂志*, 2010, 30(24):3 632.
- [9] 雷四英.阿立哌唑/利培酮联合多奈哌齐治疗阿尔茨海默病的临床观察[J]. *中国药房*, 2016, 27(2):253.
- [10] Zhang YY, Fan YC, Wang M, *et al.* Atorvastatin attenu-

# 芹菜素对氧嗪酸钾盐致高尿酸血症小鼠的降尿酸及肾保护作用机制研究<sup>Δ</sup>

缪明星<sup>1\*</sup>, 王星<sup>1</sup>, 陆琰<sup>1</sup>, 王欣<sup>2#</sup> (1. 中国药科大学药学院, 南京 210009; 2. 南京大学医学院附属鼓楼医院药剂科, 南京 210008)

中图分类号 R966 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)34-4794-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.34.13

**摘要** 目的: 研究芹菜素对氧嗪酸钾盐致高尿酸血症小鼠的降尿酸及肾保护作用机制。方法: 将50只小鼠按体质量随机分为正常组、模型组、别嘌呤醇组(5 mg/kg)与芹菜素低、高剂量组(40、80 mg/kg), 每组10只。除正常组外, 其余各组小鼠ig氧嗪酸钾250 mg/kg复制高尿酸血症模型, 造模后1 h, 各给药组小鼠ig相应药物, 正常组和模型组小鼠ig等体积生理盐水, 每天1次, 连续7 d。测定各组小鼠血尿酸、尿尿酸、24 h尿肌酐水平和肾脏转运体相关蛋白(mURAT1、mOCT1、mOCT2、mOCTN1、mOCTN2)表达水平。结果: 与正常组比较, 模型组小鼠血尿酸、尿尿酸、mURAT1水平显著升高, mOCT1、mOCT2、mOCTN1、mOCTN2水平和24 h尿肌酐水平显著降低( $P < 0.01$ 或 $P < 0.001$ ); 与模型组比较, 芹菜素低、高剂量组及别嘌呤醇组小鼠血尿酸、尿尿酸、mURAT1水平显著降低, 24 h尿肌酐水平、mOCT1、mOCT2、mOCTN1和mOCTN2水平显著升高( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 或 $P < 0.001$ )。结论: 芹菜素能降低氧嗪酸钾盐致高尿酸血症小鼠的尿酸水平, 保护肾脏; 其作用机制可能与下调小鼠肾脏中mURAT1水平, 上调mOCTN1、mOCTN2、mOCT1及mOCT2水平相关。

**关键词** 芹菜素; 高尿酸血症; 肾保护作用; 肾脏转运体相关蛋白; 机制; 小鼠

## Mechanism Study on Effects of Apigenin on Reducing Uric Acid and Renal Protection in Oteracil Potassium-induced Hyperuricemia Mice

MIAO Mingxing<sup>1</sup>, WANG Xing<sup>1</sup>, LU Yan<sup>1</sup>, WANG Xin<sup>2</sup> (1. School of Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China; 2. Dept. of Pharmacy, the Affiliated Drum Tower Hospital of Nanjing University Medical School, Nanjing 210008, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To investigate the mechanism of the effects of apigenin on reducing uric acid and renal protection in oteracil potassium-induced hyperuricemia mice. METHODS: 50 mice were randomly divided into normal group, model group, allopurinol group (5 mg/kg), apigenin low-dose and high-dose groups (40, 80 mg/kg), with 10 mice in each group. Except for normal group, other groups were given oteracil potassium 250 mg/kg intragastrically to induce hyperuricemia model; 1 h after modeling, treatment groups were given relevant medicine intragastrically, and normal group and model group were given constant volume of normal saline intragastrically, once a day, for consecutive 7 d. Blood uric acid, urine uric acid and 24 h creatinine levels, the expression of kidney transporter associated protein (mURAT1, mOCT1, mOCT2, mOCTN1 and mOCTN2) were all determined in each group. RESULTS: Compared with normal group, blood uric acid, urine uric acid and mURAT1 levels of model group were significantly increased, while the expressions of mOCT1, mOCT2, mOCTN1 and mOCTN2, 24 h creatinine were significantly decreased ( $P < 0.01$  or  $P < 0.001$ ). Compared with model group, blood uric acid, urine uric acid and mURAT1 levels of apigenin low-dose and high-dose groups, allopurinol group were significantly decreased, while 24 h creatinine, the expressions of mOCT1, mOCT2, mOCTN1 and mOCTN2 were increased significantly ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$  or  $P < 0.001$ ). CONCLUSIONS: Apigenin can reduce uric acid level of oteracil potassium-induced hyperuricemia mice and protect kidney, the mechanism of which may be associated with down-regulating the expression of mURAT1 and up-regulating the expressions of mOCTN1, mOCTN2, mOCT1 and mOCT2.

**KEYWORDS** Apigenin; Hyperuricemia; Renal protection; Kidney transporter associated protein; Mechanism; Mice

ates the production of IL-1 $\beta$ , IL-6, and TNF- $\alpha$  in the hippocampus of an amyloid  $\beta$  1-42-induced rat model of Alzheimer's disease[J]. *Clin Interv Aging*, 2013, 8(8):103.

[11] Yang YM, Shang DS, Zhao WD, *et al.* Microglial TNF-

<sup>Δ</sup> 基金项目: 中国药科大学中央高校基本科研业务费项目(No. ZJ16197)

\* 讲师, 硕士。研究方向: 药动学。电话: 025-86185307。E-mail: mmx0224@cpu.edu.cn

# 通信作者: 主管药师。研究方向: 药理学与药房管理。电话: 025-83304616。E-mail: 20031269@qq.com

$\alpha$ -dependent elevation of MHC class I expression on brain endothelium induced by amyloid-beta promotes T cell transendothelial migration[J]. *Neurochem Res*, 2013, 38(11):2295.

[12] Landreth GE, Heneka MT. Anti-inflammatory actions of peroxisome proliferator-activated receptor gamma agonists in Alzheimer's disease[J]. *Neurobiol Aging*, 2001, 22(6):937.

(收稿日期: 2016-07-13 修回日期: 2016-09-20)

(编辑: 林静)

高尿酸血症是一种严重危害人类健康的代谢性疾病,可造成肾功能不全。高尿酸血症与痛风、高血压、肾脏疾病及代谢综合征有关<sup>[1-2]</sup>,其标志是肾脏尿酸盐分泌功能受损<sup>[3]</sup>。目前有文献报道肾脏阴离子转运子,如尿酸盐转运子1(URAT1,编码为SLC22A12),在肾脏中介导尿酸盐的转运<sup>[4]</sup>。因此,高尿酸血症药物作用的靶点与肾脏有机离子转运子有关<sup>[5-6]</sup>。

芹菜中含有大量芹菜素,前期研究表明芹菜素可以降低高尿酸血症小鼠血清尿酸水平<sup>[7]</sup>。还有研究报道芹菜素对氧嗪酸盐诱导的高尿酸血症大鼠具有促尿酸排泄功能<sup>[8]</sup>。芹菜素对肝脏黄嘌呤氧化酶(XOD)活性的抑制作用与别嘌呤醇相比不足以逆转高尿酸血症小鼠的尿酸水平,表明芹菜素可能是通过其他途径调控肾脏尿酸盐转运的。目前关于芹菜素对氧嗪酸钾致小鼠高尿酸血症的降尿酸及肾保护作用机制研究尚不是很清楚,而小鼠肾脏尿酸盐转运系统和人比较相似<sup>[9]</sup>。因此,在本研究中笔者以氧嗪酸钾复制高尿酸血症小鼠模型,给药后评价芹菜素降尿酸活性,同时研究其与mURAT1、mOCT1、mOCT2、mOCTN1和mOCTN2等尿酸盐转运蛋白表达水平的相关性,为芹菜素的进一步研究提供实验依据。

## 1 材料

### 1.1 仪器

XHF-D 高速分散器(宁波新芝生物科技股份有限公司);5810R 高速冷冻离心机(德国 Eppendorf 公司);754 紫外-可见分光光度计(上海菁华科学仪器有限公司);7500 实时定量荧光聚合酶链反应(PCR)仪(美国 ABI 公司)、ChemiDoc XRS 化学发光成像系统(美国 Bio-Rad 公司)。

### 1.2 试剂

芹菜素(陕西慧科植物开发有限公司,批号:Ap20010124,纯度:≥98%);别嘌呤醇(批号:13053006,规格:25 g,含量:98%)、氧嗪酸钾(批号:12042001,规格:25 g,纯度:98%)均购自德国 Sigma 公司;尿酸测定试剂盒(南京拜傲斯生物科技有限公司,货号:700320);肌酐测定试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号:201401622);Trizol RNA 提取试剂盒、反转录试剂盒(美国 Invitrogen 公司,货号:15596026、18080051);小鼠 mOCT1、mOCT2 兔源单克隆抗体(美国 Thermo Scientific 公司,货号:PA528209、PA532526);小鼠 mOCTN1、mOCTN2 兔源单克隆抗体(美国 Santacruz 公司,货号:SC-19819、SC-19822);小鼠甘油醛-3-磷酸脱氢酶(mGAPDH)、 $\beta$ -actin 单克隆抗体(上海百研生物科技有限公司,货号:E021010、E021020);辣根过氧化物酶(HRP)标记的羊抗兔免疫球蛋白(Ig)G(南京生兴生物技术有限公司,货号:ESN134);其余试剂均为分析纯。

### 1.3 动物

KM 小鼠 50 只,♂,体质量(20±2)g,上海斯莱克实验动物有限责任公司[合格证号:SCXK(沪)2007-0005]。饲养环境:照明 12 h/d,环境温度(25±2)℃,湿度(55±5)%。

## 2 方法

### 2.1 分组、造模、给药与取样

将 50 只小鼠按体质量随机分为正常组、模型组、别嘌呤醇组(5 mg/kg)与芹菜素低、高剂量组(40、80 mg/kg),每组 10 只(剂量依据预实验及参考文献[8]确定)。除正常组外,其余各组小鼠 ig 氧嗪酸钾 250 mg/kg 以复制高尿酸血症模型。造模后 1 h,各给药组小鼠 ig 相应药物,正常组和模型组小鼠 ig 等体积生理盐水,每天 1 次,连续 7 d。末次给药后 1 h,各组小鼠于眼球静脉丛取血,离心(离心半径为 10 cm,3 000 r/min,下同)10 min,取血清,备用。之后脱颈椎处死小鼠,在冰台上取小鼠

肝脏和肾组织,用液氮冷冻后置于-80℃冰箱保存,备用。

### 2.2 各组小鼠血尿酸、尿尿酸、24 h 尿肌酐水平测定

给药第 6 d,于给药 1 h 后每组取 5 只小鼠置于代谢笼内,适应 1 d 后,于给药第 7 d 收集 24 h 尿液。尿液离心 10 min,取上清液,测量尿液体积,另取“2.1”项下血清,按试剂盒说明书方法操作分别测定各组小鼠血尿酸、尿尿酸、24 h 尿肌酐水平。

### 2.3 各组小鼠肾脏转运体蛋白表达水平的测定

取肾脏皮质刷状缘膜(BBMV)蛋白测定 mURAT1、mOCTN1、mOCTN2 和  $\beta$ -actin 的蛋白表达,取肾脏皮层蛋白测定 mOCT1、mOCT2 和 mGAPDH 的蛋白表达。按文献[10]的方法提取“2.1”项下小鼠肾组织中 BBMV 蛋白及肾脏皮层蛋白。采用考马斯亮蓝法测定 BBMV 和肾皮质上清中的蛋白含量,以牛血清蛋白为标准品。蛋白统一稀释后,在沸水中煮 5 min 备用。样品经 12% 的分离胶行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺(SDS-PAGE)凝胶电泳分离后,在 300 mA 条件下将蛋白转移到聚偏二氟乙烯(PVDF)膜上 100 min,在 5% 脱脂奶粉封 2 h 后取出膜,刷状缘膜蛋白分别用 mURAT1(1:1 000, *V/V*,下同)、mOCTN1(1:1 000)、mOCTN2(1:1 000)一抗和内参  $\beta$ -actin(1:1 000),肾脏皮层蛋白分别用 mOCT1(1:2 000)、mOCT2(1:2 000)和内参 mGAPDH(1:5 000),在 4℃ 条件下孵育过夜。磷酸盐-吐温缓冲液(PBST)洗膜后加入 HRP 标记的羊抗兔 IgG 二抗(1:10 000),化学发光法显影。采用 ChemiDoc XRS 凝胶成像系统进行信号扫描,测定条带灰度值,采用 Quantity One 4.62 软件进行定量分析,以目的基因与内参  $\beta$ -actin 灰度值比值表示目的基因的相对表达水平。

### 2.4 统计学方法

采用 SPSS 19.0 统计软件对所得数据进行分析。所用数据采用  $\bar{x} \pm s$  表示,采用单因素方差分析,组间比较采用 LSD 法。 $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

## 3 结果

### 3.1 各组小鼠血尿酸、尿尿酸及 24 h 尿肌酐水平测定结果

与正常组比较,模型组小鼠血尿酸、尿尿酸水平显著升高,24 h 尿肌酐水平显著降低( $P < 0.01$ );与模型组比较,芹菜素低、高剂量组及别嘌呤醇组小鼠血尿酸、尿尿酸水平显著降低,24 h 尿肌酐水平显著升高( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ),详见表 1。

表 1 各组小鼠血尿酸、尿尿酸、24 h 尿肌酐水平测定结果( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Tab 1 Results of blood uric acid, urine uric acid and 24 h creatinine levels of mice in each group ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量,mg/kg	血尿酸,mg/L	尿尿酸,mg/L	24 h 尿肌酐,mg/dl
正常组		34.78±2.09	0.95±0.08	24.19±1.46
模型组		45.85±3.08**	1.26±0.07**	17.13±1.26**
芹菜素低剂量组	40	35.29±4.27**	1.08±0.05**	23.44±2.01**
芹菜素高剂量组	80	30.57±4.02**	0.96±0.08**	25.82±1.97**
别嘌呤醇组	5	18.38±2.44**	1.03±0.09**	19.99±1.28*

注:与正常组比较,\*\* $P < 0.01$ ;与模型组比较,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$

Note: vs. normal group, \*\* $P < 0.01$ ; vs. model group, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$

### 3.2 各组小鼠肾脏转运体相关蛋白表达水平的测定

与正常组比较,模型组小鼠 mURAT1 水平显著升高, mOCT1、mOCT2、mOCTN1、mOCTN2 水平显著降低( $P < 0.001$ );与模型组比较,芹菜素低、高剂量组、别嘌呤醇组小鼠 mURAT1 水平显著降低, mOCT1、mOCT2、mOCTN1 和 mOCTN2 水平显著升高( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$  或  $P < 0.001$ ),详见图 1、图 2。

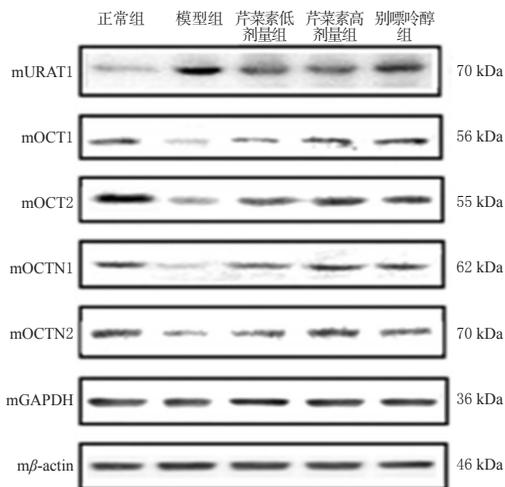


图1 各组小鼠肾脏尿酸转运体相关蛋白水平测定电泳图  
Fig 1 Electrophoretogram for the determination of renal uric acid transporter related protein of mice in each group

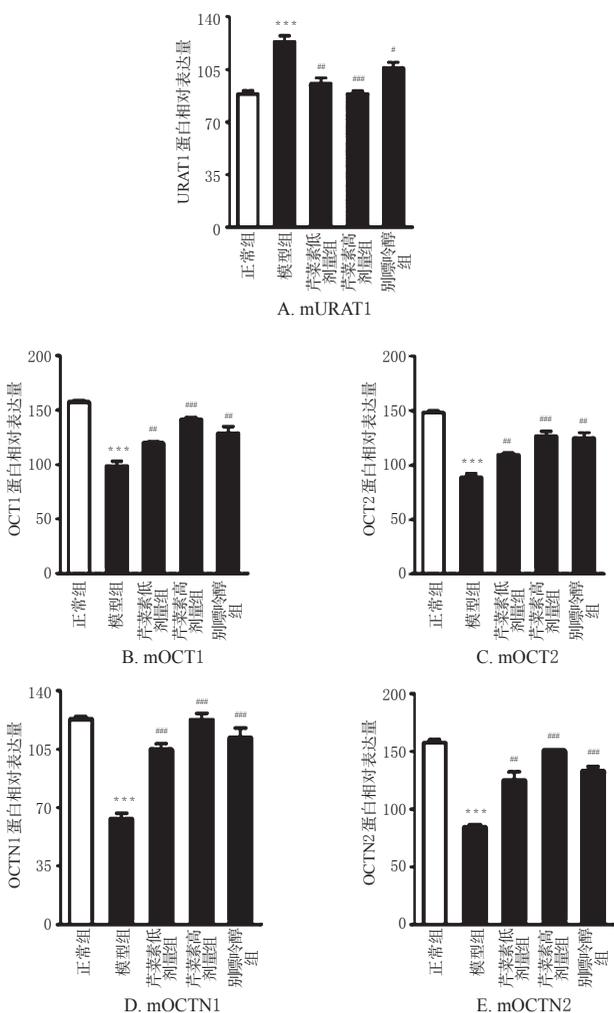


图2 各组小鼠肾脏尿酸转运体相关蛋白表达测定结果  
注:与正常组比较,\*\*\* $P < 0.001$ ;与模型组比较,# $P < 0.05$ ,# $P < 0.01$ ,## $P < 0.001$   
Fig 2 The expression of kidney transporter associated protein in mice in each group  
Note: vs. normal group, \*\*\* $P < 0.001$ ; vs. model group, # $P < 0.05$ ,# $P < 0.01$ ,## $P < 0.001$

## 4 讨论

芹菜素具有促尿酸排泄、改善肾功能的作用,具体表现为其可显著降低高尿酸血症小鼠血尿酸、尿尿酸水平。食物和细胞中若含有大量的嘌呤类化合物,则伴随着尿液尿酸盐水平的上升,可能会导致患者体内血清尿酸盐水平的升高,由于人缺乏尿酸酶无法将尿酸降解成尿囊素,故尿酸是人体内嘌呤代谢的终产物。目前有研究显示连续ig芹菜素7 d可明显降低小鼠24 h尿尿酸水平<sup>[11]</sup>。本研究结果表明,芹菜素低、高剂量及别嘌呤醇均可显著降低高尿酸血症小鼠的血尿酸、尿尿酸水平,同时显著升高24 h尿肌酐水平。

芹菜素还可能通过其他机制降尿酸以保护肾功能。肾脏有机离子转运子对尿酸盐转运及改善肾功能发挥着重要作用。目前已有研究证实氧嗪酸钾诱导的高尿酸血症大鼠肾脏组织有机阴离子转运蛋白1(rOAT1)的mRNA和蛋白表达同时降低<sup>[12]</sup>。同时芹菜素可以改善四氧嘧啶造成的糖尿病小鼠肾功能异常从而发挥其肾保护作用,这可能与芹菜素调节肾脏尿酸转运体的作用相关<sup>[13]</sup>。本研究表明,芹菜素对氧嗪酸钾致小鼠高尿酸血症具有明显的改善作用,其作用机制可能与下调高尿酸血症小鼠肾脏mURAT1水平的表达,降低肾脏尿酸盐重吸收能力,以及上调肾脏mOCT1、mOCT2、mOCTN1和mOCTN2表达水平相关。

综上所述,本研究证实芹菜素是防治小鼠高尿酸血症合并肾功能不全的一种潜在药物,这为研究芹菜素降尿酸活性及肾功保护机制提供了新思路。

## 参考文献

- [1] Bellomo G. The relationship between uric acid, allopurinol, cardiovascular events, and kidney disease progression: a step forward[J]. *Am J Kidney Dis*, 2015, 65(4): 525.
- [2] Dehghan A, Van HM, Sijbrands EJ, et al. High serum uric acid as a novel risk factor for type 2 diabetes[J]. *Diabetes Care*, 2008, 31(2): 361.
- [3] Eraly SA, Vallon V, Rieg T, et al. Multiple organic anion transporters contribute to net renal excretion of uric acid [J]. *Physiol Genomics*, 2008, 33(2): 180.
- [4] Caulfield MJ, Munroe PB, O' Neill D, et al. SLC2A9 is a high-capacity urate transporter in humans[J]. *PLoS Med*, 2008, 5(10): e197.
- [5] 胡庆华,朱继孝,李宁,等. 栀子苷对氧嗪酸钾致小鼠高尿酸血症的作用及其机制研究[J]. *中南药学*, 2013, 11(10): 722.
- [6] Hu QH, Zhu JX, Ji J, et al. Fructus gardenia extract ameliorates oxonate-induced hyperuricemia with renal dysfunction in mice by regulating organic ion transporters and mOIT3[J]. *Molecules*, 2013, 18(8): 8 976.
- [7] Wang X, Wang CP, Hu QH, et al. The dual actions of Sanmiao wan as a hypouricemic agent: down-regulation of hepatic XOD and renal mURAT1 in hyperuricemic mice[J]. *J Ethnopharmacol*, 2010, 128(1): 107.
- [8] Hu QH, Jiao RQ, Wang X, et al. Simiao pill ameliorates urate underexcretion and renal dysfunction in hyperuricemic mice[J]. *J Ethnopharmacol*, 2010, 128(3): 685.
- [9] 孙秀琴,李荣华,唐涛. 芹菜素抗氧化作用进展 [J]. *中药药理与临床*, 2012, 28(1): 42.

# 阿苯达唑纳米微粉在大鼠体内的药动学研究<sup>Δ</sup>

马运芳\*, 王建华, 陈 迹#, 任洁如(新疆医科大学第一附属医院药学部, 乌鲁木齐 830011)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)34-4797-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.34.14

**摘要** 目的:研究阿苯达唑(ABZ)纳米化后在大鼠体内的药动学变化,为ABZ纳米制剂的进一步研发奠定基础。方法:将16只大鼠随机分为ABZ原料药组(ABZ原料药混悬液)与ABZ纳米微粉组(ABZ纳米微粉混悬液),每组8只,ig给药,剂量为63 mg/kg。各组大鼠于给药0.5、1、2、4、8、12、24、36、48、72 h后眼眶采血0.2~0.3 ml,以甲苯咪唑为内标,采用反相高效液相色谱法(RP-HPLC)测定各时间点药物血药浓度,并采用3p97药动学软件拟合药动学参数。结果:ABZ原料及纳米微粉在大鼠体内的药动学符合二室模型,ABZ原料药组、ABZ纳米微粉组大鼠的 $c_{max}$ 分别为(3.20±1.41)、(6.11±0.74) μg/ml, $t_{max}$ 分别为(3.42±0.91)、(3.15±0.27) h, $t_{1/2}$ 分别为(7.53±1.20)、(6.26±0.85) h, $AUC_{0-72 h}$ 分别为(49.90±15.50)、(78.36±8.78) μg·h/ml, $AUC_{0-∞}$ 分别为(52.30±10.10)、(80.27±8.26) μg·h/ml。与ABZ原料药组比较,ABZ纳米微粉组大鼠的 $c_{max}$ 、 $AUC_{0-72 h}$ 、 $AUC_{0-∞}$ 均显著升高( $P<0.05$ )。结论:ABZ纳米化后在一定程度上提高了药物的吸收速率,增加了药物的吸收,提高了ABZ的口服生物利用度。

**关键词** 阿苯达唑;纳米微粉;药动学;大鼠

## Pharmacokinetics Study of Albendazole Nano-powder in Rats

MA Yunfang, WANG Jianhua, CHEN Ji, REN Jieru (Dept. of Pharmacy, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To study the pharmacokinetic change of albendazole (ABZ) in rats after nanocrystallization, and to lay a foundation for further study of ABZ nano-preparation. METHODS: 16 rats were randomly divided into ABZ raw material (ABZ suspension) group and ABZ nano-powder (ABZ nano-powder suspension) group, with 8 rats in each group. They were given relevant medicine 63 mg/kg intragastrically. 0.2-0.3 ml blood samples were collected from orbital cavity 0.5, 1, 2, 4, 8, 12, 24, 36, 48, 72 h after medication, respectively. Using mebendazole as internal standard, blood concentration of ABZ were determined by RP-HPLC, and pharmacokinetics parameters were calculated by using 3p97 software. RESULTS: The pharmacokinetics of ABZ raw material and ABZ nano-powder in rats were in line with two-compartment model. The main pharmacokinetic parameters of ABZ raw material group vs. ABZ nano-powder group were as follows as  $c_{max}$  (3.20±1.41) μg/ml vs. (6.11±0.74) μg/ml;  $t_{max}$  (3.42±0.91) h vs. (3.15±0.27) h;  $AUC_{0-72 h}$  (49.90±15.50) μg·h/ml vs. (78.36±8.78) μg·h/ml;  $AUC_{0-∞}$  (52.30±10.10) μg·h/ml vs. (80.27±8.26) μg·h/ml. Compared with ABZ raw material group,  $c_{max}$ ,  $AUC_{0-72 h}$  and  $AUC_{0-∞}$  of ABZ nano-powder group were increased significantly ( $P<0.05$ ). CONCLUSIONS: The nanocrystallization of ABZ can enhance the absorbability rate and improve the absorption of drugs to some extent, and it also improves oral bioavailability of ABZ.

**KEYWORDS** Albendazole; Nano-powder; Pharmacokinetics; Rats

阿苯达唑(ABZ)为世界卫生组织(WHO)推荐的抗棘球蚴病(又称包虫病)的首选药<sup>[1]</sup>,难溶于水和多数有机溶剂<sup>[2]</sup>,生物利用度低<sup>[3]</sup>,这在一定程度上限制了ABZ抗包虫病的药效。针对ABZ的难溶性质,笔者前期采用纳米技术制得了ABZ纳米微粉<sup>[4]</sup>,使其溶解度显著提高,较ABZ原料药有更广阔的应用前景。但相关研究同时显示,当颗粒的大小进入纳米量级,其理化性质可能发生较大甚至根本性的改变<sup>[5]</sup>。这些理化性质

的改变使得纳米药物呈现出与原料药及常规制剂不同的生物药剂学和药动学特点<sup>[6]</sup>。纳米药物晶型的变化、分散团聚性能的改变、溶解度的增减都可能影响纳米药物在体内的药效学和药动学过程<sup>[7]</sup>。基于此,笔者考察了ABZ原料药与ABZ纳米制剂在大鼠体内的药动学参数,为ABZ纳米制剂的进一步研发应用奠定基础。

## 1 材料

- [10] Keembiyehetty C, Augustin R, Carayannopoulos MO, et al. Mouse glucose transporter 9 splice variants are expressed in adult liver and kidney and are up-regulated in diabetes[J]. *Mol Endocrinol*, 2006, 20(3):686.
- [11] Anzai N, Kanai Y, Endou H, et al. New insights into re-

nal transport of urate[J]. *Curr Opin Rheumatol*, 2007, 19(2):151.

- [12] Habu Y, Yano I, Takeuchi A, et al. Decreased activity of basolateral organic ion transports in hyperuricemic rat kidney: roles of organic ion transporters, rOAT1, rOAT3 and rOCT2[J]. *Biochem Pharmacol*, 2003, 66(6):1107.

- [13] 费曜,罗华丽,刘凡. 栀子对四氧嘧啶糖尿病小鼠糖代谢及肾功能的影响[J]. *中药药理与临床*, 2012, 28(1):42.

(收稿日期:2016-06-13 修回日期:2016-09-18)

(编辑:刘明伟)

Δ 基金项目:新疆包虫病重点实验室项目(No.XJDX0202-2013-5)

\* 主管药师,硕士。研究方向:药物新制剂与新剂型。电话:0991-4361602。E-mail:yunfang0816@163.com

# 通信作者:主任药师,硕士。研究方向:临床药理学、药物新剂型与新制剂。电话:0991-4361602。E-mail:chenji700318@163.com