

# 大豆异黄酮抗高尿酸血症活性研究初探

陈玉胜

(南京晓庄学院 生物化工与环境工程学院,江苏 南京 211171)

**摘要:**为研制新型无副作用的降血尿酸药物,在氧嗪酸钾盐诱导小鼠产生高尿酸血症模型的基础上,探讨大豆异黄酮的抗高尿酸活性。将昆明雄性小鼠随机分为6组,即正常对照组、高尿酸血症模型对照组、模型给药组(分为大豆异黄酮25,50和100 mg·kg<sup>-1</sup>剂量组、别嘌醇5 mg·kg<sup>-1</sup>剂量组)。连续7 d每天灌胃氧嗪酸钾盐(250 mg·kg<sup>-1</sup>)1 h后灌胃给药。分别测定血清尿酸、肌酐与尿素氮水平及尿液尿酸和肌酐水平。结果表明:与高尿酸血症模型组相比,大豆异黄酮显著或极显著降低高尿酸血症小鼠血清尿酸、肌酐和尿素氮水平,提高24 h尿液尿酸和肌酐排泄量以及尿酸排泄分数。综合考虑,大豆异黄酮通过促进肾脏尿酸排泄作用,从而体现抗高尿酸活性。

**关键词:**大豆异黄酮;高尿酸血症;氧嗪酸钾盐;小鼠

**中图分类号:**R151      **文献标识码:**A      **文章编号:**1000-9841(2013)02-0279-04

## Study on Anti-hyperuricemia Activity of Soybean Isoflavone

CHEN Yu-sheng

(School of Biochemical and Environmental Engineering, Nanjing Xiaozhuang University, Nanjing 211171, China)

**Abstract:** The anti-hyperuricemia activity of soybean isoflavone in hyperuricemic mice induced by potassium oxonate was discussed. Kunming male mice were divided randomly into normal control group, and 5 hyperuricemic groups with model control, 5 mg·kg<sup>-1</sup> allopurinol and 25, 50, 100 mg·kg<sup>-1</sup> soybean isoflavone. Mice were orally administered once daily with 250 mg·kg<sup>-1</sup> potassium oxonate for 7 continuous days to create the model. Three doses of soybean isoflavone were orally initiated on the day 1 h after potassium oxonate was given, separately. Serum uric acid, creatinine and urea nitrogen levels, as well as urinary uric acid and creatinine levels were measured. The results indicated that, compared with model group, soybean isoflavone significantly reduced serum uric acid, creatinine and urea nitrogen levels, increased 24 h uric acid and creatinine excretion, and fractional excretion of uric acid in hyperuricemic mice. In conclusion, the anti-hyperuricemia effect of soybean isoflavone was attributed to uric acid excretion enhancement.

**Key words:** Soybean isoflavone; Hyperuricemia; Potassium oxonate; Mice

随着人们工作节奏的加快和生活水平的提高以及运动时间的减少,高尿酸血症的发病率呈现逐年上升趋势。高尿酸血症是痛风形成的关键因素,而且与肾损伤、心血管疾病、高血压、高血脂、糖尿病及代谢综合征密切相关<sup>[1-3]</sup>。目前有效、安全、经济的降血尿酸药物甚少,如促进尿酸排泄类或黄嘌呤氧化酶抑制剂类的降尿酸药物具有胃肠道毒副作用、骨髓造血功能抑制、肾毒害和过敏等临床症状,这些副作用限制了它们的临床应用<sup>[4-6]</sup>。因此,研制新型无副作用的降血尿酸药物具有重要意义。

大豆异黄酮(soybean isoflavone, SI)是大豆中多酚类化合物的总称,是大豆食品中重要的生理活性物质。研究发现,大豆异黄酮的结构与雌激素相似,可防治一些和雌激素水平下降有关的病症,如更年期综合征、骨质疏松、血脂升高、乳腺癌、子宫内膜癌、老年性痴呆等。近年来发现,大豆异黄酮对肾病病人的肾功能表现出一种有益的影响,很多

肾病如肾病综合征可以并发高脂血症。因此,降低血脂以保护肾功能,是肾病治疗的一个很重要的组成部分,大豆异黄酮具有降血脂作用,可以保护肾功能<sup>[7]</sup>。另据报道,大豆异黄酮在体外表现出利尿活性,可以抑制Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-Cl<sup>-</sup>跨膜转运,保证有足够的血流量,有利尿作用。因此,大豆异黄酮可以防治肾病<sup>[8]</sup>。现通过应用氧嗪酸钾盐诱导的小鼠高尿酸血症模型探讨大豆异黄酮的抗高尿酸血症功效,为抗高尿酸新药研发开辟新的思路。

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料

1.1.1 试验动物 供试动物为60只健康雄性昆明小鼠(20±2)g,购自南京青龙山动物中心。饲养在温度为(24±2)℃的室内,12 h光照/12 h黑暗,自由饮水进食,适应7 d。

1.1.2 主要试剂 大豆异黄酮、氧嗪酸钾盐和别

收稿日期:2013-01-09

基金项目:江苏省高等学校大学生实践创新项目(2160081)。

第一作者简介:陈玉胜(1968-),男,硕士,实验师,主要从事植物生理生化研究。E-mail:yschen@njxzc.edu.cn。

嘌呤醇购自 Sigma 公司,肌酐和尿素氮试剂盒购自南京建成生物工程研究所。

1.2 方法

1.2.1 试验设计 将 60 只昆明小鼠随机分成 6 组,每组 10 只。即处理 1 为正常对照组,处理 2 为高尿酸血症模型对照组,处理 3 ~ 处理 6 为模型给药组。其中处理 3 的药剂为 5 mg · kg<sup>-1</sup> 别嘌呤醇,处理 4 ~ 处理 6 的药剂为 25,50 和 100 mg · kg<sup>-1</sup> 大豆异黄酮。其中,处理 2 ~ 处理 6 用 250 mg · kg<sup>-1</sup> 氧嗪酸钾盐每天 8:00 灌胃造模;处理 3 ~ 处理 6 连续 7 d 在造模后 1 h 灌胃给药。所有药物需均匀分散在蒸馏水中。处理 1 灌胃前 1 h 断粮不断水,所有程序遵循中国小动物保护协会的要求。

1.2.2 尿液收集与处理 连续处理 6 d 后,所有动物转移至代谢笼内,同样自由饮水饮食,收集每一个代谢笼内小鼠 24 h 尿液,尿液样品离心(2 000 g, 10 min),取上清液用于尿液尿酸和肌酐的测定。

1.2.3 血清样品收集 第 7 天试验各组处理完成后 1 h,对小鼠摘眼球取血,血液经离心(12 000 g, 10 min)后取血清,用于测定血尿酸、肌酐和血清尿素氮。

1.2.4 尿酸、肌酐和尿素氮含量测定 血清和尿液尿酸含量的测定采用磷钨酸法<sup>[9]</sup>,肌酐和尿素氮含量的测定采用标准试剂盒法。尿酸排泄分数(fractional excretion of uric acid,FEUA)采用如下算式计算:FEUA = (尿液尿酸 × 血清肌酐)/(血尿酸 × 尿肌酐) × 100。

1.3 数据分析

所有实验结果以均值 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示( $n = 10$ )。采用 SPSS 13.0 进行单因素方差分析,两组均数间差异采用  $t$  检验, $P < 0.05$  认为差异具有统计学意义。

2 结果与分析

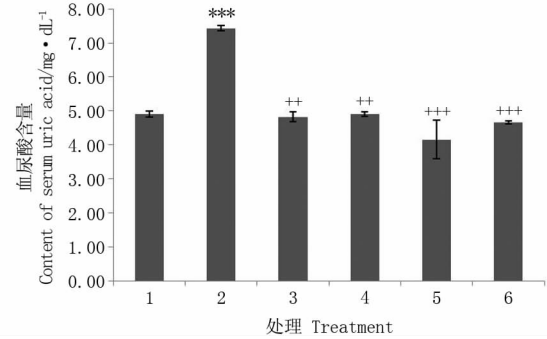
2.1 血尿酸水平

图 1 表明,250 mg · kg<sup>-1</sup> 氧嗪酸钾盐诱导的高尿酸血症模型组小鼠的血尿酸水平极显著高于正常对照组( $P < 0.001$ );模型给药组大豆异黄酮(SI)各剂量组(25,50 和 100 mg · kg<sup>-1</sup>)和别嘌呤组(5 mg · kg<sup>-1</sup>)血尿酸水平均极显著低于模型对照组。

2.2 尿液尿酸水平

图 2 表明,250 mg · kg<sup>-1</sup> 氧嗪酸钾盐诱导的高尿酸血症模型组小鼠的尿液尿酸水平极显著低于正常对照组( $P < 0.01$ );模型给药组 SI 各剂量组(25, 50 和 100 mg · kg<sup>-1</sup>)和别嘌呤组(5 mg · kg<sup>-1</sup>)尿液

尿酸水平均显著或极显著高于模型对照组,其中 100 mg · kg<sup>-1</sup> SI 组与别嘌呤组(5 mg · kg<sup>-1</sup>)水平相当。



相对于正常对照组,\*\*\*  $P < 0.001$ ,\*\*  $P < 0.01$ ,\*  $P < 0.05$ ;相对于高尿酸血症模型组,+++  $P < 0.001$ ,++  $P < 0.01$ ,+  $P < 0.05$ 。下同。

\*\*\*  $P < 0.001$ ,\*\*  $P < 0.01$  and \*  $P < 0.05$  as compared to the control group. ###  $P < 0.001$ ,##  $P < 0.01$  and #  $P < 0.05$  as compared to the oxonate-induced group. The same below.

图 1 不同处理对氧嗪酸钾盐诱导的高尿酸血症小鼠血尿酸水平的影响

Fig.1 Effects of different treatments on the level of serum uric acid in oxonate – induced hyperuricemic mice

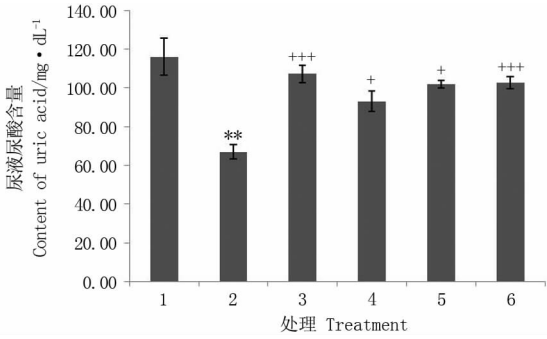


图 2 不同处理对氧嗪酸钾盐诱导的高尿酸血症小鼠尿液尿酸水平的影响

Fig.2 Effects of different treatments on the level of urine uric acid in oxonate-induced hyperuricemic mice

2.3 血肌酐水平

图 3 表明,250 mg · kg<sup>-1</sup> 氧嗪酸钾盐诱导的高尿酸血症模型组小鼠的血肌酐水平极显著高于正常对照组( $P < 0.01$ );剂量为 50 和 100 mg · kg<sup>-1</sup> SI 组和别嘌呤组(5 mg · kg<sup>-1</sup>)都显著或极显著降低模型动物血清肌酐水平,而 25 mg · kg<sup>-1</sup> SI 组作用效果不显著。

2.4 尿肌酐水平

图 4 表明,250 mg · kg<sup>-1</sup> 氧嗪酸钾盐诱导的高尿酸血症模型组小鼠的尿肌酐水平极显著低于正常对照组( $P < 0.01$ );SI 各剂量组(25,50 和 100 mg · kg<sup>-1</sup>)和别嘌呤组(5 mg · kg<sup>-1</sup>)都显著或极显著提高模型动物尿肌酐水平,而且 100 mg · kg<sup>-1</sup> SI 组的作用效

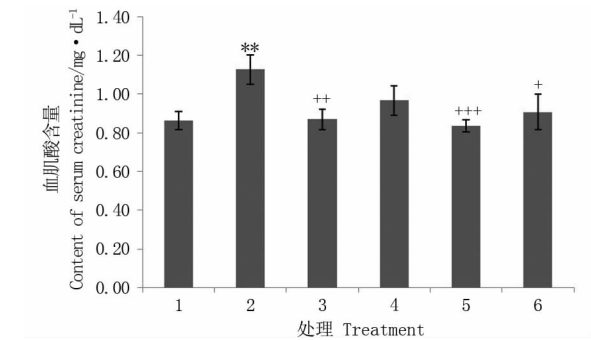


图3 不同处理对氧嗉酸钾盐诱导的高尿酸血症小鼠血肌酐水平的影响

Fig.3 Effects of different treatments on the level of serum creatinine in oxonate-induced hyperuricemic mice

果与别嘌醇组的作用效果相当。

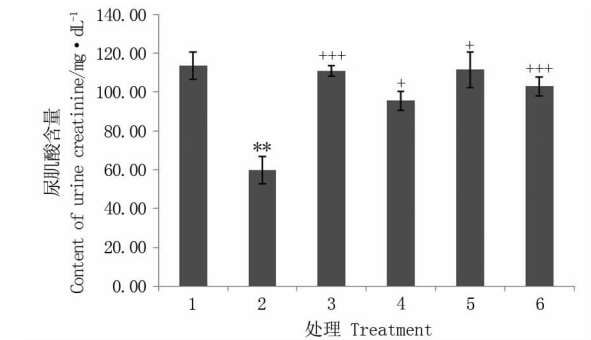


图4 不同处理对氧嗉酸钾盐诱导的高尿酸血症小鼠尿肌酐水平的影响

Fig.4 Effects of different treatments on the level of urine creatinine in oxonate-induced hyperuricemic mice

2.5 血清尿素氮含量

图5表明,250 mg·kg<sup>-1</sup>氧嗉酸钾盐诱导的高尿酸血症模型组小鼠的血清尿素氮水平极显著高于正常对照组( $P<0.01$ );剂量为50和100 mg·kg<sup>-1</sup> SI组和别嘌醇组(5 mg·kg<sup>-1</sup>)都极显著降低模型动物血清尿素氮水平,而25 mg·kg<sup>-1</sup> SI组作用效果不显著。

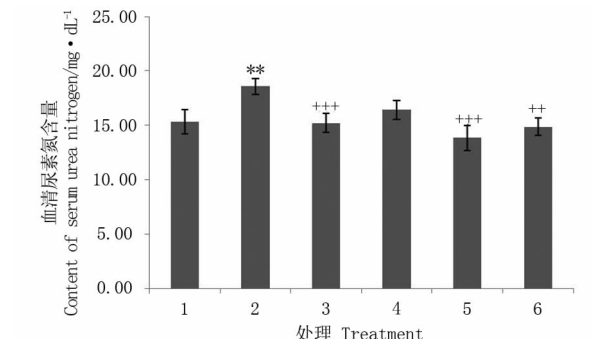


图5 不同处理对氧嗉酸钾盐诱导的高尿酸血症小鼠血清尿素氮水平的影响

Fig.5 Effects of different treatments on the level of serum urea nitrogen in oxonate-induced hyperuricemic mice

2.6 尿酸排泄分数

图6表明,250 mg·kg<sup>-1</sup>氧嗉酸钾盐诱导的高尿酸血症模型组小鼠的尿酸排泄分数(FEUA)极显著低于正常对照组( $P<0.01$ )。与高尿酸血症模型组比较,模型给药组(25,50,100 mg·kg<sup>-1</sup> SI组和5 mg·kg<sup>-1</sup>别嘌醇组)的FEUA水平都极显著提高。

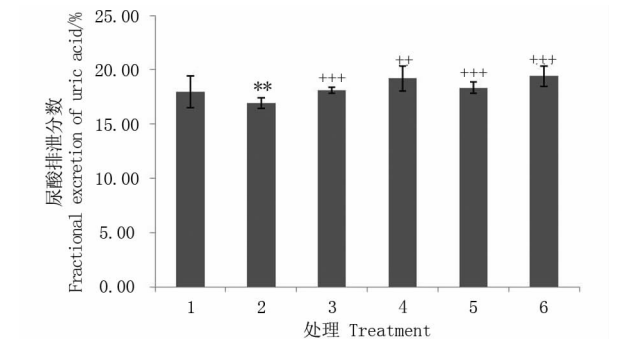


图6 不同处理对氧嗉酸钾盐诱导的高尿酸血症小鼠FEUA水平的影响

Fig.6 Effects of different treatments on the level of FEUA in oxonate-induced hyperuricemic mice

3 讨论

随着人们饮食中高蛋白、高嘌呤含量的增加,高尿酸血症和痛风的发生率呈逐年上升的趋势,其在中国已成为仅次于糖尿病的代谢性疾病,严重威胁着人类健康。因此,大力加强高尿酸血症及痛风的研究和防治具有重要的理论和临床意义<sup>[10]</sup>。氧嗉酸钾盐被广泛应用于诱导高尿酸血症模型<sup>[11]</sup>。该试验中,当小鼠连续7 d灌胃氧嗉酸钾盐后,其血尿酸和肌酐水平以及血清尿素氮水平都极显著高于正常对照组。尿酸水平升高是肾功能异常的主要危险因素<sup>[12]</sup>,而血清肌酐和尿素氮是肾功能的重要指标<sup>[13]</sup>。因此,氧嗉酸钾盐诱导小鼠产生了高尿酸血症和肾损伤。

该研究中,25,50,100 mg·kg<sup>-1</sup>的大豆异黄酮极显著降低了高尿酸血症小鼠的血尿酸水平,却显著或极显著提高了尿液尿酸水平,这说明大豆异黄酮具有促进肾脏尿酸排泄的作用。FEUA是肾脏尿酸处理的一个重要指标,在该试验中,氧嗉酸钾盐诱导的高尿酸血症小鼠FEUA水平极显著降低,相反,25,50,100 mg·kg<sup>-1</sup>的大豆异黄酮则极显著提高FEUA水平。据此可推测,大豆异黄酮降尿酸的机理可能是通过促进尿液尿酸的排泄而达到降低血尿酸水平的。

大豆异黄酮还能显著或极显著降低高尿酸血症小鼠的血清肌酐和尿素氮水平,这说明大豆异黄酮具有肾功能保护作用。这些研究结果为大豆异

黄酮作为潜在治疗高尿酸血症和肾损伤的候选药物提供了有力的证据。

参考文献

[1] Short R A, Tuttle K R. Clinical evidence for the influence of uric acid on hypertension, cardiovascular disease, and kidney disease; a statistical modeling perspective[J]. *Seminars in Nephrology*, 2005, 25(1):25-31.

[2] Heinig M, Johnson R J. Role of uric acid in hypertension, renal disease, and metabolic syndrome[J]. *Cleveland Clinic Journal of Medicine*, 2006, 73(12):1059-1064.

[3] Choi H K, Ford E S. Prevalence of the metabolic syndrome in individuals with hyperuricemia[J]. *The American Journal of Medicine*, 2007, 120(5):442-447.

[4] Horiuchi H, Ota M, Nishimura S, et al. Allopurinol induces renal toxicity by impairing pyrimidine metabolism in mice[J]. *Life Sciences*, 2000, 66(21):2051-2070.

[5] Hammer B, Link A, Wagner A, et al. Hypersensitivity syndrome during therapy with allopurinol in asymptomatic hyperuricemia with a fatal outcome[J]. *Deutsche Medizinische Wochenschrift*, 2001, 126(47):1331-1334.

[6] Terkeltaub R A. Clinical practice[J]. *New England Journal of Medicine*, 2003, 349(17):1647-1655.

[7] 高俊涛, 赵春燕, 宫丹. 大豆异黄酮的研究进展[J]. *吉林医药学院学报*, 2005, 26(1):56-58. (Gao J T, Zhao C Y, Gong D. Research development of soybean isoflavone[J]. *Journal of Jilin*

*Medical College*, 2005, 26(1):56-58.)

[8] 李燕. 大豆异黄酮的抗氧化作用及其防治疾病作用[J]. *国外医学卫生学分册*, 2001, 28(2):100-103. (Li Y. Antioxidant and disease prevention effect of soybean isoflavone[J]. *Foreign Medical Hygiene Fascicle*, 2001, 28(2):100-103.)

[9] Carroll J J, Coburn H, Douglass R, et al. A simplified alkaline phosphotungstate assay for uric acid in serum[J]. *Clinical Chemistry*, 1971, 17(3):158-160.

[10] 吕耀中, 胡庆华, 王星, 等. 二妙丸水提取物对高尿酸血症小鼠尿酸失衡及其相关基因和蛋白水平的影响[J]. *中草药*, 2010, 41(3):418-423. (Lyu Y Z, Hu Q H, Wang X, et al. Effects of Er-miao Pill water extracts on imbalance of urate levels and its related genes and protein levels in hyperuricemic mice[J]. *Chinese Herbs*, 2010, 41(3):418-423.

[11] Wang Y, Zhu J X, Kong L D, et al. Administration of procyanidins from grape seeds reduces serum uric acid levels and decreases hepatic xanthine dehydrogenase/oxidase activities in oxonate-treated mice[J]. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 2004, 94(5):232-237.

[12] Becker M A, Jolly M. Hyperuricemia and associated diseases[J]. *Rheumatic Diseases Clinics of North America*, 2006, 32(2):275-931.

[13] Huang J, Wang S, Zhu M, et al. Effects of genistein, apigenin, quercetin, rutin and astilbin on serum uric acid levels and xanthine oxidase activities in normal and hyperuricemic mice[J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2011, 49(9):1943-1947.

产业动态

第九届世界大豆研究大会在南非召开

韩天富

(国家大豆产业技术研发中心)

第九届世界大豆研究大会(World Soybean Research Conference IX)于2月17~22日在南非共和国东部港口城市德班召开,来自全球22个国家的约500位代表参加了会议,其中近50位来自中国。本次会议的主题是“从中国到南非——科研跨越全球大豆产需鸿沟”(From China to Africa——Can research close the gap between soy production and increasing global demand?)。会议期间,有12位专家做了主旨报告,167位(次)做了分组报告,内容涉及遗传育种、分子生物学、生物技术、耕作栽培、植物营养、植物保护、产后处理与加工、人类营养与利用等议题。与会的10余位中国代表在分会场发言,4位专家担任分会场主席,中国农业科学院作物科学研究所邱丽娟研究员代表我国介绍了大豆生产和科研的进展。在世界大豆研究大会常设委员会改选中,中国作物学会大豆专业委员会副主任委员、中国科学院东北地理与农业生态研究所刘晓冰研究员等8位专家增补为理事,任期两届;巴西农牧研究院(EMBRAPA)大豆研究中心Ricardo V. Abdelnoor博士当选新一届主席。