

題目：苦藤水草物對小鼠急性高尿酸的影響

【摘要】

苦藤 (*Tinospora sinensis*(Lour.)Merr.)之乾燥莖為民間常用草藥。此實驗想要探討小鼠餵與苦藤水草物後是否具有緩解急性高尿酸血症的作用。動物隨機分 5 組：負對照組 (Vehicle)、正對照組(PO)、治療對照組 (PO, Allopurinol 150mg/L)、T500 試驗組 (500mg/kg BW 苦藤水草物)、T100 試驗組 (100mg/kg BW 苦藤水草物)。除了負對照組腹腔注射 saline 外，其餘皆由腹腔注射 Oxonic acid (280mg/kg bw)藥物注射引起急性高尿酸血症，注射一小時後進行試驗物質之管餵，連續一週後，進行動物犧牲。結果顯示本次實驗確實成功誘導高尿酸模式。小鼠經由 AL 之治療後，血漿尿酸亦顯著下降，可達 62.7%之抑制率；苦藤水草物不管 T100 或 T500 亦可使血漿尿酸下降達平均 38%的抑制效果；對於肝臟 XDH 活性可顯著抑制達 21%。總之，苦藤水草物確實具有降低血漿尿酸的效果，且與其抑制肝臟 XDH 兩酵素活性之機制有關。

【前言】

苦藤的英文名：CAULIS TINOSPORAE，包括防己科植物心葉寬筋藤 *Tinospora cordifolia*(wulld)Miers 與寬筋藤 *T.sinensis*(Lour.)Merr. 的乾燥莖。根據一般植物資訊指出該植栽全年可採，砍取地上部分，除去嫩枝及葉，切段，曬乾。**苦藤的功能**：根據網路資料：**【性味】** 苦、澀，涼。**【功能與主治】** 清熱潤肺，調合病理所致紊亂。用於肝熱，五臟熱，肺病，風濕關節炎，衰老病。

根據 Manjrekar 等人 (2000)的回顧資料，*Tinospora cordifolia* 和 *Tinospora sinensis* 莖部的水萃物與酒精萃出物皆具有免疫調節作用。Grover 等人(2001) 則指出，餵予 *Tinospora cordifolia* 水草物 (200mg/kg)連續 40 天，可以降低 STZ-誘發糖尿病小鼠的血糖並減緩多尿現象。在大鼠研究方面，以 STZ 加上高果糖誘導糖尿病後，管餵 100mg/kg 及 200mg/kg bw 的 *Tinospora cordifolia* 連續 14 天，便可以改善血糖、改善胰島素分泌並降低各種氧化壓力指標、恢復抗氧化酵素活性與肝臟肝糖含量 (Sangeetha et al. 2011)。在 *Tinospora cordifolia* 的根部萃取液也發現具有保護腎臟免於受到黃麴毒素-B1 的毒性傷害(Gupta and Sharma 2011)。

Panchabhai 等人(2008)的文獻回顧中討論了 *Tinospora cordifolia* 的各種藥性與治療宣稱，包含了糖尿病、肝臟損傷、自由基引發損傷、感染，壓力與癌症。免疫調節、利尿、抗發炎、analgesic、抗膽鹼酯解酶、腸胃保護效應等。可見此藥物之發展潛能極為寬廣。不過關於苦藤與抗尿酸或治療痛風等議題則未見有正式文獻報導，但是民間又有此藥效之流傳，所以我們覺得很值得探討研究。

【材料與方法】

1. 苦藤水草物製備：將苦藤莖 37°C 乾燥 72 小時後磨成粉 (避免日曬)。每 100 克苦藤粉以 1L 熱水泡製苦藤茶，分別以 Whatman No.1 濾紙與 nitrocellulose membrane 過濾兩次後，置於減壓濃縮機以 60°C 水浴以蒸發水分，每日 7~10 小時重複 2~3 天直到水草

液呈現半固體狀態。將上述半固體萃出物冷凍過夜，繼續以冷凍乾燥機進行乾燥，秤重置於室溫防潮箱中備用 (Sehgupta et al. 2011)。

2. 動物飼養：ICR 小鼠隨機分 5 組：負對照組(Vehicle)、正對照組(PO)、治療對照組(PO, Allopurinol 150mg/L)、T500 試驗組 (500mg/kg BW 苦藤水草物, PO+T500)、T100 試驗組 (100mg/kg BW 苦藤水草物, PO+T100)，除了負對照組腹腔注射 saline 外，其餘皆由腹腔注射 Oxonic acid (280mg/kg bw)藥物注射引起急性高尿酸血症。注射一小時後進行試驗物質之管餵，連續一週後動物犧牲，採集血漿肌酸酐、尿酸與肝臟 xanthine oxidase 酵素活性來評估苦藤對尿酸血症的影響狀況。所有小鼠皆餵養於溫度及日照時間控制的環境中，任其自由攝食及飲水，每週記錄體重及飼料攝取。

3. 分析項目與方法：

(1) 血漿尿酸、肌酸酐：血液以低速離心將血漿分離，分裝後貯存於 -20°C。分析當天解凍後以商用試劑套組測定尿酸和肌酸酐。

(2) 黃嘌呤氧化酶(Xanthine oxidase)活性分析：利用黃嘌呤在高氧環境下會催化 xanthine oxidase 生成，可藉由測定 290nm 之吸光值來計算其活性 (倪氏,2008)

(3) 統計方法

實驗結果皆以平均值 ± 標準偏差來表示。所有結果以 One-Way ANOVA 進行統計以檢定各組間的差異， $p < 0.05$ 為顯著差異。

【結果與討論】

本實驗採用 Potassium Oxonic acid 之注射以誘導高尿酸血症，從表一的血漿尿酸結果得知，PO 組的血漿尿酸顯著高於負對照組，顯示本次實驗確實成功誘導高尿酸模式。小鼠經由 AL 之治療後，血漿尿酸亦顯著下降，可達 62.7%之抑制率；苦藤水草物不管 T100 或 T500 亦可使血漿尿酸下降達平均 38%的抑制效果，但似乎未見有劑量效應。

尿酸之生成與 XO/XDH 活性有關，因此本實驗進一步測定肝臟中的酵素活性。表二為肝臟 XO 酵素活性，以 PO 組顯著增加表示 PO 之注射乃是透過活化 XO 活性而增加血漿尿酸值，此酵素活性誘導現象可經由 AL 藥物給予而達到 20%的抑制效果，但是兩種劑量的苦藤給予對於 XO 活性雖有抑制效果(平均約 11%)卻未達顯著性($p > 0.05$)。

表三為肝臟 XDH 活性的結果，PO 組仍顯著增加表示 PO 之注射亦會透過活化 XDH 活性而增加血漿尿酸值。經由 AL 藥物給予後可顯著降低 XDH 活性約達 31.9%的抑制率。給予苦藤水草物管餵後，肝臟 XDH 亦顯著下降達平均約 21%的抑制率。

從上述結果得知，苦藤水草物確實具有降低血漿尿酸的效果，但是給予 100 或 500mg/kg BW 兩者之間未見有劑量效應，且上述兩種劑量對於尿酸的降低效果仍不如 AL 藥物，其效果約僅有 AL 藥物組的 60%，可見苦藤降尿酸的最適當的劑量仍須繼續探討。此外，由於 AL 對於 XDH/XO 活性的抑制率比值為 1.6 倍，而苦藤水草物的 XDH/XO 活性抑制率比值為 1.91 倍，所以認為苦藤對於血漿尿酸之降低機制與 AL 藥物有些許不同。

總之，苦藤水草物確實具有降低血漿尿酸的效果，且與其抑制肝臟 XDH 兩酵素活性之機制有關。

Table 1 .Effect of water extracts of *Ramus Tinosporae Sinensis* on plasma levels in mice prevention of the uric acid inhibition , potassium oxonate

Group	Dose (mg/kg)	n (mg/dl)	Uric acid (%)	Inhibition
Vehicle	-	6	2.274±0.868 ^{bc}	-
PO	-	6	4.666±0.835 ^a	-
PO+AL	10	6	1.736±0.718 ^c	62.7
PO+T100	100	6	2.717±0.853 ^{bc}	41.8
PO+T500	500	6	3.078±1.644 ^b	34

1. Each value represents mean ± SD.
2. Values not sharing common superscript letters are significantly different from one another among the five groups by one way ANOVA analysis.

Table 2 .Effect of water extracts of *Ramus Tinosporae Sinensis* on xanthine oxidase activities in the mice liver

	Dose (mg/kg)	n	XO (nmol/min/mg/protein)	XO Inhibition (%)
Vehicle	-	6	0.601±0.074 ^b	-
PO	-	6	0.724±0.156 ^a	-
PO+AL	10	6	0.575±0.089 ^b	20.54
PO+T100	100	6	0.628±0.070 ^{ab}	13.25
PO+T500	500	6	0.652±0.059 ^{ab}	9.94

3. Each value represents mean ± SD.
4. Values not sharing common superscript letters are significantly different from one another among the five groups by one way ANOVA analysis.

Table 3 .Effect of water extracts of *Ramus Tinosporae Sinensis* on xanthine dehydrogenase activities in the mice liver

Group	Dose (mg/kg)	n	XDH (nmol/min/mg/protein)	XDH Inhibition (%)
Vehicle	-	6	0.579±0.099 ^b	-
PO	-	6	0.787±0.216 ^a	-
PO+AL	10	6	0.536±0.093 ^b	31.9
PO+T100	100	6	0.618±0.108 ^b	21.5
PO+T500	500	6	0.619±0.027 ^b	21.3

1. Each value represents mean ± SD.
2. Values not sharing common superscript letters are significantly different from one another among the five groups by one way ANOVA analysis.

【參考文獻】

倪智岑編，2008年，不同山藥降尿酸及保護腎臟功能的比較探討。中山醫學大學碩士論文。

Gupta R & Sharma V (2011) Ameliorative effects of *Tinospora Cordifolia* extract on histopathological and biochemical changes induced by Aflatoxin-B1 in mice kidney. *Toxicol Int* 18:94-98.

Sangeetha MK, Raghavendran HRB, Gayathri V, Vasanthi HR (2011) *Tinospora cordifolia* attenuates oxidative stress and distorted carbohydrate metabolism in experimentally induced type 2 diabetes in rats. *J Nat Med*, 65:544-550.

Panchabhai TS, Kulkarni UP, Rege NN (2008) Validation of therapeutic claims of *Tinospora cordifolia*: a review. *Phytother Res* 22:425-441

Grover JK, Vats V, Rathi SS, Dawar R (2001) Traditional Indian anti-diabetic plants attenuate progression of renal damage in streptozocin induced diabetic mice. *J Ethnopharmacol* 76,233-238.

Manjrekar PN, Jolly CI, Narayanan S (2000) Comparative studies of the immunomodulatory activity of *Tinospora cordifolia* and *Tinospora sinensis*. *Fitoterapia* 71, 254-257.

Sehgupta M, Sharma GD, Chakraborty B (2011) Effect of aqueous extract of *Tinospora cordifolia* on functions of peritoneal macrophages isolated from CCl4 intoxicated male albino mice. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 11:102-111.