

李晓君, 郭娟, 李娜, 等. 降尿酸食药同源组合物的筛选及其作用机制研究 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(9): 401-411. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025040220

LI Xiaojun, GUO Juan, LI Na, et al. Screening of Urate-lowering Food-Medicine Homologous Combinations and Investigation of the Mechanism[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(9): 401-411. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025040220

· 营养与保健 ·

降尿酸食药同源组合物的筛选及其 作用机制研究

李晓君¹, 郭娟¹, 李娜², 杨宇^{1,3}, 刘青业¹, 张恒慧^{1,3,*}

(1. 中北大学化学与化工学院, 山西太原 030051;

2. 太原师范学院生物科学与技术学院, 山西晋中 030619;

3. 太原工业学院环境与安全工程系, 山西太原 030008)

摘要:目的: 以芹菜籽、黑枸杞、桦褐孔菌等 10 种食药同源物质为研究对象, 筛选具有降尿酸功能的食药同源组合物配方并探究其缓解高尿酸血症的机制。方法: 采用体外抗氧化能力和黄嘌呤氧化酶抑制能力筛选具有高体外活性的食药同源单体, 通过“均匀设计法”优化具有高活性的食药同源组合物 (food-medicine homologous combinations 1, FMHC1), 利用体外消化模拟探究 FMHC1 的胃肠道行为, 再以腺苷和黄嘌呤氧化酶诱导高尿酸血症 HK-2 细胞模型, 通过检测细胞上清液中的尿酸含量, IL-6、TNF- α 、IL-10、TGF- β 的水平以及 MDA、CAT、SOD、GSH-Px 的活性, 评价 FMHC1 对细胞模型的保护作用。结果: 获得 FMHC1 配方: 芹菜籽 41%、桦褐孔菌 39%、黑枸杞 10%、金银花 5% 以及玉米须 5%, 且 FMHC1 经胃肠消化后黄嘌呤氧化酶抑制活性仅下降 4.89% \pm 1.02% 和 11.08% \pm 1.59%, 表现出优异的生物利用度, 在高尿酸血症细胞模型中, 1563 μ g/mL FMHC1 使尿酸水平降低 35.52%, 并通过双向调节炎症因子 (下调 IL-6 25.82%、TNF- α 66.51% 和上调 IL-10 73.10%、TGF- β 49.18%), 有效改善炎症反应, 同时显著增强抗氧化能力, 使 MDA 水平降低 61.20%, CAT、SOD、GSH-Px 活性分别提高 2.86 倍、0.63 倍、2.00 倍。结论: 筛选的 FMHC1 通过多途径协同作用, 具备开发为高尿酸血症膳食干预剂的潜力。

关键词: 降尿酸, 食药同源, 肾小管上皮细胞 HK-2, 炎症因子, 氧化应激

中图分类号: TS201.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2026)09-0401-11

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2025040220



本文网刊:

Screening of Urate-lowering Food-Medicine Homologous Combinations and Investigation of the Mechanism

LI Xiaojun¹, GUO Juan¹, LI Na², YANG Yu^{1,3}, LIU Qingye¹, ZHANG Henghui^{1,3,*}

(1. School of Chemistry and Chemical Engineering, North University of China, Taiyuan 030051, China;

2. School of Biological Sciences and Technology, Taiyuan Normal University, Jinzhong 030619, China;

3. Department of Environment and Safety Engineering, Taiyuan Institute of Technology, Taiyuan 030008, China)

Abstract: Objective: To develop potential formulations for alleviating hyperuricemia, we screened approximately 10 medicinal and food homologous ingredients, including *Apium graveolens* L., *Lycium ruthenicum* Murray, and *Inonotus obliquus*, and explored their biological functions and underlying mechanisms. Methods: Based on the quantitative analysis from *in vitro* antioxidant capacity and xanthine oxidase inhibition for each candidate, the optimized formulation containing different ingredients, namely the homologous combinations 1 (FMHC1), could be obtained using the "Uniform Design Method". Further, the *in vitro* digestion behavior of FMHC1 was investigated. Besides, the protection efficiency on the

收稿日期: 2025-04-18

基金项目: 山西省科技成果转化项目 (202304021301031); 中北大学校企合作项目 (2310400069HX)。

作者简介: 李晓君 (1983-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 天然产物研发及其功能产品构建, E-mail: lixiaojun@nuc.edu.cn。

* 通信作者: 张恒慧 (1988-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 天然产物研发及其功能产品构建, E-mail: teammatepolly@126.com。

hyperuricemia cell model that was established by inducing HK-2 cells with adenosine and xanthine oxidase was evaluated, by determining the levels of uric acid in cell supernatant, pro-inflammatory cytokines (IL-6, TNF- α), anti-inflammatory cytokines (IL-10, TGF- β), as well as the oxidative stress markers (MDA, CAT, SOD, GSH-Px). Results: The ideal formulation for FMHC1 was 41% *Apium graveolens* L., 39% *Inonotus obliquus*, 10% *Lycium ruthenicum* Murray, 5% *Lonicera japonica* Thunb, and 5% *Stigma Maydis*. The experimental results showed that FMHC1 displayed high bioavailability, where the inhibitory efficiency for xanthine oxidase was decreased by only 4.89% \pm 1.02% (gastric phase) and 11.08% \pm 1.59% (intestinal phase) after *in vitro* digestion. Moreover, the uric acid level in the hyperuricemia cell model was down-regulated by 35.52% by 1563 μ g/mL FMHC1. These occurrences might be attributed to the ameliorated inflammatory responses through regulation of cytokines. Upon the administration, the IL-6 and TNF- α were downregulated by 25.82% and 66.51%, respectively, whereas the corresponding IL-10 and TGF- β were upregulated by 73.10% and 49.18%. Besides, the antioxidant capacity was significantly enhanced. As a result, about 61.20% loss for MDA level in cell line occurred, and the activities for CAT, SOD, and GSH-Px were enhanced by 2.86, 0.63, and 2.00 times, respectively. Conclusion: The screened FMHC1 demonstrates great potential in dealing with hyperuricemia through multiple pathways, and could be considered to be a promising diet in disease intervention.

Key words: urate-lowering; food-medicine homology; HK-2 renal tubular epithelial cell; inflammatory factors; oxidative stress

高尿酸血症(hyperuricemia, HUA)是由血清尿酸(uric acid, UA)产生过多或排泄不足或两者兼得引起的代谢性疾病^[1],并且HUA通常伴随着肾脏损伤、冠心病、高血压等并发症^[2-4],因此,对HUA的管理在预防痛风等疾病方面具有重要意义。黄嘌呤氧化酶(xanthine oxidase, XOD)连续催化黄嘌呤和次黄嘌呤转化为UA,是UA产生的关键酶,通过抑制其活性,可达到降UA的目的^[5]。同时,XOD催化黄嘌呤生成UA时会产生活性氧(reactive oxygen species, ROS)^[6],并且导致细胞氧化损伤,从而加剧HUA^[7],所以机体主要通过调节抗氧化应激因子的水平来改善氧化应激,如增加SOD、CAT、GSP-Px等的活性^[8]。肾脏是UA排泄的主要器官,肾脏代谢功能与多种UA转运蛋白有关,且HUA通常会引发肾脏炎症,尿酸积累过量可导致尿酸盐晶体在某些组织和器官中的产生和累积,从而引发免疫反应并促进巨噬细胞等炎症细胞吞噬尿酸盐晶体^[9-10],进而激活炎症信号通路(如NF- κ B通路),激活炎症反应^[11-12]。目前用于治疗HUA的药物如别嘌呤醇和苯溴马隆在降尿酸的同时还存在一定副作用,如导致肝肾损伤、胃肠道刺激、骨髓抑制等^[13],甚至引起继发性HUA,其安全性和耐受性问题亟待解决^[14]。因此,有必要寻找一种安全、有效、经济的药物/食品用于HUA的预防或治疗。

我国食药同源物质资源丰富,其对人体健康有着积极的促进作用。刘雪梅^[15]研究发现,丁香、高良姜、荷叶、覆盆子、槐花等五十种食药同源植物中含有丰富的酚酸类活性物质,其中90%的植物具有良好的黄嘌呤氧化酶抑制(xanthine oxidase inhibition, XOI)活性和抗氧化活性,尤其以高良姜提取物活性最佳,通过构建氧嗉酸钾诱导的HUA大鼠模型发现,高良姜提取物显著抑制HUA大鼠肝脏XOD活性,并通过调节URAT1和GLUT9来促进UA排泄,还能够发挥良好的肾保护作用 and 抗氧化应激效

果,可作为具有降UA作用的新型功能性食品配料改善HUA。此外,多种多酚及黄酮类化合物如槲皮素、芹菜素、木犀草素、绿原酸、咖啡酸、阿魏酸等,都能表现出良好的抑制UA合成和促进UA排泄作用^[16-17]。因此,食药同源物质是开发具有降UA活性功能性食品的潜在原料。

本研究以《食品标准与法规》和中医降UA理念为依据,从治疗痛风的中医方剂中选择10种使用频次较高、又被食药同源名单收录的物质(简称食药同源物质)为研究对象,包括芹菜籽(*Apium graveolens* L., AGL)、桦褐孔菌(*Inonotus obliquus*, IO)、黑枸杞(*Lycium ruthenicum* Murray, LRM)、玉米须(*Stigma Maydis*, SM)、金银花(*Lonicera japonica* Thunb, LJT)、葛根(*Pueraria lobata*(Willd.) Ohwi, PLWO)、茯苓(*Poria cocos*(Schw.) Wolf, PCSW)、菊苣(*Cichorium intybus*, CI)、山楂(*Crataegus pinnatifida* Bunge, CPB)及覆盆子(*Rubus idaeus* L., RIL),通过黄嘌呤氧化酶抑制能力和体外抗氧化能力初筛活性较高的单一食药同源物质,随后采用“均匀设计法”对活性突出的前几位食药同源物质进行配伍研究,获得高活性的组合FMHC1。在此基础上,通过体外消化模拟口腔、胃和肠道中食药同源组合物的胃肠道行为,以评价食药同源组合物消化前后的XOI和生物利用度;并通过建立腺苷和XOD诱导的HUA HK-2细胞模型,探讨FMHC1预防HUA的作用机制。通过多种机制探究、验证食药同源组合物丰富的生物活性,为降UA功能性食品配料的开发提供理论与方法的指导。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

AGL、IO、LRM、SM、LJT、PLWO、PCSW、CI、CPB及RIL提取物均为水提物,制备方法为将原料清选、粉碎后,加水浸泡、热回流提取、固液分离得到提取液,提取液依次进行减压浓缩和干燥,分别得到相应的提取物,由中北大学生物工程实验室提供;

肾小管上皮细胞 HK-2 武汉普诺赛生命科技有限公司; 1,1-二苯基-2-苦基肼基(DPPH)、2,2-联氮-(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐(ABTS)、L-抗坏血酸(V_C) 分析纯,上海麦克林生化科技有限公司; 黄嘌呤氧化酶(XOD, 50 U/mg)、黄嘌呤、 α -淀粉酶(2000 U/g)、胃蛋白酶(30000 U/g)、胃脂肪酶(20000 U/g)、胰蛋白酶(130 U/mg)、胰酶(130 U/mg) 生物试剂,上海麦克林生化科技有限公司; 尿酸、次黄嘌呤、黄嘌呤、腺嘌呤、肌苷、腺苷、别嘌呤醇 色谱纯,上海麦克林生化科技有限公司; MEM 基础培养基、CCK-8 试剂盒、胎牛血清(FBS)、链霉素、青霉素 生物试剂,北京索莱宝生物科技有限公司; 磷酸、冰乙酸、乙腈 色谱纯,天津市北辰方正试剂厂; 无水乙醇、盐酸(HCl) 分析纯,天津市北辰方正试剂厂; IL-6、IL-10、TGF- β 、TNF- α 试剂盒 上海爱萌优宁生物科技有限公司; BCA 法蛋白定量试剂盒、丙二醛(MDA)测试盒、超氧化物歧化酶(SOD)测试盒、谷胱甘肽过氧化物酶(GSP-Px)测试盒、过氧化氢酶(CAT)测试盒 南京建成生物工程研究所。

ULTIMATE 3000 高效液相色谱仪(HPLC)

赛默飞世尔科技; ME204/02 分析天平 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司; HFsafe-1500LC 超净工作台 上海力申科学仪器有限公司; Epoch 多功能酶标仪 星晖生物科技有限公司; SPX-150B-Z 恒温培养箱 上海博讯实业有限公司医疗设备厂; TDL-5-A 高速离心机 上海安亭科学仪器厂。

1.2 实验方法

1.2.1 10 种食药同源物质抗氧化活性评价 通过 DPPH 和 ABTS⁺ 自由基抑制试验评估 10 种食药同源物质的抗氧化活性。

DPPH 自由基清除能力的测定根据 Li 等^[18] 的方法稍作修改。配制不同质量浓度(0.4、0.8、1.2、1.6、2.0 mg/mL)的样品溶液,分别量取样品溶液 100 μ L 和 DPPH 醇溶液(0.2 mmol/L) 100 μ L 于 96 孔板中混匀,室温避光反应 40 min 后在 517 nm 波长处测定吸光度值。用 V_C 作为阳性对照。按照公式(1)计算样品对 DPPH 自由基的清除率。

$$\text{DPPH 自由基清除率}(\%) = \left(1 - \frac{A_s - A_t}{A_0}\right) \times 100 \quad \text{式(1)}$$

式中, A_s : 样品组(样品+DPPH 醇溶液); A_t : 样品对照组(样品+95% 乙醇); A_0 : 空白对照组(95% 乙醇+DPPH 醇溶液)。

ABTS⁺ 自由基清除能力的测定根据张建丰等^[19] 的方法稍作修改。配制不同质量浓度(0.10、0.25、0.40、0.55、0.70 mg/mL)的样品溶液,分别量取 50 μ L 样品溶液和 150 μ L ABTS 工作液(7.00 mmol/L ABTS 溶液和 2.45 mmol/L 过硫酸钾溶液等体积混

合,室温条件下避光反应 12~16 h 得到 ABTS 储备液,用 70% 的乙醇溶液进行稀释,使其在 734 nm 波长处的吸光度为 0.7 ± 0.02 于 96 孔板中混匀,室温避光反应 6 min,734 nm 波长处测定吸光度。用 V_C 作为阳性对照。按照公式(2)计算样品对 ABTS⁺ 自由基的清除率。

$$\text{ABTS}^+ \text{ 自由基清除率}(\%) = \left(1 - \frac{A_i - A_j}{A_0}\right) \times 100 \quad \text{式(2)}$$

式中, A_i : 样品组(样品+ABTS 工作液); A_j : 样品对照组(样品+无水乙醇); A_0 : 空白对照组(无水乙醇+ABTS 工作液)。

1.2.2 10 种食药同源物质 XOD 抑制活性评价 配制不同质量浓度(2、4、6、8、10 mg/mL)的样品溶液,向 96 孔板中依次加入 50 μ L 磷酸盐缓冲液(PBS, pH7.5)、70 μ L 样品溶液、50 μ L XOD 溶液(0.5 U/mL),于 37 $^{\circ}$ C 恒温箱中孵育 10 min 后,加入 100 μ L 黄嘌呤溶液(0.6 mmol/L),在 37 $^{\circ}$ C 下反应 20 min 后,于 290 nm 处测定吸光值。以别嘌呤醇作为阳性对照,按照公式(3)计算 XOI^[20]。

$$\text{XOI}(\%) = \left(1 - \frac{A_a - A_b}{A_c - A_d}\right) \times 100 \quad \text{式(3)}$$

式中, A_a : 样品组(样品+XOD+PBS+黄嘌呤); A_b : 样品对照组(样品+PBS+黄嘌呤); A_c : 空白组(XOD+PBS+黄嘌呤); A_d : 空白对照组(PBS+黄嘌呤)。

1.2.3 基于均匀设计筛选降尿酸食药同源组合物 在前期研究中已经证实了 LRM、LJT、SM、IO 及 AGL 具有良好的抗氧化活性和 XOI 活性,但单物质的活性不是非常突出,为了提高其活性,以 XOI 为评价指标,采用“均匀设计法”^[21] 对这五种食药同源物质的最佳配伍进行研究,以期获得较高活性的 FMHC1。

选用 $U_{10} \times (10^8)$ 均匀设计表,根据均匀设计使用表,进行分组设计, X_1 : LRM, X_2 : LJT, X_3 : SM, X_4 : IO, X_5 : AGL。参考抗氧化试验和 XOI 试验的结果,

表 1 食药同源物质剂量(总浓度 10 mg/mL)

Table 1 Dosage of food-medicine homologous substances (total concentration 10 mg/mL)

组方	X_1	X_2	X_3	X_4	X_5
N_1	0.5	1.4	1.8	2.3	4.1
N_2	0.6	1.8	2.4	3	2.1
N_3	1.4	4.1	0.5	1.8	2.3
N_4	1.8	0.5	2.3	4.1	1.4
N_5	2.3	1.8	4.1	1.4	0.5
N_6	1.8	2.1	0.6	2.4	3
N_7	2.1	3	1.8	0.6	2.4
N_8	2.4	0.6	3	2.1	1.8
N_9	4.1	2.3	1.4	0.5	1.8
N_{10}	3	2.4	2.1	1.8	0.6

按照 U10×(10⁸)使用表的说明,设置因素和水平,通过 DPS 7.05 软件优化得到均匀设计方案(表 1),对 10 组食药同源组合物的 XOI 进行多元逐步回归分析,确定各食药同源物质之间的最佳比例和关系。

1.2.4 FMHC1 的体外唾液、胃液、肠液消化模拟

1.2.4.1 电解质溶液及唾液、胃液、肠液的制备 唾液电解质(SSF):准确称取 0.3822 g NaCl、0.7455 g KCl、0.0666 g CaCl₂ 用 500 mL 蒸馏水溶解,再用 1 mol/L 的 HCl 和 1 mol/L 的 NaHCO₃ 调节 pH 至 6.9(±0.05)。

模拟唾液(eSSF):准确称取 α-淀粉酶 0.493 g 溶于 400 mL SSF,搅拌 20 min 后过滤,滤液中再加入 400 mL 的 SSF 溶液混匀,冷藏备用。

胃电解质(SGF):准确称取 1.595 g NaCl、0.55 g KCl、0.075 g CaCl₂、0.60 g NaHCO₃ 用 500 mL 蒸馏水溶解,再用 1 mol/L 的 HCl 调节 pH 至 2.5(±0.05)。

模拟胃液(eSGF):准确称取 1.77 g 胃蛋白酶、75 mg 胃脂肪酶和量取 1.5 mL CH₃COONa(pH 为 5.0、1.0 mol/L)加入到 150 mL SGF 中,在室温下磁力搅拌 10 min,用 1 mol/L 的 HCl 调节 pH 至 2.5(±0.05),冷藏备用。

肠电解质(SIF):准确称取 2.70 g NaCl、0.325 g KCl、0.165 g CaCl₂ 用 500 mL 蒸馏水溶解,再用 1 mol/L 的 NaHCO₃ 调节 pH 至 7(±0.05)。

模拟肠液(eSIF):准确称取 13 mg 胰蛋白酶加入到 100 mL 胰酶溶液(7%, w/w, 磁力搅拌 10 min, 4000 r/min 离心 5 min, 取上清液)、200 mL 胆汁(4%, w/w)及 100 mL SIF 混合液中,再用 1 mol/L 的 NaHCO₃ 调节 pH 至 7.5(±0.05)。

1.2.4.2 FMHC1 的体外消化模拟 模拟唾液消化:取 FMHC1 溶液(10 mg/mL)4 mL 与 eSSF 2 mL 于离心管中充分混合,以 150 r/min 于 37 °C 恒温摇床反应 5 min 来模拟口腔消化,再迅速沸水浴 5 min 灭酶以终止反应,室温冷却后用消化液进行 XOI 试验,试验方法同 1.2.2,每组试验 3 次平行。试验分为试验组(样品+eSSF)、模型组(样品+SSF)、空白对照组(eSSF+蒸馏水)^[22]。

模拟唾液-胃液连续消化:取 FMHC1 溶液(10 mg/mL)20 mL 和 eSSF 20 mL 于 150 mL 锥形瓶中,混匀后以 150 r/min 于 37 °C 恒温摇床反应 5 min,迅速沸水浴 5 min 灭酶,用 1 mol/L 的 HCl 调节 pH 至 2.5,再与 20 mL eSGF 混合,用 1 mol/L 的 HCl 调节 pH 至 2.5 得到混合消化液,均匀分成 4 组后以 150 r/min 于 37 °C 恒温摇床反应,分别反应 0、1、2 和 4 h 后,取出各自对应离心管沸水浴 5 min 灭酶以终止反应。室温冷却后用消化液进行 XOI 试验,试验方法同 1.2.2,每组试验 3 次平行。试验分为试验组(样品+eSSF+eSGF)、模型组(样品+SSF+SGF)、空白对照组(eSSF+eSGF+蒸馏水)^[23]。

模拟唾液-胃液-肠液连续消化:取 FMHC1 溶液

(10 mg/mL)20 mL 和 eSSF 20 mL,混匀后以 150 r/min 于 37 °C 恒温摇床反应 5 min,迅速沸水浴 5 min 灭酶活,再与 20 mL eSGF 混合,用 1 mol/L 的 HCl 调节 pH 至 2.5,混匀后以 150 r/min 于 37 °C 恒温摇床反应 4 h 进行第二阶段胃消化,然后迅速沸水浴 5 min 灭酶活,用 1 mol/L 的 NaHCO₃ 调节 pH 至 7。经唾液和胃液消化后与 20 mL eSIF 混合,用 1 mol/L 的 NaHCO₃ 调节 pH 至 7 得到混合消化液,均匀分成 4 组后以 150 r/min 于 37 °C 恒温摇床反应。分别反应 0、0.5、1 和 2 h 后,取出各自对应离心管沸水浴 5 min 灭酶以终止反应。室温冷却后用消化液进行 XOI 试验,试验方法同 1.2.2,每组试验 3 次平行。试验分为试验组(样品+eSSF+eSGF+eSIF)、模型组(样品+SSF+SGF+SIF)、空白对照组(eSSF+eSGF+eSIF+蒸馏水)^[24]。

1.2.5 尿酸含量测定 标准溶液的配制:准确称取腺苷 6 mg、肌苷 6 mg、次黄嘌呤 3 mg、黄嘌呤 4 mg、腺嘌呤 4 mg 及 UA 4 mg 标准品,分别加入少量 0.1 mol/L 的 NaOH 助溶后,最后用去离子水定容到 2.4 mL,配制成 100 μmol/L 的标准溶液,4 °C 保存备用。

采用高效液相色谱分析不同次级代谢产物的变化和表达水平,两相流动相进行梯度洗脱。流动相 A 为 0.1% 磷酸(w/v),流动相 B 为纯乙腈溶液。程序如下:0~15 min,2%~95%B;15~25 min,95%~2%B。总流速设定为 1.0 mL/min。在注入第一个样品之前,在给定流速下平衡相应的系统至少 20 min,以确保柱压稳定。注射体积为 20 μL,柱温为 30 °C^[25]。制备上述六种标准样品并通过 HPLC 进行分析。肌苷、腺苷、UA、黄嘌呤、次黄嘌呤及腺嘌呤构建的标曲分别为 Y=0.7341X-1.3179(R²=0.9987)、Y=0.8317X+3.7498(R²=0.9997)、Y=0.3778X-0.2615(R²=0.9993)、Y=0.8395X-2.4576(R²=0.9966)、Y=1.5766X-6.7516(R²=0.9955)、Y=4.1467X-4.9993(R²=0.9997)。

1.2.6 HUA 细胞模型的构建及实验分组 细胞培养:HK-2 细胞在含有 10% FBS(胎牛血清、100 μg/mL 链霉素和 100 单位/mL 青霉素)的 RPMI 1640 培养基中培养,细胞在补充有 5% CO₂ 的湿润气氛中于 37 °C 培养,每隔一天更换一次培养基^[26]。

腺苷浓度筛选:将 HK-2 细胞接种于 6 孔板(3.0×10⁵ 个/孔)中培养 24 h 后弃去完全培养基,再用基础培养基培养 24 h。培养完用 PBS 冲洗培养基 3 次,加入含不同浓度腺苷(0.5、1.5、2.5、3.5、4.5 mmol/L)的基础培养基,做三次重复,培养 30 h 后每孔加入 0.5 U/mL XOD,再培养 8 h 收集细胞培养上清液。随后进行 HPLC 分离分析得到目标峰,根据方法 1.2.5 构建的标曲计算腺苷浓度。

XOD 浓度筛选:将 HK-2 细胞接种于 6 孔板(3.0×10⁵ 个/孔)中培养 24 h 后弃去完全培养基,再用基础培养基培养 24 h。培养完用 PBS 冲洗培养

基 3 次,加入含有 2.5 mmol/L 腺苷的基础培养基,培养 30 h 后每孔分别加入不同浓度的 XOD(0.05、0.5、1、1.5、2 U/mL),做三次重复,再培养 8 h 收集细胞培养上清液。随后进行 HPLC 分离分析得到目标峰,根据方法 1.2.5 构建的标曲确定计算 XOD 浓度。

实验分组:实验通过底物(腺苷)定向供给和外源酶(XO)补充,刺激尿酸代谢途径中的相关酶活产生放大效应,从而诱导细胞产生过多的尿酸^[25]。设置空白对照组(无添加),模型组(2.5 mmol/L 腺苷+0.5 U/mL XOD),别嘌呤醇组(2.5 mmol/L 腺苷+0.5 U/mL XOD+1 mmol/L 别嘌呤醇);高浓度样品组(2.5 mmol/L 腺苷+0.5 U/mL XOD+3125 μg/mL FMHC1),中浓度样品组(2.5 mmol/L 腺苷+0.5 U/mL XOD+1563 μg/mL FMHC1),低浓度样品组(2.5 mmol/L 腺苷+0.5 U/mL XOD+781 μg/mL FMHC1)。以 300000 细胞/孔(120000 个/mL)的密度接种于 6 孔板中,37 °C 孵育 48 h,空白对照组和模型组换用新培养基,别嘌呤醇组和样品组预培养 24 h,随后吸出培养液,用 PBS 洗涤 3 次,并在模型组、别嘌呤醇组和样品组中分别加入 2.5 mmol/L 无血清培养基中的腺苷,空白对照组保持在不含腺苷的新鲜培养基中,孵育 30 h 后,向每孔中添加 0.5 U/mL XOD,处理 8 h 后收集培养物上清液并通过 HPLC 分离分析得到目标峰及 1.2.5 构建的标曲计算 UA 浓度,判断模型是否构建成功^[27]。

1.2.7 CCK-8 细胞活力检测 将 HK-2 细胞以 6000 个细胞/孔的密度接种到 96 孔板,分别加入含有不同浓度 FMHC1(49、98、195、391、781、1563、3125、6250 μg/mL)的培养基 100 μL 作用 48 h。再弃去旧培养基,每孔加入 100 μL 含 10% CCK-8 溶液的培养基,另设不含 10% CCK-8 溶液的培养基作为空白对照,在 37 °C,5% CO₂ 的培养箱培育 2 h,然后用酶标仪在 450 nm 波长下检测每孔的 OD 值^[28]。细胞活力计算如式(4)。

$$\text{细胞活力}(\%) = \frac{A_1 - A_0}{A_2 - A_0} \times 100 \quad \text{式(4)}$$

式中,样品组 A₁: 含细胞、CCK-8 溶液和药物;空白组 A₀: 含培养基和 CCK-8 溶液而没有细胞;样品对照组 A₂: 含细胞、CCK-8 溶液而没有药物。

1.2.8 HUA HK-2 细胞模型中炎症因子水平的检测 在细胞完成给药后,将压碎后的细胞在商业裂解缓冲液中重悬,在 4 °C 下孵育 30 min,低温离心后(12000 r/min, 20 min)后,收集上清液进行炎症因子检测。IL-6、TNF-α、IL-10 和 TGF-β 的检测均根据 ELISA 试剂盒说明书进行操作,每组重复三次。

1.2.9 HUA HK-2 细胞模型中氧化应激指标的检测 同 1.2.8 收集细胞上清液,采用 BCA 法对 MDA、CAT、SOD、GSP-Px 进行检测,根据 ELISA 试剂盒说明书进行操作,每组重复三次。

1.3 数据处理

实验数据以 3 次测定结果的平均值±标准差表示;图形绘制使用 Origin 2022 软件;均匀设计数据使用 DPS 7.05 进行统计和分析;其他数据采用 SPSS 23.0 软件进行差异性分析,P<0.05 表示具有显著的统计学差异。

2 结果与分析

2.1 食药同源物质的抗氧化活性

图 1 展示了不同食药同源物质对 DPPH 自由基的清除能力。在试验浓度范围内,随着样品浓度的增大,LRM、AGL、RIL、CPB、IO、SM 及 LJT 这 7 种食药同源物质对 DPPH 自由基的清除率逐渐增大,呈现浓度依赖性,其 IC₅₀ 分别为 0.54±0.04、0.93±0.02、1.12±0.01、1.26±0.01、1.35±0.03、1.4±0.03、1.58±0.02 mg/mL,均表现出一定的 DPPH 自由基清除能力。但整体均低于阳性对照的活性,其中 LRM 在 2 mg/mL 表现出与 V_C 接近的 DPPH 自由基清除率。

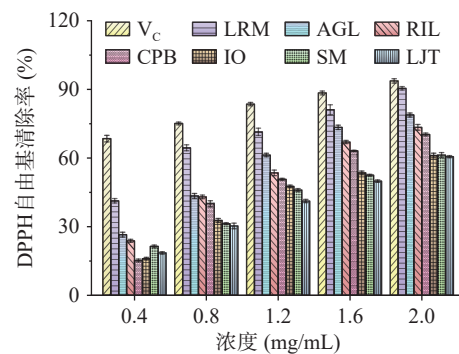


图 1 食药同源物质对 DPPH 自由基的清除能力
Fig.1 DPPH radical scavenging ability of food-medicine homologous substances

如图 2 食药同源物质对 ABTS⁺自由基的清除能力所示,随着样品浓度的增大,LRM、AGL、LJT、IO、SM、CPB 及 RIL 这 7 种食药同源物质对 ABTS⁺自由基的抑制率呈现浓度依赖性,与 DPPH 自由基的清除效果一致,其 IC₅₀ 分别为 0.29±0.11、0.37±0.02、0.56±0.08、0.58±0.05、0.61±0.14、0.64±0.12、

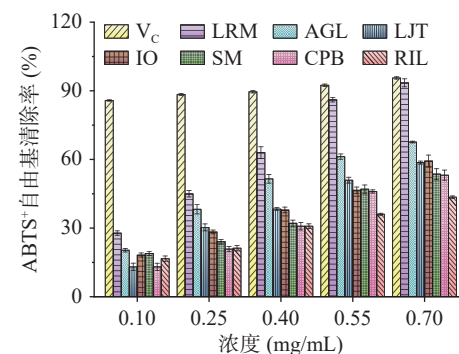


图 2 食药同源物质对 ABTS⁺自由基的清除能力
Fig.2 ABTS⁺ radical scavenging ability of food-medicine homologous substances

0.97±0.10 mg/mL, 均表现出一定的 ABTS⁺自由基清除能力, 但清除效果均弱于 V_C。而 PCSW、CI 及 PLWO 对 ABTS⁺自由基几乎无清除能力。因此, 10 种食药同源物质对 ABTS⁺自由基的清除能力与 DPPH 自由基的清除能力一致, 除 PCSW、CI 及 PLWO 这三种物质外, 其他样品均具有一定的自由基清除效果。

2.2 食药同源物质的 XOI 评价

XOD 连续催化黄嘌呤和次黄嘌呤转化为 UA, UA 在体内积累会导致 HUA, 所以 XOD 是 UA 产生的关键酶, 通过抑制其活性以降低 UA 水平, 可以为预防和管理 HUA 提供有效靶点^[29]。如图 3 食药同源物质的 XOI 活性所示, 随着质量浓度的增加, 提取物均表现出较好的剂量-效应关系, 但均弱于阳性对照 AP。其中 LRM、LJT、IO、AGL 及 SM 的活性相对较强, 其 IC₅₀ 分别为 4.81±0.08、5.55±0.03、6.13±0.07、5.75±0.23、5.94±0.15 mg/mL, CPB 和 RIL 的抑制效果较弱, PCSW、CI 及 PLWO 对 XOD 几乎无抑制效果。

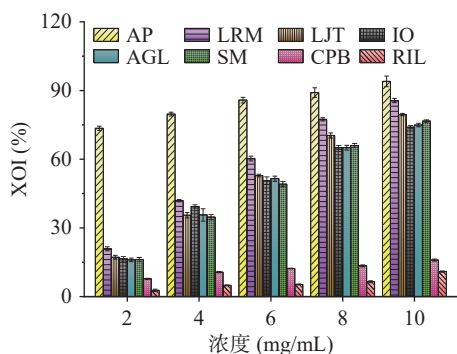


图3 食药同源物质的 XOI 活性

Fig.3 XOI activity of food-medicine homologous substances

综合 XOD 抑制活性和体外抗氧化活性, 筛选出了 IO、LRM、AGL、LJT 及 SM 这 5 种 XOD 抑制活性较突出、具有较大降尿酸潜力的食药同源物质进行下一步试验。体外活性的 IC₅₀ 如表 2 所示。

表2 各种食药同源物质体外活性的 IC₅₀

Table 2 IC₅₀ of the *in vitro* activities of various food-medicine homology substances

食药同源物质	DPPH 自由基清除能力 (mg/mL)	ABTS ⁺ 自由基清除能力 (mg/mL)	XOI 能力 (mg/mL)
IO	1.35±0.03 ^b	0.58±0.05 ^{bc}	6.13±0.07 ^c
LRM	0.54±0.04 ^f	0.29±0.11 ^d	4.81±0.08 ^c
AGL	0.93±0.02 ^e	0.37±0.02 ^{cd}	5.75±0.23 ^c
LJT	1.58±0.02 ^a	0.56±0.08 ^{bc}	5.55±0.03 ^c
SM	1.4±0.03 ^b	0.61±0.14 ^{bc}	5.94±0.15 ^c
CPB	1.26±0.01 ^c	0.64±0.12 ^b	45.82±2.61 ^b
RIL	1.12±0.01 ^d	0.97±0.10 ^a	54.92±3.14 ^a
PCSM	-	-	-
CI	-	-	-
PLWO	-	-	-

注: 表中“-”表示当前数据超出合理范围, 并无统计学意义。不同字母表示各组之间具有显著性差异(P<0.05), 表3同。

2.3 均匀设计筛选和优化降 UA 食药同源组合物

均匀设计结果如表 3, 结果显示不同剂量的食药同源物质以不同比例组合, 呈现出了较高的 XOI, 在 77.15%±2.13%~86.00%±1.25% 之间, 差异具有统计学意义(P<0.05)。其中均匀设计组 N₂、N₆ 处于较低的水平, N₁、N₃、N₉、N₁₀ 组处于中等水平, 且不具有显著差异(P>0.05), 而 N₅ 组则具有更高的 XOI 且与其他组(除 N₄ 组外)具有显著性差异(P<0.05)。

表3 均匀设计组的 XOI
Table 3 XOI of uniform design group

组方	X ₁ LRM	X ₂ LJT	X ₃ AGL	X ₄ IO	X ₅ SM	XOI (%)
N ₁	0.5	1.4	1.8	2.3	4.1	81.80±2.10 ^{bc}
N ₂	0.6	1.8	2.4	3.0	2.1	77.15±2.13 ^d
N ₃	1.4	4.1	0.5	1.8	2.3	81.62±0.71 ^{bc}
N ₄	1.8	0.5	2.3	4.1	1.4	83.28±0.87 ^{ab}
N ₅	2.3	1.8	4.1	1.4	0.5	86.00±1.25 ^a
N ₆	1.8	2.1	0.6	2.4	3.0	77.23±2.45 ^d
N ₇	2.1	3.0	1.8	0.6	2.4	80.07±0.81 ^{cd}
N ₈	2.4	0.6	3.0	2.1	1.8	79.61±0.27 ^{cd}
N ₉	4.1	2.3	1.4	0.5	1.8	81.32±1.55 ^{bc}
N ₁₀	3.0	2.4	2.1	1.8	0.6	81.09±0.92 ^{bc}

注: X₁~X₅总浓度为10 mg/mL。

对偏回归系数进行显著性检验, 可以判断引入的拟合项对因变量 Y 的单独影响。由表 4 可知, X₃(AGL)、X₄(IO)、X₅²(SM)、X₁X₂(LRM、LJT)、X₃X₅(AGL、SM)、X₄X₅(IO、SM)对 XOI 均有显著性影响。各自变量单独影响 XOI 的顺序为 X₄X₅>X₁X₂>X₃X₅>X₅²>X₃>X₄>X₄²>X₁X₅, 表明不同食药同源物质相互交互时对 XOI 具有更显著的影响。

表4 偏回归系数的 t 检验
Table 4 t-Test of partial regression coefficient

拟合项	偏回归系数	T值	P值
r(y,X ₃)	0.9995	31.2623	0.0010
r(y,X ₄)	0.9986	18.6811	0.0029
r(y,X ₄ ²)	-0.9641	3.6333	0.0681
r(y,X ₅ ²)	0.9997	37.9337	0.0007
r(y,X ₁ X ₂)	-0.9998	54.6191	0.0003
r(y,X ₁ X ₅)	-0.9322	2.5758	0.1234
r(y,X ₃ X ₅)	-0.9997	42.5550	0.0006
r(y,X ₄ X ₅)	-0.9998	55.3633	0.0003

将该实验数据进行多元逐步回归分析, 得到回归方程为 Y=82.5937+0.3343X₃+0.5213X₄-0.0093X₄²+0.0648X₅²-0.0495X₁X₂-0.0033X₁X₅-0.0739X₃X₅-0.1542X₄X₅, 其中 X₁、X₂、X₃、X₄、X₅ 分别代表 LRM、LJT、AGL、IO、SM。回归模型的决定系数 R²=0.99995, 显著水平 P=0.0151(P<0.05), 剩余标准差 S=0.0505, 表明该回归模型的拟合性良好, 可用于预测食药同源组合物在不同剂量配比下的 XOI。得到最佳配比 X₁:X₂:X₃:X₄:X₅ 为 1:0.5:4.1:3.9:

0.5, XOI 预测值为 87.61%。配制组合物 10 mg/mL 的最优配伍组合物溶液进行配方验证, 得到实测值 XOI 为 87.10%±0.79%, 与预测值没有显著性差异 ($P>0.05$), 且均优于均匀设计组 $N_1\sim N_{10}$ 的 XOI。所以经该模型优化后的食药同源组合物(FMHC1)各物质最佳配比为: AGL 41%、IO 39%、LRM 10%、LJT 5% 以及 SM 5%。

2.4 FMHC1 的体外唾液、胃液、肠液消化模拟

经消化模拟后, FMHC1 试验组在各消化阶段受消化酶影响导致 XOI 变化程度如图 4 所示。对比不同消化阶段, FMHC1 试验组 XOI 呈逐步下降趋势, 最终肠消化阶段结束比消化前 XOI 显著下降 ($P<0.05$), 可能是消化酶和不同的 pH 对 XOD 的活性产生了影响^[30]; 空白对照组经过消化过程后 XOI 变化较小, 且与加了 FMHC1 样品的试验组和模型组存在显著差异, 表明 FMHC1 样品产生明显的 XOI 作用, 未加 FMHC1 样品出现了较低的 XOI。

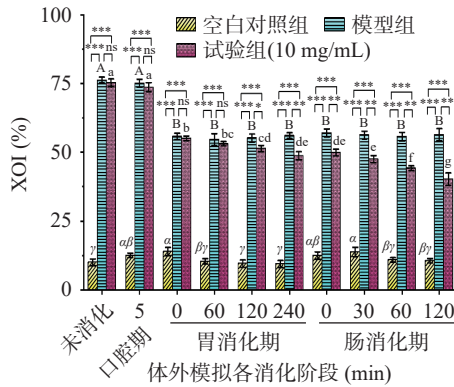


图 4 体外消化过程中的 XOI

Fig.4 XOI of *in vitro* simulated digestion

注: 不同大小写英文及拉丁字母分别代表不同期同组之间的 XOI 差异显著性 ($P<0.05$); *代表同期内不同组之间的 XOI 差异显著性, *代表 $P<0.05$, **代表 $P<0.01$, ***代表 $P<0.001$, ns 代表差异不显著。

对比各消化阶段中 FMHC1 试验组和模型组 XOI 的差异, 经模拟口腔消化后二者的 XOI 都仅有微小的变化, 二者之间没有显著性差异 ($P>0.05$), 二者分别与各自未消化期也没有显著性差异 ($P>0.05$); 在模拟胃液连续消化阶段, 在胃液消化 0、1、2、4 h 后 FMHC1 试验组相较于模型组的 XOI 分别降低了 0.72%±0.82% ($P>0.05$)、1.52%±0.98% ($P>0.05$)、3.77%±1.34% ($P<0.05$)、5.61%±1.02% ($P<0.01$), 即模拟口腔-胃消化 2 h 后, XOI 有显著性降低; 在模拟肠液连续消化阶段, 在肠液连续消化 0、0.5、1、2 h 后 FMHC1 试验组相较于模型组的 XOI 分别降低了 7.12%±1.05% ($P<0.01$)、8.8%±0.59% ($P<0.01$)、11.5%±1.21% ($P<0.01$)、18.2%±1.55% ($P<0.01$), 即 FMHC1 试验组的 XOI 在模拟人体肠液消化阶段经肠道消化酶作用后持续降低。FMHC1 含有大量的多酚类、黄酮类等活性物质, 在模拟消化过程中, 由于消化酶(α -淀粉酶、胃蛋白酶、胃脂肪酶、胰酶、胰

蛋白酶)、pH 的影响, 活性物质发生分解, 导致 XOI 有所降低, 这与多酚类(如咖啡酸、绿原酸、没食子酸等)、黄酮类(芹菜素、槲皮素、儿茶素等)化合物在体外模拟消化的结果一致^[31]。相比之下, FMHC1 的 XOI 在各消化阶段的降低程度关系是肠>胃>口腔, 原因可能是口腔消化过程短, 并未对活性物质造成损失; 而 FMHC1 属于弱酸性组合物, 在模拟胃液的酸性环境下短时间内(2 h 内)相对稳定, 活性物质不易被破坏, 降解程度较慢; 但在弱碱性的肠液中活性物质较易发生降解和氧化, 因此 XOI 降低程度也随之增加^[32]; 对比消化后结果, FMHC1 经各阶段消化后 XOI 活性虽呈现一定程度下降, 但最终还保留了约 60% 以上的活性。综上所述, FMHC1 在消化过程中仍保持了较好的活性, 保证了机体可以有足够的活性物质吸收利用进而发挥 XOI 活性, 以期有 FMHC1 未来开发成食品或药品提供应用基础。

2.5 FMHC1 对 HUA HK-2 细胞的作用机制

2.5.1 腺苷和 XOD 的浓度筛选 尿酸是嘌呤代谢的最终产物, 首先腺苷在腺苷脱氨酶的作用下生成肌苷, 再通过嘌呤核苷磷酸化酶进一步分解成次黄嘌呤, 进而转化成黄嘌呤, 黄嘌呤在黄嘌呤氧化酶作用下最终生成尿酸^[33]。其中, 催化次黄嘌呤到尿酸的两步氧化反应, 是尿酸生成的限速步骤, 而黄嘌呤氧化酶在此环节起到了关键作用。因此, 通过联合添加外源性的腺苷与黄嘌呤氧化酶, 可以有效诱导细胞产生尿酸。如图 5a 所示, 当添加 0.5~4.5 mmol/L 的腺苷

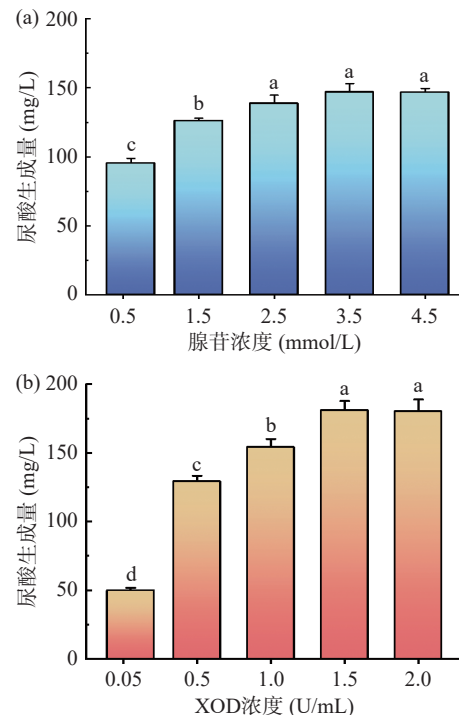


图 5 最佳诱导浓度的筛选

Fig.5 Screening of the optimal induction concentrations

注: (a)不同浓度腺苷对 HK-2 细胞 UA 生成的影响; (b)不同浓度 XOD 对 HK-2 细胞 UA 生成的影响; 不同小写字母代表差异显著, $P<0.05$, 图 6~图 9 同。

诱导 30 h 后,细胞上清液中检测到了腺苷、肌苷和 UA,当腺苷浓度为 0.5、1.5、2.5 mmol/L 时,细胞上清液中的 UA 水平显著升高($P<0.05$),UA 含量分别为 95.33、126.14、138.70 mg/L,均达到 HUA 水平,但继续升高腺苷浓度,其 UA 水平无显著变化($P>0.05$),表明腺苷浓度大于 2.5 mmol/L 时 UA 前体物被最大限度地催化生成 UA,所以为保证 HUA 模型构建成功,选择 2.5 mmol/L 作为腺苷的最佳诱导浓度。同样地,如图 5b 所示,当 XOD 浓度为 0.05~1.5 U/mL 时,细胞上清液中的 UA 水平显著升高($P<0.05$),继续升高 UA 浓度则无统计学意义($P>0.05$),并且 0.5 U/mL 的 XOD 成功诱导 HUA,细胞上清液中的 UA 含量为 129.25 mg/L,因此选择 0.5 U/mL 作为 XOD 的最佳诱导浓度。

2.5.2 FMHC1 对 HK-2 细胞活力的影响 为了筛选 HK-2 细胞培养浓度,分别用不同浓度的 FMHC1 (49、98、195、391、781、1563、3125、6250 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 作用细胞 48 h,然后用 CCK-8 试剂检测细胞活力。结果如图 6 所示,不同浓度的 FMHC1 对细胞的耐受性不同,随着 FMHC1 浓度的升高,HK-2 细胞活力先升高后降低,当浓度达到 1563 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时细胞存活率最高,为 $198.84\% \pm 6.81\%$,与其他浓度的细胞活力具有显著性差异($P<0.05$),呈现较好的细胞耐受性。因此选择 FMHC1(781、1563、3125 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 三个浓度作为接下来的低、中、高给药浓度。

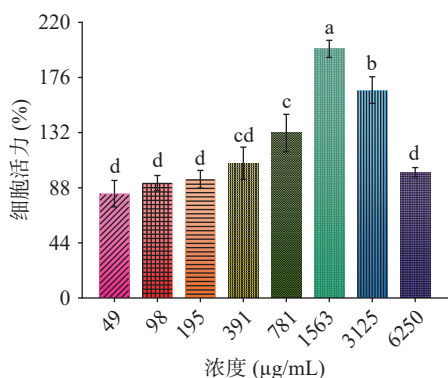


图 6 FMHC1 对 HK-2 细胞活力的影响
Fig.6 Effect of FMHC1 on cell viability of HK-2 cells

2.5.3 FMHC1 对 HK-2 细胞上清液中 UA 水平的影响 通过建立外源腺苷和 XOD 诱导 HUA HK-2 细胞模型,验证 FMHC1 对 HK-2 细胞中 UA 水平的影响。使用 HPLC 检测细胞培养上清液中的 UA、腺苷和肌苷,如图 7 所示,模型组细胞培养上清液中的 UA 含量为 132.45 ± 4.32 mg/L,达到 HUA 水平,说明 HUA 细胞模型构建成功。与模型组对比,阳性对照组 UA 含量为 75.42 ± 2.63 mg/L,显著降低了 HK-2 细胞的 UA 水平($P<0.05$),并且 FMHC1 的低、中、高剂量组表现出相同的降尿酸效果,其中中剂量组(1563 $\mu\text{g}/\text{mL}$)效果最显著,UA 含量为 85.40 ± 1.41 mg/L,这可能与该剂量组有更高的细胞

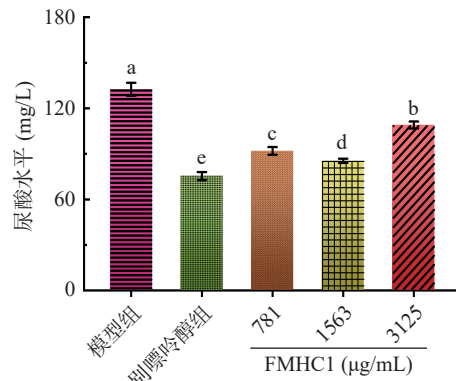


图 7 FMHC1 对 HUA HK-2 细胞上清液中 UA 水平的影响
Fig.7 Effect of FMHC1 on uric acid in HK-2 cells of hyperuricemia

活力有关。结果表明,FMHC1 的刺激可能对 HUA HK-2 细胞具有一定的保护作用。

2.5.4 FMHC1 对 HK-2 细胞中炎症因子水平的影响

机体的高尿酸环境会激活 NF- κ B 信号通路,从而增加体内促炎因子 IL-6 等的表达,引起机体的炎症^[34]。因此本研究检测了 FMHC1 对 HK-2 细胞中炎症因子(IL-6、TNF- α 、IL-10 和 TGF- β)的影响。促炎因子 IL-6 和 TNF- α 的过量产生是由于 HUA 导致尿酸盐晶体沉积,尿酸盐晶体的沉积激活了 IL-1 β ,而 IL-1 β 会诱导下游因子 IL-6 和 TNF- α 的分泌,因此催化了机体的炎症反应^[35],此外,HUA 激活 NF- κ B 通路也会放大 IL-6 和 TNF- α 的表达^[36]。如图 8a 所示,空白对照组的 IL-6 浓度为 9.83 ± 0.59 pg/mL,而模型组 IL-6 水平显著升高($P<0.05$),浓度为 22.19 ± 0.32 pg/mL,表明成功诱导细胞炎症,不同剂量组的 FMHC1 给药后可显著降低 IL-6 水平($P<0.05$),中剂量组效果最显著,给药后的 IL-6 浓度为 16.46 ± 0.47 pg/mL,且别嘌呤醇也表现出良好的治疗效果。同样地,如图 8b 所示,与空白对照组(TNF- α 水平 10.32 ± 1.42 pg/mL)相比,模型组 TNF- α 水平(29.05 ± 2.02 pg/mL)显著升高($P<0.05$),别嘌呤醇和不同剂量的 FMHC1 给药后,均逆转了 TNF- α 水平的升高,且别嘌呤醇、低和中剂量组 FMHC1 的 TNF- α 水平与空白对照组水平相当($P>0.05$)。结果表明,HUA 可导致细胞中的 IL-6 和 TNF- α 水平增加,而 FMHC1 可降低其水平。

TGF- β 和 IL-10 通过协同作用发挥抗炎效果,调节性 T 细胞(Treg)是 IL-10 的主要来源,TGF- β 可促进 Treg 细胞分化,间接增强 IL-10 活性,形成负反馈环路,但在 IL-6 和 TNF- α 过量产生的同时,由于尿酸盐晶体促使巨噬细胞向促炎表型极化,抑制 Treg 细胞的增殖,进而导致 IL-10 分泌减少和 TGF- β 功能异化^[37]。如图 8c 所示,与空白对照组(IL-10 水平 42.30 ± 3.78 pg/mL)相比,模型组 IL-10 水平(21.15 ± 1.71 pg/mL)显著降低($P<0.05$),与模型组相比,别嘌呤醇和不同剂量的 FMHC1 显著逆转了 IL-10 水

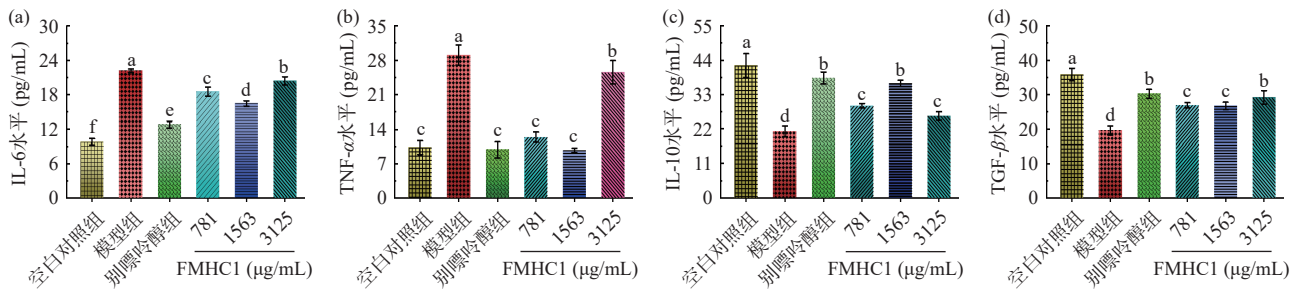


图 8 FMHC1 对 HK-2 细胞产生炎症因子的影响

Fig.8 Effect of FMHC1 on the production of inflammatory factors in HK-2 cells

注: (a)IL-6 水平; (b)TNF- α 水平; (c)IL-10 水平; (d)TGF- β 水平。

平的降低($P < 0.05$), 且中剂量组与别嘌呤醇治疗水平相当, IL-10 浓度分别为 36.61 ± 0.99 、 38.28 ± 1.90 pg/mL。如图 8d 所示, 模型组 TGF- β 水平(19.56 ± 1.28 pg/mL)显著低于空白对照组(35.82 ± 1.84 pg/mL) ($P < 0.05$), 别嘌呤醇给药后 TGF- β 水平为 30.25 ± 1.28 pg/mL, 显著改善了 HUA 导致的 TGF- β 活性降低, 并且高剂量组的 FMHC1 (TGF- β 水平 29.18 ± 1.94 pg/mL) 给药效果与别嘌呤醇效果相似 ($P > 0.05$), 中、低剂量组 FMHC1 也促进了 TGF- β 表达水平的提高。结果表明, HUA 可导致细胞中的 TGF- β 和 IL-10 水平降低, 而 FMHC1 可提高其表达水平, 且高剂量组与别嘌呤醇表现出相似的治疗效果。

综上所述, FMHC1 可通过降低促炎因子 IL-6 和 TNF- α 水平、增加抗炎因子 TGF- β 和 IL-10 水平来改善 HUA 引发的细胞炎症。

2.5.5 FMHC1 对 HK-2 细胞氧化应激反应的影响

MDA 是脂质过氧化的终产物之一, 可以评估细胞或组织氧化损伤的水平^[38]。如图 9a 所示, 模型组的 MDA 水平(2.99 ± 0.22 nmol/mg prot)显著高于空白对照组 ($P < 0.05$), 表明 HUA 促进了 MDA 的产生, 通过不同剂量组的 FMHC1 给药后, MDA 的水平显著降低 ($P < 0.05$), 并且高剂量组 FMHC1 的治疗效果与别嘌呤醇组相似 ($P > 0.05$)。

CAT 能够催化过氧化氢分解为水和氧气, 从而保护细胞免受氧化损伤^[39]。如图 9b 所示, 模型组的 CAT 活性(0.07 ± 0.02 U/mg prot)较低, 别嘌呤醇给药后, CAT 活性显著增加 ($P < 0.01$), 为 0.35 ± 0.05 U/mg

prot, 并且高剂量组的 FMHC1 (0.27 ± 0.04 U/mg prot) 与别嘌呤醇的治疗效果相当 ($P > 0.05$), 但低剂量组的 FMHC1 给药后, CAT 的活性还低于模型组, 并未表现出治疗效果 ($P > 0.05$)。

SOD 是一种重要的抗氧化酶, 广泛存在于生物体中, 能够催化超氧自由基歧化为过氧化氢和氧气, 来保护细胞免受氧化应激的损伤^[40]。如图 9c 所示, 与空白对照组 (SOD 活性为 0.13 ± 0.02 U/mg prot) 相比, 模型组的 SOD 活性 (0.08 ± 0.02 U/mg prot) 显著降低 ($P < 0.05$), 但经过给药后, SOD 活性均有所增加, 并且中剂量组的 SOD 活性 (0.24 ± 0.03 U/mg prot) 显著优于别嘌呤醇组 (0.16 ± 0.01 U/mg prot) ($P < 0.05$), 而低、高剂量组的 SOD 活性与空白对照组相当 ($P > 0.05$)。

GSH-Px 可以催化还原型谷胱甘肽与过氧化氢的反应, 生成氧化型谷胱甘肽和水, 能在抗氧化防御系统中起到关键作用^[41]。如图 9d 所示, 与模型组 (GSH-Px 活性为 146.76 ± 8.22 U/mg prot) 对比, 低、中剂量组的给药并没有升高 GSH-Px 的活性 ($P > 0.05$), 但高剂量组的给药显著提高了 GSH-Px 的水平 ($P < 0.05$), GSH-Px 活性为 239.10 ± 11.52 U/mg prot, 并且与别嘌呤醇得到了相似的结果 ($P > 0.05$)。

综上所述, HUA 能够诱导细胞发生氧化应激反应, 但经过不同剂量组的 FMHC1 给药后, 降低了细胞的 MDA 水平, 提高了抗氧化酶的活性, 表明 FMHC1 能够有效地缓解 HUA 导致的氧化应激。

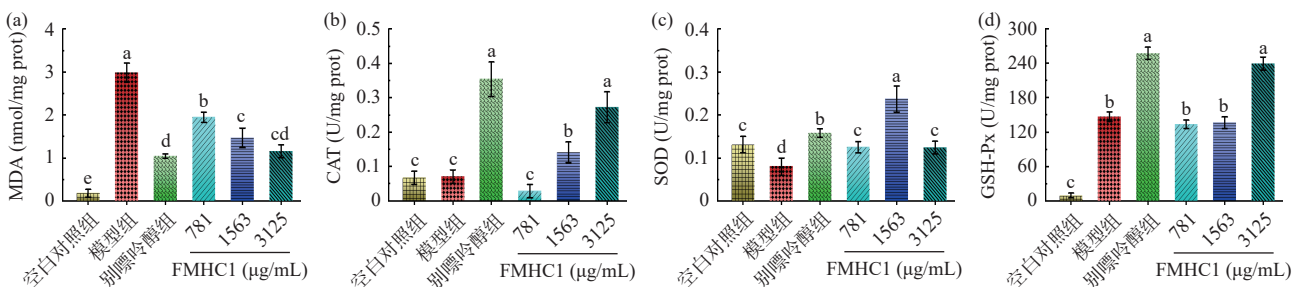


图 9 FMHC1 对 HK-2 细胞氧化应激指标的影响

Fig.9 Effects of FMHC1 on oxidative stress indicators in HK-2 cells

注: (a)MDA 水平; (b)CAT 活性; (c)SOD 活性; (d)GSH-Px 活性。

3 结论

本研究得到降尿酸食药同源组合物 FMHC1 最优配方为: AGL 41%、IO 39%、LRM 10%、LJT 5% 以及 SM 5%, 其 XO1 达到 $87.10\% \pm 0.79\%$ 。FMHC1 的 XO1 活性在模拟口腔阶段并没有显著变化, 在模拟胃液和肠液消化阶段相对 XO1 分别降低了 $4.89\% \pm 1.02\%$ 和 $11.08\% \pm 1.59\%$, 表明 FMHC1 在消化过程中仍能保持较好的活性。FMHC1 可显著降低 HK-2 细胞上清液中的 UA 水平, 其中 $1563 \mu\text{g}/\text{mL}$ 的 FMHC1 降 UA 效果最显著, 降低了 35.52%; HUA 还会促进 IL-6 与 TNF- α 的产生和抑制 TGF- β 与 IL-10 释放, 表明 FMHC1 可改善细胞炎症。此外, FMHC1 还可减轻 HUA 细胞的氧化应激反应, 与模型组相比, $3125 \mu\text{g}/\text{mL}$ 的 FMHC1 治疗后细胞 MDA 水平降低了 61.20%, 并且将 CAT 活性和 GSH-PX 活性分别提高了 2.86 倍和 0.63 倍, $1563 \mu\text{g}/\text{mL}$ 的 FMHC1 将 SOD 活性提高了 2.00 倍, 显著提高了抗氧化酶的活性, 从而抑制氧化应激反应。

因此, 食药同源组方 FMHC1 不仅具有良好的体外抗氧化活性和 XO1 活性, 还具有较高的生物稳定性, 表现出良好的降 UA 效果、抗炎活性和抗氧化应激能力, 这为食药同源组合物在功能性食品基料的开发方面提供了理论基础和产品开发的应用空间。在后续的研究中, 探明食药同源组方中发挥主要降尿酸作用的化学物质(如多酚类物质)或者化学物质的组合将是持续深入研究的重点, 这将对相关产品开发和科学问题的机理研究提供重要依据。

© The Author(s) 2026. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

参考文献

- [1] ZENG Xiaoyi, LIU Yajing, FAN Yuxin, et al. Agents for the treatment of gout: Current advances and future perspectives[J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2023, 66(21): 14474-14493.
- [2] STAMP L K, DALBETH N. Critical appraisal of serum urate targets in the management of gout[J]. *Nature Reviews Rheumatology*, 2022, 18(10): 603-609.
- [3] TERKELTAUB R. Emerging urate-lowering drugs and pharmacologic treatment strategies for gout: A narrative review[J]. *Drugs*, 2023, 83(16): 1501-1521.
- [4] ZHANG Shuangshuang, WANG Yong, CHENG Jinsong, et al. Hyperuricemia and cardiovascular disease[J]. *Current Pharmaceutical Design*, 2019, 25(6): 700-709.
- [5] XIANG Lin, HUANG Yuting, LI Rong, et al. *Artemisia selen-gensis* Turcz. leaves extract ameliorates hyperuricemia in mice by inhibiting hepatic xanthine oxidase activity, modulating renal uric acid transporters, and improving metabolic disorders[J]. *Food Bioscience*, 2023, 56: 102639.
- [6] ZHANG Yuan, DENG Liling, WU Chunmei, et al. Konjac glucomannan improves hyperuricemia through regulating xanthine oxidase, adenosine deaminase and urate transporters in rats[J]. *Journal of Functional Foods*, 2018, 48: 566-575.
- [7] MEHMOOD A, ZHAO Lei, WANG Chengtao, et al. Management of hyperuricemia through dietary polyphenols as a natural medicament: A comprehensive review[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2019, 59(9): 1433-1455.
- [8] LIU Ning, XU Hu, SUN Qianqian, et al. The role of oxidative stress in hyperuricemia and xanthine oxidoreductase (XOR) inhibitors[J]. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2021, 2021(1): 1470380.
- [9] WANG Ze, CUI Tao, CI Xiaoyan, et al. The effect of polymorphism of uric acid transporters on uric acid transport[J]. *Journal of Nephrology*, 2019, 32(2): 177-187.
- [10] ADOMAKO E A, MOE O W. Uric acid transport, transporters, and their pharmacological targeting[J]. *Acta Physiologica*, 2023, 238(2): e13980.
- [11] ZHANG H, TSAO R. Dietary polyphenols, oxidative stress and antioxidant and anti-inflammatory effects[J]. *Current Opinion in Food Science*, 2016, 8: 33-42.
- [12] ZHOU You, ZHAO Mingcai, PU Zheyuan, et al. Relationship between oxidative stress and inflammation in hyperuricemia: Analysis based on asymptomatic young patients with primary hyperuricemia[J]. *Medicine*, 2018, 97(49): e13108.
- [13] BRUCATO A, CIANCI F, CARNOVALE C. Management of hyperuricemia in asymptomatic patients: A critical appraisal[J]. *European Journal of Internal Medicine*, 2020, 74: 8-17.
- [14] WU Mian, MA Yiwen, CHEN Xiaoting, et al. Hyperuricemia causes kidney damage by promoting autophagy and NLRP3-mediated inflammation in rats with urate oxidase deficiency[J]. *Disease Models & Mechanisms*, 2021, 14(3): dmm048041.
- [15] 刘雪梅. 具有黄嘌呤氧化酶抑制活性的食源性植物多酚提取物的筛选、降尿酸活性评价及功效因子靶向鉴定[D]. 广州: 华南理工大学, 2019. [LIU X M. Screening of phenolic extract with XO1 activity from edible plants, evaluation of its hypouricemic effect and targeted identification of active compounds[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2019.]
- [16] ZHU Huangrong, SONG Danni, ZHAO Xu. Potential applications and preliminary mechanism of action of dietary polyphenols against hyperuricemia: A review[J]. *Food Bioscience*, 2021, 43: 101297.
- [17] LI Houlin, SHI Lin, CHEN Xuelan, et al. Association between dietary intake of flavonoids and hyperuricemia: A cross-sectional study[J]. *BMC Public Health*, 2023, 23(1): 1227.
- [18] LI Xiaojun, FAN Yiyuan, GUO Juan, et al. Polyvinyl alcohol/kappa-carrageenan-based package film with simultaneous incorporation of ferric ion and polyphenols from *Capsicum annum* leaves for fruit shelf-life extension[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2024, 266: 131002.
- [19] 张建丰, 李晓君, 王小慧, 等. 火麻籽壳多酚不同提取工艺及其抗氧化性[J]. *食品研究与开发*, 2023, 44(6): 153-158. [ZHANG Jianfeng, LI Xiaojun, WANG Xiaohui, et al. Different extraction technologies and *in vitro* antioxidant activity of polyphenols from hempseed threshing residues[J]. *Food Research and Development*, 2023, 44(6): 153-158.]
- [20] AFZAL F, ULLAH H, AMJAD M, et al. Detection of uric acid in UV-VIS wavelength regime[J]. *Journal of Nanoscope (Jn)*, 2023, 4(1): 75-81.
- [21] 濮尊琴. 降尿酸中药组合物活性成分筛选及其制剂工艺研究[D]. 镇江: 江苏大学, 2017. [PU Z Q. Screening of active ingredients of traditional Chinese medicine for reducing uric acid and

- study on preparation technology[D]. Zhenjiang: Jiangsu University, 2017.]
- [22] MULET-CABERO A I, EGGER L, PORTMANN R, et al. A standardised semi-dynamic *in vitro* digestion method suitable for food—an international consensus[J]. Food & Function, 2020, 11(2): 1702–1720.
- [23] 朱苗. 儿茶素对黄嘌呤氧化酶的抑制作用及加工条件对其活性的影响研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2022. [ZHU Miao. Inhibitory actions of catechins on xanthine oxidase and the effects of processing conditions on its activity[D]. Nanchang: Nanchang University, 2022.]
- [24] 刘恋. 条斑紫菜中多糖的溶出动力学、模拟消化及生物活性[D]. 镇江: 江苏大学, 2017. [LIU L. Dissolution kinetic models of polysaccharides from *Porphyra yezoensis* and their stimulated digestion *in vitro* and biological activity research[D]. Zhenjiang: Jiangsu University, 2017.]
- [25] LIN Simei, MENG Jia, LI Fei, et al. *Ganoderma lucidum* polysaccharide peptide alleviates hyperuricemia by regulating adenosine deaminase and urate transporters[J]. Food & Function, 2022, 13(24): 12619–12631.
- [26] HOU Chuanli, LIU Dan, WANG Ming, et al. Novel xanthine oxidase-based cell model using HK-2 cell for screening antihyperuricemic functional compounds[J]. Free Radical Biology and Medicine, 2019, 136: 135–145.
- [27] LÜ Shenming, ZHANG Mengqi, CHEN Jiashu, et al. Study on the anti-hyperuricemic bioactivity and chemical components of *Sterculiae lychnophorae Semen*[J]. Journal of Functional Foods, 2022, 95: 105173.
- [28] 吕仲明. 胖大海抗高尿酸血症生物活性评价及化学成分研究[D]. 南京: 东南大学, 2022. [LÜ Shenming. Study on the anti-hyperuricemia and chemical components of *sterculiae lychnophorae semen*[D]. Nanjing: Southeast University, 2022.]
- [29] CHEN Kailin, XIE Dongdong, LUO Manping, et al. Functional food potential of *Chrysanthemum morifolium*, *Perilla frutescens*, and *Sophora japonica* in managing hyperuricemia through dual enzyme inhibition[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2024, 72(46): 25879–25894.
- [30] DING Qiao, NIE Shaoping, HU Jielun, et al. *In vitro* and *in vivo* gastrointestinal digestion and fermentation of the polysaccharide from *Ganoderma atrum*[J]. Food Hydrocolloids, 2017, 63: 646–655.
- [31] NG Z X, SEE A N. Effect of *in vitro* digestion on the total polyphenol and flavonoid, antioxidant activity and carbohydrate hydrolyzing enzymes inhibitory potential of selected functional plant-based foods[J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2019, 43(4): e13903.
- [32] ZHANG Pengfei, SUN Huimin, CHENG Xinyu, et al. Dietary intake of fructose increases purine *de novo* synthesis: A crucial mechanism for hyperuricemia[J]. Frontiers in Nutrition, 2022, 9: 1045805.
- [33] ZHEN Haitao, GUI Fen. The role of hyperuricemia on vascular endothelium dysfunction[J]. Biomedical Reports, 2017, 7(4): 325–330.
- [34] HOU C, LIU D, WANG M, et al. Novel xanthine oxidase-based cell model using HK-2 cell for screening antihyperuricemic functional compounds[J]. Free Radic Biol Med, 2019, 136: 135–145.
- [35] ZHA X, YANG B, XIA G, et al. Combination of uric acid and pro-inflammatory cytokines in discriminating patients with gout from healthy controls[J]. Journal of Inflammation Research, 2022: 1413–1420.
- [36] WEN L, YANG H, MA L, et al. The roles of NLRP3 inflammasome-mediated signaling pathways in hyperuricemic nephropathy[J]. Molecular and Cellular Biochemistry, 2021, 476: 1377–1386.
- [37] REN Q, TAO S, GUO F, et al. Natural flavonol fisetin attenuated hyperuricemic nephropathy via inhibiting IL-6/JAK2/STAT3 and TGF- β /SMAD3 signaling[J]. Phytomedicine, 2021, 87: 153552.
- [38] HUA J, HUANG P, ZHU C M, et al. Anti-hyperuricemic and nephroprotective effects of modified simiao decoction in hyperuricemic mice[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2012, 142(1): 248–252.
- [39] WANG Z, WANG X, YAN H, et al. *Aronia melanocarpa* ameliorates gout and hyperuricemia in animal models[J]. Food and Agricultural Immunology, 2019, 30(1): 47–59.
- [40] LI J, WANG Z, FAN M, et al. Potential antioxidative and anti-hyperuricemic components targeting superoxide dismutase and xanthine oxidase explored from *Polygonatum sibiricum* Red[J]. Antioxidants, 2022, 11(9): 1651.
- [41] SZCZUKO M, ZAPALOWSKA-CHWYĆ M, DROZD R. A low glycemic index decreases inflammation by increasing the concentration of uric acid and the activity of glutathione peroxidase (GPx3) in patients with polycystic ovary syndrome (PCOS)[J]. Molecules, 2019, 24(8): 1508.