

壮药痛风康颗粒对实验性痛风的作用研究*

Study on Effects of Tongfengkang Granules on Anti-gout Arthritis

苏 华¹, 何 飞^{1,2}, 韦桂宁^{1,2**}, 曾宪彪¹, 赖茂祥¹, 韦宝伟¹

SU Hua¹, HE Fei^{1,2}, WEI Gui-ning^{1,2}, ZENG Xian-biao¹, LAI Mao-xiang¹,

WEI Bao-wei¹

(1. 广西中医药研究院, 广西南宁 530022; 2. 广西中药质量标准重点实验室, 广西南宁 530022)

(1. Guangxi Institute of Chinese Medicine & Pharmaceutical Science, Nanning, Guangxi, 530022, China; 2. Guangxi Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Quality Standard, Nanning, Guangxi, 530022, China)

摘要:【目的】观察壮药痛风康颗粒对实验性痛风的治疗作用,为其在临床上应用提供药理学依据。【方法】采用次黄嘌呤诱导高尿酸血症模型、尿酸钠(MSU)诱导大鼠足跖肿胀模型,分别观察痛风康颗粒对高尿酸血症小鼠血清尿酸、对MSU所致大鼠足跖肿胀的影响;采用小鼠热板法、醋酸致小鼠扭体法观察痛风康颗粒的镇痛作用;观察灌胃给药的LD₅₀,评价其药物安全性。【结果】痛风康颗粒对高尿酸血症小鼠血清尿酸具有显著降低作用($P < 0.05$, $P < 0.01$);对MSU所致大鼠足跖肿胀程度有明显的抑制作用($P < 0.05$, $P < 0.01$);灌胃给予痛风康颗粒60 min后,痛风康颗粒可显著提高小鼠热板痛阈,降低醋酸引起的小鼠扭体反应次数($P < 0.05$);经灌胃给药的LD₅₀为116.30 g药材/kg。【结论】痛风康颗粒可降低高尿酸血症小鼠血清尿酸、抑制大鼠足跖肿胀,且具有镇痛作用,具有一定的抗痛风作用,口服应用具有较高的安全性。

关键词: 壮药痛风康颗粒 尿酸 痛风 镇痛

中图分类号: R285.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1005-9164(2015)04-0449-05

Abstract:【Objective】The effects of Tongfengkang Granules on anti-gout were studied to provide a pharmacological reference for its clinical application.【Methods】Hyperuricemia mice were induced by hypoxanthine and toes' swelling rats were induced by sodium urate (MSU). The effects of Tongfengkang Granules were studied on the serum uric acid level of acute gouty arthritis mice, and on the toe swelling rate of model rats. The analgesic effect was evaluated by mice stimulated with acetic acid or hot plate. LD₅₀ of oral administration was observed to evaluate the safety of the drug.【Results】Tongfengkang Granules could markedly reduce both the serum uric acid level in acute gouty arthritis rats ($P < 0.05$, $P < 0.01$) and the toe swelling rate ($P < 0.05$, $P < 0.01$). After 60 min of orally administration, Tongfengkang Granules had significantly analgesic effect on the mice stimulated by acetic acid or hot plate ($P < 0.05$). The LD₅₀ of Tongfengkang Granules was 116.30 g crude/kg.【Conclusion】Tongfengkang Granules could significantly reduce the serum uric acid level of hyperuricemia mice and the toe swelling rate in gouty arthritis rats, and has certain analgesic effect in mice. Its oral administration revealed high security.

Key words: Tongfengkang Granules, uric acid,

收稿日期: 2015-01-06

修回日期: 2015-03-10

作者简介: 苏 华(1984-),女,硕士研究生,助理研究员,主要从事天然药物药理药效学研究。

* 广西重点实验室开放基金项目(桂中重开 0803)资助。

** 通信作者: 韦桂宁(1973-),男,副主任药师,主要从事天然药物药理药效学研究, E-mail: weiguining2004@163.com。

0 引言

【研究意义】痛风是以嘌呤代谢或排泄失常而导致血尿酸升高,并伴有结缔组织内尿酸钠结晶沉着,引起痛风性关节炎,生活质量的下降,甚至残疾的代谢性疾病^[1]。且易引起心血管疾病、糖尿病、肾脏病变、恶性肿瘤或帕金森症等^[1~4]。随着人们生活水平的提高,日常饮食结构的改变,使得食物中嘌呤含量较以前有所增加,痛风的发病率急剧上升。目前我国约有1200万以上痛风患者,而血中尿酸含量过高者约有1.2亿(约占人口总数的9%),在未来的几十年内,痛风在我国将成为仅次于糖尿病的第2号代谢疾病^[2,3]。目前临床上常使用秋水仙碱、非甾类抗炎药(NSAIDs)、肾上腺皮质激素、镇痛药等进行治疗。虽然这些药物对高尿酸及其引起的并发症有一定的缓解作用,但难以治本,且大多数临床药物毒副作用明显,患者依从性差、复发率高。因此,研制高效低毒的抗痛风药物迫在眉睫。**【前人研究进展】**壮药痛风康颗粒是根据壮族民间长期使用的处方而配置成的复方抗痛风药物,由铁扫帚、土太片、车前草等组方组成。文献^[5]研究发现铁扫帚可用来治疗糖尿病、失眠、小儿血尿、小儿疳积等病;文献^[6]则报道车前草可用于热淋涩痛,水肿尿少,暑湿泄泻等症,此外,车前草还具有一定的抗痛风效果,表现为在体外对黄嘌呤氧化酶具有抑制作用^[7]。另有研究报道,车前草乙醇提取物可抑制马肾脏 Na^+ -K-ATP酶活性,可促进水、氯化钠、尿素与尿酸的排泄^[8]。**【本研究切入点】**目前,该方在民间对痛风具有良好的治疗作用,但因缺少系统研究影响其在临床上的广泛使用。**【拟解决的关键问题】**为进一步开发该药方,本研究采用次黄嘌呤诱导高尿酸血症模型、尿酸钠(MSU)诱导大鼠足跖肿胀模型,分别观察痛风康颗粒对高尿酸血症小鼠血清尿酸、对MSU所致大鼠足跖肿胀的影响;采用小鼠热板法、醋酸致小鼠扭体法观察痛风康颗粒的镇痛作用;观察灌胃给药的 LD_{50} ,评价其药物安全性,为其在临床应用提供药理学依据。

1 材料与方方法

1.1 材料

1.1.1 药物

痛风康颗粒,每克药膏相当于9.47 g原药材,广西中医药研究院中药所,批号:20100815;别嘌醇片,重庆科瑞制药有限责任公司,批号:319002;罗通定,

广州康和药业有限公司,批号:041001。

1.1.2 试剂

尿酸试剂盒,南京建成生物研究所,批号:20120513;次黄嘌呤,Sigma公司;尿酸,Sigma公司,批号:058k0722;氢氧化钠,广东光华化学厂有限公司,批号:20080110;氢氧化钾,天津市化学试剂三厂,批号:860805;甲醇,广东光华化学厂有限公司,批号:20090811;微晶型尿酸钠结晶(MSU):将5 g尿酸置1000 mL沸水中,用NaOH调pH值至7.4,加热至95℃,然后于室温冷却并轻轻搅拌,过滤即得MSU,并于200℃高温灭菌,临用时用无菌生理盐水配成100 mg/mL的混悬液。

1.1.3 仪器

FA1004电子天平,上海精科天平仪器厂;TDL-5000B型低速冷冻离心机,上海安亭科学仪器厂;13960型iMark酶标仪,Japan Bio-rad公司;岛津紫外UV-2550,日本;GJ-8402热板测痛仪,宁海白石电子医药仪器厂。

1.1.4 实验动物

昆明小鼠,体重(20±2) g;Wistar大鼠体重(200±20) g,均为SPF级,由广西医科大学实验动物中心提供,动物合格证号:SCXK桂2003-0003。动物观察室:温度20~25℃,相对湿度(60±10)%。小鼠每笼10只,大鼠每笼5只,颗粒饲料喂食,自由饮水。

1.2 方法

1.2.1 痛风康颗粒对次黄嘌呤致高尿酸血症小鼠血清尿酸的影响

参考文献^[9],略有改动。选取昆明小鼠60只,随机分为6组,每组10只,组内雌雄各半,即正常对照组、模型组、阳性药别嘌醇片(50 mg/kg)组、痛风康颗粒高(6.63 g药材/kg)、中(3.32 g药材/kg)、低(1.66 g药材/kg)剂量组(以下简称为TGH、TGM和TGL剂量组)。灌胃给药,1次/d,正常对照组和模型组灌胃给予等体积蒸馏水,连续12 d。末次给药1 h后,除正常对照组,其余各组于小鼠腹腔注射次黄嘌呤600 mg/kg,1 h后眼球取血,3000 r/min离心10 min,取血清测尿酸含量。

1.2.2 痛风康颗粒对MSU致大鼠足跖肿胀的影响

参考文献^[10],略有改动。选取Wistar雄性大鼠60只,随机分为6组,每组10只,即正常对照组、模型组、阳性药别嘌醇片(20 mg/kg)组、TGH、TGM和TGL剂量组。灌胃给药,1次/d,正常对照组和模型组灌胃给予等体积蒸馏水,连续15 d。末次

给药 1 h 后,除正常对照组,其余各组于大鼠右后足跖皮下注射 0.15 mL MSU 致炎,测定注射前和注射后 1 h、2 h、3 h、4 h、5 h、6 h、7 h 不同时刻大鼠右后足跖周径,计算其肿胀度。足跖肿胀度 = $(t$ 时间周径 - t_0 时间周径) / t_0 时间周径 $\times 100\%$ 。

1.2.3 痛风康颗粒的镇痛作用^[11]

1.2.3.1 对热板致痛小鼠的镇痛作用

将热板测痛仪温度调节到 $(55 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ 作为热刺激源(室温 20°C)。规定雌性小鼠自投入热板至出现添后足的潜伏期时间 S 为该鼠的痛阈值。给药前先测定每只小鼠的痛阈,把痛阈值小于 5 s 或大于 30 s 的小鼠剔除。选取痛阈合格小鼠 50 只进行分组,每组 10 只,即对照组、阳性药罗通定(80 mg/kg)组、TGH、TGM 和 TGL 剂量组,分别灌胃给药 1 次,对照组给等体积蒸馏水。给药后 30 min、60 min、90 min、120 min 再次测定小鼠痛阈值。为防止小鼠烫伤,若痛阈值超过 60 s,则停止测试按 60 s 计。

1.2.3.2 对醋酸致小鼠疼痛的镇痛作用

选取昆明小鼠 50 只,随机分为 5 组,每组 10 只,组内雌雄各半,给药同 1.2.3.1,给药 1 h 后每只小鼠腹腔注射 0.2 mL 0.6% 醋酸溶液。观察并记录注射醋酸后 15 min 内小鼠扭体次数。

1.2.4 急性毒性试验

同上述 1.2.3.2,将昆明小鼠分组,分别灌胃痛风康颗粒,组间按剂距 1:0.85 的比例将药物稀释后试验用。按剂量 20 mL/kg 体重给药。给药后观察小鼠的急性毒性反应和死亡情况,连续观察 14 d,并对死亡小鼠进行尸检解剖,肉眼观察心、肝、脾、肺、肾等脏器的病变情况。用 Bliss 方法计算 LD_{50} 。

1.2.5 统计学方法

采用 SPSS16.0 统计软件进行统计学计算。计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,方差齐选用随机区组设计资料的方差分析,方差不齐则选用 Kruskal-wallis 非参数秩和检验。两两相比较采用 SNK-q 检验,两个变量间采用双变量相关分析。显著性界值 $P = 0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 痛风康颗粒对次黄嘌呤致高尿酸血症小鼠血清尿酸的影响

如表 1 可见,与正常对照组比较,模型组小鼠血清尿酸含量明显升高 ($P < 0.05$),差异具有统计学意义,说明造模成功。与模型组比较,TGH、TGM 和 TGL 3 个剂量组均能显著降低小鼠血清尿酸含量,

差异具有统计学意义 ($P < 0.05, P < 0.01$)。结果提示,痛风康颗粒对次黄嘌呤所致的小鼠血尿酸有降低作用。

表 1 痛风康颗粒对次黄嘌呤致高尿酸血症小鼠血清尿酸的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 1 The effects of Tongfengkang Granules on serum uric acid level of mice with hyperuricemia ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别 Group	剂量 Dose	血尿酸值 Uric acid(mg/L)
对照组 Control group	—	41.39 \pm 8.94 *
模型组 Model group	—	52.75 \pm 7.53
别嘌醇片组 Positive group	50 mg/kg	19.56 \pm 4.92 **
TGH	6.63 g medicinal materials/kg	20.54 \pm 5.75 **
TGM	3.32 g medicinal materials/kg	35.33 \pm 20.88 *
TGL	1.66 g medicinal materials/kg	32.49 \pm 11.09 **

注:与模型组比较, ** $P < 0.01, * P < 0.05$ 。

Note: ** $P < 0.01, * P < 0.05$ compare with model.

2.2 痛风康颗粒对 MSU 致大鼠足跖肿胀后的影响

由表 2 可知,与正常对照组比较,模型组大鼠足跖肿胀度明显升高 ($P < 0.01$),差异具有显著统计学意义,说明造模成功。与模型组比较,TGH、TGM 和 TGL 3 个剂量组均能显著抑制大鼠足跖肿胀,差异具有统计学意义 ($P < 0.05, P < 0.01$)。结果提示,痛风康颗粒对 MSU 所致大鼠足跖肿胀有明显的抑制作用。

2.3 痛风康颗粒的镇痛作用

2.3.1 对热板致痛小鼠的影响

和对照组比较,灌胃给予小鼠痛风康颗粒 60 min 后,可显著提高小鼠热板痛阈(表 3),差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。结果提示痛风康颗粒具有镇痛作用。

2.3.2 对醋酸致小鼠疼痛的影响

从表 4 可知,和对照组比较,痛风康颗粒可显著降低醋酸引起的扭体反应次数,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。结果提示痛风康颗粒具有镇痛作用。

2.3.3 急性毒性作用

小鼠灌胃痛风康颗粒后,小鼠表现与给药剂量呈相关性的抽搐、后肢伸展,给药 3 min 后高剂量组即有小鼠死亡。死亡小鼠经解剖,肉眼观察心、肝、脾、肺、肾等脏器,未见明显器质性病理改变。痛风康颗粒 LD_{50} 为 116.30 g 药材/kg。

表 2 痛风康颗粒对 MSU 致大鼠足跖肿胀的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 2 The effects of Tongfengkang Granules on toes' swelling rats caused by MSU ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别 Group	剂量 Dose	致炎不同时间后大鼠足跖肿胀度 Toes' swelling of rats in different time(%)						
		1 h	2 h	3 h	4 h	5 h	6 h	7 h
对照组 Control group	—	9.09±7.42*	7.86±2.21**	5.68±4.35**	7.33±4.99**	11.17±4.15**	11.12±4.15**	3.41±2.27**
模型组 Model group	—	19.34±6.71	19.27±5.69	26.46±7.03	31.44±4.86	34.31±6.61	32.10±8.55	27.55±6.29
别嘌醇片 Positive group	20 mg/kg	8.02±5.67*	8.96±6.40*	9.07±7.42**	13.04±7.22**	14.66±9.44**	12.25±8.04**	14.11±9.14**
TGH	6.63 g medicinal materials/kg	12.11±7.08*	16.37±2.60*	16.28±5.59**	18.07±3.86**	19.04±4.14**	16.21±7.88**	16.70±5.76**
TGM	3.32 g medicinal materials/kg	9.13±4.93*	12.50±4.69	12.64±6.96**	15.79±4.80**	17.44±5.41**	15.86±5.83**	14.75±7.99**
TGL	1.66 g medicinal materials/kg	9.80±5.16	12.47±4.51	12.49±3.30**	16.60±2.32**	20.19±3.31**	17.15±2.96**	17.12±4.66**

注:与模型组比较, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$ 。Note: ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$ compare with model.

表 3 痛风康颗粒对小鼠热板试验的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 3 The effects of Tongfengkang Granules on pain threshold of mice caused by hot plate ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别 Group	剂量 Dose	痛阈 Pain threshold(s)				
		药前 Before	药后 30 min After 30 min	药后 60 min After 60 min	药后 90 min After 90 min	药后 120 min After 120 min
对照组 Control group	—	18.6±5.1	21.5±6.7	22.2±8.8	17.3±7.2	20.5±8.03
罗通定 Positive group	60 mg/kg	18.7±5.5	30.9±12.8	46.5±15.1**	48.8±16.5**	29.5±17.2
TGH	6.63 g medicinal materials/kg	18.6±3.2	22.7±9.3	35.0±16.3*	19.6±11.2	20.0±11.2
TGM	3.32 g medicinal materials/kg	18.1±4.3	19.6±9.8	20.3±9.3	18.0±14.3	20.9±15.6
TGL	1.66 g medicinal materials/kg	18.6±5.0	16.2±7.1	20.6±8.9	17.5±5.2	24.3±19.4

注:与模型组比较, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$ 。Note:compare with model, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$ 。

表 4 痛风康颗粒对醋酸致痛小鼠潜伏期及扭体次数的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 4 The effects of Tongfengkang Granules on the times of body twisting of mice caused by acetic acid ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别 Group	剂量 Dose	扭体次数 Times of body twisting
对照组 Control group	—	25.1±7.2
罗通定 Positive group	60 mg/kg	14.6±10.7*
TGH	6.63 g medicinal materials/kg	18.3±6.8*
TGM	3.32 g medicinal materials/kg	22.9±17.1
TGL	1.66 g medicinal materials/kg	19.4±9.1

注:与模型组比较, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$ 。Note:compare with model, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$ 。

3 结论

痛风在壮医中属“发旺”，治疗上采用以固本培元，祛除邪毒，使气道、水道及谷道通畅，通则不痛，从而达到有效治疗痛风的目的^[12]。实验结果表明，痛风康颗粒在降低次黄嘌呤致高尿酸血症小鼠血清尿酸及改善 MSU 所致大鼠足跖肿胀方面有较好作用，表明壮药痛风康颗粒对高尿酸血症及痛风性关节炎有拮抗作用；且该药高剂量组可显著降低血清尿酸，提示该药作用机制可能与调节机体生理代谢功能并改善机体免疫机制有关。该药能提高热板法及醋酸法致小鼠疼痛的痛阈值，表明该药在改善痛风性关节炎常见的肿痛等主要症状方面有一定疗效。本次研究结果与文献报道基本吻合，提示壮药痛风康颗粒在治疗痛风病方面具有重要的临床价值。

参考文献:

- [1] Richette P, Bardin T, Gout[J]. Lancet, 2010, 375(9711): 318-328.
- [2] Baker J F, Schumacher H R. Update on gout and hyperuricemia[J]. Int J Clin Pract, 2010, 64(3): 371-377.
- [3] Kelkar A, Kuo A, Frishman W H. Allopurinol as a cardiovascular drug[J]. Cardiol Rev, 2011, 19(6): 265-271.
- [4] Constantinescu R, Zetterberg H. Urate as a marker of development and progression in Parkinson's disease[J]. Drugs Today, 2011, 47(5): 369-380.
- [5] 朱晓勤, 郑孟苏, 邹秀红, 等. 截叶铁扫帚不同药用部位提取物体外抗氧化活性研究[J]. 时珍国医国药, 2012, 23(1): 166-168.
- Zhu X Q, Zheng M S, Zou X H, et al. Anti-oxidative effect of extracting from different parts of *Lespedeza cuneata in vitro* [J]. Lishizhen Medicine and Material Medica Research, 2012, 23(1): 166-168.
- [6] 曾金祥, 毕莹, 魏娟, 等. 车前草提取物降低急性高尿酸血症小鼠血尿酸水平及机理研究[J]. 时珍国医国药, 2013, 24(9): 2064-2066.
- Zeng J X, Bi Y, Wei J, et al. The research of *Plantago asiatica* L. Herbs extracts reduce the level of uric acid in hyperuricemia mice and it's mechanism[J]. Lishizhen Medicine and Material Medica Research, 2013, 24(9): 2064-2066.
- [7] Kong L D, Cai Y, Huang W W, et al. Inhibition of xanthine oxidase by some Chinese medicinal plants used to treat gout[J]. Ethnopharmacol, 2000, 73(1-2): 199-207.
- [8] 刘贤旺, 吴祥松, 黄慧莲, 等. 车前的本草考证[J]. 中药材, 2002, 25(1): 46-48.
- Liu X W, Wu X S, Huang H L, et al. Herbalogical study on *Plantago asiatica* L. [J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2002, 25(1): 46-48.
- [9] 韦桂宁, 苏启表, 何飞, 等. 拟黑多刺蚁乙醇提取物中降低小鼠血清尿酸水平活性部位的筛选与化学成分分析[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2013, 27(4): 673-677.
- Wei G N, Su Q B, He F, et al. Screening and chemical component analysis of anti-hyperuricemic active fraction of ethanol extract from *Polyrhachis vicina* Roger in hyperuricemia model mice[J]. Chin J Pharmacol Toxicol, 2013, 27(4): 673-677.
- [10] 云雪林, 杨碧仙, 胡奇志, 等. 苗医通痹排浊验方组方原则及其镇痛风作用研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(4): 192-195.
- Yun X L, Yang B X, Hu Q Z, et al. Study on effects of Tongbi proved recipe of Miao nationality medicine on anti-gouty arthritis and its formulating principle[J]. China Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2011, 17(4): 192-195.
- [11] 李仪奎. 中药药理实验方法学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2006: 644.
- Li Y K. Chinese Medicine Pharmacology Research Methodology [M]. Shanghai: Shanghai Scientifia & Technical Publishers, 2006: 644.
- [12] 唐华. 壮医排毒扶正疗法防治痛风的探讨[J]. 中外健康文摘, 2011, 8(34): 325-327.
- Tang H. Prevention and treatment with Paidu Fuzheng of Chuang medicine in gout[J]. World health digest, 2011, 8(34): 325-327.

(责任编辑:米慧芝)

(上接第 448 页 Continue from page 448)

- [10] Iribarren A M, Pomilio A B. Steroidal glycosides, flavonoids and other components of *Bauhinia uruguayensis* [J]. Anales De La Asociacion Quimica Argentina, 1989, 77: 461-466.
- [11] Kovganko N, Kashkan Z N, Borisov E, et al. ¹³C NMR spectra of β -sitosterol derivatives with oxidized rings A and B[J]. Chemistry of Natural Compounds, 1999, 35: 646-649.
- [12] Seitz L M, Paukstelis J V. Metabolites of *Alternaria alternata*: Ergosterol and ergosta-4, 6, 8 (14), 22-tetraen-3-one[J]. J Agric Food Chem, 1977, 25(4): 838-841.
- [13] 赵燕燕, 崔承彬, 蔡兵, 等. 洋紫荆中化学成分的分离与鉴定[J]. 中国药物化学杂志, 2004, 14(5): 294-297.
- Zhao Y Y, Cui C B, Cai B, et al. Isolation, identification of the chemical constituents from *Bauhinia variegata* L. [J]. Chinese Journal of Medicinal Chemistry, 2004, 14(5): 294-297.

(责任编辑:陆雁)