

痛风康宁片治疗痛风性关节炎的药效学研究

姜溪^{1,2,3,4}, 只德广^{1,2,3,4*}, 刘鸿生⁵, 陈芙蓉^{1,2,3,4}, 董坚强⁶, 岳南^{1,2,3,4}

1. 天津天诚新药评价有限公司, 天津 300462
2. 药物成药性评价与系统转化全国重点实验室, 天津 300462
3. 天津市药代动力学和药效动力学重点实验室, 天津 300462
4. 天津市新药非临床评价技术工程中心, 天津 300462
5. 天津天中医药科技有限公司, 天津 300190
6. 天津市凯文生物科技有限公司, 天津 300384

摘要: **目的** 采用多种实验模型评价痛风康宁片防治痛风性关节炎的有效性。**方法** 采用微晶型尿酸钠 (MSU) 诱导大鼠急、慢性痛风性关节炎模型, 观察痛风康宁片对急、慢性痛风性关节炎的预防和治疗作用; 采用大鼠棉球肉芽肿模型, 观察痛风康宁片的抗炎作用; 采用血瘀大鼠模型, 观察痛风康宁片的活血作用; 采用小鼠醋酸扭体模型, 观察痛风康宁片的镇痛作用。**结果** 与模型组比较, 痛风康宁片预防给药, 1.15、2.3 g/kg 能明显减轻 MSU 引起的大鼠右踝关节肿胀、改善步态、减少血清中白细胞介素 (IL) -1 β 、IL-6 含量; 痛风康宁片治疗给药, 1.15、2.3 g/kg 能明显减轻 MSU 引起的大鼠右踝关节肿胀、改善步态; 痛风康宁片 1.15、2.3 g/kg 明显降低慢性关节炎大鼠气囊灌洗液中 IL-1 β 、IL-6、肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 含量和吞噬细胞数; 痛风康宁片 1.15、2.3 g/kg 能明显减轻大鼠棉球肉芽重量; 痛风康宁片 0.58、1.15、2.3 g/kg 明显抑制血瘀大鼠全血粘度的升高; 痛风康宁片 1.66、3.33 g/kg 组明显减少醋酸诱导的小鼠扭体次数。**结论** 痛风康宁片有明显的抗炎、镇痛及活血作用, 对痛风性关节炎有明显的治疗作用。

关键词: 痛风康宁片; 痛风性关节炎; 微晶型尿酸钠; 炎症因子; 抗炎; 镇痛

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2024)07-1662-09

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2024.07.002

Pharmacodynamic study of Tongfeng Kangning Tables in treatment of gouty arthritis

JIANG Xi^{1,2,3,4}, ZHI Deguang^{1,2,3,4}, LIU Hongsheng⁵, CHEN Furong^{1,2,3,4}, DONG Jianqiang⁶, YUE Nan^{1,2,3,4}

1. Tianjin Tiancheng Drug Assessment Co., Ltd., Tianjin 300462, China
2. State Key Laboratory of Druggability Evaluation and Systematic Translational Medicine, Tianjin 300462, China
3. Tianjin Key Laboratory of Pharmacokinetics and Pharmacodynamics, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300462, China
4. Tianjin Engineering Research Center of Drug Preclinical Assessment Technology, Tianjin 300462, China
5. Tianjin Tianzhong Medicine Technology Co., Ltd., Tianjin 300190, China
6. Tianjin Kaiwen Biotechnology Co., Ltd., Tianjin 300384, China

Abstract: Objective To evaluate the effectiveness of Tongfeng Kangning Tables in prophylactic and therapeutic of gouty arthritis in various experimental models. **Methods** To observe the preventive and therapeutic effects of Tongfeng Kangning Tables on acute and chronic gouty arthritis in rats induced by microcrystalline sodium urate (MSU). The anti-inflammation effect of Tongfeng Kangning Tables was observed by using cotton ball granuloma model in rats. Blood stasis rat model was used to observe the blood-activating effect of Tongfeng Kangning Tables. The analgesic effect of gout Tongfeng Kangning Tables was observed by using acetic acid writhing model in mice. **Results** Compared with model group, prophylactic administration of Tongfeng Kangning Tables in 1.15 and 2.3 g/kg

收稿日期: 2024-03-28

基金项目: 国家科技支撑计划课题 (2013BAI09B01)

作者简介: 姜溪, 女, 副研究员, 主要从事药物临床前药效学研究。E-mail: jiangx@tjipr.com

*通信作者: 只德广, 男, 副研究员, 主要从事药物临床前药效学研究。E-mail: zhidg@tjipr.com

groups could significantly reduce the swelling of right ankle joint induced by MSU, improve gait, and reduce the contents of IL-1 β and IL-6 in serum. Tongfeng Kangning Tables in 1.15 and 2.3 g/kg groups could significantly reduce the swelling of the right ankle and improve the gait induced by MSU. The contents of IL-1 β , IL-6, tumor necrosis factor- α (TNF- α) and the number of phagocytic cells in the balloon lavage fluid of chronic arthritis rats were significantly reduced in the 1.15 and 2.3 g/kg Tongfeng Kangning Tables groups. Tongfeng Kangning Tables in 1.15 and 2.3 g/kg groups could significantly reduce the weight of cotton ball granulation. Tongfeng Kangning Tables in 0.58, 1.15, and 2.3 g/kg groups significantly inhibited the increase of whole blood viscosity of blood stasis rats. Tongfeng Kangning Tables 1.66 and 3.33 g/kg groups significantly reduced the number of body twisting induced by acetic acid. **Conclusion** Tongfeng Kangning Tables has obvious anti-inflammatory, analgesic and blood-activating effects, and has obvious therapeutic effects on gouty arthritis.

Key words: Tongfeng Kangning Tables; gouty arthritis; MSU; inflammatory factors; anti-inflammatory; analgesia

随着物质生活条件的改善与现代科技的发展, 人群日常饮食中的高嘌呤物质占比不断升级, 痛风患病率逐年上升, 给患者及家庭带来巨大的痛苦和沉重的经济负担^[1]。痛风性关节炎是由于尿酸长期高于饱和阈值, 生成的尿酸盐晶体沉积在关节囊、滑膜、软骨等关节组织, 刺激关节引起关节滑膜及周围组织的炎症, 发作时常有明显的红、肿、热、痛等症状^[2-3]。痛风性关节炎按照病情进展可分为无症状期、急性关节炎期、间歇期、慢性关节炎期, 无症状期处于亚临床状态, 急性期发作是因尿酸盐晶体沉积于关节间隙及滑膜引发的持续性炎症, 迁延不愈可使关节间隙出现骨侵蚀, 未经治疗或处理不当将进一步产生慢性炎症和结构性关节损伤, 更加严重和难以治疗^[4]。

临床上, 常使用秋水仙碱、非甾体抗炎药和皮质类固醇来缓解痛风的急性发作, 但胃肠道不良反应、情绪障碍、免疫抑制和肾功能不全等严重的不良反应同样让人望而生畏^[5]。因此, 研制疗效好、不良反应小, 并能长期使用的治疗药物具有重要的现实意义。中医药拥有几千年的历史, 痛风在中医中属于“痹症”, 致病机理为脾胃虚弱、气血不畅、经络痹阻, 应用中药治疗痛风性关节炎受到更多临床医师的重视。

痛风康宁片是就《素问·痹论》相关论述, 经创立者多年临床摸索, 结合实践将“三妙散”“防风汤”“风灵汤”等各方化裁成一个治疗痛风性关节炎的经验方, 经多年的临床应用, 显示服用安全, 疗效显著。痛风康宁片主要由秦皮、乌梅、忍冬藤等多味中药组成, 具有泄浊化痰、消肿止痛的功效^[6]。乌梅药食同源, 性味酸平, 能敛肺涩肠, 生津安蛔, 具有抑菌、抗氧化、抗炎等多种药理作用^[7]; 秦皮性寒味苦、涩, 能清热燥湿、平喘止咳、收涩明目, 具有抗炎镇痛、抗氧化、利尿及抗肿瘤等作用^[8]; 忍

冬藤性味甘寒, 能清热解毒、疏风通络, 是透邪解毒之良药, 具有抗病毒、抗炎、抗肿瘤等作用^[9], 诸药合用, 共奏消炎镇痛之功。

本实验采用多种动物模型, 评估痛风康宁片对痛风性关节炎的治疗作用, 并探讨其作用机制, 为临床应用提供实验依据。

1 材料

1.1 实验动物

SPF 级 ICR 小鼠, 3~4 周龄, 购自北京维通利华实验动物技术有限公司, 实验动物许可证号 SCXK(京)2012-0001, 饲养于天津天诚新药评价有限公司动物实验楼屏障环境中, 动物实验通过天津天诚新药评价有限公司动物使用和管理委员会批准(伦理批准号 2014101303)。

SPF 级雄性 Wistar 大鼠, 6~7 周龄, 购自北京维通利华实验动物技术有限公司, 实验动物许可证号 SCXK(京)2012-0001, 饲养于天津天诚新药评价有限公司动物实验楼屏障环境中, 动物实验通过天津天诚新药评价有限公司动物使用和管理委员会批准(伦理批准号 2014110702)。

SPF 级雄性 SD 大鼠, 5~6 周龄, 购自北京维通利华实验动物技术有限公司, 实验动物许可证号 SCXK(京)2012-0001, 饲养于天津天诚新药评价有限公司动物实验楼屏障环境中, 动物实验通过天津天诚新药评价有限公司动物使用和管理委员会批准(伦理批准号 2014082802、2014091004、2015011205、2015081009)。

1.2 药品与主要试剂

痛风康宁片, 4.14 g 生药/g, 批号 20140801, 由秦皮、炙乌梅、忍冬藤、茯苓、虎杖、薏苡仁、炒白术组成; 将中药冲洗浸泡后, 水提 2 次, 合并提取液后进行浓缩, 再加入 70% 乙醇溶液进行醇沉, 收集上层溶液干燥后得浸膏粉, 并以秦皮甲素和秦

皮乙素为标志成分进行质量控制; 临床拟用量为每人每日 12.798 g 生药 (换算成大鼠临床等效用量为 1.15 g 生药/kg, 换算成小鼠临床等效用量为 1.66 g 生药/kg), 天津市凯文生物科技有限公司提供; 秋水仙碱片 (规格 0.5 mg/片, 批号 140602, 西双版纳版纳药业有限责任公司); 阿司匹林肠溶片 (规格 25 mg/片, 批号 018130805, 石药集团欧意药业有限公司); 尼莫地平片 (规格 30 mg/片, 批号 130516, 天津市中央药业有限公司); 塞来昔布胶囊 (规格 0.2 g/粒, 批号 BK13CCEK107, Pfizer Pharmaceuticals LLC 公司); 尿酸 (批号 408B057, Solarbio 公司); 盐酸肾上腺素注射液 (规格 1 mg/mL, 批号 1407241, 天津金耀药业有限公司)。

大鼠白细胞介素-1 β (IL-1 β) 酶联免疫试剂盒 (批号 201408)、大鼠白细胞介素-6 (IL-6) 酶联免疫试剂盒 (批号 201408)、大鼠肿瘤坏死因子 (TNF- α) 酶联免疫试剂盒 (批号 201408) 均购自武汉基因美生物工程有限公司; 生理盐水 (批号 E14030801, 河北天成药业股份有限公司); 冰醋酸 (分析纯, 批号 20140920, 天津市风船化学试剂科技有限公司); 柠檬酸钠 (分析纯, 批号 20131008, 天津市化学试剂供销公司); 羧甲基纤维素钠 (分析纯, 批号 20110520, 上海科丰化学试剂有限公司)。

1.3 主要仪器

PV-200 足趾容积测量仪 (成都泰盟科技有限公司产品); LBY-N6 型全自动血液流变仪 (北京普利生仪器有限公司产品); XSP-BM8A 普通-偏振光学显微镜 (上海光学仪器六厂产品); RT-6100 酶标分析仪 (深圳雷杜生命科学股份有限公司产品); S.C.101-2A 型鼓风电热恒温干燥箱 (浙江大东烘箱有限公司产品); FA1104 型电子天平 (上海天平仪器厂产品); BP310S 型电子天平 (Sartorius 公司产品)。

2 方法

2.1 微晶型尿酸钠 (MSU) 制备

2 g 尿酸加入 400 mL 沸腾蒸馏水, 加热搅拌均匀, 缓慢滴加 0.5 mol/L NaOH 溶液, 调 pH 至 7.2, 溶液至澄清, 静置至室温后冰箱 4~8 °C 保存, 48 h 后取出, 可见大量云雾状白色沉淀, 过滤并用蒸馏水冲洗沉淀 3 次后, 将沉淀放入坩埚中于 200 °C 烘箱内烘烤 72 h 制得。

2.2 痛风康宁片对急性痛风性关节炎的预防作用

选用健康雄性 SD 大鼠 60 只, 体质量 180~200

g, 按体质量随机分为对照组、模型组、秋水仙碱 0.81 mg/kg 组、痛风康宁片 (0.58、1.15、2.3 g/kg) 组^[10], 每组 10 只。各组均 ig 给药, 对照组和模型组 ig 给予等容量 0.5% 羧甲基纤维素钠 (CMC-Na), 其余各给药组 ig 相应剂量药物, 给药体积均为 10 mL/kg, 1 次/d, 连续 7 d。给药第 5 天, 所有动物在右踝关节处用记号笔划线做标记, 测定右踝关节容积初始值后, 除对照组大鼠注射等体积的生理盐水外, 其余各组大鼠均在右踝关节背侧关节腔 (关节伸直 45° 进针) 注入 50 mg/mL 的 MSU 生理盐水混悬液 50 μ L, 继续给药 2 d^[11]。

分别测定造模后 6、24、48 h (均为当次给药后 2 h) 大鼠右踝关节容积, 计算关节肿胀度 (造模后关节容积-造模前关节容积) 和记录各时间点步态。大鼠步态分级: 0 级: 正常行走; 1 级: 轻微跛行, 受试下肢略有弯曲; 2 级: 中度跛行, 受试下肢刚触及地面; 3 级: 重度跛行, 受试下肢离开地面, 3 足着地行走^[10]。

造模 48 h 后, 动物麻醉, 腹主动脉取血, 3 000 r/min 离心 10 min, 取上清, -20 °C 保存, 测定血清 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 含量, 观察痛风康宁片的作用。

2.3 痛风康宁片对急性痛风性关节炎的治疗作用

选用健康雄性 SD 大鼠 100 只, 体质量 180~200 g, 按体质量随机选择 10 只作为对照组, 其余大鼠作为造模组。所有动物在右踝关节处用记号笔划线做标记后, 测定大鼠右踝关节容积初始值, 同 2.2 项下方法诱导大鼠急性痛风性关节炎模型, 造模后 10 h 测定右踝关节容积, 计算关节肿胀度, 筛选出 50 只肿胀度在 0.50~1.0 mL 的造模合格大鼠进行后续实验。合格大鼠按关节肿胀度随机分为模型组、秋水仙碱 0.81 mg/kg 组、痛风康宁片 (0.58、1.15、2.3 g/kg) 组, 另设对照组 (不造模), 每组 10 只大鼠。各组均 ig 给药, 分组后立即给药, 对照组及模型组给予等容量 0.5% CMC-Na, 给药体积均为 10 mL/kg。

测定首次给药后 2 h 大鼠右踝关节容积, 观察给药 1 次的治疗作用; 测定造模后 24、48、72 h (均为当次给药后 2 h) 大鼠右踝关节容积, 观察给药 2、3、4 次的治疗作用。同时, 对各测定时间点的大鼠步态进行分级统计, 观察痛风康宁片的治疗作用。

2.4 痛风康宁片对慢性痛风性关节炎的治疗作用

选用健康雄性 SD 大鼠 60 只, 体质量 220~240 g, 按体质量随机分为对照组、模型组、塞来昔布 54

mg/kg 组、痛风康宁片 (0.58、1.15、2.3 g/kg) 组, 每组 10 只。大鼠麻醉后背部剃毛, sc 20 mL 无菌空气形成气囊, 间隔 2 d 重复注射 10 mL 以维持气囊大小。气囊形成第 6 天, 大鼠麻醉, 除对照组注入等体积生理盐水外, 其余各组气囊内均注入 5 mg/mL MSU 生理盐水混悬液 3 mL 进行造模。各组于造模 2 h 后 ig 给药 1 次, 给药体积为 10 mL/kg, 对照组、模型组给予等量 0.5% CMC-Na^[12-14]。

造模 24 h 后大鼠过度麻醉安乐死, 气囊内注入 5 mL 生理盐水, 轻揉, 收集气囊内洗脱液, 记录体积。使用生理盐水适当稀释气囊液后, 滴于牛鲍计数板上, 于偏光显微镜下计数吞噬细胞、吞噬细胞中吞噬 MSU 晶体的细胞数量, 计算吞噬细胞总数、吞晶百分率, 3 000 r/min 离心 10 min, 取上清液测定 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 含量, 观察痛风康宁片的治疗作用。

吞噬细胞总数 = 牛鲍版四大格细胞总数/4 \times 107 \times 稀释倍数

吞晶百分率 = 镜下吞噬 MSU 晶体的细胞数量/镜下吞噬细胞数量

2.5 痛风康宁片对慢性炎症的治疗作用^[15]

选用健康雄性 SD 大鼠 50 只, 体质量 150~170 g, 按体质量随机分为对照组、阿司匹林 200 mg/kg 组、痛风康宁片 (0.58、1.15、2.3 g/kg) 组, 每组 10 只。大鼠麻醉后仰卧, 两侧腹股沟去毛消毒, 各切 0.7 cm 左右的小口, 将灭菌棉球[每个棉球质量 (30 \pm 1) mg, 手工团成圆形, 高压蒸汽灭菌 30 min, 每只棉球加入氨苄青霉素 1 mg (0.1 mL), 50 $^{\circ}$ C 烘箱烤干备用]从切口处植入腹股沟皮下, 随即缝合皮肤。待动物苏醒后, 各组均 ig 给药, 给药体积均为 10 mL/kg, 1 次/d, 连续 7 d, 对照组给予等容积 0.5% CMC-Na^[15]。

末次给药后 1 h, 动物麻醉后仰卧, 打开原切口, 将棉球连同周围结缔组织一同取出, 剔除脂肪

组织, 60 $^{\circ}$ C 烘箱烘烤 24 h 后称量干质量, 再减去棉球质量, 即为肉芽质量, 按 g 肉芽质量/100 g 体质量进行统计分析, 观察痛风康宁片的作用。

2.6 痛风康宁片的活血作用

选用健康雄性 Wistar 大鼠 48 只, 体质量 220~240 g, 按体质量随机分为对照组、模型组、尼莫地平 32.4 mg/kg 组、痛风康宁片 (0.58、1.15、2.3 g/kg) 组, 每组 8 只。各组均 ig 给药, 给药体积均为 10 mL/kg, 1 次/d, 连续 5 d, 对照组及模型组 ig 给予 0.5% CMC-Na。末次给药前 1 d, 除对照组外, 其他各组大鼠均 ih 0.1% 盐酸肾上腺素 0.8 mL/kg, 共 2 次, 间隔 6 h, 其间约 3 h 将大鼠放入 0 $^{\circ}$ C 冰水中游泳 5 min, 然后禁食过夜, 次日 ig 给药后 1 h, 大鼠麻醉, 腹主动脉取血, 以 3.8% 柠檬酸钠抗凝 (抗凝剂与全血的比为 1:9), 测定不同切速下的全血黏度, 观察痛风康宁片的活血作用^[16]。

2.7 痛风康宁片的镇痛作用

选用 ICR 种小鼠 60 只, 体质量 18~22 g, 按体质量随机分为对照组、阿司匹林 (300 mg/kg) 组、痛风康宁片 (0.83、1.66、3.33 g/kg) 组, 每组 12 只, 均雌雄各半。各组均 ig 给药, 给药体积均为 20 mL/kg, 1 次/d, 连续 5 d, 对照组 ig 给予 0.5% CMC-Na。末次给药后 1 h, 各组 ip 0.6% 冰醋酸 (10 mL/kg), 记录小鼠 15 min 内的扭体次数, 观察痛风康宁片的镇痛作用^[17]。

2.8 统计学分析

采用 SPSS 16.0 统计软件分析数据, 数据以表示, 采用 *t* 检验法、等级序值法进行组间比较。

3 结果

3.1 痛风康宁片对急性痛风性关节炎的预防作用

3.1.1 对大鼠关节肿胀度的影响 由表 1 结果显示, 与对照组比较, 模型组大鼠注射 MSU 6、24、48 h 右踝关节均明显肿胀 ($P < 0.01$), 造模成功。

与模型组比较, 痛风康宁片 2.3 g/kg 组能明显减小

表 1 痛风康宁片预防给药对急性痛风性关节炎大鼠踝关节肿胀度的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Prophylactic effect of Tongfeng Kangning Tables on ankle swelling in rats with acute gouty arthritis ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量	造模前右踝关节容积/mL	右踝关节肿胀度/mL		
			造模 6 h	造模 24 h	造模 48 h
对照	—	1.85 \pm 0.06	0.04 \pm 0.05	0.03 \pm 0.08	0.01 \pm 0.06
模型	—	1.84 \pm 0.05	0.49 \pm 0.09**	0.60 \pm 0.12**	0.50 \pm 0.16**
痛风康宁片	0.58 g kg ⁻¹	1.86 \pm 0.12	0.41 \pm 0.11	0.51 \pm 0.11	0.46 \pm 0.09
	1.15 g kg ⁻¹	1.86 \pm 0.09	0.41 \pm 0.08	0.48 \pm 0.11 [#]	0.45 \pm 0.10
	2.3 g kg ⁻¹	1.87 \pm 0.11	0.37 \pm 0.09 [#]	0.46 \pm 0.08 ^{##}	0.42 \pm 0.07
秋水仙碱	0.81 mg	1.85 \pm 0.07	0.28 \pm 0.13 ^{##}	0.37 \pm 0.17 ^{##}	0.29 \pm 0.12 ^{##}

与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$ 。

** $P < 0.01$ vs control group; [#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$ vs model group.

大鼠造模后 6、24 h 右踝关节肿胀度 ($P < 0.05$ 、 0.01)，痛风康宁片 1.15 g/kg 组能明显降低造模后 24 h 的右踝关节肿胀度 ($P < 0.05$)。

3.1.2 对大鼠步态的影响 由表 2 结果显示，与对

照组相比，模型组大鼠注射 MSU 后，活动减少，右后肢肿胀弯曲，有的行走时后肢间断抬起，有的始终抬起，3 足着地行走 ($P < 0.01$)，造模成功。与模型组比较，痛风康宁片 1.15、2.3 g/kg 组能明显改善

表 2 痛风康宁片预防给药对急性痛风性关节炎大鼠步态的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Prophylactic effect of Tongfeng Kangning Tables on gait in rats with acute gouty arthritis ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量	造模 6 h/只				P	造模 24 h/只				P	造模 48 h/只				P
		0 级	1 级	2 级	3 级		0 级	1 级	2 级	3 级		0 级	1 级	2 级	3 级	
对照	—	8	2	—	—	—	10	—	—	—	—	10	—	—	—	—
模型	—	—	—	7	3	<0.01	—	—	3	7	<0.01	—	—	5	5	<0.01
痛风康宁片	0.58 g kg ⁻¹	—	2	7	1	>0.05	—	—	7	3	>0.05	—	—	10	—	>0.05
	1.15 g kg ⁻¹	—	1	9	—	>0.05	—	—	9	1	<0.05	—	—	10	—	>0.05
	2.3 g kg ⁻¹	—	2	8	—	>0.05	—	—	10	—	<0.01	—	—	10	—	>0.05
秋水仙碱	0.81 mg	—	6	4	—	<0.01	—	3	7	—	<0.01	—	4	6	—	<0.01

造模后 24 h 的大鼠步态 ($P < 0.05$ 、 0.01)。

3.1.3 对大鼠炎症因子的影响 由表 3 结果显示，与对照组比较，模型组大鼠血清中 IL-1 β 、IL-6、TNF- α

水平均明显升高 ($P < 0.01$)，表明炎症因子释放明显增加。与模型组比较，痛风康宁片 1.15、2.3 g/kg 均能减少血清中 IL-1 β 、IL-6 水平 ($P < 0.05$ 、 0.01)。

表 3 痛风康宁片预防给药对急性痛风性关节炎大鼠血清炎症因子的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Prophylactic effect of Tongfeng Kangning Tables on serum inflammatory factors in rats with acute gouty arthritis ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量	IL-1 β (pg mL ⁻¹)	IL-6(pg mL ⁻¹)	TNF- α (pg mL ⁻¹)
对照	—	14.44 \pm 2.04	34.28 \pm 2.60	109.52 \pm 8.35
模型	—	20.81 \pm 4.26**	45.46 \pm 3.66**	132.57 \pm 8.94**
痛风康宁片	0.58 g kg ⁻¹	18.57 \pm 3.74	43.07 \pm 4.70	127.34 \pm 8.50
	1.15 g kg ⁻¹	17.31 \pm 1.90#	41.21 \pm 4.96#	127.82 \pm 8.57
	2.3 g kg ⁻¹	16.13 \pm 2.18##	40.49 \pm 4.49#	126.62 \pm 8.48
秋水仙碱	0.81 mg	16.04 \pm 1.90##	39.74 \pm 3.05##	123.70 \pm 9.41#

与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ 。

** $P < 0.01$ vs control group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs model group.

3.2 痛风康宁片对急性痛风性关节炎的治疗作用

3.2.1 对大鼠关节肿胀度的影响 由表 4 结果显示，与对照组比较，模型组大鼠注射微晶型 MSU 10 h 后右踝关节明显肿胀 ($P < 0.01$)，表明已造成痛风性

关节炎，造模成功。与模型组比较，治疗给药 1 次，痛风康宁片 1.15、2.3 g/kg 组均能明显减轻右踝关节肿胀度 ($P < 0.05$ 、 0.01)；治疗给药 2 次，2.3 g/kg 仍能明显减轻大鼠右踝关节肿胀度 ($P < 0.05$)。

表 4 痛风康宁片治疗给药对急性痛风性关节炎大鼠踝关节肿胀度的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 4 Therapeutic effect of Tongfeng Kangning Tables on ankle swelling in rats with acute gouty arthritis ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量	造模前右踝关节 容积/mL	右踝关节肿胀度/mL				
			给药前	给药 1 次	给药 2 次	给药 3 次	给药 4 次
对照	—	2.17 \pm 0.14	-0.05 \pm 0.16	-0.08 \pm 0.15	-0.07 \pm 0.13	-0.03 \pm 0.15	0.05 \pm 0.12
模型	—	2.22 \pm 0.23	0.74 \pm 0.10**	0.87 \pm 0.20**	0.63 \pm 0.16**	0.34 \pm 0.14**	0.17 \pm 0.26
痛风康宁片	0.58 g kg ⁻¹	2.18 \pm 0.13	0.73 \pm 0.12	0.77 \pm 0.29	0.59 \pm 0.27	0.29 \pm 0.17	0.16 \pm 0.16
	1.15 g kg ⁻¹	2.16 \pm 0.14	0.72 \pm 0.14	0.65 \pm 0.15#	0.50 \pm 0.14	0.23 \pm 0.12	0.13 \pm 0.16
	2.3 g kg ⁻¹	2.20 \pm 0.07	0.75 \pm 0.12	0.61 \pm 0.15##	0.46 \pm 0.14#	0.20 \pm 0.21	0.10 \pm 0.21
秋水仙碱	0.81 mg	2.15 \pm 0.11	0.75 \pm 0.15	0.60 \pm 0.19##	0.45 \pm 0.14#	0.26 \pm 0.19	0.18 \pm 0.17

与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ 。

** $P < 0.01$ vs control group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs model group.

3.2.2 对大鼠步态的影响 表 5 结果显示, 与对照组相比, 模型组大鼠注射微晶型 MSU 后, 活动减少, 右后肢肿胀弯曲, 有的行走时后肢间断抬起,

有的始终抬起, 3 足着地行走 ($P < 0.01$), 造模成功。与模型组比较, 给药治疗 3 次, 痛风康宁片 1.15、2.3 g/kg 均能明显改善大鼠步态 ($P < 0.05$)。

表 5 痛风康宁片治疗急性痛风性关节炎大鼠步态的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 5 Therapeutic effect of Tongfeng Kangning Tables on gait in rats with acute gouty arthritis ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量	给药前/只				P	给药 1 次/只				P	给药 2 次/只				P
		0 级	1 级	2 级	3 级		0 级	1 级	2 级	3 级		0 级	1 级	2 级	3 级	
对照	—	8	2	—	—	—	10	—	—	—	—	10	—	—	—	—
模型	—	—	—	—	10	<0.01	—	—	—	10	<0.01	—	—	3	7	<0.01
痛风康宁片	0.58 g kg ⁻¹	—	—	—	10	>0.05	—	—	2	8	>0.05	—	2	3	5	>0.05
	1.15 g kg ⁻¹	—	—	—	10	>0.05	—	—	4	6	>0.05	—	—	7	3	>0.05
	2.3 g kg ⁻¹	—	—	—	10	>0.05	—	—	4	6	>0.05	—	—	9	1	<0.05
秋水仙碱	0.81 mg	—	—	—	10	>0.05	—	—	5	5	<0.05	—	2	7	1	<0.01

组别	剂量	给药 3 次/只				P	给药 4 次/只				P
		0 级	1 级	2 级	3 级		0 级	1 级	2 级	3 级	
对照	—	10	—	—	—	—	10	—	—	—	—
模型	—	—	—	10	—	<0.01	3	1	6	—	<0.01
痛风康宁片	0.58 g kg ⁻¹	1	2	7	—	>0.05	3	4	3	—	>0.05
	1.15 g kg ⁻¹	2	3	5	—	<0.05	5	2	3	—	>0.05
	2.3 g kg ⁻¹	3	2	5	—	<0.05	6	2	2	—	>0.05
秋水仙碱	0.81 mg	4	3	2	1	<0.01	5	4	1	—	>0.05

3.3 痛风康宁片对慢性痛风性关节炎的治疗作用

图 1、表 6 结果显示, 与对照组比较, 模型组囊泡液内吞噬细胞数、吞晶细胞数、吞晶百分率、气囊灌洗液体积均明显增加 ($P < 0.01$), 表明已造成囊泡内炎症, 造模成功。与模型组比较, 痛风康宁片 0.58、1.15、2.3 g/kg 组均明显降低吞噬细胞数和吞晶细胞数 ($P < 0.01$)。

表 7 结果显示, 与对照组比较, 模型组囊泡液中的 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 含量均明显增加, 表明已

形成炎症 ($P < 0.01$), 造模成功。与模型组比较, 痛风康宁片 0.58、1.15、2.3 g/kg 组能明显降低囊泡液中 IL-1 β 、IL-6 含量 ($P < 0.05$ 、0.01), 痛风康宁片 1.15、2.3 g/kg 组均能明显降低囊泡液中 TNF- α 含量 ($P < 0.05$)。

3.4 痛风康宁片对慢性炎症的治疗作用

表 8 结果显示, 与对照组比较, 痛风康宁片 1.15、2.3 g/kg 组均能明显减轻大鼠棉球肉芽质量 ($P < 0.05$), 表明有明显抗炎作用。

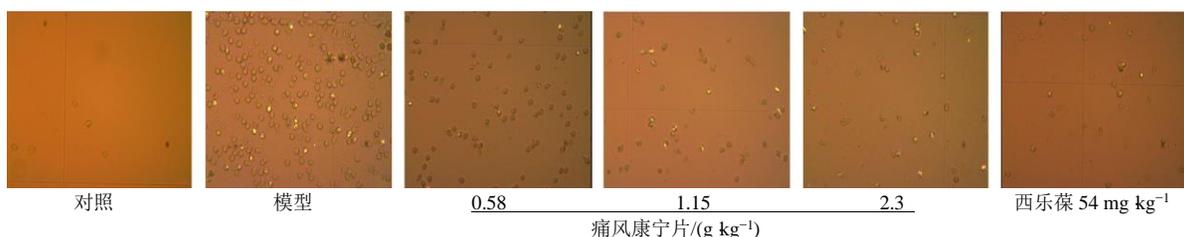


图 1 痛风康宁片对慢性痛风性关节炎气囊灌洗液中吞噬细胞的影响 ($\times 20$)

Fig. 1 Effect of Tongfeng Kangning Tables on air pouch lavage fluid phagocyte in rats with chronic gouty arthritis ($\times 20$)

表 6 痛风康宁片对慢性痛风性关节炎气囊灌洗液体积及吞噬细胞数的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 6 Effect of Tongfeng Kangning Tables on air pouch lavage fluid volume and number of phagocytic cells in rats with chronic gouty arthritis ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量	吞噬细胞数/($\times 10^7 L^{-1}$)	吞晶细胞数/($\times 10^7 L^{-1}$)	吞晶百分率/%	气囊灌洗液体积/mL
对照	—	71.0 \pm 19.3	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	4.74 \pm 0.33
模型	—	1 170.0 \pm 213.0**	271.4 \pm 49.5**	23.7 \pm 5.6**	5.40 \pm 0.61**
痛风康宁片	0.58 g kg ⁻¹	557.0 \pm 95.6##	108.3 \pm 40.3##	19.5 \pm 6.5	5.20 \pm 0.63
	1.15 g kg ⁻¹	532.0 \pm 83.5##	104.2 \pm 25.3##	20.0 \pm 5.5	5.11 \pm 0.81
	2.3 g kg ⁻¹	492.0 \pm 94.5##	95.7 \pm 37.6##	19.3 \pm 6.3	5.03 \pm 0.60
西乐葆	54 mg	260.5 \pm 50.0##	50.9 \pm 19.5##	19.4 \pm 6.0	4.88 \pm 0.64

与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ 。

** $P < 0.01$ vs control group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs model group.

表 7 痛风康宁片对慢性痛风性关节炎气囊灌洗液中炎症因子的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 7 Effect of Tongfeng Kangning Tables on air pouch lavage fluid inflammatory factors in rats with chronic gouty arthritis ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量	IL-1 β /(pg mL ⁻¹)	IL-6/(pg mL ⁻¹)	TNF- α /(pg mL ⁻¹)
对照	—	38.38 \pm 6.43	30.13 \pm 4.68	68.68 \pm 5.78
模型	—	100.06 \pm 15.71**	58.56 \pm 11.98**	90.05 \pm 8.74**
痛风康宁片	0.58 g kg ⁻¹	82.21 \pm 12.96#	46.20 \pm 13.26#	82.00 \pm 8.62
	1.15 g kg ⁻¹	70.96 \pm 12.99##	45.87 \pm 11.71#	80.21 \pm 8.40#
	2.3 g kg ⁻¹	64.15 \pm 9.25##	42.45 \pm 9.58##	80.01 \pm 7.71#
西乐葆	54 mg	51.42 \pm 11.10##	38.33 \pm 9.84##	75.86 \pm 8.99##

与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ 。

** $P < 0.01$ vs control group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs model group.

表 8 痛风康宁片对慢性炎症的治疗作用 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 8 Therapeutic effect of Tongfengkangning Tables on chronic inflammation rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量	棉球肉芽/(g \cdot 100 g ⁻¹)
对照	—	0.081 \pm 0.024
痛风康宁片	0.58 g kg ⁻¹	0.064 \pm 0.018
	1.15 g kg ⁻¹	0.059 \pm 0.017*
	2.3 g kg ⁻¹	0.056 \pm 0.018*
阿司匹林	200 mg	0.052 \pm 0.010**

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ 。

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group.

3.5 痛风康宁片的活血作用

表 9 结果显示, 与对照组比较, 模型组大鼠的全血黏度明显升高 ($P < 0.01$), 表明已造成大鼠血瘀模型, 造模成功。与模型组比较, 痛风康宁片 2.3 g/kg 组能明显抑制各切速下大鼠全血黏度的升高 ($P < 0.05$ 、0.01), 表明有明显的活血作用。

3.6 痛风康宁片的镇痛作用

表 10 结果显示, 与对照组比较, 痛风康宁片

1.66、3.33 g/kg 组明显减少扭体次数 ($P < 0.05$ 、0.01), 表明有明显的镇痛作用。

4 讨论

MSU 晶体的沉积是痛风性关节炎的临床病理基础, 注射 MSU 晶体可引起滑膜炎性积液、关节周围组织充血和肿胀^[18]。因此, 关节肿胀的程度可以反映急性痛风性关节炎的严重程度, 被广泛用于评价痛风性关节炎的治疗效果^[19-20]。

巨噬细胞是天然免疫系统特化的, 具有吞噬作用的细胞, 具备启动对病原体的免疫和炎症反应、维持组织稳态以及促进组织修复和重塑的功能^[21-22]。当 MSU 晶体作用于巨噬细胞时, 激活了 TLR4、NF- κ B 和 NLRP3 等信号转导通路, 分泌并释放 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、PGE2 等炎症因子^[23-25]。这些被释放的炎症因子会上调黏附分子, 刺激内皮产生趋化因子, 从而直接促进炎症细胞在组织中的积累, 不断启动和放大炎症反应, 使中性粒细胞和巨噬细胞敏感以产生 ROS 和 RNS, 并且与 IL-1 一起诱导促炎介质的释放^[21, 26], 级联反应扩大, 炎症

表9 痛风康宁片对血瘀大鼠全血黏度的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)Table 9 Effect of Tongfeng Kangning Tables on whole blood viscosity in rats with blood stasis rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量	全血黏度/(mPa s)		
		3 s ⁻¹	30 s ⁻¹	200 s ⁻¹
对照	—	7.61 ± 0.30	4.30 ± 0.33	3.26 ± 0.14
模型	—	12.29 ± 1.22**	6.05 ± 0.68**	4.07 ± 0.36**
痛风康宁片	0.58 g kg ⁻¹	11.03 ± 0.36#	5.55 ± 0.26	3.88 ± 0.14
	1.15 g kg ⁻¹	10.25 ± 0.84##	5.40 ± 0.46#	3.79 ± 0.18
	2.30 g kg ⁻¹	9.98 ± 0.64##	5.19 ± 0.20##	3.70 ± 0.11#
尼莫地平	32.4 mg	9.89 ± 1.14##	5.20 ± 0.53#	3.69 ± 0.30#

与对照组比较: **P<0.01; 与模型组比较: #P<0.05 ##P<0.01。

**P<0.01 vs control group; #P<0.05 ##P<0.01 vs model group.

表10 痛风康宁片对醋酸致小鼠扭体的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)Table 10 Effect of Tongfeng Kangning Tables on mice writhing times caused by acetic acid ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量	15 min 扭体次数
对照	—	18.83 ± 7.59
痛风康宁片	0.83 g kg ⁻¹	13.42 ± 7.34
	1.66 g kg ⁻¹	11.08 ± 5.76*
	3.33 g kg ⁻¹	9.92 ± 7.66**
阿司匹林	300 mg	0.92 ± 1.51**

与对照组比较: *P<0.05 **P<0.01。

*P<0.05 **P<0.01 vs control group.

加重, 激活外周伤害感受受体, 引起剧烈疼痛, 痛风患者的急性发作常可归因于此^[27]。因此, 成功抑制炎症因子的释放对于缓解痛风至关重要。

实验结果显示, 痛风康宁片对急、慢性痛风性关节炎均有明显的治疗作用, 能显著减轻关节肿胀, 改善步态, 减少炎症细胞的活化和炎症介质的产生的同时调节免疫反应, 促进血液循环, 降低血黏度, 减少疼痛, 展现了一种多途径、多靶点的综合性治疗策略。

相较于过往研究集中在痛风性关节炎的宏观症状改善, 如关节肿胀和疼痛减轻, 本研究深入到细胞水平, 探究了痛风炎症的免疫病理机制, 聚焦吞噬细胞的活化状态, 痛风康宁片的独特治疗模式在微观层面上展示了其对免疫细胞功能的调节作用。通过精确的定量分析, 为抗痛风治疗机制的深入探索提供了创新性视角, 不仅丰富了痛风性关节炎的发病机制理论, 也为开发新的治疗药物提供了科学依据。综上所述, 痛风康宁片的抗炎、活血、镇痛作用全面, 且多途径机制, 对痛风性关节炎显示有良好的治疗作用。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Shields G E, Beard S M. A Systematic review of the economic and humanistic burden of gout [J]. *Pharmacoeconomics*, 2015, 33(10): 1029-1047.
- [2] Richette P, Doherty M, Pascual E, et al. 2018 updated European League Against Rheumatism evidence-based recommendations for the diagnosis of gout [J]. *Ann Rheum Dis*, 2020, 79(1): 31-38.
- [3] 李树冬, 谢芳, 刘永利, 等. 口服中成药治疗痛风性关节炎的网状 Meta 分析 [J]. *中草药*, 2021, 52(13): 3980-3993.
- [4] Perez-Ruiz F, Dalbeth N, Bardin T. A review of uric acid, crystal deposition disease, and gout [J]. *Adv Ther*, 2015, 32(1): 31-41.
- [5] Qaseem A, Harris R P, Forciea M A, et al. Management of acute and recurrent gout: A clinical practice guideline from the American college of physicians [J]. *Ann Intern Med*, 2017, 166(1): 58-68.
- [6] 姜溪, 只德广, 赵秀义, 等. 痛风康宁片对高尿酸血症的预防作用及机制研究 [J]. *药物评价研究*, 2024, 47(7): 1595-1603.
- [7] 张小琼, 侯晓军, 杨敏, 等. 乌梅的药理作用研究进展 [J]. *中国药房*, 2016, 27(25): 3567-3570.
- [8] 方莲花, 吕扬, 杜冠华. 秦皮的药理作用研究进展 [J]. *中国中药杂志*, 2008, 33(23): 2732-2736.
- [9] 鲁思爱. 忍冬藤的化学成分及其药理应用研究进展 [J]. *临沂大学学报*, 2012, 34(3): 132-134.
- [10] 陈光亮, 段玉光, 李莉, 等. 加味四妙汤对高尿酸血症和痛风性关节炎防治作用的实验研究 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2008(3): 48-52.
- [11] 朱金凤, 吴萍. 不同品系大鼠痛风性关节炎模型制备的评价 [J]. *医学研究生学报*, 2014, 27(5): 478-481.
- [12] Nalbant S, Chen L X, Sieck M S, et al. Prophylactic effect

- of highly selective COX-2 inhibition in acute monosodium urate crystal induced inflammation in the rat subcutaneous air pouch [J]. *J Rheumatol*, 2005, 32(9): 1762-1764.
- [13] Rull M, Clayburne G, Sieck M, *et al*. Intra-articular corticosteroid preparations: Different characteristics and their effect during inflammation induced by monosodium urate crystals in the rat subcutaneous air pouch [J]. *Rheumatology*, 2003, 42(9): 1093-1100.
- [14] 魏伟, 吴希美, 李元建. 药理实验方法学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2010.
- [15] 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.
- [16] 王宏, 曲绍春, 于晓风, 等. 血栓心脉宁片对急性血瘀模型大鼠血小板功能及血液流变学的影响 [J]. 中国老年学杂志, 2010, 30(22): 3335-3337.
- [17] 陈奇. 中药药理研究方法学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1993.
- [18] Dalbeth N, Choi H K, Khanna P P, *et al*. Gout [J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2019, 5(1): 69.
- [19] Pineda C, Fuentes-Gómez A J, Hernández-Díaz C, *et al*. Animal model of acute gout reproduces the inflammatory and ultrasonographic joint changes of human gout [J]. *Arthritis Res Ther*, 2015, 17(1): 37.
- [20] Lin X B, Wang H, An X F, *et al*. Baecklein E suppressed NLRP3 inflammasome activation through inhibiting both the priming and assembly procedure: Implications for gout therapy [J]. *Phytomedicine*, 2021, 84: 153521.
- [21] Laskin D L, Sunil V R, Gardner C R, *et al*. Macrophages and tissue injury: Agents of defense or destruction? [J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2011, 51: 267-288.
- [22] Chen Y L, Zhang X B. Pivotal regulators of tissue homeostasis and cancer: macrophages [J]. *Exp Hematol Oncol*, 2017, 6: 23.
- [23] Zhang Q B, Zhu D, Dai F, *et al*. MicroRNA-223 suppresses IL-1 β and TNF- α production in gouty inflammation by targeting the NLRP3 inflammasome [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 637415.
- [24] Han Q, Bing W, Di Y, *et al*. Kinsenoside screening with a microfluidic chip attenuates gouty arthritis through inactivating NF- κ B signaling in macrophages and protecting endothelial cells [J]. *Cell Death Dis*, 2016, 7(9): e2350.
- [25] Bousoik E, Qadri M, Elsaid K A. CD44 receptor mediates urate crystal phagocytosis by macrophages and regulates inflammation in A murine peritoneal model of acute gout [J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 5748.
- [26] Mukhopadhyay S, Hoidal J R, Mukherjee T K. Role of TNF α in pulmonary pathophysiology [J]. *Respir Res*, 2006, 7(1): 125.
- [27] Yan Y B, Yu L Q, Chen B Y, *et al*. Mastoparan M suppressed NLRP3 inflammasome activation by inhibiting MAPK/NF- κ B and oxidative stress in gouty arthritis [J]. *J Inflamm Res*, 2023, 16: 6179-6193.

[责任编辑 高源]