

痹祺胶囊联合秋水仙碱通过 NLRP3 通路对大鼠急性痛风性关节炎的改善作用

范冰冰¹, 张琪^{1#}, 应天昊¹, 张祥麒², 杜思邈², 卜睿臻², 李明珍³, 王涛^{1*}, 刘梦扬^{1*}

1. 天津中医药大学 中医药研究院, 天津 301617

2. 津药达仁堂京万红(天津)药业有限公司, 天津 300112

3. 天津医科大学朱宪彝纪念医院 糖尿病痛风科, 天津 300134

摘要: **目的** 探讨痹祺胶囊和秋水仙碱联合用药治疗大鼠急性痛风性关节炎的药效作用和机制。**方法** 通过尿酸钠晶体诱导构建急性痛风性关节炎大鼠模型, 随机分为对照组、模型组、秋水仙碱(0.45、0.9 mg/kg)组、痹祺胶囊(180、360 mg/kg)组、痹祺胶囊(180 mg/kg)+秋水仙碱(0.45 mg/kg)组、痹祺胶囊(360 mg/kg)+秋水仙碱(0.9 mg/kg)组。测定大鼠踝关节肿胀度。苏木素-伊红(HE)染色检测踝关节组织病理学变化。酶联免疫吸附实验(ELISA)检测炎症细胞因子肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素-6(IL-6)的水平。Western blotting 分析大鼠踝关节滑膜组织中 NOD 受体蛋白 3(NLRP3)、凋亡相关斑点样蛋白(ASC)、白细胞介素(IL)-1 β 、IL-18 蛋白表达情况。**结果** 与模型组相比, 痹祺胶囊或秋水仙碱单独给药, 以及两者联合用药均能够减轻模型大鼠踝关节的肿胀度($P<0.05$ 、 0.01 、 0.001); 与单用痹祺胶囊 360 mg/kg 组或秋水仙碱 0.9 mg/kg 组相比, 在 12、24 h 时, 痹祺胶囊 360 mg/kg+秋水仙碱 0.9 mg/kg 组大鼠关节肿胀程度显著减轻($P<0.05$ 、 0.01)。痹祺胶囊与秋水仙碱单独给药均能在一定程度上减轻滑膜细胞增生及炎性细胞浸润情况, 且痹祺胶囊与秋水仙碱联合应用比单独给药具有更强的改善作用。与模型组相比, 痹祺胶囊与秋水仙碱单独给药组大鼠血清中 IL-6 水平明显降低($P<0.05$ 、 0.01 、 0.001); 痹祺胶囊 180 mg/kg+秋水仙碱 0.45 mg/kg 组大鼠血清中 IL-6 水平较秋水仙碱 0.45 mg/kg 组显著降低($P<0.001$), 痹祺胶囊 360 mg/kg+秋水仙碱 0.9 mg/kg 组则较痹祺胶囊 360 mg/kg 组显著降低($P<0.05$)。与模型组相比, 痹祺胶囊与秋水仙碱单独给药组大鼠血清中 TNF- α 水平明显降低($P<0.05$ 、 0.01 、 0.001); 痹祺胶囊 180 mg/kg+秋水仙碱 0.45 mg/kg 组大鼠血清 TNF- α 水平较痹祺胶囊 180 mg/kg 组显著降低($P<0.01$), 痹祺胶囊 360 mg/kg+秋水仙碱 0.9 mg/kg 组血清 TNF- α 水平则较痹祺胶囊 360 mg/kg 组和秋水仙碱 0.9 mg/kg 组显著降低($P<0.001$)。与模型组相比, 秋水仙碱 0.9 mg/kg 组、痹祺胶囊 360 mg/kg 组、痹祺胶囊+秋水仙碱组大鼠滑膜组织中 NLRP3、ASC、IL-18、IL-1 β 蛋白表达量均明显降低($P<0.05$ 、 0.01 、 0.001), 且联合用药对 NLRP3 炎症小体相关蛋白表达的抑制作用明显强于痹祺胶囊或秋水仙碱单独给药($P<0.01$ 、 0.001)。**结论** 痹祺胶囊和秋水仙碱联用能够协同改善急性痛风性关节炎相关表型, 通过抑制 NLRP3 介导的过度炎症反应有效减轻相关病理损伤, 为两者联合应用治疗急性痛风性关节炎的临床应用提供依据和参考。

关键词: 痹祺胶囊; 秋水仙碱; 急性痛风性关节炎; 联合用药; 肿瘤坏死因子- α ; 白细胞介素-6

中图分类号: R982 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2025)11-2708-09

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2025.11.003

Biqi Capsules and colchicine combination therapy improve the acute gouty arthritis via regulating NLRP3 pathway

FAN Bingbing¹, ZHANG Qi¹, YING Tianhao¹, ZHANG Xiangqi², DU Simiao², BU Ruizhen², LI Mingzhen³, WANG Tao¹, LIU Mengyang¹

1. Institute of Traditional Chinese Medicine, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China

2. Tianjin Darentang Jingwanhong Pharmaceutical Co., Ltd., Tianjin 300112, China

3. Department of Diabetes and Gout, Tianjin Medical University Chu Hsien-I Memorial Hospital, Tianjin 300134, China

收稿日期: 2025-09-08

基金项目: 中华中医药学会青年人才托举工程项目(CACM-2021-QNRC2-B12)

作者简介: 范冰冰, 硕士研究生, 研究方向为中药调控代谢相关疾病研究。E-mail: fbb9115827@163.com

#共同第一作者: 张琪, 硕士研究生, 研究方向为中药调控代谢相关疾病研究。E-mail: 971016591@qq.com

*通信作者: 刘梦扬, 副研究员, 研究方向为中药调控代谢相关疾病研究。E-mail: liumengyang0212@tjutcm.edu.cn

王涛, 教授, 研究方向为中药调控代谢相关疾病研究。E-mail: wangtao@tjutcm.edu.cn

Abstract: Objective To investigate the pharmacological effects and mechanism of the combination therapy of Biqi Capsules and colchicine in treatment of acute gouty arthritis. **Methods** Acute gouty arthritis rat model was established by the monosodium urate crystals injection. Rats were randomly divided into eight groups, control group, model group, colchicine group (0.45 and 0.9 mg/kg), Biqi Capsules group (180 and 360 mg/kg), Biqi Capsules 180 mg/kg + colchicine 0.45 mg/kg group, and Biqi Capsules 360 mg/kg + colchicine 0.9 mg/kg group. The swelling degree of rat ankle joint were recorded. HE staining was used to determine the pathological structural changes in rat ankle joint. The serum levels of TNF- α and IL-6 were determined by ELISA. Western blotting was used to determine the protein expression levels of NLRP3, ASC, IL-1 β , and IL-18 in the synovial tissue of the rat ankle joint. **Results** Compared with the model group, the administration of Biqi Capsules or colchicine, as well as the combination of the two could all reduce the swelling degree of the ankle joint in model rats ($P < 0.05, 0.01, 0.001$). Compared with the 360 mg/kg of Biqi Capsules alone or 0.9 mg/kg of colchicine group, at 12 and 24 hours, the degree of joint swelling in the group of 360 mg/kg of Biqi Capsules + 0.9 mg/kg of colchicine was significantly reduced ($P < 0.05, 0.01$). Both Biqi Capsules and colchicine could alleviate the proliferation of synovial cells and the infiltration of inflammatory cells, and the combined application of Biqi Capsules and colchicine had a stronger improvement effect than administration alone. Compared with the model group, the levels of IL-6 in the serum of rats in the Biqi Capsules group and the colchicine group were significantly decreased ($P < 0.05, 0.01, 0.001$), the level of IL-6 in the serum of rats in the group of Biqi Capsules 180 mg/kg + colchicine 0.45 mg/kg was significantly lower than that in the colchicine group 0.45 mg/kg ($P < 0.001$). Biqi Capsules 360 mg/kg + colchicine 0.9 mg/kg group was significantly lower than that in Biqi Capsules 360 mg/kg group ($P < 0.05$). Compared with the model group, the levels of TNF- α in the serum of rats in the Biqi Capsules group and colchicine group were significantly decreased ($P < 0.05, 0.01, 0.001$). The serum TNF- α level in the Biqi Capsules 180 mg/kg + colchicine 0.45 mg/kg group was significantly lower than that in the Biqi Capsules 180 mg/kg group ($P < 0.01$). The serum TNF- α level in the Biqi Capsules 360 mg/kg + colchicine 0.9 mg/kg group was significantly lower than that in the Biqi Capsule 360 mg/kg group and the colchicine 0.9 mg/kg group ($P < 0.001$). Compared with the model group, the protein expression levels of NLRP3, ASC, IL-18, and IL-1 β in the synovial tissues of rats in the colchicine 0.9 mg/kg group, the Biqi Capsules 360 mg/kg group and the Biqi Capsules + colchicine group were significantly decreased ($P < 0.05, 0.01, 0.001$). Moreover, the inhibitory effect of combined medication on the expression of NLRP3 inflammasome-related protein was significantly stronger than that of Biqi Capsules or colchicine ($P < 0.01, 0.001$). **Conclusion** Combination of Biqi Capsules and colchicine can synergistically improve the acute gouty arthritis-related phenotypes and pathological damage via inhibiting the NLRP3 mediated inflammatory response, which providing a basis and reference for the combination use of Biqi Capsules and colchicine on the treatment of acute gouty arthritis in clinic.

Key words: Biqi Capsules; colchicine; acute gouty arthritis; combination therapy; TNF- α ; IL-6

急性痛风性关节炎是由尿酸钠晶体在关节间隙和组织沉积所引发的一种炎症性疾病，其特征是剧烈疼痛、活动性炎症和关节肿胀^[1-2]。急性痛风性关节炎发作期间会给患者带来巨大的疼痛，严重影响患者的日常生活^[3]。近年来，随着生活水平提高和饮食结构改变，急性痛风性关节炎的发病率逐年升高，并逐渐呈现低龄化、城市化趋势。若未有效治疗易引起肾功能损害、关节畸形等。目前对于急性痛风性关节炎尚无特效治疗方法，在临床上常用的治疗药物有秋水仙碱、非甾体抗炎药（NSAIDs）和糖皮质激素等，这些药物虽然可以在一定程度上改善症状、延缓病程，但常会引发多种不良反应。

临床研究证明使用中医药治疗急性痛风性关节炎，不良事件更少，相对不良反应更小，具有独特的临床治疗优势^[4]。痹祺胶囊主要组分有马钱子、地龙、党参、川芎、丹参、三七、牛膝等，具有补气养血、祛风除湿、活血止痛的功效^[5-6]。已有研究

表明，痹祺胶囊可以减轻炎症反应，保护关节软骨，能明显改善风湿性关节炎患者的临床症状^[7]，痹祺胶囊能够在体外降低 RAW 264.7 细胞中的炎症因子表达，通过抑制炎症反应来改善大鼠急性痛风性关节炎^[8]。但痹祺胶囊与临床上常用药秋水仙碱联合使用是否能够在体内发挥协同抗炎作用并改善急性痛风性关节炎目前仍不明确。为此，本研究根据前期体外实验确定的痹祺胶囊和秋水仙碱配比在尿酸钠诱导的大鼠急性痛风性关节炎进行药物联用，以明确痹祺胶囊和秋水仙碱组合改善急性痛风性关节炎的联合治疗作用和机制。

1 材料

1.1 实验动物

SPF 级雄性八周龄 SD 大鼠 40 只，体质量 200~220 g，由北京斯贝福生物技术有限公司提供，动物使用许可证号 SCXK（京）2024-0001。饲养于天津中医药大学实验动物中心，饲养温度为 23~25℃，

相对湿度为 58%，饮水自由，适应性喂养 3 d 后继续维持饲料喂养。实验由天津中医药大学实验动物福利伦理委员会批准（TCM-LAEC2024056f1111）。

1.2 实验药物及主要试剂

痹祺胶囊（批号 312279，规格 0.30 g/片，天津达仁堂京万红药业有限公司）；秋水仙碱（质量分数 $\geq 98\%$ ，货号 B21008，上海源叶生物科技有限公司）；羧甲基纤维素钠（CMC-Na，货号 C8621，北京索莱宝科技有限公司）；多聚甲醛固定液（货号 G1101）、EDTA 脱钙液（货号 G1105）均购于武汉赛维尔生物科技有限公司；大鼠肿瘤坏死因子 α （TNF- α ）ELISA 法检测试剂盒（货号 JL13202-96T）、大鼠白细胞介素-6（IL-6）ELISA 法检测试剂盒（货号 JL20896-96T）均购于上海江莱生物科技有限公司； β -actin（货号 66009-1-Ig）、NLR 家族 Pyrin 域蛋白 3（NLRP3，货号 30109-1-AP）、羊抗兔 IgG（货号 SA00001-2）、山羊抗小鼠 IgG 抗体（货号 SA00001-1）均购于武汉三鹰生物技术有限公司；凋亡相关斑点样蛋白 ASC（货号 A22046）、IL-1 β 抗体（货号 A27676）均购于武汉爱博泰克生物科技有限公司；IL-18 抗体（货号 DF6252）、ECL 化学发光显色试剂盒（货号 KF8003）均购于江苏亲科生物研究中心有限公司；BCA 检测试剂盒（货号 P0009）购于碧云天生物技术有限公司。

1.3 主要仪器

ME204/02 电子天平（上海梅特勒-托利多仪器有限公司）；HH-S 恒温数显水浴锅（上海博讯实业医疗设备厂）；烘干机、KQ-300B 型超声波清洗器（美国 Thermo fisher 公司）；冷冻干燥机（德国 ZIRBUS 公司）；Milli-Q 超纯水制备仪（美国 Millipore 公司）；正置荧光显微镜（德国 Carl Zeiss 公司）；高速冷冻离心机（德国 Eppendorf 公司）；Cytation5 细胞成像多功能检测系统（美国 BioTek 公司）；Mini-PROTEAN 垂直板电泳系统（美国 Bio-Rad 公司）。

2 方法

2.1 动物造模、分组及给药

根据课题组前期痹祺胶囊以及秋水仙碱在大鼠痛风性关节炎模型中的研究结果和相关文献报道^[9-11]，确定大鼠的痹祺胶囊给药剂量分别为 180、360 mg/kg；依据前期体外实验研究中得出的 2 种药物联合指数（CI），确定痹祺胶囊与秋水仙碱联用最佳有效浓度比（400：1），结合临床秋水仙碱使用剂

量以及种属间等效剂量换算原则^[12]，进一步确定与痹祺胶囊联用的秋水仙碱大鼠给药剂量分别为 0.45、0.9 mg/kg。因此，大鼠联用给药组浓度分别为两组 400：1 的高低剂量组合，即痹祺胶囊 360 mg/kg 和秋水仙碱 0.9 mg/kg，以及痹祺胶囊 180 mg/kg 和秋水仙碱 0.45 mg/kg。

将 40 只 SD 大鼠随机分为 8 组，每组 5 只，分别为对照组、模型组、痹祺胶囊 180 mg/kg 组、秋水仙碱 0.45 mg/kg 组、痹祺胶囊（180 mg/kg）+秋水仙碱（0.45 mg/kg）组、痹祺胶囊（360 mg/kg）+秋水仙碱（0.9 mg/kg）组、痹祺胶囊（360 mg/kg）+秋水仙碱（0.9 mg/kg）组。

将秋水仙碱溶于无菌纯水制成不同浓度的药物溶液，痹祺胶囊溶于 5%羧甲基纤维素钠溶液制成不同浓度的药物混悬液。给药组连续 7 d 给药，对照组和模型组给予相应纯水和 5%羧甲基纤维素钠溶剂。末次给药前，按照经典 Coderre 大鼠造模方法^[13]建立急性痛风性关节炎模型，用 1 mL 注射针以 45°角从大鼠右踝关节的背侧斜向刺入胫骨肌腱的内侧缘，在右侧踝关节腔中注入 200 μ L 的 20 mg/kg 尿酸钠晶体混悬液，对照组大鼠于同一部位关节腔注入 200 μ L 无菌 PBS。

2.2 测量大鼠踝关节肿胀

游标卡尺测量大鼠造模前以及造模后 3、6、9、12、24 h 右踝关节直径，并做好标记，根据公式：踝关节肿胀度 = 造模后各时间节点大鼠踝关节直径 - 造模前大鼠踝关节直径，计算踝关节肿胀度。

2.3 苏木精-伊红（HE）染色

给药 7 d 后取大鼠踝关节并置于 4%多聚甲醛中固定 24 h，之后放入 EDTA 脱钙液中进行脱钙，脱钙液的体积为组织体积的 15~20 倍。脱钙期间每隔 2~3 d 更换新鲜的脱钙液，直到组织变软。脱钙完成后，使用不同体积分数的乙醇进行脱水，石蜡包埋，切片。之后对切片脱蜡复水后，分别使用苏木素和伊红进行染色，之后对切片进行脱水封片，在光学显微镜下观察切片并采集大鼠踝关节滑膜组织图像进行分析。

2.4 ELISA 测定大鼠血清炎症因子水平

末次给药结束后，注射 1%戊巴比妥钠进行麻醉处理，腹主动脉取血，静置 30 min 后 3 500 r/min，离心 15 min，分离血清，依照 ELISA 试剂盒的说明书进行检测，测定各组动物血清中 IL-6、TNF- α 的水平。

2.5 Western blotting 检测

取各组大鼠踝关节滑膜组织, 每组 3 个样本, 加入裂解液研磨后, 离心取上清。BCA 法测定蛋白浓度, 定量后配制蛋白样品, 100 °C 恒温水浴 10 min。每孔加入等量的蛋白 Marker 或样品, 80 V 恒压电泳 30 min, 120 V 恒压电泳 60 min, 结束后 100 V 恒压转膜 1 h, 之后用 5% 脱脂牛奶对 PVDF 膜室温封闭 2 h。封闭完成后, 分别放入 NLRP3 (1 : 2 000)、ASC (1 : 2 000)、IL-1 β (1 : 3 000)、IL-18 (1 : 1 000)、 β -actin (1 : 5 000) 中 4 °C 孵育过夜。PBST 洗涤 3 次, 加入相应二抗 (1 : 10 000), 室温孵育 1 h, PBST 洗涤 3 次后, 使用凝胶成像系统显影, 利用 Image J 软件分析条带灰度值。

2.6 统计学分析

数值以 $\bar{x} \pm s$ 表示。组间比较采用非配对 t 检验进行分析, 多组间比较采用单因素方差 (one-way ANOVA) 和 Tukey 事后检验进行分析, 所有统计分析均使用 GraphPad Prism 9 软件进行。

3 结果

3.1 痹祺胶囊与秋水仙碱对大鼠踝关节肿胀度的影响

如图 1、2 所示, 与模型组相比, 痹祺胶囊或秋水仙碱单独给药, 以及两者联合用药均能够减轻模

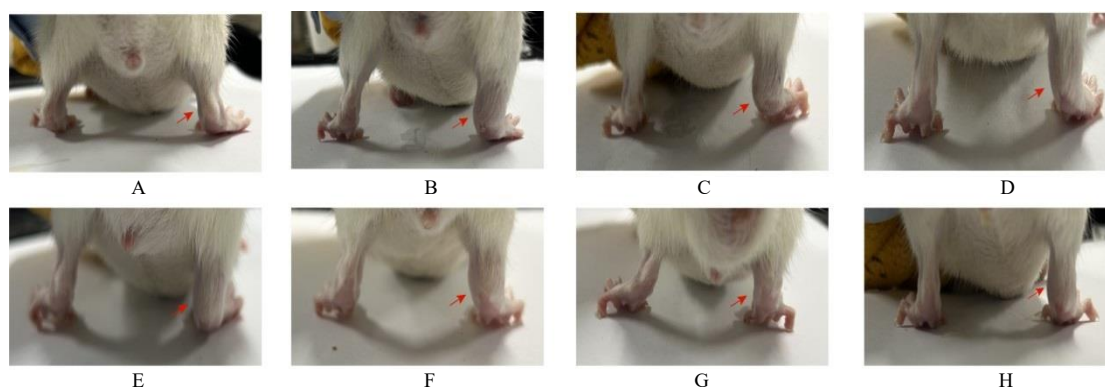
型大鼠踝关节的肿胀度 ($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001); 与单用痹祺胶囊 360 mg/kg 组或秋水仙碱 0.9 mg/kg 组相比, 在 12、24 h 时, 痹祺胶囊 360 mg/kg + 秋水仙碱 0.9 mg/kg 组大鼠关节肿胀程度显著减轻 ($P < 0.05$ 、 0.01)。

3.2 痹祺胶囊与秋水仙碱对大鼠踝关节组织炎性浸润的影响

组织病理学分析结果如图 3 所示, 对照组滑膜组织结构清晰完整, 无炎性细胞浸润, 无滑膜增生; 模型组滑膜组织结构紊乱, 滑膜细胞增生明显, 有大量炎性细胞浸润; 痹祺胶囊与秋水仙碱单独给药均能在一定程度上减轻滑膜细胞增生及炎性细胞浸润情况, 且痹祺胶囊与秋水仙碱联合应用比单独给药具有更强的改善作用。

3.3 痹祺胶囊与秋水仙碱对大鼠血清炎症因子水平的影响

如图 4 所示, 与模型组相比, 痹祺胶囊与秋水仙碱单独给药组大鼠血清中 IL-6 水平明显降低 ($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001); 痹祺胶囊 180 mg/kg + 秋水仙碱 0.45 mg/kg 组大鼠血清中 IL-6 水平较秋水仙碱 0.45 mg/kg 组显著降低 ($P < 0.001$), 痹祺胶囊 360 mg/kg + 秋水仙碱 0.9 mg/kg 组则较痹祺胶囊 360 mg/kg 组显著降低 ($P < 0.05$)。



A-对照, B-模型, C-秋水仙碱 0.45 mg·kg⁻¹, D-痹祺胶囊 180 mg·kg⁻¹, E-痹祺胶囊 180 mg·kg⁻¹+秋水仙碱 0.45 mg·kg⁻¹, F-秋水仙碱 0.9 mg·kg⁻¹, G-痹祺胶囊 360 mg·kg⁻¹, H-痹祺胶囊 360 mg·kg⁻¹+秋水仙碱 0.9 mg·kg⁻¹。

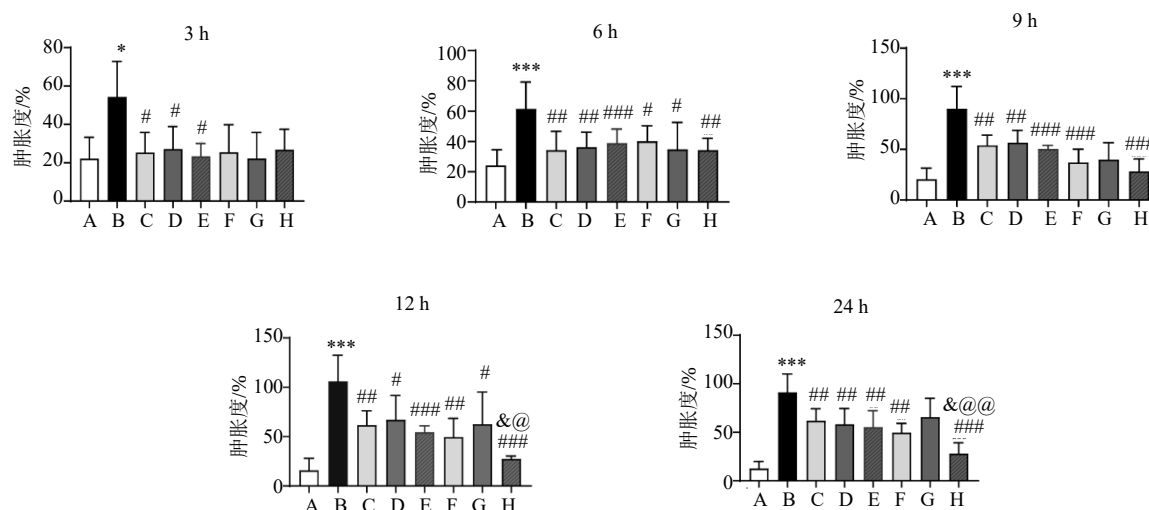
A-control, B-model, C-colchicine 0.45 mg·kg⁻¹, D-Biqi Capsules 180 mg·kg⁻¹, E-Biqi Capsules 180 mg·kg⁻¹+colchicine 0.45 mg·kg⁻¹, F-colchicine 0.9 mg·kg⁻¹, G-Biqi Capsules 360 mg·kg⁻¹, H-Biqi Capsules 360 mg·kg⁻¹+ colchicine 0.9 mg·kg⁻¹。

图 1 大鼠踝关节肿胀情况

Fig 1 Swelling of ankle joint in rats

与模型组相比, 痹祺胶囊与秋水仙碱单独给药组大鼠血清中 TNF- α 水平明显降低 ($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001); 痹祺胶囊 180 mg/kg + 秋水仙碱 0.45 mg/kg 组大鼠血清 TNF- α 水平较痹祺胶囊 180 mg/kg 组显著降低 ($P < 0.01$), 痹祺胶囊 360 mg/kg + 秋水仙碱

0.9 mg/kg 组血清 TNF- α 水平则较痹祺胶囊 360 mg/kg 组和秋水仙碱 0.9 mg/kg 组显著降低 ($P < 0.001$)。以上结果表明, 痹祺胶囊与秋水仙碱能够降低模型大鼠血清中的 IL-6、TNF- α 水平, 具有明显抗炎作用, 二者高浓度联用能够比药物单用能更

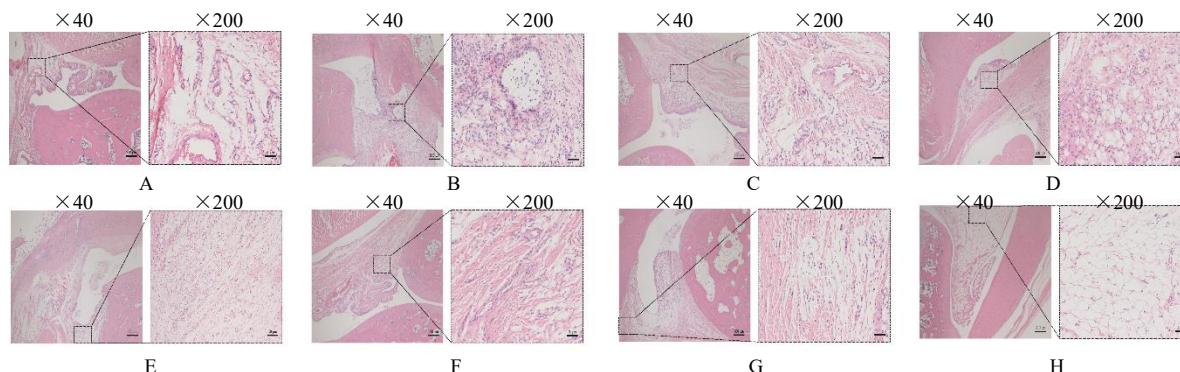


A-对照, B-模型, C-秋水仙碱 $0.45 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, D-痹祺胶囊 $180 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, E-痹祺胶囊 $180 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ + 秋水仙碱 $0.45 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, F-秋水仙碱 $0.9 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, G-痹祺胶囊 $360 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, H-痹祺胶囊 $360 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ + 秋水仙碱 $0.9 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。与对照组比较: * $P < 0.05$ *** $P < 0.001$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ### $P < 0.01$ #### $P < 0.001$; 与秋水仙碱 $0.9 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组比较: & $P < 0.05$; 与痹祺胶囊 $360 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组比较: @ $P < 0.05$ @@ $P < 0.01$ 。

A-control, B-model, C-colchicine $0.45 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, D-Biqi Capsules $180 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, E-Biqi Capsules $180 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ + colchicine $0.45 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, F-colchicine $0.9 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, G-Biqi Capsules $360 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, H-Biqi Capsules $360 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ + colchicine $0.9 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. * $P < 0.05$ *** $P < 0.001$ vs control group; # $P < 0.05$ ### $P < 0.01$ #### $P < 0.001$ vs model group; & $P < 0.05$ vs colchicine $0.9 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ group; @ $P < 0.05$ @@ $P < 0.01$ vs Biqi Capsules $360 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ group.

图 2 不同时间痹祺胶囊与秋水仙碱对大鼠踝关节肿胀度的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 5$)

Fig. 2 Effects of Biqi Capsules and colchicine on ankle swelling in rats with acute gouty arthritis in different time ($\bar{x} \pm s$, $n = 5$)



A-对照, B-模型, C-秋水仙碱 $0.45 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, D-痹祺胶囊 $180 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, E-痹祺胶囊 $180 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ + 秋水仙碱 $0.45 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, F-秋水仙碱 $0.9 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, G-痹祺胶囊 $360 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, H-痹祺胶囊 $360 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ + 秋水仙碱 $0.9 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

A-control, B-model, C-colchicine $0.45 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, D-Biqi Capsules $180 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, E-Biqi Capsules $180 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ + colchicine $0.45 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, F-colchicine $0.9 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, G-Biqi Capsules $360 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, H-Biqi Capsules $360 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ + colchicine $0.9 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

图 3 痹祺胶囊与秋水仙碱对大鼠踝关节组织炎性浸润的影响 (HE)

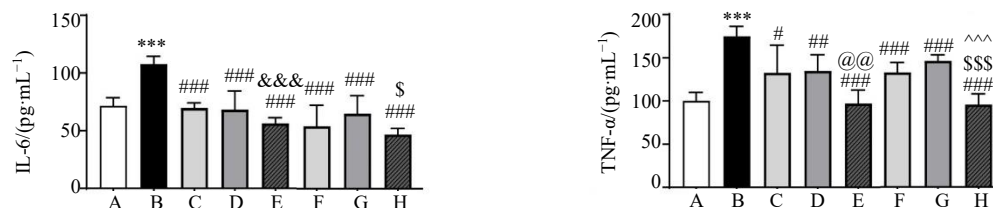
Fig. 3 Effects of Biqi Capsules and colchicine on inflammatory infiltration of ankle joint tissue in rats with acute gouty arthritis (HE)

显著的抑制炎症反应, 进而有效减轻模型大鼠踝关节炎性损伤。

3.4 痹祺胶囊与秋水仙碱对大鼠踝关节滑膜组织 NLRP3 炎症小体通路的影响

如图 5 所示, 与模型组相比, 秋水仙碱 0.9 mg/kg 组、痹祺胶囊 360 mg/kg 组、痹祺胶囊 + 秋水仙碱

组大鼠滑膜组织中 NLRP3、ASC、IL-18、IL-1 β 蛋白表达量均明显降低 ($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001), 且联合用药对 NLRP3 炎症小体相关蛋白表达的抑制作用明显强于痹祺胶囊或秋水仙碱单独给药 ($P < 0.01$ 、 0.001)。上述结果表明, 痹祺胶囊和秋水仙碱联合用药能进一步增强对 NLRP3 炎症小体信号通

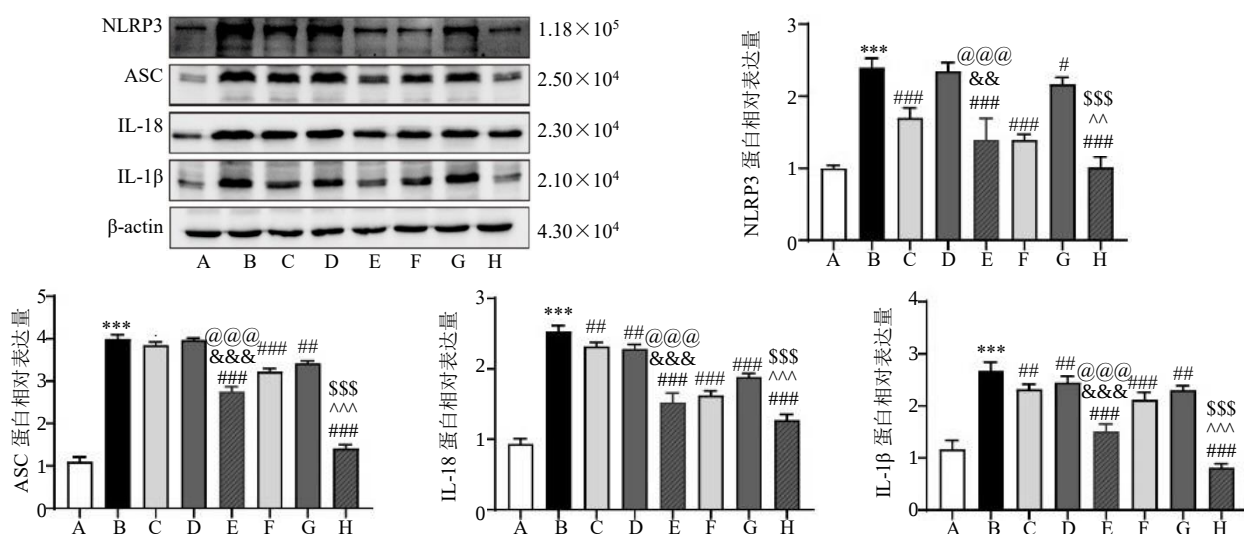


A-对照, B-模型, C-秋水仙碱 0.45 mg·kg⁻¹, D-痹祺胶囊 180 mg·kg⁻¹, E-痹祺胶囊 180 mg·kg⁻¹+秋水仙碱 0.45 mg·kg⁻¹, F-秋水仙碱 0.9 mg·kg⁻¹, G-痹祺胶囊 360 mg·kg⁻¹, H-痹祺胶囊 360 mg·kg⁻¹+秋水仙碱 0.9 mg·kg⁻¹. 与对照组比较: ****P*<0.001; 与模型组比较: #*P*<0.05 ##*P*<0.01 ###*P*<0.001; 与秋水仙碱 0.45 mg·kg⁻¹组比较: &&&*P*<0.001; 与痹祺胶囊 360 mg·kg⁻¹组比较: \$*P*<0.05 \$\$\$*P*<0.001; 与痹祺胶囊 180 mg·kg⁻¹组比较: @@*P*<0.01; 与秋水仙碱 0.9 mg·kg⁻¹组比较: ^^*P*<0.001.

A-control, B-model, C-colchicine 0.45 mg·kg⁻¹, D-Biqi Capsules 180 mg·kg⁻¹, E-Biqi Capsules 180 mg·kg⁻¹+colchicine 0.45 mg·kg⁻¹, F-colchicine 0.9 mg·kg⁻¹, G-Biqi Capsules 360 mg·kg⁻¹, H-Biqi Capsules 360 mg·kg⁻¹+ colchicine 0.9 mg·kg⁻¹. ****P*<0.001 vs control group; #*P*<0.05 ##*P*<0.01 ###*P*<0.001 vs model group; &&&*P*<0.001 vs colchicine 0.45 mg·kg⁻¹ group; \$*P*<0.05 \$\$\$*P*<0.001 vs Biqi Capsules 360 mg·kg⁻¹ group; @@*P*<0.01 vs Biqi Capsules 180 mg·kg⁻¹ group; ^^*P*<0.001 vs colchicine 0.9 mg·kg⁻¹ group.

图 4 痹祺胶囊与秋水仙碱对大鼠血清炎症因子的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 5$)

Fig. 4 Effects of Biqi Capsules and colchicine on serum inflammatory cytokines in rats with acute gouty arthritis ($\bar{x} \pm s$, $n = 5$)



A-对照, B-模型, C-秋水仙碱 0.45 mg·kg⁻¹, D-痹祺胶囊 180 mg·kg⁻¹, E-痹祺胶囊 180 mg·kg⁻¹+秋水仙碱 0.45 mg·kg⁻¹, F-秋水仙碱 0.9 mg·kg⁻¹, G-痹祺胶囊 360 mg·kg⁻¹, H-痹祺胶囊 360 mg·kg⁻¹+秋水仙碱 0.9 mg·kg⁻¹. 与对照组比较: ****P*<0.001; 与模型组比较: #*P*<0.05 ##*P*<0.01 ###*P*<0.001; 与秋水仙碱 0.45 mg·kg⁻¹组比较: &&&*P*<0.001; 与痹祺胶囊 180 mg·kg⁻¹组比较: @@@*P*<0.001; 与秋水仙碱 0.9 mg·kg⁻¹组比较: ^^*P*<0.01 ^^*P*<0.001; 与痹祺胶囊 360 mg·kg⁻¹组比较: \$\$\$*P*<0.001.

A-control, B-model, C-colchicine 0.45 mg·kg⁻¹, D-Biqi Capsules 180 mg·kg⁻¹, E-Biqi Capsules 180 mg·kg⁻¹+colchicine 0.45 mg·kg⁻¹, F-colchicine 0.9 mg·kg⁻¹, G-Biqi Capsules 360 mg·kg⁻¹, H-Biqi Capsules 360 mg·kg⁻¹+ colchicine 0.9 mg·kg⁻¹. ****P*<0.001 vs control group; #*P*<0.05 ##*P*<0.01 ###*P*<0.001 vs model group; &&&*P*<0.001 vs colchicine 0.45 mg·kg⁻¹ group; @@@*P*<0.001 vs Biqi Capsules 180 mg·kg⁻¹ group; ^^*P*<0.01 ^^*P*<0.001 vs colchicine 0.9 mg·kg⁻¹ group; \$\$\$*P*<0.001 vs Biqi Capsules 360 mg·kg⁻¹ group.

图 5 痹祺胶囊与秋水仙碱对大鼠踝关节滑膜组织 NLRP3 炎症通路蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Fig. 5 Effects of BQ and COL on the expression of NLRP3 inflammasome pathway proteins in the synovial tissue of ankle joints in rats with acute gouty arthritis ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

路的抑制作用,有效减轻大鼠关节部位的炎症反应,从而减轻踝关节肿胀,改善痛风性关节炎。

4 讨论

急性痛风性关节炎是由嘌呤代谢障碍引起的一种代谢性疾病,其特征是尿酸钠在关节及其周围组织积聚从而引起关节疼痛甚至损伤^[14]。秋水仙碱

是目前治疗急性痛风性关节炎的常用药物,有报道它可以抑制胱天蛋白酶-1 (Caspase-1) 的激活,减少 IL-1β 和 IL-18 的释放,从而改善痛风性关节炎的相关症状。此外,秋水仙碱还具有一定的预防作用,可降低急性痛风性关节炎的发生率。但单独使用秋水仙碱并无法阻止关节腔内尿酸钠的沉积,且

可能会引起严重的胃肠道等不良反应^[15-16]。因此,有必要探索治疗急性痛风性关节炎效果好且不良反应更少的治疗方法。

中医药已被广泛应用于治疗痛风性关节炎和应对不同阶段痛风的复杂病理状态^[17]。痹祺胶囊作为治疗风湿性关节炎、类风湿性关节炎和其他骨关节疾病的处方药,已广泛应用于临床关节炎性疾病的治疗。研究表明,痹祺胶囊可以促进金属蛋白酶组织抑制剂-1 (Timp-1) 的产生,降低 IL-1 和基质金属蛋白酶-3 (MMP-3) 的表达,从而保护关节软骨,改善炎症^[18]。据报道,痹祺胶囊水提取物中的主要抗炎成分隐丹参酮可以显著抑制脂多糖诱导的 RAW 264.7 细胞中 NO 和 IL-6 的水平^[19]。本课题组前期对痹祺胶囊改善急性痛风性关节炎大鼠滑膜损伤的作用及机制进行了研究,发现痹祺胶囊可以有效降低急性痛风性关节炎大鼠踝关节肿胀程度,改善急性痛风性关节炎大鼠的踝关节滑膜损伤。鉴于秋水仙碱同样可以降低患者体内炎症水平,缓解急性痛风性关节炎,本研究将痹祺胶囊与秋水仙碱联合应用,评价两药联用对急性痛风性关节炎是否具有协同改善作用,并明确其作用机制。

传统中医认为,痛风性关节炎可归类为痹证(关节疼痛综合征),其症状为一个或多个关节突然严重疼痛、肿胀、发红和压痛^[20]。本研究依据改良的经典 Coderre 方法建立了急性痛风性关节炎大鼠模型。基于前期体内实验,结合人和大鼠的给药等效剂量换算方法,按照前期研究确定的最佳协同浓度 400:1 配比选取安全有效的痹祺胶囊剂量浓度(180、360 mg/kg)搭配相应的秋水仙碱剂量浓度(0.45、0.9 mg/kg)进行给药。测定造模后 3、6、9、12、24 h 大鼠踝关节肿胀度。结果表明痹祺胶囊和秋水仙碱给药均可以缓解急性痛风性关节炎引起的踝关节肿胀,且造模 12 h、24 h 后,痹祺胶囊 360 mg/kg+秋水仙碱 0.9 mg/kg 组效果比药物单用效果更明显。

研究表明,在急性痛风性关节炎中,关节腔内尿酸钠的沉积会激活炎性细胞因子,诱导巨噬细胞和中性粒细胞的积聚,从而导致痛风性关节炎^[21]。急性痛风性关节炎滑膜病理部位会出现大量增生、炎症因子浸润。在本实验中通过大鼠踝关节滑膜 HE 染色发现痹祺胶囊和秋水仙碱单用或者联合用药均可以明显改善急性痛风性关节炎炎性细胞浸润。在 400:1 的配比下,低浓度联合用药和高浓度

联合用药比药物单用能够更显著的抑制炎性细胞浸润。据报道,临床急性痛风性关节炎患者血清中具有较高水平的炎症因子,且持续高水平的 IL-6、TNF- α 会进一步加重急性痛风性关节炎的病理状况^[22]。有研究表明,使用单克隆抗体靶向抑制炎症因子对急性痛风性关节炎有明显改善作用^[23-24]。此外,多种天然产物或提取物也能够有效降低血清中的炎症因子,从而减轻急性痛风性关节炎^[25-26]。因此,考虑到 IL-6、TNF- α 是急性痛风性关节炎的重要病理因素和诱因,本研究进一步检测了痹祺胶囊和秋水仙碱单用以及两药在 400:1 的配比下联用对大鼠血清 IL-6、TNF- α 水平的影响。ELISA 检测结果表明痹祺胶囊和秋水仙碱对 IL-6 和 TNF- α 具有明显的抑制作用。与模型组相比,痹祺胶囊和秋水仙碱均能降低 IL-6 和 TNF- α 的水平。痹祺胶囊 360 mg/kg+秋水仙碱 0.9 mg/kg 组应用能协同发挥抗炎作用,比单药使用能够更显著的下调血清 IL-6 和 TNF- α 的水平,从而减轻系统炎症。

研究表明,尿酸钠在关节的局部沉积,致使 NLRP3 炎症小体通路的激活,引发 IL-18、IL-1 β 等炎症因子的释放,是导致急性痛风性关节炎发生的重要病理环节^[27]。有证据表明,秋水仙碱可通过抑制关节部位的中性粒细胞聚集,降低中性粒细胞对尿酸钠的吞噬作用,从而改善局部中性粒细胞破坏引发的炎症反应,发挥迅速抗炎的作用^[28]。此外,秋水仙碱也能够显著抑制尿酸钠诱导的巨噬细胞中超氧阴离子的产生,进而抑制氧化应激介导的炎症小体相关通路的活化和炎症因子释放^[29]。前期研究发现,痹祺胶囊能够通过阻断尿酸钠和脂多糖介导的 TLR4 通路的活化,进而抑制其下游 NLRP3 炎症小体的激活^[30]。因此,痹祺胶囊与秋水仙碱联用可能通过调控不同的上游通路对 NLRP3 炎症小体协同发挥抑制作用。据此本研究检测了痹祺胶囊与秋水仙碱联用对急性痛风性关节炎大鼠踝关节滑膜组织 NLRP3 炎症小体炎症通路相关蛋白表达的影响。结果表明,和药物单用相比,痹祺胶囊与秋水仙碱联合用药能进一步增强对 NLRP3 炎症小体信号通路的抑制作用,有效减轻急性痛风性关节炎大鼠关节部位的炎症反应,从而减轻踝关节肿胀,改善痛风性关节炎。

综上,本研究通过体外实验发现痹祺胶囊与秋水仙碱在 400:1 的配比下具有明显的协同抗炎作用。体内实验证实,根据此配比,痹祺胶囊 360 mg/kg+

秋水仙碱 0.9 mg/kg 联合给药, 能够更好地缓解急性痛风性关节炎大鼠踝关节肿胀, 减轻尿酸钠引起的滑膜损伤。两者联合应用能有效抑制炎症细胞浸润, 降低急性痛风性关节炎大鼠血清中的炎症因子 IL-6、TNF- α 水平。作用机制上, 两者联用可能主要通过协同抑制大鼠踝关节滑膜组织中 NLRP3 炎症小体炎症通路的活化来发挥抗炎作用, 进而减轻关节炎症和相关损伤。本研究为痹祺胶囊和秋水仙碱联合用药治疗急性痛风性关节炎的临床应用提供依据和参考, 也为急性痛风性关节炎的治疗提供了新的思路。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Sunkureddi P. Gouty arthritis: Understanding the disease state and management options in primary care [J]. *Adv Ther*, 2011, 28(9): 748-760.
- [2] Wang S W, Liu W, Wei B W, *et al*. Traditional herbal medicine: Therapeutic potential in acute gouty arthritis [J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 330: 118182.
- [3] Ni Z C, Xiao Q W, Xia Z H, *et al*. Electroacupuncture for acute gouty arthritis: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials [J]. *Front Immunol*, 2024, 14: 1295154.
- [4] Chi X S, Zhang H X, Zhang S, *et al*. Chinese herbal medicine for gout: A review of the clinical evidence and pharmacological mechanisms [J]. *Chin Med*, 2020, 15(1): 17.
- [5] 李迎春, 汪英杰, 许涛, 等. 痹祺胶囊联合针刀治疗膝骨性关节炎的临床疗效观察 [J]. *中草药*, 2024, 55(17): 5915-5920.
- [6] 刘冰, 赵晨, 王静, 等. 基于 HPLC 指纹图谱及多成分定量测定的痹祺胶囊质量评价 [J]. *中草药*, 2023, 54(23): 7702-7708.
- [7] Wang K, Zhang D M, Liu Y, *et al*. Traditional Chinese medicine formula Bi-Qi capsule alleviates rheumatoid arthritis-induced inflammation, synovial hyperplasia, and cartilage destruction in rats [J]. *Arthritis Res Ther*, 2018, 20(1): 43.
- [8] 张馨方, 王强松, 崔元璐. 痹祺胶囊提取物对 RAW264.7 细胞模型的抗炎作用 [J]. *中成药*, 2014, 36(1): 26-30.
- [9] 侯燕. 白头翁皂苷通过 NALP3 炎症体信号通路抑制大鼠痛风性关节炎急性发作的研究 [D]. 合肥: 安徽中医药大学, 2019.
- [10] 谭洪发, 荣晓凤, 徐艳明, 等. 痹祺胶囊对 CIA 大鼠 OPG/RANKL 表达的影响 [J]. *免疫学杂志*, 2016, 32(10): 878-883.
- [11] 李阔. 痹祺胶囊改善高尿酸血症和急性痛风性关节炎的作用及机制研究 [D]. 天津: 天津中医药大学, 2024.
- [12] 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002.
- [13] Coderre T J, Wall P D. Ankle joint urate arthritis (AJUA) in rats: An alternative animal model of arthritis to that produced by Freund's adjuvant [J]. *Pain*, 1987, 28(3): 379-393.
- [14] Zhang Y J, Zhang N, Song H, *et al*. Design, characterization and comparison of transdermal delivery of colchicine via borneol-chemically-modified and borneol-physically-modified ethosome [J]. *Drug Deliv*, 2019, 26(1): 70-77.
- [15] Sun Z, Li Z G, Tan Y Y, *et al*. Anti-gouty arthritis and anti-hyperuricemia properties of *Sanghuangporus vaninii* and *Inonotus hispidus* in rodent models [J]. *Nutrients*, 2022, 14(20): 4421.
- [16] Wang Q S, Cui Y L, Wang Y F, *et al*. Effects of compounds from Bi-qi capsule on the expression of inflammatory mediators in lipopolysaccharide-stimulated RAW264.7 macrophages [J]. *J Ethnopharmacol*, 2011, 136(3): 480-487.
- [17] Lv H Q, Chen J Z, Liu F F, *et al*. A traditional clinic Chinese medicine prescription Qu-Zhuo-Tong-Bi (QZTB) alleviates gouty arthritis in model rats [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2019, 2019: 9456318.
- [18] Wang Z, Wu J Q, Li D Y, *et al*. Traditional Chinese medicine Biqi capsule compared with leflunomide in combination with methotrexate in patients with rheumatoid arthritis: A randomized controlled trial [J]. *Chin Med*, 2020, 15: 36.
- [19] 冯其帅, 王贵芳, 王强松, 等. 痹祺胶囊水提取物及其单体成分抗炎活性比较 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2016, 22(3): 89-93.
- [20] 刘建, 韩凤梅, 陈勇. 高效液相色谱法测定痹祺胶囊中马钱子碱、土的宁和丹酚酸 B [J]. *分析化学*, 2009, 37(4): 609-612.
- [21] Zhang X F, Zou Y, Zheng J X, *et al*. lncRNA-MM2p downregulates the production of pro-inflammatory cytokines in acute gouty arthritis [J]. *Mol Med Rep*, 2020, 22(3): 2227-2234.
- [22] Cronstein B N, Terkeltaub R. The inflammatory process of gout and its treatment [J]. *Arthritis Res Ther*, 8 (Suppl 1): S3.
- [23] So A, De Smedt T, Revaz S, *et al*. A pilot study of IL-1 inhibition by anakinra in acute gout [J]. *Arthritis Res Ther*, 2007, 9(2): R28.
- [24] Dhimolea E. Canakinumab [J]. *Mabs*, 2010, 2(1): 3-13.
- [25] Sabina E P, Nagar S, Rasool M. A role of piperine on

- monosodium urate crystal-induced inflammation--an experimental model of gouty arthritis [J]. *Inflammation*, 2011, 34(3): 184-192.
- [26] Li S P, Li L Z, Yan H, *et al.* Anti-gouty arthritis and anti-hyperuricemia properties of celery seed extracts in rodent models [J]. *Mol Med Rep*, 2019, 20(5): 4623-4633.
- [27] Liu Y R, Wang J Q, Li J. Role of NLRP3 in the pathogenesis and treatment of gout arthritis [J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1137822.
- [28] Phelps P. Polymorphonuclear leukocyte motility *in vitro*: IV. Colchicine inhibition of chemotactic activity formation after phagocytosis of urate crystals [J]. *Arthritis Rheum*, 2008, 58(2 Suppl): S25-S33.
- [29] Nuki G. Colchicine: Its mechanism of action and efficacy in crystal-induced inflammation [J]. *Curr Rheumatol Rep*, 2008, 10(3): 218-227.
- [30] Li G, Du S M, Yan S Y, *et al.* Mechanism of Biqi capsules in the treatment of gout based on network pharmacology and experimental verification [J]. *J Ethnopharmacol*, 2025, 337(Pt 1): 118817.

[责任编辑 高源]