

显差异 ($P>0.05$)。滑膜组织 IL-1、IL-6 水平比较,模型组均显著高于正常组 ($P<0.01$),各给药组均显著低于模型组 ($P<0.05$ 、 0.01),祛浊通痹颗粒大、中剂量组均显著低于秋水仙碱组 ($P<0.05$),祛浊通痹颗粒大、中剂量组间无明显差异 ($P>0.05$)。

4 讨论

痛风是一种难治愈、易复发的代谢性风湿病,与嘌呤代谢异常关系密切。近10余年来,随着生活水平的提高和饮食结构的不合理改变,我国痛风的发病率呈现日益增高的趋势。尿酸盐在滑膜组织沉积并引起炎症介质释放是急性痛风发作的基础,PGE₂、白细胞三烯 B4 (LTB₄)、IL-1、IL-6、LI-8、TNF- α 等参与炎症过程^[3,4]。PGE₂、前列环素 (PGI₂) 等炎症介质能使局部毛细血管扩张,血管通透性增加,组织充血、水肿和炎症发生。已发现在急性痛风关节滑液中 PGE₂水平升高,PGE₂代谢产物 6- κ -PGF1 α 水平也有升高现象。IL-1、IL-6 既直接致炎,又促使其他炎症介质的释放而间接致炎,在急性痛风炎症过程中起着重要的作用。尿酸盐渗入关节腔,与滑膜液中的 IgG 结合,原位活化 A 型滑膜细胞、单核细胞等,产生 IL-1。IL-1 一方面以自分泌的方式激活 A 型滑膜细胞、单核细胞释放 IL-6、IL-8、PGE₂;另一方面以旁分泌的方式刺激滑膜成纤维细胞有丝分裂并分泌 IL-6、胶原酶、PGE₂ 等^[4]。本实验研究发现,急性痛风关节炎模型大鼠血浆中 PGE₂ 水平基本正常,6- κ -PGF1 α 水平显著升高;滑膜组织 PGE₂、6- κ -PGF1 α 、IL-1、IL-6 水平均异常升高,提示关节炎滑膜炎症反应剧烈。

痛风性关节炎多呈间歇性发作,发作时常见局部大关节红、肿、热、痛,病情缠绵难愈。按照中医理

论,认为本病多因饮食不节或运化失司,湿浊内生,痰瘀阻络所致。湿性重着,故病发以下肢膝、踝、跖趾关节多见,间歇期也常见下肢酸楚乏力。湿浊内蕴日久,则易酿生痰浊,痰浊与血瘀互结,关节经络为之闭阻。郁久化生热毒,所以临床可见突发性关节红、肿、热、痛。典型急性痛风当辨证为湿浊、血瘀、热毒夹杂为病,治宜利湿祛浊、解毒通络为主。本课题组在此基础上,结合临床实践探索,筛选出土茯苓、赤芍、薏苡仁、忍冬藤等药物自拟成祛浊通痹颗粒。前期临床疗效证实,祛浊通痹颗粒治疗急性痛风抗炎镇痛见效快、药效强,近期疗效与秋水仙碱相当,长期使用还具有稳定的降尿酸作用,且胃肠道反应等不良反应少^[1]。本实验研究发现,祛浊通痹颗粒能显著降低急性痛风模型关节滑膜 PGE₂ 和 6- κ -PGF1 α 水平,对 IL-1、IL-6 水平也有明显下调作用,推测祛浊通痹颗粒可能通过抑制滑膜细胞 IL-1、IL-6 的合成,进而抑制 PGE₂、PGI₂ 等其他炎症介质的释放,发挥其显著的抗炎作用。因此,临幊上应用祛浊通痹颗粒治疗痛风,除了通过降低血尿酸水平来防止急性痛风性关节炎发作之外,还能通过抑制炎症因子合成及炎症介质释放来起到缓解关节疼痛的作用。

References:

- Xu Y, Weng C P, Jin C Y, et al. Effect of Quzhuotongbi Granula treatment on acute gout [J]. *J Zhejiang Coll Tradit Chin Med* (浙江中医学院学报), 2004, 28(4): 41-42.
- Coderr T J, Wall P D. Ankle joint arthritis in rats provided useful tool for the evaluation of analgesic and anti-arthritis agents [J]. *Pharm Biochem Behav*, 1988, 29: 461.
- Birrell G L, McQueen D S, Iggo A, et al. PGI₂-induced activation and sensitization of articular mechanonociceptors [J]. *Neurosci Lett*, 1991, 124: 5-8.
- Dinarello C A. Biologic basis for IL-1 in disease [J]. *Blood*, 1996, 87: 2095-2147.

痛风舒胶囊对痛风模型动物抗炎作用及机制的研究

唐春萍,江 涛,田 伟,陈东波

(广东药学院,广东 广州 510224)

痛风是嘌呤代谢紊乱及(或)血尿酸升高所引起的一组综合征,其特征为关节炎、痛风石、泌尿系结石以及痛风性肾病。多数痛风患者的最初临床表现是反复发作的急性痛风性关节炎。痛风舒胶囊是用

于治疗痛风的中成药,由大黄、车前子、泽泻、川牛膝、防己组成,具有活血通经、利水渗湿、消肿止痛之功效,临床应用对痛风有明显的治疗作用,但其抗炎作用机制尚不十分明确。本实验通过观察痛风舒胶

囊对痛风模型动物抗炎、病理形态学变化及对炎症部位致炎因子前列腺素 E₂(PGE₂)、肿瘤坏死因子(TNF-α) 及丙二醛(MDA) 水平的影响进行研究, 探讨其治疗急性痛风性关节炎的作用及机制。

1 材料

1.1 药物: 痛风舒胶囊, 0.3 g/粒(每粒含大黄素和大黄酚的总量不得少于 0.5 mg), 批号 041018, 青海绿色药业有限公司生产; 秋水仙碱, 山东新华制药有限公司生产, 批号 20030302。

1.2 试剂: 结晶性尿酸钠, 批号 120K5305, 为 Sigma 公司产品。MDA 试剂盒, 南京建成生物工程研究所提供, TNF-α 试剂盒, 军事医学科学院基础所提供的。

1.3 动物: SD 大鼠(合格证号 2004A021)、新西兰兔(合格证号 2003A025) 均由广东省医实验动物中心提供。符合清洁级标准, 正常饲养 3 d 后供试。

2 方法

2.1 对微晶型尿酸钠致大鼠踝关节肿胀的影响^[1]: 取 SD 大鼠 50 只, 雄性, 160~180 g, 随机分成 5 组, 即对照组、秋水仙碱(0.1 g/kg) 组、痛风舒胶囊高、中、低剂量(生药 1.2、0.6、0.3 g/kg) 组, 各组 ig 给药, 对照组给予等容积的生理盐水, 每天 1 次, 给药容积为 10 mL/kg, 连续 3 d。试验前每鼠左后足踝关节处用记号笔作一清晰横线, 用足趾容积测量仪测量大鼠足趾容积。末次给药 1 h 后, 无菌操作, 每鼠左后足趾 sc 10% 尿酸钠混悬液 0.1 mL, 分别于注射后 1、2、3、4、5 h 测定大鼠足趾容积 1 次, 计算足肿胀度。

$$\text{足肿胀度} = \frac{\text{肿胀后各时间点足容积} - \text{肿胀前足容积}}{\text{肿胀前足容积}}$$

2.2 对家兔急性痛风性关节炎病变模型的影响^[1]: 取新西兰兔 48 只, 按体重随机分成 6 组, 即正常组、模型组、秋水仙碱(0.1 g/kg) 组、痛风舒胶囊高、中、低剂量(生药 1.2、0.6、0.3 g/kg) 组, 各组 ig 给予相应的药物, 每天 1 次, 给药容积为 5 mL/kg, 连续 3 d。末次给药 1 h 后, 除正常组外, 各组无菌操作, 每只兔左膝关节内注射 0.3 mL 尿酸钠混悬液(100 mg/mL), 正常组注射生理盐水。致炎后 5 h 处死动物, 收集关节积液, 于显微镜下进行白细胞计数, 并取滑膜组织用 10% 甲醛固定, 作病理切片, 光镜下观察关节滑膜炎症细胞浸润反应的程度。滑膜炎症程度分为: 无炎症(-)计为 0 分; 关节囊壁内层散在少许炎性细胞浸润(+), 计为 1 分; 关节囊壁内见多灶性分布炎性细胞浸润, 组织轻度水肿, 细小血管轻度扩张充血(++), 计为 2 分; 关节囊壁内、

外层见弥散性分布炎性细胞浸润, 组织水肿明显, 细小血管充血水肿, 甚至灶性出血, 计为 3 分。比较各组关节腔白细胞数和关节滑膜炎症变化的分值。

2.3 对尿酸钠致大鼠足肿胀组织中 PGE₂、TNF-α、MDA 水平的影响^[2]: 取 SD 大鼠 50 只, 雌雄各半, 体重 160~180 g, 随机分成 5 组, 即模型组、吲哚美辛(15 mg/kg) 组、痛风舒胶囊高、中、低剂量(生药 1.2、0.6、0.3 mg/kg) 组, 各组每日 ig 给药 1 次, 给药容积为 10 mL/kg, 模型组给予等量的生理盐水, 连续 5 d, 并于第 3 天给药后 1 h 将 10% 尿酸钠溶液 0.1 mL 注入大鼠右侧足趾皮下, 72 h 后断头处死, 距右踝关节上 1 cm 处剪下右足, 剥皮后浸泡于 5 mL 生理盐水中 1~24 h 后, 以 1500 r/min 离心 10 min, 取上清液, -20 ℃ 保存待测。吸取上清液 0.5 mL, 加入 0.5 mol/L 氢氧化钠-甲醇溶液 2 mL, 在 50 ℃ 水浴箱中水浴异构化 20 min, 加甲醇稀释至 20 mL, 于紫外分光光度计 278 nm 处测定吸光度(A) 值, 计算 PGE₂ 的量 [PGE₂ 的量 = (A₂₇₈ × 13.13 × V_t × D) × W, V_t 为 PGE₂ 浸泡液总体积, D 为稀释倍数, W 为右下肢质量], 比较各组间差异。另取上清液以硫代巴比妥酸比色法测定 MDA 的量, TNF-α 活性测定采用放免法, 按试剂盒说明书操作。

2.4 统计学处理: 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS12.0 软件进行单因素方差分析。

3 结果

3.1 对微晶型尿酸钠致大鼠踝关节肿胀的影响: 由表 1 可见, 痛风舒胶囊低剂量组可显著抑制 2~3 h 的足肿胀度($P < 0.05$), 中剂量组可显著抑制 2~4 h 各时间点的足肿胀度($P < 0.05$), 高剂量组可非常显著抑制 1~5 h 各时间点的足肿胀度($P < 0.05, 0.01$); 秋水仙碱亦可非常显著抑制 1~5 h 各时间点的足肿胀度($P < 0.05, 0.01$), 结果表明痛风舒胶囊能明显抑制微晶型尿酸钠混悬液致大鼠足肿胀的急性炎症反应, 具有抗炎消肿作用。

3.2 对家兔急性痛风性关节炎病变模型的影响: 关节积液白细胞计数与滑膜组织切片结果表明: 痛风舒胶囊高、中、低剂量组能明显减少关节腔积液白细胞计数, 高、中剂量组明显减轻关节滑膜组织的炎症反应程度(表 2)。

3.3 对尿酸钠致大鼠足肿胀组织中 PGE₂、TNF-α、MDA 水平的影响: 由表 3 可见, 吲哚美辛组, 痛风舒胶囊中、高剂量组能明显降低大鼠肿胀足跖组织中 PGE₂、MDA、TNF-α 水平。

表1 痛风舒胶囊对尿酸钠所致大鼠足跖肿胀的影响 ($\bar{x} \pm s$, n=10)Table 1 Effect of Tongfengshu Capsula on paw swelling of rats induced by sodium urate ($\bar{x} \pm s$, n=10)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	足肿胀度/mL				
		1 h	2 h	3 h	4 h	5 h
对照	—	0.36±0.12	0.42±0.08	0.50±0.07	0.53±0.12	0.54±0.12
秋水仙碱	0.1	0.22±0.13*	0.31±0.09**	0.39±0.10**	0.40±0.13*	0.39±0.12*
痛风舒胶囊	0.3	0.34±0.09	0.34±0.09*	0.42±0.11*	0.50±0.11	0.49±0.11
	0.6	0.24±0.12	0.32±0.12*	0.36±0.18*	0.38±0.16*	0.40±0.20
	1.2	0.24±0.15*	0.30±0.09**	0.37±0.13**	0.41±0.09*	0.40±0.14*

与对照组比较: *P<0.05 **P<0.01

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

表2 痛风舒胶囊对尿酸钠致家兔急性痛风性关节炎的影响 ($\bar{x} \pm s$, n=8)Table 2 Effect of Tongfengshu Capsula on acute gouty arthritis of rabbits induced by sodium urate ($\bar{x} \pm s$, n=8)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	WBC/ (10 ⁹ ·L ⁻¹)	关节滑膜炎症变化的动物数				关节滑膜炎症 程度(分值)
			—	+	++	+++	
正常	—	1.6±1.6	4	4	0	0	0.5±0.5
模型	—	21.7±8.4△△	0	0	2	6	2.8±0.4△△
秋水仙碱	0.1	6.6±2.4**	1	7	0	0	0.8±0.3**
痛风舒胶囊	0.3	15.1±4.1*	0	1	3	4	2.3±0.6
	0.6	12.7±3.4**	0	2	5	1	2.1±0.7*
	1.2	8.1±2.0**	0	6	2	0	1.3±0.4**

与正常组比较: △△P<0.01

与模型组比较: *P<0.05 **P<0.01

△△P<0.01 vs normal group

*P<0.05 **P<0.01 vs model group

表3 痛风舒胶囊对尿酸钠致大鼠足肿胀组织中 PGE₂、MDA、TNF-α 水平的影响 ($\bar{x} \pm s$, n=10)Table 3 Effect of Tongfengshu Capsula on PGE₂, MDA, and TNF-α levels in swelling paw tissue of rats induced by sodium urate ($\bar{x} \pm s$, n=10)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	PGE ₂ / (μg·g ⁻¹)	MDA/ (μmol·L ⁻¹)	TNF-α/ (pg·mL ⁻¹)
模型	—	101.23±21.34	7.17±1.21	399.75±59.45
吲哚美辛	0.015	74.62±8.01**	6.39±0.84**	272.32±26.61**
痛风舒胶囊	0.3	88.98±13.23	6.08±0.78	357.46±10.07*
	0.6	81.34±23.23*	5.69±0.69*	347.66±19.00*
	1.2	67.93±24.23**	5.44±0.92**	308.84±20.24**

与模型组比较: *P<0.05 **P<0.01

*P<0.05 **P<0.01 vs model group

4 讨论

痛风是一种难以治愈,容易复发的代谢性疾病,与过食高嘌呤食物关系密切,其发病率随生活水平提高而上升,近十年来,已成为我国的常见病。临床和实验均证实,尿酸钠结晶在滑膜组织沉积并脱落是引起急性痛风的病理基础,PGE₂、TNF-α、IL-1、IL-6、IL-8等参与炎症过程,故在急性痛风炎症过程中起着重要的作用^[2,3]。本实验也发现尿酸钠致大

鼠关节炎滑膜组织 PGE₂、TNF-α 升高,与当今研究一致。痛风舒胶囊能明显降低大鼠足局部炎症组织中 PGE₂、TNF-α 水平,提示痛风舒胶囊的抗炎作用可能与抑制炎症组织中 PGE₂合成,抑制炎性细胞因子 TNF-α 的生成有关。

此外,前列腺素合成中伴有氧自由基的生成,研究表明自由基参与炎症反应,造成脂质过氧化增强。MDA 是脂质过氧化的产物,因此测定体内 MDA 的量可以反映体内氧自由基的大小以及脂质过氧化的程度。已证明在类风湿关节炎(RA)和骨关节炎关节液中氧自由基水平升高^[4]。本研究表明,痛风舒胶囊能明显降低大鼠足局部炎症组织中 MDA 的量,这表明痛风舒胶囊可抑制组织炎症中脂质过氧化产物形成。

临幊上,痛风性关节炎以午夜突发关节剧痛,伴局部肿胀发热、皮色暗红、日轻夜重为特征。中医理论认为关节剧痛、肿胀、午夜发作或加重为寒湿痹阻所致,局部发热、暗红为瘀热之象,典型急性痛风当辨证为寒热湿瘀夹杂。治宜温经散寒通络、清热利湿祛瘀^[3]。痛风舒胶囊具有活血通经、利水渗湿、消肿止痛之功效,其君药大黄攻积导滞、泻火凉血、活血祛瘀,可抑制环氧化酶,使前列腺素 E₂(PGE₂)合成减少,并能抑制脂质过氧化。臣药车前子、泽泻利水渗湿,通淋泻热,消肿止痛;佐药防己等祛风除湿、止痛利水,粉防己碱具有抑制 PGE₂、TNF-α 合成的作用;使药川牛膝等活血祛瘀,引药下行、补肝肾、通淋涩^[6]。

本实验结果表明痛风舒胶囊具有较好的抗炎效果,并能明显改善家兔急性痛风性关节炎病理变化,抗炎作用机制可能与主要通过抑制 PGE₂的合成或释放而使局部炎症组织 PG 水平下降,减少炎性细胞因子 TNF-α 的生成以及抗脂质过氧化有关。

References:

- [1] Yang Y X, Chu Y, Zu L, et al. The therapeutic studies of Tongfengshu powder on inflammation stimulated by uric acid

- [J]. *West China J Pharm Sci* (华西药学杂志), 2003, 18(4): 244~246.
- [2] Chen W Z, Jin C, Lin J. Effect of Tongfenglin on PGE₂ level in rat's arthritis stimulated by uric acid sodium [J]. *China J Tradit Chin Med Pharm* (中国医药学报), 2000, 15(2): 24.
- [3] Lan Y J, Lin M X, Zhan R. Mechanism of gouty and traditional Chinese medicine treatment [J]. *Chin J Inf Tradit Chin Med* (中医药信息), 2001, 18(5): 19~20.
- [4] Dewar C L, Harth M. Superoxide production from cytokine-treated adherent rheumatoid neutrophils [J]. *Chin Invest Med*, 1994, 17: 52~60.
- [5] Wang B X. *Modern Pharmacology and Clinic of Chinese Traditional Medicine* (现代中药药理与临床) [M]. Tianjin: Tianjin Technology and Translation Publishing House, 2004.

桑枝生物碱与儿茶素的降血糖作用

耿 鹏¹, 朱元元², 杨 洋¹, 高智慧¹, 余养盛¹, 肖会姣¹, 白 钢^{1*}

(1. 南开大学生命科学学院, 天津 300071; 2. 南开大学化学学院, 天津 300071)

糖尿病是一种常见病、多发病, 由于糖尿病的发病机制仍不十分清楚, 目前仍然以利用药物控制血糖升高和防治并发症作为其主要的治疗手段。

中药对糖尿病的治疗除单味药外复方中药更为重要, 因此本实验选取了对 α -葡萄糖苷酶具有明显抑制作用的桑枝和儿茶^[1], 对源于桑枝的生物碱成分与源于儿茶的儿茶素成分组成的复方组分药物的降血糖作用进行了研究。桑枝是桑科植物桑 *Morus alba* L. 的枝条部分, 除用于风寒湿痹外, 还具有“养津液”、“疗口干”、“滋肾水”之功效, 故亦可用于治疗消渴^[2]。儿茶为豆科植物儿茶 *Acacia catechu* (L.f.) Willd. 的去皮枝、干的干燥煎膏, 具收敛、生肌、敛疮功效^[3]。本研究为开发有效成分明确, 作用靶标清晰的复方组分降糖药物进行了探索性工作, 为今后中医药治疗糖尿病的研究提供了新思路。

1 实验材料

1.1 药品与试剂: 1-脱氧野尻霉素 (1-deoxy-nojirimycin, DNJ)、四氢嘧啶为美国 Sigma 公司产品; α -葡萄糖苷酶 (EC 3.2.1.20) 为日本和光纯药工业株式会社产品; 阿卡波糖片为拜耳医药保健有限公司产品; 葡萄糖体外诊断试剂盒 (GOD-PAP 法) 为北京中生生物工程公司产品; 生药桑枝与儿茶均由天津市中新药业提供; 001×7 型阳离子交换树脂和 S-8 型大孔吸附树脂均购自南开大学化工厂; 其余试剂均为国产分析纯。

1.2 实验动物: 昆明种小鼠, 体重 18~22 g, 雌雄各半; Wistar 大鼠, 体重 120~140 g, 雄性, 均为二级实验动物, 由军事医学科学院实验动物中心提供。

2 方法

2.1 桑枝中生物碱成分的提取与分析: 取桑枝 500 g, 水提醇沉后, 以 001×7 型阳离子交换树脂吸附并洗脱 α -葡萄糖苷酶抑制活性检测阳性部分, 吸附色素后冻干, 得到黄褐色固体桑枝提取物 (RME) 2.53 g^[4]。以酸碱滴定法测得 RME 中含生物碱 75.3%; 柱前衍生 HPLC 法^[5]分析 RME 中含 DNJ 23.1%。

2.2 儿茶中儿茶素成分的提取与分析: 取儿茶 500 g, 水提醇沉后以醋酸乙酯萃取, 重结晶后得粗提物 9.32 g。以 S-8 型大孔吸附树脂吸附并洗脱 α -葡萄糖苷酶抑制活性检测阳性部分, 重结晶后得粉白色粉末儿茶提取物 (ACE) 4.8 g^[6]。以 HPLC 法^[3]分析 ACE 中含儿茶素 95.6%。

2.3 α -葡萄糖苷酶抑制实验、反转肠囊实验、 α -葡萄糖苷酶抑制剂对正常小鼠和糖尿病小鼠餐后血糖的影响: 参照文献方法进行^[7]。

2.4 统计: 结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间进行 *t* 检验。

3 结果

3.1 RME 与 ACE 对 α -葡萄糖苷酶的协同抑制作用: 经 α -葡萄糖苷酶活性抑制检测, RME (0.01 mg/mL) 和 ACE (1 mg/mL) 均呈现出对 α -葡萄糖苷酶活性的极显著抑制 ($P < 0.01$), 且二者联合使用效果显著优于各自单独使用 ($P < 0.01$), 表明两类物质在酶学水平对 α -葡萄糖苷酶的抑制具有一定的协同作用 (图 1, 以药物组与对照组酶活性比值 E/E_0 为评价标准)。

3.2 RME 与 ACE 的反转肠囊实验: 见表 1。RME 与 ACE 无论单独使用, 还是联合使用, 其肠囊外对

收稿日期: 2007-01-11

基金项目: “863”计划创新药和中药现代化资助项目 (2003AA2Z3510); 天津市自然科学重点基金资助项目 (023803811)

作者简介: 耿 鹏 (1979—), 男, 博士研究生, 目前主要从事中药现代化方向的研究。

Tel: (022) 23508318 E-mail: yengpeng_2001@163.com

* 通讯作者 白 钢 E-mail: gangbai@nankai.edu.cn