

四妙凉血颗粒 5 种成分含量测定及 对急性痛风性关节炎大鼠的抗炎作用研究*

唐春丽¹, 农必华¹, 冯茵怡¹, 林忆龙¹, 魏江存^{2△}, 罗 远¹

1 广西中医药大学第一附属医院, 广西 南宁 530023; 2 广西中医药大学附属国际壮医医院, 广西 南宁 530201

[摘要] 目的:建立四妙凉血颗粒中5种成分的含量测定方法,探讨四妙凉血颗粒对急性痛风性关节炎(acute gouty arthritis,AGA)大鼠的抗炎作用机制。方法:采用高效液相色谱法测定四妙凉血颗粒中5种成分含量;大鼠足踝关节注射尿酸钠悬液诱导AGA,采用容积法检测足踝关节肿胀程度;采用酶联免疫吸附试验法测定大鼠血清及关节液中白细胞介素 1β (interleukin- 1β , IL- 1β)、IL-6和肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF- α)含量;采用免疫组织化学和图像分析方法观测大鼠踝关节软骨组织中TNF- α 蛋白表达水平。结果:方法学考察结果显示各项指标符合规定,四妙凉血颗粒样品中落新妇苷、盐酸小檗碱、山柰酚、黄芩素和汉黄芩素的平均回收率为97.14%~102.67%,RSD值均小于3.0%。尿酸钠混悬液注射后,与空白对照组比较,模型组不同时间点大鼠足踝关节肿胀度,关节液中IL- 1β 、IL-6、TNF- α 含量,血清IL-6水平及TNF- α 蛋白表达均增高($P<0.05$);空白对照组大鼠软骨细胞可见少量TNF- α 蛋白表达。与模型组比较,阳性组(秋水仙碱0.65 mg/kg)及四妙凉血颗粒高、中、低剂量(6、3、1.5 g/kg)组大鼠第3~5天足踝关节肿胀度,关节液中IL- 1β 、IL-6、TNF- α 含量及血清IL-6、TNF- α 水平均降低($P<0.05$);四妙凉血颗粒低、中、高剂量组大鼠TNF- α 蛋白积分吸光度降低($P<0.05$)。与阳性组比较,四妙凉血颗粒高、中、低剂量组大鼠足踝关节肿胀度,关节液中IL- 1β 、IL-6、TNF- α 含量及血清IL-6、TNF- α 表达水平和关节组织TNF- α 蛋白积分吸光度均变化不明显,差异无统计学意义($P>0.05$)。结论:本实验建立了四妙凉血颗粒含量测定方法,该方法专属性强、重复性好、准确度高,可用于四妙凉血颗粒样品中落新妇苷、盐酸小檗碱、山柰酚、黄芩素和汉黄芩素的含量测定;四妙凉血颗粒治疗AGA的作用机制可能与其降低关节组织炎症因子IL- 1β 、IL-6和TNF- α 水平有关。

[关键词] 急性痛风性关节炎;四妙凉血颗粒;白细胞介素 1β ;白细胞介素6;肿瘤坏死因子 α

[中图分类号] R259 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 2096-9600(2025)02-0001-05

Determination of the Contents of Five Components in *Simiao Liangxue* Granules and Its Anti-inflammatory Effects on Acute Gouty Arthritis Rats

TANG Chunli¹, NONG Bihua¹, FENG Yinyi¹, LIN Yilong¹, WEI Jiangcun^{2△}, LUO Yuan¹

1 The First Affiliated Hospital of Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530023, China;

2 Guangxi International Zhuang Medicine Hospital, Nanning 530201, China

Abstract Objective: To establish the determination methods for the contents of five components in *Simiao Liangxue* granules and to discuss the anti-inflammatory mechanism of the medicine on rats with acute gouty arthritis (AGA). Methods: HPLC was used to detect the contents of five components in the medicine; AGA rat models were prepared by injecting sodium urate suspension into foot and ankle, the swelling degree of ankle joint was detected by volume method; ELISA method was adopted to measure the contents of IL- 1β , IL-6 and TNF- α in the serum and joint fluid; immunohistochemical and image analysis methods were utilized to observe the expressions of TNF- α protein in cartilage tissue of ankle. Results: The results of methodological examination showed that all the indicators conformed to the regulations, average recovery rates of astilbin, berberine hydrochloride, kaempferol, baicalin and scutellarin ranged between 97.14% and 102.67% in the samples of the medicine, RSD values were smaller than 3.0%. After the injection of sodium urate suspension, compared with blank control group, more significant swelling of ankle joint could be seen, the levels of IL- 1β , IL-6 and TNF- α in the joint fluid, the expressions of IL-6 and TNF- α in the serum were elevated in the model group at different time points ($P<0.05$); small amounts of TNF- α protein expressions could be found in the blank control group. Compared with the model group, the swelling of ankle joints in the positive group (colchicin, 0.65 mg/kg), high, moderate and low doses groups of *Simiao Liangxue* granules (6, 3 and 1.5 g/kg) was alleviated from the third to the fifth day, the contents of IL- 1β , IL-6 and TNF- α in joint fluid, the levels of IL-6 and TNF- α in the serum were reduced ($P<0.05$); TNF- α protein integral absorbance was lowered in the low, moderate and high doses groups of the medicine ($P<0.05$). Compared with the positive group, the swelling of ankle joints, the contents of IL- 1β , IL-6 and TNF- α in joint fluid, the levels of IL-6 and TNF- α in the serum, as well as TNF- α protein integral absorbance in the joint tissue were changed insignificantly, and the difference had no statistical meaning ($P>0.05$). Conclusion: The determination method for the contents of the granules established in the study, exclusive, reproducible and accurate, could be used for the content determination of astilbin, berberine hydrochloride, kaemp-

ferol, baicalein and scutellarin in the samples of the granules; the mechanism of treating AGA with the medicine may be related to the reduction in the levels of local inflammation factors IL-1 β , IL-6 and TNF- α in the joints.

Keywords acute gouty arthritis; Simiao Liangxue granules; IL-1 β ; IL-6; TNF- α

近年来痛风的发病率呈上升趋势^[1],痛风是由嘌呤代谢障碍引起的高尿酸血症和尿酸盐沉积所致,临床表现为高尿酸血症、关节炎等。急性痛风性关节炎(acute gouty arthritis,AGA)是人体痛风的临床表现^[2],患者关节处肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α ,TNF- α)、白细胞介素1 β (interleukin-1 β ,IL-1 β)、IL-6等炎症因子含量增加,出现关节软骨的炎症损伤,破坏关节,导致关节畸形及功能障碍^[3-4]。目前临床常用糖皮质激素药物治疗痛风,主要通过抗炎等作用来控制AGA发作,但不能延缓疾病进程,无法根治^[5]。

四妙凉血颗粒是以黄柏、苍术、地龙、土茯苓、威灵仙、毛冬青等十二味中药配伍制成的中药制剂。前期预实验发现四妙凉血颗粒主要含有落新妇苷、盐酸小檗碱、山柰酚、黄芩素和汉黄芩素等成分,具有多种生物活性。目前尚未见四妙凉血颗粒可降低血清和关节液中TNF- α 含量水平及降低机体炎症对人体关节损伤的报道^[6]。故本研究拟建立四妙凉血颗粒高效液相色谱含量测定方法,并探讨四妙凉血颗粒的抗炎作用机制。

1 四妙凉血颗粒中5种活性成分含量测定

1.1 材料

1.1.1 仪器 Infinite F50酶标仪(Tecan Austria GmbH);UV-1780型紫外可见分光光度计[岛津仪器(苏州)有限公司];BX-500lympus显微镜(奥林巴斯株式会社);BSA224S型电子天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司];YLSTA型足容积测量器(山东省医学科学院设备站);TDL-5-A离心机(上海安亭科学仪器厂)。

1.1.2 试剂 落新妇苷(批号:111798-201805)、盐酸小檗碱(批号:110713-202015)、山柰酚(批号:110861-202015)、黄芩素(批号:111595-201808)、汉黄芩素(批号:111514-202207),以上试剂均由中国食品药品检定研究院提供。色谱甲醇(色谱纯,美国Sigma公司);IL-1 β (批号:20210902)、IL-6(批号:20210908)、TNF- α (批号:2021/10)试剂盒均由南京建成生物工程研究所提供;兔抗大鼠TNF- α 抗体试剂盒(批号:500-P72,北京博奥森生物技术有限公司)。

1.1.3 药物 四妙凉血颗粒(广西中医药大学第一附属医院院内制剂,批号:20200601);尿酸钠(美国Sigma公司,批号:100982301)。取200 mg尿酸钠加入0.9% 35 mL氯化钠注射溶液,再加5 mL

吐温-80 $^{\circ}\text{C}$,加热搅拌,配制成40 mL的尿酸钠注射悬液。

1.2 方法与结果

1.2.1 色谱条件 使用色谱柱Diamonsil C₁₈柱(4.6 mm \times 250 mm,5 μm),以乙腈-0.1%磷酸为流动相,梯度洗脱。检测波长落新妇苷为291 nm、盐酸小檗碱为265 nm、山柰酚为365 nm、黄芩素和汉黄芩素均为280 nm;流速1.0 mL/min;柱温30 $^{\circ}\text{C}$;进样量10 μL 。理论塔板数以盐酸小檗碱峰计算不低于4000,山柰酚峰计算不低于3000,黄芩素峰计算不低于2500,分离度均大于1.5。按上述条件各成分分离度良好,且样品中的其他成分不干扰含量测定,与目标成分色谱峰分离完全。梯度洗脱程序见表1。

表1 梯度洗脱程序

时间 (min)	流动相		波长 切换(nm)
	乙腈(A)(%)	0.1%(V/V)磷酸 水溶液(B)(%)	
0	5	95	291
12	20	85	291
20	28	75	265
35	36	68	365
50	52	55	280
60	68	32	280

1.2.2 混合对照品溶液制备 分别精密称取落新妇苷、盐酸小檗碱、山柰酚、黄芩素和汉黄芩素对照品适量,以甲醇为溶剂配制成混合对照品溶液,各质量浓度分别为0.86、1.78、0.62、0.56、0.38 mg/mL,4 $^{\circ}\text{C}$ 下保存备用。

1.2.3 样品溶液制备 精密称取四妙凉血颗粒2.0 g,置具塞锥形瓶中,精密加入70%乙醇50 mL,称定质量,超声溶解30 min,放冷,再称定质量,用70%乙醇补足减失的质量,摇匀,滤过,离心半径10 cm,13 000 r/min离心10 min,取上清液过0.22 μm 微孔滤膜,作为供试品溶液。

1.2.4 方法学考察^[7-8] 按照2020年版《中华人民共和国药典》方法进行检测^[9],结果显示,所用色谱条件均对四妙凉血颗粒中落新妇苷、盐酸小檗碱、山柰酚、黄芩素和汉黄芩素的测定无干扰,分离度较好,均大于1.5。以峰面积 Y 为纵坐标,以对照品浓度($X,\mu\text{g/mL}$)为横坐标,做线性方程,落新妇苷的回归方程为: $Y=6.6924X-0.3560(r=0.9993,$ 浓度范围:17.2~172 $\mu\text{g/mL}$);盐酸小檗碱的回归方程为: $Y=7.1562X+1.6426(r=0.9995,$ 浓度范

围:35.6~356 $\mu\text{g/mL}$);山柰酚的回归方程为: $Y=5.812\ 9X-0.921\ 6(r=0.999\ 6, \text{浓度范围}:12.4\sim124\ \mu\text{g/mL})$;黄芩素的回归方程为: $Y=3.280\ 5X+1.2841(r=0.999\ 4, \text{浓度范围}:11.2\sim112\ \mu\text{g/mL})$;汉黄芩素的回归方程为: $Y=2.589\ 6X+1.826\ 2(r=0.999\ 3, \text{浓度范围}:7.6\sim76\ \mu\text{g/mL})$ 。精密度试验中四妙凉血颗粒样品中落新妇苷、盐酸小檗碱、山柰酚、黄芩素和汉黄芩素的峰面积RSD均小于3%($n=6$);稳定性试验中四妙凉血颗粒样品溶液室温放置24 h,落新妇苷、盐酸小檗碱、山柰酚、黄芩素和汉黄芩素的峰面积RSD均小于3%($n=6$);重复性试验中四妙凉血颗粒样品中落新妇苷、盐酸小檗碱、山柰酚、黄芩素和汉黄芩素的峰面积RSD均小于3%($n=6$);加样回收率试验四妙凉血颗粒样品中落新妇苷、盐酸小檗碱、山柰酚、黄芩素和汉黄芩素的平均加样回收率均在97.14%~102.67%范围,其RSD值均小于3%($n=9$),符合相关要求。

1.2.5 样品含量测定 取四妙凉血颗粒(批号:20200601)约2.0 g,按照“1.2.3”项下方法制备样品溶液,按照“1.2.1”项下液相色谱条件进行含量测定,按照外标一点法计算四妙凉血颗粒样品中落新妇苷、盐酸小檗碱、山柰酚、黄芩素和汉黄芩素的平均含量,结果见表2。

表2 四妙凉血颗粒中各成分含量测定结果(mg/g, $n=3$)

序号	落新妇苷	盐酸小檗碱	山柰酚	黄芩素	汉黄芩素
样品1	1.1408	2.8953	0.9472	0.7582	0.4306
样品2	1.1392	2.9214	0.9518	0.7541	0.4284
样品3	1.1415	2.9185	0.9463	0.7605	0.4325
平均值	1.1405	2.9117	0.9484	0.7576	0.4305

2 四妙凉血颗粒对急性痛风性关节炎大鼠的抗炎作用

2.1 动物与分组 该研究通过广西中医药大学动物伦理委员会批准(202003GX20)。取健康雄性SPF级SD大鼠60只,体质量(220 ± 10)g,购买于广西医科大学实验动物中心,动物生产许可证号:SCXK桂2014-0002。实验前适应性喂养大鼠3天,分笼饲养于空调室内,湿度($60\pm5\%$),室温(25 ± 2) $^{\circ}\text{C}$,照明时间同自然昼夜变化;常规饲养,自由进食和饮水。将60只大鼠随机分为空白对照组、模型组、阳性组和四妙凉血颗粒低、中、高剂量组,每组10只。

2.2 AGA大鼠模型制备 参照文献[10]方法:使用仰卧装置固定大鼠,用刀具剔除大鼠右后肢小腿关节毛,喷洒75%乙醇消毒,大鼠被麻醉后,用6号注射器以大鼠右侧小腿关节外侧后方为穿刺点,从小腿关节背后45 $^{\circ}$ 方向插入至胫骨肌腱内

侧,使用注射器缓慢注入3.0%尿酸钠溶液200 μL ,空白对照组给予等量无菌生理盐水。

2.3 药物干预方法 阳性组大鼠灌胃0.65 mg/kg秋水仙碱溶液;四妙凉血颗粒高、中、低剂量组分别灌胃6、3、1.5 g/kg的四妙凉血颗粒溶液;空白对照组和模型组灌胃等量生理盐水,各组灌胃共7天,第5天灌胃后1 h按照“2.2”项下方法造模。

2.4 大鼠足容积测定 使用红色记号笔在大鼠右后足踝关节上方约1.0 cm处作标记,注射后不同时间大鼠足容积与注射前大鼠足容积差值为足踝关节肿胀度,大鼠足踝关节肿胀度值越大,肿胀越明显。

2.5 大鼠血清和关节液中IL-1 β 、IL-6和TNF- α 含量检测 第7天末次灌胃后2 h处死大鼠,取大鼠腹主动脉血2 mL,血液样品静置2 h,离心半径6 cm,3 000 r/min离心10 min,分离大鼠血清,低温保存备用。从大鼠右后踝关节上方约0.5 cm处剪下大鼠足,暴露大鼠足踝关节,纵切足踝关节连接处,放入5 mL生理盐水中,4 $^{\circ}\text{C}$ 浸泡过夜,以离心半径6 cm,3000 r/min离心10 min后,取上清液,按照ELISA试剂盒说明书操作,测定大鼠血清和关节液中IL-1 β 、IL-6和TNF- α 含量水平。

2.6 TNF- α 蛋白水平检测(免疫组化二步法) 末次给药2 h后,取大鼠右踝关节组织,使用4%甲醛液固定,脱钙、脱水,石蜡包埋切片,采用免疫组织化学二步法染色,检测大鼠关节软骨组织中TNF- α 蛋白表达情况。全自动图像分析系统测量每张切片($\times400$)的阳性细胞吸光度(absorbance, A),以积分吸光度(integral absorbance, IA)代表TNF- α 蛋白阳性表达水平。

2.7 统计学方法 采用SPSS 21.0统计学软件分析数据,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用单因素方差分析,组间两两比较采用LSD- t 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2.8 结果

2.8.1 足踝关节肿胀度 与空白对照组比较,模型组大鼠不同时间点足踝关节肿胀度均增高($P<0.05$);与模型组比较,阳性组与四妙凉血颗粒高、中、低剂量组大鼠第3~5天足踝关节肿胀度均降低($P<0.05$)。灌胃第5天,四妙凉血颗粒高、中剂量组与阳性组大鼠足踝关节肿胀度降低至空白对照组水平,与阳性组比较,四妙凉血颗粒高、中、低剂量组大鼠不同时间点足踝关节肿胀度变化不明显,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表1。

2.8.2 关节液中IL-1 β 、IL-6、TNF- α 含量 与空白对照组比较,模型组大鼠关节液中IL-1 β 、IL-6、TNF- α 含量升高($P<0.05$);与模型组比较,阳性组及四妙凉血颗粒高、中、低剂量组大鼠关节液中IL-1 β 、

IL-6、TNF-α 含量降低($P<0.05$),与阳性组比较,四妙凉血颗粒高、中、低剂量组大鼠关节液中 IL-1β、IL-6、TNF-α 水平变化不明显,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表2。

2.8.3 血清 IL-1β、IL-6、TNF-α 水平 与空白对照组相比,模型组大鼠血清 IL-6 水平升高($P<0.01$),IL-1β 和 TNF-α 水平变化不明显($P>0.05$);与模型组比较,阳性组和四妙凉血颗粒高、中、低剂量组大鼠血清 IL-6 和 TNF-α 水平降低($P<0.05$),IL-1β 水平变化不明显($P>0.05$),与阳性组比较,四妙凉血颗粒高、中、低剂量组大鼠血清 IL-6、

IL-1β 和 TNF-α 水平变化不明显,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表3。

2.8.4 关节软骨组织中 TNF-α 蛋白表达水平 空白对照组大鼠软骨细胞可见少量 TNF-α 蛋白表达。与空白对照组比较,模型组大鼠 TNF-α 蛋白表达升高($P<0.05$);与模型组比较,四妙凉血颗粒高、中、低剂量组大鼠 TNF-α 蛋白 IA 降低($P<0.05$),阳性组大鼠 TNF-α 蛋白 IA 水平无明显变化($P>0.05$),与阳性组比较,四妙凉血颗粒高、中、低剂量组大鼠关节组织 TNF-α 蛋白 IA 表达,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表4。

表1 各组大鼠不同灌胃时间足踝关节肿胀度比较(̄x±s)

组别	鼠数	剂量(g/kg)	第1天(mL)	第2天(mL)	第3天(mL)	第4天(mL)	第5天(mL)
空白对照组	10	-	0.05±0.02	0.04±0.01	0.03±0.03	0.03±0.02	0.04±0.02
模型组	10	-	0.32±0.05 [#]	0.28±0.03 [#]	0.26±0.02 [#]	0.21±0.01 [#]	0.20±0.03 [#]
阳性组	10	0.65×10 ⁻³	0.30±0.03	0.25±0.04	0.13±0.01 [*]	0.09±0.02 ^{**}	0.04±0.01 ^{**}
四妙凉血颗粒高剂量组	10	4	0.32±0.02	0.28±0.03	0.15±0.02 [*]	0.06±0.03 ^{**}	0.06±0.01 ^{**}
四妙凉血颗粒中剂量组	10	2	0.30±0.03	0.28±0.02	0.14±0.01 [*]	0.07±0.02 ^{**}	0.06±0.02 ^{**}
四妙凉血颗粒低剂量组	10	1	0.28±0.04	0.24±0.02	0.14±0.01 [*]	0.12±0.02 [*]	0.11±0.03 [*]

注:与空白对照组比较,#表示 $P<0.05$;与模型组比较,*表示 $P<0.05$,**表示 $P<0.01$;-表示等剂量无菌生理盐水

表2 各组大鼠关节液中 IL-1β、IL-6、TNF-α 水平比较(̄x±s)

组别	鼠数	剂量(g/kg)	IL-1β(mg/L)	IL-6(pg/mL)	TNF-α(mg/L)
空白对照组	10	-	0.52±0.04 [*]	6.12±1.85 ^{**}	1.148±0.14 [*]
模型组	10	-	0.67±0.06 [#]	76.31±5.86 ^{##}	1.705±0.26 [#]
阳性组	10	0.65×10 ⁻³	0.55±0.03 [*]	23.74±3.10 ^{###}	1.362±0.21 [*]
四妙凉血颗粒高剂量组	10	4	0.51±0.05 [*]	6.83±2.11 ^{**}	1.341±0.16 [*]
四妙凉血颗粒中剂量组	10	2	0.54±0.07 [*]	8.79±2.98 ^{**}	1.298±0.20 [*]
四妙凉血颗粒低剂量组	10	1	0.56±0.09 [*]	12.62±3.02 ^{**}	1.320±0.11 [*]

注:与空白对照组比较,#表示 $P<0.05$,##表示 $P<0.01$;与模型组比较,*表示 $P<0.05$,**表示 $P<0.01$;-表示等剂量无菌生理盐水

表3 各组大鼠血清 IL-1β、IL-6、TNF-α 水平比较(̄x±s)

组别	鼠数	剂量(g/kg)	IL-1β(mg/L)	IL-6(pg/mL)	TNF-α(mg/L)
空白对照组	10	-	0.50±0.03	8.16±2.03 ^{**}	1.136±0.12 [*]
模型组	10	-	0.53±0.10	79.45±6.92 ^{##}	1.691±0.20
阳性组	10	0.65×10 ⁻³	0.39±0.06	26.81±3.12 ^{##}	1.353±0.18 [*]
四妙凉血颗粒高剂量组	10	4	0.44±0.09	8.79±2.09 ^{**}	1.337±0.15 [*]
四妙凉血颗粒中剂量组	10	2	0.41±0.05	10.82±3.15 ^{**}	1.286±0.18 [*]
四妙凉血颗粒低剂量组	10	1	0.39±0.08	14.76±2.28 ^{**}	1.312±0.13 [*]

注:与空白对照组比较,#表示 $P<0.05$,##表示 $P<0.01$;与模型组比较,*表示 $P<0.05$,**表示 $P<0.01$;-表示等剂量无菌生理盐水

表4 大鼠关节软骨组织中 TNF-α 蛋白表达(̄x±s)

组别	鼠数	剂量(g/kg)	TNF-α 蛋白 IA
空白对照组	10	-	0.21±0.03 [*]
模型组	10	-	0.35±0.05
阳性组	10	0.65×10 ⁻³	0.32±0.03
四妙凉血颗粒高剂量组	10	4	0.28±0.04 [*]
四妙凉血颗粒中剂量组	10	2	0.25±0.06 [*]
四妙凉血颗粒低剂量组	10	1	0.23±0.05 [*]

注:*表示与模型组比较, $P<0.05$;-表示等剂量无菌生理盐水

3 讨论

本实验结果显示,大鼠关节腔内注射尿酸钠混悬液后,其足容积显著增加,足踝关节肿胀度增加,说明 AGA 大鼠模型制备成功。虽然大鼠足踝关节肿胀度有自行恢复趋势,但是模型组大鼠足踝关节肿胀度灌胃第5天未恢复到正常情况。与模型组比较,阳性组和四妙凉血颗粒各剂量组灌胃3~5天,AGA 大鼠足踝关节肿胀度降低;灌胃第5天,四妙凉血颗粒高剂量组和阳性组大鼠足踝

关节肿胀度降低水平与空白对照组相当,提示四妙凉血颗粒对AGA大鼠具有治疗作用。

机体炎症与内皮细胞激活所引起的IL-1 β 、IL-6、TNF- α 等炎症因子释放和炎症反应在人体AGA疾病过程中扮演重要角色^[11-12]。炎症因子IL-1 β 、IL-6与TNF- α 之间相互作用,加重机体炎性损伤,促进AGA发生和发展。IL-1 β 、IL-6和TNF- α 等还可产生强烈的致痛作用。TNF- α 可降低II型胶原mRNA在人体软骨细胞的表达^[13]。抗TNF- α 能抑制机体中性粒细胞的募集,抑制机体炎症反应^[14]。由此可见,降低AGA关节组织炎症因子IL-1 β 、IL-6和TNF- α 含量,可能会终止炎性细胞因子的恶性循环,成为治疗AGA的作用靶点。

本研究结果显示,模型组大鼠足踝组织关节液中炎症因子IL-1 β 含量高于空白对照组。四妙凉血颗粒各剂量组和阳性组大鼠足踝组织关节液中IL-1 β 含量降低,表明四妙凉血颗粒能降低关节软骨组织炎症因子IL-1 β 水平,与秋水仙碱通过降低炎症因子IL-1 β 含量发挥抗炎作用相似^[15]。四妙凉血颗粒可以降低血清和组织关节液中TNF- α 水平,是治疗AGA的有效药物。本研究结果显示,四妙凉血颗粒能明显降低机体AGA关节软骨组织中TNF- α 含量,而阳性组AGA关节软骨组织中TNF- α 含量变化不明显,提示四妙凉血颗粒通过降低AGA大鼠关节软骨组织TNF- α 含量而发挥抗炎作用,且其治疗机制与秋水仙碱的抗炎作用机制不同。

现代药理学研究表明,四妙凉血颗粒中苍术燥湿健脾;黄柏泻火解毒祛湿,善祛下焦湿热,二者重在祛除湿热之邪;地龙其性走窜,可活血化瘀,清热利尿;牡丹皮味苦寒,善入血分而能清热凉血,性辛散而能活血化瘀,四者同为君药;薏苡仁健脾除湿舒筋,助苍术之功;土茯苓解毒,除湿,利关节;草薢祛风湿、利湿浊、舒筋活络;王不留行活血通经,利尿通淋,下乳消痈,四者共用使邪有出路,合而为臣;威灵仙性猛善走,通行十二经,既能祛风湿,又能通经络而止痛;毛冬青清热解毒、活血通脉,二者合而为佐;茯苓健脾祛湿,能防黄柏之苦寒;牛膝滋补肝肾,强壮筋骨,引药下行,是为使药。全方共奏清热利湿,化瘀凉血之功。

参考文献

- [1] 杨良山,钟琴. 痛风性关节炎中医因病机研究综述[J]. 风湿病与关节炎,2014,3(8):53-56.
- [2] 周蜜,王一飞,袁佳沁,等. 急性痛风性关节炎免疫学发病机制研究进展[J]. 世界临床药物,2018,39(11):779-782.
- [3] LEE E G, LEE S L, CHAE H J, et al. Ethyl acetate fraction from *Cudrania tricuspidata* inhibits IL-

1 β -induced rheumatoid synovial fibroblast proliferation and MMPs, COX-2 and PGE2 production[J]. Biol Res, 2010, 43(2):225-231.

- [4] 惠初华,姜宏,吴士良. 痛风平对大鼠实验性急性痛风性关节炎IL1 α 、IL-6、TNF- α 和MMP1的影响[J]. 中医正骨,2006,18(3):8-11.
- [5] COCCO G, CHU D C C, PANDOLFI S. Colchicine in clinical medicine a guide for internists[J]. Eur J Intern Med, 2010, 21(6):503-508.
- [6] 于泓,袁良东,钟正霞,等. 抗痛风胶囊治疗大鼠急性痛风性关节炎及下调TNF- α 水平[J]. 重庆医学,2012,41(22):2273-2275.
- [7] 魏江存,杨正腾,马家宝,等. 基于氧化石墨烯在大黄中有机氯的含量测定[J]. 西部中医药,2022,35(10):57-62.
- [8] 杨梦霞,马秀梅,陈勇,等. 高效液相色谱法同时测定酒大黄中没食子酸、儿茶素和肉桂酸的含量[J]. 西部中医药,2020,33(11):33-36.
- [9] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 2020年版. 北京:中国医药科技出版社,2020:19.
- [10] 罗曼. 痛风消2号对MSU诱导的大鼠急性痛风性关节炎抗炎作用及其机制的实验研究[D]. 哈尔滨:黑龙江中医药大学,2018.
- [11] 王晓跃,黄伟斌,王明森,等. 血清中IL-6、IL-1 β 、GM-CSF在老年急性痛风性关节炎患者中的变化及意义[J]. 湖北科技学院学报(医学版),2019,33(3):223-225.
- [12] 于静,李微,高明利,等. 痹肿消散对急性痛风性关节炎大鼠血清IL-1、TNF- β 、IL-6、IL-8影响的试验研究[J]. 光明中医,2011,26(6):1125-1126.
- [13] 蔡松涛,孙京涛,魏瑄. 枸杞多糖抑制核因子 κ B(NF- κ B)通路降低骨关节炎软骨细胞炎性细胞因子水平[J]. 细胞与分子免疫学杂志,2018,34(11):989-993.
- [14] 于健宁,马纪林,陶筱娟. 白鹤冲剂对TNF- α 刺激的血管内皮细胞与嗜中性粒细胞黏附的影响[J]. 浙江中西医结合杂志,2011,21(12):840-843.
- [15] 路占忠. 基于有效成分配伍的抗炎复方优选及其对急性痛风性关节炎大鼠NLRP3、IL-1 β 和TGF- β_1 表达的影响[D]. 石家庄:河北医科大学,2015.

收稿日期:2024-03-21

*基金项目:国家中医药管理局“十二五”中医药重点学科(民族药学)壮药学资质项目;全国中药特色技术传承人才培养项目(20184828005);广西自然科学基金项目(2020GXNSFAA259059);广西中医药大学高层次人才培养创新团队资助项目(2022A008)。

作者简介:唐春丽(1980—),女,硕士学位,副主任中医师。研究方向:中药及其制剂质量分析。

△通讯作者:魏江存(1989—),男,硕士学位,助理研究员。研究方向:中药、民族药质量分析和药效机制研究。Email:960837714@qq.com。