

除湿通痹方对急性痛风性关节炎小鼠抗炎镇痛的作用研究*

王 涛¹, 廖江龙¹, 艾元亮¹, 许燕飞¹, 邱发敏², 徐 平², 温 辉², 黄文泽², 李 雷^{1△}

(1. 昆明市中医医院, 云南 昆明 650011; 2. 云南中医学院, 云南 昆明 650021)

摘要: 目的 探讨除湿通痹方的抗炎、镇痛作用,为临床治疗急性痛风性关节炎提供实验依据。方法 通过二甲苯涂抹制备小鼠耳廓肿胀模型及采用醋酸致小鼠腹腔毛细血管通透性实验,观察除湿通痹方的抗炎作用;通过醋酸法和热板法致小鼠实验性疼痛模型,观察除湿通痹方的镇痛作用。结果 除湿通痹方Ⅱ组、Ⅲ组对小鼠耳肿胀有明显的抑制作用($P<0.05$, $P<0.01$);除湿通痹方Ⅱ组、Ⅲ组能显著抑制醋酸所致的小鼠腹腔毛细血管通透性增高($P<0.01$);除湿通痹方Ⅰ组、Ⅱ组、Ⅲ组对醋酸所致小鼠扭体模型中有一定的镇痛作用($P<0.01$),且存在剂量依赖性;除湿通痹方Ⅱ组、Ⅲ组在给药后 30、60、90、120min 均能延长小鼠痛反应潜伏期($P<0.05$, $P<0.01$),其痛阈提高率在 25%以上。结论 除湿通痹方具有明显的抗炎、镇痛作用,可用于急性痛风性关节炎的治疗。

关键词: 急性痛风性关节炎; 除湿通痹方; 抗炎; 镇痛

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-2723(2016)04-0016-04

DOI: 10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2016.04.004

“除湿通痹方”是由王不留行、萆薢、川芎、羌活等组成,具有益气补肾、利湿除痹的功效,是昆明市中医医院李雷教授治疗急性痛风性关节炎的有效方剂,临床运用多年,疗效显著,但其药效学不明。关节的红肿、热痛、肿胀是急性痛风性关节炎最常见临床表现,故抗炎镇痛作用是评价除湿通痹方治疗急性痛风性关节炎疗效的重要指标^[1]。本实验对除湿通痹方的抗炎镇痛作用进行研究,以期为临床应用此方提供实验依据,从而为开拓急性痛风性关节炎的治疗思路和进一步开发治疗急性痛风性关节炎的临床有效药物奠定理论基础。

1 实验材料

1.1 实验动物

清洁级昆明种小鼠,雄性, (25±4)g(由成都中医药大学实验动物中心提供,生产许可证号:SYXK(川)2014-049),饲养于云南中医学院动物实验中心,使用前适应性喂养 7d,饮食、饮水、活动正常,无不良反应即开始实验。整个实验过程中自由摄食和饮水。

1.2 实验器材

恒温水浴锅(广东省汕头市医用设备公司,型

号 HHW21Cr42II 型)、Sartorius 精密电子天平(德国赛多利斯天平公司)、低温冰箱、电子称、灌胃器、注射器、直径 6mm 打孔器、秒表等。

1.3 实验药物及试剂

除湿通痹方:由昆明市中医医院制剂室提供(为院内制剂,由王不留行、萆薢、荆芥、防风、川芎、羌活、川木通、猪苓、泽泻、地龙、元胡、牛膝、桔梗、茯苓组成,除湿通痹方水煎液为 2g/mL,冰箱保存备用),小鼠用药剂量采用人与动物的体表面积计算法换算,中药饮片由昆明蓝海中药材饮片公司提供;二甲苯由淄博向迪商贸有限公司提供;吲哚美辛片由上海九福药业有限公司提供;盐酸吗啡片由东北制药集团沈阳第一制药有限公司生产。

2 实验方法

2.1 除湿通痹方对二甲苯致小鼠耳廓肿胀的影响^[2]

取昆明种小鼠 50 只,雄性,随机分为 5 组,每组 10 只。灌胃给药,1 次/d,连续给药 5d。正常对照组给予等量的生理盐水,阳性对照组给予吲哚美辛片($0.02\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$),除湿通痹方Ⅰ组、Ⅱ组、Ⅲ组($6\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, $12\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, $25\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)。

* 基金项目:云南省应用基础研究计划项目(201401SH00018);云南省科技计划项目(2013FD099)

收稿日期:2016-04-12

作者简介:王涛(1984-),男,云南昆明人,主治医师,研究方向:中西医结合骨伤科基础与临床。

△通信作者:李雷, E-mail: 183070775@qq.com

末次给药 30min 后, 在小鼠右耳前后两面涂 100% 的致炎剂二甲苯 0.1mL/只致肿, 左耳不作任何处理。2h 后脱颈处死小鼠, 用 6mm 打孔器取右耳和左耳同一部位的耳片, 分别称重, 右耳片重量减去左耳片重量即为肿胀度。肿胀抑制率(%)=(空白对照组的平均肿胀度-给药组平均肿胀度)/空白对照组平均肿胀度 $\times 100\%$ 。

2.2 除湿通痹方对小鼠腹腔毛细血管通透性的影响^[3]

取昆明种小鼠 60 只, 雄性, 随机分为正常对照组、模型对照组(等量的生理盐水)、阳性对照组(吡哌美辛片 $0.02\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)、除湿通痹方 I 组、II 组、III 组($6\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, $12\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, $25\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)6 组, 每组 10 只。灌胃给药, 1 次/d, 连续 5d, 末次给药 1h 后, 除正常对照组外其余各组小鼠均尾静脉注射 0.5%伊文思蓝生理盐水 0.2mL/只, 并立即注射 0.6%醋酸 0.2mL/只(正常对照组腹腔注射生理盐水), 30min 后脱臼处死, 用 5mL 生理盐水洗涤腹腔, 吸出洗涤液定容 10mL, 离心 3 000r/min, 10min 后取上清液于 590nm 比色, 以吸光度(A)表示小鼠腹腔毛细血管的通透性, 给药组抑制率(%)=(模型组吸光度平均值-给药组吸光度平均值)/模型组吸光度平均值 $\times 100\%$ 。

2.3 除湿通痹方对醋酸致小鼠扭体反应的影响^[4]

取昆明种小鼠 50 只, 雄性, 随机分为 5 组。正常对照组(生理盐水 $20\text{mL}\cdot\text{kg}^{-1}$)、阳性对照组(盐酸吗啡片 $10\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)、除湿通痹方 I 组、II 组、III 组($6\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, $12\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, $25\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)。灌胃给药, 2 次/d, 除阳性对照组外, 其余各组连续给药 3d。末次给药同时阳性对照组腹腔给药。各组末次给药 1h 腹腔注射 0.6%冰醋酸, 剂量为 0.1mL/10g, 刺激脏层和壁层腹膜, 引起深部较大面积较长时间的炎性疼痛, 致使小鼠出现腹部内凹、躯干与后肢伸张, 臀部拱起等扭体反应, 观察并记录注射醋酸后 15min 内小鼠的扭体反应的次数并计算药物对扭体反应的抑制率。扭体次数抑制率=(正常对照组扭体均数-给药组扭体均数) $\div$ 正常对照组扭体均数 $\times 100\%$ ^[5]。

2.4 除湿通痹方对热板法致小鼠疼痛的影响

取昆明种小鼠, 雄性, 分组前进行筛选, 水浴温度保持(55 ± 0.5) $^{\circ}\text{C}$ 。每次取一只小鼠, 记录自放入到出现舔后足所需时间(S)作为该鼠的痛阈值。其中小于 5s 或者大于 30s 出现舔后足者, 及喜跳跃者, 弃之不用。对合格者进行分组、标记, 记录第 1 次舔

足时间作为痛阈值, 10min 之后再作 1 次, 将连续 2 次的平均值, 作为给药前的痛阈值。将筛选合格的雌性小鼠随机分为 5 组, 每组 10 只。正常对照组(生理盐水 $20\text{mL}\cdot\text{kg}^{-1}$)、阳性对照组(盐酸吗啡 $10\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)、除湿通痹方 I 组、II 组、III 组($6\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, $12\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, $25\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)。灌胃给药, 2 次/d, 除阳性对照组外, 其余各组连续给药 3d。末次给药时阳性对照组腹腔给药。各组于末次给药后分别于 30、60、90、120min 痛阈值测定 1 次, 痛阈提高率=(药后痛阈均值-药前痛阈均值) $\div$ 药前痛阈均值 $\times 100\%$ ^[6]。

3 实验结果

3.1 除湿通痹方对二甲苯致小鼠耳廓肿胀的影响

表 1 结果显示: 与正常对照组比较, 除湿通痹方 III 组对小鼠耳肿胀有明显抑制作用, 差异有统计学意义($P<0.01$); 除湿通痹方 II 组、阳性对照组对小鼠耳肿胀有抑制作用, 差异有统计学意义($P<0.05$); 除湿通痹方 I 组与正常对照组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。与阳性组比较, 除湿通痹方 III 组对小鼠耳肿胀的抑制作用较显著($P<0.05$)。与除湿通痹方 II 组比较, 除湿通痹方 III 组对小鼠耳肿胀的抑制作用较显著($P<0.05$)。提示: 除湿通痹方 II 组、III 组对二甲苯致小鼠耳廓肿胀均有抑制作用, 且除湿通痹方 III 组的抑制作用较强。

表 1 除湿通痹方对二甲苯致小鼠耳廓肿胀的影响
($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	剂量 $/(g\cdot kg^{-1})$	耳片重量/mg		肿胀抑制 率/%
		左耳	右耳	
正常组	-	15.90 $\pm$ 4.37	28.60 $\pm$ 3.48	-
吡哌美辛组	0.02	17.20 $\pm$ 3.86	27.00 $\pm$ 3.87	28.48
痛 I 组	6	19.00 $\pm$ 4.48	30.00 $\pm$ 4.93	19.72
痛 II 组	12	18.20 $\pm$ 3.69	28.60 $\pm$ 3.45	24.10
痛 III 组	25	18.20 $\pm$ 2.79	25.40 $\pm$ 3.87	47.46

注: 与正常组比较, $^{\Delta}P<0.05$, $^{\Delta\Delta}P<0.01$; 与吡哌美辛组比较, $^*P<0.05$; 与痛 I 组比较, $^{\Delta}P<0.05$; 正常对照组简称为正常组; 除湿通痹方 I 组、II 组、III 组简称为痛 I 组、痛 II 组、痛 III 组。

3.2 除湿通痹方对小鼠腹腔毛细血管通透性的影响

表 2 结果显示: 与正常对照组比较, 各组对醋酸致小鼠腹腔毛细血管通透性增高均有抑制作用, 差异有统计学意义($P<0.01$); 与模型对照组比较, 吡哌美辛组、除湿通痹方 II 组、除湿通痹方 III 组对醋酸致小鼠腹腔毛细血管通透性增高均有抑制作用,

差异有统计学意义($P<0.01$)。提示:除湿通痹方Ⅱ组、Ⅲ组能显著抑制醋酸所致的小鼠腹腔毛细血管通透性增高,且呈剂量依赖性。

表 2 除湿通痹方对小鼠腹腔毛细血管通透性的影响
($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	吸光度	抑制率
正常组	—	0.3416±0.0672	—
模型组	—	0.8435 ±0.0757 ^{△△}	—
吡啶美辛组	0.02	0.5638±0.1040 ^{△△**}	33.36
痛Ⅰ组	6	0.8324±0.0640 ^{△△}	2.63
痛Ⅱ组	12	0.5838±0.0691 ^{△△**}	30.89
痛Ⅲ组	25	0.5435±0.0583 ^{△△**}	35.66

注:与正常组比较,^{△△} $P<0.01$,;与模型组比较,^{**} $P<0.01$;正常对照组简写为正常组;模型对照组简写为模型组;除湿通痹方Ⅰ组、Ⅱ组、Ⅲ组组简写为痛Ⅰ组、痛Ⅱ组、痛Ⅲ组

3.3 除湿通痹方对醋酸致小鼠扭体反应的影响

表 3 结果显示:与正常对照组比较,各组对醋

酸所致小鼠扭体模型均有镇痛作用,差异有统计学意义($P<0.01$)。提示:除湿通痹方Ⅰ组、Ⅱ组、Ⅲ组对醋酸所致小鼠扭体模型中有一定的镇痛作用,且呈剂量依赖性。

表 3 除湿通痹方对醋酸致小鼠扭体反应的影响($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	扭体次数/15min	抑制率
正常组	—	35.92±3.78	—
吡啶美辛组	0.02	13.24±3.30 ^{△△}	63.17
痛Ⅰ组	6	23.93±3.48 ^{△△}	33.40
痛Ⅱ组	12	23.25±3.53 ^{△△}	35.29
痛Ⅲ组	25	19.45±4.25 ^{△△}	45.87

注:与正常组比较,^{△△} $P<0.01$;正常对照组简写为正常组;除湿通痹方Ⅰ组、Ⅱ组、Ⅲ组组简写为痛Ⅰ组、痛Ⅱ组、痛Ⅲ组

3.4 除湿通痹方对热板法致小鼠疼痛的影响

表 4 结果显示:除湿通痹方Ⅱ组、Ⅲ组在给药后 30、60、90、120min 均能延长小鼠痛反应潜伏期,其痛阈提高率在 25%以上。

表 4 除湿通痹方对热板法致小鼠疼痛的影响($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	给药前痛阈/s	给药后不同时间痛阈提高率/%			
			30min	60min	90min	120min
正常组	—	20.44±2.61	—	—	—	—
盐酸吗啡组	0.01	21.24±2.16	57.05 ^{△△}	66.29 ^{△△}	86.69 ^{△△}	89.27 ^{△△}
痛Ⅰ组	6	20.88±3.13	8.48	10.88	25.25 [△]	26.32 [△]
痛Ⅱ组	12	21.48±1.97	25.01 [△]	39.14 ^{△△}	45.33 ^{△△}	47.08 ^{△△}
痛Ⅲ组	25	20.09±2.45	32.23 [△]	49.37 ^{△△}	54.23 ^{△△}	56.49 ^{△△}

注:与正常组比较,[△] $P<0.05$,^{△△} $P<0.01$;正常对照组简写为正常组;除湿通痹方Ⅰ组、Ⅱ组、Ⅲ组组简写为痛Ⅰ组、痛Ⅱ组、痛Ⅲ组

4 讨论

我院李雷教授从中西医结合的观点对急性痛风性关节炎作出分析,认为病因以肾虚为本,水湿、痰湿、湿浊、浊毒闭阻经络为标,气血运行失畅痹阻关节,不通则痛而发病。除湿通痹方主要由王不留行、萆薢、荆芥、防风、川芎、羌活、川木通、猪苓、泽泻、地龙、元胡、牛膝、桔梗、茯苓等药物组成。方中重用王不留行活血、行血、消肿止痛;萆薢利湿去浊,祛风除痹;川木通通利九窍血脉关节;茯苓、猪苓、泽泻益气利湿而泄肾浊;牛膝补肾通经;桔梗通利五脏;荆芥、防风胜湿止痛,止痉定搐;元胡、地龙、川芎,配伍益气行血药常用于气虚血瘀,经络不利;羌活,祛湿止痛。诸药合用共奏益气补肾、利湿降浊、除痹止痛,从而达到良好的治疗效果。

现代药理学研究表明:党晓芬^[7]研究表明:王不留行具有抗炎、镇痛作用;王长林等^[8]研究表明:荆

芥、防风具有解热、镇痛、抗炎等作用;金玉青等^[9]发现:川芎对神经系统有镇静、镇痛作用;羌活具有抗炎镇痛等作用;元胡具有解热镇痛作用;川木通具有利尿作用;姜萍等^[10]研究表明:茯苓利湿促进尿酸排泄,从而降低尿酸水平;陈光亮等^[11]研究表明:萆薢、牛膝含有的总皂苷能够抑制炎症细胞的激活、趋化、合成、释放;地龙提取物具有解热、抗炎、镇痛作用^[12];刘洪超等^[13]认为猪苓具有利尿、保护肾功能,防治肾功能衰竭等作用;李婷等^[14]研究表明:桔梗具有祛痰、抗炎、保肝、镇痛作用。按现代药理研究以上药物共达:利尿、抗炎、解热、镇痛、促尿酸排泄等作用。

除湿通痹方抗炎、镇痛的实验研究显示:除湿通痹方对小鼠耳肿胀有明显的抑制作用,且能显著抑制醋酸所致的小鼠腹腔毛细血管通透性增高;对醋酸所致小鼠扭体模型及热板实验中均有镇痛作

用。从中医的病因病机、现代的药理研究及抗炎镇痛的实验结果分析,三者是吻合的。

综上所述,除湿通痹方具有明显的抗炎、镇痛作用,可用于急性痛风性关节炎的临床治疗。

参考文献:

- [1] 王莎莎,沈鹰.痹证三方镇痛抗炎消肿作用的实验研究[J].四川中医,2012,30(10):38-41.
- [2] 陈奇.中药药理研究方法学[M].北京:人民卫生出版社,1996:34.
- [3] 李江,罗昱澜,童东锡,等.三叶青藤醇提物对小鼠腹腔毛细血管通透性的影响[J].华夏医学,2013,26(1):9-10.
- [4] 黄敬群,宋扬,赵鹏,等.槲皮素对急性痛风性关节炎的抗炎、镇痛实验研究[J].海峡药学,2013,25(7):64-67.
- [5] 刘文萍.三七总皂苷的抗炎镇痛作用及其配伍对CIA大鼠滑膜RANKL/OPG表达的影响[D].石家庄:河北医科大学,2014.
- [6] 向彬,杨杰,周春花,等.点地梅的抗炎镇痛作用研究[J].中国医药科学,2014,4(3):31-33.
- [7] 党晓芬.王不留行抗炎、镇痛活性部位筛选及其作用机制研究[D].西安:陕西师范大学,2014.
- [8] 王长林,王秀君,浦仕飞.荆芥与防风的药理作用试验研究[J].郑州牧业工程高等专科学校学报,2009,29(1):6-8.
- [9] 金玉青,洪远林,李建蕊,等.川芎的化学成分及药理作用研究进展[J].中药与临床,2013,4(3):44-48.
- [10] 姜萍,王占奎.清泻浊毒法对高尿酸血症大鼠尿量及尿酸水平的影响[J].世界中西医结合杂志,2013,8(6):605-607.
- [11] 陈光亮,吕红霞,王媛媛,等.草薢牛膝总皂苷对尿酸钠诱导的大鼠急性痛风性关节炎的防治作用[J].中药药理与临床,2010,26(1):34-37.
- [12] 王春玲.中药地龙的活性成分与药理作用研究[J].亚太传统医药,2015,11(7):53-54.
- [13] 刘洪超,杨小龙,王淑英.猪苓药理作用研究进展[J].河南科技大学学报(医学版),2011,29(2):159-160.
- [14] 李婷,徐文珊,李西文,等.中药桔梗的现代药理研究进展[J].中药药理与临床,2013,29(2):205-208.

(编辑:徐建平)

Effects of the Gout One Prescription on Anti-inflammatory in Rats with Acute Gouty Arthritis

WANG Tao¹, LIAO Jianglong¹, AI Yuanliang¹, XU Yanfei¹, QIU Famin², XU Ping²,
WEN Hui², HUANG Wenzhe², LI Lei¹

(1. Kunming Municipal Hospital of Traditional Chinese Medicine, Kunming 650011, China;

2. Yunnan University of Traditional Chinese Medicine, Kunming 650021, China)

ABSTRACT: **Objective** To investigate the anti-inflammatory and analgesic of the gout one prescription, and to improve the experimental evidence for clinical treatment of acute gout arthritis. **Methods** We need to prepare to ear swelling model of rats by xylene and the capillary permeability induced by acetic acid of rats, to observe the anti-inflammatory effect of the gout one prescription; the experimental pain model of rats induced by acetic acid and hot pate method was used to observe the analgesic effect of the gout one prescription. **Results** The effect of II group and III group of the gout one prescription on the ear swelling of rats was significantly inhibited ($P<0.05$, $P<0.01$); the increasing of the peritoneal capillary permeability in mice induced by acetic acid was significantly inhibited by II group and III group of the gout one prescription ($P<0.01$); the analgesic effect of I group, II group and III group of the gout one prescription on the mouse torsion model induced by acetic acid was significant ($P<0.01$), and the analgesic effect of I group, II group and III group of the gout one prescription has dosage dependence; 30minutes, 60minutes, 90minutes, 120 minutes after given by II group and III group of the gout one prescription, its incubation period of pain response in mice was prolonged ($P<0.05$, $P<0.01$), and the pain threshold was increased at a rate above 25%. **Conclusion** The gout one prescription has a demonstrable effect on anti-inflammatory and analgesic, and it can be used for the treatment of acute gout arthritis.

KEY WORDS: acute gouty arthritis; gout one prescription; anti-inflammatory; analgesic