

## 舒风宁痛胶囊药效学研究

王芳<sup>1</sup>, 张星<sup>1</sup>, 刘娟娟<sup>2</sup>, 王栋<sup>2</sup>, 王瑛<sup>3</sup>, 王琨<sup>3</sup>, 刘子冬<sup>1</sup>, 刘玉林<sup>1\*</sup>

(1. 第四军医大学基础部药品研发中心, 西安 710032;

2. 第四军医大学基础部药理教研室, 西安 710032; 3. 西安医学院, 西安 710032)

**[摘要]** **目的:**研究舒风宁痛胶囊对痛风症的药理作用。**方法:**以足跖注射 1% 的角叉菜胶造成大鼠足跖肿胀模型, 观察舒风宁痛胶囊 0.06, 0.018, 0.006 g·kg<sup>-1</sup> ig 7, 15 d 对足跖厚度的影响。饲料中加入 5% 的氧嗉酸钾和 1% 的尿酸, 15 g/只, 限量喂食 24 d 造成大鼠痛风性肾病模型, 观测给药 11, 24 d 血尿酸水平。采用热板法和扭体反应测定给药 7, 15 d 小鼠的痛阈, 小鼠剂量均为 0.1, 0.03, 0.01 g·kg<sup>-1</sup>。用酵母诱导出小鼠高尿酸血症, 测定给药 15 d 血尿酸水平。**结果:**舒风宁痛胶囊高量 0.06, 0.018 g·kg<sup>-1</sup> 用药 7~15 d 后可显著对抗角叉菜胶诱发的大鼠足跖炎性肿胀。0.1, 0.03 g·kg<sup>-1</sup> 对小鼠具有显著的镇痛作用。舒风宁痛胶囊 0.06, 0.018 g·kg<sup>-1</sup> 11, 24 d 可显著对抗氧嗉酸钾诱发的大鼠高尿酸血症的血尿酸的水平, 0.1, 0.03 g·kg<sup>-1</sup> 用药 15 d 可显著对抗酵母膏诱发的小鼠高尿酸血症的血尿酸的水平。**结论:**舒风宁痛胶囊对痛风有良好的治疗作用。

**[关键词]** 舒风宁痛胶囊; 痛阈; 高尿酸血; 足跖肿胀; 痛风性肾病

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)12-0231-04

**[doi]** 10.11653/syfy2013120231

## Pharmacodynamics Study on Shufeng Ningtong Capsule

WANG Fang<sup>1</sup>, ZHANG Xing<sup>1</sup>, LIU Juan-juan<sup>2</sup>, WANG Dong<sup>2</sup>, WANG Ying<sup>3</sup>,  
WANG Kun<sup>3</sup>, LIU Zi-dong<sup>1</sup>, LIU Yu-lin<sup>1\*</sup>

(1. Drug Development Center, the Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China;

2. Department of Pharmacology, the Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China;

3. Xi'an Medical College, Xi'an 710032, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study pharmacological effect of Shufeng Ningtong capsule (SNC) on gout. **Method:** Rat paw edema model was induced by injection of 1% carrageenan in footpad. SNC of 0.06, 0.018, 0.006 g·kg<sup>-1</sup> (ig 7, 15 d) was given to the model rats, and effect on paw thickness was investigated and analyzed. Gouty nephropathy model in rat was established by adding 5% oxonic acid potassium and uric acid 1% (15 g each rat) in the limited feed for 24 d. Mouse model of hyperuricemia was induced by yeast. Blood uric acid level was monitored at 11 d and 24 d. Pain threshold at 7, 15 d in mice was determined by using hot plate method and writhing reaction. SNC dose in mice were 0.1, 0.03, 0.01 g·kg<sup>-1</sup>. **Result:** Rat footpad swelling induced by carrageenan was antagonized by SNC (0.06, 0.018 g·kg<sup>-1</sup>) after 7-15 d. SNC (0.1, 0.03 g·kg<sup>-1</sup>) showed significant analgesic effect in mice. SNC (0.06, 0.018 g·kg<sup>-1</sup>, 11, 24 d) could significantly inhibit oxonic acid potassium induced rat hyperuricemia uric acid level. SNC (0.1, 0.03 g·kg<sup>-1</sup>, 15 d) could significantly decrease hyperuricemia uric acid in mouse model induced by yeast. **Conclusion:** SNC has good therapeutic effect on gout.

**[Key words]** Shufeng Ningtong capsule; pain threshold; hyperuricemia; plantar swelling; gouty nephropathy

**[收稿日期]** 20120917(535)

**[第一作者]** 王芳, 硕士, 助教, 从事新药研发工作, Tel:13572157407, E-mail:wangfang3463704@163.com

**[通讯作者]** \* 刘玉林, 硕士, 副教授, 从事新药研发与应用, Tel:13572017753, E-mail: ypyjzx776697@163.com

痛风是尿酸二氢钠 (monosodium urate, MSU) 晶体沉积于关节内引起的一种急性炎症性关节炎。在出现关节疼痛之前部分患者可出现痛风结节<sup>[1-2]</sup>。据估计,在发达国家成人患病率为 1% ~ 2%,在年龄 > 65 岁的人群中,男性发病率甚至提高到了 8%,女性为 3% 左右。除了关节损害外,痛风常伴有其他症状,因为在许多组织中都可形成痛风结节。西方人群发病率为 10% ~ 20%,大多数患者可终身无症状<sup>[3]</sup>,只有少数发展为痛风(尿酸  $\geq 0.54 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  者每年的发病率 < 5%;  $0.42 \sim 0.54 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  者每年的发病率约 0.5%; <  $0.42 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  者每年的发病率为 0.1%)<sup>[4]</sup>。

舒风宁痛胶囊是第四军医大学研制的军队内部制剂。由藏红花等 9 味中药组成,主要具有祛风除湿、活血通络、消肿止痛的作用。本处方采用部分打粉,部分用适合溶剂提取有效成分的方法制备,既不破坏有效成分,也可以保证最大程度发挥效用。在临床应用多年,具有很好疗效。现对舒风宁痛胶囊的药效学进行研究。

### 1 材料

**1.1 动物** 雄性 SD 大鼠,200 ~ 220 g[第四军医大学实验动物中心,合格证号 SCXK(军)2007-007 号]。昆明种小鼠,18 ~ 22 g[第四军医大学实验动物中心,合格证号 SCXK(军)2007-007 号]。

**1.2 药物与试剂** 舒风宁痛胶囊(第四军医大学药品研发中心,批号 20110109),尿酸(Sigma 公司),角叉菜胶(Sigma 公司,批号 061218);氧嗪酸钾[乐陈(上海)化工科技有限公司,批号

05901TE];尿酸试剂盒(磷钨酸法,南京建成生物工程研究所,批号 D091203),酵母膏(北京奥博星生物技术责任有限公司,批号 046K0668),吡哆美辛(山西云鹏制药有限公司,批号 00041),秋水仙碱(北京红惠生物制药股份有限公司,批号 100911)。

**1.3 仪器** PB203-N 电子天平(日本 Nikon 公司),DT-2000 型电子天平(常熟市衡器厂),J2-MC 超速低温离心机(美国 Beckman 公司),TD5A-WS 台式低速离心机(湖南赛特湘仪离心机仪器有限公司),游标卡尺(哈尔滨量具刃具厂),DU800 分光光度计(美国 Beckman 公司)。

### 2 方法与结果

#### 2.1 对角叉菜胶所致大鼠足跖肿胀模型的影响<sup>[5]</sup>

25 只 SD 雄性大鼠随机分成 5 组:舒风宁痛胶囊高、中、低剂量组( $0.06, 0.018, 0.006 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ),吡哆美辛组( $0.03 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ),模型组(等量自来水)。ig,1 次/d。连续 15 d。分别在 7,15 d 将 1% 角叉菜胶溶液 0.1 mL sc 大鼠右后足跖,用游标卡尺分别测定注射前、注射后 1.5,3,6 h 足跖厚度。用致炎前后足跖厚度的差值作为各时段足跖肿胀度。

统计学处理数据分析采用 SPSS 13.0 软件,实验数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较用 *t* 检验, $P < 0.05$  有统计学意义(以下实验均同)。

各剂量组对角叉菜胶所致大鼠足跖肿胀有抑制作用。给药 7 d 时高、中剂量各检测时点抑制作用明显,给药 15 d 时,高、中剂量各时点及低剂量 1.5 h 作用明显。与模型组比较差异显著( $P < 0.05$ ),见表 1。

表 1 舒风宁痛胶囊给药 7,15 d 对大鼠角叉菜胶致足肿胀的影响( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

组别	剂量 $/\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	7 d			15 d			mm
		1.5 h	3 h	6 h	1.5 h	3 h	6 h	
模型	-	1.20 ± 0.13	1.62 ± 0.13	1.24 ± 0.19	0.84 ± 0.19	1.10 ± 0.11	0.82 ± 0.13	
吡哆美辛	0.03	1.01 ± 0.14 <sup>1)</sup>	1.22 ± 0.2 <sup>1)</sup>	0.74 ± 0.10 <sup>1)</sup>	0.46 ± 0.12 <sup>1)</sup>	0.79 ± 0.22 <sup>1)</sup>	0.19 ± 0.08 <sup>1)</sup>	
舒风宁痛胶囊	0.060	0.66 ± 0.25 <sup>1)</sup>	0.85 ± 0.19 <sup>1)</sup>	0.44 ± 0.13 <sup>1)</sup>	0.40 ± 0.13 <sup>1)</sup>	0.64 ± 0.10 <sup>1)</sup>	0.13 ± 0.11 <sup>1)</sup>	
	0.018	0.86 ± 0.17 <sup>1)</sup>	1.05 ± 0.13 <sup>1)</sup>	0.57 ± 0.07 <sup>1)</sup>	0.52 ± 0.11 <sup>1)</sup>	0.86 ± 0.15 <sup>1)</sup>	0.21 ± 0.05 <sup>1)</sup>	
	0.006	1.26 ± 0.1	1.58 ± 0.13	1.24 ± 0.12	0.64 ± 0.09 <sup>1)</sup>	1.09 ± 0.12	0.81 ± 0.13	

注:与模型组比较<sup>1)</sup> $P < 0.05$ (表 2 ~ 5 同)。

**2.2 对痛风性肾病大鼠模型的影响<sup>[6]</sup>** 30 只 SD 雄性大鼠随机分成 6 组:舒风宁痛胶囊高、中、低剂量同 2.1,秋水仙碱组( $0.7 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ),模型组(等量自来水),空白对照组(正常饲养)。ig,1 次/d(除空白对照外)喂食自制的饲料(普通饲料中加入 5% 的氧嗪酸钾和 1% 的尿酸),15 g/只,连续喂

养 24 d。分别于 11,24 d 剪尾取血测血清尿酸水平。

舒风宁痛胶囊各剂量组对尿酸和氧嗪酸钾所致大鼠痛风模型的血清尿酸有抑制作用。高、中剂量抑制作用明显,与模型组比较差异显著( $P < 0.05$ ),见表 2。

表2 舒风宁痛胶囊给药 11,24 d 后对痛风性关节炎大鼠模型血尿酸的影响( $\bar{x} \pm s, n=5$ )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	血尿酸/mg·L <sup>-1</sup>	
		11 d	24 d
空白对照	-	220.05 ± 28.6	212.16 ± 33.0
模型	-	1 160.34 ± 156.3	1 064.02 ± 174.6
秋水仙碱	7 × 10 <sup>-4</sup>	734.82 ± 52.0 <sup>1)</sup>	589.00 ± 101.7 <sup>1)</sup>
舒风宁痛胶囊	0.060	660.93 ± 76.1 <sup>1)</sup>	429.64 ± 139.9 <sup>1)</sup>
	0.018	794.21 ± 54.6 <sup>1)</sup>	569.15 ± 60.93 <sup>1)</sup>
	0.006	997.66 ± 75.8	787.82 ± 86.8

## 2.3 舒风宁痛胶囊对小鼠疼痛的影响<sup>[6-7]</sup>

**2.3.1 扭体法** 昆明种小鼠 50 只,雌雄各半,体重 18~22 g,随机分为 5 组,每组 10 只,舒风宁痛胶

囊分别以 0.1, 0.03, 0.01 g·kg<sup>-1</sup> ig, 吲哚美辛 (0.04 g·kg<sup>-1</sup>), 模型组(等容量蒸馏水), ig, 1 次/d, 连续 15 d。在用药 7, 15 d, 给药 30 min 后, 各组小鼠 ip 0.6% 醋酸溶液 (20 mL·kg<sup>-1</sup>), 观察小鼠在 30 min 内的扭体次数。结果表明舒风宁痛胶囊高、中剂量有显著的镇痛作用 ( $P < 0.05$ )。见表 3。

**2.3.2 热板法** 筛选合格的昆明种雌性小鼠 50 只随机分为 5 组, 分组、剂量、疗程同 2.3.1。在用药 7, 15 d 给药后 1 h, 将小鼠放进热的烧杯内(烧杯置于恒温水浴 55 ± 1 °C); 并立即计时, 记录小鼠自放入烧杯至舔后足所需的时间作为该鼠的痛阈, 舒风宁痛胶囊高、中剂量有显著的镇痛作用 ( $P < 0.05$ )。见表 4。

表3 舒风宁痛胶囊给药 7,15 d 后对小鼠疼痛的影响(扭体法)( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	7 d		15 d	
		扭体数/次	镇痛率/%	扭体数/次	镇痛率/%
模型	-	40.57 ± 3.51	-	40.57 ± 4.89	-
吲哚美辛	0.04	23.66 ± 5.60 <sup>1)</sup>	41.75	23.44 ± 6.11 <sup>1)</sup>	41.16
舒风宁痛胶囊	0.10	23.75 ± 3.06 <sup>1)</sup>	41.46	22.75 ± 2.31 <sup>1)</sup>	43.92
	0.03	29.57 ± 3.95 <sup>1)</sup>	27.11	28.29 ± 1.38 <sup>1)</sup>	30.28
	0.01	31.13 ± 4.55	23.28	35.50 ± 3.74	12.50

表4 舒风宁痛胶囊给药 7,15 d 后对小鼠疼痛的影响(热板法)( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	7 d		15 d	
		痛阈/s	痛阈提高率/%	痛阈/s	痛阈提高率/%
模型	-	16.00 ± 3.11	-	17.43 ± 1.51	-
吲哚美辛	0.04	35.81 ± 4.23 <sup>1)</sup>	78.92	36.65 ± 6.19 <sup>1)</sup>	79.20
舒风宁痛胶囊	0.10	27.13 ± 5.96 <sup>1)</sup>	69.50	29.38 ± 4.21 <sup>1)</sup>	60.07
	0.03	21.88 ± 3.58 <sup>1)</sup>	36.72	24.43 ± 2.44 <sup>1)</sup>	40.16
	0.01	19.86 ± 3.36	24.10	22.25 ± 2.76	18.19

**2.4 对酵母诱导高尿酸血症小鼠血尿酸水平的影响<sup>[8-9]</sup>** 昆明种小鼠 60 只,雌雄各半,体重 18~22 g,随机分 6 组,每组 10 只,除增加正常组外,其余分组剂量均同 2.3.2; 正常组和模型组给予等容量的蒸馏水,阳性对照组给予吲哚美辛 (0.4 mg·kg<sup>-1</sup>), 1 次/d, 连续 15 d。末次给药后 1 h 取血测血尿酸, 取血后, 除正常组外, 其余 ig 15 g·kg<sup>-1</sup> 的酵母膏, 灌服后 1 h, 各组动物摘眼球取血, 3 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 15 min, 取血清测血尿酸。结果表明舒风宁痛胶囊 0.03, 0.10 g·kg<sup>-1</sup> 用药 15 d 后可显著对抗酵母膏诱发的小鼠高尿酸血症的血尿酸水平 ( $P < 0.05$ )。见表 5。

表5 舒风宁痛胶囊给药 15 d 对高尿酸血症小鼠血尿酸的影响( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	尿酸/mg·L <sup>-1</sup>
正常	-	-
模型	-	40.27 ± 7.83
吲哚美辛	0.04	23.75 ± 3.76 <sup>1)</sup>
舒风宁痛胶囊	0.10	28.82 ± 5.84 <sup>1)</sup>
	0.03	35.66 ± 8.12 <sup>1)</sup>
	0.01	47.12 ± 4.48

## 3 小结

**3.1 舒风宁痛胶囊 0.018, 0.06 g·kg<sup>-1</sup>, ig, 7, 14 d**

# 基于 MDCK 细胞单层的药物早期肾毒性检测初探

郝然<sup>1</sup>, 刘婷<sup>1\*</sup>, 王毅<sup>2</sup>, 胡剑江<sup>2</sup>, 曹春雨<sup>1</sup>, 回连强<sup>1</sup>, 张毅<sup>1</sup>

(1. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700; 2. 中国中医科学院医学实验中心, 北京 100700)

**[摘要]** 目的:初步探索基于犬肾小管上皮细胞(Madin-Darby canine kidney, MDCK)细胞单层的药物早期肾毒性检测方法。方法:将 MDCK 细胞培养于微孔滤膜上,待其形成完整的细胞单层。通过 MTT 试验分别选择对 MDCK 细胞没有明显抑制及具有明显抑制的不同质量浓度作用于细胞单层,24 h 后进行荧光素钠透过性试验以及细胞单层两侧分泌的碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)、 $\gamma$ -谷氨酰转肽酶( $\gamma$ -glutamyl transpeptidase,  $\gamma$ -GT)和乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)活性检测,同时用扫描电镜观察细胞单层结构。结果:选择 3.13, 6.25, 12.5 mg·L<sup>-1</sup> 3 种质量浓度的马兜铃酸(aristolochic acid, AA)进行毒性检测,其对 MDCK 细胞生长的抑制率分别为-0.93%, 0.93% 和 24.30%。AA 3.13 mg·L<sup>-1</sup> 没有对细胞单层的完整性造成破坏,荧光素钠不能透过细胞单层,而 AA 6.25, 12.5 mg·L<sup>-1</sup> 在与细胞作用 30 min 后,能明显增加荧光素钠的透过( $P < 0.05$ ,  $P < 0.1$ ),其中 12.5 mg·L<sup>-1</sup> 造成的荧光素钠透过率增加更多。各组细胞单层两侧 ALP,  $\gamma$ -GT 的分泌没有明显改变,但 12.5 mg·L<sup>-1</sup> 能使 LDH 的分泌显著增加( $P < 0.05$ )。扫描电镜观察显示,AA 6.25, 12.5 mg·L<sup>-1</sup> 组细胞单层结构被破坏,表面出现大量小球状物体,细胞单层破损而变得不完整,有不同程度的微孔滤膜露出。结论:基于 MDCK 细胞单层,在 AA 对细胞生长没有明显抑制的浓度(6.25 mg·L<sup>-1</sup>),可以检测到药物对细胞的毒性损伤,提示建立在微孔滤膜上的 MDCK 细胞单层体系可以用于药物肾毒性的早期检测。

**[关键词]** MDCK 细胞; 药物肾毒性; 早期检测

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)12-0234-05

**[doi]** 10.11653/syfy2013120234

**[收稿日期]** 20121227(671)

**[基金项目]** 中国中医科学院自主选题项目(ZZ2006111)

**[第一作者]** 郝然,助理研究员,博士,从事中药药理、毒理工作, Tel:010-84252805-2231, E-mail:jessicahao2003@yahoo.com.cn

**[通讯作者]** \* 刘婷,副研究员,硕士,从事中药药理、毒理工作, Tel:010-84252805-2231, E-mail:ltbit@163.com

可显著对抗角叉菜胶诱发的大鼠足跖炎性肿胀。

**3.2 舒风宁痛胶囊** 0.03, 0.1 g·kg<sup>-1</sup>, ig, 7, 15 d 有显著的镇痛作用。

**3.3 舒风宁痛胶囊** 0.018, 0.06 g·kg<sup>-1</sup>, ig, 7, 15 d 可显著对抗氧嗉酸钾诱发的大鼠鼠高尿酸血症的血尿酸的水平。0.03, 0.1 g·kg<sup>-1</sup>, ig, 15 d 可显著对抗酵母膏诱发的小鼠高尿酸血症的血尿酸水平。

## [参考文献]

- [1] Lopez Redondo M J, Requena L, Macia M, et al. Fingertophi without gouty arthritis[J]. *Dermatology*, 1993, 187(2):140.
- [2] Holingworth P, ScoR J T, Burry H C. Nonarticular gout; hyperuricemia and tophus formation with out gouty arthritis[J]. *Arthritis Rheum*, 1983, 26(1):98.
- [3] Edwards N L. The role of hyperuricemia and gout in kidney and cardiovascular disease[J]. *Cleve Clin J Med*, 2008, 75 (Suppl 5):S13.

- [4] Campion E W, Glynn R J, DeLabry L O, et al. Asymptomatic hyperuricemia. Risks and consequences in the normative aging study [J]. *Am J Med*, 1987, 82(3):421.
- [5] 刘其林, 何欢, 赵士彦, 等. 痛风灵抗炎、镇痛、抗痛风作用研究[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2009, 2(2):74.
- [6] 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学[M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社, 2002:202, 882, 905.
- [7] 陈小野, 张宇鹏, 蒋小丽, 等. 热板法、醋酸扭体法疼痛模型寒、热属性的初步研究[J]. *浙江中医学院学报*, 2005, 29(4):68.
- [8] 徐立, 时乐. 灌服与喂饲次黄嘌呤复制大鼠持续性高尿酸血症模型方法初探[J]. *中国药理学通报*, 2008, 24(12):1671.
- [9] 徐立, 时乐, 仲文欣. 尿酸酶抑制剂在大鼠急性高尿酸血症模型复制中的应用[J]. *中国比较医学杂志*, 2007, 17(3):142.

[责任编辑 何伟]