

三妙丸抗急性痛风关节炎配伍机制研究*

刘琰琰, 潘红英, 时 乐, 徐 立, 尹 莲**

(南京中医药大学药学院 南京 210046)

摘 要 :目的 :探讨三妙丸中二妙丸配伍牛膝的合理性。方法 :首次采用高尿酸血症致尿酸盐结晶沉积于关节的急性痛风关节炎大鼠模型,观察三妙及缺牛膝三妙丸对血尿酸值、炎症因子 IL-1 β 和 IL-6 及关节病理组织的影响 ;HPLC-ESI-MS/MS 分析给药模型大鼠血清和关节中移行成分及其离子峰强度的相对变化。结果 :三妙及缺牛膝三妙丸均有显著的抗急性痛风炎症及降血尿酸作用,而三妙丸抑制痛风大鼠足肿胀、保护关节组织的炎症损伤及抑制炎症因子 IL-1 β 水平优于缺牛膝三妙丸 ;三妙及缺牛膝三妙丸给药血清均检测出 5 个移行成分,关节中 1 个移行成分,其中 2 个为黄柏生物碱代谢物、2 个为苍术糖苷类成分代谢物,且三妙方血清及关节中移行成分离子强度均高于缺牛膝三妙方。结论 :牛膝有促进二妙丸中黄柏生物碱及苍术倍半类成分在血液及关节中的分布,增强抗急性痛风关节炎药作用。

关键词 :三妙丸 缺牛膝三妙丸(二妙丸) 急性痛风 HPLC-ESI-MS/MS 体内移行成分

doi: 10.11842/wst.2014.05.009 中图分类号 :R285.5 文献标识码 :A

三妙丸出自《医学正传》,由二妙配伍牛膝制成,是专治下焦湿热痹证的经典方。其中,二妙丸引自《医学纲目》朱震亨方,由黄柏、苍术二药组成,苍术苦温燥湿,黄柏苦寒,入下焦而祛湿热毒邪,是治疗下焦湿热的经典方^[1]。朱丹溪有云:“牛膝,能引诸药下行,筋骨痛风在下者,宜加用之。”^[2]临床治疗下焦疾病常用牛膝引药下行。痛风性关节炎是由于长期嘌呤代谢障碍,血尿酸增高,导致尿酸结晶沉积在关节及皮下组织所致的炎症,急性发作的病因是湿热内盛,下注关节经络,气血壅滞不畅,关节红肿热痛,与湿热痹证相似,故痛风急性期为湿热型痛风。二妙配伍牛膝后(三妙丸)具有清热、利湿、活血的功效,针对了痛风急性期的病理特征,临床常用三妙丸治疗急性痛风。

三妙及缺牛膝三妙方(二妙方)对高尿酸血症小鼠有显著的降血尿酸作用,对二甲苯致小鼠耳肿

胀有显著的抑制作用,且三妙方强于二妙^[3]。两者抗痛风有效部位群指纹图谱比较显示:二妙丸中苍术挥发油、黄柏生物碱成分配伍牛膝后(三妙丸)相对含量减少^[4],并与二妙、三妙的功效^[5]相关。但二妙、三妙方有效部位群指纹图谱效应成分变化复杂,牛膝配伍二妙后如何改变二妙抗急性痛风作用特征及其效应成分的影响尚不清楚,故不能科学的阐明三妙丸中二妙配伍牛膝治疗湿热型痛风的合理性。

因此,本文以湿热型痛风(急性痛风动物模型)为作用对象、三妙丸为干预措施,研究二妙丸与牛膝配伍前后抗急性痛风效应及体内成分的分布变化特征,阐明三妙方中二妙与牛膝的配伍机制。

1 仪器与试药

1.1 药材

黄柏为芸香科植物黄皮树 *Phellodendri chinensis* Schneid. (川黄柏) 的干燥树皮(四川,批号:090918);苍术是菊科植物北苍术 *Atractylodes chi-*

收稿日期:2013-09-18

修回日期:2013-10-15

* 江苏省科技厅自然科学基金面上项目(BK2002033):抗痛风加味四妙丸有效部位筛选及有效部位群研究,负责人:尹莲;江苏省方剂研究重点实验室开放项目(02202104010):二妙丸类方物质基础与生物效应关联研究,负责人:尹莲。

** 通讯作者:尹莲,教授,硕士生导师,主要研究方向:中药复方化学研究。

nensis (DC.) Koidz. 的干燥根茎 (内蒙, 批号: 120809); 牛膝为苋科植物牛膝 *Achyranthis bidinata* Bl. 的根 (河南, 批号: 2090918)。3 味药均自购, 由南京中医药大学药学院中药鉴定教研室吴德康教授鉴定。

1.2 药品与试剂

氧嗪酸钾 (Uricase Inhibitor, UI, Sigma-aldrich 公司), 次黄嘌呤 (Hypoxanthine, HX, 南京鼎润生物技术有限公司), 液体石蜡 (上海久亿化学试剂有限公司, 批号: 20120905), 羊毛脂 (国药集团化学试剂有限公司, 批号: 20120229), 尿酸 (Uric Acid, UA) 试剂盒 (上海复兴长征医学科学有限公司, 批号: D1208011), 甲醛 (汕头市西陇化工厂有限公司, 批号: 1208302), 水合氯醛 (国药集团化学试剂有限公司, 批号: 20120316), IL-1 β 放免试剂盒 (上海依科赛生物制品有限公司, 批号: ER008-96), IL-6 放免试剂盒 (上海依科赛生物制品有限公司, 批号: ER003-96), 甲酸为光谱纯 (美国默克公司), 甲醇为色谱纯 (美国默克公司), 水为去离子超纯水, 其余试剂均为分析纯。

1.3 仪器

LC-20A 型快速液相色谱仪配有在线脱气机、二元、高性能自动进样器和二极管阵列检测器 (日本岛津公司), 高分辨质谱检测系统: AB SCIEX Triple TOFTM 5600, 配有电喷雾离子源 (ESI)、Analyst1.6 色谱工作站和 Peak View 等质谱分析软件 (美国 AB Science), LABCONCO Acid Resistant Centrifuge Concentrator (美国 LANCONCO), Eppendorf cenerifuge 5417R 冷冻离心机 (BECKMAN COULTER 公司), XHF-D 高速分散器 (宁波新芝生物科技股份有限公司), 日立 7020 全自动生化分析仪 (日立仪器有限公司)。

1.4 实验动物

清洁级 SD 大鼠 60 只, 体质量 280 ± 20 g, 雄性, 由南通大学实验动物中心提供, 许可证号为: SCXK (苏) 2008-0010。

2 方法

2.1 样品制备

分别称取 2 份黄柏、2 份苍术、1 份牛膝, 粉碎, 组合成二妙方、三妙方, 10 倍量 95% 乙醇回流提取两次, 再用 8 倍量 60% 乙醇回流提取两次, 提取液减压回收, 即得三妙方提取物 (2.5 g 生药/mL)、二

妙方提取物 (1.7 g 生药/mL)。

2.2 急性痛风关节炎大鼠模型

大鼠编号, 称重, 随机分为空白组 (10 只)、模型组 (50 只), 禁食 24 h 后, 空白组喂饲普通饲料, 模型组喂饲自制含次黄嘌呤饲料 (每 1 kg 饲料含 100 g 次黄嘌呤)。次日早晨 8:00, 使用足容积测定仪测量各组大鼠后肢足底向上 2 cm (包括踝关节在内) 总容积, 给模型组大鼠备皮, 消毒, 皮下注射 $1 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 尿酸酶抑制剂, 每隔 48 h 注射 1 次。从造模的第 1 天开始直到造模结束, 每天记录大鼠的体重及摄食量, 并将模型组动物放入冷水中进行力竭游泳, 直至观察到大鼠后肢出现肿胀, 作为急性痛风关节炎模型成功的标志。

2.3 抗急性痛风药效实验

将造模成功的 30 只痛风关节炎模型大鼠分为模型组、二妙方组、三妙方组, 每组各 10 只, 连续给药 4 天, 给药过程中每组损失 2 只, 各组给药量均为 $12 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ (相当于临床等效量的 4 倍, 即二妙组 20 g 生药/kg, 三妙组给药量 30 g 生药/kg), 于最后一次给药后 30 min, 测量各组大鼠双侧后肢足底向上 2 cm (包括踝关节在内) 总容积。将各组大鼠以 10% 水合氯醛 ($30 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$) 麻醉, 颈总取血 5 mL, 37°C 水浴 15 min, 3 500 rpm 离心 10 min, 吸取上清液, 用于液质分析。剩余血液置 37°C 水浴 20 min, 3 500 rpm 离心 10 min, 取血清, 备用, 用于血尿酸、炎症因子等指标的检测。从大鼠右侧踝关节 1 cm 处剪下后足组织, 作为关节样品。取左侧踝关节, 10% 甲醛溶液固定, 经 15% EDTA 脱钙后, 常规取材, 脱水, 石蜡包埋, 切片厚 $4 \mu\text{m}$, HE 染色, 光学显微镜下观察组织病理变化。

2.4 血清样品预处理

吸取 5 mL 含药血清, 加入 3 倍量甲醇, 自动涡旋混合器充分混旋振荡 1 min 左右, 1 000 rpm 离心 10 min, 吸取上清液, 用离心浓缩仪浓缩至干, 再分别用 0.1 mL 色谱纯甲醇充分溶解样品, 1 000 rpm 离心 10 min, 吸取上清液, 备用。

2.5 关节样品预处理

关节剥去外皮, 将关节腔打开, 用 0.1 mL 生理盐水进行冲洗, 取得关节腔液。再将关节组织及其周围肌肉剪碎, 加 10 mL 80% 甲醇匀浆, 取上清液合并关节腔洗脱液用离心浓缩仪浓缩至干, 再分别用 0.1 mL 色谱纯甲醇充分溶解样品, 1 000 rpm 离

心 10 min, 吸取上清液, 备用。

2.6 HPLC-ESI-MS/MS 色谱条件

色谱条件: Thermo ODS-2HYPERASIL 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μ m); 流动相: 甲醇 (A)-0.5% 甲酸 (B), 梯度洗脱: 30~60 min (10% A~45% A); 流速为 0.8 mL·min⁻¹; 进样 10 μ L。质谱条件: 扫描方式为正负离子扫描; 雾化气 (GS1): 55 psi; 辅助加热气 (GS2): 55 psi; 气帘气 (Gurtain Gas): 40 psi; 离子化温度 (TEM): 550℃; 碰撞能量 (CE): 10 V; 毛细管电压 (ISVF): 5 500 V; 去簇电压 (DP): 60 V; 扫描范围: m/z 50~1 000。

2.7 统计分析

采用 SPSS 15.0 统计软件, 进行多因素方差分析和 SNK 检验, 实验结果数据以 ($\bar{x} \pm s$) 表示。

3 结果

3.1 血清和关节图谱中移行成分分析

比较模型组、二妙丸组和三妙丸组样品血清、关节正负离子流图, 以正离子扫描信息量大, HPLC-ESI-MS 正离子扫描总离子流图见图 1、2。同模型组相比, 给药样品血清中有 5 个移行成分, 关节中有 1 个移行成分。

3.1.1 移行成分的指认

1 号峰在血清和关节中均存在, 其分子离子峰 $[M+H]^+$ 为 462, 碎片离子峰 m/z 286 为 $[M-CH_2-glc+H]^+$ 、 m/z 255 为 $[M-CH_2-glc-CH_3-OH]^+$ 、 m/z 107 为苜基离子峰。根据分子量比对、文献^[5]及主要碎片峰解析, 1 号峰为黄柏生物碱 1-(对羟基苜基)-6,7-二羟基-N-甲基异喹啉-7-O-葡萄糖苷的甲基化衍生物; 2 号峰分子离子峰 $[M+H]^+$ 为 443。主要碎片离子峰 m/z 267 为 $[M+H-葡萄糖醛酸]^+$, 与苍术 Atractylenolide IV 分子离子峰 $[M+H]^+$ ^[6] 相同, m/z 267 失去一个 H₂O 得到碎片峰 m/z 249, 再脱去 CO 形成碎片峰 m/z 203, 依据苍术糖苷类成分裂解规律^[7]、主要碎片峰解析及分子量比对, 推测 2 号峰为苍术糖苷类成分 Atractylenolide IV 的葡萄糖醛酸化物; 3 号峰分子离子峰 $[M+H]^+$ 为 500, 主要碎片峰 m/z 324 为 $[M+H-葡萄糖醛酸]^+$, m/z 309 为 $[M+H-葡萄糖醛酸-CH_3]^+$, 根据文献^[8]推断 3 号峰为黄柏生物碱 Demethyleneberberine 葡萄糖醛酸化物; 5 号峰分子离子峰 $[M+H]^+$ 为 259, 主要碎片离子峰 m/z 165、121 是愈创木烷类化合物 RDA 裂解的特征碎

片峰^[9], 三妙组方药中仅苍术含愈创木烷类成分^[10], 因此推断 5 号峰为来源于苍术的倍半萜类成分; 4 号峰分子离子峰 $[M+H]^+$ 为 555, 碎片离子峰 m/z 379 是 $[M+H-葡萄糖醛酸]^+$, 为糖苷类成分, 因碎片峰信息少, 未明确结构及来源。初步分析表明, 二妙、三妙丸给药样品有 5 个体内移行成分, 2 个来源于黄柏生物碱、2 个来源于苍术倍半萜类成分。

3.1.2 色谱峰离子强度比较

为比较三妙与缺牛膝三妙在急性痛风关节炎大鼠模型中体内移行成分的分布特征, 5 个体内移行成分在血清及关节的峰离子强度见表 1。结果表明, 三妙方中 5 个血清移行成分、关节中来源于黄柏的 1 号峰, 离子强度均高于缺牛膝三妙丸。

3.2 抗痛风药效实验

3.2.1 对急性痛风炎症的影响

与空白组相比, 模型组大鼠足容积、IL-1 β 、IL-6 水平显著升高 ($P<0.01$)。与模型组比较, 三妙丸组能显著减小急性痛风关节炎大鼠左后足、右后足肿胀 ($P<0.05$), 降低急性痛风关节炎大鼠 IL-1 β 水平 ($P<0.01$), 且优于缺牛膝三妙组; 三妙组及缺牛膝三妙组均能降低急性痛风关节炎大鼠炎症 IL-6 水平 ($P<0.01$)。结果表明, 三妙组对急性痛风关节炎大鼠的抗炎作用优于缺牛膝三妙。见表 2。

3.2.2 对血尿酸水平的影响

与空白组相比, 模型组大鼠血清尿酸水平显著升高 ($P<0.01$)。与模型组比较, 缺牛膝三妙丸组、三妙丸组能明显降低血尿酸水平 ($P<0.05$), 但两组间无显著差异。见表 3。

3.2.3 对关节病理组织的影响

空白组踝关节无明显肿胀, 滑膜完整, 细胞排列整齐, 滑膜无增生, 无充血水肿, 无炎细胞浸润, 关节腔内无积液, 关节软骨完整, 无破坏 (图 3A)。模型组大鼠均出现关节肿胀, 滑膜内血管扩张充血明显, 伴有少量的炎细胞 (淋巴细胞、浆细胞、巨噬细胞) 浸润 (图 3B)。与模型组相比, 缺牛膝三妙组 40% 大鼠踝关节恢复正常, 其余动物关节损伤均有减轻, 未完全恢复正常的动物关节表现为滑膜内血管轻度至中度扩张充血, 少量炎性渗出, 少许淋巴细胞和中性粒细胞浸润, 周围软组织血管扩张充血 (图 3C)。与模型组相比, 三妙组 60% 大鼠关节恢复正常, 其余动物关节损伤均有减轻, 未完全恢复正常的动物关节表现为滑膜内血管轻扩张充血, 少许

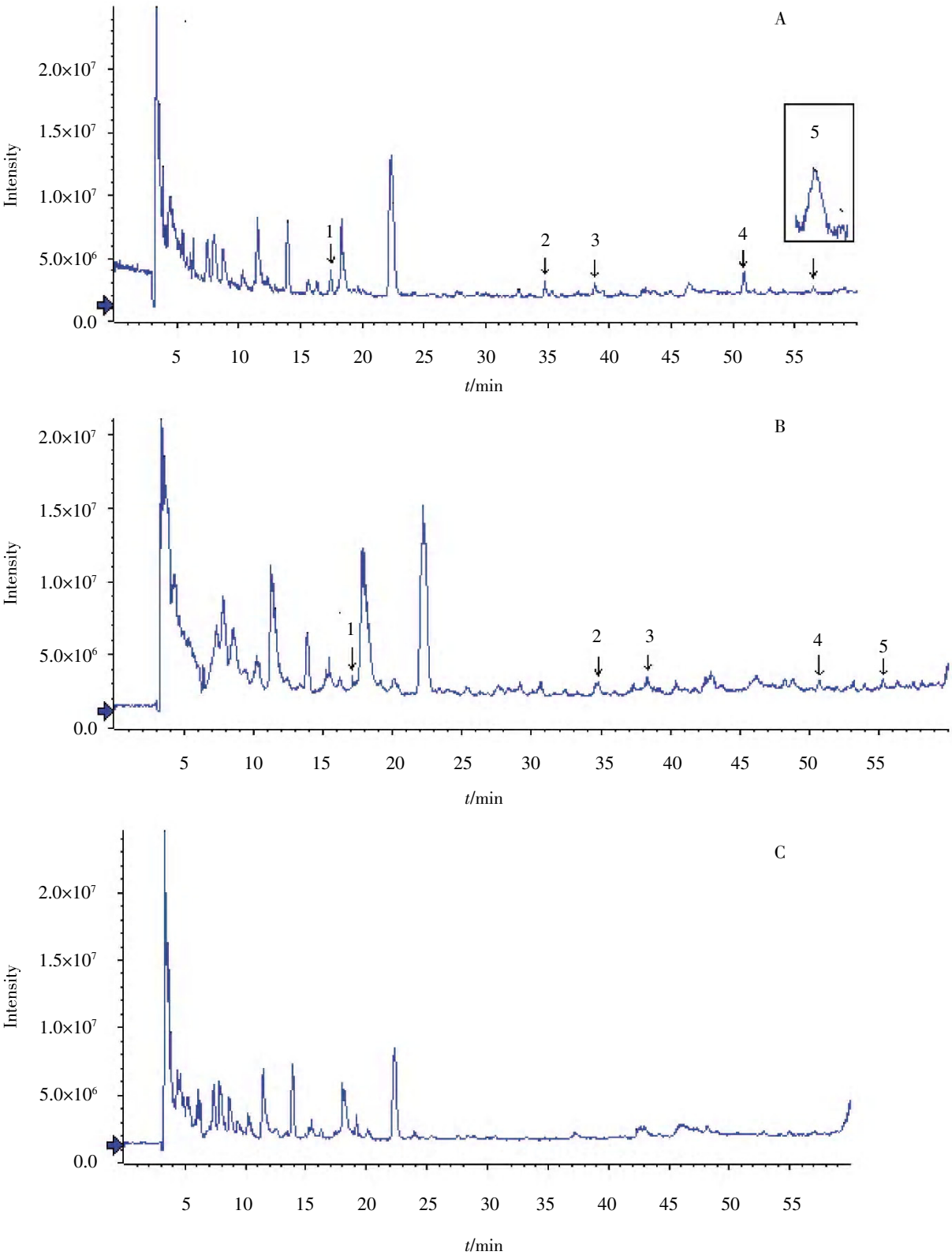


图1 血清样品总离子流图
注:A.三妙丸组,B.缺牛膝三妙丸(二妙丸)组,C.模型组。

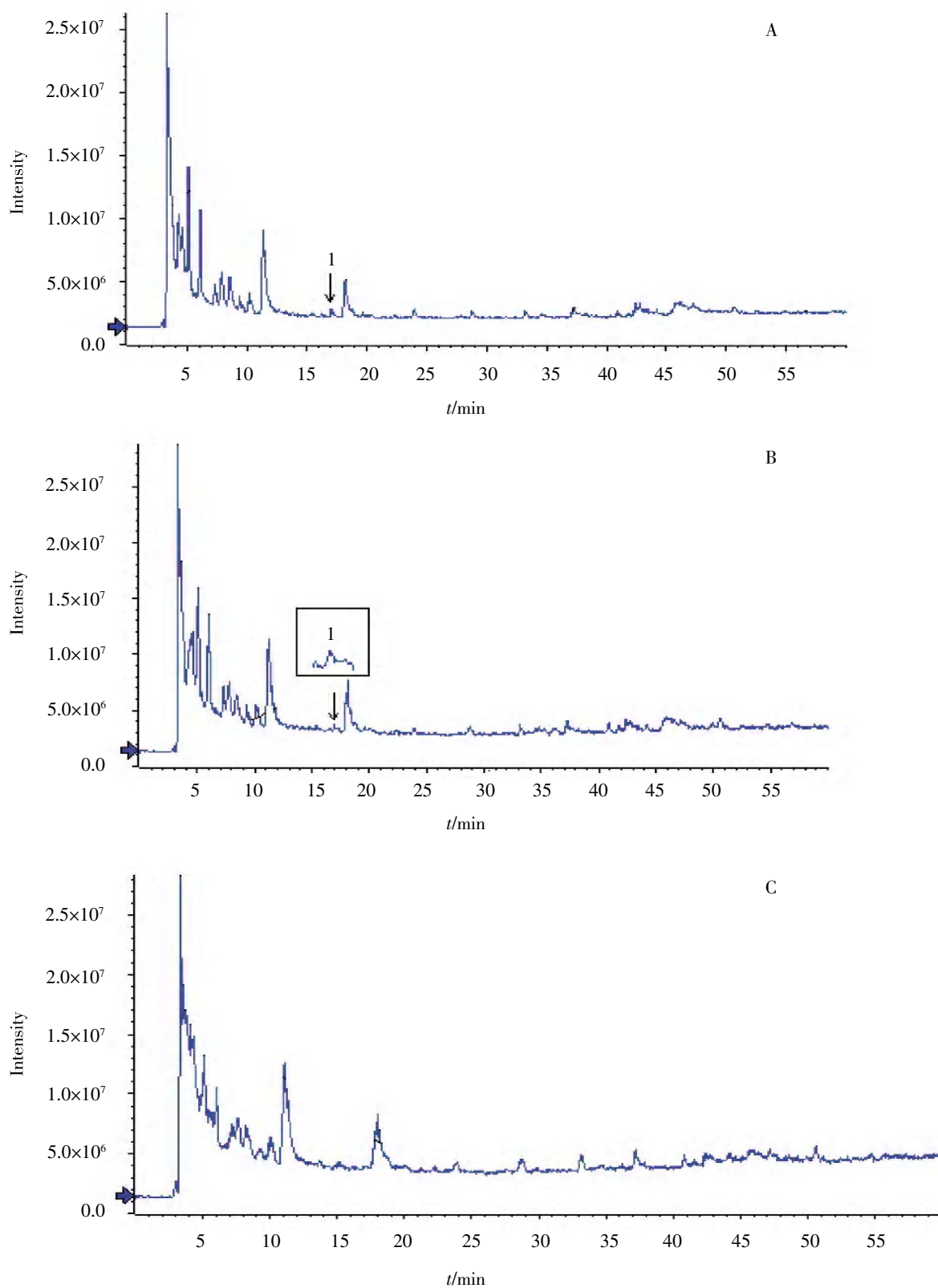


图2 关节样品总离子流图
注:A.三妙丸组,B.缺牛膝三妙丸(二妙丸)组,C.模型组。

表 1 大鼠给药血清、关节中移行成分分析

No.	R _f /min	ESI ⁺ m/z		Name	Intensity (×10 ⁴)				Attribution
		[M+H] ⁺	Fragment		Serum		Joint		
					EM	SM	EM	SM	
1	17.5	462	286,255,107	7- <i>O</i> -P-β-D-glucopyranoside-1-(P-hydroxybenzyl)-6,7-dihydroxy-N-methyltetrahydroisoquinoline	6.13	11.9	3.05	3.41	PC
2	34.8	443	267,249, 203	Atractylenolide IV glucuronide	2.33	4.37	—	—	AC
3	38.9	500	324,309	Demethyleneberberine glucuronide	6.15	7.02	—	—	PC
4	50.9	555	379	Unidentified	1.38	5.27	—	—	—
5	56.5	259	165,121	Guaiane	3.91	4.9	—	—	AC

注 PC. 黄柏 (*Phellodendri chinensis*), AC. 苍术 (*Atractylodes chinensis*), EM. 缺牛膝三妙丸 (二妙丸, Ermiaowan), SM. 三妙丸 (Samiaowan)。

表 2 各组对急性痛风关节炎大鼠模型的抗炎作用影响 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	足容积/mL		IL-1β/ng·mL ⁻¹	IL-6/ng·mL ⁻¹
		左后足	右后足		
空白组	—	1.419±0.029	1.428±0.031	13.311±2.990	117.124±20.101
模型组	—	1.647±0.123**	1.656±0.135**	87.121±24.524**	233.282±35.429**
缺牛膝三妙 (二妙丸) 丸组	20	1.538±0.136	1.547±0.137	50.744±13.905 [△]	141.733±37.743 ^{△△}
三妙丸组	30	1.497±0.104 [△]	1.516±0.116 [△]	31.521±8.626 ^{△△}	129.278±35.919 ^{△△}

注 与空白组比较, **P<0.01 与模型组比较, [△]P<0.05, ^{△△}P<0.01。

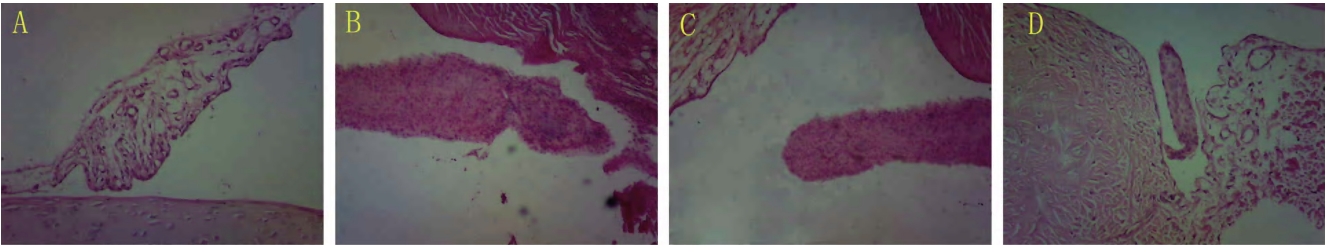


图 3 各组关节组织病理切片图

注 :A.空白组, B.模型组, C.缺牛膝三妙 (二妙丸) 丸组, D.三妙丸组。

表 3 各组对急性痛风关节炎大鼠模型的降血尿酸作用的影响 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	UA/μmol·L ⁻¹
空白组	—	97.7±11.1
模型组	—	913.6±324.3**
缺牛膝三妙 (二妙丸) 组	20	599.9±217.4 [△]
三妙组	30	517.2±251.9 [△]

注 与空白组比较, **P<0.01 与模型组比较, [△]P<0.05。

淋巴细胞和中性粒细胞浸润,周围软组织血管扩张充血 (图 3D)。结果显示,二妙丸配伍牛膝后 (三妙丸),可明显改善大鼠急性痛风关节炎的病理程度。

4 讨论

目前,国内外均用尿酸盐结晶注入动物关节腔内致足肿胀的方法建立急性痛风性关节炎模型^[11,12],但这种尿酸盐结晶所致的非特异性炎症反应,与临床尿酸水平增高致尿酸盐结晶所致的痛风性关节炎

炎的病理特征有所不同,且未涉及高尿酸血症,不能准确评价抗痛风药物的效应和作用机制。因此,本实验首次采用与临床痛风性关节炎病理特征相吻合、由高尿酸血症致大鼠足肿胀的急性痛风性关节炎模型^[13],可以更科学地阐明二妙丸与牛膝配伍前后对抗痛风作用的影响。

在正常大鼠体内检测到黄柏入血成分盐酸小檗碱和药根碱^[14]、牛膝入血成分蜕皮激素^[15],均以原型形式进入体内而存在,但未见配伍方剂后在体内代谢的相关研究。本实验通过 HPLC-ESI-MS 分析给药急性痛风性关节炎大鼠模型血清及关节组织图谱,发现三妙、缺牛膝三妙(二妙)丸 5 个血清移行成分,其中 2 个黄柏生物碱成分、苍术内酯 IV 和愈创木烷类成分,关节中 1 个黄柏生物碱成分。本实验首次用急性痛风性关节炎大鼠模型研究二妙丸、三妙丸血清及关节中移行成分,为三妙丸抗湿热型痛风效应物质基础的确定提供依据。

前期研究发现,三妙丸、二妙丸醇提物中有效成分含量高于水提物,且相关药效也优于水提物,故本实验采用醇提法研究三妙丸抗急性痛风配伍机制。《中国药典》中三妙丸、二妙丸黄柏、苍术两味药的剂量不同,但本实验为明确二妙配伍牛膝前后对抗急性痛风药效及体内成分的影响,将三妙丸、二妙丸中黄柏、苍术的剂量设置等同。通过对急性痛风性关节炎大鼠模型的干预,表明缺牛膝三妙丸(二妙丸)、三妙丸均具有降血尿酸、抑制炎症因子 IL-1 β 和 IL-6 水平、减轻关节炎症损伤的作用,但二妙配伍牛膝后(三妙丸),在抑制足肿胀、降低 IL-1 β 水平及减轻关节炎症损伤方面的作用增强,降血尿酸及 IL-6 水平的趋势增加。通过比较血清和关节图谱,发现二妙丸配伍牛膝后,黄柏生物碱成分、苍术倍半萜类成分在血清及关节中相对含量增加。由此推测,牛膝配伍二妙后,生物碱成分及苍术倍半萜类成分在血液及关节中的吸收分布,以增强抗急性痛风炎症作用。本实验初步从二妙配伍牛膝前后抗痛风药效及血清、关节中移行成分及其相对含

量变化验证了古代医家对三妙丸中二妙配伍牛膝的论述,初步合理解释了三妙丸抗湿热型痛风的配伍机制,为阐明复杂的方剂配伍规律提供了有意义的探索。

参考文献

- 1 尹莲.二妙丸系列类方作用规律的相关性探讨.中国实验方剂学杂志,2007,13(8):71~72.
- 2 宋永刚.浅析牛膝下行之性.现代中医药,1998(3):9.
- 3 朱晓勤,尹莲,徐立,等.二妙丸系列类方有效部位群药效学比较研究.中医药导报,2008,14(2):12~15.
- 4 尹莲,李欣,徐立,等.应用指纹图谱研究类方方剂配伍物质基础—二妙丸物质基础在配伍类方中的变化研究.世界科学技术—中医药现代化,2009,11(1):179~183.
- 5 尹莲,邓海山,朱晓琴,等.黄柏生物碱成分在二妙丸类方中保护尿酸盐致入血管内皮细胞损伤作用及其配伍变化的研究.高等学校化学学报,2009,30(8):1525~1526.
- 6 Hu X R, Wu H F, Zhang X P, et al. A new sesquiterpene lactone from *Sarcandra glabra*. *Nat Pro Res*, 2013, 27(13):1197~1201.
- 7 Chen Q H, He H S, Li P, et al. Identification and quantification of atractylenolide I and atractylenolide III in *Rhizoma Atractylodes Macrocephala* by liquid chromatography-ion trap mass spectrometry. *Biomed Chromatogr*, 2013, 27(6):699~707.
- 8 杨飞,吴德康,陈丽红,等.葛根芩连汤中葛根素、黄芩苷、小檗碱与甘草酸组合在大鼠体内代谢产物研究.中国实验方剂学杂志,2013,19(9):164~168.
- 9 丛浦珠.天然有机化合物质谱图集.北京:化学工业出版社,2011:478.
- 10 Kitajima J, Kamoshits A, Ishikawa T, et al. Glycosides of *Atractylodes ovata*. *Chem Pharm Bull*, 2003, 51(9):1106~1108.
- 11 陈文照,姜宏,刘延龄,等.痛风宁消炎镇痛的实验研究.中国中医骨伤科杂志,1999,7(4):1~3.
- 12 Ishimaru J I, Ogi N, Mizuno S, et al. Quantitation of chondroitin-sulfates, disaccharides and hyaluronan in normal, early and advanced osteoarthritic sheep temporomandibular joints. *Osteoarthritis Cartilage*, 2001, 9(4):365~370.
- 13 时乐,徐立,尹莲,等.冷水泳浴对高尿酸血症模型大鼠诱发痛风性关节炎的影响.中国药理学与毒理学杂志,2012,26(1):25~29.
- 14 冯倩倩,刘树平,陈平平,等.黄柏药效物质基础成分初探.中国药师,2012,15(17):920~923.
- 15 刘祥兰,袁秀荣,毛平,等.高效液相色谱法测定怀牛膝含药血清中蜕皮激素含量.黑龙江医药,2000,13(4):207~208.

Study on Compatibility Mechanism of San-Miao-Wan against Acute Gouty Arthritis

Liu Longlong, Pan Hongyin, Shi Le, Xu Li, Yin Lian

(College of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China)

Abstract: This article was aimed to discuss the reasonability of combined use of *Achyranthes bidentata* and *Er-Miao-Wan* (EMW) in *San-Miao-Wan* (SMW). Urate crystals caused by hyperuricemia deposited in the joint rat model was established for the first time. The serum uric acid level, inflammatory factors of IL-1 β and IL-6, pathological tissues of joint of SMW and SMW lacked *A. bidentata* (EMW) were investigated by acute gouty arthritis rat model. HPLC-ESI-MS/MS method was used to analyze constituents absorbed in serum and joints which were obtained from the rat model after oral administration of SMW and EMW. Comparison was made on the intensity of ion peaks of constituents between SMW and EMW. The results showed that SMW and EMW had prominent effect in treatment of acute gouty arthritis and reducing serum uric acid level. SMW had better effect on the inhibition of swollen limbs and inflammatory factor IL-1 β as well as the protection of inflammatory injury of joint tissues compared with EMW. Five constituents in the serum and one constituent in joints were detected from the rat models after oral administration of SMW and EMW. Two of them were metabolites of alkaloid constituents in *Phellodendron Chinese* and two of them were metabolites of glycoside constituents in *Atractylodes lancea*. The intensity of ion peaks of SMW was higher than EMW. It was concluded that *A. bidentata* can promote the distribution of alkaloids components in *Phellodendron Chinese* and glycoside components in *A. lancea* in EMW in the blood and joints, which enhanced the anti-inflammatory effect of acute gouty arthritis.

Keywords: *San-Miao-Wan*, *San-Miao-Wan* lacked *Achyranthes bidentata* (*Er-Miao-Wan*), acute gout, HPLC-ESI-MS/MS, constituents absorbed into body

(责任编辑 李沙沙 张志华, 责任译审 王 晶)