

doi:10.12301/spxb202100218

文章编号:2095-6002(2022)03-0105-07

引用格式:闫淑萍,王硕,陈涛,等.黑果枸杞花青素提取物对大鼠急性痛风性关节炎的作用[J].食品科学技术学报,2022,40(3):105-111.



YAN Shuping, WANG Shuo, CHEN Tao, et al. Effect of anthocyanin extract of *Lycium ruthenicum* Murr. on rats with acute gouty arthritis[J]. Journal of Food Science and Technology, 2022,40(3):105-111.

## 黑果枸杞花青素提取物对大鼠急性痛风性关节炎的作用

闫淑萍<sup>1,2</sup>, 王硕<sup>1</sup>, 陈涛<sup>1,2</sup>, 申诚<sup>1</sup>, 赵景阳<sup>3</sup>,  
丁永渊<sup>3</sup>, 孔令繁<sup>3</sup>, 杨丽<sup>1</sup>, 李玉林<sup>1,\*</sup>

(1. 中国科学院西北高原生物研究所, 青海 西宁 810001; 2. 中国科学院大学 存济医学院, 北京 100049;  
3. 青海金麦杞生物科技有限公司, 青海 西宁 810003)

**摘要:**为研究黑果枸杞花青素提取物(anthocyanin extract of *Lycium ruthenicum* Murr., AEL)对急性痛风性关节炎(acute gouty arthritis, AGA)大鼠的作用,将60只雄性SD大鼠,随机分为正常对照组、模型对照组、阳性对照组、AEL高剂量组(238.0 mg/kg)和AEL低剂量组(59.5 mg/kg),每组12只,分为2批,每批6只。第一批动物灌胃2周,第二批动物灌胃4周后,采用50 mg/mL微晶型尿酸钠(microcrystalline sodium urate, MSU)0.2 mL注射到大鼠右踝关节诱导大鼠急性痛风性关节炎模型,评价AEL对AGA大鼠踝关节肿胀和跛行步态的改善效果。所有动物继续灌胃至5周,采用质量分数2.5%的氧嗪酸钾饲料喂食诱导高尿酸血症模型,测定造模2 h、3 h后大鼠的血清尿酸水平。研究发现,与模型对照组比较,灌胃2周,AEL高剂量能明显缓解大鼠造模6 h后踝关节肿胀,改善跛行步态;灌胃4周,AEL高、低剂量均能明显缓解大鼠造模后6 h、24 h踝关节肿胀和造模6 h后跛行步态,AEL高剂量还能明显改善造模24 h后跛行步态;灌胃5周后,AEL高、低剂量均能明显抑制氧嗪酸钾导致的大鼠血清尿酸升高。结果表明,AEL能从抗炎和降尿酸两个方面对大鼠急性痛风性关节炎表现出明显改善作用。

**关键词:**黑果枸杞花青素提取物;急性痛风性关节炎;踝关节肿胀;跛行步态;血清尿酸

**中图分类号:** TS201.4; TQ460.1

**文献标志码:** A

由于经济发展带来的生活方式及饮食结构的变化,痛风性关节炎发病率逐年增长且呈现年轻化趋势,全球痛风性关节炎患病率约达10%<sup>[1-2]</sup>。痛风性关节炎分为急性期、间歇期和慢性痛风石期,其中急性痛风性关节炎(acute gouty arthritis, AGA)是由于机体嘌呤代谢紊乱、血清尿酸水平升高,尿酸盐沉积在关节囊、滑囊、软骨和其他组织中,从而刺激关

节引起的关节滑膜及周围组织的病损或炎症反应的急性发作<sup>[3-4]</sup>,早期发病隐匿,一旦发作难以根治且易反复,临床主要表现为关节红肿灼热、剧烈疼痛、行动不便,常伴随着肾脏疾病和关节的不可逆损伤,严重影响患者的生活质量<sup>[5]</sup>。目前,治疗急性痛风性关节炎以消炎镇痛和降低血清尿酸为主<sup>[6]</sup>,临床常用秋水仙碱联合非布司他、溴苯马龙以及非甾体

收稿日期:2021-05-02

基金项目:青海省藏药国家标准样品研制科技基础条件平台建设项目(2020-ZJ-T02)。

第一作者:闫淑萍,女,硕士研究生,研究方向为藏药标准化与新药研发。

\*通信作者:李玉林,男,研究员,博士生导师,主要从事藏药标准化与新药研发和特色生物资源方面的研究。

类药物等西药治疗,虽然效果明显,但停药后易复发,长期服用还会出现胃肠道反应及肝肾功能损伤<sup>[7]</sup>。中医药治疗痛风历史悠久,具有多途径、多层次的优势,且安全性更高<sup>[8-9]</sup>,因此,在天然产物中寻找具有防治痛风和降尿酸的功能性成分以及以此为基础开发相关功能性食品成为发展大健康产业新的热点。

黑果枸杞(*Lycium ruthenicum* Murr.)是茄科枸杞属多棘刺落叶灌木,其果实富含花青素、多糖等活性成分,是目前发现的花青素含量最高的植物<sup>[10]</sup>。黑果枸杞花青素属于类黄酮物质,具有抗氧化、抗疲劳、调节血脂等多种生物活性<sup>[11-13]</sup>。近年来,花青素的抗炎活性受到广泛关注,并且有研究报道紫甘薯中的花青素具有降尿酸作用<sup>[14-15]</sup>,但关于黑果枸杞花青素抗炎和降尿酸的研究鲜有报道。微晶型尿酸钠(microcrystalline sodium urate, MSU)诱发的急性关节炎,因表现出早期急性发作,迅速出现高峰和随后缓解的特点,符合人体急性痛风性关节炎的临床症状,且操作简单、成功率高而成为国际上常用的AGA模型,被广泛用于筛选具有改善急性痛风性关节炎作用的天然产物;氧嗪酸钾是尿酸酶抑制剂,能在短时间内快速升高血清尿酸。因此,本研究采用MSU诱导大鼠急性痛风性关节炎模型和氧嗪酸钾饲料诱导大鼠高尿酸血症模型,分析黑果枸杞花青素提取物(anthocyanin extract of *Lycium ruthenicum*, AEL)对模型大鼠踝关节肿胀、跛行步态、血清尿酸水平等指标的影响,从抗炎和降尿酸方面评价AEL对大鼠急性痛风性关节炎的作用,以期在黑果枸杞资源的多元化开发利用提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

SPF级SD大鼠60只,雄性,实验动物使用许可证号:SYXK(津)2016-0009,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供,动物饲养符合国家实验动物福利指南及实验动物伦理规范。饲养条件:标准屏障系统动物房,温度(22±2)℃,湿度40%~60%,12h光照昼夜交替。

### 1.2 实验原料与试剂

黑果枸杞,由青海金麦杞生物科技有限公司提供,中国科学院西北高原生物研究所藏药标准化与

新药研发实验室鉴定为黑果枸杞(*Lycium ruthenicum* Murr.)的干燥果实;秋水仙碱片,西双版纳药业有限责任公司;生理盐水,河北天成药业股份有限公司;尿酸检测试剂盒(C012-2),南京建成生物工程研究所;微晶型尿酸钠和质量分数2.5%氧嗪酸钾饲料,天津药物研究院新药评价有限公司;LESINURAD,上海再启生物技术有限公司。

### 1.3 仪器与设备

Multiskan FC型酶标仪,美国赛默飞世尔科技有限公司;PV-200型足趾容积测量仪,成都泰盟科技有限公司;ECA522型电子天平、ECC2201型电子天平,南京伯尼塔科学仪器有限公司;CTXNW-110B型循环超声提取机,北京宏祥隆生物技术开发有限公司;GQ105B型管式离心机,上海浦东天本离心机械有限公司;GLZ-1B型冷冻干燥机,上海浦东冷冻干燥设备有限公司;SJN-150-00型双效浓缩器,浙江温兄机械阀业有限公司;BM-40型纯水机,北京中盛茂源科技发展有限公司。

### 1.4 黑果枸杞花青素样品的制备

称取10kg黑果枸杞干果去梗、破碎,过60目筛,置于超声提取机中,加150L去离子水超声提取30min,超声功率500W,提取完成后放出提取液,再加150L去离子水,重复上述提取过程。合并两次水提液约280L,20000r/min离心5min,收集上清液。上清液以100L/h流速泵入大孔树脂柱(树脂柱规格:100L,树脂型号:AB-8,树脂量:35kg),用100L去离子水洗脱后,再用300L体积分数为50%的乙醇洗脱,收集洗脱组分,在45℃、-0.07MPa条件下用双效浓缩器减压浓缩得到浓缩液10L,置于冷冻干燥机中冷冻干燥得到黑果枸杞花青素提取物595.2g,经鉴定该组分花青素质量分数为30.1%。

### 1.5 动物分组与处理

选用健康SD大鼠60只,雄性,体重185~210g,适应性饲养一周后随机分组。分别为正常对照组、模型对照组、阳性对照组、AEL高剂量组(238mg/kg)和AEL低剂量组(59.5mg/kg),每组12只,分两批(6只/批)。按上述分组灌胃,其中正常对照组及模型对照组灌胃给予等量蒸馏水,阳性对照组在造模5天前灌胃给予秋水仙碱(1mg/kg),灌胃容积均为10mL/kg,每天一次。第一批灌胃2周,第二批灌胃4周。

## 1.6 急性痛风性关节炎大鼠踝关节肿胀度的检测

取 1.5 节的第一批大鼠进行踝关节肿胀测定实验。参考文献方法<sup>[16-17]</sup>,正常对照组大鼠右踝关节背侧注射生理盐水 0.2 mL(关节伸直 45°进针),其余各组在右踝关节背侧注射 50 mg/mL MSU 混悬液 0.2 mL 造模。用足趾容积测量仪分别测定造模前和造模后 6 h、24 h 大鼠右踝关节容积。

取 1.5 节的第二批大鼠按照相同方法进行实验,测定造模前和造模后 6、24、48 h 大鼠踝关节容积。

大鼠踝关节肿胀度计算见式(1)。

$$\text{踝关节肿胀度} = \frac{\text{造模后踝关节容积} - \text{造模前踝关节容积}}{\text{造模前踝关节容积}} \quad (1)$$

## 1.7 急性痛风性关节炎大鼠步态的检测

观察并记录 1.6 节的各组大鼠造模前后的步态变化。第一批大鼠记录造模前和造模后 6 h、24 h 步态,第二批大鼠记录造模前和造模后 6、24、48 h 步态。参照文献分级标准<sup>[17]</sup>,0 级,正常行走,记为 0 分;1 级,轻微跛行,受试下肢略有弯曲,记为 1 分;2 级,中度跛行,受试下肢刚触及地面,记为 2 分;3 级,重度跛行,受试下肢离开地面,三足着地行走,记为 3 分。统计各组大鼠得分。

## 1.8 大鼠血清尿酸浓度的检测

将造模后的两批大鼠按 1.5 节方法持续灌胃至 5 周,阳性对照组改用 LESINURAD(尿酸重吸收抑制剂,由 FDA 在 2015 年批准与黄嘌呤氧化酶抑制剂联用,用于治疗与痛风相关的高尿酸血症<sup>[18-19]</sup>),在测定前 3 d 连续灌胃,剂量为 40 mg/kg。参考文献方法<sup>[20-21]</sup>,末次灌胃后,各组大鼠喂食质量分数 2.5% 氧嗪酸钾饲料,分别于 2 h、3 h 尾静脉采血,3 500 r/min 离心 10 min 取血清,按照试剂盒方法测定大鼠血清尿酸水平。

表 1 黑果枸杞花青素提取物灌胃 2 周对 MSU 诱导的 AGA 大鼠踝关节肿胀度的影响

Tab. 1 Effect of AEL gavage for 2 weeks on ankle joint swelling in rats with AGA induced by MSU

组别	剂量/ (mg·kg <sup>-1</sup> )	踝关节容积/mL			踝关节肿胀度	
		造模前	造模后 6 h	造模后 24 h	造模后 6 h	造模后 24 h
正常对照组	-	2.29 ± 0.19	2.22 ± 0.22	2.27 ± 0.23	-0.08 ± 0.08	-0.02 ± 0.09
模型对照组	-	2.22 ± 0.05	2.66 ± 0.10	2.47 ± 0.13	0.44 ± 0.12 <sup>ΔΔ</sup>	0.26 ± 0.14 <sup>ΔΔ</sup>
阳性对照组	1	2.36 ± 0.17	2.51 ± 0.06	2.37 ± 0.13	0.14 ± 0.13 <sup>**</sup>	0.01 ± 0.15 <sup>*</sup>
AEL 高剂量组	238	2.41 ± 0.15	2.61 ± 0.16	2.57 ± 0.18	0.22 ± 0.14 <sup>*</sup>	0.16 ± 0.14
AEL 低剂量组	59.5	2.31 ± 0.20	2.67 ± 0.26	2.58 ± 0.28	0.37 ± 0.25	0.27 ± 0.27

ΔΔ 表示与正常对照组比较有极显著差异( $P < 0.01$ ); \* 表示与模型对照组比较有显著差异( $P < 0.05$ ), \*\* 表示与模型对照组比较有极显著差异( $P < 0.01$ )。

## 1.9 数据处理

数据均以平均值 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,以 SPSS 16.0 软件进行数据统计分析,采用 t 检验及进行组间比较,有等级关系的采用等级序值法进行显著性检验。

## 2 结果分析

### 2.1 黑果枸杞花青素提取物对大鼠踝关节肿胀的影响

AEL 灌胃 2 周后,对 AGA 模型大鼠踝关节肿胀度的影响见表 1。由表 1 可知,与正常对照组比较,模型对照组踝关节容积明显增加( $P < 0.01$ ),表明模型建立成功。与模型对照组比较,秋水仙碱能够明显减轻造模后 6、24 h 的踝关节肿胀( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ );AEL 高剂量能明显减轻造模 6 h 后的踝关节肿胀( $P < 0.05$ ),对减轻造模 24 h 后踝关节肿胀效果不明显;AEL 低剂量对造模后 6 h、24 h 的踝关节肿胀无显著影响。

大鼠 AGA 模型中,造模 4 h 后大鼠踝关节开始肿胀,6 ~ 8 h 达到高峰,一般可维持至 24 h。本研究中发现 AEL 灌胃 4 周后,大鼠体重增加,造模后肿胀度明显升高,踝关节持续肿胀,故灌胃 4 周后增加了 48 h 的测定时间点,见表 2。由表 2 可知,与正常对照组比较,造模后 6 ~ 48 h,模型对照组大鼠踝关节持续肿胀( $P < 0.01$ )。秋水仙碱在 6、24、48 h 的踝关节肿胀均显著低于模型组( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ,  $P < 0.05$ );AEL 高、低剂量均能显著减轻大鼠造模后 6 h、24 h 踝关节肿胀( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ),造模后 48 h 的关节肿胀度有减小趋势,但无统计学差异。

研究表明,AEL 能够显著减轻 MSU 诱导的大鼠踝关节肿胀,并与摄入时间和剂量成正比。

表2 黑果枸杞花青素提取物灌胃4周对MSU诱导的AGA大鼠踝关节肿胀度的影响

Tab.2 Effect of AEL gavage for 4 weeks on ankle joint swelling in rats with AGA induced by MSU

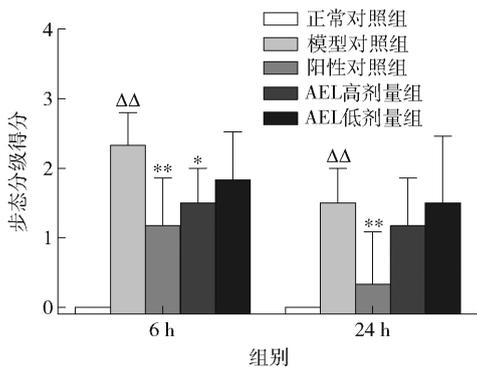
组别	剂量/ (mg·kg <sup>-1</sup> )	踝关节容积/mL				踝关节肿胀度		
		造模前	造模后6h	造模后24h	造模后48h	造模后6h	造模后24h	造模后48h
正常对照组	-	2.45 ± 0.27	2.40 ± 0.24	2.45 ± 0.24	2.51 ± 0.25	-0.05 ± 0.13	0.00 ± 0.09	0.06 ± 0.10
模型对照组	-	2.65 ± 0.11	3.58 ± 0.13	3.85 ± 0.11	3.52 ± 0.11	0.93 ± 0.16 <sup>ΔΔ</sup>	1.20 ± 0.16 <sup>ΔΔ</sup>	0.86 ± 0.16 <sup>ΔΔ</sup>
阳性对照组	1	2.56 ± 0.31	3.07 ± 0.46	3.47 ± 0.38	3.03 ± 0.46	0.51 ± 0.17 <sup>**</sup>	0.91 ± 0.21 <sup>*</sup>	0.47 ± 0.34 <sup>*</sup>
AEL高剂量组	238	2.77 ± 0.45	3.40 ± 0.37	3.45 ± 0.27	3.29 ± 0.43	0.49 ± 0.27 <sup>**</sup>	0.68 ± 0.43 <sup>*</sup>	0.52 ± 0.41
AEL低剂量组	59.5	2.55 ± 0.24	3.24 ± 0.22	3.33 ± 0.40	3.13 ± 0.57	0.69 ± 0.18 <sup>*</sup>	0.78 ± 0.23 <sup>**</sup>	0.58 ± 0.41

ΔΔ表示与正常对照组比较有极显著差异( $P < 0.01$ ); \*表示与模型对照组比较有显著差异( $P < 0.05$ ), \*\*表示与模型对照组比较有极显著差异( $P < 0.01$ )。

## 2.2 黑果枸杞花青素提取物对大鼠步态的影响

AEL灌胃2周对大鼠步态的影响见图1。与正常对照组比较,模型对照组大鼠右后肢弯曲,活动减少,受试下肢离开地面,呈三足着地行走步态。与模型对照组比较,AEL灌胃2周后,AEL高剂量能缓解造模6h后大鼠跛行步态( $P < 0.05$ ),AEL低剂量对改善大鼠跛行步态效果不显著,秋水仙碱能显著改善造模6、24h后大鼠跛行步态( $P < 0.01$ )。

AEL灌胃4周对大鼠步态的影响见图2。与模型对照组比较,AEL灌胃4周后,AEL高、低剂量均能显著改善造模6h后大鼠跛行步态( $P < 0.05$ ),AEL高剂量能持续改善模24h后大鼠跛行步态( $P < 0.05$ )。



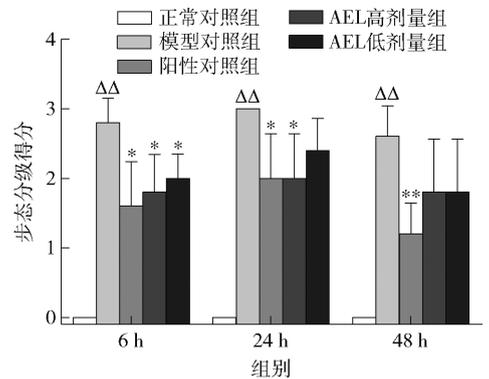
ΔΔ表示与正常对照组比较有极显著差异( $P < 0.01$ ); \*表示与模型对照组比较有显著差异( $P < 0.05$ ), \*\*表示与模型对照组比较有极显著差异( $P < 0.01$ )。

图1 黑果枸杞花青素提取物灌胃2周对MSU诱导的AGA大鼠跛行步态的影响

Fig.1 Effect of AEL gavage for 2 weeks on claudication gait in rats with AGA induced by MSU

## 2.3 黑果枸杞花青素提取物对大鼠血清尿酸的影响

AEL灌胃5周对大鼠血清尿酸水平的影响见表3。与正常对照组比较,模型对照组大鼠喂食质量分数2.5%氧嗪酸钾饲料后2h、3h血清尿酸显著



ΔΔ表示与正常对照组比较有极显著差异( $P < 0.01$ ); \*表示与模型对照组比较有显著差异( $P < 0.05$ ), \*\*表示与模型对照组比较有极显著差异( $P < 0.01$ )。

图2 黑果枸杞花青素提取物灌胃4周对MSU诱导的AGA大鼠跛行步态的影响

Fig.2 Effect of AEL gavage for 4 weeks on claudication gait in rats with AGA induced by MSU

升高( $P < 0.01$ ),模型制备成功;与模型对照组比较,AEL高、低剂量均能明显抑制血清尿酸升高( $P < 0.05$ ),且3h后AEL高、低剂量组大鼠血清尿酸水平显著低于模型对照组,AEL高、低剂量组抑

表3 黑果枸杞花青素提取物灌胃5周对大鼠血清尿酸的影响  
Tab.3 Effect of AEL gavage for 5 weeks on levels of serum uric acid in rats

组别	剂量/ (mg·kg <sup>-1</sup> )	c(血清尿酸)/(μmol·L <sup>-1</sup> )	
		喂食2h(第一批)	喂食3h(第二批)
正常对照组	-	151.19 ± 20.65	173.18 ± 23.79
模型对照组	-	268.27 ± 56.16 <sup>ΔΔ</sup>	342.84 ± 61.00 <sup>ΔΔ</sup>
阳性对照组	40	191.72 ± 28.10 <sup>*</sup>	249.32 ± 43.34 <sup>*</sup>
AEL高剂量组	238	192.18 ± 38.62 <sup>*</sup>	262.6 ± 41.78 <sup>*</sup>
AEL低剂量组	59.5	201.37 ± 25.51 <sup>*</sup>	260.96 ± 37.35 <sup>*</sup>

ΔΔ表示与正常对照组比较有极显著差异( $P < 0.01$ ); \*表示与模型对照组比较有显著差异( $P < 0.05$ )。

制血清尿酸升高的作用相当。结果表明,AEL对氧嗪酸钾诱导的大鼠血清尿酸水平升高有明显抑制作用。

### 3 结 论

尿酸排泄减少或尿酸生成过多使得机体尿酸持续在较高水平,导致关节腔尿酸盐晶体析出而诱发炎症,被认为是急性痛风性关节炎发作的关键病理过程<sup>[22]</sup>。本研究发现 AEL 能改善 AGA 大鼠踝关节肿胀度和跛行步态,同时具有降尿酸的作用,并呈时间剂量依赖性,提示 AEL 能从抗炎和降尿酸两个方面缓解大鼠急性痛风性关节炎发作时的症状。急性痛风性关节炎的发病机制非常复杂,后续将对黑果枸杞花青素提取物在防治急性痛风性关节炎的作用机制进行深入研究,为黑果枸杞花青素防治痛风的功能性食品的开发提供科学依据。

#### 参考文献:

[1] 中华医学会内分泌学分会. 中国高尿酸血症与痛风诊疗指南(2019)[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2020, 36(1): 1-13.  
Chinese Society of Endocrinology, Chinese Medical Association. Guidelines for the diagnosis and treatment of hyperuricemia and gout in China (2019) [J]. Chinese Journal of Endocrinology and Metabolism, 2020, 36(1): 1-13.

[2] JENA M, TRIPATHY A, MISHRA A, et al. Effect of canakinumab on clinical and biochemical parameters in acute gouty arthritis: a meta-analysis [J]. Inflammopharmacology, 2021, 29(1): 35-47.

[3] 李怀亮,林石明. 急性痛风性关节炎治疗的研究进展[J]. 实用中西医结合临床, 2018, 18(1): 176-178.  
LI H L, LIN S M. Advances in the treatment of acute gouty arthritis [J]. Practical Clinical Journal of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, 2018, 18(1): 176-178.

[4] LEONARDO N, LESTER S, WHITTLE S, et al. Review of gout clinic in a tertiary hospital setting [J]. Internal Medicine Journal, 2020, 50(1): 117-120.

[5] MBUYI N, HOOD C. An update on gout diagnosis and management for the primary care provider [J]. The Nurse Practitioner, 2020, 45(10): 16-25.

[6] 徐东,朱小霞,曾学军,等. 痛风诊疗规范[J]. 中华内科杂志, 2020, 59(6): 421-426.

XU D, ZHU X X, ZENG X J, et al. Guidelines for the treatment of gout [J]. Chinese Journal of Internal Medicine, 2020, 59(6): 421-426.

[7] 黄晶,杨婷,王雨,等. 痛风病的国内外认识及治疗进展与思考[J]. 世界中医药, 2021, 16(1): 1-7.  
HUANG J, YANG T, WANG Y, et al. Progress and thinking on the treatment of gout disease at home and abroad [J]. World Chinese Medicine, 2021, 16(1): 1-7.

[8] 舒建龙,李凤珍,覃裕旺. 痛风病理及临床中西医治疗的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(2): 218-227.  
SHU J L, LI F Z, QIN Y W. Research progress of pathology of gout and clinical treatment with traditional Chinese and western medicine [J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2020, 26(2): 218-227.

[9] 颜家兴,王茜,朱英,等. 中药治疗痛风的作用机制研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志: 2021, 27(12): 226-236.  
YAN J X, WANG Q, ZHU Y, et al. Research progress on mechanism of traditional Chinese medicines in treating gout [J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2021, 27(12): 226-236.

[10] 陈莎莎,索有瑞,白波,等. 青藏高原黑果枸杞花青素稳定性评价[J]. 天然产物研究与开发, 2017, 29(2): 322-328.  
CHEN S S, SUO Y R, BAI B, et al. Evaluation of the stability of anthocyanins in *Lycium ruthenicum* Murr. from Qinghai Tibet plateau [J]. Natural Product Research and Development, 2017, 29(2): 322-328.

[11] DUAN Y, CHEN F, YAO X, et al. Protective effect of *Lycium ruthenicum* Murr. against radiation injury in mice [J]. International Journal of Environmental Research and Public Health, 2015, 12(7): 8332-8347.

[12] 杨晓磊. 藏药黑果枸杞对运动疲劳所致氧化应激的影响[D]. 兰州: 甘肃中医药大学, 2019: 42-44.  
YANG X L. Effects of Tibetan medicine *Lycium ruthenicum* Murr. on oxidative stress induced by exercise fatigue [D]. Lanzhou: Gansu University of Chinese Medicine, 2019: 42-44.

[13] 马丽娟,霍鹏超,孙梦茹,等. 黑果枸杞化学成分和药理活性的研究进展[J]. 中草药, 2020, 51(22): 5884-5893.  
MA L J, HUO P C, SUN M R, et al. Research progress on chemical constituents and pharmacological activities of *Lycium ruthenicum* Murr. [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2020, 51(22): 5884-5893.

- [14] YANG Y, ZHANG Z, ZHOU Q, et al. Hypouricemic effect in hyperuricemic mice and xanthine oxidase inhibitory mechanism of dietary anthocyanins from purple sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) [J]. Journal of Functional Foods, 2020, 73: 104151.
- [15] ZHANG Z C, WANG H B, ZHOU Q, et al. Screening of effective xanthine oxidase inhibitors in dietary anthocyanins from purple sweet potato (*Ipomoea batatas* L. cultivar Eshu No. 8) and deciphering of the underlying mechanisms *in vitro* [J]. Journal of Functional Foods, 2017, 36: 102 – 111.
- [16] CODERRE T J, WALL P D. Ankle joint urate arthritis (AJUA) in rats: an alternative animal model of arthritis to that produced by Freund's adjuvant [J]. Pain, 1987, 28(3): 379 – 393.
- [17] 蔡唐彦, 王旭, 何湏, 等. 急性痛风性关节炎大鼠模型的建立及模型维持时间观察[J]. 中国实验动物学报, 2017, 25(5): 494 – 499.
- CAI T Y, WANG X, HE Z, et al. Establishment of a rat model of acute gouty arthritis and observation of the model maintenance time [J]. Acta Laboratorium Animalis Scientia Sinica, 2017, 25(5): 494 – 499.
- [18] NICOLA D, GRAEME J, ROBERT T, et al. Lesinurad, a selective uric acid reabsorption inhibitor, in combination with febuxostat in patients with tophaceous gout [J]. Arthritis Rheumatol, 2017, 69 (9): 1903 – 1913.
- [19] 陈晴, 铁远, 胡咏川, 等. 新型抗痛风药物 lesinurad [J]. 中国新药杂志, 2016, 25(13): 1441 – 1445.
- CHEN Q, TIE Y, HU Y C, et al. Lesinurad: a novel treatment drug for gout [J]. Chinese Journal of New Drugs, 2016, 25(13): 1441 – 1445.
- [20] HUANG L, DENG J, CHEN G, et al. The anti-hyperuricemic effect of four astilbin stereoisomers in *Smilax glabra* on hyperuricemic mice [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2019, 238: 111777.
- [21] 刘冬恋, 郭秋鸿, 夏阳森, 等. 慢性高尿酸血症肾损害大鼠模型的建立 [J]. 中国实验动物学报, 2021, 29(3): 364 – 370.
- LIU D L, GUO Q H, XIA Y M, et al. Establishment of a rat model of chronic hyperuricemia with renal damage [J]. Acta Laboratorium Animalis Scientia Sinica, 2021, 29(3): 364 – 370.
- [22] CHEN S Y, CHEN C L, SHEN M L, et al. Clinical features of familial gout and effects of probable genetic association between gout and its related disorders [J]. Metabolism, 2001, 50(5): 1203 – 1207.

## Effect of Anthocyanin Extract of *Lycium ruthenicum* Murr. on Rats with Acute Gouty Arthritis

YAN Shuping<sup>1,2</sup>, WANG Shuo<sup>1</sup>, CHEN Tao<sup>1,2</sup>, SHEN Cheng<sup>1</sup>, ZHAO Jingyang<sup>3</sup>,  
DING Yongyuan<sup>3</sup>, KONG Lingfan<sup>3</sup>, YANG Li<sup>1</sup>, LI Yulin<sup>1,\*</sup>

(1. Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810001, China;

2. Savaid Medical School, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China;

3. Qinghai Jinmaiqi Biotechnology Co LTD, Xining 810003, China)

**Abstract:** To investigate the prevention effect of anthocyanin extract of *Lycium ruthenicum* Murr. (AEL) on rats with acute gouty arthritis (AGA), 60 male SD rats were randomly divided into 5 groups, including normal control group, model control group, positive control group, AEL high dose group (238.0 mg/kg) and AEL low dose group (59.5 mg/kg). There were 12 rats in each group. Animals in each group were divided into 2 batches with 6 rats in each batch. After gavage for 2 weeks in the first batch of animals and 4 weeks in the second batch of animals, the rat model of AGA induced by injecting 0.2 mL of 50 mg/mL microcrystalline sodium urate into the right ankle of rats, and the effect of AEL on ankle joint swelling and claudication gait of AGA rats were evaluated. After continued gavage for 5 weeks, hyperuricemia model was induced by feeding 2.5% potassium oxazinate. The serum uric acid

level of rats was measured after modeling at 2 h and 3 h. It was found that compared with the model control group, high dose of AEL after gavage for 2 weeks could significantly alleviate the ankle joint swelling and improve the claudication gait of rats at 6 h after modeling. After gavage for 4 weeks, both high and low doses of AEL could significantly alleviate the ankle joint swelling at 6 h and 24 h and improve the claudication gait of rats at 6 h after modeling, and high doses of AEL could also significantly improve the claudication gait at 24 h after modeling. After 5 weeks of gavage, both high and low doses of AEL could significantly inhibit the increment of serum uric acid induced by potassium oxazinate. The results showed that AEL could significantly improve AGA in rats through anti-inflammatory effect and reducing uric acid.

**Keywords:** anthocyanin extract of *Lycium ruthenicum* Murr.; acute gouty arthritis; ankle joint swelling; claudication gait; serum uric acid

(责任编辑:李 宁)

(上接第 104 页)

To obtain a novel antimicrobial peptide, the sequence length, charge numbers and amino acid composition of this antimicrobial peptides were determined and optimized based on the existing database of antimicrobial peptides. According to the bioinformatics prediction, analysis tools and rational *de novo* design, the novel antimicrobial peptide YHX-1 was designed with the sequence of GKLLSKLLKLLK. The antibacterial activity of YHX-1 against gram-positive and gram-negative bacteria was evaluated by agar diffusion method, minimum inhibitory concentration (MIC), minimum bactericidal concentration and bactericidal kinetic curves. Its stability in salt ion, plasma and slightly acidic environment, secondary structure, hemolytic activity and cytotoxicity were also determined. The results showed that YHX-1 showed good antibacterial activity against six kinds of pathogenic bacteria with 4  $\mu\text{g}/\text{mL}$  of MIC against *Listeria monocytogenes* and *Salmonella typhimurium*, and it could cause a mortality rate of more than 99.99% of *Listeria monocytogenes* within 2 h. YHX-1 showed a certain sensitivity for salt ions (200 mmol/L  $\text{Na}^+$  or 2 mmol/L  $\text{Ca}^{2+}$ ) and 10%–25% plasma which the MIC increased by 2 to 8 times. Furthermore, the MIC of YHX-1 was not significantly affected by slightly acidic environment (pH 5.4–7.4). The results of circular dichroism spectrum showed a typical  $\alpha$ -helix structure of YHX-1. Hemolytic activity and cytotoxicity test showed that YHX-1 had good cell selectivity. The newly designed antibacterial peptide YHX-1 was efficient broad-spectrum bactericidal, highly bactericidal efficient and safe which could be used as a new antibacterial agent for food preservation. The *de novo* design strategy could also provide a reference for designing antimicrobial peptides.

**Keywords:** antimicrobial peptide; *de novo* design; bioinformatics; antibacterial activity; safety

(责任编辑:张逸群)