

## ◆实验研究论著◆

## 骨疏颗粒对去卵巢骨质疏松大鼠骨代谢及子宫指数的影响

毛海琴<sup>1,2</sup>, 杜义斌<sup>1</sup>, 徐莹<sup>1</sup>, 童晓云<sup>1</sup>

1. 云南中医学院第一附属医院, 云南 昆明 650021

2. 广州中医药大学第一临床医学院, 广东 广州 510405

**[摘要]** 目的: 观察骨疏颗粒对去卵巢骨质疏松大鼠骨代谢的影响, 探讨骨疏颗粒防治骨质疏松的可能作用机制 方法: 将3月龄SPF级SD雌性大鼠40只, 随机分为假手术组、模型组、补佳乐(BJL)(戊酸雌二醇)组及骨疏颗粒(GSKL)组 假手术组只行假手术, 其余3组去大鼠双侧卵巢复制绝经后骨质疏松症的模型, 术后第4天开始分别给予对应药物灌胃, 12周后检测血清钙、血清磷、尿钙与尿肌酐比值, 称取子宫重量, 计算子宫指数 结果: 与假手术组比较, 模型组尿钙与尿肌酐比值显著增加( $P < 0.05$ ); 与模型组比较, BJL组及GSKL组尿钙与尿肌酐比值显著降低( $P < 0.05$ ) 各组血钙、血磷无明显变化( $P > 0.05$ )。与假手术组比较, 模型组子宫指数显著降低( $P < 0.05$ ); 与模型组比较, BJL组子宫指数明显增加( $P < 0.05$ ), GSKL组子宫指数略增加, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ ) 结论: 骨疏颗粒能降低骨吸收, 拮抗骨质疏松

[关键词] 骨代谢; 骨质疏松症; 骨疏颗粒; 大鼠

[中图分类号] R589.5 [文献标志码] A [文章编号] 0256-7415 (2015) 02-0213-03

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2015.02.100

Effect of *Gushu* Granule on Bone Metabolism and Uterus Index in Ovariectomized Osteoporosis Rats

MAO Haiqin, DU Yibin, XU Ying, et al

**Abstract:** Objective: To observe the effect of *Gushu* Granule (GG) on bone metabolism in rats with ovariectomy-induced osteoporosis, and to explore its possible protective and therapeutic mechanism for osteoporosis. **Methods:** Forty SD female rats aged three-months were randomly divided into four groups, sham operation group, model group, Bujiale (BJL, estradiol valerate) group and GG group. The sham operation group only received operation for removing some fat, and the other three groups were given ovariectomy. Three days after ovariectomy, the rats were given corresponding drug by intragastric administration for twelve weeks. Serum levels of calcium and phosphorus, and ratio of urine calcium to urine creatinine were detected. The uterus was weighed for calculating uterus indexes. **Results:** The ratio of uterine calcium to uterine creatinine was increased in the model group ( $P < 0.05$  compared with the sham operation group), and was decreased in BJL group and GG group ( $P < 0.05$  compared with the model group). No statistical significant differences of serum levels of calcium and phosphorus were found between the two groups ( $P > 0.05$ ). The uterus indexes was significantly decreased in the model group ( $P < 0.05$  compared with the sham operation group) and then was obviously increased in BJL group ( $P < 0.05$  compared with the model group) while was mildly increased in GG group ( $P > 0.05$ ). **Conclusion:** *Gushu* granule can prevent osteoporosis by depressing bone absorption.

[Keywords] Bone metabolism; Osteoporosis; *Gushu* Granule; Rats

骨质疏松症(osteoporosis, OP)是以骨量减少, 骨组织显微结构退化为特征, 以致骨的脆性增加而易发生骨折的一种

全身性骨病。该病可发生于任何年龄和不同性别, 但以绝经后妇女及老年男性多见。骨疏颗粒是本院治疗 OP 的协定处

[收稿日期] 2014-08-07

[基金项目] 云南省教育厅科学研究基金项目(2011Y410, 2012C034); 云南白药、云南中医学院中医药教育创新基金项目(YB2011J06); 云南中医学院科研基金项目(XK201309); 云南省中医医院院级科研项目(2011YJ034)

[作者简介] 毛海琴(1978-), 女, 讲师, 主要从事中医药防治风湿病研究。

[通讯作者] 杜义斌, E-mail: dybys@126.com

方,临床应用多年,疗效显著。相关的临床研究发现,骨质疏松颗粒可以改善绝经后OP的主要症状,降低骨吸收代谢指标,提高绝经后OP患者腰椎骨密度<sup>[1-4]</sup>。为进一步明确骨质疏松颗粒治疗OP的作用机制,本研究以去卵巢骨质疏松大鼠为研究对象,观察骨质疏松颗粒对骨代谢及子宫指数的影响,结果报道如下。

## 1 材料与方法

**1.1 药品与试剂** 骨质疏松颗粒,由广州中医药大学制剂中心提供;戊酸雌二醇片(补佳乐),拜耳医药保健有限公司广州分公司,国药准字20130009,批号069A2;注射用青霉素,华北制药股份有限公司,国药准字H13020655,批号J3048403。

**1.2 仪器与设备** 电子分析天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司,型号AL204-IC);普通电子天平(沈阳龙腾电子公司,辽制00000131-1);全自动生化分析仪(OLYMPUS AU5400)。

**1.3 动物分组及处理** SPF级SD大鼠,雌性,40只,3月龄,购于广州中医药大学动物实验中心。动物合格证书号:SCXK(粤)2013-0020。将SD雌性大鼠随机分为假手术组10只及造模组30只。造模成功后再将造模组分为模型组、补佳乐(BJL)组、骨质疏松颗粒(GSKL)组3组。每组10只。各组大鼠经10%水合氯醛腹腔注射麻醉(0.3 mL/100 g体重),仰卧位固定。75%酒精消毒,沿下腹正中中线切口2~3 cm。除假手术组,先将“Y”型子宫角暴露,然后结扎子宫角,切除双侧卵巢。假手术组只切除卵巢周围少许脂肪组织。逐层关闭,缝合切口。术后连续肌注青霉素3天,4万U/只。造模组连续阴道涂片2个性周期,示阴道上皮无性周期变化,提示卵巢切除成功。术后所有大鼠每笼5只,在室温22.5~24.0℃及湿度53.0~54.5%的SPF级饲养室饲养。术后第4天开始给药,灌胃的剂量按人与大鼠体表面积折算成大鼠等效剂量。假手术组及模型组灌服蒸馏水1 mL/100 g。BJL组按0.05 mg/(mL·100 g)给药,GSKL组按0.3 g/(mL·100 g)给药。每天上午灌胃1次,连续灌胃12周。大鼠在最后一次灌胃后,禁食12 h,自由饮水。经10%水合氯醛按0.3 mL/100 g体重腹腔麻醉,卧位固定,75%酒精消毒腹部皮肤,腹主动脉取血。

**1.4 尿钙与尿肌酐比值** 用大鼠代谢笼收集大鼠24 h尿液,用全自动生化分析仪测定尿钙及尿肌酐的浓度,计算尿钙与尿肌酐比值。

**1.5 子宫指数** 剥离子宫,称取子宫湿重,按子宫湿重(mg)/大鼠体质量(g)计算子宫指数。

**1.6 血钙、血磷** 腹主动脉取血后,送检验室用全自动生化分析仪测定血清钙及磷。

**1.7 统计学方法** 实验数据采用SPSS15.0统计软件进行处理,多样本均数比较采用单因素方差分析(ONE-WAY ANOVA)进行分析,实验结果以( $\bar{x} \pm s$ )表示。

## 2 实验结果

**2.1 各组血钙、血磷及尿钙与尿肌酐比值比较** 见表1。与假手术组比较,模型组尿钙与尿肌酐比值显著增加( $P < 0.05$ );

与模型组比较,BJL组及GSKL组尿钙与尿肌酐比值显著降低( $P < 0.05$ )。各组血钙、血磷无明显变化( $P > 0.05$ )。

表1 各组血钙、血磷及尿钙与尿肌酐比值比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	血钙(mg/L)	血磷(mg/L)	尿钙/尿肌酐
假手术组	9	11.10±0.19	3.14±0.15	0.210±0.050
模型组	9	10.24±0.20	3.09±0.12	0.510±0.127 <sup>①</sup>
BJL组	8	10.35±0.16	3.11±0.16	0.132±0.047 <sup>②</sup>
GSKL组	10	10.44±0.21	3.13±0.08	0.218±0.049 <sup>②</sup>

与假手术组比较,① $P < 0.05$ ;与模型组比较,② $P < 0.05$

**2.2 各组子宫指数比较** 见表2。与假手术组比较,模型组子宫指数显著降低( $P < 0.05$ );与模型组比较,BJL组子宫指数明显增加( $P < 0.05$ ),GSKL组子宫指数略增加,差异无显著性意义( $P > 0.05$ )。

表2 各组子宫指数比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	子宫指数
假手术组	9	2.507±0.622
模型组	9	0.408±0.064 <sup>①</sup>
BJL组	8	1.820±0.594 <sup>②</sup>
GSKL组	10	0.514±0.082

与假手术组比较,① $P < 0.05$ ;与模型组比较,② $P < 0.05$

## 3 讨论

骨组织是新陈代谢非常活跃的组织,这种代谢的标志为骨吸收和骨形成的代谢藕联,即骨转换。在骨转换过程中产生的一些代谢物,称为骨代谢生化标志物或骨转换标志物。骨转换标志物分为骨形成标志物和骨吸收标志物,前者代表成骨细胞活动及骨形成时的代谢产物;后者代表破骨细胞活动及骨吸收时的代谢产物,特别是骨基质降解产物。通过观察骨代谢生物标志物的水平,可以判断骨转换的状态。绝经后OP的发生是由于妇女的卵巢功能衰退,导致雌激素水平下降,影响骨的吸收,最终主要以骨量降低和骨纤维结构的退行性改变为其特征,在临床上则表现为骨质疏松增加从而增加了骨折发生的几率和风险<sup>[5]</sup>。绝经后OP为高转换型。尿钙与尿肌酐比值是骨吸收标志物之一<sup>[6]</sup>。本研究造模并灌胃12周后,模型组尿钙与尿肌酐比值明显增加,BJL组及GSKL组尿钙与尿肌酐比值明显降低,提示补佳乐及骨质疏松颗粒可以降低骨吸收,这可能是骨质疏松拮抗OP的机制之一。原发性OP血钙、血磷水平一般在正常范围内。本研究血钙及血磷水平各组无明显差异,与临床符合。本研究采用摘除大鼠双侧卵巢复制OP模型,术后连续阴道涂片2个性周期。研究示大鼠阴道上皮性周期变化消失,模型复制成功。实验后,模型组子宫指数较假手术组明显降低,补佳乐可以明显增加子宫指数,骨质疏松颗粒增加子宫指数。提示骨质疏松颗粒有类雌激素样作用,但拮抗OP的作用机制与雌激素不尽相同。

骨疏颗粒由狗脊、骨碎补、淫羊藿、熟地黄、杜仲、知母、黄芪、白术、苍术、三七、羌活、独活等组成。方中狗脊、骨碎补、淫羊藿、熟地黄、杜仲、知母补肾壮骨，黄芪、白术、苍术补益脾气，三七、羌活、独活活血通络止痛，共奏补肾健脾，活血通络止痛之功。现代药理学研究显示，淫羊藿总黄酮能有效防止维甲酸造成的鼠骨量丢失，改善骨组织显微结构，调节骨生成与骨破坏的紊乱状态，从而有效对抗骨质疏松的发生<sup>[6]</sup>。谢雁鸣等<sup>[6]</sup>研究发现，骨碎补总黄酮能调节细胞因子血清白细胞介素(IL)-6、IL-4、肿瘤坏死因子(TNF)- $\alpha$ 水平，显著提高大鼠股骨、腰椎骨密度。杜仲叶醇提取物具有类激素作用，能增进大白鼠骨髓生成和增加其骨质的强度<sup>[7]</sup>。黄芪水提液防止去卵巢大鼠骨丢失的效应与乙烯雌酚相近，但机制不同。黄芪水提液不仅抑制去卵巢后的骨吸收，且能增加体重<sup>[8]</sup>。

综上，本研究提示了骨疏颗粒治疗OP的一部分作用机制，今后将继续研究骨疏颗粒治疗OP的其他可能机制。

#### [参考文献]

[1] 杜义斌, 徐翔峰, 彭江云. 骨疏颗粒治疗老年性骨质疏松症30例疗效观察[J]. 云南中医中药杂志, 2006, 27(5): 15.

- [2] 杜义斌, 吴洋, 段艳蕊, 等. 骨疏颗粒治疗绝经后骨质疏松症临床观察[J]. 新中医, 2013, 45(8): 76-78.
- [3] 张军, 张鹏, 刘忠厚. 绝经后骨质疏松症中医领域存在问题及解决途径[J]. 中国骨质疏松杂志, 2011, 17(5): 460-461.
- [4] 中华医学会骨质疏松与骨矿盐疾病分会. 原发性骨质疏松症防治指南(2011年)[J]. 中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志, 2011, 4(1): 2-11.
- [5] 回连强, 曹春雨, 刘婷, 等. 黔岭淫羊藿总黄酮对抗维甲酸致大鼠骨质疏松作用的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(3): 170-174.
- [6] 谢雁鸣, 许勇钢, 赵晋宁, 等. 骨碎补总黄酮对去卵巢大鼠骨密度和细胞因子IL-6、IL-4、TNF- $\alpha$ 水平的影响[J]. 中国中医基础医学杂志, 2004, 10(1): 34-37.
- [7] 李亚平. 杜仲叶提取物治疗骨质疏松浅见[J]. 四川中医, 1996, 14(9): 16.
- [8] 李朝阳, 吴铁, 黄连芳, 等. 黄芪水提液与己烯雌酚对去卵巢大鼠骨代谢的影响[J]. 中草药, 1998, 29(1): 27-30.

(责任编辑: 骆欢欢)

## 高效液相色谱法测定不同产地葛根中葛根素、大豆苷元的含量

倪从蓉

乐清市中医院, 浙江 乐清 325600

**[摘要]** 目的: 建立采用高效液相色谱法测定不同产地葛根中葛根素、大豆苷元含量的方法, 为控制药材治疗提供参考。方法: 采用 Hypersil ODS2 C<sub>18</sub> 色谱柱, 流动相为水-甲醇, 梯度洗脱, 流速: 1 mL/min; 检测波长为 250 nm, 柱温为室温。结果: 葛根素在 0.020~10.1  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$  的浓度范围内呈现良好的线性关系, 平均回收率为 99.8%, 相对标准偏差 (RSD) 为 3.25%; 大豆苷元在 0.013~6.56  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$  的浓度范围内呈现良好的线性关系, 平均回收率为 98.9%, RSD 为 2.43%。结论: 该方法可用于不同产地葛根药材中葛根素、大豆苷元的含量测定, 且具有简便、快捷、重复性好等特点, 可为不同产地葛根质量的控制提供依据。

**[关键词]** 高效液相色谱法; 葛根; 葛根素; 大豆苷元

**[中图分类号]** R284 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0256-7415 (2015) 02-0215-03

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2015.02.101

葛根为豆科植物甘葛藤(Puerariu thomsonil Benth)的干燥根, 在我国南方地区分布较广, 具有解肌退热、生津止渴、

通经活络的功效, 临床主要用于外感发热、麻疹不透、眩晕头痛、中风偏瘫等<sup>[1-3]</sup>。现代研究表明, 葛根中含有大量的葛根

**[收稿日期]** 2014-09-25

**[作者简介]** 倪从蓉 (1974-), 女, 主管中药师, 研究方向: 中药调剂。