

骨碎补对大鼠实验性骨损伤愈合的影响[△]

中国药科大学(南京210038) 周铜水* 刘晓东 周荣汉

摘要 用大鼠后腿股骨下端实验性骨损伤模型,研究了槲蕨、中华槲蕨以及槲蕨根茎主成分柚皮甙对骨损伤的影响。经Ridit分析,结果表明,它们对大鼠实验性骨损伤的愈合均有促进作用。

关键词 骨碎补 槲蕨 中华槲蕨 柚皮甙 骨损伤愈合

骨碎补为较常用中药,有补肾强骨、续伤止痛等功效,用于肾虚腰痛、耳鸣耳聋、筋骨骨折等症的治疗^[1]。现代药理实验表明骨碎补可减轻卡那霉素对耳蜗的毒性作用^[2];对心肌细胞有起搏作用,并能增强搏动频率^[2];对骨关节软骨有刺激细胞代偿性增生的作用,并能部分改善由于力学应力线改变造成的关节软骨的退行性变,从而降低骨关节病变率^[4]。但对其促进骨损伤愈合作用,及其相应的活性成分,尚无研究报道。为此,作者采用大鼠后腿股骨下端骨损伤模型,验证了槲蕨和中华槲蕨根茎水煎液对于骨损伤愈合的促进作用,并初步研究了其活性成分。

1 材料与方法

材料: 槲蕨(采自安徽省石台县),中华槲蕨(采自甘肃省天水市)均制成水煎剂,浓度(含生药)40g/ml。柚皮甙粗晶(本室分离和鉴定)配成浓度0.4g/ml(相当于原生药40g/ml)。盐酸四环素粉针剂(南京军区门诊部提供)。

动物: SD大鼠(本校动物房提供)。

动物模型及实验方法: SD大鼠60只,雌雄各半,体重180~200g,用30%戊巴比妥钠腹腔注射麻醉,在无菌条件下在后腿股骨下端中部造成3mm宽、2mm深的缺损,随机分成6组,每组10只,即5个给药组和一个空白对照组。从手术后第2天开始灌胃给药,槲蕨3个剂量组,即:10、20、30g/kg;中华槲蕨1个剂量组10g/kg;柚皮甙1个剂量组,其混悬液浓度相当于原生药20g/kg;对照组灌生理盐水。连续14d,并于第14天按50mg/kg剂量肌注四环素,24h后处死并取出骨标本,固定于福尔马林液中。

效果观察: 首先观察创口外观,记录愈合程度及软硬度等;再从创口中部分断,于紫外光灯下观察新生骨厚度及荧光强度;最后分别取不同愈合程度的骨标本各2份,进行电子显微镜观察。疗效分3个等级,判别标准如表1所示。

2 结果

2.1 不同剂量的槲蕨根茎对大鼠实验性骨损伤愈合的影响: 按表1的判别标准,不同剂量的槲蕨根茎对大鼠实验性骨损伤影响的外观和横断面荧光观察结果见表2、3。给药组与对照组相比,对骨损伤愈合有明显的促进作用,作用强度随剂量增加而加强。用Ridit分析表明,10g/kg组与对照组差异不显著($P>0.05$),而20g/kg组和30g/kg组与对照组存在显著差异, P 值分别为 <0.05 和 <0.01 。说明槲蕨根茎水煎剂有促进骨损伤愈合的作用。

2.2 中华槲蕨根茎的疗效观察: 给药剂量为20g/kg的中华槲蕨根茎对大鼠实验性骨损伤愈合的影响。观察结果见表4、5,提示中华槲蕨根茎水煎液对大鼠实验性骨损伤愈合有促进作用。

* Address: Zhou Tongshui, China Pharmaceutical University, Nanjing

△国家自然科学基金资助项目

表1 效果判别标准

观察方法	I级	II级	III级
外观	创口愈合很浅, 表面凹凸不平	愈合较好, 表面平整, 但未与原创面平齐, 表面平整, 新生骨软而脆	愈合较完全, 基本与原创面平齐, 表面平整, 新生骨较硬
横断面荧光	新生骨很薄, 荧光极弱	新生骨较厚, 荧光强	新生骨较厚, 荧光弱
横断面电镜观察 (图I)	新生骨很薄	新生骨厚, 骨质分化不明显 (图II)	新生骨厚, 分化明显 (图III)

2.3 柚皮甙粗晶的疗效观察: 为了寻找槲蕨根茎的活性成分, 观察了柚皮甙粗晶对大鼠实验性骨损伤愈合的影响, 结果见表4。与对照组相比, 用药组骨损伤愈合程度显著高于对照组。

2.4 槲蕨、中华槲蕨和柚皮甙作用比较: 比较同剂量 (20g/kg) 的槲蕨、中华槲蕨和柚皮甙对大鼠实验性骨损伤的作用效果, 结果见表5。3种药物的作用程度相当, 柚皮甙粗晶的作用与槲蕨根茎的作用无显著差异, 提示柚皮甙是槲蕨根茎的主要活性成分。

表4 外观和荧光观察

组别	动物数 (只)	外观结果			荧光结果		
		I	II	III	I	II	III
对照组	9	7	2	0	7	2	0
柚皮甙粗晶	10	3	4	3**	3	4	3**
中华槲蕨	7	0	5	2***	0	5	1***

*P<0.05 **P<0.05 ***P<0.01 (下同)

表5 不同效果外观和不同药物效果荧光比较

组别	动物数 (只)	不同效果外观			不同药物效果荧光		
		I	II	III	I	II	III
槲蕨	10	3	7	0	3	7	0
柚皮甙粗晶	10	3	4	3*	3	4	3*
中华槲蕨	7	0	5	2**	0	6	1*

表2 不同剂量槲蕨根茎对大鼠骨损伤愈合影响荧光观察

剂量 (g/kg)	动物数 (只)	结果		
		I	II	III
对照	0	7	2	0
10	10	6	4	0*
20	10	3	7	0**
30	7	1	2	4***

*P>0.205 **P<0.05 ***P<0.01

表3 不同剂量槲蕨根茎对大鼠骨损伤愈合影响外观观察

剂量 (g/kg)	动物数 (只)	结果		
		I	II	III
对照	9	7	2	0
10	10	6	4	0*
20	10	3	7	0**
30	7	1	2	4***

*P>0.05 **P<0.05 ***P<0.01

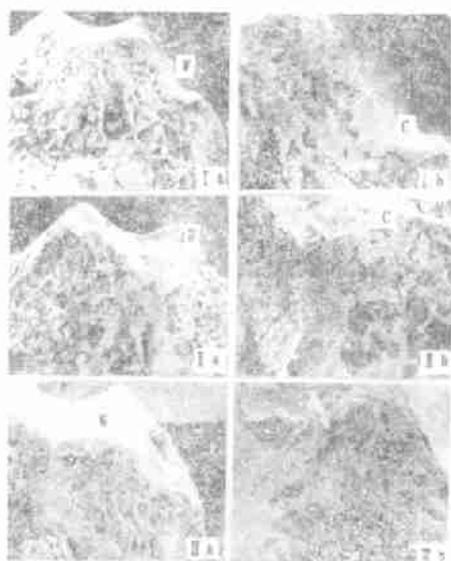


图 骨损伤口横断面电镜观察

I—1级 II—2级 III—3级 (a×12, b×30) W—创面表面 C—骨面横断面

讨论

3.1 实验结果表明, 槲蕨根茎水煎液对实验性大鼠骨损伤愈合有促进作用, 随剂量增加, 作用增强; 中华槲蕨根茎水煎液也具有类似作用; 槲蕨根茎主成分柚皮甙与相当剂量的生药作用效果相当, 说明柚皮甙可能是槲蕨促进骨损伤愈合作用的主要活性成分。

(下转第258页)

小鼠口服貳甲后，药物从胃肠道消失较快。离体胃及小肠孵育实验结果提示，貳甲在胃肠道受到一定程度的破坏，尤其是在胃中。这与貳甲灌胃所显示的抗瘤效果较低的结果相一致。

药物与血浆蛋白的结合程度，对其在体内分布、代谢等影响颇大。貳甲与血浆蛋白结合率较低，易从血液内消失，因而不产生蓄积毒性作用。貳甲在体内的分布广，但在肝、脾、血和肺等组织或器官内含量高，这样分布的相对特异性为我们使用貳甲来治疗肿瘤提供了条件。貳甲在心、肾和脑内的含量低，这一特点有利于减少它对这些器官的副作用。

参 考 文 献

- 1 Yu L J, et al. Thesis Selection, International Scientific Conference on Traditional Chinese Medicine, Shenyang, China: 1991. 740
- 2 马润娣, 等. 科学通报, 1991, 36: 1421
- 3 Yu L J, et al. Int J Cancer, 1992, 50: 63
- 4 王永清, 等. 中国中药杂志, 1993, 18(6): 355
(1992-02-10收稿, 1993-08-07修回)

(上接第250页)

3.2 化学成分研究结果表明，中华槲蕨和槲蕨根茎所含的黄酮类成分不同，总黄酮含量也有显著差异。对于其化学成分与疗效间的关系，有待进一步研究。

3.3 本实验采用大鼠后腿股骨下端制作骨损模型，并利用四环素与新生骨结合产生荧光的特性辅助进行效果判别，实验证明本模型具有制作简便、实验周期短、结果可靠等优点。

参 考 文 献

- 1 江苏新医学院. 中药大辞典. 上海: 上海人民出版社, 1979. 1658
- 2 广西医学院耳鼻喉科. 新医学, 1977, 8(4-5): 168
- 3 王维信, 等. 中国药学会庆祝建会80周年学术会议. 1987. 06-k-2
- 4 赵湘洪, 等. 中药通报, 1987, 12(10): 41
(1993-04-02收稿)

山番荔枝中的细胞毒生物碱

Wu Yangchang, et al. Phytochem, 1993, 33(2): 497

山番荔枝 *Annona montana* 为一种常绿小树，原产印度和巴西，后移植到我国台湾。其中有多种生物碱，其甲醇提取物在体外筛选中对人KB细胞、A-549肺癌、HT-29结肠癌细胞及鼠类P-388及L-1210白血病有细胞毒作用。今报道从该提取物中分得1个新非类生物碱，定名annoretine, $C_{19}H_{19}NO_2$ ，油状物经光谱及化学分析证明其为3-羟基-4-甲氧基-N-甲基-四氢吡啶(4, 3-a)非(I)，见图。

本品对KB细胞、P-388、A-549及HT-29等细胞的 ED_{50} 分别为14.47、3.33、4.46及2.51 μ g/ml。

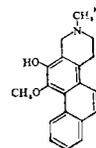


图 I 结构式
(史玉俊摘译)

Wang Qiang, Yang Xianrong and Chen Jinquan

Three species of borneol from different origins, namely Borneol Camphor (extracted from *Dryobalanops aromatica* Gaerth. f.), Balsamiferous Blumea Borneol (extracted from *Blumea balsamifera* DC.) and synthetic borneol, were studied by macroscopic and microscopic identification and GC method. Their differences were revealed. The amount of borneol and isoborneol in the samples were determined.

(Original article on page 241)

Quantitative Determination of Tetrandrine in "Zhitong Ruanjiaonang" —An Analgesic Soft Gelatine Capsule Preparation

Ni Long, Zeng Xiaoying, et al

A method for the quantitative determination of tetrandrine in "Zhitong Ruanjiaonang" was developed by means of TLC densitometry. The method is easy, rapid, accurate, and reproducible. The average recovery was 99.98%.

(Original article on page 245)

Effect of "Gusuibu" on Healing of Experimental Rat Bone-Injury

Zhou Tongshui, Liu Xiaodong and Zhou Ronghan

Fracture healing activity of aqueous extracts of rhizome of *Drynaria fortunei* (Kunze) J. Sm., *D. sinica* Diels ("Gusuibu"), and its main constituent naringin were examined and confirmed with an experimental bone-injury model rat femur inferior. Results showed that they were effective for healing of experimental rat bone-injury.

(Original article on page 249)

Effects of Fatty Oil of Acute Common Perilla (*Perilla frutescens*) on the Learning and Memory of Mice

Zhou Dan, Han Daqing, and Wang Yongqi

Different doses of fatty oil of *Perilla frutescens* var. *arguta* (Benth.) Hand. -Mazz. (ig) to mice for 15 days can decrease errors in step-down test, improve percentage of accuracy and shorten the time to reach their goal in water maze experiments. It also facilitate the synthesis of RNA, DNA and proteins in brain and regulates the level of monoamine-like neurotransmitters. The above results indicated that fatty oil of *P. frutescens* var. *arguta* can improve learning and memory in mice related to the synthesis of RNA, DNA, proteins and neurotransmitters in brain.

(Original article on page 251)