

改善微循环、抑制自由基产生、阻止脂质过氧化的作用^[11]。因而,推测复方丹参滴丸浸膏改善葡萄糖代谢的作用机制可能是通过启动骨骼肌细胞 Glut-4 转录,上调 Glut-4 mRNA 表达,改善胰岛素受体后信号转导途径,进而调节葡萄糖代谢,丹参素可能是复方的有效成分,且在三七、冰片的协同效应下,复方的作用明显优于单体丹参,说明复方还有其他的物质基础,其确切的物质基础及作用机制有待深入研究。

参考文献:

[1] Watson R T, Pessin J E. Intracellular organization of insulin signaling and GLUT4 translocation [J]. *Recent Prog Horm Res*, 2001, 56: 175-193
 [2] 郭治昕. 复方丹参滴丸的中药现代化研究 [J]. 中国中医药信息杂志, 2000, 7(4): 14-15
 [3] 郭治昕, 赵利斌, 王 蕾, 等. 复方丹参滴丸基础研究新进展 [J]. 中草药, 2003, 34(3): 附 4-附 5
 [4] 丁 宁. 复方丹参滴丸的研究进展及临床应用 [J]. 中草药, 2002, 33(12): 1147-1148

[5] 吕 捷, 李玉成. 成人骨骼肌细胞原代培养 [J]. 神经解剖学杂志, 2001, 17(1): 75-76
 [6] 孙莉敏, 胡永善. 骨骼肌细胞葡萄糖载体 4 调控的研究进展 [J]. 中华物理医学与康复杂志, 2000, 22(6): 376-378
 [7] Holten M K, Zacho M, Gaster M, et al. Strength training increases insulin-mediated glucose uptake, GLUT4 content, and insulin signaling in skeletal muscle in patients with type 2 diabetes [J]. *Diabetes*, 2004, 53(2): 294-305
 [8] Ju J S, Smith J L, Oppelt P J, et al. Creatine feeding increases GLUT4 expression in rat skeletal muscle [J]. *Physiol Endocrinol Metab*, 2005, 288(2): E347-E352
 [9] Gaster M, Staehr P, Beck-Nielsen H, et al. GLUT4 is reduced in slow muscle fibers of type 2 diabetic patients: is insulin resistance in type 2 diabetes a slow, type 1 fiber disease? [J]. *Diabetes*, 2001, 50(6): 1324-1329
 [10] Begum N, Ragolia L. High glucose and insulin inhibit VSMC MKP-1 expression by blocking iNOS via p38 MAPK activation [J]. *Physiol Cell Physiol*, 2000, 278(1): C81-C91
 [11] Sugihara H, Funatsumaru S, Yonemitsu N, et al. A simple culture method of fat cells from mature fat tissue fragments [J]. *Lipid Res*, 1989, 30(12): 1987-1995
 [12] 刘志扬. 复方丹参滴丸对 2 型糖尿病合并微血管病变的临床观察 [J]. 中国血流变学杂志, 2004, 14(2): 197-203

巴戟天多糖对骨质疏松大鼠骨密度及血清微量元素的影响

朱孟勇¹, 赫长胜², 王彩娇^{1*}

(1. 浙江省台州市中心医院 骨科, 浙江 台州 318000; 2 青岛市胶州区中心医院, 山东 青岛 266300)

摘要:目的 探讨巴戟天多糖对切除卵巢后骨质疏松大鼠骨密度及血清微量元素的影响。方法 切除大鼠双侧卵巢, 建立骨质疏松模型, 造模后分别给予巴戟天多糖 (100、300 mg/kg) 干预, 给药 30 d 后检测大鼠骨密度及骨矿物质、血清 IL-6 和 TNF- α 水平、血清微量元素水平。结果 巴戟天多糖组大鼠骨密度及骨矿物质水平高于模型组, 血清 IL-6、TNF- α 表达水平低于模型组, 骨矿物质及血清微量元素水平高于模型组, 并且高剂量作用显著。结论 巴戟天多糖能够提高切除卵巢后骨质疏松大鼠骨密度, 其可能通过调节血清微量元素水平及 IL-6、TNF- α 表达水平发挥作用。

关键词: 巴戟天多糖; 骨质疏松; 切除卵巢; 骨密度; 微量元素

中图分类号: R286.1 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2010)09-1513-03

骨质疏松是以骨质量下降为主要表现的退行性骨病, 临床发病率高, 相对骨折发病率在 50 岁以上男性与女性分别高达 1/3 与 1/5, 是影响老年人生活质量的主要疾病之一。骨质疏松发病机制复杂, 与生活方式、激素分泌代谢和基因遗传等多因素相关, 中医药治疗骨质疏松取得了肯定的临床效果, 目前含有治疗骨质疏松的有效成分的中药正逐渐成为临床研究的热点。巴戟天是两种茜草科植物杂交品种, 具有补肾阳、健筋骨的作用, 现代研究证实, 巴戟

天含有多种有效成分, 如 β -蒽醌、甲基-异茜草素、2, 4-二乙基胆固醇、维生素 C、多糖^[1] 等, 具有抗氧化、利尿及保护肾脏的作用^[2], 具有明显的抗炎止痛作用, 可以治疗关节炎症^[3]。在传统医药上, 用来健骨保肾, 消肿止痛, 治疗骨质疏松及股骨头坏死等骨科疾病^[4]。此外, 巴戟天尚有补中益气, 温精升阳作用, 能够治疗胃肠疾病和男科疾病^[5-6]。动物实验表明^[7], 巴戟天具有促进骨质合成, 减少骨溶解的作用。研究显示, 巴戟天用于治疗骨质疏松安全有效,

* 收稿日期: 2009-12-15
 基金项目: 浙江省台州市 A 级课题项目 (090114051)
 作者简介: 朱孟勇 (1974-), 男, 浙江台州人, 研究生。E-mail: zhumengyong163@163.com
 * 通讯作者 王彩娇 T el: 13586091878

动物试验未发现严重的不良反应^[8],能够有效预防骨质疏松后骨折发生^[9-10]。本实验通过切除大鼠卵巢建立骨质疏松模型,检测骨密度、血清细胞因子水平及血清矿物质水平变化,探讨巴戟天多糖对骨质疏松的保护作用。

1 材料与方法

1.1 巴戟天多糖的提取:干燥巴戟天根茎(广东肇东产)研磨成粉末,加蒸馏水(质量比 1:25)加热至 75℃,煎煮 4 h,得到巴戟天浸膏,冷却后加入 95% 乙醇(质量比 1:4),置于 2℃ 冰箱内过夜,沉淀,离心得巴戟天多糖,低压冻干,制成红褐色巴戟天多糖粗品,经去蛋白及膜滤过,凝胶柱分离。提纯得到白色粉末状巴戟天多糖(多糖质量分数达到 90%,硫酸-萘酚法测定),结构分析由浙江大学附属医院中心实验室完成。

1.2 实验动物与分组:健康清洁级雄性 SD 大鼠 32 只,12 月龄,体质量(330±10)g,购自中国科学院上海实验动物中心,动物检验合格证号:0002837,室温 19~23℃ 室内饲养,每日 12 h 光照,定量给食,自由饮水。动物适应环境后,随机数字表法分为 4 组:对照组、模型组,巴戟天多糖(100、300 mg/kg)组。

1.3 模型建立:模型组及巴戟天多糖组大鼠经苯巴比妥钠(110 mg/kg) ip 麻醉后,经腰背部切口切除双侧卵巢,对照组同样方法翻动双侧卵巢,手术后分笼饲养。4 周后给药组予巴戟天多糖干预,ig 给药,对照组及模型组 ig 相同体积生理盐水,连续给药 30 d。

1.4 标本采集及检测:处死动物,经腹主动脉取血,分离血清,贮存于 -80℃ 冰箱。应用 ELISA 试剂盒双夹心抗体法(南京建成生物工程研究所提供)检测白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子-α(TNF-α)及微量元素(严格按照说明书操作)。取股骨,除去肌肉和软组织,经 95% 乙醇固定后,应用双能 X 线

机(Aloka, DCS-600,日本)检测骨密度及干骺端单位面积内矿物质的量。

1.5 统计学分析:数据处理采用 SPSS 11.5 软件完成,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素方差分析(one-way analysis of variance, ANOVA)进行组间检验,组间相关性采用 Pearson 相关性检验。

2 结果

2.1 对股骨骨密度的影响:给药前各组股骨的骨密度无显著差异($P > 0.05$),给药后模型组骨密度低于对照组($P < 0.01$),巴戟天多糖干预组高于模型组($P < 0.01$),高剂量组优于低剂量组。见表 1。

表 1 巴戟天多糖对去卵巢大鼠股骨骨密度及血清中 IL-6 和 TNF-α 水平的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 1 Effect of polysaccharide from *Morindae Officinalis Radix* on bone density, and IL-6 and TNF-α levels in serum of ovariectomy rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	骨密度/(g·cm ⁻²)		IL-6/ (pg·mL ⁻¹)	TNF-α/ (ng·mL ⁻¹)
		给药前	给药后		
对照	-	0.182±0.011	0.183±0.013	69.23±1.57	6.04±0.24
模型	-	0.167±0.013**	0.160±0.011**	83.26±2.07**	38.41±0.11**
巴戟天多糖	100	0.169±0.012**	0.198±0.017 ^{△△}	77.35±1.53 ^{△△}	7.58±0.17 ^{△△}
	300	0.162±0.011**	0.213±0.015 ^{△△}	70.63±1.93 ^{△△}	7.22±0.20 ^{△△}

与对照组比较: ** $P < 0.01$ 与模型组比较: ^{△△} $P < 0.01$

** $P < 0.01$ vs control group; ^{△△} $P < 0.01$ vs model group

2.2 对血清 IL-6、TNF-α 水平的影响:模型组血清 IL-6、TNF-α 水平高于对照组($P < 0.01$),巴戟天多糖干预组血清 IL-6、TNF-α 水平低于模型组($P < 0.01$)。见表 1。

2.3 对股骨矿物质水平的影响:模型组血清微量元素水平降低($P < 0.05$),同模型组相比,巴戟天多糖干预组微量元素水平增高($P < 0.05$),且高剂量作用强于低剂量。见表 2。

3 讨论

骨质疏松是一种骨骼骨密度降低、微结构断裂,伴有非胶原蛋白质量和数量改变的骨病。常见于绝经期后女性,与雌激素分泌及代谢异常有关。骨质

表 2 巴戟天多糖对去卵巢大鼠血清矿物质和微量元素的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 2 Effect of polysaccharide from *Morindae Officinalis Radix* on mineral matter and trace element in serum of ovariectomy rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	血清微量元素/(mg·cm ⁻³)						
		Ca	P	Mg	Zn	Mn	Cu	Fe
对照	-	258.81±13.09	155.45±8.54	5.47±0.26	300.58±12.64	11.37±0.98	41.47±1.68	131.56±8.79
模型	-	218.37±5.83**	125.35±2.53**	4.71±0.26**	251.14±4.81**	8.13±0.33**	31.33±1.07**	111.95±5.39**
巴戟天多糖	100	237.21±6.12 ^{△△}	133.71±5.01 ^{△△}	5.17±0.18 ^{△△}	271.42±5.11 ^{△△}	8.92±0.41 ^{△△}	38.41±2.88 ^{△△}	125.06±2.64 ^{△△}
	300	245.27±5.19 ^{△△}	149.32±2.77 ^{△△}	5.14±0.32 ^{△△}	283.11±3.47 ^{△△}	10.28±0.97 ^{△△}	43.72±1.92 ^{△△}	128.14±4.03 ^{△△}

与对照组比较: ** $P < 0.01$ 与模型组比较: ^{△△} $P < 0.01$

** $P < 0.01$ vs control group; ^{△△} $P < 0.01$ vs model group

疏松的预防及治疗,临床多采用激素替代疗法,但其严重的不良反应影响了临床应用,传统的中医药治疗及预防骨质疏松,近年来取得了较好的临床效果。中医认为,骨质疏松与肾虚诸症密切相关,属骨痹范畴,含有补肾作用的中药对骨质疏松具有肯定的治疗及预防作用。

IL-6 是由 T 细胞和巨噬细胞、成纤维细胞、血管中层的平滑肌细胞分泌的具有促炎和抗炎双重作用的细胞因子,在组织损伤时 IL-6 表达水平增高明显。IL-6 能通过抑制 TNF- α 、IL-1 激活 IL-1ra 和 IL-10 发挥抗炎作用,能够抑制成骨细胞成熟,增加骨吸收,是能够导致骨量减少的细胞因子^[11]。雌激素治疗骨质疏松时,抑制 IL-6 的表达,是其发挥治疗作用的途径之一^[12]。本实验结果显示,切除卵巢后大鼠骨密度降低,血清 IL-6 及 TNF- α 的水平升高,血清微量元素水平下降,给予巴戟天多糖干预后,大鼠骨密度增加,血清 IL-6 及 TNF- α 水平下降,血清微量元素水平增加,并且呈剂量依赖性,高剂量组的血清微量元素及 IL-6、TNF- α 水平变化更为明显,骨密度改善更为显著,说明巴戟天多糖对切除卵巢后的大鼠骨密度具有改善作用,能够拮抗雌激素缺乏引起的骨质疏松^[13],其对骨密度的改善作用,可能与降低血清的 IL-6、TNF- α 表达水平,进而刺激成骨细胞成熟,促进骨质形成有关^[11]。同时,巴戟天对血清 Ca、Mg、P、Fe、Zn 等矿物及微量元素的上调作用,所引起的骨质中矿物质的沉积作用,也是增加骨密度的原因之一^[14]。结果显示,巴戟天多糖能够有效改善去卵巢骨质疏松大鼠的骨密度,预防或减缓骨质疏松的发生及病情进展,发挥抗骨质

疏松作用。

参考文献:

- [1] 刘晓涵,陈永刚,林 励,等. 不同产地巴戟天中糖类成分 HPLC-ELSD 指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2009, 40(10): 1644-1643
- [2] Li Y F, Gong Z H. Inhibition of the oligosaccharides extracted from *Morinda officinalis*, a Chinese traditional herbal medicine, on the corticosterone induced apoptosis in PC12 cells [J]. *Life Sci*, 2003, 72(8): 933-942
- [3] Ai H, Wang F R, Yang Q S, et al. Preparation and biological activities of chitosan from the larvae of housefly, *Musca domestica* [J]. *Carbohydr Polym*, 2008, 72: 419-423
- [4] 李文顺,孙克民,王和鸣. 复方巴戟天合剂治疗股骨头缺血性坏死的临床研究 [J]. 中国中医骨伤科杂志, 2006, 14(2): 48-50
- [5] Li R W, Myers S P, Leach D N, et al. A cross-culture study: anti-inflammatory activity of Australian and Chinese plants [J]. *J Ethnopharmacol*, 2003, 85(1): 25-32
- [6] Wang Z M, Li L, Zheng B S, et al. Preparation and anti-coagulation activity of sodium cellulose sulfate [J]. *Int J Biol Macromol*, 2007, 41(4): 376-382
- [7] McClatchey W. From Polynesian healers to health food stores: Changing perspectives of *Morinda citrifolia* (Rubiaceae) [J]. *Integr Cancer Ther*, 2002, 1(2): 110-120
- [8] Seo B I, Ku S K, Cha E M, et al. Effect of *Morinda Radix* extracts on experimental osteoporosis in sciatic neurectomized mice [J]. *Phytother Res*, 2005, 19(3): 231-238.
- [9] Youn Y N, Lim E, Lee N, et al. Screening of Korean medicinal plants for possible osteoclastogenesis effects *in vitro* [J]. *Genes Nutr*, 2008, 2(4): 375-380
- [10] New S A, Robins S P, Campbell M K, et al. Dietary influences on bone mass and bone metabolism: Further evidence of a positive link between fruit and vegetable consumption and bone health [J]. *Am J Clin Nutr*, 2000(71): 142-151.
- [11] Ralston S H. Analysis of gene expression in bone biopsies by polymerase chain reaction: evidence of enhanced cytokine expression in postmenopausal osteoporosis [J]. *J Bone Miner Res*, 1994, 9(6): 883
- [12] Maggio M, Basaria S, Ble A, et al. Correlation between testosterone and the inflammatory marker soluble interleukin-6 receptor in older men [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2006(91): 345-347.
- [13] Vetricka V, Dvorak B, Vetrickova J, et al. Orally administered marine (1 \rightarrow 3)- β -D-glucan Phycarine stimulates both humoral and cellular immunity [J]. *Int J Biol Macromol*, 2007, 40: 291-298.
- [14] Kamanyi A, Njamen D. Hypoglycaemic properties of the aqueous root extract of *Morinda lucida* (Benth) (Rubiaceae). Studies in the mouse [J]. *Nkeh Phytother Res*, 1994(8): 369-371.

《现代药物与临床》杂志征稿、征订启事

《现代药物与临床》杂志(CN 12-1407/R, ISSN 1674-5515) 是国家级医药科技期刊,为中国药学会系列期刊。2009 年 1 月由《国外医药·植物药分册》更名为《现代药物与临床》,并被 CNKI 中国期刊全文数据库、中国核心期刊(遴选)数据库等收录。为了提高期刊质量,2010 年出版的《现代药物与临床》全新改版,更加突出创新性与实用性,紧跟国内外药学发展趋势,适时追踪热点,从栏目内容、文章质量,到封面版式、装帧印刷都得到了全面的提升与改进。

办刊宗旨:报道国内外药物研究的新进展与新技术,以及药物在临床应用方面的最新动态,为新药研发、生产人员以及临床医生与药剂师合理用药提供有益的参考。

内容与栏目:涵盖药物的基础研究与临床研究各学科,设置“专论与综述”、“实验研究”、“临床研究”、“未来药物”、“药事管理”、“知识产权”、“药物经济学”和“市场信息”等栏目。“专论与综述”栏目除报道植物药研究的最新进展外,诚征有关药物与临床研究前沿的前瞻性文章。

读者对象:药物研发、生产、监管人员,以及临床医生与药剂师。

《现代药物与临床》双月刊,国内外公开发行,封面铜板彩色覆膜。为扩大信息量、缩短出版周期,本刊由 64 页扩版为 80 页;为惠顾广大读者,改版不提价,每期定价仍为 15 元,全年 90 元。本刊自办发行,请直接与编辑部联系订阅。本刊网上在线投稿、审稿、查询系统正式开通,欢迎投稿、欢迎订阅!

地址:天津市南开区鞍山西道 308 号(300193)

网址:www.中草药杂志社.中国或 www.tiprpress.com

开户银行:兴业银行天津南开支行

电话/传真:(022)23006823

邮箱:dc@tiprpress.com; modernpharm@163.com

账号:441140100100081504

户名:天津中草药杂志社