

· 药物研究 ·

墨旱莲对维甲酸所致大鼠骨质疏松症的药效学研究

程敏^{1*} 刘雪英² 邓雅婷³ 王庆伟⁴

1. 商洛学院生物医药与食品工程学院, 陕西 商洛 726000

2. 第四军医大学药化教研室, 陕西 西安 710032

3. 西安医学院药理教研室, 陕西 西安 710021

4. 第四军医大学第二附属医院药剂科, 陕西 西安 710038

中图分类号: R28 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2016) 10-1318-06

摘要: **目的** 探讨中药墨旱莲对维甲酸所致大鼠骨质疏松症的药效作用。**方法** 3月龄 SPF 级雌性 SD 大鼠 60 只, 随机分为正常对照组、模型组(RA, 75 mg/(kg·d)), 墨旱莲组(1.46、0.73、0.37 g/(kg·d)), 仙灵骨葆组(1.5 g/(kg·d))。除正常组外, 其余各组给予维甲酸造模 2 w, 造模同时给予墨旱莲、仙灵骨葆。实验过程每日称量体重, 连续给药 6w 后测定血钙(S-Ca)、血磷(S-P)、血清中碱性磷酸酶(ALP)和骨钙素(OCN)的水平, 尿液中钙(U-Ca)、磷(U-P)、脱氧吡啶啉(DPD)的水平。采用 DXA 型骨密度仪检测大鼠的股骨、第 4 椎骨、胫骨的骨密度(bone mineral density, BMD)。三点弯曲试验检测左侧股骨生物力学性能: 最大载荷、结构硬度、能量吸收、最大应力、弹性模量。MicroCT 法分析右侧股骨骨微结构。**结果** 墨旱莲 1.46 g/(kg·d) 能显著升高模型组大鼠的血钙水平, 同时降低尿钙、ALP、OCN 和 DPD ($P < 0.05$) 水平。与模型组相比, 墨旱莲 1.46 g/(kg·d) 对维甲酸所致骨质疏松大鼠的股骨、第四椎骨及胫骨骨密度分别提高 8.17%、11.79%、14.59% ($P < 0.05$), 对最大载荷、结构硬度、能量吸收、最大应力、弹性模量等生物力学参数分别提高 13.98%、16.33%、40.18%、12.45%、34.96% ($P < 0.05$), 同时能有效抑制维甲酸所致大鼠股骨干骺端骨小梁微结构的退化 ($P < 0.05$)。**结论** 墨旱莲 1.46 g/(kg·d) 对维甲酸所致大鼠的骨质疏松症有防治作用, 其作用机制可能与增强钙吸收、促进成骨细胞活性、降低骨转换率有关。

关键词: 墨旱莲; 维甲酸; 骨质疏松; 药效学**Pharmacodynamics of Herba Ecliptae on retinoic acid induced osteoporosis in rats**CHENG Min^{1*}, LIU Xueying², DENG Yating³, WANG Qingwei⁴

1. College of Biopharmaceutical Engineering and Food Science, Shangluo University, Shangluo 726000, China

2. Department of Medicinal Chemistry, Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China

3. Department of Pharmacology, Xi'an Medical College, Xi'an 710021, China

4. Department of Pharmacy, The Second Affiliated Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an 710038, China

Corresponding author: CHENG Min, Email: exitxiaobai@163.com

Abstract: Objective To investigate the protective effect of Herba Ecliptae on bone in retinoic acid-induced osteoporosis in rats.

Methods A total of 60 adult female Sprague-Dawley rats were randomly divided into control group, retinoic acid group (RA, 75 mg/(kg·d)), Herba Ecliptae group (1.46, 0.73, 0.37 g/(kg·d)) and Xianling Gubao group (1.5 g/(kg·d)). All groups except the control group were orally administered with retinoic acid daily, continuous for 14 days. Modeling and administration of Herba Ecliptae and retinoic acid were done at the same time. The body weight of the animals was recorded weekly during the experimental period. After 6 weeks of dosing, calcium (S-Ca), phosphorus (S-P), alkaline phosphatase (ALP) and osteocalcin (OCN) in serum, calcium (U-Ca), phosphorus (U-P) and deoxypyridinoline (DPD) in urine were measured. The bone mineral density (BMD) of the femur, 4th lumbar vertebra and tibia were assayed by Dual Energy X-ray Absorptiometry. The biomechanical properties of left femur were evaluated by three-point bending test and the trabecular microarchitecture of the right femur was measured by MicroCT. **Results** Administration Herba Ecliptae (1.46 g/(kg·d)) over a 6-week period significantly increased S-Ca level, decreased U-Ca, ALP, OCN and DPD levels in retinoic acid-induced osteoporotic rats ($P < 0.05$). Compared with the

基金项目: 国家自然科学基金(81403064); 秦巴山区生物资源综合开发协同创新中心 2016 自然科学基金(QBXT-Z(z)-15-4)

* 通讯作者: 程敏, Email: exitxiaobai@163.com

model group, Herba Ecliptae (1.46 g/(kg·d)) significantly enhanced the BMD of right femur, 4th lumbar vertebra and tibia, by 10.7, 12.7 and 12.5%, and improved biomechanical properties of Maximum Load, Stiffness, Energy, Maximum Stress and Elastic Modulus by 13.98, 16.33, 40.18, 12.45 and 34.96% ($P < 0.05$). Further, microCT evaluation also showed that Herba Ecliptae (1.46 g/(kg·d)) dramatically promoted trabecular microarchitecture ($P < 0.05$). **Conclusion** These results suggested that Herba Ecliptae might be a potential medicine for retinoic acid-induced acute osteoporosis, considering that HE can enhance calcium absorption, increase osteoblastic activity and decrease bone turnover rate significantly.

Key words: Herba Ecliptae; Retinoic acid; Osteoporosis; Pharmacodynamics

墨旱莲为菊科植物鳢肠(*Eclipta prostrata* L.)的地上干燥部分^[1],其味甘、酸、性凉,归肾、肝经,入阴血、善敛固,具有滋补肝肾,凉血止血的功效,收载于历版中国药典中,是中成药二至丸、参鹿补膏等的原料药之一^[2]。从墨旱莲中分离出的 1 个黄酮和 2 个异黄酮,在体外均能显著提高小鼠颅骨培养原代成骨细胞碱性磷酸酯酶(ALP)活性^[3]。课题组前期研究发现,墨旱莲及其制剂对去卵巢大鼠骨质疏松症有良好的防治作用^[4],但其对维甲酸诱发的骨质疏松是否有作用,国内外文献未见报道。本实验通过检测骨代谢相关生化指标、骨密度、骨生物力学性能、骨显微结构等探讨墨旱莲对维甲酸致大鼠骨质疏松症的药效作用,为墨旱莲的进一步开发利用和临床应用提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 实验药物

仙灵骨葆胶囊:贵州同济堂制药有限公司,批号:110301。临用时用 1% 羧甲基纤维素钠的蒸馏水配制成 0.15 g/mL 的悬剂供试。墨旱莲药材购自西安中药饮片厂,经陕西省生物医药重点实验室孙文基教授鉴定为 *Eclipta prostrata* L. 的地上干燥部分。取 500 g 墨旱莲药材,6 倍量蒸馏水浸泡 0.5 h,煎煮 2 次,每次 1 h,合并煎煮液,减压浓缩后在 50℃ 烘干,得粉末 81 g,提取率为 16.2%。临用前用 1% 羧甲基纤维素钠的蒸馏水配成 0.146、0.073、0.037 g 干粉/mL 的悬剂供试。

1.2 实验动物

3 月龄 SPF 级 Sprague-Dawley (SD) 大鼠,体重 180 ~ 205 g,购自第四军医大学实验动物中心,合格证号:SCXK(军)2007-007。自然光照周期饲养,处死前 12 h 禁食,自由饮水。

1.3 试剂

维甲酸(西安正荣生物科技有限公司,110421);ALP 酶联免疫检测试剂盒(北京华英生物技术研究所, HY2468);OCN 检测试剂盒(美国 Quidel 公司,

8002);DPD 检测试剂盒(美国 Quidel 公司,8007)。

1.4 主要仪器

7170A 型全自动生化分析仪(日本, HITACHI); Lunar Prodigy Advance DXA 型骨密度仪(美国, GE);CMT-8502 微机控制电子拉力试验机(美国, MTS);eXplore Locus SP MicroCT(美国, GE)。

1.5 方法

60 只雌性大鼠随机分为 6 组,每组 10 只,分笼喂养,分别为正常对照组、模型组(RA, 75 mg/kg)、仙灵骨葆组(1.5 g/kg)、墨旱莲高剂量组(1.46 g/kg)、墨旱莲中剂量组(0.73 g/kg)、墨旱莲低剂量组(0.37 g/kg)。除正常对照组外,其余各组每天上午维甲酸灌胃给药 1 次,连续 2 w,制备骨质疏松模型。造模同时,下午各组按规定剂量以 10 mL/kg 灌胃给予相应药物,连续给药 6 w,正常对照组和模型组给予同体积 1% 羧甲基纤维素钠的蒸馏水,各组动物每天称重一次。

实验结束时,留取大鼠 24 h 尿液并及时采血,采用 7170A 型全自动生化分析仪和 ELISA 试剂盒测定血钙(S-Ca)、血磷(S-P)、血清碱性磷酸酶(ALP)、骨钙素(OCN)的水平以及尿钙(U-Ca)、尿磷(U-P)、尿铬(U-Cr)、脱氧吡啶啉(DPD)的水平。采用 Lunar Prodigy Advance DXA 型骨密度仪对大鼠全身骨骼进行扫描,并分析大鼠的股骨、胫骨、第四椎骨的 BMD(bone mineral density, BMD)^[5]。取大鼠左侧股骨,采用 CMT-8502 微机控制电子拉力试验机测试生物力学性能,得出以下参数:最大载荷、结构硬度、能量吸收、最大应力、弹性模量^[6]。取大鼠右侧股骨,采用 eXplore Locus SP MicroCT 检测骨显微结构,得出以下参数:骨体积分数(bone volume/tissue volum, BV/TV)、骨表面积和骨体积比值(connect density, Conn. D)、结构模型指数(structure model index, SMI)、骨小梁数量(trabecula number, Tb. N)、骨小梁厚度(trabecula thickness, Tb. Th)、骨小梁分离度(trabecular separation, Tb. Sp)^[7,8]。

1.6 统计学处理

实验中所有项目检测所得数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS17.0 统计软件进行方差分析, 以 $P < 0.05$ 表示有统计学意义。

2 结果

2.1 墨早莲对维甲酸所致骨质疏松大鼠体质量的影响

各组大鼠在实验期间体质量都随时间延长而逐渐增加, 但各组间无显著性差异。与正常对照组相比, 在给予维甲酸造模 2 w 内, 造模组大鼠体质量分别出现了不同程度的滞长现象, 造模结束后才逐渐恢复增长, 但增长速度低于正常对照组。见图 1。

2.2 墨早莲对维甲酸所致骨质疏松大鼠血液及尿液中钙、磷含量的影响

灌胃给予维甲酸 2 w 后, 与正常对照组相比, 模

型组 S-Ca、S-P 水平显著降低 ($P < 0.05$), U-Ca 水平显著升高 ($P < 0.05$)。仙灵骨葆组与墨早莲 1.46 g/kg 组均能显著升高 S-Ca ($P < 0.01$) 的同时显著降低 U-Ca ($P < 0.05$)。各组大鼠血液及尿液中磷的水平均无显著性差异。见表 1。

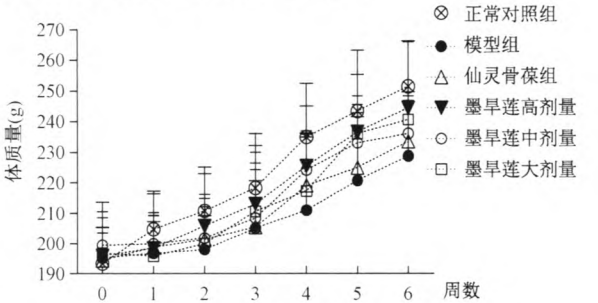


图 1 墨早莲对维甲酸所致骨质疏松大鼠体质量的影响
Fig.1 Effects of HE on body weight of retinoic acid-induced osteoporotic rats

表 1 墨早莲对维甲酸所致骨质疏松大鼠血液及尿液中钙、磷含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Effects of HE on biochemical parameters in serum and urine of retinoic acid-induced osteoporotic rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 (g/kg)	S-Ca (mmol/L)	S-P (mmol/L)	U-P/Cr (mmol/mmol)	U-Ca/Cr (mmol/mmol)
正常对照组		2.43 ± 0.15 **	2.03 ± 0.22 *	0.79 ± 0.15	0.24 ± 0.11 *
模型组	0.075	2.21 ± 0.07	1.70 ± 0.16	0.91 ± 0.04	0.27 ± 0.03
仙灵骨葆组	1.5	2.41 ± 0.09 **	1.86 ± 0.23	0.76 ± 0.03	0.24 ± 0.03 *
墨早莲高剂量组	1.46	2.40 ± 0.05 **	2.06 ± 0.12	0.81 ± 0.08	0.23 ± 0.01 *
墨早莲中剂量组	0.73	2.31 ± 0.06 *	1.85 ± 0.13	0.85 ± 0.12	0.25 ± 0.02
墨早莲低剂量组	0.37	2.23 ± 0.05	1.84 ± 0.16	0.87 ± 0.12	0.25 ± 0.02

注: 与模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

2.3 墨早莲对维甲酸所致骨质疏松大鼠骨转换指标的影响

各组大鼠血清尿液生化指标 (ALP、OCN、DPD) 检测结果如表 2 中所示: 与模型组相比, 墨早莲 1.46 g/kg 连续治疗 6 w 能显著对抗维甲酸所致大

鼠 ALP、OCN 和 DPD 水平的升高 ($P < 0.05$)。仙灵骨葆组与墨早莲 0.73 g/kg 组只对 ALP 指标的影响有统计学意义 ($P < 0.05$)。墨早莲 0.37 g/kg 组虽然对维甲酸所致大鼠 ALP、OCN 和 DPD 水平升高有改善作用, 但无统计学意义。

表 2 墨早莲对维甲酸致大鼠骨转换指标的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effects of HE on bone turnover markers of retinoic acid-induced osteoporotic rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 (g/kg)	ALP (U/L)	OCN (nmol/dL)	DPD (nmol/mmol)
正常对照组		63.25 ± 9.66 **	85.22 ± 14.68 **	59.96 ± 13.53 **
模型组	0.075	92.75 ± 4.40	102.07 ± 15.37	81.31 ± 11.26
仙灵骨葆组	1.5	77.14 ± 8.09 **	95.17 ± 11.01	70.03 ± 12.41
墨早莲高剂量组	1.46	78.14 ± 9.53 *	88.64 ± 10.23 *	71.83 ± 9.62 *
墨早莲中剂量组	0.73	80.63 ± 12.07 *	92.95 ± 10.08	74.06 ± 10.37
墨早莲低剂量组	0.37	89.17 ± 13.21	94.49 ± 11.39	78.31 ± 12.25

注: 与模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

2.4 墨早莲对维甲酸所致骨质疏松大鼠股骨、第四椎骨及胫骨骨密度的影响

表 3 统计结果显示, 与正常组相比, 模型组大鼠股骨、第四椎骨及胫骨骨密度分别降低 9.90%、

12.00%、13.11% ($P < 0.05$)。墨早莲 1.46 g/kg 连续给药 6 w 对维甲酸诱导的股骨、第四椎骨及胫骨骨密度分别提高 8.17%、11.79%、14.59% ($P < 0.05$), 具有与仙灵骨葆相类似的功效。

表 3 墨早莲对维甲酸所致骨质疏松大鼠股骨、第四椎骨及胫骨骨密度的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Effects of HE on BMD of femur, 4th lumbar vertebra and tibia in retinoic acid-induced osteoporotic rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量(g/kg)	股骨(g/cm ²)	椎骨(g/cm ²)	胫骨(g/cm ²)
正常对照组		0.2392 ± 0.01 *	0.2274 ± 0.02 *	0.2249 ± 0.02 *
模型组	0.075	0.2155 ± 0.01	0.2001 ± 0.01	0.1954 ± 0.01
仙灵骨葆组	1.5	0.2381 ± 0.02 *	0.2245 ± 0.02 *	0.2131 ± 0.02 *
墨早莲高剂量组	1.46	0.2331 ± 0.01 *	0.2237 ± 0.01 *	0.2239 ± 0.01 *
墨早莲中剂量组	0.73	0.2319 ± 0.02 *	0.2201 ± 0.01 *	0.2216 ± 0.01 *
墨早莲低剂量组	0.37	0.2223 ± 0.02	0.2199 ± 0.02	0.2075 ± 0.01

注: 与模型组比较, * $P < 0.05$

2.5 墨早莲对维甲酸所致骨质疏松大鼠骨生物力学性能的影响

与模型组相比, 正常组大鼠股骨全部生物力学指标显著上升 ($P < 0.05$), 墨早莲 1.46 g/kg 组连续

给药 6 w 对最大载荷、结构硬度、能量吸收、最大应力、弹性模量等生物力学参数分别提高 13.98%、16.33%、40.18%、12.45%、34.96% ($P < 0.05$), 具有与仙灵骨葆相类似的功效。见表 4。

表 4 墨早莲对维甲酸所致骨质疏松大鼠骨生物力学性能的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 4 Effects of HE on bone biomechanical parameters measured by three-point bending test in retinoic acid-induced osteoporotic rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量(g/kg)	最大载荷(N)	结构硬度(N/mm)	能量吸收(N × mm)	最大应力(MPa)	弹性模量(GPa)
正常对照组		77.63 ± 7.76 **	245.29 ± 24.55 **	25.84 ± 2.99 **	176.03 ± 18.40 **	5.63 ± 1.32 **
模型组	0.075	57.88 ± 5.94	181.49 ± 17.58	15.73 ± 1.55	151.96 ± 14.46	3.69 ± 1.00
仙灵骨葆组	1.5	67.56 ± 4.58 *	224.76 ± 20.88 **	22.03 ± 2.54 *	169.96 ± 17.98 *	5.25 ± 0.71 *
墨早莲高剂量组	1.46	65.97 ± 6.37 *	211.12 ± 21.46 **	22.05 ± 3.10 *	170.88 ± 13.41 *	4.98 ± 0.74 **
墨早莲中剂量组	0.73	63.05 ± 6.95	201.75 ± 19.32 **	19.76 ± 2.25 *	162.24 ± 12.20	4.75 ± 0.93 **
墨早莲低剂量组	0.37	60.14 ± 5.93	196.60 ± 18.57	17.95 ± 2.00	157.32 ± 12.01	3.92 ± 0.99

注: 与模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

2.6 墨早莲对维甲酸所致骨质疏松大鼠股骨干骺端骨小梁显微结构的影响

Micro CT 检测分析各组大鼠右侧股骨: 维甲酸 75 mg/kg 造模后, 大鼠骨小梁结构特性的所有指标均发生了显著改变。其中骨体积分数 (BV/TV)、骨表面积和骨体积比值 (Conn. D)、骨小梁数量 (TB. N)、骨小梁厚度 (Tb. Th) 显著下降, 而结构模型指数 (SMI) 和骨小梁分离度 (Tb. Sp) 显著上升。提示给予维甲酸 75 mg/kg 两周后大鼠股骨干骺端骨小

梁的微结构发生了退化。与模型组相比, 仙灵骨葆组与墨早莲 1.46 g/kg 组连续治疗 6 w 能显著抑制维甲酸所致大鼠股骨干骺端骨小梁微结构的退化 ($P < 0.05$)。墨早莲 0.73 g/kg 组除了对 Conn. D 无显著性影响外对其他 5 个参数均产生了显著性影响。墨早莲 0.37 g/kg 组对 BV/TV、TB. N 和 Tb. Sp 产生了显著性影响 ($P < 0.05$), 而对 Conn. D、SMI、Tb. Th 的改善作用无统计学意义。见表 5, 图 2。

表 5 墨早莲对维甲酸所致骨质疏松大鼠股骨干骺端骨小梁参数的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 5 Effects of HE on MicroCT 3-D parameters of trabecula bone in the distal femur region in retinoic acid-induced osteoporotic rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	BV/TV(1)	Conn. D(1/mm ³)	SMI(1)	TB. N(1/mm)	Tb. Th(mm)	Tb. Sp(mm)
正常对照组	0.307 ± 0.005 **	49.342 ± 1.300 **	1.48 ± 0.110 **	5.950 ± 0.170 **	0.070 ± 0.006 **	0.137 ± 0.002 **
模型组	0.168 ± 0.019	36.491 ± 2.260	2.56 ± 0.120	2.071 ± 0.121	0.043 ± 0.004	0.236 ± 0.002
仙灵骨葆组	0.250 ± 0.012 **	44.06 ± 2.50 **	1.81 ± 0.10 *	4.88 ± 0.16 **	0.07 ± 0.009 **	0.15 ± 0.010 **
墨早莲高剂量组	0.260 ± 0.09 **	40.17 ± 2.24 *	1.80 ± 0.12 *	4.53 ± 0.16 **	0.065 ± 0.005 *	0.162 ± 0.004 **
墨早莲中剂量组	0.225 ± 0.012 **	38.49 ± 1.99	1.78 ± 0.12 *	4.77 ± 0.17 **	0.056 ± 0.007 *	0.160 ± 0.021 **
墨早莲低剂量组	0.199 ± 0.011 *	38.31 ± 1.15	2.16 ± 0.129	4.052 ± 0.15 **	0.047 ± 0.003	0.220 ± 0.002 *

注: 与模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

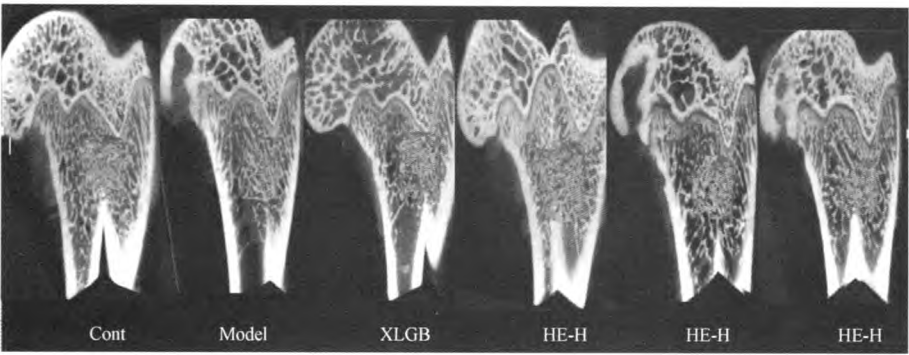


图 2 墨旱莲对维甲酸致大鼠股骨干骺端骨小梁显微结构代表图(2D + 3D)
Fig. 2 Representative sample from Control, Model, XLGB and HE-H groups: 2D mapping and 3D architecture of trabecula bone in the distal femur region

3 讨论

维甲酸是维生素 A 的衍生物,临床上主要用于肿瘤的化疗和皮肤病的治疗,但大剂量服用 1~3 w 会引发骨密度降低、骨形态结构的改变,进而造成骨质疏松的不良反应,而该反应与雌激素缺乏引起的骨质疏松极为相似,且操作简便,成功率高,时间短,因此常被用作大鼠急性骨质疏松的造模方法^[9]。墨旱莲为菊科植物鳢肠(Eclipta prostrata L.)的地上干燥部分。其味甘、酸,性凉,归肾、肝经,入阴血,善敛固,具有滋补肝肾、凉血止血的功效^[10],收载于历版中国药典中,是中成药二至丸、参鹿补膏的主要原料药。现代药理研究显示墨旱莲及其提取物具有止血、保肝、免疫调节、抗炎以及心血管系统保护等多种药理活性。从墨旱莲中分离出的 1 个黄酮和 2 个异黄酮,在体外均能显著提高小鼠颅骨培养原代成骨细胞碱性磷酸酯酶(ALP)活性,但对成骨细胞的增殖没有显著作用^[11],系统的防治骨质疏松的体内实验也未见报道。项目组前期研究表明墨旱莲水提物能有效防治大鼠去卵巢所致的骨质疏松症,能够降低骨转化率,增加大鼠股骨、第四椎骨、胫骨的骨密度,同时提高大鼠股骨生物学性能、改善骨小梁结构,连续用药 26 w,未发现雌激素样的子宫刺激性和其他不良反应^[12]。由于大鼠去卵巢造模和维甲酸造模所致 OP 症的机理不同,为了进一步考察墨旱莲对于药物所致继发性 OP 的治疗效果,项目组决定开展本实验研究。仙灵骨葆胶囊是以淫羊藿为主药上市多年治疗绝经后骨质疏松的中成药,目前国内研究中药及其复方抗维甲酸所致大鼠骨质疏松症时多以此药为阳性对照药^[13-15],本实验亦将其作为阳性对照药物。

从实验所得数据可以看出,给予维甲酸 2 w 后,模型组大鼠的骨密度、骨生物力学性能、骨小梁微结构均显著低于正常组,这一现象与临床上骨质疏松样症状相符,说明采用灌胃给予维甲酸(75 mg/kg)连续 2 w 诱发大鼠骨质疏松症是成功的。尿液中 DPD 被认为是反应骨吸收的特异性、先进性指标之一^[16-18],而来源于人成骨细胞和血清中的 ALP^[19-21]和 OCN^[22,23]被认为是反应成骨细胞活性的主要指标。因此,测定血尿中钙磷物质及代表骨转换指标的 ALP、OCN 和 DPD 的水平,对于了解骨代谢状况具有重要意义。实验结果显示,连续 2 w 给予大鼠大剂量维甲酸后,大鼠血中钙磷水平明显下降,尿钙尿磷排泄显著增加,呈现负钙平衡状态。连续 6 w 给予墨旱莲 1.46 g/kg 能够显著降低维甲酸所致大鼠 ALP、OCN 和 DPD 水平升高的高骨转换率现象,同时可以有效改善维甲酸所致骨质疏松大鼠的血钙、血磷显著降低而尿钙显著升高的负钙平衡状态。本实验中课题组采用诊断骨质疏松症的骨密度检测法、评价骨生物力学性能的三点弯曲实验和反映骨小梁微结构变化的 Micro CT 法进一步综合分析墨旱莲对维甲酸所致大鼠骨损害的保护作用。实验结果表明,墨旱莲 1.46 g/kg 连续治疗 6 w 能升高维甲酸所致骨质疏松症大鼠的股骨、第 4 椎骨及胫骨的骨密度,同时能有效改善骨生物力学性能和骨小梁微结构退化的现象,这与其能有效抑制维甲酸所致骨质疏松症大鼠的高骨转换状态,增加钙磷吸收率,降低骨吸收,从而在一定程度上抑制骨量丢失,使骨重建恢复平衡状态有关。后续墨旱莲对骨代谢的影响与作用机制方面的研究是课题组工作的重点,目前相关实验正在进行中。

【参考文献】

- [1] Pharmacopoeia Committee of People's Republic of China. Pharmacopoeia of People's Republic of China Part 1[S]. China Medical Science and Technology Press. 2015: 27-28 (in Chinese).
- [2] Cheng M, Hu ZH. Advances in studies on biology and chemical constituents in dried aerial part of *Eclipta prostrata* [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2010, 41(12): 2116-2118 (in Chinese).
- [3] Lee MK, Ha NR, Yang H, et al. Stimulatory constituents of *Eclipta prostrata* on mouse osteoblast differentiation [J]. Phytother Res, 2009, 23(1): 129-131.
- [4] Cheng M, Wang QW, Fan YK, et al. A traditional Chinese herbal preparation, Er-Zhi-Wan, prevent ovariectomy-induced osteoporosis in rat [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2011, 138: 280-285.
- [5] Arjmandi BH, Lucas EA, Juma S, et al. Dried plums prevent ovariectomy-induced bone loss in rats [J]. JANA, 2001, (4): 50-56.
- [6] Peng Z, Tuukkanen J, Zhang H, et al. The mechanical strength of bone in different rat models of experimental osteoporosis [J]. Bone, 1994, 15: 523-532.
- [7] Laib A, Barou O, Vico L, et al. 3D micro-computed tomography of trabecular and cortical bone architecture with application to a rat model of immobilisation osteoporosis [J]. Med Biol Eng Comput, 2000, 38: 326-332.
- [8] Gabet Y, Müller R, Regev E, et al. Osteogenic growth peptide modulates fracture callus structural and mechanical properties [J]. Bone, 2004, 35: 65-73.
- [9] Liu K, Ji H, Li ZP, et al. Comparison study on three osteoporotic rats models [J]. Chin J Osteoporos, 1998; 4(4): 13-18 (in Chinese).
- [10] The pharmacopoeia committee of the People's Republic of China. 2015 Chinese Pharmacopoeia Volume I [S]. Chemical Industry Press, 2015: 27-28 (in Chinese).
- [11] Lee MK, Ha NR, Yang H, et al. Stimulatory constituents of *Eclipta prostrata* on mouse osteoblast differentiation [J]. Phytother Res, 2009, 23(1): 129-131.
- [12] Cheng M. The Study of Antiosteoporotic Effects and Mechanisms of EZW, Fructus Ligustri Lucidi and Herba Ecliptae on Osteoporosis [D]. Xi'an: Northwest University, 2012 (in Chinese).
- [13] Shen CX, Zhang JH, Yin H. Pharmacodynamics of Bushen Huoxue Granule on Osteoporosis Model Rats Induced by Retinoic Acid [J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2015, 21(20): 154-158 (in Chinese).
- [14] Shen YG, Deng WM, Zhou L, et al. Bushen Zhuanggu granules effect on bone biomechanics of rats with osteoporosis induced by retinoic acid [J]. Journal of Clinical Rehabilitative Tissue Engineering Research, 2009, 13(33): 6483-6486.
- [15] Fu P, Li W, Yang M, et al. Effect of Guzhening capsule on blood biochemistry in osteoporosis rats induced by retinoic acid [J]. Chinese Journal of Traditional Medical Science and Technology, 2009, 16(5): 396-397 (in Chinese).
- [16] Kyoko T, Shinji F, Kazutoshi N, et al. Comparison of incadronate and alfacalcidol on increased bone turnover caused by ovariectomy in rats [J]. Eur J Pharmacol, 2002a, 449: 191-196.
- [17] Kyoko T, Shinji F, Takaya I, et al. Incadronate inhibits osteoporosis in ovariectomized rats [J]. Eur J Pharmacol, 2002b, 457: 51-56.
- [18] Colwell A, Russell RGG, Eastell R. Factors affecting the assay of urinary 3-hydroxy pyridinium crosslinks of collagen as markers of bone resorption [J]. Eur J Clin Invest, 1993, 23(6): 341-349.
- [19] Brown JP, Malaval L, Chapuy MC, et al. Serum bone GLA-protein: a specific marker for bone formation in postmenopausal osteoporosis [J]. Lancet, 1984, 323: 1091-1093.
- [20] Farley JR, Stilt-Coffing B. Apoptosis may determine the release of skeletal alkaline phosphatase activity from human osteoblast-line cells [J]. Calcif Tissue Int, 2001, 68(1): 43-52.
- [21] Bahlous A, Kalai E, Hadj Salah M, et al. Biochemical markers of bone remodeling: recent data of their applications in managing postmenopausal osteoporosis [J]. Tunis Med, 2006, 84: 751-757.
- [22] Lerner UH. Bone remodeling in post-menopausal osteoporosis [J]. J Dent Res, 2006, 85(7): 584-595.
- [23] Bharadwaj SNA, Betageri GV, Prasadara NV, et al. Milk ribonuclease-enriched lactoferrin induces positive effects on bone turnover markers in postmenopausal women [J]. Osteoporos Int, 2009, 20: 1603-1611.

(收稿日期: 2016-04-17, 修回日期: 2016-05-11)