

接骨木总苷片促进骨折愈合与抗炎作用研究 I^Δ

杨炳友*, 何娅雯, 朱晓清, 韩 华, 杨 柳, 王秋红, 匡海学[#](教育部北药基础与应用研究重点实验室/黑龙江省中药及天然药物药效物质基础研究重点实验室/黑龙江省教育厅中药学重点实验室/黑龙江中医药大学药学院, 哈尔滨 150040)

中图分类号 R285;R863 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)35-3269-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.35.02

摘要 目的: 研究接骨木总苷片促进骨折愈合与抗炎作用。方法: 复制兔骨折模型。60只新西兰大白兔随机均分为正常对照(等容生理盐水)组、模型(等容生理盐水)组、跌打丸(0.28 g/kg)组与接骨木总苷片高、中、低剂量(0.22、0.11、0.06 g/kg)组, 以药物加入饲料给药, 连续36 d。骨密度仪测定骨密度(BMD)、骨矿含量(BMC)、骨痂面积(Area), 通过X光片观察兔骨折愈合程度。采用小鼠耳肿胀和大鼠足肿胀模型观察其抗炎作用, 热板法观察其镇痛作用。结果: 高、中、低剂量接骨木总苷片可增加模型大白兔BMD、BMC, 使模型大白兔骨折断端接近消失, 骨膜反应密度加深, 骨痂量增多、加深; 中剂量组接骨木总苷片可增加模型大白兔Area。高、中、低剂量接骨木总苷片可减轻模型小鼠耳肿胀度, 降低模型大鼠足肿胀率, 提高1 h内模型小鼠痛阈值。结论: 接骨木总苷片有较好的抵抗急性炎症和镇痛的作用, 并能促进骨折愈合。

关键词 接骨木总苷片; 骨折愈合; 抗炎; 镇痛

Study on Effects of *Sambucus williamsii* Total Glycosides Tablets on Fracture Healing and Inflammation: Part I
YANG Bing-you, HE Ya-wen, ZHU Xiao-qing, HAN Hua, YANG Liu, WANG Qiu-hong, KUANG Hai-xue (Key Lab of Chinese Materia Medica, Ministry of Education/Heilongjiang Provincial Key Lab of TCM and Natural Medicine Pharmacodynamic Material Bases/Key Lab of TCM, Heilongjiang Provincial Education Department/College of Pharmacy, Heilongjiang University of TCM, Harbin 150040, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the effects of *Sambucus williamsii* total glycosides tablets on fracture healing and inflammation. METHODS: Rabbit fracture model was induced. 50 New Zealand white rabbits were randomly divided into normal control group (constant volume of normal saline), model group (constant volume of normal saline), Dried pills group (0.28 g/kg), *S. williamsii* total glycosides tablets high-dose, medium-dose and low-dose groups (0.22, 0.11, 0.06 g/kg). They were given medicine via feedingstuff for consecutive 36 d. The bone mineral density (BMD), bone mineral content (BMC) and callus area (Area) were determined by dual energy X-ray absorptionmetry (DXA). The degree of fracture healing was observed by X-ray film. Anti-inflammatory effects were observed by mice ear swelling and rat foot swelling experiments; analgesic action was observed by hot plate method. RESULTS: High-dose, medium-dose and low-dose of *S. williamsii* total glycosides tablets could increase BMD and BMC in model group; the fracture site of model rabbit disappeared nearly, and periosteal reaction density increased and deepened. Medium-dose of *S. williamsii* total glycosides tablets could increase Area in model group. High-dose, medium-dose and low-dose of *S. williamsii* total glycosides tablets relieved mice ear swelling of model mice and foot swelling of model rats, and increased 1h pain threshold of normal mice. CONCLUSIONS: *S. williamsii* total glycosides tablets have good resistance to acute inflammation and analgesic effect and can promote the fracture healing.

KEYWORDS *Sambucus williamsii* total glycosides tablets; Fracture healing; Anti-inflammatory; Analgesia

- 性及其亲缘关系分析[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(13): 1912.
- [7] 朱田田, 晋玲, 杜骏, 等. 中麻黄基因组DNA不同提取方法比较[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 40(4): 316.
- [8] 欧立军, 颜旺, 廖亚西, 等. 天门冬 ISSR 分子标记技术的建立与体系优化[J]. 中草药, 2011, 42(2): 353.
- [9] 朱田田, 晋玲, 杜骏, 等. 中麻黄 ISSR-PCR 反应体系的建立和优化[J]. 中国药房, 2013, 24(43): 4033.
- [10] 张福生, 郭顺星. 金线莲 ISSR 反应体系的建立与优化[J]. 中草药, 2011, 42(1): 137.
- [11] 刘敬, 颜红梅, 刘效瑞, 等. 当归新品系“DGA2000-020”与对照品种的遗传差异分析[J]. 原子核物理评论, 2008, 25(2): 201.
- [12] 颜红梅, 刘效瑞, 李文建, 等. 甘肃当归新品系 DGA 2000-02 的选育研究[J]. 原子核物理评论, 2008, 25(2): 196.
- [13] 贾婕楠. 当归新品系 90-01 选育报告[J]. 中药材, 2005, 28(8): 649.

Δ 基金项目: 国家自然科学基金面上项目(No.81173501); 黑龙江中医药大学“优秀创新人才支持计划”项目(No.B201201); 黑龙江中医药大学博士创新基金资助项目(No.B201003)

* 教授, 博士。研究方向: 中药及复方药效物质基础。电话: 0451-87267038

通信作者: 教授, 博士。研究方向: 中药及复方药效物质基础。电话: 0451-82110803。E-mail: hxkuang@hotmail.com

(收稿日期: 2014-04-17 修回日期: 2014-07-25)

接骨木(*Sambucus williamsii* Hance)为忍冬科(Caprifoliaceae)接骨木属(*Sambucus linn*)植物,又名续骨木、马尿骚、大接骨丹等^[1]。为落叶灌木或小乔木,茎无棱,多分枝;枝皮灰褐色,无毛;圆锥花序,浆果状核果^[2]。接骨木性味甘、苦、平,无毒;具有接骨续筋、活血止痛、祛风利湿之功效,主要用于治疗跌打肿痛、骨折及创伤出血,我国民间广泛用于治疗风湿痹痛、跌打损伤、骨折、黄疸、荨麻疹和水肿^[3-4]。前期实验中,本课题组已确定了接骨木根皮为促进骨折愈合的有效部位^[4-5],并验证了接骨木通过促进胶原合成和无机盐的沉积,提高骨痂质量,达到促进骨折愈合的作用^[6]。

在此基础上,本课题组继而对接骨木总苷片促进骨折愈合和抗炎镇痛的作用进行了实验研究,旨在为临床用药提供理论依据,同时也为接骨木治疗骨折的作用机制研究奠定基础。

1 材料

1.1 仪器

ZXC-3R型恒温自控热板仪(石家庄永峰电子通讯设备厂);GIOTTOHI-TECH智能型乳腺摄影机(美国IMS公司);DPX-MD型双能X线骨密度仪(美国GE公司)。

1.2 药品与试剂

接骨木总苷片(黑龙江中医药大学药学院中药化学教研室制备,批号:20100112);跌打丸(哈药集团世一堂制药厂,批号:0906153);二甲苯(齐齐哈尔轻工学院试剂厂,批号:19960402)。

1.3 动物

KM小鼠,♀♂兼半,体质量18~22 g[实验动物使用合格证号:SCXK(黑)2010007];Wistar大鼠,♀♂兼半,体质量190~210 g[实验动物生产许可证号:P00102009];新西兰大白兔,♀♂兼半,体质量2.0~2.5 kg[实验动物使用合格证号:SYXK(黑)20100324],均购自黑龙江中医药大学安全评价中心。

2 方法

2.1 接骨木总苷片的制备

干燥接骨木根皮以95%乙醇回流提取后,通过AB-8型大孔树脂柱色谱,收集10%乙醇完全洗脱液即为接骨木总苷^[7]。接骨木总苷、乳糖、微晶纤维素、交联聚维酮、硬脂酸镁压片得接骨木总苷片^[8-9]。由于接骨木总苷中主要有效成分为莫诺苷,故确定以莫诺苷的含量为考察总苷含量的指标。用高效液相色谱(HPLC)法对接骨木总苷片进行含量测定^[10],结果平均每片接骨木总苷片(360 mg)中含莫诺苷16.5 mg。

2.2 接骨木总苷片的接骨作用研究

2.2.1 模型的复制 新西兰大白兔适应性喂养1周,戊巴比妥钠耳缘静脉麻醉,左前肢硫化钠脱毛。无菌条件下,切开皮肤、筋膜,沿肌间隙钝性分离肌肉达桡骨,剥离桡骨中下段,用锯片造成宽度约2 mm、深度为桡骨直径1/2的不完全性骨折。

2.2.2 分组与给药 60只新西兰大白兔随机均分为6组,即正

常对照(等容生理盐水)组、模型(等容生理盐水)组、跌打丸(0.28 g/kg)组与接骨木总苷片高、中、低剂量(0.22、0.11、0.06 g/kg)组。复制模型第2天,以药物加入饲料给药,连续36 d。

2.2.3 指标的检测 分别于给药后12、24、36 d,每组取3只大白兔,以清醒状态下摄左前肢X光片。末次给药后,每组取4只大白兔,气栓处死,以骨折处为中心取桡骨段3 cm,剔除其上的软组织,用骨密度仪测定骨密度(BMD)、骨矿含量(BMC)与骨痂面积(Area)。

2.3 接骨木总苷片的抗炎作用研究

2.3.1 接骨木总苷片对模型小鼠耳肿胀度的影响^[11,15-17] 50只KM小鼠随机均分为5组,即模型(等容生理盐水)组、跌打丸(0.76 g/kg)组与接骨木总苷片高、中、低剂量(0.64、0.32、0.16 g/kg)组。ig给药,每天1次,连续7 d。末次给药1 h后,于小鼠左耳前后两面涂抹二甲苯(40 μl/只),2 h后将小鼠脱臼处死,沿耳廓基线剪下两耳,用直径为9 mm的打孔器沿左右耳片同一部位打下圆耳片,称定质量,计算肿胀度。肿胀度=右耳质量-左耳质量。

2.3.2 接骨木总苷片对模型大鼠足肿胀的影响^[10,13-15] 60只Wistar大鼠随机均分为6组,即正常对照(等容生理盐水)组、模型(等容生理盐水)组、跌打丸(0.52 g/kg)组与接骨木总苷片高、中、低剂量(0.48、0.24、0.12 g/kg)组。ig给药,每天1次,连续7 d。使用毛细管放大装置,实验前先测量大鼠右后肢正常足趾容积,末次给药0.5 h后将大鼠右后肢拉直,自足趾中部皮下注射10%鸡蛋清0.1 ml,同时每只大鼠ig生理盐水1 μl/g。致炎后分别于0.5、1.0、2.0、4.0、6.0 h测定大鼠足趾容积。计算大鼠爪肿胀率,肿胀率=(肿胀后容积-肿胀前容积)/肿胀前容积×100%。

2.4 接骨木总苷片的镇痛作用研究^[12-16]

置小鼠于(55±0.5)℃的热板上,记录小鼠足底接触热板至出现舔足的时间(s,热板反应潜伏期)作为痛阈指标。实验前,凡3 s内出现舔足或30 s不出现舔足者均弃去不用。60只KM小鼠随机均分为6组,即模型(等容生理盐水)组、跌打丸(0.760 g/kg)组、杜冷丁(0.026 g/kg)组与接骨木总苷片高、中、低剂量(0.640、0.320、0.160 g/kg)组。ig给药,分别于给药后0.5、1.0、2.0、4.0 h测定其痛阈值,如小鼠在热板上停留60 s后仍无痛反应,则立即取出,按60 s计。实验过程中,实验室温度维持在(18±1)℃。

3 结果

3.1 接骨木总苷片的接骨作用

3.1.1 接骨木总苷片对模型大白兔BMD、BMC、Area的影响

与正常对照组比较,模型组大白兔BMD、BMC、Area减少,差异有统计学意义($P<0.01$ 或 $P<0.05$);与模型组比较,接骨木总苷片高、中、低剂量组大白兔BMD、BMC增加,接骨木总苷片中剂量组大白兔Area增加,差异有统计学意义($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。接骨木总苷片对模型大白兔BMD、BMC、Area

的影响见表1。

表1 接骨木总苷片对模型大白兔BMD、BMC、Area的影响
($\bar{x} \pm s$)

Tab 1 Effects of *S. williamsii* total glycosides tablets on BMD, BMC and Area of model rabbits($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量,g/kg	BMD,g/cm ²	BMC,g	Area,cm ²
正常对照组	10		0.318±0.017	0.093±0.004	0.712±0.063
模型组	10		0.252±0.039*	0.070±0.005*	0.223±0.044**
接骨木总苷片高剂量组	10	0.22	0.323±0.034**	0.093±0.008*	0.277±0.018
接骨木总苷片中剂量组	10	0.11	0.283±0.028*	0.134±0.006**	0.413±0.050**
接骨木总苷片低剂量组	10	0.06	0.310±0.034*	0.089±0.006*	0.288±0.051
跌打丸组	10	0.28	0.288±0.034*	0.087±0.007*	0.292±0.043*

与正常对照组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

vs. normal control group: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; vs. model group: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

3.1.2 接骨木总苷片对模型大白兔左前肢骨折愈合的影响 用药12 d,即骨折愈合初期,接骨木总苷片高、中剂量组血肿已基本吸收,并代之以肉芽组织,骨折间隙比较明显;模型组血肿并没有完全吸收,骨折间隙非常明显。用药24 d,即骨折愈合中期,接骨木总苷片高、中剂量组肉芽组织中出现骨样组织和骨小梁,骨折断端边缘均趋于模糊,接近消失,多数有骨膜反应且较明显,骨痂量增多、增深,其密度与正常骨密度相似;模型组血肿完全消失而代之以肉芽组织,有轻微骨膜反应,但密度浅淡。用药36 d,即骨折愈合末期,接骨木总苷片高、中剂量组骨折断端接近消失,骨膜反应密度较深,骨痂量增多、增深,其密度与正常骨密度相似;模型组骨折断端模糊,骨膜反应密度浅淡,骨痂量少、不超过缺损,少数可见骨痂已填满缺损,但较淡且边缘不整齐。大白兔左前肢X光片见图1。

3.2 接骨木总苷片的抗炎作用

3.2.1 接骨木总苷片对模型小鼠耳肿胀的影响 与模型组比较,接骨木总苷片高、中、低剂量组小鼠耳肿胀度降低,差异有统计学意义($P < 0.05$),且与剂量呈正相关。接骨木总苷片对模型小鼠耳肿胀度的影响见表2。

3.2.2 接骨木总苷片对模型大鼠足肿胀率的影响 与模型组比较,致炎后0.5、1.0、2.0、4.0、6.0 h,接骨木总苷片高、中、低剂量组大鼠足肿胀率降低,差异有统计学意义($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。接骨木总苷片对模型大鼠足肿胀率的影响见表3。

表3 接骨木总苷片对模型大鼠足肿胀度的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Tab 3 Effects of *S. williamsii* total glycosides tablets on foot swelling of model rats($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量,g/kg	正常足容积,ml	足肿胀率,%				
			0.5 h	1.0 h	2.0 h	4.0 h	6.0 h
模型组		0.84±0.12	1.09±0.51	1.13±0.60	1.02±0.22	0.86±0.52	0.79±0.54
接骨木总苷片高剂量组	0.48	0.90±0.09	0.54±0.26**	0.60±0.13**	0.50±0.20**	0.42±0.18**	0.34±0.09**
接骨木总苷片中剂量组	0.24	1.03±0.09	0.30±0.18**	0.44±0.13**	0.38±0.28**	0.26±0.14**	0.23±0.14**
接骨木总苷片低剂量组	0.12	0.91±0.04	0.61±0.15**	0.47±0.12**	0.62±0.30*	0.33±0.14**	0.28±0.09**
跌打丸组	0.52	0.80±0.07	0.79±0.13	0.73±0.13*	0.72±0.24*	0.62±0.14	0.56±0.20

与模型组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

vs. model group: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

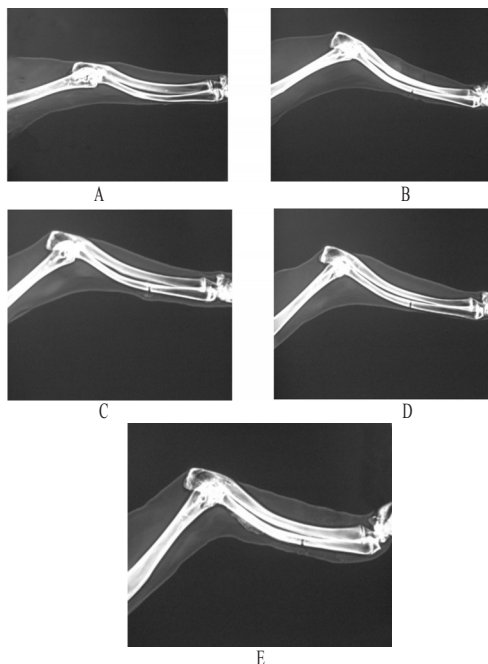


图1 大白兔左前肢X光片

A.接骨木总苷片高剂量组;B.接骨木总苷片中剂量组;C.接骨木总苷片低剂量组;D.跌打丸组;E.模型组

Fig 1 X-rays of big white rabbit's left fore

A.*S. williamsii* total glycosides tablet high dose group; B.*S. williamsii* total glycosides tablet medium dose group; C.*S. williamsii* total glycosides tablet low dose group; D. Dieda pill group; E. model group

表2 接骨木总苷片对模型小鼠耳肿胀度的影响($\bar{x} \pm s$)

Tab 2 Effects of *S. williamsii* total glycosides tablets on ear swelling of model mice($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量,g/kg	耳肿胀度,mg
模型组	10		2.25±0.80
接骨木总苷片高剂量组	10	0.64	0.98±0.76*
接骨木总苷片中剂量组	10	0.32	1.28±0.53*
接骨木总苷片低剂量组	10	0.16	1.34±0.61*
跌打丸组	10	0.76	1.87±0.94

与模型组比较: * $P < 0.05$

vs. model group: * $P < 0.05$

3.3 接骨木总苷片对模型小鼠痛阈值的影响

与模型组比较,给药1 h后,接骨木总苷片高、中剂量组小鼠痛阈值升高,差异有统计学意义($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。接骨木总苷片对模型小鼠痛阈值的影响见表4。

4 讨论

表4 接骨木总苷片对正常小鼠痛阈值的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)Tab 4 Effects of *S. williamsii* total glycosides tablets on pain threshold of normal mice($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量,g/kg	正常痛阈值,s	痛阈值,s			
			0.5 h	1.0 h	2.0 h	4.0 h
模型组		15.8±2.16	19.0±4.18	29.6±2.63	48.2±3.66	31.6±2.68
接骨木总苷片高剂量组	0.640	17.4±2.07	29.4±3.20	58.7±2.12**	35.4±3.72	20.8±2.94
接骨木总苷片中剂量组	0.320	24.0±3.53	22.4±3.36	47.2±3.66*	38.8±4.32	27.8±4.86
接骨木总苷片低剂量组	0.160	18.2±3.27	18.2±3.34	30.8±3.42	38.3±2.52	25.8±3.24
跌打丸组	0.760	17.8±2.16	32.8±3.28*	47.6±3.62*	40.8±3.53	28.0±2.74
杜冷丁组	0.026	21.6±3.57	46.8±3.18**	55.0±2.84**	60.0±0.02**	60.0±0.06**

与模型组比较: * $P<0.05$, ** $P<0.01$

vs. model group: * $P<0.05$, ** $P<0.01$

新骨组织的机械强度与基质钙化程度密切相关,其钙化程度则以骨矿化程度来衡量。因此,骨矿化程度便作为评价新骨质量和量的重要标准之一。骨折区Area、BMC、BMD可定量评价骨折区实际情况,客观地反映了骨痂的质量。研究表明,接骨木总苷片能促进胶原合成和无机盐的沉积,迅速提高骨痂质量。

本研究通过考察二甲苯引起的小鼠耳肿胀实验表明,高、中、低剂量接骨木总苷片可明显抑制模型小鼠耳肿胀;通过考察蛋清引起的大鼠足肿胀实验表明,高、中、低剂量接骨木总苷片可明显抑制模型大鼠足肿胀,说明接骨木总苷片具有抗炎作用;通过考察小鼠热板法实验表明,高、中剂量接骨木总苷片在ig 1 h时可升高小鼠的痛阈值,说明接骨木总苷片具有镇痛作用。

基于此研究结果,本课题组将对接骨木总苷片抗炎镇痛和促进骨折愈合的作用机制作进一步研究,为开发接骨木的药用功能提供科学依据,为接骨木资源的综合开发利用奠定基础。

参考文献

- [1] 廖琼峰,毕开顺.接骨木属植物的化学成分和药理活性研究进展[J].中国中药杂志,2004,29(2):109.
- [2] 韩华,闫雪莹,匡海学,等.接骨木的研究进展[J].中医药信息,2008,25(6):14.
- [3] 江苏新医学院.中药大辞典:下册[M].上海:上海科学技术出版社,1985:2 093
- [4] 全国中草药编写组.全国中草药汇编:上册[M].北京:人民卫生出版社,1975:738.
- [4] 董培良,闫雪莹,匡海学,等.接骨木根皮抗炎镇痛作用的实验研究[J].中医药学报,2008,36(5):18.

- [5] 韩华.接骨木根皮促进骨折愈合有效部位化学成分和药理作用研究[D].哈尔滨:黑龙江中医药大学,2006.
- [6] 韩华,杨炳友,夏永刚,等.接骨木根皮促进骨折愈合的初步药理机制研究[J].中国药师,2013,16(4):482.
- [7] 韩华,匡海学,李振宇,等.正交试验优选莫诺昔的提取工艺[J].中医药信息,2011,28(4):33.
- [8] 韩华,杨炳友,杨柳,等.接骨木总苷片的初步稳定性研究[J].中医药信息,2013,30(3):58.
- [9] 韩华,杨炳友,杨柳,等.接骨木总苷片的制剂工艺研究[J].中国药师,2013,16(8):1 108.
- [10] 韩华,杨炳友,杨柳,等.HPLC法测定接骨木中莫诺昔的含量[J].中医药信息,2013,30(4):31.
- [11] 李振宇,王秋红,杨炳友,等.洋金花化学拆分组分的性味药理学评价:基于与治疗银屑病相关药理学指标的研究[J].中医药学报,2011,39(6):11.
- [12] 杨辉,杨亮,蒋玲,等.柴胡、竹叶柴胡对小鼠的抗炎镇痛作用研究[J].中国药房,2012,23(47):4 442.
- [13] 吴论,梅全喜,钟希文,等.浓薄荷水对鸡蛋清致大鼠足跖肿胀影响的实验研究[J].当代医学,2010,16(21):1.
- [14] 吴虹,魏伟,宋礼华,等.梔子总苷的抗炎镇痛作用研究[J].中国中医药信息杂志,2006,13(7):31.
- [15] 陈奇.中药药理研究方法学[M].2版.北京:人民卫生出版社,2000:125.
- [16] 徐叔云.药理实验方法学[M].3版.北京:人民卫生出版社,1982:884.
- [17] 张剑宇,李丽.羊骨胶促进骨折愈合的初步实验[J].中国骨伤,1998,11(3):20.

(收稿日期:2013-10-11 修回日期:2013-12-22)

国家卫生计生委在全国组织开展“中国计划生育家庭发展追踪调查”工作

本刊讯 为全面、系统地了解我国家庭尤其是计划生育家庭的基本情况,构建国家级家庭信息数据库,为制定家庭发展政策提供科学依据,近日,国家卫生计生委在全国组织开展“中国计划生育家庭发展追踪调查”工作。

此次调查在全国31个省(区、市)中随机抽取1 500个村(居),30 000户家庭。调查内容涉及家庭及其成员在婚姻状况、收入消费、住房、医疗、健康水平、育儿、养老等方面。本次调查采用入户访谈、问卷调查的方式进行,共设计了住户、个人、村/居三大类7份问卷,其中个人问卷包括0~5岁的学龄前

儿童、6~17岁的未成年人、18~59岁的青壮年、60岁及以上老年人四类对象。

不同于以往横断面调查的是,本次调查采用连续追踪调查的方式,调查周期为两年,逢偶数年进行现场调查,奇数年进行调查结果分析研究工作。2014年开展的是首轮调查,在前期准备的基础上,在2014年10月份开始现场调查工作,所有调查产出将于2015年公开出版,并在国家卫生计生委官方网站发布,为社会各界开展家庭发展相关研究提供参考。