

给予最大剂量灌胃, 观察未出现1例死亡, 故无法测出该制剂的LD₅₀。在最大耐受性试验中, 分别早晚各1次灌胃小鼠最大剂量胶囊内容物溶液, 动态观察14 d, 小鼠的外观、行为活动、毛发、大小便等均无异常; 14 d后处死小鼠进行大体解剖, 观察各主要脏器均无异常形态和颜色。说明在此最大给药剂量(42 g·kg⁻¹)下, 小花清风藤胶囊对小鼠无急性毒性反应, 其耐受为人用量的408倍, 较为安全。

众所周知, 肝炎是我国目前发病率较高的疾病之一, 也是科研工作者研究比较热门的方向。目前运用较多技术也比较成熟的急性肝损伤模型之一是腹腔注射CCl₄油溶液, 它主要表现在血清中的ALT、AST活性明显升高, 表明肝细胞已经出现炎症并有坏死。本实验通过分组分别灌胃小鼠不同剂量的小花清风藤胶囊内容物溶液, 与模型组比较, 其ALT、AST含量均有不同程度降低, 并且给药组的肝脏指数与模型组比较也有所减少, 说明小花清风藤胶囊对受损肝脏具有一定的保护作用。

D-半乳糖通过产生大量自由基引起脂质过氧化, 造成肝细胞损伤, 与临床上病毒性肝炎的肝脏病理变化相似^[8]。本实验中, 不同给药组对损伤小鼠血清中的SOD水平均有显著的升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$), 提示该胶囊能够通过抑制脂质过氧化反应对肝脏产生保护作用, 减轻D-半乳糖对肝脏的损伤作用; 与模型组比较, 阳性对照组和高、低剂量药物组能显著抑制血清中的MDA水平($P<0.05$ 或 $P<0.01$), 说明小花清风藤胶囊能去除自

由基而表现出一定抗氧化作用。

无论是CCl₄还是D-半乳糖所致小鼠肝损伤, 均可见肝脏明显的各种坏死, 而给了不同剂量小花清风藤胶囊的各组小鼠, 它们的肝损伤程度均有不同程度改善, 并且有统计学差异。再次说明小花清风藤胶囊对肝脏具有保护作用。以上结果为小花清风藤胶囊的进一步开发和临床应用提供了重要的理论依据。

REFERENCES

- [1] LIU Y R, QIU X C, CHEN H. Hepatoprotective effect of Sabia parviflorawall an experimental study [J]. J China Pharm(中国药房), 2008, 10(30): 2341-2342.
- [2] YANG D L, WANG X Y, YANG J, et al. The acute toxic study of Tongfengshuhuan capsule [J]. Acta Acad Med Zunyi (遵义医学院学报), 2011, 34(4): 237-239.
- [3] XU S Y, BIAN R L, CHEN X. Experimental Methodology of Pharmacology(药理学实验方法学) [M]. 3rd ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2002: 1346.
- [4] CHEN Q. Chinese Medicine Pharmacology Research Methodology(中药药理研究方法学) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1993: 112-119.
- [5] XIA Y, LIU Q M, XIONG Q Y, et al. Analysis of related factors for hepatic toxicity in breast cancer with hepatitis B virus infection during chemotherapy [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2012, 29(7): 658-662.
- [6] XU S Y. Miao Ethnic medicines: Application, research, and development [J]. World Sci Technol Mod Tradit Chin Med(世界科学技术——中医药现代化), 2006, 8(6): 73-78.
- [7] XIAO P G. Modern Chinese Material Medica(新编中药志) [M]. 3rd ed. Beijing: Chemical Industry Press, 2002: 90-94.
- [8] WANG X D, LIU Y G, SU W W. Protective effect of SDS on acute injury in mice liver [J]. J Chin Med Mater(中药材), 2004, 27(3): 198-199.

收稿日期: 2013-03-29

口服蛇床子素提高大鼠峰值骨量的研究

成魁¹, 王鸣刚^{1*}, 陈克明², 葛宝丰², 宋鹏², 周建², 马小妮² (1. 兰州理工大学生命科学与工程学院, 兰州 730050; 2. 兰州军区兰州总医院骨科研究所, 兰州 730050)

摘要: 目的 研究口服蛇床子素是否能提高大鼠峰值骨量, 从而预防骨质疏松症。方法 1月龄健康SD♀大鼠随机分为2组, 每组12只。给药组每日灌服10 mg·kg⁻¹蛇床子素, 对照组灌服等体积蒸馏水。每周监测体质量, 每月检测1次全身骨密度。3个月后处死所有动物, 取血测血清骨钙素(OC)和抗酒石酸性磷酸酶5b(TRACP 5b)含量, 取双侧股骨和胫骨分别进行骨密度检测、分析, 骨形态计量分析和生物力学评价, 剥离心、肝、胃、肾、肾上腺和子宫后称重, 计算器官指数, 并做常规病理学检测。结果 2组大鼠的体质量始终无显著性差异($P>0.05$); 各器官指数均无明显差异($P>0.05$),

基金项目: 甘肃省科技重大专项(092NKDA025)

作者简介: 成魁, 男, 硕士生 Tel: (0931)8994329 E-mail: zixincheng1989@sina.com *通信作者: 王鸣刚, 男, 博士, 教授 Tel: (0931)2975514 Email: mgwang@163.com

病理学观察未见异常发生;第1、2月的全身骨密度无明显差别($P>0.05$),但3个月后给药组显著高于对照组,股骨骨密度呈相同趋势($P<0.05$);给药组的血清OC水平升高,而TRACP 5b含量下降($P<0.05$); μ CT检测结果是:给药组的骨体积百分率、骨小梁厚度和骨小梁数量均高于对照组,但骨小梁分离度和模型系数均显著低于对照组($P<0.05$);股骨最大载荷($P<0.01$)、屈服强度($P<0.01$)和弹性模量($P<0.05$)均为给药组明显高于对照组。结论 口服蛇床子素可抑制实验大鼠体内骨吸收水平并增强骨形成,提高大鼠峰值骨量,可预防各种原因引起的骨质疏松及骨质疏松性骨折。

关键词:蛇床子素;骨密度;骨强度;骨组织微结构;生物力学

中图分类号:R285.5

文献标志码:A

文章编号:1007-7693(2013)11-1170-05

Study the Improvement of Peak Bone Mineral Density and Bone Quality of Rats by Osthole

CHENG Kui¹, WANG Minggang^{1*}, CHEN Keming², GE Baofeng², SONG Peng², ZHOU Jian², MA Xiaoni²
(1.School of Life Science and Engineering, Lanzhou University of Technology, Lanzhou 730050, China; 2.Institute of Orthopaedics, Lanzhou General Hospital of PLA, Lanzhou 730050, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the effects of osthole on peak bone mass of rats. **METHODS** Twenty-four one-month SD rats were randomly divided into two groups, one group was orally administrated osthole at $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ and the other was given equal volume of distilled water and used as the control. The body weight was monitored every week and the bone mineral density(BMD) of total body was measured every month. All rats were sacrificed after three months. The femoral bone mineral density, the serum levels of osteocalcin(OC) and anti-tartaric acid phosphatase 5b (TRACP 5b) were measured. The bone microarchitecture was analyzed with μ CT and the bone biomechanics properties were tested with universal material machine. **RESULTS** No significant differences were observed between osthole-treated group and the control for the food-intake and body weight during three months. However, the rats treated with osthole had significant higher BMD for both total body and femoral than the control. The osthole-treated rats also had higher level of serum OC and lower level of TRACP 5b. Besides, they owned bigger bone volume/tissue volume, trabecular thickness, trabecular number but smaller trabecular spacing and structural model index. In the three point bending tests of femurs, they were found to have larger maximum load and the young's modulus and yield load. **CONCLUSION** Orally administered osthole can enhance peak bone mass by improving bone formation and inhibiting bone resorption, and therefore can be used to prevent osteoporosis.

KEY WORDS: osthole; bone mineral density; bone quality; bone microarchitecture; biomechanics

随着我国人口结构日趋老龄化,骨质疏松症及骨质疏松性骨折的发病率越来越高。由于骨质疏松症难以逆转,骨质疏松性骨折手术易失败且再骨折的风险高,如何预防骨质疏松就显得尤为重要^[1]。多年前人们就已认识到,骨质疏松症是由峰值骨量(peak bone mass, PBM)和随年龄增长相关的骨丢失两方面决定的^[2],高PBM会在一定程度上减少发病的机率^[3]。因此,提高PBM也是一条预防骨质疏松的理想途径。蛇床子素是伞形科植物蛇床的果实,中医认为其具有温肾助阳和祛风燥湿之功效^[4]。课题组前期的研究表明,蛇床子的主要有效成分蛇床子素可抑制体外培养破骨细胞骨吸收活性,促进骨髓基质细胞增殖和向成骨性分化,同时能促进成骨细胞的分化和成熟^[5-7]。因而推测其可能具有抗骨质疏松活性。本实验考察了口服蛇床子素对大鼠PBM的影响,以期对其抗骨质疏松活性作出初步判断。

1 材料和方法

1.1 材料

蛇床子素(陕西宝鸡辰光生物科技有限公司,批号:Hos-101110,纯度 $\geq 98\%$);双能X射线骨密度仪(美国GE公司); μ CT(荷兰MILabs公司);AG-IS万能材料试验机(日本岛津公司);抗酒石酸性磷酸酶试剂盒(英国IDS公司,批号:11509),骨钙素试剂盒(上海延吉公司,批号:201203)。

1月龄的SD大鼠24只,♀,SPF级,体质量(125 ± 3)g,由甘肃中医学院实验动物中心提供,实验动物合格证号:SCXK(甘)2004-0006-152。

1.2 方法

1.2.1 分组与给药 实验大鼠随机分为2组,每组12只,一组每日灌服蛇床子素,为服药组,另一组只给予等体积蒸馏水,用作对照组。蛇床子素用蒸馏水配成 $1\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的混悬液,按每只大鼠 $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 体质量给药。大鼠饲养于SPF级实验室,自由饮水和进食,记录每日进食量和进水量,每周称1次体质量。动物处死后立即剥离出心脏、肝脏、胃、肾、肾上腺和子宫,称重,计算器官指数,并将所有器官固定于10%福尔马林中,石

蜡包埋, 常规切片, HE 染色, 由资深病理医师进行病理学观察与评价。

1.2.2 骨密度的测定 每月在麻醉状态下测 1 次全身骨密度, 第 3 个月测完后即处死所有动物, 剥离出四肢长骨, 左侧股骨用于检测骨密度。麻醉采用 10%水合氯醛, 剂量为 $3 \text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$, 腹腔注射。

1.2.3 血清生化指标的测定 采用心脏取血法抽取血样, $3\,000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 5 min, 取上层血清, $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存; 按试剂盒说明书制作骨钙素(osteocalcin, OC)和抗酒石酸酸性磷酸酶 5b(anti-tartaric acid phosphatase 5b, TRACP 5b)标准曲线。OC 和 TRACP 5b 分别于 450, 405 nm 处测定 OD 值, 通过标准曲线计算含量。

1.2.4 μCT 影像分析 将右侧股骨用 70%乙醇固定。感兴趣区域选择在距生长板 1 mm 位置。分析参数包括相对骨体积率(bone volume/tissue volume, BV/TV)、骨小梁厚度(trabecular thickness, Tb.Th)、骨小梁数量(trabecular number, Tb.N)、骨小梁分离度(trabecular spacing, Tb.Sp)和模型系数(structural model index, SMI), 并采集成像图片。

1.2.5 骨形态计量分析 将右侧胫骨固定于 70%乙醇中。严格按照 technovit@9100 试剂盒说明书操作, 依次进行脱水、脱塑、浸渍、渗透和包埋, 聚合 2 d 后切片, 磨片, 用 VG 法染色, 观察骨骺

线下 1~4 mm 距离区域。

1.2.6 生物力学分析 将左侧股骨用浸透 0.9%生理盐水的纱布包裹后保存于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。在实验 24 h 前取出, 于室温下自然解冻。三点弯曲试验的跨距为 17 mm, 速度为 $10 \text{ mm}\cdot\text{min}^{-1}$ 。记录载荷变形曲线, 得到包括最大载荷、屈服强度和弹性模量等指标。

1.2.7 统计学分析 统计分析均采用 SPSS16.0 软件完成, 所有检测数据表示均用 $\bar{x} \pm s$, 用 t 检验作显著性分析。以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 对进食量、进水量和体质量的影响

两组大鼠的每日进食量和进水量始终无明显差别, 体质量随时间增长而增加, 但未出现显著性差异, 表明灌服蛇床子素对饮食和体质量均无影响。各器官指数差异均不具有统计学意义($P>0.05$); 病理学观察也未见异常改变。

2.2 对大鼠骨密度的影响

两组大鼠的全身骨密度在实验开始时、服药 1 月后和服药 2 月后均无明显差别, 但服药 3 月后出现具有统计学意义的差异($P<0.01$)。动物处死后离体检测股骨骨密度的结果也出现相同趋势, 表明连续口服蛇床子素 3 个月后大鼠骨密度较未服药者有明显提高。结果见表 1。

表 1 大鼠全身骨密度和股骨骨密度检测结果($n=12$, $\bar{x} \pm s$)

Tab 1 Results of total and femur bone mineral density of rats($n=12$, $\bar{x} \pm s$)

组别	全身骨密度/ $\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$				服药 3 月后股骨骨密度/ $\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$
	服药前	服药 1 月后	服药 2 月后	服药 3 月后	
对照组	0.112 $\pm$ 0.006	0.140 $\pm$ 0.007	0.151 $\pm$ 0.008	0.148 $\pm$ 0.01	0.144 $\pm$ 0.006
服药组	0.113 $\pm$ 0.007	0.143 $\pm$ 0.006	0.155 $\pm$ 0.007	0.162 $\pm$ 0.01 ¹⁾	0.155 $\pm$ 0.006 ¹⁾

注: 与对照组相比, ¹⁾ $P<0.01$

Note: Compared with control group, ¹⁾ $P<0.01$

2.3 对大鼠血清 OC 和 TRACP 5b 含量的影响

OC 由成骨细胞分泌, 是骨形成特异性指标, TRACP 5b 由破骨细胞分泌, 是骨吸收特异性指标。结果显示, 给药组大鼠的血清 OC 水平极显著高于对照组($P<0.01$), 而血清 TRACP 5b 水平显著低于对照组($P<0.05$), 说明口服蛇床子素 3 个月后, 大鼠体内骨形成水平提高, 同时骨吸收活动减弱。结果见表 2。

2.4 μCT 影像分析结果

给药组股骨的 BV/TV、Tb.N 和 Tb.Th 明显高

于对照组($P<0.05$), 但 Tb.Sp 和 SMI 明显低于对照组($P<0.05$), 说明口服蛇床子素 3 个月后骨组织微结构明显优于对照组, 结果见表 3 和图 1。

表 2 大鼠血清 OC 和 TRACP 的结果 ($n=12$, $\bar{x} \pm s$)

Tab 2 Results of serum OC and TRACP5b of rats ($n=12$, $\bar{x} \pm s$)

组别	OC/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	TRACP 5b/ $\text{U}\cdot\text{L}^{-1}$
对照组	72.793 $\pm$ 1.554	0.731 $\pm$ 0.181
给药组	74.91 $\pm$ 1.337 ²⁾	0.582 $\pm$ 0.088 ¹⁾

注: 与对照组比较, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$

Note: Compared with control group, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$

表 3 大鼠μCT 影像分析结果($n=5$, $\bar{x} \pm s$)

Tab 3 Results of μCT on femur of rats($n=5$, $\bar{x} \pm s$)

组别	BV/TV/%	Tb.N/mm	Tb.TH/mm	Tb.Sp/mm	SMI
对照组	31.898±1.486	2.419±0.091	0.132±0.001	0.433±0.084	0.920±0.190
给药组	47.242±7.198 ¹⁾	3.053±0.313 ¹⁾	0.155±0.014 ¹⁾	0.234±0.019 ¹⁾	0.365±0.219 ¹⁾

注: 与对照组比较, ¹⁾ $P<0.05$

Note: Compared with control group, ¹⁾ $P<0.05$

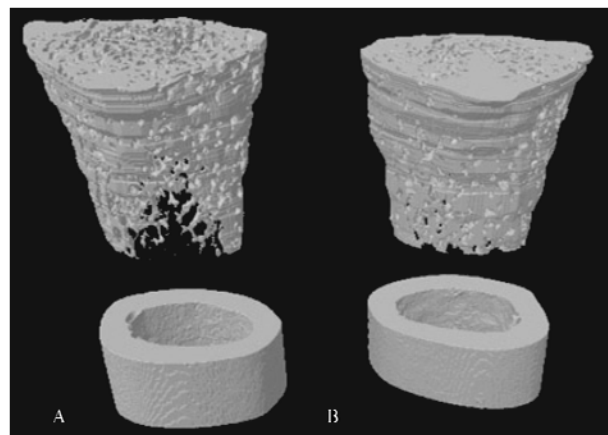


图 1 大鼠股骨 μCT 影像

A-对照组; B-给药组

Fig 1 The picture of the femur μCT on rats

A-control group; B-osthole-treated group

2.5 骨组织形态计量

两组胫骨骨形态明显区别, 给药组骨小梁(深色网状结构区)的数量明显多于对照组, 骨小梁分离度低于对照组, 表明给药组的骨微结构比对照组更加致密, 证明蛇床子素对骨微结构具有改建能力, 结果见图 2。

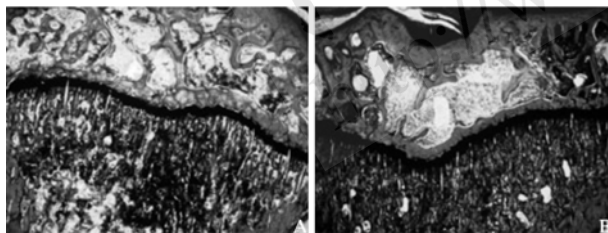


图 2 大鼠股骨骨形态图(40×)

A-对照组; B-给药组

Fig 2 Bone Histomorphometry picture(40×)

A-control group; B-osthole-treated group

2.6 对大鼠骨生物力学的影响

股骨三点弯曲实验发现, 给药组的最大载荷和屈服强度极显著高于对照组($P<0.01$), 弹性模量显著高于对照组($P<0.05$), 表明口服蛇床子素 3 个月后骨生物力学指标全面提高, 结果见表 4。

表 4 蛇床子素对大鼠生物力学的结果($n=12$, $\bar{x} \pm s$)

Tab 4 Results of biomechanics on femur of rats($n=12$, $\bar{x} \pm s$)

组别	最大载荷/N	弹性模量/mPa	屈服强度/N
对照组	125.0±17.7	1526.2±247.3	114.2±14.5
给药组	152.4±17.8 ²⁾	2125.2±215.1 ¹⁾	143.9±26.4 ²⁾

注: 与对照组比较, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$

Note: Compared with control group, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$

3 讨论

峰值骨密度是指人一生发育过程中骨形成与骨吸收达到平衡状态时的骨密度, 此前骨形成活跃程度高于骨吸收, 是骨量积累的关键时期^[8]。在治疗骨质疏松的药物中, 金雀异黄酮是研究最热的植物雌激素, 且常用的剂量为 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ^[9]。蛇床子素作为香豆素类化合物, 结构与金雀异黄酮类似, 目前未有对 PBM 影响的研究, 当换算成与金雀异黄酮等量摩尔量时蛇床子素的剂量为 $9 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 。通过此剂量蛇床子素对大鼠的干预, 研究其对 PBM 影响。同时, 有文献报道^[10], $9 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 蛇床子素对切除卵巢大鼠骨质疏松有作用。因此本实验采用 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 剂量的蛇床子素初步判断对 PBM 的影响效果。本实验选择刚断乳 1 月龄雌性大鼠开始给药, 以便系统考察口服蛇床子素对大鼠 PBM 的影响。由于是否发生骨质疏松性骨折是由骨强度而非单纯骨密度决定的, 骨强度包括骨密度和骨质量两部分内容^[11-12]。我们还采用 μCT 和生物力学试验评价了口服蛇床子素对骨微组织结构和材料性质的影响。

实验过程中, 实验组大鼠的进食量、进水量和体质量与对照组无显著性差异。心脏、肝脏、脾、肾、肾上腺、胃和子宫湿重和器官系数均无明显差别, 病理学观察也未见异常变化。表明口服蛇床子素 3 个月对大鼠饮食无不良影响, 也未产生明显毒副作用。但全身骨密度在服药 3 个月后明显增加, 股骨骨密度也明显高于对照组, 而服药 3 个月的时间与大鼠骨重建周期为 3 个月是一致的^[13]。血清 OC 和 TRACP 5b 的检测结果表明, 口服蛇床子

素使大鼠体内骨形成水平提高而骨吸收水平降低,是骨密度得以提高的主要原因。

骨质量主要与骨组织微结构有关,而骨形态计量分析可以准确并直观反映骨微结构和形态^[14]。本实验 μ CT 检测和静态骨形态计量发现,蛇床子素使骨体积百分率、骨小梁数量和骨小梁厚度增加,同时使骨小梁分离度和模型系数显著下降,表明口服蛇床子素能使骨小梁数和骨小梁厚度增加,提高骨小梁的网状结构交联度,从而使大鼠骨质紧密,明显改善骨微结构。骨生物力学参数可直接地反映骨的抗骨折能力,本实验中,蛇床子素组大鼠的股骨最大载荷、弹性模量和屈服强度均显著提高,表明口服蛇床子素显著提高了大鼠的生物力学性能,即抗骨折的能力。

综上所述,给幼年大鼠灌服蛇床子素3个月后,大鼠骨密度显著增加,以骨组织微结构为主要指证的骨质量明显改善,因而其骨的生物性能,即抗骨折的能力显著提高,其作用机理可能是提高骨形成而抑制骨吸收。本实验首次证明口服蛇床子素可以提高大鼠 PBM 而预防骨质疏松,对于预防骨质疏松和骨质疏松性骨折具有十分重要的意义。

REFERENCES

- [1] LUO S J, ZENG R, HU Z B. Progress of osteoporosis drug therapy [J]. Chin Mod Med(中国当代医药), 2012, 19(18): 14-15.
- [2] AN J, CHENG J, WANG W Z, et al. Peak bonemount and osteoporosis [J]. Mod Rehabil(现代康复), 2001, 5(2): 14-17.
- [3] GAUTAM A K, BHARGA B, T Y A M, et al. Differential effects of formononetin and cladrin on osteoblast function, peak bone mass achievement and bioavailability in rats [J]. J Nutr Biochem, 2011, 22(4): 318-327.
- [4] ZHOU Z W, SHEN X. Pharmacological activities of osthole [J]. Chin New Drugs J(中国新药杂志), 2006, 15(20): 1726-1730.
- [5] MING L G, GE B F, CHEN K M, et al. Surgical treatment of thoracic ossification of ligamentum flavum and therapeutic effects analysis [J]. Chin J Orthop Traumatol(中国骨伤), 2010, 20(9): 688-691.
- [6] MING L G, WANG M G, CHEN K M, et al. Effect of osthole on apoptosis and bone resorption of osteoclasts cultured *in vitro* [J]. Acta Pharm Sin(药理学学报), 2012, 47(2): 174-179.
- [7] MING L G, GE B F, CHEN K M, et al. Effects of osthole on bone marrow stromal stem cell differentiation and proliferation *in vitro* [J]. Chin Pharmacol Bull(中国药理学通报), 2010, 26(8): 1098-1103.
- [8] KLEIN R F, MITCHELL S R, PHILIPS T J, et al. Quantitative trait loci affecting peak bone mineral density in mice [J]. J Bone Miner Res, 1998, 13(11): 1648-1656.
- [9] ELMARAKBY A A, IBRAHIM A S, FAULKNER J, et al. Tyrosine kinase inhibitor, genistein reduces renal inflammation and injury in streptozotocin-induced diabetic mice [J]. Vasc Pharmacol, 2011, 55(5): 149-156.
- [10] LI X X, HARA I, MATSUMIYA T, et al. Effects of osthole on postmenopausal osteoporosis using ovariectomized rats; comparison to the effects of estradiol [J]. Biol Pharm Bull, 2002, 25(6): 738-742.
- [11] FELSENBURG D, BOONEN S. The bone quality framework: determinants of bone strength and their interrelationships, and implications for osteoporosis management [J]. Clin Ther, 2005, 27(1): 1-11.
- [12] FAN Y T, KONG X H, MEI Q B. Advancement in anti-osteoporosis activity of tea polyphenols [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2011, 28(8): 717-720.
- [13] VASHISHTH D. Age-dependent biomechanical modifications in bone [J]. Crit Rev Eukaryot Gene expr, 2005, 15(4): 343-358.
- [14] MARTIN T J, SEEMAN E. Bone remodelling: its local regulation and the emergence of bone fragility [J]. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab, 2008, 22(5): 701-722.

收稿日期: 2013-02-01

微透析法测定虎杖苷的体外血浆蛋白结合率及与超滤法的比较

程佳祎¹, 董文彬², 陈爱琪², 程敏², 王军青², 郑高利^{1,2*} (1.浙江中医药大学, 杭州 310053; 2.浙江省医学科学院, 杭州 310013)

摘要: 目的 采用微透析技术研究虎杖苷的体外血浆蛋白结合率,并与超滤法比较。方法 微透析探针依次浸入含虎杖苷 20, 60, 200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的大鼠、人血浆中,灌注器以 2.5 $\mu\text{g}\cdot\text{min}^{-1}$ 的流速依次灌注含虎杖苷 0, 10, 30, 100, 300 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的生理盐水,每 15 min 收集 1 次样品, HPLC 分析虎杖苷浓度。以灌注液与透析液中虎杖苷的浓度差对灌注液浓度进行线性回归,计算血浆中游离虎杖苷的浓度,进而计算虎杖苷的血浆蛋白结合率,并与超滤法进行比较。结果 微透析测定虎杖苷与大鼠、人血浆蛋白结合率平均值分别为 86.15%, 89.08%, 超滤法分别为 85.60% 和 87.24%, 两种方法结果比

基金项目: 浙江省医学重点学科群项目(XKQ-010-001); 浙江省公益技术研究社会发展项目(2011C23047)

作者简介: 程佳祎, 女, 硕士生 Tel: (0571)88215620 E-mail: dwb4045@163.com *通信作者: 郑高利, 男, 博士, 研究员 Tel: (0571)88215620 E-mail: gaoli-z@163.com