

## 女贞子及其活性成分抗骨质疏松症的研究进展

张明发, 沈雅琴

上海美优制药有限公司, 上海 201422

**摘要:** 女贞子提取物及其活性成分齐墩果酸、熊果酸、红景天苷等对去卵巢大小鼠, 雌性老龄大鼠均具有抗骨质疏松作用, 能抗糖皮质激素引起的或糖尿病并发的骨质疏松以及胶原性关节炎大鼠的骨质破坏。它们的作用机制可能是通过(1)促进成骨细胞分化, 抑制基质金属蛋白酶表达, 阻滞破骨细胞激活;(2)促进活性维生素 D<sub>3</sub> 生物合成以及维生素 D 受体和钙结合蛋白表达, 促进肠钙吸收, 抑制尿钙排泄, 提高骨密度, 产生抗骨质疏松的防治作用。综述了女贞子及其活性成分抗骨质疏松作用的研究进展, 为新药研发提供依据。

**关键词:** 女贞子; 骨质疏松; 齐墩果酸; 熊果酸; 红景天苷

**中图分类号:** R285.5      **文献标志码:** A      **文章编号:** 1674-6376(2014)06-0566-06

**DOI:** 10.7501/j.issn.1674-6376.2014.06.023

## Research progress in anti-osteoporosis of *Ligustrum lucidum* and its active components

ZHANG Ming-fa, SHEN Ya-qin

Shanghai Meiyu Pharmaceutical Co., Ltd., Shanghai 201422, China

**Abstract:** *Ligustrum lucidum* extract and its active components (oleanolic acid, ursolic acid, salidroside, etc.) have anti-osteoporotic effects: antagonism to osteoporosis in ovariectomized rats or mice, aged female rats, and glucocorticoid- or diabetes-induced osteoporosis, and bone destruction in collagen-induced arthritis. They could increase bone mineral density and produce preventive and therapeutic effects for osteoporosis, by promotion of osteoblast differentiation, inhibition of the expression of matrix metalloproteinases, and obstruction of osteoclast activation; by promoting the biosynthesis of active vitamin D<sub>3</sub>, and the expression of vitamin D receptor and calcium-binding proteins, enhancing the intestinal calcium absorption, and suppressing urinary calcium excretion. This paper reviews the research progress in the anti-osteoporosis of *Ligustrum lucidum* and its active components to provide the basis for research and development new drug.

**Key words:** *Ligustrum lucidum*; osteoporosis; oleanolic acid; ursolic acid; salidroside

骨质疏松症是以骨量减少、骨微结构破坏, 致使骨脆性增加, 而容易发生骨折的一种全身代谢性骨病。常见于绝经后妇女和老年男性, 具有高发病率、高死亡率、高致残率和高医疗费用等特征。世界卫生组织将其列为三大老年病之一。世界上骨质疏松症患者达 2 亿人, 我国有骨质疏松症患者大约 7 800 万人, 而骨量减少患者更多, 近 2 亿人。目前临床上可供选择的治疗骨质疏松症的药物并不多, 且不良反应较大, 不能满足于临床需要。因此从中草药中寻找和开发新的抗骨质疏松症药物已经成为热门课题。

女贞子 *Ligustrum lucidum* Ait. 系我国最早应用的中药之一, 在经典著作《神农本草经》中被列为

上品。现代研究发现女贞子及其活性成分齐墩果酸 (oleanolic acid)、熊果酸 (ursolic acid)、红景天苷 (salidroside) 及其苷元酪醇 (tyrosol) 具有广泛的药理作用, 如抗炎、抗肿瘤、免疫调节、抗微生物、抗糖尿病以及神经、心血管、肝脏和皮肤保护作用等<sup>[1-4]</sup>, 充分体现了女贞子的补益肝肾、强壮腰膝的中医功效。中医认为肾主骨, 强壮腰膝又与骨有关, 因此中医药研究工作者常常选择女贞子及其活性成分作为开发抗骨质疏松症药物的研究对象。综述女贞子粗提物及其活性成分齐墩果酸和熊果酸、红景天苷和其苷元酪醇的抗骨质疏松症及其作用机制的研究进展, 为开发防治骨质疏松症新药提供依据。

收稿日期: 2014-08-15

作者简介: 张明发 (1946—), 研究员, 研究方向为中药药理。Tel: (021)68928846 E-mail: zhmf\_my@126.com

## 1 女贞子粗提物

女贞子乙醇提取物和女贞子水煎剂都有抗骨质疏松作用,其机制可能是通过雌激素样作用,促进成骨细胞分化和成熟,增进肠钙吸收,抑制尿钙排泄,提高骨密度。

### 1.1 女贞子乙醇提取物

张岩等<sup>[5]</sup>给去卵巢手术后4周的大鼠,连续14周 ig 女贞子乙醇提取物(含齐墩果酸 4.25%) 500 mg/kg 可有效防止尿钙和粪钙排泄增加并恢复血钙水平,但与阳性药雌二醇(2 μg/kg)组比较,作用较弱。女贞子乙醇提取物可提高去卵巢大鼠肾脏钙结合蛋白-28k 和钙结合蛋白-9k 的基因表达,能提高去卵巢大鼠小肠维生素 D 受体表达,但不影响肾脏 25-羟基维生素 D-1-羟化酶和 25-羟基维生素 D-24-羟化酶的 mRNA 表达,提示女贞子乙醇提取物通过上调小肠维生素 D 受体表达来提高肠钙吸收,通过上调肾脏钙结合蛋白加强肾钙重吸收,恢复血钙水平,改善雌激素缺乏引起的钙失衡状态。

Zhang 等<sup>[6]</sup>将女贞子乙醇提取物的剂量提高到 550 mg/kg 进一步实验,不仅重复了上述实验结果,而且发现女贞子乙醇提取物还能降低去卵巢大鼠升高的血清骨钙素(系维生素 K 依赖性钙结合蛋白)和尿脱氧吡啶啉(系骨吸收发生时从骨的 I 型胶原分解并释放出来的)水平,防止骨转换加剧。提示女贞子还可以通过调控去卵巢大鼠的骨转换和骨平衡防止骨丢失,提高骨钙含量。此后又在老龄去卵巢大鼠中证实了这一结论<sup>[7-8]</sup>。程敏等<sup>[9]</sup>给去卵巢大鼠 ig 75%乙醇女贞子提取物(含齐墩果酸 0.83%,熊果酸 0.21%) 2.25、4.5、9 g 生药/kg, 26 周后明显提高血钙、血磷的量,明显降低尿钙、尿磷的量以及血清碱性磷酸酶、骨特异性碱性磷酸酶、骨钙素的量和尿脱氧吡啶啉的量,增加股骨、胫骨和第四椎骨的骨密度并有效抑制去卵巢所致的大鼠体质量增加。但不影响去卵巢大鼠的子宫、心、肝、脾、肺、肾、胸腺及脑的脏器指数。可是这 3 个剂量组的抗骨质疏松作用不存在剂量相关。

Zhang 等<sup>[10]</sup>在给 11 月龄雌性大鼠喂食不同钙水平饲料(0.2%低钙饲料、0.6%中钙饲料、1.2%高钙饲料)的实验中,发现女贞子乙醇提取物尽管提高喂低、中、高钙 3 种饲料大鼠血清 1,25-二羟维生素 D<sub>3</sub> 水平和十二指肠钙结合蛋白-9k mRNA 表达,但仅对喂中、高钙饲料的老龄雌性大鼠减少粪钙排出和提高表观钙吸收率并诱导肾钙结合蛋白-28k

mRNA 表达。给去卵巢和不去卵巢老龄大鼠分别 ig 12 周女贞子乙醇提取物 700 mg/kg, 发现能提高去或不去卵巢老龄大鼠血清 1,25-二羟维生素 D<sub>3</sub> 水平,仅上调去卵巢老龄大鼠肾脏内 25-羟基维生素 D-1α 羟化酶蛋白表达,不上调维生素 D 受体的表达;而对不去卵巢老龄大鼠,女贞子乙醇提取物都能上调<sup>[11]</sup>。

### 1.2 女贞子水煎剂

糖皮质激素长期应用会引起骨代谢紊乱。刘仁慧等<sup>[12-13]</sup>给大鼠长期(8周)每周 2 次 im 地塞米松 1 mg/kg 建立骨质疏松模型,在造模同时 ig 女贞子水煎剂 9.5 g 生药/kg, 8 周后可显著下调模型大鼠中升高的血清碱性磷酸酶、抗酒石酸酸性磷酸酶和磷水平,上调低下的血清骨钙素及血和骨钙的量,提高股骨不同部位的骨密度。由于女贞子水煎剂上调模型大鼠血清皮质醇和雌二醇水平,认为该作用可能是其防治糖皮质激素性骨质疏松的机制之一。刘仁慧等<sup>[14-15]</sup>还采用地塞米松治疗哮喘(卵清白致哮喘)大鼠引起的血清骨钙素的量显著下降,抗酒石酸酸性磷酸酶含量显著升高的骨代谢异常模型,在撤停地塞米松前、中和后并用淫羊藿-女贞子煎剂(9.5 g 生药/kg, ig),观察其对糖皮质激素致骨代谢异常的保护作用,发现该煎剂在地塞米松干预的不同阶段给药都可提高低下的血清骨钙素含量,降低升高的抗酒石酸酸性磷酸酶活性,并使升高的血浆肾上腺皮质激素显著降低,接近正常水平。其中在地塞米松干预同时应用淫羊藿-女贞子煎剂组,纠正糖皮质激素性骨代谢异常作用最佳。

康学等<sup>[16]</sup>还发现女贞子水煎剂同样能对抗维甲酸致大鼠骨质疏松:对抗维甲酸下调大鼠血清钙水平,上调碱性磷酸酶和抗酒石酸酸性磷酸酶水平,使股骨病理组织学得到改善——股骨头区骨小梁数目增加、变宽、密集交织成网状。女贞子水煎剂也能对抗去卵巢大鼠产生的骨质疏松<sup>[17]</sup>。

### 1.3 抗骨质疏松的作用机制

体外离体实验发现女贞子乙醇提取物不仅直接作用于肾脏近曲小管细胞诱导 25-羟基维生素 D-1α 羟化酶 mRNA 和蛋白表达,促进活性维生素 D<sub>3</sub> 合成,改善钙平衡<sup>[11]</sup>,而且刺激间充质干细胞分化成成骨样细胞,提高碱性磷酸酶活性并缩短矿化所需时间<sup>[18]</sup>。给生长期大鼠喂含 0.40%、0.65%、0.90% 女贞子乙醇提取物饲料,可剂量相关地提高生长期大鼠的骨密度,几乎达到峰骨质量,并改善骨微体系结构和骨机械性能。作用机制研究发现女贞子乙

醇提取物是通过降低核因子- $\kappa$ B 受体激活因子配体/骨保护素 (RANKL/OPG) 比值, 调控骨转换, 降低血清骨吸收标志物 I 型胶原 C 端肽 (CTX-1) 并增加骨形成标志物骨钙素, 上调肾 (1 $\alpha$ -羟化酶) 和十二指肠 (维生素 D 受体、钙转运的钙结合蛋白-D9k 和瞬变感受器电位蛋白 v6) 中的趋钙基因的转录, 从而激活 1,25-二羟基维生素 D<sub>3</sub> 依赖性钙转运, 提高钙吸收和钙滞留率所导致的<sup>[19-20]</sup>。

女贞子水提物在 5~1 000 mg 生药/L 能促进 UMR-106 成骨细胞增殖, 但不呈浓度相关<sup>[21]</sup>, 促进细胞内碱性磷酸酶的表达, 使 UMR-106 细胞向成熟成骨细胞分化, 并发现雌激素受体拮抗剂 ICI 182780 能完全对抗女贞子水提物促进 UMR-106 细胞的碱性磷酸酶表达。女贞子水提物也能浓度相关地促进共转染 pGL3-5XERE 质粒和 pSV- $\beta$ -gal 质粒的人乳腺癌 MCF-7 细胞表达受雌激素受体反应元件调控的荧光酶<sup>[22]</sup>, 也激活与雌激素受体介导的基因转录<sup>[23]</sup>, 提示女贞子可通过雌激素受体信号通路对成骨细胞的分化起促进作用。孙曙光等<sup>[24]</sup>给性未成熟雌性小鼠每天 ig 女贞子煎剂 4.4、6.6、8.8 g 生药/kg, 剂量相关地提高小鼠子宫系数。体外实验发现女贞子能与雌二醇抗体结合<sup>[25]</sup>。给雄性大鼠 ig 女贞子煎剂 (1.08 g 生药/kg) 可促进脑内杏仁核雌激素  $\beta$  受体的 mRNA 表达<sup>[26]</sup>。对摘除卵巢的完全去势和非完全去势雌性大鼠, ig 女贞子浓缩颗粒 1.8 g/kg, 用药 8 周能显著提高更年期模型大鼠血清雌二醇水平, 且这种作用在非完全去势大鼠中更为明显, 也能改善更年期综合征的病理生理学改变。既增加非卵巢组织合成和分泌雌二醇和 (或) 增强外周组织对雌二醇的敏感性, 也改善和促进卵巢功能, 表明女贞子具有雌激素样作用<sup>[27]</sup>。因此女贞子也可通过其雌激素样作用, 促进成骨细胞分化和成熟, 促进活性维生素 D<sub>3</sub> 生物合成、维生素 D 受体和钙结合蛋白的表达, 增进肠钙吸收, 抑制尿钙排泄, 提高骨密度, 产生抗骨质疏松症的防治作用。

## 2 齐墩果酸和熊果酸

齐墩果酸和熊果酸是一对化学立体结构十分相近的同分异构体, 常常共存于同一植物之中, 女贞子中含有丰富的齐墩果酸和熊果酸。已有动物实验和临床药理研究证实齐墩果酸具有雌激素样作用, 提高更年期大鼠和去卵巢大鼠血清雌二醇水平, 改善更年期大鼠卵巢、肾上腺组织功能<sup>[28-29]</sup>; 提高绝经期综合征妇女 (口服齐墩果酸 40 mg, 3 次/d,

共 3 个月) 外周血雌激素受体表达水平和免疫功能 (升高外周血 T 细胞亚群 CD<sup>+</sup><sub>3</sub>、CD<sup>+</sup><sub>4</sub>、CD<sup>+</sup><sub>8</sub>、CD<sup>+</sup><sub>4</sub>/CD<sup>+</sup><sub>8</sub> 及白介素 (IL) -2 和  $\gamma$ -干扰素水平)<sup>[30]</sup>

体外实验发现齐墩果酸具有抑制破骨细胞样多核细胞形成作用<sup>[31-32]</sup>, 也能促进骨间充质干细胞分化成成骨细胞<sup>[33]</sup>。Bian 等<sup>[33]</sup>给去卵巢骨质疏松症大鼠每天 ig 齐墩果酸 20 mg/kg 可增加成骨细胞数量、骨钙素和骨桥蛋白-2 的蛋白水平, 提高模型大鼠腰椎骨密度和骨小梁密度, 改善骨质疏松症的病理形态学改变 (提高骨小梁的分布和梁髓比)。Kim 等<sup>[34]</sup>用乙酸齐墩果酸酯 (oleanolic acid acetate) 进行体内外实验, 发现乙酸齐墩果酸酯通过下调磷脂酶 Cy2-Ca<sup>2+</sup>-激活的 T 细胞 c1 的核因子 (PLCy2-Ca<sup>2+</sup>-NFATc1) 信号转导, 抑制 RANKL 诱导骨髓巨噬细胞向破骨细胞分化, 抑制脂多糖诱导在体小鼠股骨发生炎性骨丢失。齐墩果酸是乙酸齐墩果酸酯的水解产物, 齐墩果酸能否通过上述机制抑制破骨细胞形成和骨质丢失, 需要进一步验证。

曾光等<sup>[35]</sup>报道熊果酸能对抗胶原诱导的大鼠关节炎引起的骨质破坏: 给胶原性关节炎大鼠 ig 熊果酸 10 mg/kg 连续 35 d, 可显著降低模型大鼠的关节炎指数和足爪肿胀度; 踝关节的 X 线评分由模型组的 7.1 $\pm$ 1.3 显著降低至 2.3 $\pm$ 0.5, 使关节软组织肿胀、骨质疏松、骨密度降低、骨侵蚀病灶明显改善; 关节切片病理评分由模型组的 13.2 $\pm$ 1.1 显著降至 4.1 $\pm$ 0.5, 明显减轻关节滑膜增生、炎性细胞浸润等病理改变, 骨髓骨质破坏。熊果酸还能诱导成骨细胞特异性基因表达和激活丝裂原活化的蛋白激酶、核因子- $\kappa$ B 和激活子蛋白-1 (AP-1), 提高骨核心区中骨形态发生蛋白 2-mRNA 表达, 从而刺激成骨细胞分化和促进新骨形成<sup>[36]</sup>。

骨组织表面覆盖一层成骨细胞和未矿化的胶原作为屏障, 阻止破骨细胞与矿化骨质接触。当成骨细胞受到促骨吸收因子的刺激后, 分泌基质金属蛋白酶 (MMPs), 降解成骨细胞下的 I 型胶原, 从而激活破骨细胞, 启动骨吸收。齐墩果酸和熊果酸能抑制人白细胞弹性蛋白酶 (MMP-12), 半数抑制浓度分别为 6.4、4.4  $\mu$ mol/L<sup>[37]</sup>。熊果酸可能是通过增强金属蛋白酶组织抑制因子, 抑制明胶酶 A (MMP-2)、明胶酶 B (MMP-9) 的蛋白表达<sup>[38-39]</sup>, 因此齐墩果酸和熊果酸可能还通过抑制 MMPs, 抑制破骨细胞激活。

成骨细胞表面存在胰岛素受体, 胰岛素缺乏可

导致骨转换下降、骨基质分解、钙丢失,引起骨质疏松。齐墩果酸和熊果酸有刺激胰岛素分泌的作用,可引起血糖下降。齐墩果酸和熊果酸是选择性G蛋白偶联胆汁酸受体TGR5激动剂,可促进胰高血糖素样肽-1(GLP-1)分泌,刺激胰岛素合成和分泌。齐墩果酸和熊果酸又是蛋白酪氨酸磷酸酶1B竞争性抑制剂,可易化胰岛素信号通路。熊果酸在1 mg/L浓度时是胰岛素增敏剂,在大于50 mg/L时有拟胰岛素作用<sup>[40]</sup>。因此胰岛素样作用也可能是齐墩果酸和熊果酸抗骨质疏松的又一作用机制。

### 3 红景天苷及其苷元酪醇

骨质疏松也可以是糖尿病的慢性并发症。张胜昌等<sup>[41]</sup>给链脲佐菌素性糖尿病大鼠每天分别ig红景天苷18、36 mg/kg,这两个剂量都能降低模型大鼠的高血糖和升高血清胰岛素水平、瘦素(leptin)浓度,并且提高模型大鼠胫骨骨密度,认为红景天苷是通过促进胰岛素分泌和提高胰岛素敏感性来加强血浆瘦素对骨代谢的外周正性作用。红景天苷也能改善去卵巢小鼠的第四腰椎骨和股骨的骨密度和骨小梁的骨微结构,并升高去卵巢小鼠血中的还原型谷胱甘肽水平和降低血中丙二醛水平<sup>[42-43]</sup>。

体外实验发现红景天苷通过其抗氧化作用,显著对抗H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>引起的成骨细胞系MC3T3-E1细胞存活率下降和碱性磷酸酶活性下降,促进骨沉积以及碱性磷酸酶和骨钙素的基因转录表达。红景天苷还降低MC3T3-E1细胞内活性氧生成和破骨细胞分化诱导因子(如H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>诱导的RANKL)和IL-6的生成,认为红景天苷至少是部分通过抑制骨重吸收介质的释放和对抗骨形成细胞的氧化损伤,进而缓解骨丢失<sup>[42]</sup>。红景天苷浓度为0.5~10 μmol/L,在轻度促进MC3T3-E1细胞和小鼠多能间充质细胞系C3H10T1/2细胞增殖时就显著提高碱性磷酸酶活性和成骨细胞相关基因的表达和细胞矿化。作用机制研究发现红景天苷是通过骨形态发生蛋白信号通路,增强Smad1/5/8和ERK1/2的磷酸化提高成骨细胞相关基因的mRNA水平,促进成骨细胞分化,调节骨代谢<sup>[43]</sup>。从女贞子中提取得到的红景天苷也能提高成骨细胞系UMR-106细胞中的碱性磷酸酶活性<sup>[23]</sup>。

红景天苷对MMPs也具有调控作用,如对骨髓抑制贫血小鼠,红景天苷能促进受抑制骨髓细胞表达MMP-2和MMP-9<sup>[44]</sup>。对人纤维肉瘤HT1080细胞,红景天苷能上调基质金属蛋白酶组织抑制因子

表达,抑制MMPs活性<sup>[45]</sup>,因此红景天苷调控MMPs,可能也是其抗骨质疏松机制之一。苷元酪醇可能是红景天苷分子中的抗骨质疏松活性部位,因为Puel等<sup>[46]</sup>报道给去卵巢大鼠和去卵巢肉芽肿炎性大鼠(系一种老年骨质疏松症模型)每天ig酪醇可促进新骨形成,防止骨丢失,该作用还需要更精确的实验进行证实。

### 4 结语

女贞子及其活性成分齐墩果酸、熊果酸、红景天苷、酪醇具有抗骨质疏松作用,能对抗去卵巢大、小鼠,雌性老龄大鼠,糖皮质激素引起的或糖尿病并发的骨质疏松以及胶原性关节炎大鼠的骨质破坏。作用机制可能有两个:(1)促进成骨细胞分化,抑制基质金属蛋白酶表达,阻滞破骨细胞激活;(2)促进活性维生素D<sub>3</sub>生物合成以及维生素D受体和钙结合蛋白表达,促进肠钙吸收,抑制尿钙排泄,提高骨密度,产生抗骨质疏松的防治作用。女贞子的雌激素样作用和胰岛素样作用在抗骨质疏松中起到了重要作用。

女贞子抗骨质疏松成分可能不只是上述4种。Chen等<sup>[23]</sup>用测定UMR-106细胞增殖和碱性磷酸酶活性作为导向,从女贞子中还分离出羟基酪醇(hydroxytyrosol)、二甲酯油苷(oleoside dimethyl ester)、7-乙基-11-甲酯油苷(oleoside-7-ethyl-11-methyl ester)、女贞子苷(nuzhenide)和G13等抗骨质疏松成分。Hagiwar等<sup>[47]</sup>用从橄榄油中分离出来的羟基酪醇实验,发现羟基酪醇在10~100 μmol/L时虽然不明显影响MC3T3-E1细胞中的碱性磷酸酶活性和I型胶原生成,但浓度相关地刺激钙沉积;在50~100 μmol/L时还浓度相关地抑制多核破骨细胞形成,降低MC3T3-E1细胞中的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>水平。也能改善去卵巢大、小鼠和去卵巢肉芽肿关节炎大鼠的骨质丢失<sup>[46-47]</sup>。提示女贞子中至少有9种成分具有抗骨质疏松作用,证实女贞子确实是中医治疗骨质疏松症中的主要基本药物。

骨质疏松症属代谢性、老年性、慢性疾病,需要长期用药物调控骨代谢,因此要求抗骨质疏松药物应该是有效、低毒的。《神农本草经》称女贞子“补中,安五脏,养精神,除百疾,久服肥健,轻身不老”,是中医扶正补虚、抗衰老的常用中药。近年来我国的养殖业已经将女贞子开发成提高动物免疫力,促进生长的饲料添加剂,佐证了女贞子是无毒的补益强壮中药<sup>[48-52]</sup>。我国女贞子资源非常丰富,

全国年产量达数百万吨,且大部分未被利用。如果将女贞子开发成抗骨质疏松症药物,可为我国亿万骨量减少和骨质疏松症患者提供价廉物美、低毒有效的防治药物。

#### 参考文献

- [1] 张明发,沈雅琴.女贞子的抗炎、抗肿瘤和免疫调节作用的研究进展[J].现代药物与临床,2012,27(5):536-542.
- [2] 张明发,沈雅琴.红景天苷及其苷元酪醇的抗炎、抗肿瘤和免疫调节作用[J].药物评价研究,2013,36(3):228-234.
- [3] 张明发,沈雅琴.女贞子及其有效成分的保肝作用研究进展[J].药物评价研究,2014,37(3):280-284.
- [4] 程敏,胡正海.女贞子的生物学和化学成分研究进展[J].中草药,2010,41(7):1219-1221.
- [5] 张岩,黄文秀,陈斌,等.女贞子对去卵巢大鼠钙代谢及维生素D依赖型基因表达的影响[J].中草药,2006,37(4):558-561.
- [6] Zhang Y, Lai W P, Leung P C, et al. Effects of *Fructus Ligustri Lucidi* extract on bone turnover and calcium balance in ovariectomized rats [J]. *Biol Pharm Bull*, 2006, 29(2): 291-296.
- [7] Zhang Y, Dong X L, Leung P C, et al. *Fructus Ligustri Lucidi* extract improves calcium balance and modulates the calciotropic hormone level and vitamin D-dependent gene expression in age ovariectomized rats [J]. *Menopause*, 2008, 15(3): 558-565.
- [8] Zhang Y, Leung P C, Che C T, et al. Improvement of bone properties and enhancement of mineralization by ethanol extract of *Fructus Ligustri Lucidi* [J]. *Br J Nutr*, 2008, 99(3): 494-502.
- [9] 程敏,王庆伟,刘雪英,等.女贞子治疗去卵巢大鼠骨质疏松的实验研究[J].中国药理学通报,2013,29(2):229-233.
- [10] Zhang Y, Lai W P, Leung P C, et al. Improvement of Ca balance by *Fructus Ligustri Lucidi* extract in aged female rats [J]. *Osteoporos Int*, 2008, 19(2): 235-242.
- [11] Dong X L, Zhang Y, Favus M J, et al. Ethanol extract of *Fructus Ligustri Lucidi* increase circulating 1, 25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> by inducing renal 25-hydroxyvitamin D-1 $\alpha$  hydroxylase activity [J]. *Menopause*, 2010, 17(6): 1174-1181.
- [12] 刘仁慧,康学,张伟华,等.淫羊藿女贞子配伍对GIOP大鼠骨代谢生化指标的影响研究[J].世界中医药,2013,8(12):1450-1453.
- [13] 康学,周琦,李焜,等.淫羊藿-女贞子对GIOP大鼠骨密度和激素水平的相关性分析[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(23):250-253.
- [14] 刘仁慧,王秀娟,袁颖,等.淫羊藿女贞子对激素干预哮喘大鼠骨代谢的影响[J].吉林中医药,2012,32(5):490-492.
- [15] 刘仁慧,杨婧,王培,等.淫羊藿女贞子对激素干预撤停阶段大鼠哮喘模型HPA轴及骨代谢的影响[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(5):137-139.
- [16] 康学,李焜,张伟华,等.淫羊藿女贞子配伍对维甲酸致大鼠骨质疏松模型的影响研究[J].中国中药杂志,2013,38(23):4124-4128.
- [17] Dong X L, Cao S S, Gao Q G, et al. Combination treatment with *Fructus Ligustri Lucidi* and *Puerariae radix* offsets their independent actions on bone and mineral metabolism in ovariectomized rats [J]. *Menopause*, 2014, 21(3): 286-294.
- [18] Li G, Zhang X A, Zhang J F, et al. Ethanol extract of *Fructus Ligustri Lucidi* promotes osteogenesis of mesenchymal stem cells [J]. *Phytother Res*, 2010, 24(4): 571-576.
- [19] Lyu Y, Feng X, Zhao P, et al. *Fructus Ligustri Lucidi* (FLL) ethanol extract increases bone mineral density and improves bone properties in growing female rats [J]. *J Bone Miner Metab*, 2013-12-21. PMID: 24362453.
- [20] Feng X, Lyu Y, Wu Z, et al. *Fructus Ligustri Lucidi* ethanol extract improves bone mineral density and properties through modulating calcium absorption-related gene expression in kidney and duodenum of growing rats [J]. *Calcif Tissue Int*, 2014, 94(4): 433-441.
- [21] 秦腊梅,肖永华,周丽珍,等.4味中药对体外培养成骨样细胞增殖的影响——对通补强骨方中主要组成药物的研究[J].中国实验方剂学杂志,2002,8(2):18-21.
- [22] 王玉梅,陈前锋,杨莉娟,等.女贞子对大鼠成骨细胞增殖与分化的影响[J].天然产物研究与开发,2011,23(3):232-235,285.
- [23] Chen Q, Yang L, Zhang G, et al. Bioactivity-guided isolation of antiosteoporotic compounds from *Ligustri lucidum* [J]. *Phytother Res*, 2013, 27(7): 973-979.
- [24] 孙曙光,李玉洁,张明昊.女贞子水煎剂对性未成熟雌性小鼠主要脏器系数的影响[J].郑州大学学报:医学版,2012,47(3):330-332.
- [25] 赵澍,刘名彦,马惠珍.从含雌、雄激素类似物的中药看中医的双向调节作用[J].北京中医学院学报,1988,11(6):41-42.
- [26] 蔡晶,杜建,曹治云.补肾中药对雄性大鼠杏仁核和皮质顶叶雌激素受体mRNA表达的影响[J].福建中医学院学报,2006,16(1):34-36.
- [27] 赵胜,孔德明.女贞子、淫羊藿、女贞子合淫羊藿对更年期模型大鼠作用的实验研究[J].贵阳中医学院学

- 报, 2007, 29(2): 15-19.
- [28] 娄 艳, 陈志良, 王春霞. 齐墩果酸对更年期大鼠的实验研究 [J]. 中药材, 2005, 28(7): 584-587.
- [29] 杨 军, 张小莉, 刘仕杰, 等. 齐墩果酸对去卵巢骨质疏松症雌鼠的疗效及机理研究 [J]. 时珍国医国药, 2013, 24(7): 1564-1565.
- [30] 朱慧琼, 池鸿斐. 齐墩果酸片对于围绝经期综合征免疫功能改善作用研究 [J]. 现代中西医结合杂志, 2013, 22(14): 1491-1493.
- [31] Li J F, Chen S J, Zhao Y, *et al.* Glycoside modification of oleanolic acid derivatives as a novel class of anti-osteoclast formation agents [J]. *Carbohydr Res*, 2009, 344(5): 599-605.
- [32] Li J F, Zhao Y, Cai M M, *et al.* Synthesis and evaluation of a novel series of heterocyclic oleanolic acid derivatives with anti-osteoclast formation activity [J]. *Eur J Med Chem*, 2009, 44(7): 2796-2806.
- [33] Bian Q, Liu S F, Huang J H, *et al.* Oleanolic acid exerts an osteoprotective effect in ovariectomy-induced osteoporotic rats and stimulates the osteoblastic differentiation of bone mesenchymal stem cells *in vitro* [J]. *Menopause*, 2012, 19(2): 225-233.
- [34] Kim J Y, Cheon Y H, Oh H M, *et al.* Oleanolic acid acetate inhibits osteoclast differentiation by downregulating PLCy2-Ca<sup>2+</sup>-NFATc1 signaling, and suppresses bone loss in mice [J]. *Bone*, 2014, 60(1): 104-111.
- [35] 曾 光, 陈 芳, 熊新贵, 等. 熊果酸对 CIA 大鼠关节炎及骨质破坏的影响 [J]. 湖南中医药大学学报, 2013, 33(7): 3-7.
- [36] Lee S U, Park S J, Kwak H B, *et al.* Anabolic activity of ursolic acid in bone: Stimulating osteoblast differentiation *in vitro* and inducing new bone formation *in vivo* [J]. *Pharmacol Res*, 2008, 58(5/6): 290-296.
- [37] Mitaine-Offer A C, Hornebeck W, Sauvain M, *et al.* Triterpenes and phytosterols as human leucocyte elastase inhibitor [J]. *Planta Med*, 2002, 68(10): 930-932.
- [38] Kanjoormana M, Kuttan G. Antiangiogenic activity of ursolic acid [J]. *Integr Cancer Ther*, 2010, 9(2): 224-235.
- [39] Yeh C T, Wu C H, Yeh G C. Ursolic acid, a naturally occurring triterpenoid, suppresses migration and invasion of human breast cancer cells by modulating c-Jun N-terminal kinase, Akt and mammalian target of rapamycin signaling [J]. *Mol Nutr Food Res*, 2010, 54(9): 1285-1295.
- [40] 张明发, 沈雅琴. 齐墩果酸和熊果酸的抗糖尿病药理 [J]. 上海医药, 2010, 31(8): 347-350.
- [41] 张胜昌, 王淑秋, 赵 爽. 红景天苷对糖尿病并发骨质疏松大鼠瘦素表达的影响 [J]. 中国病理生理杂志, 2009, 25(4): 787-788.
- [42] Zhang J K, Yang L, Meng G L, *et al.* protection by salidroside against bone loss via inhibition of oxidative stress and bone-resorbing mediators [J]. *PLoS One*, 2013, 8(2): e57251.
- [43] Chen J J, Zhang N F, Mao G X, *et al.* Salidroside stimulates osteoblast differentiation through BMP signaling pathway [J]. *Food Chem Toxicol*, 2013, 62C: 499-505.
- [44] 张新胜, 祝彼得, 金沈瑞, 等. 红景天苷对骨髓抑制贫血小鼠骨髓基质金属蛋白酶的影响 [J]. 生物医学工程学杂志, 2006, 23(6): 1314-1319.
- [45] Sun C, Wang Z, Zheng Q, *et al.* Salidroside inhibits migration and invasion of human fibrosarcoma HT1080 cells [J]. *Phytomedicine*, 2012, 19(3/4): 355-363.
- [46] Puel C, Mardon J, Agalias A, *et al.* Major phenolic compounds in olive oil modulate bone loss in an ovariectomy/inflammation experimental model [J]. *J Agric Food Chem*, 2008, 56(20): 9417-9422.
- [47] Hagiwara K, Goto T, Araki M, *et al.* Olive polyphenol hydroxytyrosol prevents bone loss [J]. *Eur J Pharmacol*, 2011, 662(1/3): 78-84.
- [48] 李建平, 单安山, 陈志辉, 等. 女贞子对断奶仔猪生长性能和血液生化指标的影响 [J]. 东北农业大学学报, 2011, 42(9): 26-30.
- [49] 徐建凯, 单安山, 李建平, 等. 女贞子对断奶仔猪生产性能及抗氧化功能的影响 [J]. 东北农业大学学报, 2010, 41(4): 76-81.
- [50] 李 杰, 田 博, 徐良梅, 等. 不同类型女贞子对 AA 肉鸡抗氧化功能的影响 [J]. 中国饲料, 2011, (19): 10-13.
- [51] 郭晓秋, 单安山, 赵 云, 等. 女贞子水提物对 AA 肉仔鸡抗氧化指标的影响 [J]. 动物营养学报, 2007, 19(1): 81-85.
- [52] 单芝丹, 单安山, 李建平, 等. 女贞子粉及其萃取物对肥育猪肉品质和抗氧化性能的影响 [J]. 东北农业大学学报, 2011, 42(12): 14-19.