

· 综 述 ·

基于淫羊藿黄酮类化合物的体内代谢阐述其抗骨质疏松药效物质基础

蒋 俊^{1,2,3}, 崔 莉^{1,3}, 孙 娥^{1,3}, 李 杰³, 成旭东^{1,3}, 丁淑敏^{1,3}, 封 亮^{1,3}, 贾晓斌^{1,2,3*}

1. 南京中医药大学附属中西医结合医院, 江苏 南京 210023

2. 南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210029

3. 江苏省中医药研究院 国家中医药管理局中药释药系统重点实验室, 江苏 南京 210028

摘 要: 全面系统阐述了淫羊藿饮片中朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、宝藿苷 I、淫羊藿苷 5 种主要黄酮类化合物的体内代谢过程, 整理了 5 种黄酮类化合物的体内代谢产物与代谢途径; 基于 5 种黄酮类化合物主要体内代谢产物, 总结其共性代谢规律和共有代谢产物, 并结合淫羊藿总黄酮、淫羊藿苷、宝藿苷 I、淫羊藿素的抗骨质疏松药理作用及其作用机制, 初步推断淫羊藿黄酮类化合物中的次糖苷和苷元是淫羊藿黄酮类化合物的主要体内代谢产物, 次糖苷和苷元也可能是淫羊藿总黄酮抗骨质疏松重要药效物质基础。为淫羊藿饮片及淫羊藿黄酮类化合物抗骨质疏松药效物质基础及机制研究和抗骨质疏松有效药物研发提供了重要依据和指导。

关键词: 淫羊藿; 黄酮类化合物; 体内代谢; 骨质疏松; 药效物质基础; 淫羊藿苷; 宝藿苷 I; 淫羊藿素

中图分类号: R284; R285 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2014)05-0721-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.05.024

Material basis for anti-osteoporosis efficacy of *Epimedium* flavonoids based on their *in vivo* metabolism

JIANG Jun^{1,2,3}, CUI Li^{1,3}, SUN E^{1,3}, LI Jie³, CHENG Xu-dong^{1,3}, DING Shu-min^{1,3}, FENG Liang^{1,3}, JIA Xiao-bin^{1,2,3}

1. Affiliated Hospital on Integration of Chinese and Western Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

2. Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, China

3. Key Laboratory of New Drug Delivery System of Chinese Materia Medica, Jiangsu Provincial Academy of Chinese Medicine, Nanjing 210028, China

Key words: *Epimedium*; flavonoids; *in vivo* metabolism; osteoporosis; medicinal material base; icariin; baohuside I; icaritin

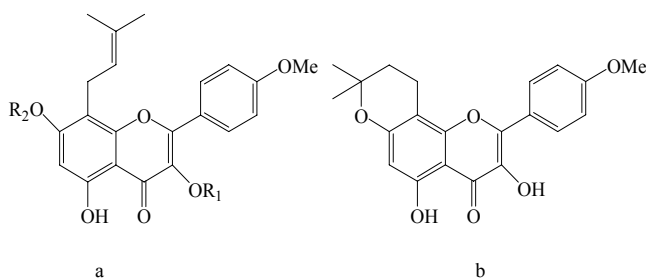
淫羊藿为小檗科植物淫羊藿 *Epimedium brevicornu* Maxim.、箭叶淫羊藿 *E. sagittatum* Maxim.、柔毛淫羊藿 *E. pubescens* Maxim. 或朝鲜淫羊藿 *E. koreanum* Nakai 的干燥叶, 具有补肾阳、强筋骨、祛风湿的作用^[1]。《中国药典》2010 年版中对淫羊藿饮片的质量控制也明确规定了淫羊藿苷和宝藿苷的量^[1]。淫羊藿中主要的药效成分为黄酮类化合物, 其中朝藿定 A、B、C, 宝藿苷 I 及淫羊藿苷是其主要的黄酮类成分^[2], 总量约占饮片的 1.61%~

2.78%^[3]。化学结构见图 1。本实验室在淫羊藿 4 项国家自然科学基金研究基础上, 基于体内肠吸收屏障网络阐明炮制过程对淫羊藿主要黄酮类化合物的吸收机制, 研究结果表明, 淫羊藿黄酮苷具有较差的渗透性, 有 1 一个糖取代是淫羊藿黄酮保持溶解性的必要条件, 随着糖基数目的增加, 淫羊藿黄酮溶解性变大, 渗透性变低, 吸收变差 (宝藿苷 I > 淫羊藿苷 > 朝藿定 A、B、C)。加热炮制可以使淫羊藿黄酮脱去糖基, 由多糖苷转化为次糖苷 (淫羊藿苷、

收稿日期: 2013-10-11

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81274088, 81173557, 30973944, 30973978)

*通信作者 贾晓斌, 研究员, 博士生导师。Tel: (025)85637809 E-mail: jxiaobin2005@hotmail.com



母核	R ₁	R ₂	化合物
a	rha-glc	glc	朝藿定 A (epimedin A)
	rha-xyl	glc	朝藿定 B (epimedin B)
	rha-rha	glc	朝藿定 C (epimedin C)
b	rha	glc	淫羊藿苷 (icariin)
	rha	H	宝藿苷 I (baohuoside I)
	H	H	淫羊藿素 (icaritin)
			环淫羊藿素 (C-icaritin)

图 1 淫羊藿主要黄酮类化合物的结构式

Fig. 1 Structures of major *Epimedium* flavonoids

宝藿苷 I 的量增高), 既保证了黄酮的溶解性又提高了黄酮的渗透性, 促进了吸收, 控制炮制温度可以促使产生更多的易于吸收的具有生物活性的黄酮(淫羊藿苷、宝藿苷 I), 从而保证和提高疗效^[4-8]。

淫羊藿是中医临床常用药物, 体内外抗骨质疏松药理作用研究表明, 淫羊藿总黄酮具有较强的抗骨质疏松作用^[9-11]。也有研究认为淫羊藿总黄酮的抗骨质疏松作用并非总黄酮直接作用, 而是总黄酮的代谢产物发挥作用^[12-14]。因此, 研究淫羊藿黄酮类化合物的体内代谢对进一步阐明淫羊藿及其黄酮类化合物抗骨质疏松药效物质基础具有重大意义。本文系统阐述淫羊藿饮片中多种黄酮类化合物的抗骨质疏松作用及其作用机制, 并总结了这些黄酮类化合物的体内代谢途径和共性代谢产物, 预测了淫羊藿总黄酮抗骨质疏松的药效物质基础, 为淫羊藿黄酮类化合物抗骨质疏松研究及其药物研发提供重要依据。

1 淫羊藿黄酮类化合物抗骨质疏松作用研究

淫羊藿黄酮类化合物的抗骨质疏松作用已在大量的实验基础上得到公认^[9-15], 并有研究报道将淫羊藿总黄酮作为抗骨质疏松药物筛选的阳性对照药^[16]。但是, 淫羊藿中黄酮类化合物种类较多, 有多糖苷、次糖苷、单糖苷和苷元, 淫羊藿总黄酮发挥抗骨质疏松作用的物质基础是优化“组分结构”^[17-18]作用, 还是某一种黄酮化合物的作用, 苷和苷元是否均具有抗骨质疏松作用这些问题有待进一步研究。

1.1 淫羊藿总黄酮

Zhang 等^[19]发现加入淫羊藿总黄酮 (HEF) 后能缩短人骨髓间质成骨细胞的分化周期。HEF 具有提高骨保护素 (OPG) / 细胞核因子- κ B 受体活化因

子配体 (RANKL) 比例以抑制间质破骨细胞, 加强骨形态发生蛋白-2 (BMP-2)、BMP-4、核心结合蛋白因子 2 (Runx2)、 β -链蛋白 (β -catenin) 和细胞周期蛋白 D₁ (cyclin D₁) 的基因信号通路的 mRNA 表达, 结果表明, HEF 是通过 BMP 和 Wnt/ β -连环蛋白信号通路发挥促进成骨细胞分化的作用^[20]。Gao 等^[21]发现 HEF 能预防香烟诱导的骨矿含量 (BMC) 和骨矿密度 (BMD) 下降, 骨形成抑制和骨吸收增加, 骨小梁分离增加和骨小梁体积减少, 骨小梁厚度、骨小梁数量减少, 机械性能降低。

Chen 等^[22]发现 HEF 治疗去势大鼠骨质疏松作用主要是通过增加 I 型胶原量, 增加骨钙素 mRNA 的表达, 并增加细胞核因子- κ B (NF- κ B) 配体 mRNA 的激活剂 OPG/RANKL 的比率, 抑制去势大鼠体内 IL-6 mRNA 的表达。推测 HEF 可能增加骨钙素重吸收, 抑制去势大鼠破骨细胞, 刺激成骨细胞形成。

1.2 淫羊藿苷

Zheng 等^[23]发现淫羊藿苷同时 ig OPG 敲除与野生型小鼠, 结果显示 OPG 敲除小鼠的骨小梁体积、骨小梁数量均较小。淫羊藿苷在增加野生型小鼠骨形成参数的同时, 可降低骨吸收参数。在细胞和分子水平, 淫羊藿苷能显著增加野生型小鼠的骨髓细胞 OPG 基因表达和骨小梁形成的成骨细胞集落。提示淫羊藿苷对骨的作用依赖于上调 OPG 水平, 淫羊藿苷对骨小梁的保护过程中, OPG 起着至关重要的作用^[23]。

Mok 等^[24]发现淫羊藿苷可抑制去势后大鼠股骨远端骨质量和力度损失, 增加胫骨中 OPG/RANKL 的比率。淫羊藿苷增加了雌激素依赖细胞的增殖和碱性磷酸酶活性, 以及 UMR106 细胞 OPG/RANKL 基因表达比例。表明淫羊藿苷发挥骨

合成代谢作用可能是通过激活雌激素受体的配体依赖方式。

1.3 淫羊藿素

Peng 等^[25]对比了淫羊藿素 (ICT) 早期 (1 月后) 和晚期 (两月后) 干预治疗骨质疏松大鼠的多项指标, 结果发现, 在组织水平, 早期的 ICT 治疗能显著恢复小梁骨量、骨小梁结构和骨的生物力学性能, 并显著增加骨形成水平, 并显著抑制骨吸收水平, 而后期 ICT 治疗没有体现出任何的抗骨质疏松作用。在细胞和分子水平, 早期的 ICT 治疗显著增加成骨细胞的菌落数和成骨细胞相关基因的表达水平, 显著降低脂肪细胞和破骨细胞相关基因的表达水平; 后期 ICT 治疗也没有表现出任何的抗骨质疏松作用。可见, ICT 具有促进骨的合成代谢和抗骨吸收的作用。ICT 治疗的显著效果是依赖于雌激素枯竭引起骨质疏松症的介入时机。

1.4 宝藜苷 I

Zhang 等^[26]发现宝藜苷 I (BS) 能显著抑制 RAW264.7 细胞增殖。值得注意的是, 100 mmol/L 淫羊藿苷和宝藜苷 I 对破骨细胞形成的抑制效果几乎是 90%, 对骨吸收的抑制率分别为 50% 和 80%。宝藜苷 I C-7 位的羟基在抑制破骨细胞方面发挥了重要作用。HEF 可以调节形成和破骨细胞的活性, 抑制细胞增殖和分化, 诱导细胞凋亡、阻滞细胞周期和抑制破骨细胞的骨吸收。破骨细胞活性的变化

可能主要由核雌激素受体的相互作用, 并通过线粒体途径介导。HEF 尤其是宝藜苷 I, 用于预防和治疗骨质疏松症具有很大的潜力。

2 淫羊藿主要黄酮类化合物的体内代谢研究

目前, 针对淫羊藿黄酮类化合物体内代谢与排泄研究的研究模型主要有大鼠和斑马鱼 2 种模型, 其中又以大鼠模型较常用。因为大鼠与人类的代谢模式高度相似, 大鼠通过 ig 给药后, 可系统考察药物在血液、消化道、尿、粪便、胆汁中代谢转化过程, 以预测临床前药物在人体内代谢的情况^[27]。但应用大鼠模型化合物用量大, 而模式生物斑马鱼, 化合物用量少, 条件简单, 目前也被应用于药物体内代谢研究^[28]。将药物溶解于斑马鱼所生活的水中, 则斑马鱼会自主连续地从溶液中吸收药物, 药物的代谢物也会随着斑马鱼的排泄物被连续的排到水中。但是, 斑马鱼的血液量太少, 较难获得, 通过取血来分析血样的方式不现实, 而对整体鱼内成分进行分析也能掌握药物在鱼体内的变化情况。故通过定时检测化合物在斑马鱼体内及体外的变化, 可较为全面地掌握药物代谢信息, 此法简单可行。

2.1 朝藜定 A

通过斑马鱼模型研究表明, 朝藜定 A 的代谢产物是通过脱去 C-7 位和 C-3 位上的葡萄糖基转化为宝藜苷 I^[29]。代谢途径见图 2。

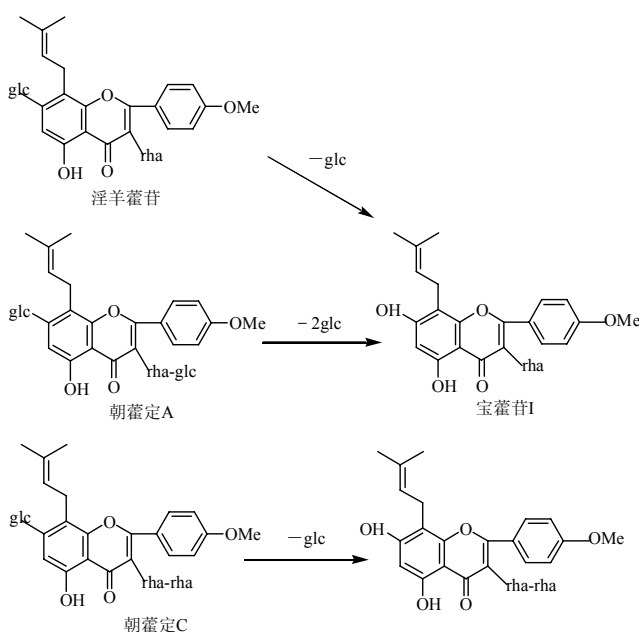


图 2 淫羊藿苷、朝藜定 A、朝藜定 C 在斑马鱼体内的代谢

Fig. 2 *In vivo* metabolic pathway of icariin, epimedin A, and epimedin C in Zebrafish

2.2 朝藿定 B

朝藿定 B 经大鼠 ig 后,在血浆中共鉴定 6 个代谢产物,主要代谢产物为氢化宝藿苷 I;在胆汁中鉴定 9 个代谢产物,主要代谢产物为 1,3-异戊烯箭藿苷 B-7-O-gluA;在尿液中共鉴定 10 个代谢产物,主要代谢产物为箭藿苷 B;在粪便中鉴定 18 个代谢产物,主要代谢产物为箭藿苷 B^[30]。朝藿定 B 在血浆、胆汁、尿液、粪便中主要代谢产物的代谢途径见图 3~6。

2.3 朝藿定 C

通过斑马鱼模型研究表明,朝藿定 C 通过脱去 C-7 位上的葡萄糖基转化成 2''-O-rhamnosylcariside II^[31]。代谢途径见图 2。

朝藿定 C 经大鼠 ig 后,在血浆中未检测出原型药朝藿定 C,共鉴定 3 个代谢产物,主要代谢产物为鼠李糖基大花淫羊藿苷 II,朝藿定 C 在血浆中主

要代谢产物的代谢途径见图 7。

2.4 淫羊藿苷

经斑马鱼模型研究表明,淫羊藿苷产生脱糖基产物宝藿苷 I,这与常规代谢分析结果高度一致,代谢途径见图 2。

淫羊藿苷经大鼠 ig 后,在血浆中除原型药淫羊藿苷外,共鉴定 7 个代谢产物,主要代谢产物为宝藿苷 I;在胆汁中除淫羊藿苷外,共鉴定 5 个代谢产物,主要代谢产物为淫羊藿素 3-O- α -L-鼠李吡喃糖基-7-O- β -D-葡萄吡喃糖醛酸苷;在尿液中共鉴定 4 个代谢产物,主要代谢产物为淫羊藿素;在粪便中除淫羊藿苷外,共鉴定 9 个代谢产物,主要代谢产物为淫羊藿素^[32]。淫羊藿苷在血浆、胆汁、尿液、粪便中主要代谢产物的代谢途径见图 8。

2.5 宝藿苷 I

通过斑马鱼模型研究发现,除了原型成分宝藿苷

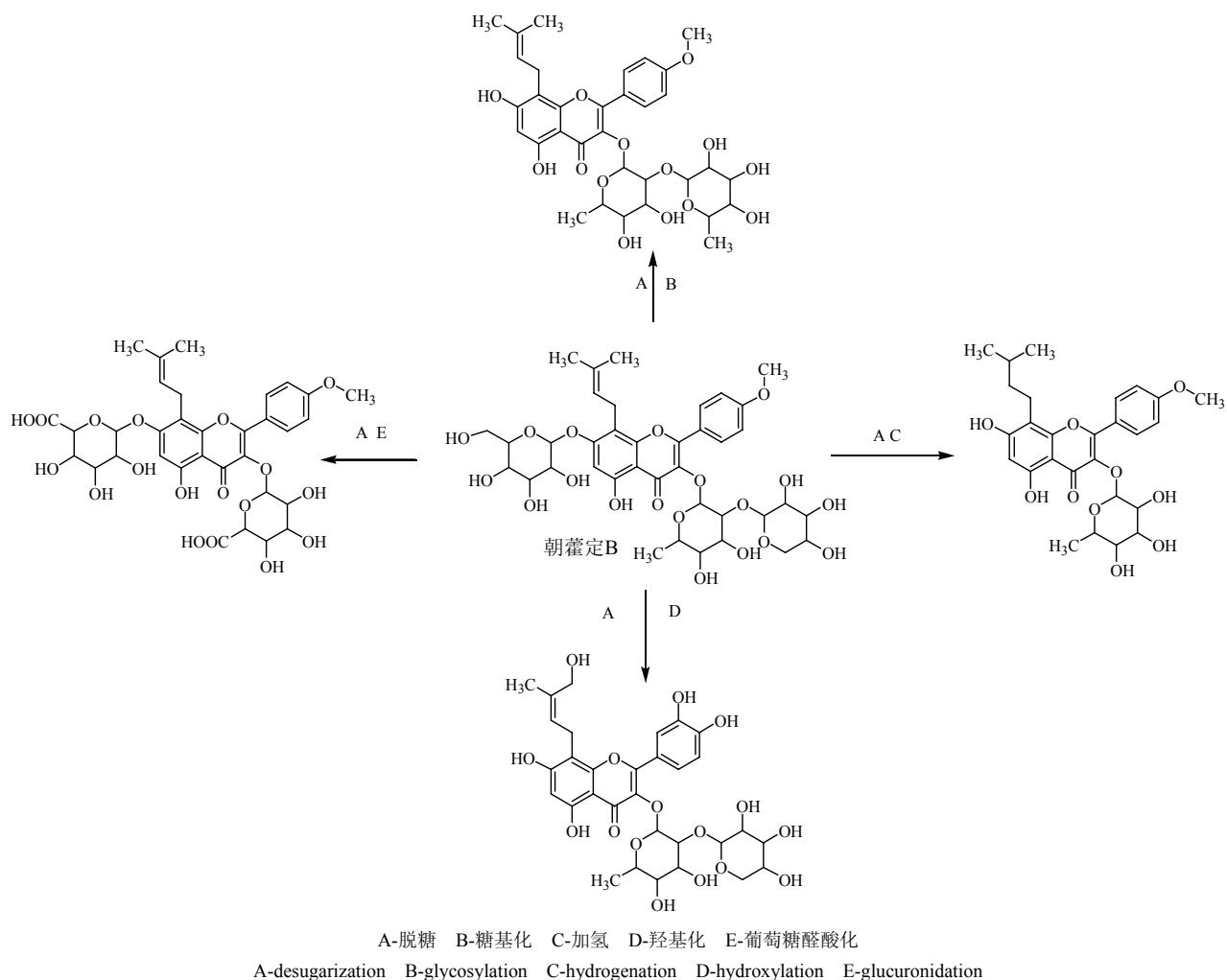
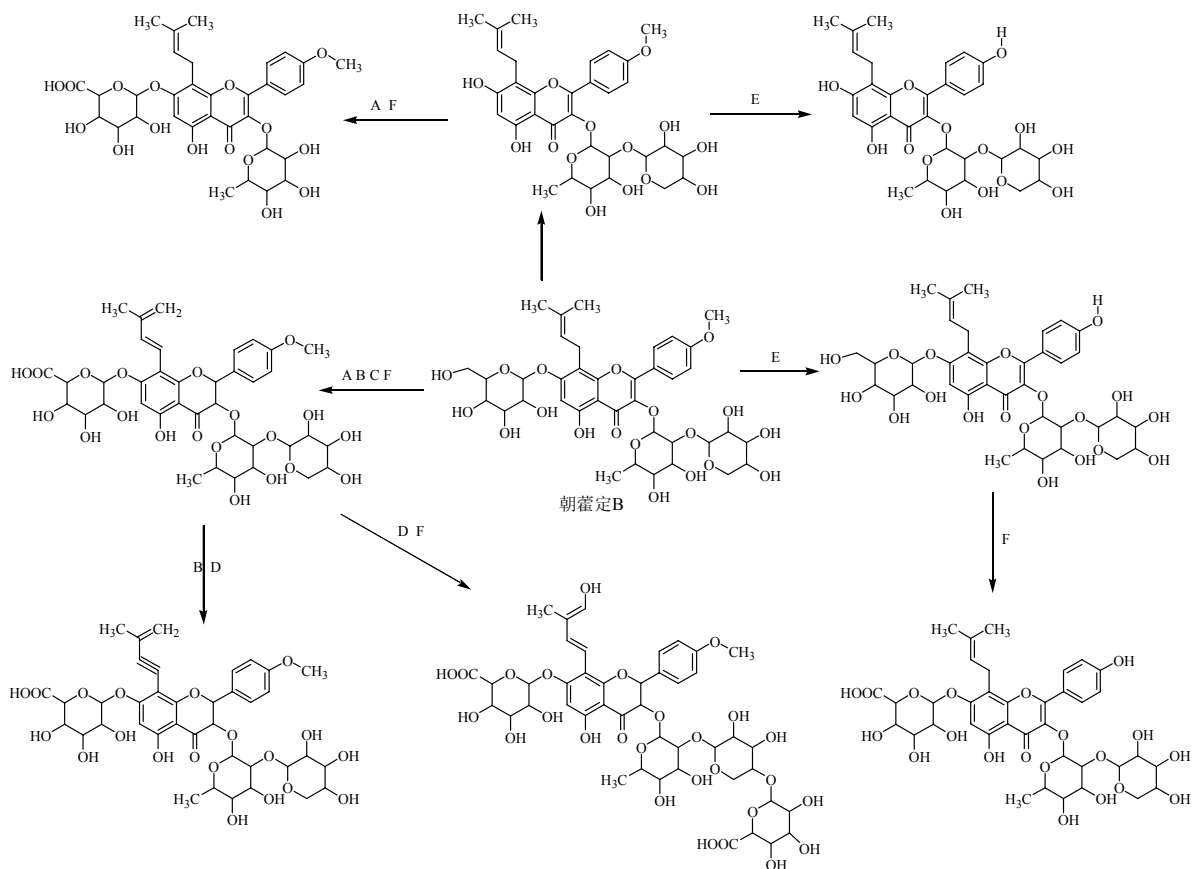


图 3 朝藿定 B 大鼠血浆中主要代谢产物的代谢途径

Fig. 3 Metabolic pathway of essential metabolites of epimedin B in plasma of rats

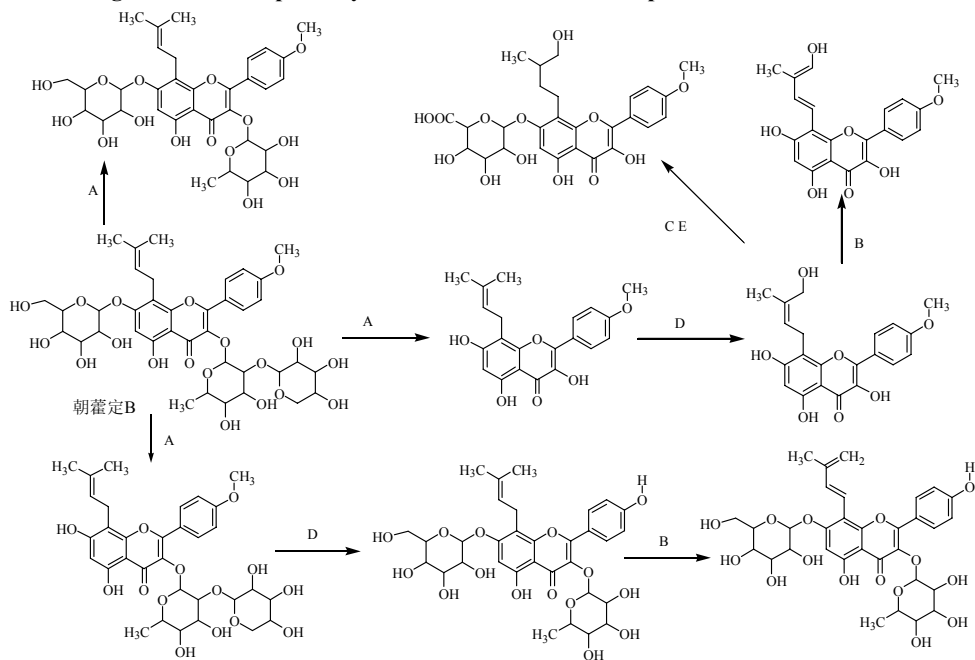


A-脱糖 B-脱氢 C-加氢 D-羟基化 E-去甲基化 F-葡萄糖醛酸化

A-desugarization B-dehydrogenation C-hydrogenation D-hydroxylation E-demethylation F-glucuronidation

图4 朝藿定B大鼠胆汁中主要代谢产物的代谢途径

Fig. 4 Metabolic pathway of essential metabolites of epimedin B in bile of rats

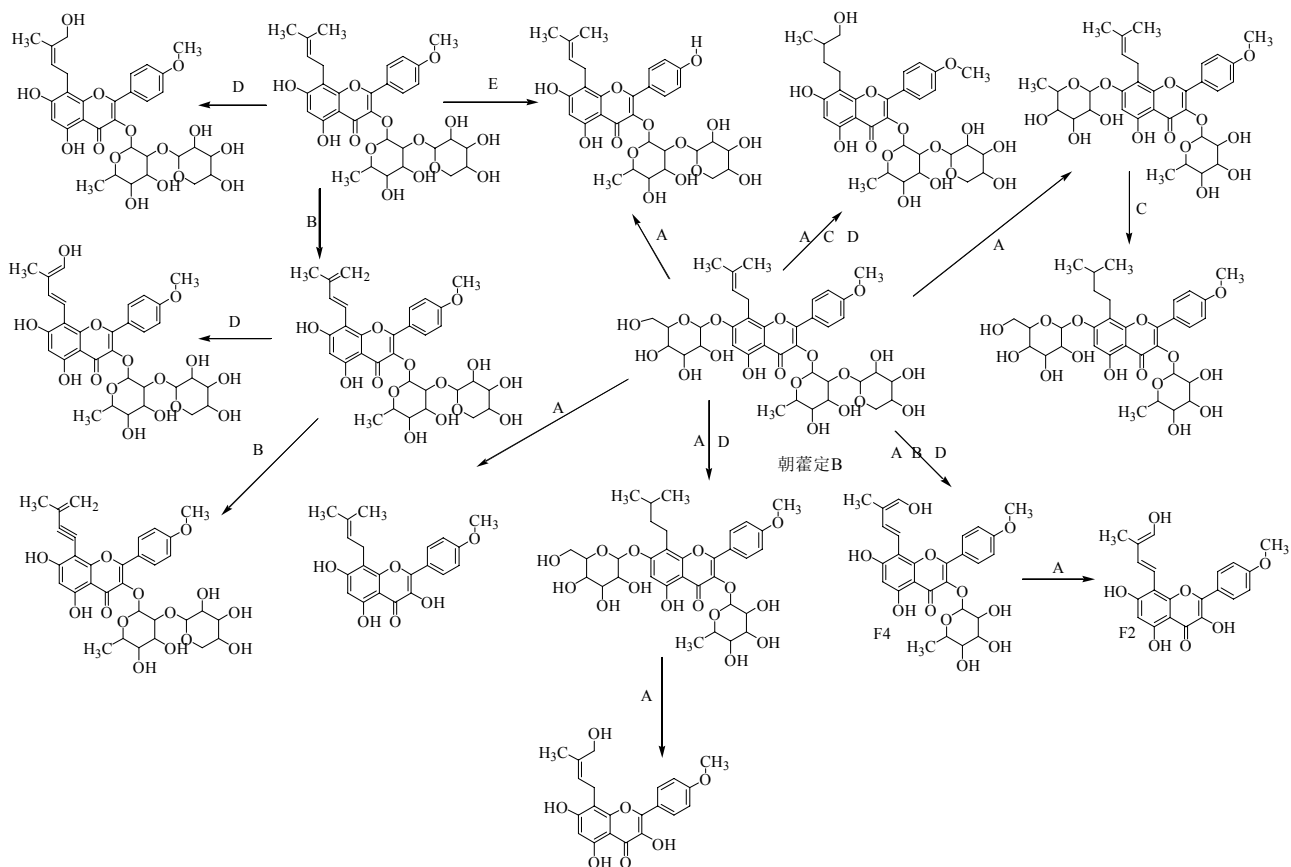


A-脱糖 B-脱氢 C-加氢 D-羟基化 E-葡萄糖醛酸化

A-desugarization B-dehydrogenation C-hydrogenation D-hydroxylation E-glucuronidation

图5 朝藿定B大鼠尿液中主要代谢产物的代谢途径

Fig. 5 Metabolic pathway of essential metabolites of epimedin B in urine of rats

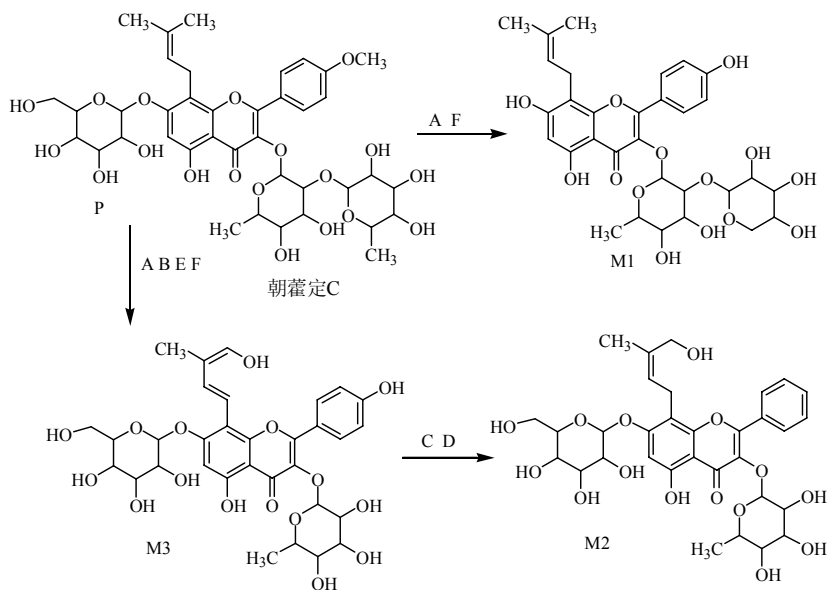


A-脱糖 B-脱氢 C-加氢 D-羟基化 E-去甲基化

A-desugarization B-dehydrogenation C-hydrogenation D-hydroxylation E-demethylation

图6 朝藿定B大鼠粪便中主要代谢产物的代谢途径

Fig. 6 Metabolic pathway of essential metabolites of epimedin B in feces of rats

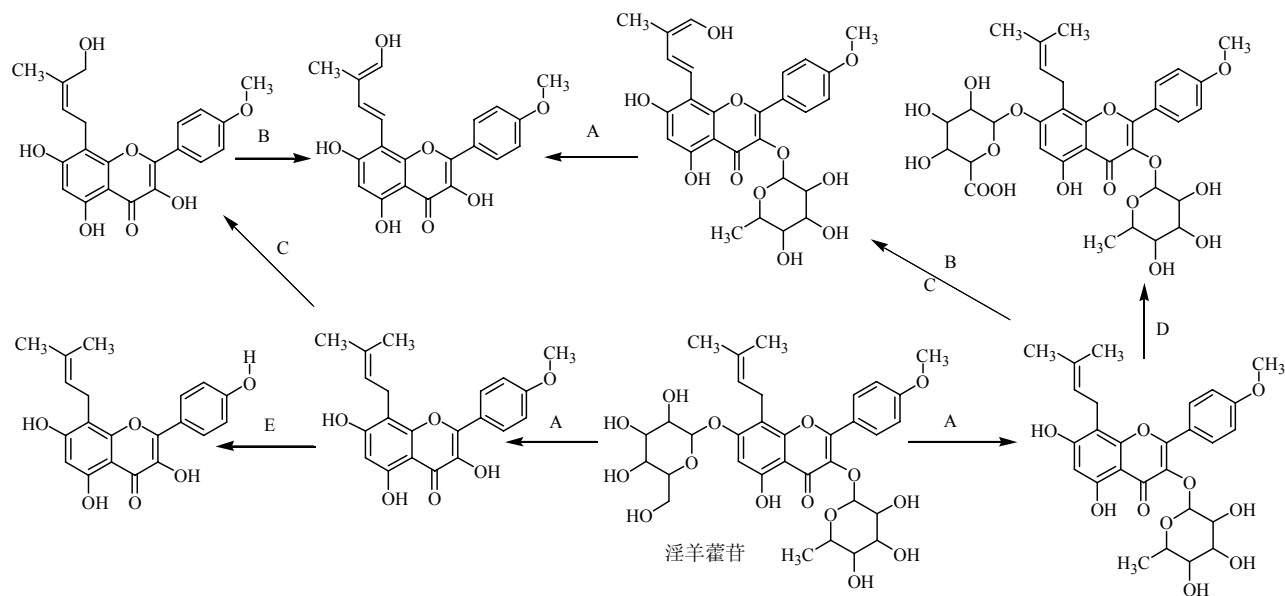


A-脱糖 B-脱氢 C-氢化 D-去羟基化 E-羟基化 F-去甲基化

A-desugarization B-dehydrogenation C-hydrogenation D-dehydroxylation E-hydroxylation F-demethylation

图7 朝藿定C大鼠血浆中主要代谢产物的代谢途径

Fig. 7 Metabolic pathway of essential metabolites of epimedin C in plasma of rats



A-脱糖 B-脱氢 C-羟基化 D-葡萄糖醛酸化 E-去甲基化
A-desugarization B-dehydrogenation C-hydroxylation D-glucuronidation E-demethylation

图8 淫羊藿苷大鼠血浆中主要代谢产物的代谢途径

Fig. 8 Metabolic pathway of essential metabolites of icariin in plasma of rats

I, 在斑马鱼体中没有发现其他的转化代谢产物^[31]。大鼠 ig 宝藿苷 I 后, 肝门静脉血的质谱中除了出现原形成分宝藿苷 I 的色谱峰外, 还出现了 4 个代谢产物。

2.6 朝藿定 A、B、C 及淫羊藿苷肠道菌群代谢

王亚乐等^[6]研究了肠道菌及肠道酶对朝藿定 A、B、C 和淫羊藿苷 4 个黄酮苷类的代谢规律。结果表明, 在肠道菌作用下淫羊藿苷可迅速代谢为宝藿苷 I; 相同量的 4 个黄酮苷与肠道菌孵育, 结果表明肠道菌对朝藿定 A、B、C 的代谢作用明显强于淫羊藿苷。朝藿定 A、B、C 在离体肠道菌的作用下分别脱掉 C-7 位的葡萄糖基转化为对应的次级苷: sagittatoside A、sagittatoside B 和 2"-O-rhamnosylcariside II。

2.7 淫羊藿主要黄酮类化合物体内代谢过程总结

在体内代谢过程中, 脱糖是上述 5 种淫羊藿黄酮类化合物的共有体内过程。脱糖过程中, 三糖苷朝藿定 A、B、C 可代谢为二糖苷, 并可进一步脱糖成单糖苷或苷元; 二糖苷淫羊藿苷也逐步脱糖成单糖苷或苷元; 单糖苷宝藿苷 I 体内代谢脱糖也可生成苷元。因此, 上述 5 种主要黄酮类化合物体内代谢过程主要是逐步脱糖, 形成次糖苷的过程。推测次糖苷不仅易于吸收、具有生物活性, 也可能是淫羊藿黄酮类化合物体内代谢的一种主要形式。淫羊藿 5

种黄酮类化合物在血浆中还易发生羟基化、去甲基化, 且在血浆、胆汁、尿液中大部分存在葡萄糖醛酸化过程, 具体体内代谢过程见表 1。

3 基于体内代谢探讨淫羊藿黄酮类化合物抗骨质疏松药效物质基础

大多数淫羊藿饮片中黄酮类化合物的量为朝藿定 C > 朝藿定 B > 淫羊藿苷 > 宝藿苷 I > 朝藿定 A > 淫羊藿苷元^[33]。其中, 以淫羊藿苷元的量为最低, 但是淫羊藿黄酮类化合物均是以其苷元为基本母核的多糖苷、次糖苷或单糖苷。因此, 淫羊藿饮片提取物口服后, 进入体内的苷元的量相对比其他黄酮更低。

根据朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、宝藿苷 I、淫羊藿苷的体内代谢过程和代谢产物的鉴定结果, 可以发现大鼠 ig 朝藿定 B 后, 在其尿液、粪便中, 均发现了淫羊藿苷元; 大鼠 ig 淫羊藿苷后, 在其血浆、尿液和粪便中, 均发现了淫羊藿苷元; 大鼠口服宝藿苷 I 后, 在其血浆中也发现了淫羊藿苷元。因此, 推测淫羊藿苷元也是淫羊藿黄酮类化合物主要体内代谢产物之一, 淫羊藿苷元可能是淫羊藿黄酮类化合物抗骨质疏松的又一类药效物质基础。

大量的研究表明, 淫羊藿苷元具有很强的抗骨质疏松活性^[26,31], 并且其抗骨质疏松作用强于朝藿定 A、B、C、淫羊藿苷和宝藿苷。但是, 本

表 1 淫羊藿主要黄酮类化合物体内代谢过程

Table 1 *In vivo* metabolic process of major *Epimedium* flavonoids

化合物	研究模型	体内代谢途径	
		共性代谢途径	特异性代谢途径
朝藿定 A	斑马鱼	脱糖	脱去 C-7, 3 位上的葡萄糖
朝藿定 B	大鼠 (血浆)	脱糖、加氢、羟基化、葡萄糖醛酸化	糖基化
	大鼠 (胆汁)	脱糖、脱氢、加氢、羟基化、去甲基化	
	大鼠 (尿液)	脱糖、脱氢、加氢、羟基化、葡萄糖醛酸化	
	大鼠 (粪便)	脱糖、脱氢、加氢、羟基化、去甲基化	
朝藿定 C	斑马鱼	脱糖	脱去 C-7 位上的葡萄糖基
	大鼠 (血浆)	脱糖、脱氢、羟基化、去甲基化	氢化; 去羟基化
淫羊藿苷	大鼠 (血浆)	脱糖、脱氢、羟基化、去甲基化、葡萄糖醛酸化	
	大鼠 (胆汁)	脱糖、脱氢、羟基化、去甲基化、葡萄糖醛酸化	
	大鼠 (尿液)	脱糖、脱氢、羟基化、去甲基化、葡萄糖醛酸化	
	大鼠 (粪便)	脱糖、脱氢、羟基化、去甲基化、葡萄糖醛酸化	
宝藿苷	大鼠 (血浆)	脱糖、脱氢、羟基化、去甲基化、葡萄糖醛酸化	甲基化

课题组前期研究发现淫羊藿苷元的溶解性差, 水中溶解度为 6 mg/L, 口服生物利用度低, 一定程度上抑制了其药效的发挥^[34-36]。根据淫羊藿黄酮类化合物的糖基数目分析, 糖基越多, 则具有较好的溶解性, 即三糖苷朝藿定 A、B、C > 二糖苷淫羊藿苷 > 单糖苷宝藿苷 I, 苷元的溶解性最差。但是, 其渗透性顺序则相反, 即宝藿苷 I > 淫羊藿苷 > 朝藿定 A、B、C > 苷元。综合考虑到溶解性和渗透性, 虽然苷元的抗骨质疏松作用最强, 但是其吸收较差, 生物利用度低。次糖苷 (如宝藿苷 I) 相对于其他淫羊藿黄酮类化合物, 不仅具有较好的溶解性, 还有相对较好的渗透性, 次糖苷类黄酮可能是淫羊藿黄酮中另一类具备抗骨质疏松作用的药效物质基础。

4 结语

淫羊藿黄酮类化合物抗骨质疏松的药效物质基础并非某一种黄酮类化合物, 即不仅有活性最强但吸收较差的淫羊藿苷元, 又有活性较强且吸收较好的淫羊藿黄酮次糖苷。这两类成分也并非随机组合即可发挥较强的抗骨质疏松作用, 而应该具有特定有序“多维结构层次”的抗骨质疏松有效“组分结构”。后续仍将基于“组分结构理论”深入研究淫羊藿黄酮类化合物抗骨质疏松的最佳“组分结构”, 并开发出一系列的抗骨质疏松临床有效药物。此外, 淫羊藿苷元具有很强的抗骨质疏松活性, 今后研究也将结合传统炮制工艺, 基于羊脂油炙淫羊藿体内

自组装胶束形成机制改善淫羊藿苷元的生物利用度^[37], 增强其抗骨质疏松作用。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [2] 郭青, 吴晓燕, 宁青, 等. 淫羊藿茎叶中 5 种黄酮类成分分析及质量评价 [J]. 中草药, 2011, 42(10): 2028-2032.
- [3] 蔡垠, 陈彦, 贾晓斌, 等. 受热温度和时间对淫羊藿中黄酮成分含量的影响 [J]. 中国中药杂志, 2007, 32(22): 2441-2443.
- [4] Chen Y, Zhao Y H, Jia X B, *et al.* Intestinal absorption mechanisms of prenylated flavonoids present in the heat-processed *Epimedium koreanum* Nakai (Yin Yanghuo) [J]. *Pharm Res*, 2008, 25(9): 2190-2199.
- [5] 陈彦. 基于活性成分肠吸收的中药淫羊藿炮制机理研究 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2008.
- [6] 王亚乐. 淫羊藿黄酮苷类物理、生物转化及其机理研究 [D]. 镇江: 江苏大学, 2008.
- [7] 赵艳红. 主成分肠吸收代谢动力学研究淫羊藿炮制机理 [D]. 镇江: 江苏大学, 2007.
- [8] 赵艳红, 贾晓斌, 陈彦, 等. 淫羊藿黄酮类化合物的大鼠在体肠吸收研究 [J]. 中国药学杂志, 2008, 43(3): 188-191.
- [9] Zhang G, Qin L, Hung W Y, *et al.* Flavonoids derived from herbal *Epimedium brevicornum* Maxim. prevent OVX-induced osteoporosis in rats independent of its enhancement in intestinal calcium absorption [J]. *Bone*, 2006, 38: 818-825.
- [10] Peng S L, Xia R Y, Fang H, *et al.* Effect of *Epimedium*-derived phytoestrogen on bone turnover and

- bone microarchitecture in OVX-induced osteoporotic rats [J]. *J Huazhong Univ Sci Technol (Med Sci)*, 2008, 28(2): 167-170.
- [11] 秦岭, 张戈, 王新峦, 等. 淫羊藿黄酮类成分预防去势大鼠骨质疏松的作用机制 [J]. 中华医学杂志, 2008, 88(25): 1772-1774.
- [12] 李东晓, 张磊, 王岚, 等. 淫羊藿总黄酮对肌内植入组织工程化骨髓间充质干细胞成骨分化的影响 [J]. 中药药理与临床, 2007, 23(5): 88-91.
- [13] 宋敏, 罗晓, 李宁, 等. 淫羊藿总黄酮含药血清对成骨细胞增殖、分化的影响 [J]. 中国中医骨伤科杂志, 2010, 18(2): 3-6.
- [14] 李东晓, 王岚, 吴瑕, 等. 淫羊藿总黄酮及其含药血清对成骨细胞增殖及相关基因表达的影响 [J]. 中药药理与临床, 2006, 22(5): 16-19.
- [15] 王婷, 张大威, 张金超, 等. 淫羊藿黄酮的分离鉴定及其对前破骨细胞株增殖的影响 [J]. 中草药, 2006, 37(10): 1458-1462.
- [16] Zhang Z G, Dong J Z, Liu M J, *et al.* Therapeutic effects of *Cortex acanthopanacis* aqueous extract on bone metabolism of ovariectomized rats [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2012, doi: 10. 1155/2012/492627.
- [17] 贾晓斌, 陈彦, 李霞, 等. 中药复方物质基础研究新思路和方法 [J]. 中华中医药杂志, 2008, 23(5): 420-424.
- [18] Feng L, Jia X B, Jiang J, *et al.* Combination of active components enhances the efficacy of prunella in prevention and treatment of lung cancer [J]. *Molecules*, 2010, 15: 7893-7906.
- [19] Zhang J F, Li G, Meng C L, *et al.* Total flavonoids of *Herba Epimedii* improves osteogenesis and inhibits osteoclastogenesis of human mesenchymal stem cells [J]. *Phytomedicine*, 2009, 16: 521-529.
- [20] Zhang J F, Li G, Chan C Y, *et al.* Flavonoids of *Herba Epimedii* regulate osteogenesis of human mesenchymal stem cells through BMP and Wnt/ β catenin signaling pathway [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2010, 314: 70-74.
- [21] Gao S G, Cheng L, Li K H, *et al.* Effect of epimedium pubescens flavonoid on bone mineral status and bone turnover in male rats chronically exposed to cigarette smoke [J]. *BMC Musculoskelet Disord*, 2012, 13: 105.
- [22] Chen W F, Mok S K, Wang X L, *et al.* Total flavonoid fraction of the *Herba epimedii* extract suppresses urinary calcium excretion and improves bone properties in ovariectomized mice [J]. *Br J Nutr*, 2011, 105: 180-189.
- [23] Zheng D, Peng S L, Yang S H, *et al.* The beneficial effect of icariin on bone is diminished in osteoprotegerin-deficient mice [J]. *Bone*, 2012, 51: 85-92.
- [24] Mok S K, Chen W F, Lai W P, *et al.* Icariin protects against bone loss induced by oestrogen deficiency and activates oestrogen receptor-dependent osteoblastic functions in UMR 106 cells [J]. *Br J Pharmacol*, 2010, 159: 939-949.
- [25] Peng S L, Zhang G, Zhang B T, *et al.* The beneficial effect of Icariin on osteoporotic bone is dependent on the treatment initiation timing in adult ovariectomized rats [J]. *Bone*, 2013, http://dx. doi. org/10. 1016/j. bone. 2013.02.012.
- [26] Zhang D W, Zhang J C, Fong C C, *et al.* *Herba epimedii* flavonoids suppress osteoclastic differentiation and bone resorption by inducing G2/M arrest and apoptosis [J]. *Biochimie*, 2012, http://dx. doi. org/10. 1016/j. biochi. 2012.06.033.
- [27] Zhao Y H, Abraham M H, Le J, *et al.* Evaluation of rat intestinal absorption data and correlation with human intestinal absorption [J]. *Eur J Med Chem*, 2003, 38(3): 233-243.
- [28] 韦英杰, 宁青, 贾晓斌, 等. 基于斑马鱼模型的中药代谢研究思路与方法 [J]. 中草药, 2009, 40(7): 1009-1011.
- [29] Wei Y J, Li P, Fan H W, *et al.* Metabolite profiling of four major flavonoids of *Herba Epimidi* in Zebrafish [J]. *Molecules*, 2012, 17: 420-432.
- [30] Cui L, Sun E, Zhang Z H, *et al.* Metabolite profiles of epimedin B in rats by ultra-performance liquid chromatography / quadrupole-time-of-flight mass spectrometry [J]. *J Agric Food Chem*, 2013, 61(15): 3589-3599.
- [31] 钱浅. 基于中药黄酮药动学的炙淫羊藿炮制机理研究 [D]. 镇江: 江苏大学, 2012.
- [32] Qian Q, Li S L, Sun E, *et al.* Metabolite profiles of icariin in rat plasma by ultra-fast liquid chromatography coupled to triple-quadrupole/time-of-flight mass spectrometry [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2012, 66: 392-398.
- [33] 金晓勇, 贾晓斌, 孙娥, 等. 炙淫羊藿炮制过程中 5 种黄酮类成分变化规律研究 [J]. 中国中药杂志, 2009, 34(21): 9-12.
- [34] 贾东升, 赵江丽, 施峰, 等. 淫羊藿苷元磷脂复合物的制备及其固体分散体研究 [J]. 中草药, 2010, 41(9): 1449-1452.
- [35] 贾东升, 贾晓斌, 施峰, 等. 淫羊藿苷元脂质体的制备及其对大鼠骨髓基质细胞增殖分化影响的研究 [J]. 中国药理学杂志, 2010, 45(5): 353-355.
- [36] 王晋艳, 陈彦, 张振海, 等. 淫羊藿苷元自微乳在 Caco-2 细胞模型的肠吸收特性初步研究 [J]. 中草药, 2012, 43(3): 476-478.
- [37] Cui L, Sun E, Zhang Z H, *et al.* Enhancement of *Epimedium* fried with suet oil based on *in vivo* formation of self-assembled flavonoid compound [J]. *Nanomicell Mol*, 2012, 17(11): 12984-12996.