

基于 HPLC-Q-Exactive MS/MS 和分子对接技术的通拉嘎-5 抗绝经后骨质疏松药效物质基础和作用机制研究

徐才猛,董馨,胡少男,王智,王坤,任艾,薛培凤*

(内蒙古医科大学药学院,内蒙古呼和浩特 010059)

【摘要】目的 阐释通拉嘎-5 抗绝经后骨质疏松的药效物质基础和作用机制。**方法** 采用 HPLC-Q-Exactive MS/MS 技术分析通拉嘎-5 的入血原型成分,并利用分子对接技术表征入血原型成分与雌激素受体 ER 的结合能,探讨通拉嘎-5 抗绝经后骨质疏松的作用机制。**结果** 分析得到入血原型成分 26 个,主要包括生物碱类、酚酸类和挥发油类;其中,桂二萜醇、葑萜环碱、胡椒碱、二氢胡椒碱和 1,3-Benzodioxole-5-propanal 与 ER α 、ER β 结合能均 ≤ -5 kcal \cdot mol $^{-1}$,鞣花酸、对羟基苯甲酸、二氢葑萜明宁碱、葑萜宁、胡椒油碱B、(2E,4E,12Z)-N-Isobutylocatadeca-2,4,12-trienamide 与 ER α 结合能 ≤ -5 kcal \cdot mol $^{-1}$ 。**结论** 通拉嘎-5 中桂二萜醇、胡椒碱等 11 个入血原型成分可能作用于雌激素受体发挥抗绝经后骨质疏松的作用,可为该方质量控制研究和临床合理应用提供参考。

【关键词】通拉嘎-5;入血成分;HPLC-Q-Exactive MS/MS;绝经后骨质疏松症

中图分类号: R285

文献标识码: B

文章编号: 2095-512X(2023)02-0140-05

通拉嘎-5(tonglaga-5, TLG-5)又名五味清浊散、当玛-5等,由石榴、红花、豆蔻、肉桂、葑萜五味药组成,始载于《四部医典》,为蒙古族验方^[1]。《中华人民共和国药典》2020年版记载其具有开郁消食、暖胃的功效,用于治疗食欲不振、消化不良、胃脘冷痛、满闷暖气、腹胀泄泻^[2]。现代研究表明,通拉嘎-5还具有抗骨质疏松的功效,可以促进骨形成,改善骨代谢^[3,4],但其抗骨质疏松的物质基础和作用机制尚不明确。目前通拉嘎-5的研究大部分集中在药效和质量控制研究,对其化学组成和药效机制研究甚少。

绝经后骨质疏松症(postmenopausal osteoporosis, PMOP)是雌激素缺乏导致的一种中老年女性常见疾病,65岁以上人群患病率高达32.0%^[5]。雌激素可通过雌激素受体(estrogen receptor, ER)调控靶基因转录翻译而发挥生理作用^[6]。该受体是一种甾体类激素超家族的核受体,包括 α (ER α)和 β (ER β)两种亚型^[7],且二者在骨组织中均有表达。其中,ER α 在维持骨密度、调节女性生殖代谢等方面起重要作用^[8],而ER β 的多态性也与高骨密度相关^[9]。研究表

明,雌激素可激活成骨细胞的ER及其下游相关信号转导途径,以促进成骨细胞增殖分化^[10];其还可通过直接作用和间接作用抑制破骨细胞功能,并促进破骨细胞凋亡^[11]。此外,通拉嘎-5君药石榴中的主要成分鞣花酸可上调ER受体mRNA表达,增加雌激素活性,诱导成骨细胞结节矿化^[12,13],且石榴籽油具有雌激素样作用^[14];臣药红花中大量的木脂素和类黄酮可发挥雌激素样作用,通过与ER结合激活MAP激酶,以刺激成骨细胞增殖分化^[15]。因此,我们考虑通拉嘎-5抗骨质疏松作用可能与激活ER有关。

高分辨质谱技术广泛应用于固有化学成分分析、血清药物化学研究等^[16,17]。本课题组前期利用该技术分析了TLG-5的固有成分,发现其主要包括酚酸类、黄酮类、生物碱类和挥发油类成分,但其入血原型成分尚不明确。因此,本研究采用HPLC-Q-Exactive MS/MS技术,结合Xcalibur和Compound Discoverer 3.0工作平台对TLG-5入血原型成分进行分析。在此基础上,利用分子对接技术对与雌激素受体(ER α 、ER β)具有良好结合活性的原型成分进行筛选,为阐明TLG-5药效物质基础和作用机制

收稿日期:2022-12-08;修回日期:2023-03-15

基金项目:国家自然科学基金项目(82160745);内蒙古医科大学致远人才计划项目(ZY0120014);内蒙古医科大学大学生创新创业训练计划项目(202210132056)

第一作者:徐才猛(1995—),男,2020级在读硕士研究生。E-mail:13071161433@163.com

*通信作者:薛培凤,女,理学博士,教授,硕士研究生导师。研究方向:中蒙药药效物质基础及质量控制。E-mail:xpfec@vip.sina.com

提供科学依据,也为质量控制和临床合理应用提供参考。

1 实验材料

1.1 药品与试剂

石榴(批号:190801)、豆蔻(批号:191112)、肉桂(批号:221001)、红花(批号:E2112190301)、萆薢(批号:20101108),以上药材均经内蒙古医科大学薛培风教授鉴定,分别为石榴科植物石榴(*Punica granatum L.*)的干燥果皮和种子;菊科植物红花(*Carthamus tinctorius L.*)的干燥花;姜科植物白豆蔻(*Amomum kravanh Pierre ex Gagnep.*)或爪哇白豆蔻(*Amomum compactum Soland ex Maton*)的干燥成熟果实;樟科植物肉桂(*Cinnamomum cassia Presl*)的干燥树皮;胡椒科植物萆薢(*Piperlongum L.*)的干燥近成熟或成熟果穗。色谱甲醇、色谱乙腈均购自Thermo-Fisher公司,色谱甲酸购自罗恩试剂,纯净水购自杭州娃哈哈集团有限公司。

1.2 实验仪器

Q-Exactive液相色谱-质谱联用系统(美国,Thermo-Fisher公司);高效液相色谱仪ThermoUlti-Mate3000系统(美国,Thermo-Fisher公司);Compound Discover 3.0软件(美国,Thermo-Fisher公司);METTLER TOLEDO AB135-S电子分析天平[梅特勒托利多科技(中国)有限公司]。

1.3 实验动物

SPF级SD大鼠,雄性,体质量160~200 g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,许可证号:SCXK(京)2021-0011。大鼠饲养于内蒙古医科大学实验动物中心,实验前适应性喂养1周,以标准SPF级鼠饲料喂养并自由饮用纯净水,并在实验开始前12 h禁食不禁水。所有动物实验经内蒙古医科大学实验动物伦理委员会批准。

2 实验方法

2.1 灌胃药液制备

取石榴、红花、肉桂、豆蔻和萆薢五味药材粉碎,过40目筛,按照8:4:1:1:1比例混匀。称取该混合粉末200 g,加入10倍量蒸馏水,超声提取3次,每次1 h;合并提取液,减压浓缩,冷冻干燥制成TLG-5冻干粉,并加蒸馏水配制成质量浓度为0.5 g/mL的TLG-5溶液。

2.2 实验分组与处理

将12只SD大鼠按随机数表法分为空白组和给药组,给药组以0.05 g/kg剂量灌胃TLG-5溶液,空白组灌胃等量蒸馏水。每隔2 h灌胃1次,连续灌胃3次,最后1次给药1 h后,腹主动脉取血,静置,3500 r/min离心10 min,取上清液,-80℃保存,备用。

2.3 血清样品处理

取1 mL血清置EP管中,加4 mL甲醇-乙腈混合溶液(V:V=1:1),涡旋10 min,4℃条件下13500 r/min离心10 min,取上清;将上清置真空离心浓缩仪中浓缩干燥,并将残余物溶解于100 μL色谱甲醇中,涡旋10 min,4℃条件下12000 r/min离心10 min,取上清液,备用。

2.4 色谱条件

色谱柱:Thermo ODS-2 HYPERSIL C18色谱柱(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:有机相(A)为乙腈,水相(B)为0.1%甲酸水溶液。梯度洗脱程序为:0.0~40.0 min,7%~100%(A);40.0~50.0 min,100%(A);50.1~50.1 min,100%~7%(A);50.1~60 min,7%(A);流速为1 mL/min,进样量10 μL;柱温35℃。

2.5 质谱条件

采用电喷雾离子源(ESI),Full-MS dds2模式,正、负离子两种模式下获取质谱信息。负离子质谱条件为:(1)鞘气流速:35 L/min;(2)辅助气流速:10 L/min;(3)喷雾电压:2.8 kV;(4)毛细管离子传输管温度:350℃;(5)S-lens电压:50 kV;(6)加热温度:150℃,质谱扫描范围为110~1000 m/z。正离子质谱条件的喷雾电压为3.5 kV,其余条件同负离子模式。

2.6 入血原型成分分析

对各样本进行HPLC-Q-Exactive MS/MS分析,利用Xcalibur平台得到相关数据图谱,将分析所得数据信息导入Compound Discoverer 3.0软件进行峰提取和峰匹配,根据保留时间、精确相对分子量和二级质谱裂解碎片,鉴定和推测入血原型成分。

2.7 分子对接

利用TCMSP数据库(<https://tcmsp-e.com/>)和Pubchem数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)获取化合物mol2格式文件,并在PDB数据库(<https://www.rcsb.org/>)下载ERα(PDBID:7ujw)和ERβ(PDBID:7xvz)pdb格式的蛋白结构;通过Discovery Studio Visualizer 4.5软件进行去水、去残基等处理,并利用Autodock软件进行加氢、加电荷和设置对接口袋等,以结合能≤-5 kcal·mol⁻¹为标准筛选TLG-5发挥雌激素样作用的有效成分。

3 结果

3.1 入血原型成分分析

在正负离子扫描下,共鉴定出酚酸类成分5个,包括原儿茶酸、香草酸、鞣花酸、3-(3,4,5-三甲氧基苯基)丙酸和4-羟基苯甲酸;黄酮类成分1个,为羟基红花黄色素A;生物碱类成分8个,包括葫芦

巴碱、二氢莨菪明宁碱、莨菪宁、胡椒新碱、胡椒碱、莨菪环碱、胡椒油碱B、(2E,4E,12Z)-N-Isobutylocatadeca-2,4,12-trienamide;有机酸类成分3个,包括柠檬酸、琥珀酸、苯甲酸;挥发油类成分8个,包括桂二萜醇、肉桂酸、榄香素、 α -亚麻酸、亚油酸、油酸、硬脂酸和花生四烯酸;其他1个,1,3-Benzodioxole-5-propanal;共计26个入血原型成分。鉴定结果见表1。

表1 通拉嘎-5入血成分鉴定

序号	tR/min	分子式	相对分子质量 理论值	实测值	误差	离子	碎片离子(m/z)	化合物名称	来源
1	2.95	C ₆ H ₈ O ₇	191.01973	191.01874	-5.18	[M-H] ⁻	191.01874, 147.02895, 129.01836, 111.00743, 87.00733	柠檬酸	sl
2	3.49	C ₇ H ₇ NO ₂	138.05496	138.05600	7.53	[M-H] ⁺	138.05600	葫芦巴碱	hh
3	3.54	C ₄ H ₆ O ₄	117.01933	117.01796	-11.71	[M-H] ⁻	117.01796, 99.00748, 87.04368, 73.02804	琥珀酸	hh
4	5.06	C ₇ H ₆ O ₄	153.01933	153.0182	-7.38	[M-H] ⁻	153.0182, 135.00751, 109.02818, 87.00736	原儿茶酸	hh
5	5.67	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₆	611.16176	611.16321	2.37	[M-H] ⁻	611.16321, 491.11951, 473.11014, 403.10468, 325.07175, 283.00311, 119.04883	羟基红花 黄色素A	hh
6	7.90	C ₇ H ₆ O ₂	121.02950	121.02815	-11.15	[M-H] ⁻	121.02815, 61.98693	苯甲酸	hh
7	8.50	C ₂₀ H ₃₂ O ₇	383.20753	383.20758	0.13	[M-H] ⁻	383.20758, 112.98426	桂二萜醇	rg
8	9.06	C ₈ H ₈ O ₄	167.03498	167.03377	-7.24	[M-H] ⁻	167.03377	香草酸	hh, rg
9	10.40	C ₁₄ H ₆ O ₈	300.99899	300.99899	0.00	[M-H] ⁻	300.99899	鞣花酸	sl
10	10.57	C ₉ H ₈ O ₂	147.04515	147.04414	-6.87	[M-H] ⁻	147.04414, 89.02297, 61.98693	肉桂酸	rg
11	11.05	C ₇ H ₆ O ₃	137.02442	137.02322	-8.76	[M-H] ⁻	137.02322, 93.03316	4-羟基苯甲酸	rg
12	13.73	C ₁₂ H ₁₆ O ₅	239.09250	239.09201	-2.05	[M-H] ⁻	239.09201, 195.10211, 151.11177, 102.95548	3-(3,4,5-三甲氧 基苯基)丙酸	bb
13	13.86	C ₁₂ H ₁₆ O ₃	209.11722	209.11827	5.02	[M-H] ⁺	209.11827, 181.08716, 84.96082	榄香素	bb, dk
14	14.43	C ₁₀ H ₁₀ O ₃	177.05572	177.05460	-6.33	[M-H] ⁻	177.05460	1,3- Benzodioxole-5- propanal	bb
15	20.01	C ₁₆ H ₂₁ NO ₃	276.15942	276.16129	6.77	[M-H] ⁻	276.16129, 135.04509	二氢莨菪明宁碱	bb
16	20.30	C ₁₆ H ₁₉ NO ₃	274.14377	274.14517	5.11	[M-H] ⁻	274.14517, 201.05605, 135.04517	莨菪宁	bb
17	21.32	C ₁₇ H ₂₁ NO ₃	288.15942	288.16153	7.32	[M-H] ⁻	288.16153, 135.04523	胡椒新碱	bb
18	21.86	C ₁₇ H ₁₉ NO ₃	286.14377	286.14563	6.50	[M-H] ⁺	286.14563, 201.05592	胡椒碱	bb
19	27.55	C ₂₁ H ₂₇ NO ₃	342.20637	342.20782	4.24	[M-H] ⁺	342.20782, 323.27856, 93.03777, 75.02732	莨菪环碱	bb
20	28.58	C ₂₁ H ₂₉ NO ₃	344.22202	344.22244	1.22	[M-H] ⁺	344.22244, 93.03784, 75.02734	胡椒油碱B	bb
21	32.47	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	277.21730	277.21729	-0.04	[M-H] ⁻	277.21729, 278.22070	α -亚麻酸	rg、 hh、 dk、sl
22	34.69	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	279.23295	279.23303	0.29	[M-H] ⁻	279.23303	亚油酸	hh, sl
23	36.67	C ₂₂ H ₃₉ N ₀	334.31044	334.31247	6.07	[M-H] ⁺	334.31247	(2E,4E,12Z)-N- Isobutylocatadeca -2,4,12- trienamide	bb
24	37.34	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	281.24860	281.24878	0.64	[M-H] ⁻	281.24878	油酸	sl、rg、 hh
25	40.73	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	283.26425	283.26440	0.53	[M-H] ⁻	283.26440	硬脂酸	sl、rg、 hh
26	45.31	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	311.29555	311.29596	1.32	[M-H] ⁻	311.29596	花生四烯酸	sl、rg、 hh

注:sl石榴, hh红花, dk豆蔻, rg肉桂, bb莨菪。

3.2 分子对接分析

采用分子对接技术分析各入血原型成分与雌激素受体ERα、ERβ结合情况,以结合能 $\leq -5 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ 为标准筛选 TLG-5 发挥雌激素样作用的有效成分。结果如表2所示,其中桂二萜醇、葎萜环碱、胡椒碱、二氢胡椒碱、1,3-Benzodioxole-5-propanal 与 ERα、ERβ 结合能均 $\leq -5 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$,鞣花酸、对羟基苯甲酸、二氢葎萜明宁碱、葎萜宁、胡椒油碱 B、(2E, 4E, 12Z)-N-Isobutylocatadeca-2, 4, 12-trienamide 与 ERα 结合能均 $\leq -5 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ 。这提示这些成分可能是发挥雌激素样作用的有效成分,部分对接构象如图1所示。以上11种成分中,鞣花酸来自石榴,桂二萜醇来自肉桂,其他化合物来自葎萜。这提示石榴、肉桂和葎萜可能是 TLG-5 治疗绝经后骨质疏松的核心药材。

表2 成分与雌激素受体结合能

序号	化合物	ERα	ERβ
1	柠檬酸	-0.87	-2.44
2	葫芦巴碱	-3.75	-4.41
3	琥珀酸	-3.23	-3.09
4	原儿茶酸	-4.14	-4.53
5	羟基红花黄色素 A	-1.23	-1.54
6	苯甲酸	-4.65	-3.94
7	桂二萜醇	-8.39	-7.79
8	香草酸	-3.69	-4.83
9	鞣花酸	-6.74	-4.72
10	肉桂酸	-4	-4.56
11	4-羟基苯甲酸	-5.08	-3.54
12	3-(3,4,5-三甲氧基苯基)丙酸	-3.94	-3.22
13	榄香素	-4.41	-3.38
14	1,3-Benzodioxole-5-propanal	-6.56	-5.24
15	二氢葎萜明宁碱	-5.76	-4.48
16	葎萜宁	-7.16	-4.56
17	胡椒新碱	-7.07	-6.47
18	胡椒碱	-7.6	-5.33
19	葎萜环碱	-7.33	-5.01
20	胡椒油碱 B	-7.39	-4.72
21	α-亚麻酸	-4.55	-3.14
22	亚油酸	-4.42	-3.07
23	(2E,4E,12Z)-N-Isobutylocatadeca-2, 4, 12-trienamide	-6.11	-2.17
24	油酸	-3.82	-3.92
25	硬脂酸	-3.74	-2.42
26	花生四烯酸	-4.45	-2.73

4 讨论

TLG-5 具有温胃益火、化滞除湿、温通脉道、使精华得以正常转化畅行等功效,临床用于治疗骨质疏松症且疗效显著^[18, 19]。TLG-5 临床多以散剂应用,前期研究发现散剂具有不易溶解、灌胃给药浓

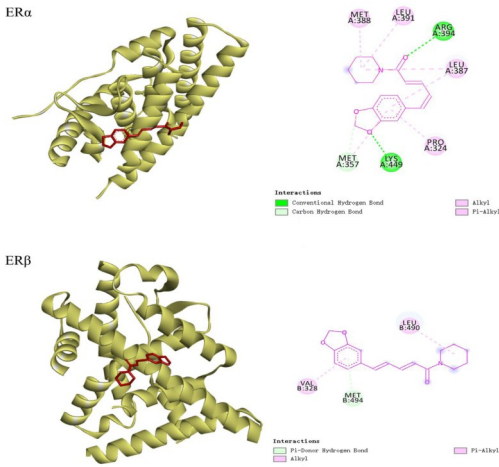


图1 胡椒碱与ER的分子对接模式

度低的缺点。因此,本实验考察了散剂、加热提取物和超声提取物3种形式的入血原型成分,发现散剂和加热提取物存在入血成分较少、有效成分丢失较多的缺点,为适当增加给药剂量,减少热不稳定成分的破坏,本研究采用超声提取结合冷冻干燥的方式制备 TLG-5 冻干粉。在此基础上,对血清和血浆中入血原型成分数量进行对比考察,发现血清中入血成分多于血浆。此外,对比灌胃后 30 min、60 min、90 min、120 min 和 180 min 采集的血清,发现给药 60 min 的血清样本中化合物数量最多,最终选用 60 min 作为最佳采血时间。

本文利用分子对接技术,筛选出桂二萜醇、葎萜环碱、胡椒碱、二氢胡椒碱、鞣花酸、对羟基苯甲酸、二氢葎萜明宁碱、葎萜宁等11种与雌激素受体ERα、ERβ结合能力较好的化合物,提示这些成分可能是 TLG-5 发挥抗绝经后骨质疏松作用的关键成分。其中,鞣花酸为石榴中有效成分,具有骨骼保护作用,其可通过抑制 RANKL 诱导的破骨前体细胞分化^[20],促进 β-catenin 的表达,促进 BMSCs 的成骨分化,抑制其成脂分化^[21],也可抑制破骨细胞分化和骨吸收来保护卵巢切除术引起的骨丢失^[22]。此外,鞣花酸还可以上调雌激素受体 ERα 和 ERβ 的基因表达,显著增加雌激素活性^[12]。胡椒碱为葎萜主要成分,具有抗炎、镇痛和抗氧化等作用,可上调 ERβ 的表达,具有潜在的雌激素样作用^[23]。据报道^[24],胡椒碱可诱导 MC3T3-E1 细胞中 AMPK 磷酸化,增强 Runx2 及成骨相关基因的表达,刺激细胞向成骨细胞分化。胡椒碱还可通过增强 Wnt/β-catenin 信号通路,提高 ALP 活性和矿化结节形成,以改善骨微结构和生物力学性能,增加新骨形成,促进成骨细胞的成骨分化^[25, 26]。研究表明^[27],雌激素缺乏会增加炎症因子的表达,直接或间接刺激破骨细胞生

成,而芘芟宁可通过抑制NF- κ B和ERK活性以降低TNF- α 和IL-6表达,间接发挥抗绝经后骨质疏松作用。另有研究表明^[28],高脂血症与骨质疏松密切相关,ER α 和ER β 协同调节脂肪组织中脂肪代谢,而芘芟环碱具有显著降脂活性^[29],推测芘芟环碱可能通过激活ER α 和ER β 表达降低血脂,间接发挥抗绝经后骨质疏松作用。桂二萜醇、二氢胡椒碱和1,3-Benzodioxole-5-propanal与ER α 结合能力较好,对羟基苯甲酸、二氢芘芟明宁碱、胡椒油碱B、(2E,4E,12Z)-N-Isobutylocatadeca-2,4,12-trienamide与ER β 有较强的结合性能,但这些成分是否具有抗绝经后骨质疏松作用仍有待进一步确认。

综上所述,本研究利用HPLC-Q-Exactive MS/MS和分子对接技术,鉴定了26个入血原型成分和11个与ER有较强结合能力的成分,初步阐释了通拉嘎-5治疗绝经后骨质疏松的药效物质基础和作用机制,为该复方质量控制和临床应用提供数据支持。

参考文献

- [1]多杰加,岗尖俄日,公保东主,等.收录于2020版《中华人民共和国药典》的4种“蒙古族验方”出处探源[J].亚太传统医药,2021,17(7):15-17
- [2]国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].北京:中国医药科技出版社,2020:648
- [3]秦雄,韩巴根那,马瑞瑞.蒙药加减通拉嘎-5对维甲酸所致大鼠骨质疏松的治疗作用[J].内蒙古民族大学学报:自然科学版,2014,29(1):74-76
- [4]特木日巴根,图布新,秦雄,等.蒙药通拉嘎-5味丸对维甲酸所致大鼠骨质疏松的干预作用及其机制[J].吉林大学学报:医学版,2014,40(4):763-767+913
- [5]中国骨质疏松症流行病学调查及“健康骨骼”专项行动结果发布[J].中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志,2019,12(4):317-318
- [6]张萌萌.雌激素与雌激素受体骨代谢调节作用[J].中国骨质疏松杂志,2019,25(5):704-708
- [7]张妍,熊勇,周广文,等.补肾化痰方对去势骨质疏松大鼠雌激素及其骨组织ER α 、ER β 的影响[J].时珍国医国药,2022,33(10):2317-2320
- [8]蔡金亚,李俊豪,丁石荟,等.雌激素受体 β 选择性配体的研究进展[J].药学报,2015,50(6):658-667
- [9]李淑楨,王琦,李沁园,等.基于下丘脑-垂体-卵巢轴探讨藏药二十五味鬼臼丸对绝经后骨质疏松症大鼠的干预作用[J].中草药,2021,52(20):6282-6290
- [10]Fuentes N, Silveyra P. Estrogen receptor signaling mechanisms[J]. Adv Protein Chem Struct Biol, 2019,116(7):135-170
- [11]李立军,倪东旭.雌激素缺乏在PMO发病中的作用机制研究进展[J].天津医科大学学报,2022,28(5):560-562+576
- [12]Akter R, Chan AJ, Nahar J, et al. Pomegranate juice fermented by tannin acyl hydrolase and Lactobacillus vespulae DCY75 enhance estrogen receptor expression and anti-inflammatory effect[J]. Front Pharmacol, 2022,13:e1010103
- [13]田显庭,董馨,张秀艳,等.基于HPLC-Q-Exactive MS/MS的二味杜仲汤血浆成分研究[J].内蒙古医科大学学报,2022,44(1):1-7+22
- [14]董馨,付瑶,陆景坤,等.蒙药朱日亨滴丸源头把控——基于Q-Exactive高分辨质谱结合指纹图谱技术的蒙药广枣药材质量评价研究[J].内蒙古医科大学学报,2022,44(3):259-261+271
- [15]Papoutsis Z, Kassi E, Tsiapara A, et al. Evaluation of estrogenic/antiestrogenic activity of ellagic acid via the estrogen receptor subtypes ERalpha and ERbeta[J]. J Agric Food Chem, 2005,53(20):7715-7720
- [16]许文胜,张涛,康文磊,等.石榴籽油对去卵巢大鼠骨质代谢的影响[J].中国老年学杂志,2016,36(20):4956-4958
- [17]Park YH, Park HK, Lee HJ, et al. Phytoestrogen-induced phosphorylation of MAP kinase in osteoblasts is mediated by membrane estrogen receptor[J]. Korean J Physiol Pharmacol, 2002,6(3):165-169
- [18]策·苏荣扎布.蒙古学百科全书·医学[M].呼和浩特:内蒙古人民出版社,2012:282
- [19]前达门.蒙药“加味通拉嘎-5”治疗骨质疏松的临床研究[D].呼和浩特:内蒙古医科大学,2022
- [20]Rantlha M, Sagar T, Kruger MC, et al. Ellagic acid inhibits RANKL-induced osteoclast differentiation by suppressing the p38 MAP kinase pathway[J]. Arch Pharm Res, 2017,40(1):79-87
- [21]丁丁,车千红,孔娟.鞣花酸通过Wnt/ β -catenin信号途径调节成骨代谢[J].解剖科学进展,2018,24(6):563-566
- [22]Lin X, Yuan G, Li Z, et al. Ellagic acid protects ovariectomy-induced bone loss in mice by inhibiting osteoclast differentiation and bone resorption[J]. J Cell Physiol, 2020,235(9):5951-5961
- [23]Shaheer K, Somashekarappa HM, Lakshmanan MD. Piperine sensitizes radiation-resistant cancer cells towards radiation and promotes intrinsic pathway of apoptosis[J]. J Food Science, 2020,85(11):4070-4079
- [24]Kim DY, Kim EJ, Jang WG. Piperine induces osteoblast differentiation through AMPK-dependent Runx2 expression[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018,495(1):1497-1502
- [25]侯鸣夷,殷浩,贺学军.胡椒碱对成骨细胞成骨分化的影响[J].南昌大学学报:医学版,2020,60(4):15-22
- [26]Li CR, Li Y, Zhang LX, et al. The protective effect of piperine on ovariectomy induced bone loss in female mice and its enhancement effect of osteogenic differentiation via Wnt/ β -catenin signaling pathway[J]. J Funct Foods, 2019,58(11):332-334
- [27]Thatikonda S, Pooladanda V, Sigalapalli DK, et al. Piperlongumine regulates epigenetic modulation and alleviates psoriasis-like skin inflammation via inhibition of hyperproliferation and inflammation[J]. Cell Death Dis, 2020,11(1):21-25
- [28]胡文敏,张岭,李林子,等.雌激素及其受体在脂肪代谢中的作用[J].中国新药杂志,2016,25(11):1253-1257
- [29]Jin Z, Borjihan G, Zhao R, et al. Antihyperlipidemic compounds from the fruit of Piper longum L[J]. Phytother Res, 2009,23(8):1194-1196