

女贞子成分抗骨质疏松的潜在作用 靶点虚拟筛选

战美 周家杰 吴琪聪 崔达华 刘艳秋

(大连医科大学中西医结合研究院(学院),大连,116044)

摘要 目的:计算筛选女贞子的潜在作用靶点,探索女贞子抗骨质疏松作用靶点的生物学意义。方法:采用 ChemDraw、PharmMapper 软件对抗骨质疏松潜在作用靶点进行虚拟筛选,Cytoscape 软件构建生物调控网络模型。结果:女贞子 5 种成分(特女贞苷、女贞苷 G13、女贞苷、红景天苷、油女贞苷),能够与骨质疏松相关的多个靶点结合。其中,2 个靶点包括 GSK-3 beta 和 CK2-alpha 与 wnt 途径相关,6 个靶点(CDPK2、APAF-1、CK2-alpha、DAP kinase 1、CASP-3、ITPK1)与凋亡途径相关;5 种成分中,一些成分能与多个抗骨质疏松活性相关的靶点结合,且一些靶点能与多个成分结合。其中,特女贞苷、女贞苷、女贞苷 G13 共同的靶点是 APAF-1,特女贞苷、女贞苷、油女贞苷共同的靶点是 CK2-alpha。结论:通过女贞子成分靶点筛选,为女贞子成分通过 wnt 途径、凋亡途径促进骨形成,抑制骨吸收,抗骨质疏松作用的多靶点整合调节机制提供线索。

关键词 女贞子;凋亡途径;wnt 途径;靶点

Virtual Screening of Potential Anti-osteoporosis Targets for Compounds From Fructus Ligustri Lucidi

Zhan Mei, Zhou Jiajie, Wu Qicong, Cui Dahua, Liu Yanqiu

(Institute (College) of Integrative Medicine, Dalian Medical University, Dalian 116044, China)

Abstract Objective: To perform computational screening of potential target compounds from Fructus Ligustri Lucidi and to explore the biological significance of these targets which has anti-osteoporotic effect. **Methods:** ChemDraw and PharmMapper software were used to screen target components that were active against osteoporosis in the virtual world. Cytoscape software was used to establish a biological regulation network model. **Results:** Five components of Fructus Ligustri Lucidi (specnuezhenide, ligustroflavone G13, ligustroflavone, salidroside and oleonuezhenide) were able to bind different target proteins related to osteoporosis. Two targets, Glycogen synthase kinase (GSK)-3 beta and Casein kinase (CK)2-alpha, were related to the Wnt signaling pathway. Six targets (Cell division protein kinase [CDPK]-2, Apoptotic protease-activating factor [APAF]-1, CK2-alpha, Death-associated protein [DAP] kinase 1, Caspase [CASP]-3 and Inositol-tetrakisphosphate 1-kinase [ITPK1]) were related to apoptosis pathways. Among the 5 binding components, some had multiple targets while some targets could be associated with different components. Specnuezhenide, ligustroflavone and ligustroflavone G13 were able to combine with APAF-1; specnuezhenide, ligustroflavone and oleonuezhenide shared CK2-alpha. **Conclusion:** Through screening of Fructus Ligustri Lucidi target components, we found that some components promote bone formation and inhibit bone resorption through alteration of Wnt and apoptosis pathways. It is helpful to understand the multiple target mechanisms of Fructus Ligustri Lucidi components and their anti-osteoporosis effects.

Key Words Fructus Ligustri Lucidi; Apoptosis pathway; Wnt pathway; Target

中图分类号:R245.31 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2017.07.053

女贞子为木樨科常绿乔木女贞子 *Ligustrum* 的成熟果实,始载于《神农本草经》^[1],具有补益肝肾、清热明目的功效,用于肝肾阴虚、头昏目眩、耳鸣、腰膝酸软、须发早白等症。近几十年来,国内外学者对女贞子的研究取得了较大进展,发现了多种活性成分。女贞子的多种化学成分具有抗骨质疏松、抗癌、抗衰老、调节免疫等作用。当前,国内对女贞子化学

成分与药理作用的研究深度还较为有限,为更好的开发女贞子资源,仍有必要进一步开展针对女贞子作用机制的研究^[2]。

网络药理学方法(Network Pharmacology)是从药物、靶点与疾病间相互作用的整体性和系统性出发,采用复杂网络模型表达和分析研究对象的药理学性质,适合于反映中药的多成分-多靶点作用关系,有

基金项目:国家自然科学基金项目(81473545);大连医科大学本科创新人才培养教学改革项目基金(2016111506010203;400006)

作者简介:战美(1996.03—),女,本硕连读在读,研究方向:临床医学,E-mail:953024934@qq.com

通信作者:刘艳秋(1978.10—),女,博士,副教授,研究方向:中西医结合基础,Tel:(0411)86110192,E-mail:yqliu@dmu.edu.cn

望为中药多成分作用机制研究及现代中药创制带来新突破。目前,网络药理学研究理念已被引入中药领域,但研究实例报道较少。本文建立靶点预测模型,针对女贞子 5 个成分的分子结构预测其作用靶点,并据此构建了女贞子多成分-多靶点调控网络^[3]。

1 方法

1.1 Tripos mol2 格式文件建立 利用 ChemDraw 软件打开女贞子 5 种成分(红景天苷,女贞苷,特女贞苷,女贞苷 G13 和油女贞苷)的化学结构图。以 CDX Molfile(.cdx) 格式存储。使用 OpenBabel 软件导入上步建立的 5 个 CDX Molfile(.cdx) 格式文件,使用其 convert 功能,将 CDX Molfile(.cdx) 格式文件转换为 Tripos mol2 格式文件。

1.2 潜在作用靶点反向预测 利用 PharmMapper 软件上传方法 1.1 中得到的 Tripos mol2 格式文件,得到虚拟筛选结果。从中筛选出与抗骨质疏松相关的可能靶点进行分析。

1.3 利用 Cytoscape 软件构建网络 利用 Cytoscape 软件导入 NCBI 中的 wnt 途径、凋亡途径数据构建网络。

2 结果

2.1 女贞子中 5 种成分的潜在作用靶点 通过 PharmMapper 软件获得了女贞子的潜在作用靶点(表 1)。结果发现,红景天苷可以作用于 Cell division protein kinase 2 和 Vitamin D3 receptor,并且它与 Cell division protein kinase 2 的拟合指数更大,结合力更强;特女贞苷可以作用于 Apoptotic protease activating factor-1、Glycogen phosphorylase, muscle form、Casein kinase II subunit alpha,且拟合指数依次降低,表明结合作用减弱;女贞苷 G13 可以作用于 Glycogen synthase kinase-3 beta、Inosine-5-monophosphate dehydrogenase、Apoptotic protease-activating factor 1、Death-associated protein kinase 1,且拟合指数依次降低,表明结合作用依次递减;女贞苷可以作用于 Cathepsin k、Caspase-3、Inositol-tetrakisphosphate 1-kinase、Inositol monophosphatase、Casein kinase II subunit alpha,且拟合指数依次降低,表明结合作用依次递减;油女贞苷具有 2 个作用靶点,它与 Casein kinase II subunit alpha 的拟合指数更大,结合力更强。

2.2 女贞子的 5 种成分与靶点的对接能量 女贞子的 5 种成分与靶点的对接能量。见表 2。其中女贞苷 G13 与 Glycogen synthase kinase-3 beta 的对接能量和靶点与已知的配体的对接能量相等,表示 Gly-

cogen synthase kinase-3 beta 与两者的亲和力相同;红景天苷、女贞苷 G13、女贞苷、女贞苷与 Cell division protein kinase 2、Death-associated protein kinase 1、Cathepsin k、Casein kinase II subunit alpha 的对接能量都比靶点与已知的配体低,表明以上成分与靶点亲和力高;红景天苷、特女贞苷、女贞苷 G13、女贞苷、Oleonuezhenide 与 Vitamin D3 receptor、Apoptotic protease-activating factor 1、Glycogen phosphorylase, muscle form、Casein kinase II subunit alpha、Inosine-5'-monophosphate dehydrogenase、Apoptotic protease activating factor-1、Caspase-3、Inositol-tetrakisphosphate 1-kinase、Inositol monophosphatase 1、Casein kinase II subunit alpha、Ras-related protein Rap-2a 的对接能量都比靶点与已知的配体高,表明成分与靶点亲和力低。

表 1 女贞子中 5 种成分的潜在作用靶点

成分名称	PDB ID	FIT	NAME
红景天苷	1GZ8	4.5	Cell division protein kinase 2
	1DB1	4.235	Vitamin D3 receptor
特女贞苷	1Z6T	4.934	Apoptotic protease-activating factor 1
	1FU4	4.849	Glycogen phosphorylase, muscle form
	1DAW	4.467	Casein kinase II subunit alpha
女贞苷 G13	1J1B	4.562	Glycogen synthase kinase-3 beta
	1PVN	4.558	Inosine-5'-monophosphate dehydrogenase
	1Z6T	4.543	Apoptotic protease-activating factor 1
	1IG1	4.528	Death-associated protein kinase 1
女贞苷	1TU6	5.3	Cathepsin K
	1NMS	5.06	Caspase-3
	1Z2P	4.975	Inositol-tetrakisphosphate 1-kinase
	1AWB	4.93	Inositol monophosphatase 1
油女贞苷	1DAW	4.727	Casein kinase II subunit alpha
	1KAO	4.212	Ras-related protein Rap-2a

2.3 女贞子成分作用靶点与 wnt 途径、凋亡途径相关性 通过分析女贞子靶点的生物信号途径,发现女贞苷 G13 结合 Glycogen synthase kinase-3 beta、特女贞苷结合 Casein kinase II subunit alpha、女贞苷成分结合 Casein kinase II subunit alpha、油女贞苷结合 Casein kinase II subunit alpha 与 wnt 途径相关。见表 3。红景天苷结合 Cell division protein kinase 2、特女贞苷结合 Apoptotic protease activating factor-1 和 Casein kinase II subunit alpha、女贞苷 G13 结合 Death-associated protein kinase 1、女贞苷结合 Caspase-3、Inositol-tetrakisphosphate 1-kinase 与凋亡途径相关。见表 4。

利用 cytoscape 软件构建女贞子成分抗骨质疏松相关靶点网络,如图 1,一些蛋白如 Apoptotic pro-

tease activating factor-1、Caspase-3、Glycogen synthase kinase-3 beta 等处于网络的关键节点,这些节点的连接数目较多,表明它们可能是通过 wnt 途径、凋亡途径抗骨质疏松的关键靶点。

表 2 5 种成分及 Substrate 与靶点的对接能量

成分名称	NAME	已知配体	成分
红景天苷	Vitamin D3 receptor	-15.3	-11.4
	Cell division protein kinase 2	-8.5	-9.8
特女贞苷	Apoptotic protease activating factor-1	-16.0	-14.2
	Glycogen phosphorylase, muscle form	-12.3	-3.5
	Casein kinase II subunit alpha	-13.4	-12.7
女贞苷 G13	Glycogen synthase kinase-3 beta	-11.5	-11.5
	Inosine-5-monphosphate dehydrogenase	-12.8	-11.8
	Apoptotic protease-activating factor1	-16.0	-11.7
	Death-associated protein kinase 1	-4.5	-6.4
女贞苷	Cathepsin k	-7.3	-12.1
	Caspase-3	-14.2	-12.8
	Inositol-tetrakisphosphate 1-kinase	-16.8	-15.4
	Inositol monophosphatase 1	-14.0	-12.8
	Casein kinase II subunit alpha	-13.4	-16.2
油女贞苷	Casein kinase II subunit alpha	-13.4	-8.6
	Ras-related protein Rap-2a	-16.9	-9.5

表 3 女贞子成分作用靶点与 wnt 途径相关性

成分名称	PDB ID	FIT	NAME
女贞苷 G13	1J1B	4.562	Glycogen synthase kinase-3 beta
特女贞苷	1DAW	4.467	Casein kinase II subunit alpha
女贞苷	1DAW	4.727	Casein kinase II subunit alpha
油女贞苷	1DAW	4.271	Casein kinase II subunit alpha

表 4 女贞子成分作用靶点与凋亡途径相关性

成分名称	PDBID	FIT	NAME
红景天苷	1GZ8	4.5	Cell division protein kinase 2
特女贞苷	1Z6T	4.934	Apoptotic protease activating factor-1
	1DAW	4.467	Casein kinase II subunit alpha
女贞苷 G13	11G1	4.528	Death-associated protein kinase 1
女贞苷	1NMS	5.06	Caspase-3
	1Z2P	4.975	Inositol-tetrakisphosphate1-kinase

3 讨论

3.1 女贞子的研究现状与骨质疏松的机制 目前,研究发现女贞子化学成分主要有三萜类,包括脂溶性的齐墩果酸、熊果酸等;环烯醚萜类,包括女贞苷、特女贞苷等;黄酮类;苯乙醇苷类,包括红景天苷等。现代研究已表明女贞子乙醇提取物可增加血清 PTH 水平,升高血液 1,25-(OH)2-VitD3 含量,提高肠钙吸收,改善钙失衡状态,提高碱性磷酸酶活性缩短骨矿化时间,改善骨质疏松^[5];在分子水平上女贞子提取物可上调骨髓间充质干细胞的 BMP-2 和 β -catenin 的 mRNA 的表达,促进骨髓间充质干细胞的骨向

分化;动物实验证实女贞子提取物增加去卵巢大鼠的骨无机质、骨钙含量,提升骨密度。女贞子水提物具有拟雌激素作用,通过雌激素受体信号通路对成骨细胞分化起作用,实验表明其可促进成骨细胞系 MC3T3-E1 细胞增殖分化,增加了 OPG/RANKL mRNA 表达比率;在动物实验中女贞子水提取物可对抗维甲酸或去卵巢导致的大鼠骨质疏松^[6]。包含有齐墩果酸和熊果酸的女贞子提取物促进了骨髓间充质干细胞的骨向分化。由以上研究现状可以看出女贞子在调控骨髓间充质干细胞骨向分化上有重要作用,但其中的活性成分和作用机制尚不清楚。

骨质疏松是以骨量减少、骨组织微结构破坏,导致脆性和骨折危险性增加为特征的疾病。其主要发病机制是由成骨细胞的骨形成作用不能够平衡破骨细胞介导的骨吸收,导致骨量减少,骨密度减低。

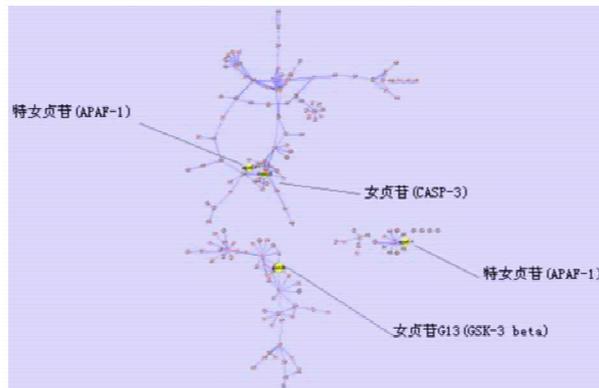


图 1 女贞子成分-靶点相关网络

注: APAF-1: Apoptotic protease-activating factor 1; CASP-3: Caspase-3; GSK-3 beta: Glycogen synthase kinase-3 beta。

3.2 抗骨质疏松的作用机制与 Wnt 信号通路 Wnt 信号途径是一种对细胞增殖和分化具有重要调节作用的信号传导系统,包括信号启动、分子传递、靶基因转录活化等几个主要环节,是一个由多种分子参与、相互影响、相互制约和协调的途径。抗骨质疏松的作用机制可分为 2 大类,即抗骨吸收和促骨形成。Wnt/ catenin 信号通路作为促进骨形成机制的核心,也成为重要的治疗靶点。通过促进成骨细胞的增殖、分化及增强其细胞活性,促进骨的合成代谢。经典的 Wnt/ catenin 信号通路在成骨细胞的生成及骨形成过程中起了至关重要的作用^[7]。女贞子的 5 种成分中,与 wnt 途径相关联的是 Casein kinase II subunit alpha, glycogen synthase “kinase 3” beta。它们是通过不同的分子作用于不同的蛋白整体激活 wnt 途径从而达到抗骨质疏松的作用。

Glycogen synthase kinase-3 beta 是一个多功能的丝氨酸/苏氨酸激酶,作为糖代谢的激素控制的负调节因子,调控 Wnt 信号通路。 β -catenin 的降解复合体解散主要由 GSK3B 等组成^[8]。Wnt 信号通路中形成多聚复合物,GSK3B 导致其降解蛋白。Glycogen synthase kinase-3 beta 能与女贞苷 G13 结合,拟合指数为 4.562。最近,Glycogen synthase kinase-3 beta 一直被看作是由于在肿瘤的发生发展及耐药的参与多种人类肿瘤治疗的一个可行的目标,Glycogen synthase kinase-3 beta 是人类许多疾病的一个治疗靶点。Casein kinase II subunit alpha^[9]的组成性激活的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶复合物磷酸化大量含有酸性残基的 C-末端的丝氨酸或苏氨酸的磷酸化底物的催化亚基。通过磷酸化调节 Wnt。Casein kinase II subunit alpha 能与特女贞苷、女贞苷和油女贞苷相结合,但与女贞苷的结合能力最强,与油女贞苷的结合力最弱。

随着 Wnt 信号通路对于骨形成^[10]的重要作用得到证实,参与此通路的众多调控蛋白也成为促骨合成治疗骨质疏松的潜在靶点,带来了治疗骨质疏松的新希望。

3.3 抗骨质疏松的作用机制与细胞凋亡 研究证实,骨量的快速丢失所造成的低骨量是骨质疏松症发生的最主要因素。骨量丢失取决于两方面的因素,其一,是成骨细胞的形成减少和成骨功能的减退,其二,是破骨细胞的形成和募集增加,破骨作用增强。成骨细胞凋亡与骨质疏松:骨细胞存在于骨表面,来源于局部的间充质细胞。成骨细胞分泌类骨质,进而钙化为新骨。成骨细胞活性降低,成骨功能减退,是产生骨质疏松的一个方面。成骨细胞的凋亡可能与 Fas/Fas-L 系统有关。Kawakami 等“发现人的成骨细胞可以表达 Fas 抗原。并与外用血中单核细胞经细胞因子刺激产生的 Fas L 结合导致成骨细胞的凋亡。女贞子的 5 种成分中,与凋亡途径相关联的是 Cell division protein kinase 2、Apoptotic protease activating factor-1、Casein kinase II subunit alpha、Death-associated protein kinase 1、Caspase-3、Inositol-tetrakisphosphate 1-kinase。它们是通过不同的分子作用于不同的蛋白整体激活凋亡途径从而达到抗骨质疏松的作用。

Apoptotic protease activating factor-1 是线粒体凋亡途径中的重要因子。Apaf-1 导致凋亡体的形成,然后激 caspase-9 水解。激活的 caspase-9 能使 caspase 的下游信号开放执行细胞程序性死亡。在

凋亡发生过程中,许多蛋白质直接或间接的与 Apaf-1 发生相互作用,Apaf-1 实质上是构成凋亡的核心成份。Apaf-1 能与特女贞苷和女贞苷 G13 结合,与特女贞苷的结合能力更强。Caspase-3 在细胞凋亡中起着不可替代的作用,在细胞凋亡启动时,116 kD 的 PARP 在 Asp216-Gly217 之间被 caspase-3 剪切成 31 kD 和 85 kD 2 个片段,经过一系列反应,裂解核小体间的 DNA,引起细胞凋亡。caspase-3 还可以剪切 PKC δ 和 PKC ϵ ,过量表达 PKC δ 和 PKC ϵ 均可以引起细胞凋亡,说明它们都参与了细胞凋亡的诱导。Caspase-3 能够与女贞苷相结合,拟合指数为 5.06。Cell division protein kinase 2 磷酸化 CTNBN1、usp37、p53、TP53、NPM1、CDK7、Rb1、BRCA2 基因,在策划一个微妙的平衡之间的细胞增殖,细胞死亡的关键作用。Cell division protein kinase 2 能与红景天苷结合,拟合指数为 4.5。Death-associated protein kinase 1 在机体中广泛参与由多种信号介导的细胞死亡过程;DAPK1 作为细胞凋亡正调控因子,可通过上调 p53 基因的表达而促使细胞进入人工型细胞凋亡程序,也可与非 p53 依赖的经典凋亡途径发生关联它是一类与细胞死亡有关的酶。Death-associated protein kinase 1 能够与女贞苷 G13 结合,拟合指数为 4.528。Casein kinase II subunit alpha 调节许多细胞过程,如细胞凋亡,也可以负调节细胞凋亡。还需要 p53/TP53 基因介导的细胞凋亡。Casein kinase II subunit alpha 与特女贞苷、女贞苷和油女贞苷相关联。其中与女贞苷的结合能力最强,与油女贞苷的结合力最弱。Inositol-tetrakisphosphate 1-kinase 是一种酶、异构酶、激酶、转移酶。通过干扰 TNFRSF1A 相关死亡结构域激活 TNF- α 诱导的细胞凋亡改变。Inositol-tetrakisphosphate 1-kinase 能与女贞苷结合,拟合指数是 4.975。

张明发等研究发现,女贞子及其活性成分红景天苷等具有抗骨质疏松作用,可通过促进维生素 D3 生物合成以及维生素 D 受体和钙结合蛋白表达,促进肠 Ca 吸收,抑制尿 Ca 排泄,提高骨密度等验证了我们的结果^[11]。孙为等^[12]研究表明二至丸治疗 12 周后,可以通过 Wnt/LRP5/ β -catenin 信号通路发挥抗下颌骨骨质疏松的作用,Wnt3a、Lrp5、 β -catenin 的 mRNA 表达升高,DKK1 的 mRNA 表达下降。此外,二至丸可以调节牙槽骨的 Wnt/ β -catenin 信号通路中 Lrp5 和 DKK-1 的量^[13]。前期实验结果已经证明了二至丸的抗骨质疏松活性,与女贞子配伍的墨旱莲旁区内减毒,推测了女贞子的抗骨质疏松活性,通

过实验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,其成分能起到抗凋亡、减毒的作用。以上都为我们的结果提供了依据并起到验证作用。

体外实验发现红景天苷通过其抗氧化作用,显著对抗 H_2O_2 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^[14]。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_2O_2 诱导的 RANKL)和 IL-6 的生成^[15],认为红景天苷至少是部分通过抑制骨重吸收递质的释放和对抗骨形成细胞的氧化损伤,进而缓解骨丢失。

国际上,许多药物公司及专家寄希望于发现及开发多靶点的抗骨质疏松药物,比较单靶点西药,从中药中发现调控骨重建平衡,即抑制骨吸收的同时增强骨矿化的双功能、多靶点药物有非常广阔的前景。近年来,中药复方如二至丸等,在防治骨相关疾病包括骨质疏松方面已经显示出一定优势,进一步揭示中药防治骨质疏松的作用机制是当前中药研究人员面临的机遇与挑战。本文预测出的女贞子潜在作用靶点得到文献药理数据的印证,所建立的女贞子多成分-多靶点网络能够反映中药“多成分、多靶点”特点。这一方法可望用于虚拟筛选中药有效物质并发现其作用靶点。另一方面,通过中药成分与靶点的对接计算,分析并优化网络靶点及成分组合物,有利于抗骨质疏松的创新中药研制。因此,建立并发展适合于中药多成分、多靶点整合调节特色的新的分子网络模型,将为基于化学分子网络-靶点网络的创新中药创制提供启示和方法学借鉴。

参考文献

[1]王子寿,薛红.神农百草经[M].成都:四川科学技术出版社,

2008:106.

- [2]郭鱼波,马如风,王丽丽,等.女贞子治疗骨质疏松作用及其机制的研究进展[J].中草药,2016,47(5):851-856.
- [3]吴纯伟,路丽,梁生旺,等.药物靶标预测技术在中药网络药理学中的应用[J].中国中药杂志,2016,41(3):377-382.
- [4]于亭亭,王萌.女贞子化学成分与药理作用研究进展[J].中国实验方剂学杂志,2014,20(14):228-234.
- [5]李晓敏,张岩.女贞子及其化合物对骨矿代谢影响的研究进展[J].中国药理学通报,2015,31(10):1345-1347,1348.
- [6]郭鱼波,王丽丽,马如风,等.女贞子水提液对去卵巢大鼠骨结构和骨代谢的影响研究[J].中草药,2016,47(7):1155-1162.
- [7]徐铁尔,孙贵才,于雪峰,等.Wnt信号传导途径与骨质疏松[J].中国骨质疏松杂志,2016,22(2):228-232.
- [8]Shuping F, Li Y, Hao H, et al. Wnt/ β -catenin signaling is involved in the Icarin induced proliferation of bone marrow mesenchymal stem cells[J]. 中医杂志:英文版,2016,36(3):360-368.
- [9]李春梅,刘新光,梁念慈.蛋白激酶 CK2 抑制剂的研究进展[J].国外医学·生理、病理科学与临床分册,2002,22(6):546-548.
- [10]李冠慧,李灿东,李西海,等.雌激素调控绝经后骨质疏松症骨吸收-骨形成耦联失衡的机制[J].中医正骨,2016,28(2):36-40.
- [11]张明发,沈雅琴.女贞子及其活性成分抗骨质疏松症的研究进展[J].药物评价研究,2014,37(6):566-571.
- [12]孙为,晏奇,施斌.二至丸对绝经后骨质疏松症大鼠下颌骨微结构及 Wnt 经典信号通路的影响[J].中国口腔种植学杂志,2013,18(2):104-105.
- [13]Sun W, Wang YQ, Yan Q, et al. Effects of Er-Zhi-Wan on microarchitecture and regulation of Wnt/ β -catenin signaling pathway in alveolar bone of ovariectomized rats[J]. J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci,2014,34(1):114-119.
- [14]姜爱玲,张岩红.景天苷的药理作用的研究进展[J].中国临床药理学与治疗学,2015,10(20):1161-1200.
- [15]张明发,沈雅琴.女贞子及其活性成分促生长增体质作用的研究进展[J].药物评价研究,2016,39(3):474-481.

(2016-10-10 收稿 责任编辑:王明)