

淫羊藿苷药理作用研究进展

路宇仁¹, 陈映冰¹, 崔元璐^{1*}, 王强松^{2*}

(1. 天津中医药大学 中医药研究院, 天津 300193;

2. 中国医学科学院 北京协和医学院 生物医学工程研究所, 天津 300192)

[摘要] 淫羊藿作为我国传统中药,具有补肝肾、强筋骨、祛风湿的功效,是补肾壮阳、强阳起痿方剂的常用中药,主要用于肾阳不足,风湿痹痛和骨痿的治疗。现代研究表明,淫羊藿中的主要化学成分淫羊藿苷具有广泛的生物活性,如抗炎、抗氧化应激、抗抑郁和抗肿瘤等。分子药理学研究表明,淫羊藿苷可通过调控多个细胞信号转导通路中的靶点治疗神经系统疾病、骨质疏松症、心血管系统疾病、免疫性疾病和生殖系统疾病等。淫羊藿苷在骨保护方面的作用机制广泛,主要涉及雌激素受体 α (ER α)-分泌型糖蛋白(Wnt)/ β -链蛋白(β -catenin),核转录因子- κ B(NF- κ B),环磷酸腺苷(cAMP)依赖蛋白激酶(PKA)/cAMP/cAMP 应答元件结合蛋白(CREB),细胞外信号调节激酶(ERK)和 p38 有丝分裂原活化蛋白激酶(MAPK),磷脂酰肌醇3 激酶(PI3K)/蛋白激酶 B(protein kinase B, Akt)/内皮型一氧化氮合酶(eNOS)/NO/环磷鸟苷(cGMP)/cGMP 依赖性蛋白激酶(PKG),RhoA-TAZ 和 PI3K/Akt/下调糖原合成激酶 3β (GSK3 β)/ β -catenin 等多个信号通路,显著地成骨作用使其成为治疗骨质疏松症的首选先导化合物。回顾文献,淫羊藿苷对于调节神经系统,保护心血管,调节免疫系统,改善性功能和抗肿瘤等机制研究方面缺乏详细的总结。为了加快淫羊藿苷药理作用分子机制的探索和发现,扩大其应用前景,本文综述近年来淫羊藿苷的药理作用及分子机制研究进展,为临床合理用药和新药研发提供参考依据。

[关键词] 淫羊藿苷; 神经系统; 骨骼系统; 心血管系统; 免疫系统; 分子机制

[中图分类号] R22;R24;R284.1;R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)17-0209-12

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20181734

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180613.1326.006.html>

[网络出版时间] 2018-06-14 9:37

Progress of Pharmacological Research on Icariin

LU Yu-ren¹, CHEN Yi-bing¹, CUI Yuan-lu^{1*}, WANG Qiang-song^{2*}

(1. *Research Center of Traditional Chinese Medicine, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China;*

2. *Institute of Biomedical Engineering, Chinese Academy of Medical Science & Peking Union Medical College, Tianjin 300192, China)*

[Abstract] Epimedii Folium is a type of traditional Chinese medicine with effects of nourishing liver and kidney, strengthening the bones and muscles and expelling wind-damp. It is the main component of formulation that could nourish the kidney, strengthen yang and treat impotency, and mainly used for treatment of kidney yang deficiency, rheumatism, osteoporosis and paralysis. Recent studies have shown that icariin is the most abundant flavonoid component in Epimedii and exerts extensive bioactivities of anti-inflammation, anti-oxidant stress, anti-depression and anti-tumor. The molecular pharmacology studies showed that icariin could be used to treat nervous system diseases, osteoporosis, cardiovascular diseases, immune disease and reproductive system diseases by

[收稿日期] 20180319(013)

[基金项目] 国家自然科学基金青年基金项目(31500761)

[第一作者] 路宇仁,在读硕士,从事中药药理学研究,Tel:022-59596170,E-mail:13512236210@163.com

[通信作者] * 崔元璐,博士,研究员,从事分子药剂学研究,Tel:022-59596170,E-mail:cuiyl@tju.edu.cn;

* 王强松,博士,副研究员,从事分子药剂学研究,Tel:022-87893236,E-mail:wangqiangsong2008@163.com

regulating multiple targets and signaling pathways. The protective mechanisms of icariin on skeletal system were extensively studied, involving estrogen receptor α (ER α) -Wnt/beta-catenin, nuclear transcription factor- κ B (NF- κ B), cyclic adenosine monophosphate (cAMP) dependent protein kinase (PKA) /cAMP/cAMP response element-binding protein (CREB), extracellular-signalregulated kinase (ERK), p38 mitogen-activated protein kinase (MAPK), RhoA-TAZ, phosphatidylinositol-3-kinases (PI3K) /protein kinase B (Akt) /glycogen synthase kinase 3 β (GSK3 β) / β -catenin, PI3K/Akt/endothelial nitric oxide synthase (eNOS) /NO/Cyclic guanosine monophosphate (cGMP) /cGMP protein kinase G (PKG) and other signaling pathways. The significant osteogenesis effects made it a preferred compound in treatment of osteoporosis. However, there was only a few summaries on icariin's mechanisms in regulating the nervous system, protecting the cardiovascular system, regulating the immune system, improving the reproductive function and resisting tumor. In order to accelerate the exploration, discover other molecular mechanisms of icariin, and expand its application prospects, this study reviewed the progress of pharmacological studies on icariin in recent years, and elaborated the effect targets and pertinent pathways, so as to provide the reference for the rational clinical medication and drug research and development.

[Key words] icariin; nervous system; skeletal system; cardiovascular system; immune system; molecular mechanisms

淫羊藿始载于《神农本草经》，亦称“仙灵脾”，具有补肝肾，强筋骨，祛风湿的功效。《本草备要》言其“补命门，益精气，坚筋骨”，故可用于肾阳虚衰，阳痿遗精，风湿痹痛，筋骨痿软及肢体麻木^[1]。药材来源为小檗科植物淫羊藿、箭叶淫羊藿、柔毛淫羊藿或朝鲜淫羊藿的干燥叶。到目前为止，淫羊藿中已被分离鉴定的单体化合物超过 260 余种，主要为黄酮类化合物，其中以淫羊藿苷含量最高^[2]。2015 年版《中国药典》(一部)规定干燥药材中淫羊藿苷含量不得低于 5.0%^[3]。现代药理学研究表明淫羊藿苷具有促进神经突触生长、抵抗神经元损伤、改善骨代谢、抗炎、抗氧化应激、抗抑郁和抗肿瘤等活性。分子机制研究发现，淫羊藿苷可参与调控多个信号传导通路治疗骨质疏松症、神经系统疾病、心血管系统疾病、免疫性疾病和生殖系统疾病等^[4]。虽然近几年淫羊藿苷骨保护机制的研究成为热点，但是关于调节神经系统、保护心血管、调节免疫系统，改善性功能和抗肿瘤等机制研究方面缺乏详细的总结。为了加快淫羊藿苷其他药理作用分子机制的探索和发现，扩大其应用前景，本文对近 5 年淫羊藿苷的分子药理机制研究进行了综述，为临床合理用药和新药研发提供相关的理论依据。

1 对神经系统的药理作用

淫羊藿苷能够维持神经细胞的正常形态和功能，对抗神经元损伤，促进神经突触生长。大量研究表明，淫羊藿苷在帕金森病 (Parkinson' disease, PD)，阿尔兹海默病 (Alzheimer's disease, AD) 及抑郁

症 (major depression disorder, MDD) 等神经精神系统疾病中发挥神经保护和调节作用。

1.1 对神经细胞的保护作用 淫羊藿苷在神经保护方面表现出了极大的优势，能够增加神经干细胞的增殖和神经球形成。研究表明，淫羊藿苷通过上调 Wnt 信号通路中卷曲类受体 7 (frizzled class receptor 7, FZDR7)，散乱的片段极性蛋白 3 (dishevelled segment polarity protein 3, DVL3) 和成纤维细胞生长因子受体 1 (fibroblast growth factor receptor 1, FGFR1)，下调糖原合成激酶 3 β (glycogen synthase kinase 3 β , GSK3 β) 调节神经干细胞活动发挥神经保护的作用^[5]。LI 等^[6] 在高半胱氨酸 (homocysteine, Hcy) 诱导的大鼠皮质神经元毒性反应中发现，淫羊藿苷调节乙酰- α -微管蛋白和磷酸化的微管蛋白结合蛋白 Tau (microtubule-associated proteins Tau, MAPT)，修复受损的细胞网络骨架并恢复磷酸化蛋白激酶 B (phosphorylated protein kinase B, p-Akt)。另一方面，淫羊藿苷不仅维持神经细胞骨架的正常形态还能抑制细胞凋亡。在 1-甲基-4-苯基吡啶 (MPP⁺) 诱导的多巴胺能神经元细胞 MES23.5 神经毒性实验中，淫羊藿苷上调 B 淋巴细胞瘤-2 基因 (B-cell lymphoma-2, Bcl-2)，下调 Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bcl-2 associated X protein, Bax) mRNA 及蛋白表达水平，减少酪氨酸羟化酶 (tyrosine hydroxylase, TH) 蛋白的表达，增强细胞存活率并减少 MPP⁺ 诱导的 TH 阳性细胞丢失^[7]。ZHANG 等^[8] 通过建立急性脱鞘和少突神经胶质衰退小鼠

模型,发现淫羊藿苷显著地提高神经髓鞘磷脂再生,恢复 NF200-阳性轴突,增加 APC⁺/Olig2⁺ 成熟少突神经胶质细胞数和保护神经营养因子。

1.2 PD 治疗研究 PD 是一种常见的神经系统变性疾病,最主要的病理改变是中脑黑质多巴胺 (dopamine, DA) 能神经元的变性死亡,由此而引起纹状体 DA 含量显著性减少而致病。淫羊藿苷既能增加神经递质的含量又能减少神经元细胞凋亡。CHEN 等^[9]建立了切除卵巢的 PD 小鼠模型,结果显示淫羊藿苷能够改善 1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶 (MPTP) 诱导的纹状体内 DA 减少和黑质致密酪氨酸-羟化酶免疫反应 (TH-IR) 神经元丢失;此外淫羊藿苷调控 Bcl-2, Bax 和半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3 (Caspase-3) 表达。为了进一步研究淫羊藿苷发挥作用的机制,CHEN 等^[9]又探讨了磷脂酰肌醇 3-激酶 (phosphoinositide 3-kinase, PI3K) 和促分裂原活化蛋白激酶激酶 (mitogen-activated protein kinase kinase, MEK) 抑制剂能够逆转淫羊藿苷对 MES23.5 细胞中 Akt 和细胞外调节蛋白激酶 (extracellular regulated protein kinases, ERK) 磷酸化的激活作用。因此,PI3K/Akt 和 MEK/ERK 通路可能是淫羊藿苷改善 PD 的机制之一。WANG 等^[10]发现淫羊藿苷保护 DA 神经元免于脂多糖 (lipopolysaccharides, LPS)/6-羟基多巴胺 (6-OHDA) 诱导的损伤,并且通过抑制核转录因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 途径来抑制小胶质细胞的活化和促炎性因子的表达。

1.3 AD 治疗研究 AD 是一种起病隐匿的进行性发展的神经系统退行性疾病。临床上以记忆障碍、失语、失用、失认、视空间技能损害、执行功能障碍以及人格和行为改变等全面性痴呆表现为特征,发病机制尚不明确。在神经病理学上与 β 淀粉样蛋白聚集, Tau 蛋白异常磷酸化及神经炎症反应相关。淫羊藿苷能够改善 AD 病人的空间学习和记忆能力,但是其保护作用的分子机制尚未明确。ZHANG 等^[11]采用淀粉样蛋白 β (A β 25-35) 诱导建立大鼠嗜铬细胞瘤 PC12 细胞模型,发现选择性 PI3K 抑制剂能够抑制淫羊藿苷诱导的 Akt 磷酸化,逆转淫羊藿苷对 Bcl-2, Bax 和 Caspase-3 的调节作用。这表明淫羊藿苷的保护作用与 PI3K/Akt 信号传导途径的活化有关。此外,轴突内线粒体参与神经传递和交流的正常运转,淫羊藿苷能够增加患病神经元中线粒体的流动性,保护线粒体功能^[12]。在神经突触方面,淫羊藿苷通过脑源性生长因子 (brain derived

neurotrophic factor, BDNF)/酪氨酸激酶受体 B (tyrosine kinase receptor B, TrkB)/Akt 途径改善突触可塑性和相关蛋白的表达^[13]。

在 AD 转基因小鼠模型中,淫羊藿苷增强小鼠脑内代谢产物 N-乙酰天冬氨酸盐水平和 ATP 的产生,保护线粒体内关键酶环氧合酶 (cyclooxygenase, COX), 丙酮酸脱氢酶 (pyruvate dehydrogenase complex 1 α , PDHE1 α) 和突触后致密蛋白 95 (postsynaptic density protein 95, PSD95), 减少斑块沉积和抑制淀粉样前体蛋白 β -位点分裂酶 1 (β -site amyloid precursor protein cleavage enzyme 1, BACE1) 的表达^[14]。同样,淫羊藿苷减弱 AD 引起的小胶质细胞的激活和转化生长因子- β_1 (transforming growth factor- β_1 , TGF- β_1) 免疫反应性^[15]。淫羊藿苷有望作为 AD 和其他与线粒体功能失调相关的神经退行性疾病的潜在补充治疗药物。

1.4 MDD 治疗研究 抑郁症 (MDD) 是极度危害人类身心健康的常见精神疾病。一般认为发病机制和脑内神经递质减少、内分泌异常、氧化应激和神经炎症相关。许多研究表明,淫羊藿苷具有抗抑郁样作用,并有望被开发成一个新的抗抑郁候选药物。淫羊藿苷能够减轻慢性温和不可预知应激 (chronic unpredictable mild stress, CUMS) 大鼠的抑郁样行为,逆转前额皮质中糖皮质激素受体 (glucocorticoid receptor, GR) 和糖皮质激素诱导激酶 1 (serum and glucocorticoid inducible kinase 1, SGK1) mRNA 表达水平的升高,降低海马和前额皮质中的 GR 和 SGK1 水平,下调前额皮质中的 GR 和 FK506 结合蛋白质 5 (FK506 binding protein 5, FKBP5) 的表达^[16]。淫羊藿苷通过调节 GR 受体分布及恢复 (hypothalamic pituitary adrenal, HPA) 轴功能发挥抗抑郁作用。GONG 等^[17]结合行为学、生物化学和代谢组学分析了淫羊藿苷在皮质酮诱导的大鼠抑郁模型中潜在的抗抑郁效应,结果发现,淫羊藿苷可显著提高大鼠糖水摄取量,减少不动时间和提高海马中 BDNF 的水平。代谢组学分析从血清、尿液和脑组织提取物中鉴定出 16 种潜在的与抑郁症相关的生物标记物,主要涉及能量代谢、脂质代谢、氨基酸代谢和肠道菌群代谢。因此,淫羊藿苷能够恢复被扰乱的代谢通路。另外,LIU 等^[18]探究发现淫羊藿苷通过调节氧化应激和神经炎症反应来治疗抑郁症,结果显示,淫羊藿苷下调氧化-亚硝化应激标记物,炎性介导因子肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α), 白细胞

介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β) 和诱导型一氧化氮合酶 (inducible nitric oxide synthase, iNOS) mRNA 表达, 并抑制 NF- κ B 信号通路和 Nod 样受体蛋白 3 (NOD-like receptor pyrin domain containing 3, NLRP3) 炎性蛋白/Caspase-1/IL-1 β 轴的激活。综上, 淫羊藿苷能够从调节内分泌, 恢复 HPA 轴, 调节代谢物水平, 抑制炎症反应和氧化应激等方面发挥抗抑郁作用。

2 对骨骼系统的保护作用

骨质疏松症 (osteoporosis, OP) 是一种骨组织微结构被破坏, 骨基质减少导致骨质量下降、骨小梁数量减少、易发生骨折的全身代谢性疾病。发病机制与骨代谢过程中骨吸收和骨形成环节之间的平衡失调有关。成骨细胞源于骨髓间充质干细胞 (bone mesenchymal stem cells, BMSCs), 是骨生长、重建和修复的关键细胞。ZHANG 等^[19] 发现淫羊藿苷通过雌激素受体 α (estrogen receptor α , ER α) 信号通路发挥促进成骨细胞非脂肪分化的作用以及调节破骨细胞分化的作用。在小鼠 MC3T3-E1/RAW264.7 细胞共培养体系中, 淫羊藿苷提高 MC3T3-E1 细胞与成骨分化能力相关的基因和蛋白的表达并抑制 RAW264.7 细胞的破骨细胞活性^[20]。课题组前期研究发现淫羊藿苷通过 Runt 相关转录因子 2 (runt-related transcription factor 2, RUNX2) 和 Wnt/ β -catenin 通路促进力学荷载下 MC3T3-E1 细胞的分化和矿化^[21]。此外, 淫羊藿苷联合力学荷载激活

NF- κ B 通路并调节相关基因与蛋白的表达以改善成骨细胞的增殖和分化^[22]。在动物实验中, 淫羊藿苷联合动态力学加载改善 OP 小鼠骨组织生物力学性能, 骨小梁结构, 显著上调成骨相关基因表达, 下调破骨相关基因表达^[23]。其他研究表明淫羊藿苷提高绝经后期 OP 大鼠的骨量和骨密度, 促进损伤后的骨组织愈合^[24-26]。

BMSCs 具有分化为成骨细胞和软骨细胞的潜能, 在骨组织工程中具有广阔的应用前景。大量研究证实 ER α -Wnt/ β -catenin 是淫羊藿苷促进 BMSCs 增殖和成骨分化的关键通路^[27-29, 17]。也有学者发现淫羊藿苷能激活 ERK 和 p38 分裂原激活的蛋白激酶 (mitogen activated protein kinases, MAPK) 通路促进大鼠 BMSCs 的增殖^[30]。ZHAI 等^[31] 则从 PI3K/Akt/内皮型一氧化氮合酶 (endothelial nitric oxide synthase, eNOS)/一氧化氮 (nitric oxide, NO)/蛋白激酶 G (protein kinase-G, PKG) 通路角度探讨淫羊藿苷促进 BMSCs 成骨分化的作用机制。除此之外, 淫羊藿苷还能抑制 BMSCs 分化成脂肪细胞, 促进大鼠脂肪衍生的干细胞 (rat adipose derived stem cells, rASCs) 增殖和成骨分化^[32-35]。在软骨细胞中, 淫羊藿苷激活组织蛋白酶 K 抵抗地塞米松诱导的骨损伤并促进软骨分化标记物 II 型胶原 (collagen II, Col II) 和软骨蛋白聚糖 (sry related HMG box9, SOX9) 的产生^[36-37]。上述结果说明淫羊藿苷能够通过多靶点, 多途径发挥骨保护作用。相关总结见表 1。

表 1 淫羊藿苷对骨骼系统的保护作用机制

Table 1 Protective mechanism of icariin on skeletal system

模型	药物和剂量	阳性药/抑制剂	Icariin 主要作用	相关受体或通路
成骨细胞	icariin (0.01, 0.1, 1, 10, 20, 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	雌二醇及 ER 拮抗剂 (ICI 182780)	促进细胞分化和矿化, 增强细胞外基质产生和 ALP 活性, 抑制细胞成脂肪转化; 上调骨形态发生蛋白 2 (BMP2), Col I 和 ER α mRNA 和蛋白的表达; 下调过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPAR γ) 和 CCAAT/增强子结合蛋白 β (Cebpb) mRNA 的表达; 上调骨保护素 (OPG)/受体激活剂核因子 κ B 配体 (RANKL) mRNA 的表达比例	ER 受体 ^[19]
	icariin (0.1, 1, 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	-	增加 OPG, 急性早幼粒细胞白血病 (ALP), TGF- β_1 , RUNX2, RANKL mRNA 的表达; 减少 RANK, NF- κ B mRNA 的表达	无 ^[20]
	icariin (0.1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	-	促进细胞增殖, 分化和矿化; 增加 Col I, ALP, RUNX2 和 OCN mRNA 和蛋白的表达; 增加 β -catenin mRNA 的表达	Wnt/ β -catenin 通路 ^[21]

续表 1

模型	药物和剂量	阳性药/抑制剂	Icariin 主要作用	相关受体或通路
	icariin (10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	机械应变和 NF- κ B 抑制剂 (BAY11-7082)	促进细胞增殖, 增加 ALP 活性; 增加 BMP-4 和 ALP mRNA 的表达; 增加 BMP-2, OCN, Col I mRNA 和蛋白的表达; 显著增加磷酸化的 I κ B- α , p65 和磷酸化的 p65 蛋白的表达	NF- κ B 通路 ^[22]
	icariin (0.1, 1, 10, 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	腺苷酸环化酶 (DDA) PKA 抑制剂 (KT5720)	促进 ALP 的分泌和钙化结节的形成; 增加细胞内的 cAMP 水平和促进 cAMP 依赖蛋白激酶 (PKA) 和环磷腺苷效应元件结合蛋白 (CREB) 的磷酸化	cAMP/PKA/ CREB 通路 ^[38]
骨髓间充质 干细胞 (BMSCs)	icariin (0.05- 100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	-	促进细胞增殖, 增加 β -catenin mRNA 与蛋白的表达; 增加 GSK-3 β 和 CyclinD ₁ 蛋白的磷酸化水平	Wnt/ β -catenin 通路 ^[27]
	icariin (0.01, 0.1, 1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	ER α 抑制剂 (ICI 182780) Wnt/ β -catenin 抑制剂 (DKK1) 慢病毒介导的 TAZ shRNA	促进细胞增殖和成骨分化; 上调 PDZ 结合域转录共激活因子 (TAZ), RUNX2, OCN, β -catenin, 骨桥蛋白 (OPN) 和同源转录因子 5 (Dlx5) mRNA 的表达; 诱导 TAZ 的核转运	ER α 受体和 Wnt/ β -catenin 通路 ^[28]
	icariin (0.01, 0.1, 1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	ICI 182780 DKK1	上调 ER α , RUNX2, DLX5, OCN, Col I mRNA 的表达; 上调 β -catenin, Lef1, TCF7, c-Jun, c-Myc 和细胞周期蛋白 D (cyclin D) mRNA 的表达; 增加 β -catenin 蛋白的表达, 促进 β -catenin 核转运	ER α 受体和 Wnt/ β -catenin 通路 ^[29]
	icariin (20, 40, 80, 160, 320 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	ERK1/2 抑制剂 (PD98059) P38 抑制剂 (SB203580) JNK 抑制剂 (SP600125)	促进 ERK 和 p38 蛋白的磷酸化, 提高磷酸化的蛋白/总蛋白表达比例; 上调 MAPK 下游转录因子 Elk1 和 c-Myc mRNA 的表达	ERK 和 p38 MAPK 通路 ^[30]
	icariin (0.01, 0.1, 1, 10, 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	NOS 抑制剂 (L-NAME) sGC 抑制剂 (ODQ) cGMP 抑制剂 PI3K 抑制剂 (LY294002)	促进细胞成骨分化, 增加 ALP 的活性; 上调 iNOS 和 eNOS mRNA 的表达, 提高 NO 的含量; 上调可溶性鸟苷酸环化酶 (sGC) mRNA 的表达; 促进 p-Akt 蛋白的表达	PI3K/Akt/eNOS/ NO/cGMP/PKG 通路 ^[31]
	icariin (1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	DKK1	促进细胞成骨分化并抑制其成脂肪分化; 上调成骨基因 RUNX2, ALP 和 Col I mRNA 的表达; 下调成脂相关基因 PPAR, Fabp4 和 adipon mRNA 的表达; 促进 GSK-3 β 蛋白的磷酸化, 增加 Non-phospho (Active) β -catenin 蛋白的数量	经典的 Wnt 通路 ^[35]
	icariin (0.000 1, 0.01 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	Wnt/ β -catenin 抑制剂 (ICG- 001)	增加 ALP 的活性; 提高 RUNX2, Osterix 和 OCN mRNA 的表达; 增加 β -catenin 和 AXIN2 mRNA 表达, 抑制钛颗粒诱导的 β -catenin 蛋白降解	Wnt/ β -catenin 通路 ^[32]
脂肪干细胞 (rASCs)	icariin (0.01, 0.1, 1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	RhoA 抑制剂 (C3)	促进细胞增殖和成骨分化; 增加 RUNX2, ALP 和 Col1a mRNA 的表达; 增加 RhoA, p-MYPT1, RUNX2, OPN 和 TAZ 蛋白的表达, 增加 ROCK 活性	RhoA-TAZ 通路 ^[34]

续表 1

模型	药物和剂量	阳性药/抑制剂	Icariin 主要作用	相关受体或通路
SaoS-2 细胞	icariin (0.01, 0.1, 1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	DKK1, PI3K/Akt 通路抑制剂 (LY294002) GR 拮抗剂 (RU-486)	加快细胞增殖和成骨分化, 增加 ALP 活性和钙沉积; 上调 RUNX2 和 DECI 蛋白的表达; 增加 PIK3CA 蛋白的表达和其下游靶点 Akt 与 GSK3 β 蛋白的磷酸化	PI3K/Akt/ GSK3 β / β -catenin 通路 ^[39]
髓核 (NP) 细胞	icariin (20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	PI3K/Akt 途径抑制剂 (MLY294002)	减少 IL-1 β 诱导的细胞凋亡, 减少细胞间 ROS 的累积; 和保护线粒体功能; 上调 Bcl-2 和下调 Bax, Caspase-3 蛋白的表达; 上调 p-Akt 和下调 p53 蛋白的表达水平	部分通过 PI3K/ Akt 通路 ^[40]
OP 动物模型	icariin (200 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	力学加载	改善股骨骨小梁微结构和尺骨生物力学性能; 增加血清中 E ₂ 和 OCN 的水平; 降低血清中 FSH, LH 和 TRAP 的水平; 上调 OCN, BMP-2, OPG 和 COL1 mRNA 的表达; 下调 TRAP 和 RANKL mRNA 的表达	无 ^[23]
	icariin (125, 250, 500 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	Fosamax	增加股骨骨密度 (BMD), 改善骨小梁数目; 抑制 PPAR γ , CCAAT/增强子结合蛋白 α (C/EBP α) 和脂肪酸结合蛋白 4 (FABP4) mRNA 的表达; 增加 Notch2 mRNA 的表达; 抑制 N1ICD 和 Jagged1 蛋白的表达	可能涉及 Notch 通路 ^[33]
	icariin (150 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	-	增加股骨的 BMD, 促进胫骨愈伤组织形成和重塑; 降低血清中 BGLAP, ALP 和 TRAP 的水平	无 ^[41]
	icariin (25 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	含有 icariin 的碳酸钙骨水泥	增加骨再生能力和生物力学强度, 降低大鼠体质量; 增加血清中钙和磷的水平	无 ^[42]
	icariin (250 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	icariin 结合 ADSCs	提高腰椎骨, 股骨的 BMD 和骨生物力学性能; 降低血清中 ALP, TRAP 和 BGP 的水平, 增加 OPG 的水平; 改善肝脏和肾脏的功能指数	无 ^[43]

3 对心血管系统的保护作用

淫羊藿苷能够有效避免不利因素对心肌细胞和血管内皮的损伤。ZHOU 等^[44-45]建立血管紧张素 II (angiotensin II, Ang II) 诱导的心肌细胞模型, 结果显示, 淫羊藿苷能抑制心肌细胞凋亡, 上调热激蛋白 (heat shock protein 20, HSP20), 阻滞 c-Jun 氨基末端激酶 (c-Jun NH₂-terminal protein Kinase, JNK) 和 p38 的磷酸化减少 (reactive oxygen species, ROS) 产生。说明淫羊藿苷通过抑制 ROS 依赖性的 JNK 和 p38 途径来保护 H9c2 心肌细胞。此外, 在 H₂O₂ 与 H9c2 心肌细胞共同孵育的体系中, 使用 ERK 抑制剂 U1026 可以逆转淫羊藿苷的保护作用, 提示 ERK 通路也是淫羊藿苷保护心肌细胞抵抗氧化应激损伤的机制之一^[46]。QIAN 等^[47]在前人工作的基础上指出淫羊藿苷能够降低高血压大鼠的血压, 抑制心

肌细胞凋亡, 改善左心室重构和线粒体异常。

淫羊藿苷除了可以抑制心肌细胞凋亡还能够有效地调节血脂水平, 保护心血管系统。HU 等^[48]发现淫羊藿苷可以剂量依赖性地抑制氧化低密度脂蛋白 (ox-LDL) 诱导的 (human umbilical vein endothelial cells, HUVECs) 损伤, 抑制单核细胞的粘附, 减少细胞间粘附分子 (intercellular cell adhesion molecule-1, ICAM-1), 血管细胞粘附分子 (vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1) 和 E-选择素 mRNA 和蛋白表达水平。XIAO 等^[49]在 HUVECs 细胞中发现淫羊藿苷能通过抑制受损的 eNOS/NO 途径改善动脉粥样硬化; 并减少 ApoE 基因敲除小鼠血浆中 NO, 甘油三酯和总胆固醇 (total cholesterol, TC) 浓度。除此之外, 淫羊藿苷通过减少动脉壁趋化因子 (chemokine CX3C-motif ligand 1, CX3CL1) 和其受体

(CX3C chemokine receptor 1, CX3CR1) 蛋白水平改善 ApoE 敲除小鼠中巨噬细胞浸润与损伤^[50]。说明,淫羊藿苷能够从抑制氧化应激和减少趋化因子等多个方面抵抗动脉粥样硬化。在高脂血症兔模型中,淫羊藿苷降低血清 TC 和 ox-LDL 水平,改善血浆纤溶酶原激活物抑制剂-1 与组织型纤溶酶原激活剂活性之间的不平衡,降低血小板的粘附性和聚集性,调节恶化的血流变学性质^[51]。过氧化物酶增殖激活的受体(peroxisome proliferator activated receptors, PPAR)主要参与肝脂肪代谢和脂肪细胞的分化。为了进一步研究淫羊藿苷对脂代谢和 PPAR α 的作用,LU 等^[52]通过检测小鼠中 PPAR α 和脂质代谢基因揭示淫羊藿苷是 PPAR α 的激动剂,激活肝脏中的脂质代谢基因表达,调节脂代谢。

4 对免疫系统的调节作用

大量研究证实淫羊藿苷具有调节免疫系统功能的活性。在自身免疫性脑脊髓炎的实验中,给予淫羊藿苷干预能抑制脾细胞、淋巴结细胞和中枢神经单核细胞中的 Th1 和 Th17 细胞的频率,抑制体外 T 细胞增殖和 Th1, Th17 细胞分化^[53]。淫羊藿苷不仅能够改善自身免疫疾病还可以缓解哮喘。在卵清蛋白(ovalbumin, OVA)诱导的小鼠哮喘模型中,淫羊藿苷减轻气道高原反应(airway hyperresponsiveness, AHR),支气管周围炎症浸润,杯状细胞增生和粘液产生,减少白细胞总数和调节 Th17/Treg 响应,降低肺组织和血清中前列腺素 D₂ (prostaglandin D₂, PGD₂) 和 PGD₂ 受体 2 (CRTH2) 的 mRNA 表达水平^[54-55]。LI 等^[56]建立社交心理缺陷结合哮喘的小鼠模型,结果指出,淫羊藿苷显著地增加小鼠开场实验中心活动时间,逆转气道高压反应,减少炎症因子浸润,恢复糖皮质激素反应。因此,他们推测淫羊藿苷调节诱导 GR 可能是其促进皮质类固醇产生细胞因子应答的潜在机制。

5 对生殖系统的影响

淫羊藿作为应用历史悠久的补阳药,现代药理学研究表明其主要成分淫羊藿苷是 PDE5 的抑制剂,具有改善生殖功能的作用^[57]。淫羊藿苷能够提高下丘脑内多巴胺和血清素水平,增加血中睾酮,NO 浓度,促进阴茎内 eNOS, PI3K 和磷酸化 Akt 的表达。说明淫羊藿苷通过下丘脑-垂体-性腺轴和 PI3K/Akt/eNOS/NO 信号通路提高雄性小鼠性功能^[58]。还有报道称淫羊藿苷能通过 ERK1/2 信号通路促进大鼠睾丸细胞增殖^[59]。CHEN 等^[60]的研究则表明淫羊藿苷调节边缘性苯二氮卓受体

(peripheral type benzodiazepine receptor, PBR) 和类固醇生成性急性期调节蛋白(steroidogenic acute regulatory protein, StAR) 促进睾酮产生。另一方面,淫羊藿苷也影响支持细胞中滤泡刺激激素受体(follicle stimulating hormone receptor, FSHR) 和紧密连接蛋白-11 mRNA 的表达,减轻氧化应激损伤改善雄性生殖功能。

6 其他

6.1 抗炎作用 在 IL-1 β 诱导的 SW1353 软骨肉瘤细胞中,淫羊藿苷通过抑制 MAPK 通路调控的金属蛋白酶(matrix metalloproteinase 1, MMP-1), MMP3 表达以及 p38, ERK 和 JNK 磷酸化发挥抗炎作用^[61]。淫羊藿苷能够下调人骨关节炎成纤维细胞样滑膜细胞(OA-FLS)中相关分子 IL-1 β , MMP14 和葡萄糖调节蛋白 78 (glucose regulated protein 78, GRP78) 的表达减轻炎症反应^[62]。LI 等^[63]探讨淫羊藿苷对香烟烟雾诱导的体内和体外炎症反应的影响时,发现淫羊藿苷保护小鼠肺功能,减少炎症细胞, TNF- α , IL-8 和 MMP-9 的产生。在体外实验中,淫羊藿苷抑制 NF- κ B p65 蛋白的磷酸化和阻断 I κ B- α 蛋白降解,提高 GR mRNA 和蛋白的表达水平。说明淫羊藿苷调节 GR 受体,抑制 NF- κ B 活化及下游炎症因子产生发挥抗炎作用。课题组前期以三硝基苯磺酸(TNBS)/乙醇诱导的大鼠结肠黏膜损伤为研究对象建立负载淫羊藿苷的海藻酸钠-壳聚糖微球体系,结果显示,载有淫羊藿苷的微球不仅可以通过降低大鼠结肠黏膜损伤指数,还可以通过减少结肠黏膜中炎症介质和细胞因子的水平来降低炎症反应^[64]。同样有研究发现淫羊藿苷上调沉默信息调节因子 6 (silent information regulator 6, SIRT6) 蛋白表达,抑制 NF- κ B 炎症信号通路下游的靶基因 TNF- α , ICAM-1, IL-2 和 IL-6 表达并推测淫羊藿苷对 SIRT6 和 NF- κ B 的调节之间存在某种相关性^[65]。

6.2 抗肿瘤作用 在体外抗肿瘤活性实验中,淫羊藿苷能够降低人类食管癌细胞活性,减少增殖粘附,下调谷胱甘肽(glutathione, GSH), Caspase-9 和 NADPH 氧化酶水平,降低内质网应激相关分子(p-PERK, GRP78, ATF4, p-eIF2 α 和 CHOP), 凋亡前体蛋白(P53 up-regulated modulator of apoptosis, PUMA) 和 Bcl-2 表达^[66-67]。结果还表明淫羊藿苷部分通过抑制 PI3K/Akt 和信号转导和转录激活子 3 (signal transducer and activator of transcription 3, STAT3) 途径降低食管癌细胞活力和迁移^[68]。LI 等^[69]在卵巢癌 A2780 细胞中发现淫羊藿苷能够减

少 microRNA-21 表达水平,增加肿瘤抑制基因 PTEN 和 RECK 蛋白表达来抑制癌细胞增殖,加速细胞凋亡。在黑色素瘤 B16 细胞和小鼠模型中,淫羊藿苷通过抑制肿瘤生长并调节细胞周期调节蛋白 A, CDK2, p21, 周期蛋白 B₁, Caspase-3, Caspase-9, PARP 和 Bcl-2 表达发挥抗肿瘤作用^[70-71]。

淫羊藿苷除了自身具有抗肿瘤活性外还可以协同其他抗肿瘤药物进行治疗。研究表明,淫羊藿苷能通过抑制 NF- κ B 活化并下调其基因产物的表达协助抗癌药物发挥功效。在体内及体外实验中,淫羊藿苷均可增强辐射对癌细胞的抗增殖作用^[72-74]。在 ALP 细胞的研究中发现,淫羊藿苷不仅调节 Janus 激酶 2 (Januskinase 2, JAK2)/信号转导和转录激活子 3/5 (STAT3/5) 信号通路来抑制原癌蛋白激酶 PIM1 的表达还能产生 ROS 增强三氧化二砷的抗肿瘤活性^[75-76]。WANG 等^[77] 研究表明淫羊藿苷通过 PI3K/Akt 通路下调人类骨肉瘤多柔比星 (doxorubicin, DOX)-抵抗细胞系 MG-63/DOX 中的多药抵抗蛋白 1 ((multidrug resistance 1, MDR1) 表达以此增强 DOX 的抗肿瘤活性。

6.3 对肾脏的保护作用 近年来慢性肾脏病在世界范围内患病率增加,缺乏有效的治疗手段。HUANG 等^[78] 通过建立 5/6 肾切除诱导的大鼠慢性肾衰模型,发现淫羊藿苷可以改善肾脏组织学形态和功能,增加肾脏干/祖细胞数量和调节肾发育相关基因表达。AN 等^[79] 发现淫羊藿苷可以改善氢化可的松 (HCl) 诱导的大鼠肾阳不足症,上调大鼠血浆中的 T4, 睾酮, 皮质酮和前阿片黑素细胞皮质激素 (proopiomelanocortin, POMC) mRNA 的表达, 下调血浆和下丘脑中促肾上腺皮质激素释放激素 (corticotropin releasing hormone, CRH) mRNA 的表达水平。揭示出淫羊藿苷可能通过 HPA 轴和内分泌系统治疗 HCl 诱导的大鼠肾阳不足证。

6.4 促进胚胎干细胞分化 横管系统是心脏和肌肉细胞兴奋收缩偶联的结构基础,亲联蛋白 2 (Junctophilin 2, JP2) 蛋白是连接着横管和肌质网的关键分子。研究结果显示,淫羊藿苷能够上调鼠类胚胎干细胞 (embryonic stem cells, ESCs) 中 JP2 蛋白, α -actinin 和肌钙蛋白 T 的水平,增加拟胚体的跳动面积^[80]。说明淫羊藿苷能够通过增加 JP2 蛋白和改善 Ca²⁺ 功能促进 ES 定向分化成心肌细胞。ZHOU 等^[81] 发现敲除磷脂酰肌醇 3-激酶增强子 (phosphatidylinositol 3-kinase enhancer, PIKE) 基因后可以减弱 PIKE 和 PI3K 表达并阻断淫羊藿苷诱

导 ES 向心肌分化作用。因此,PIKE 可能是淫羊藿苷诱导 ES 分化成心肌细胞的潜在机制之一。

7 小结与展望

淫羊藿苷作为淫羊藿中的主要活性成分,具有广泛的药理作用和生物活性,其神经保护作用涉及 Wnt, PI3K/Akt, MEK/ERK, BDNF/TrkB/Akt 和 NF- κ B 等通路;骨保护作用涉及 ER α -Wnt/ β -catenin, ERK/p38 MAPK, PI3K-Akt-eNOS-NO-PKG, RhoA-TAZ, NF- κ B, cAMP/PKA/CREB 和 PI3K/Akt/GSK3 β / β -catenin 等通路;心血管保护作用涉及 ERK/JNK, p38 和 eNOS/NO 等通路;改善生殖系统功能涉及 ERK1/2 和 PI3K/Akt/eNOS/NO 等通路;抗肿瘤作用涉及 PI3K/Akt, STAT3 和 JAK2/STAT3/5 等通路。上述结果表明淫羊藿苷的分子机制错综复杂并存在交互作用 (crosstalk)。已证实的与淫羊藿苷相关的靶点有 ER α 和 PDEs,但是是否还有其他靶点尚不明确。另外淫羊藿苷在多个通路中存在的交互作用还需深入探究。

在药理学实验中,发现淫羊藿苷在体内和体外研究中所展现出的药理作用存在一定的差异性。这些结果提示,除了孤立的研究淫羊藿苷的靶点和机制外,还应从淫羊藿苷的 ADME 过程、基因转录、蛋白表达、代谢调控等不同的层面,采用转录组学、蛋白组学、靶向代谢组学等新技术进行探索,全方位阐释药物分子药理学作用机制,加快药物研究进程。

[参考文献]

- [1] 江苏新医学院. 中药大辞典 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1986: 2250-2253.
- [2] MA H, HE X, YANG Y, et al. The genus Epimedium: an ethnopharmacological and phytochemical review [J]. J Ethnopharmacol, 2011, 134(3): 519-541.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 306-307.
- [4] LI C, LI Q, MEI Q, et al. Pharmacology effects and pharmacokinetics properties of icariin, the major bioactive component in Herba Epimedii [J]. Life Sci, 2015, 126: 57-68.
- [5] YANG P, GUAN Y Q, LI Y L, et al. Icariin promotes cell proliferation and regulates gene expression in human neural stem cells *in vitro* [J]. Mol Med Rep, 2016, 14(2): 1316-1322.
- [6] LI X A, Ho Y S, CHEN L, et al. The protective effects of icariin against the homocysteine-induced neurotoxicity in the primary embryonic cultures of rat cortical neurons

- [J]. *Molecules*, 2016, 21(11): E1557.
- [7] XU A L, JIANG M C, CHEN X H, et al. Icariin protects against MPP⁺-induced neurotoxicity in MES23.5 cells [J]. *Acta Physiol Sin*, 2016, 68(5): 585-591.
- [8] ZHANG Y, YIN L, ZHENG N, et al. Icariin enhances remyelination process after acute demyelination induced by cuprizone exposure [J]. *Brain Res Bull*, 2017, 130: 180-187.
- [9] CHEN W F, WU L, DU Z R, et al. Neuroprotective properties of icariin in MPTP-induced mouse model of Parkinson's disease; involvement of PI3K/Akt and MEK/ERK signaling pathways [J]. *Phytomedicine*, 2017, 25: 93-99.
- [10] WANG G Q, LI D D, HUANG C, et al. Icariin reduces dopaminergic neuronal loss and microglia-mediated inflammation *in vivo* and *in vitro* [J]. *Front Mol Neurosci*, 2018, doi: 10.3389/fnmol.2017.00441.
- [11] ZHANG D, WANG Z, SHENG C, et al. Icariin prevents amyloid beta-induced apoptosis via the PI3K/Akt pathway in PC-12 cells [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2015, doi: 11.1155/2015/235265.
- [12] CHEN Y, HAN S, HUANG X, et al. The protective effect of icariin on mitochondrial transport and distribution in primary hippocampal neurons from 3 × Tg-AD mice [J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(2): E163.
- [13] SHENG C, XU P, ZHOU K, et al. Icariin attenuates synaptic and cognitive deficits in an A β -42-induced rat model of Alzheimer's disease [J]. *Biomed Res Int*, 2017, doi: 10.1155/2017/7464872.
- [14] CHEN Y J, ZHENG H Y, HUANG X X, et al. Neuroprotective effects of icariin on brain metabolism, mitochondrial functions, and cognition in triple-transgenic Alzheimer's disease mice [J]. *CNS Neurosci Ther*, 2016, 22(1): 63-73.
- [15] ZHANG Z Y, LI C, ZHANG C, et al. Icariin ameliorates neuropathological changes, TGF- β_1 accumulation and behavioral deficits in a mouse model of cerebral amyloidosis [J]. *PLoS One*, 2014, 9(8): e104616.
- [16] WEI K, XU Y, ZHAO Z, et al. Icariin alters the expression of glucocorticoid receptor, FKBP5 and SGK1 in rat brains following exposure to chronic mild stress [J]. *Int J Mol Med*, 2016, 38(1): 337-344.
- [17] GONG M, HAN B, WANG S, et al. Icariin reverses corticosterone-induced depression-like behavior, decrease in hippocampal brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and metabolic network disturbances revealed by NMR-based metabolomics in rats [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2016, 123: 63-73.
- [18] LIU B, XU C, WU X, et al. Icariin exerts an antidepressant effect in an unpredictable chronic mild stress model of depression in rats and is associated with the regulation of hippocampal neuroinflammation [J]. *Neuroscience*, 2015, 294: 193-205.
- [19] ZHANG D, FONG C, JIA Z, et al. Icariin stimulates differentiation and suppresses adipocytic transdifferentiation of primary osteoblasts through estrogen receptor-mediated pathway [J]. *Calcif Tissue Int*, 2016, 99(2): 187-198.
- [20] ZHANG S, FENG P, MO G, et al. Icariin influences adipogenic differentiation of stem cells affected by osteoblast-osteoclast co-culture and clinical research adipogenic [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 88: 436-442.
- [21] LIU Y, HUANG L, HAO B, et al. Use of an osteoblast overload damage model to probe the effect of icariin on the proliferation, differentiation and mineralization of MC3T3-E1 cells through the Wnt/ β -Catenin signalling pathway [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 41(4): 1605-1615.
- [22] WANG Q S, ZHANG X C, LI R X, et al. A comparative study of mechanical strain, icariin and combination stimulations on improving osteoinductive potential via NF-kappaB activation in osteoblast-like cells [J]. *Biomed Eng Online*, 2015, 14: 46.
- [23] WANG Q S, WANG G F, LU Y R, et al. The combination of icariin and constrained dynamic loading stimulation attenuates bone loss in ovariectomy-induced osteoporotic mice [J]. *J Orthop Res*, 2017, doi: 10.1002/jor.23777.
- [24] XU J, YAO M, YE J, et al. Bone mass improved effect of icariin for postmenopausal osteoporosis in ovariectomy-induced rats; a Meta-analysis and systematic review [J]. *Menopause*, 2016, 23(10): 1152-1157.
- [25] LI G, WANG J, REN G, et al. Morphological observation on critical-sized cranial defect repaired by icariin and autologous concentrate growth factors in rabbits [J]. *Med Sci Monit*, 2017, 23: 2373-2381.
- [26] HONG C, YING Z, WEI Q, et al. Effect of icariin on fracture healing in an ovariectomized rat model of osteoporosis [J]. *Exp Ther Med*, 2017, 13(5): 2399-2404.
- [27] FU S F, LI Y, HAO H, et al. Wnt/ β -catenin signaling is involved in the Icariin induced proliferation of bone marrow mesenchymal stem cells [J]. *J Tradit Chin Med*, 2016, 36(3): 360-368.
- [28] WEI Q S, HE M C, CHEN M H, et al. Icariin stimulates

- osteogenic differentiation of rat bone marrow stromal stem cells by increasing TAZ expression [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 91:581-589.
- [29] WEI Q S, ZHANG J, HONG G J, et al. Icaritin promotes osteogenic differentiation of rat bone marrow stromal cells by activating the ER α -Wnt/ β -catenin signaling pathway [J]. *Biomed Pharmacother*, 2016, 84:931-939.
- [30] QIN S, ZHOU W, LIU S, et al. Icaritin stimulates the proliferation of rat bone mesenchymal stem cells via ERK and p38 MAPK signaling [J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(5):7125-7133.
- [31] ZHAI Y K, GUO X Y, GE B F, et al. Icaritin stimulates the osteogenic differentiation of rat bone marrow stromal cells via activating the PI3K-AKT-eNOS-NO-cGMP-PKG [J]. *Bone*, 2014, 66:189-198.
- [32] WANG J, TAO Y, PING Z, et al. Icaritin attenuates titanium-particle inhibition of bone formation by activating the Wnt/ β -catenin signaling pathway *in vivo* and *in vitro* [J]. *Sci Rep*, 2016, doi: 10.1038/srep23827.
- [33] LIU H, XIONG Y, ZHU X, et al. Icaritin improves osteoporosis, inhibits the expression of PPAR γ , C/EBP α , FABP4 mRNA, N1ICD and jagged1 proteins, and increases Notch2 mRNA in ovariectomized rats [J]. *Exp Ther Med*, 2017, 13(4):1360-1368.
- [34] YE Y, JING X, LI N, et al. Icaritin promotes proliferation and osteogenic differentiation of rat adipose-derived stem cells by activating the RhoA-TAZ signaling pathway [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 72(88):384-394.
- [35] HUANG J, BAO Y, XIANG W, et al. Icaritin regulates the bidirectional differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells through canonical wnt signaling pathway [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2017, doi: 10.1155/2017/8085325.
- [36] LIU N, ZHANG T, CAO B R, et al. Icaritin possesses chondroprotective efficacy in a rat model of dexamethasone-induced cartilage injury through the activation of miR-206 targeting of cathepsin K [J]. *Int J Mol Med*, 2018, 41(2):1039-1047.
- [37] WANG Z C, SUN H J, LI K H, et al. Icaritin promotes directed chondrogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells but not hypertrophy *in vitro* [J]. *Exp Ther Med*, 2014, 8(5):1528-1534.
- [38] SHI W, GAO Y, WANG Y, et al. The flavonol glycoside icaritin promotes bone formation in growing rats by activating the cAMP signaling pathway in primary cilia of osteoblasts [J]. *J Biol Chem*, 2017, 292(51):20883-20896.
- [39] HU J, MAO Z, HE S, et al. Icaritin protects against glucocorticoid induced osteoporosis, increases the expression of the bone enhancer DEC1 and modulates the PI3K/Akt/GSK3 β / β -catenin integrated signaling pathway [J]. *Biochem Pharmacol*, 2017, 136:109-121.
- [40] DENG X, WU W, LIANG H, et al. Icaritin prevents IL-1 β -induced apoptosis in human nucleus pulposus *via* the PI3K/AKT pathway [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2017, doi:10.1155/2017/2198323.
- [41] CAO H, ZHANG Y, QIAN W, et al. Effect of icaritin on fracture healing in an ovariectomized rat model of osteoporosis [J]. *Exp Ther Med*, 2017, 13(5):2399-2404.
- [42] WU Y, CAO L Y, XIA L, et al. Evaluation of osteogenesis and angiogenesis of icaritin in local controlled release and systemic delivery for calvarial defect in ovariectomized rats [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1):5077.
- [43] TANG D, JU C, LIU Y, et al. Therapeutic effect of icaritin combined with stem cells on postmenopausal osteoporosis in rats [J]. *J Bone Miner Metab*, 2018, 36(2):180-188.
- [44] ZHOU H, YUAN Y, LIU Y, et al. Icaritin attenuates angiotensin II induced hypertrophy and apoptosis in H9c2 cardiomyocytes by inhibiting reactive oxygen species dependent JNK and p38 pathways [J]. *Exp Ther Med*, 2014, 7(5):1116-1122.
- [45] REN Z H, KE Z P, LUO M, et al. Icaritin protects against ischemia reperfusion injury in H9C2 cells by upregulating heat shock protein 20 [J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17(2):3336-3343.
- [46] SONG Y H, CAI H, ZHAO Z M, et al. Icaritin attenuated oxidative stress induced-cardiac apoptosis by mitochondria protection and ERK activation [J]. *Biomed Pharmacother*, 2016, 71(83):1089-1094.
- [47] QIAN Z, WANG Y, LI Y, et al. Icaritin prevents hypertension-induced cardiomyocyte apoptosis through the mitochondrial apoptotic pathway [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 88:823-831.
- [48] HU Y, LIU K, YAN M, et al. Effects and mechanisms of icaritin on atherosclerosis [J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(3):3585-3589.
- [49] XIAO H B, SUI G G, LU X Y. Icaritin improves eNOS/NO pathway to prohibit the atherogenesis of apolipoprotein E-null mice [J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2016, 95(6):625-633.
- [50] WANG Y, WANG Y S, SONG S L, et al. Icaritin inhibits atherosclerosis progress in Apoe null mice by downregulating CX3CR1 in macrophage [J]. *Biochem*

- Biophys Res Commun, 2016, 470(4):845-850.
- [51] ZHANG W, BAI X, ZHENG X, et al. Icariin attenuates the enhanced prothrombotic state in atherosclerotic rabbits independently of its lipid-lowering effects [J]. *Planta Med*, 2013, 79(9):731-736.
- [52] LU Y F, XU Y Y, JIN F, et al. Icariin is a PPAR α activator inducing lipid metabolic gene expression in mice [J]. *Molecules*, 2014, 19(11):18179-18191.
- [53] SHEN R, DENG W, LI C, et al. A natural flavonoid glucoside icariin inhibits Th1 and Th17 cell differentiation and ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis [J]. *Int Immunopharmacol*, 2015, 24(2):224-231.
- [54] WEI Y, LIU B, SUN J, et al. Regulation of Th17/Treg function contributes to the attenuation of chronic airway inflammation by icariin in ovalbumin-induced murine asthma model [J]. *Immunobiology*, 2015, 220(6):789-797.
- [55] QIAO J, SUN S, YUAN L, et al. Effects of icariin on asthma mouse model are associated with regulation of prostaglandin D2 level [J]. *Allergol Immunopathol (Madr)*, 2017, 45(6):567-572.
- [56] LI B, DUAN X, XU C, et al. Icariin attenuates glucocorticoid insensitivity mediated by repeated psychosocial stress on an ovalbumin-induced murine model of asthma [J]. *Int Immunopharmacol*, 2014, 19(2):381-390.
- [57] JIN F, GONG Q H, XU Y S, et al. Icariin, a phosphodiesterase-5 inhibitor, improves learning and memory in APP/PS1 transgenic mice by stimulation of NO/cGMP signalling [J]. *Int J Neuropsychopharmacol*, 2014, 17(6):871-881.
- [58] DING J, TANG Y, TANG Z, et al. Icariin improves the sexual function of male mice through the PI3K/AKT/eNOS/NO signalling pathway [J]. *Andrologia*, 2018, doi: 10.1111/and.12802.
- [59] NAN Y, ZHANG X, YANG G, et al. Icariin stimulates the proliferation of rat Sertoli cells in an ERK1/2-dependent manner *in vitro* [J]. *Andrologia*, 2014, 46(1):9-16.
- [60] CHEN M, HAO J, YANG Q, et al. Effects of icariin on reproductive functions in male rats [J]. *Molecules*, 2014, 19(7):9502-9514.
- [61] ZENG L, RONG X F, LI R H, et al. Icariin inhibits MMP-1, MMP-3 and MMP-13 expression through MAPK pathways in IL-1 β -stimulated SW1353 chondrosarcoma cells [J]. *Mol Med Rep*, 2017, 15(5):2853-2858.
- [62] PAN L, ZHANG Y, CHEN N, et al. Icariin regulates cellular functions and gene expression of osteoarthritis patient-derived human fibroblast-like synoviocytes [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(12):E2656.
- [63] LI L, SUN J, XU C, et al. Icariin ameliorates cigarette smoke induced inflammatory responses via suppression of NF- κ B and modulation of GR *in vivo* and *in vitro* [J]. *PLoS One*, 2014, 9(8):e102345.
- [64] WANG Q S, WANG G F, ZHOU J, et al. Colon targeted oral drug delivery system based on chitosan/alginate microspheres loaded with icariin in the treatment of ulcerative colitis [J]. *Int J Pharm*, 2016, 515(1/2):176-185.
- [65] 李利生, 史源泉, 龚其海. 淫羊藿苷抗尿酸钠诱导的大鼠急性痛风性关节炎作用 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2017, 23(11):134-138.
- [66] 纪昕, 李伟皓, 王崇, 等. 淫羊藿苷对食管癌细胞 EC9706 增殖与凋亡的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2016, 22(3):143-147.
- [67] DI S, FAN C, YANG Y, et al. Activation of endoplasmic reticulum stress is involved in the activity of icariin against human lung adenocarcinoma cells [J]. *Apoptosis*, 2015, 20(9):1229-1241.
- [68] GU Z F, ZHANG Z T, WANG J Y, et al. Icariin exerts inhibitory effects on the growth and metastasis of KYSE70 human esophageal carcinoma cells via PI3K/AKT and STAT3 pathways [J]. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2017, 54:7-13.
- [69] LI J, JIANG K, ZHAO F. Icariin regulates the proliferation and apoptosis of human ovarian cancer cells through microRNA-21 by targeting PTEN, RECK and Bcl-2 [J]. *Oncol Rep*, 2015, 33(6):2829-2836.
- [70] SUN Y, SUN X H, FAN W J, et al. Icariin induces S-phase arrest and apoptosis in medulloblastoma cells [J]. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*, 2016, 62(4):123-129.
- [71] WANG D, XU W, CHEN X, et al. Icariin induces cell differentiation and cell cycle arrest in mouse melanoma B16 cells via Erk1/2-p38-JNK-dependent pathway [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(59):99504-99513.
- [72] YANG L, WANG Y, GUO H, et al. Synergistic anti-cancer effects of icariin and temozolomide in glioblastoma [J]. *Cell Biochem Biophys*, 2015, 71(3):1379-1385.
- [73] ZHANG Y, WEI Y, ZHU Z, et al. Icariin enhances radiosensitivity of colorectal cancer cells by suppressing NF- κ B activity [J]. *Cell Biochem Biophys*, 2014, 69(2):303-310.
- [74] SHI D B, LI X X, ZHENG H T, et al. Icariin-mediated inhibition of NF- κ B activity enhances the *in vitro* and *in*

- in vivo* antitumour effect of 5-fluorouracil in colorectal cancer [J]. Cell Biochem Biophys, 2014, 69 (3) : 523-530.
- [75] WANG Z, ZHANG H, DAI L, et al. Arsenic trioxide and icariin show synergistic anti-leukemic activity [J]. Cell Biochem Biophys, 2015, 73 (1) : 213-219.
- [76] ZHANG H, LI P, LI J, et al. Icariin induces apoptosis in acute promyelocytic leukemia by targeting PIM1 [J]. Pharmacol Rep, 2017, 69 (6) : 1270-1281.
- [77] WANG Z, YANG L, XIA Y, et al. Icariin enhances cytotoxicity of doxorubicin in human multidrug-resistant osteosarcoma cells by inhibition of ABCB1 and down-regulation of the PI3K/Akt pathway [J]. Biol Pharm Bull, 2015, 38 (2) : 277-284.
- [78] HUANG Z, HE L, HUANG D, et al. Icariin protects rats against 5/6 nephrectomy-induced chronic kidney failure by increasing the number of renal stem cells [J]. BMC Complement Altern Med, 2015, doi: 10. 1186/s12906-015-0909-8.
- [79] AN R, LI B, YOU L, et al. Improvement of kidney yang syndrome by icariin through regulating hypothalamus-pituitary-adrenal axis [J]. Chin J Integr Med, 2015, 21 (10) : 765-771.
- [80] LIANG X, HONG D, HUANG Y, et al. Icariin promotes expression of junctophilin 2 and Ca²⁺ related function during cardiomyocyte differentiation of murine embryonic stem cells [J]. Pharmazie, 2015, 70 (12) : 804-809.
- [81] ZHOU L, ZHENG B, TANG L, et al. Involvement of PIKE in icariin induced cardiomyocyte differentiation from murine embryonic stem cells [J]. Pharmazie, 2014, 69 (3) : 198-202.

[责任编辑 周冰冰]