

异黄酮类植物雌激素依扑拉芬对骨代谢的作用

韩祖斌 林华 邓思清 李宗桃

在澳洲人们早就注意到,放牧在以三叶草(clover)为主的牧场上的母绵羊,生育力下降,产羔率低。后 Bennett 鉴定出该草含有雌激素样物质。按流行病学调查研究东方人患乳腺癌、结肠癌的发病率低于西方人,并发现东方人的排泄物(尿、粪)中植物雌激素的含量较西方人高10~20倍^[1],故认为东方人饮食结构中含有丰富的植物雌激素(Phytoestrogen)所致。此后在畜牧业中对植物雌激素,进行了较深入研究,并获得可喜的成果。1960年代在牧草(苜蓿)中,发现了异黄酮类化合物的衍生物依扑拉芬,并已人工合成^[2]。研究证明依扑拉芬对心血管、内分泌等方面有独特作用,且有抑制骨吸收,促进骨形成等有益的骨代谢作用,对骨质疏松症有临床防治功效^[3]。为此对植物雌激素、异黄酮类植物雌激素和依扑拉芬作一系统简介如下。

1 植物雌激素

天然雌激素是指由人或哺乳动物分泌的一种含有18个碳原子的甾体化合物,在人及哺乳动物的生殖调控中起重要作用,它的合成和分泌受腺垂体分泌的促性腺激素支配。相对于腺体分泌的天然雌激素,人们把外界存在的雌激素或雌激素样化合物统称为外源性雌激素(Xerogenous estrogen)。按其来源,外源性雌激素有3类:(1)人工合成的雌激素,如乙烯雌酚、乙蔗酚等。(2)环境中雌激素样化合物,如 PcBS(多氯联苯)和 DDT(滴滴涕)等。可在环境中长期存在,污染环境,对人及动物有危害。(3)植物雌激素是非甾体、具弱雌激素样生物活性的、有

的能与雌激素受体结合的一种物质。在较高级或较低级植物中均能合成,广泛存在于动物或人类摄入的各种植物中。按其分子结构,概括有4大类^[4,5]:(1)异黄酮类有大豆黄酮(Daidzein),芒柄花素(Formononetin),染料木素(Genistein),美皂异黄酮(Biochanine)和依扑拉芬。(2)香豆素类(Coumestans)。(3)霉菌类(Mycoestrogen)。(4)哺乳动物性木脂素类(Mammalian lignans),主要存在于谷物中,作为前体物质,食入肠道经细菌活化成有性激素活性化合物。主要的植物雌激素是异黄酮类和木脂素类^[6],它们广泛分布于植物中,如牧草、人畜食粮(小麦、稻、玉米)、豆类及蔬菜水果中。

2 异黄酮类植物雌激素

人和哺乳动物皆分泌雌激素,如雌二醇,雌酮及雌三醇等,属固醇类(即甾体)激素。雌二醇分子式的 C₃和 C₁₇位各有一羟基;异黄酮和黄酮类化合物是由一个异环化合物名吡喃(Pyran)的将二个酚环连结在一起,形成一个骨架,两个酚环的 C₇和 C'₄位各有一对对应于雌二醇 C₃和 C₁₇位的羟基;而且异黄酮类化合物 C₇和 C'₄位的距离几乎等于雌二醇 C₃和 C₁₇间距离。目前认为这种相似的结构,可以解释异黄酮类化合物的弱雌激素活性的生物学效应^[2,4]。见图1。

异黄酮中染料木素的植物雌激素活性和雌激素受体结合力最强,大豆黄酮结合力次之,芒柄花素垫后,美皂异黄酮无结合力,但有弱雌激素活性^[2]。异黄酮类化合物分子结构中甲基的改变,可以降低其雌激素活性。如在瘤胃中经微生物作用,芒柄花素脱甲基后成为大豆黄酮,其植物雌激素活性是芒柄花素的10倍左右,美皂

作者单位:210008 南京大学医学院附属鼓楼医院骨科
(韩祖斌,林华);武汉滨湖制药厂(邓思清,李宗桃)

异黄酮脱甲基降解为染料木素,大大增强雌激素活性和与受体结合的亲和力^[4]见表1。

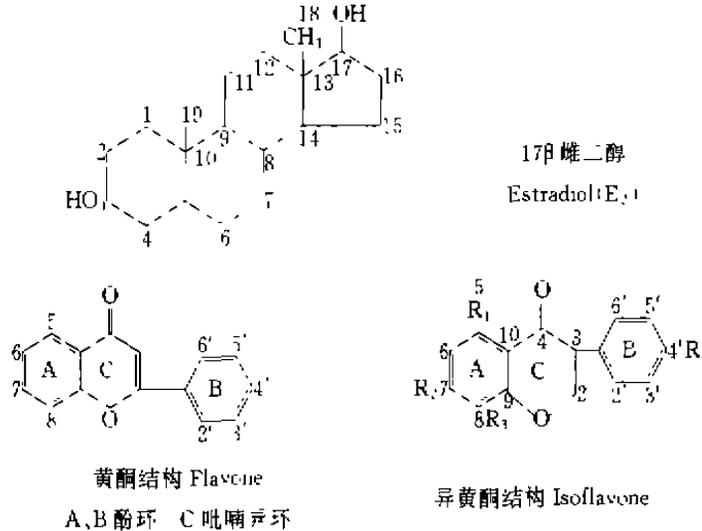


图1 雌二醇、异黄酮及黄酮分子结构

表1 异黄酮主要化合物结构

类别	结构			
化合物	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
大豆黄素	H	OH	H	OH
染料木素	OH	OH	H	OH
美皂异黄酮	OH	OH	H	OCH ₃
芒柄花素	H	OH	H	OCH ₃
依扑拉苄	H	$\begin{matrix} \text{CH}_3 \\ \\ \text{HC} \\ \\ \text{CH}_3 \end{matrix}$	H	H

香豆素和霉菌类的结构也有两个酚环和相应的羟基,故它们亦有植物雌激素活性。异黄酮类化合物位 C₇ 和 C_{4'} 的羟基一般是不易改变的,染料木素在 A 环 C₅ 位多一羟基,此可能是其活性最强的原因。若羟基超过4个,则雌激素活性将会消失^[7]。植物雌激素与雌激素受体结合力低于雌二醇与受体的结合力。因此植物雌激素与受体结合形成的复合物极不稳定,也甚少与细胞内 DNA 结合,这种不稳定和弱转化能力,因不同的异黄酮化合物而有不同。其自强至弱的排列次序为:霉菌类、香豆素类、染料木素、大豆黄酮、根皮素、芒柄花素和美皂异黄酮^[8]。

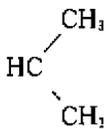
异黄酮类化合物是人和动物的主要食物,有的已作为药物,用于临床。它有广泛的生物效应,如防癌、降血脂、抗动脉粥样硬化和改善妇女更年期综合症等。由于异黄酮与17β雌二醇

有相似结构,在实验研究中,皆证明它是一种弱雌激素,能与内源性雌激素受体相结合,发挥雌激素效应,在内源性雌激素水平较低时,它表现为雌激素促效剂(estrogenic agonist)作用;在竞争结合试验中,它对雌激素受体的表现平衡解离常数比雌二醇和己烯雌醇高100~10000倍,因此其雌激素生物效应仅为雌二醇或己烯雌醇的1×10⁻³~1×10⁻⁵倍,所以体内雌激素水平较高时,它占有雌激素受体表现出抗雌激素(estrogenic antagonist)^[4]作用。青年妇女服含异黄酮的大豆分离蛋白,每日45克,月经周期推迟1.5天,卵泡相延长2.5天,黄体相缩短1天,表现出抗雌激素活性。而对自然或手术绝经妇女,大豆异黄酮显示出雌激素样作用。在动物实验研究,用含大豆分离蛋白22.7%饲料喂养95日龄大鼠一个月,股骨密度增加约17%,L₄密度增加13%,认为大豆粉中所含异黄酮是抗骨质疏松的关键物质。随后测出大豆制品中含大豆黄酮多,如大豆粉为2014 μg/g,豆腐531 μg/g,大豆速溶饮料含1918 μg/g。豆制品经微生物发酵,将大豆黄酮前体物转化为有生物活性的大豆黄酮,作为食物摄入人体,有益人体保健作用。由于已有许多人长期食用大豆食品,证明从食物摄入的异黄酮的量,完全无毒性,这些来源于植物的异黄酮,亦属天然产物,无任何不良反应。Wolf^[6]提出有患乳腺癌危险因素者或乳腺

癌术后,或有心血管病危险者,推荐每日食入蔬菜或豆制品不少于30克。可见大豆异黄酮的生物作用受到人们关注,对低雌激素水平者,它表现为促效作用,可用以治疗更年期综合症,骨质疏松症等;对高雌激素水平者它表现为抗雌激素作用,有望于防治乳腺癌、子宫内膜癌、前列腺和直肠肿瘤等^[9]。中国是大豆生产大国,如何利用此资源为国民健康服务,是极待开拓研究的课题。

3 依扑拉芬对骨代谢的作用

依扑拉芬(Ipriflavone, Ipr)是异黄酮类化合物的衍生物。对应于雌激素 C₁位羟基被



替代,故分子结构中无羟基,此可能

是其无雌激素作用的原因。70年代动物实验研究,口服 Ipr 能增加骨中总钙量,因此被用来治疗骨质疏松症。1980年代完成2 000余人有关 Ipr 临床治疗的整体安全性、药代动力学和剂量等项中,没有发现主要系统危害性。在意大利、匈牙利、日本等国已采用 Ipr 治疗骨质疏松症。国内湖北滨湖制药厂合成了 Ipr,经检测与进口 Ipr 各项药动力学参数非常接近,统计学分析差异无显著性($P > 0.05$)^[10]。

3.1 Ipr 抑制骨吸收作用 许多体外细胞学研究,均证明 Ipr 能有效抑制骨吸收。在人克隆前破骨细胞系 FLG29.1 上有特异的结合部位和直接的生物作用。Ipr 及其代谢产物抑制这些细胞的分化、增殖,也抑制成熟破骨细胞的募集和释放 IL-6 的能力^[11]。绝经后 50~65 岁妇女,经双盲、随机、对比研究中,经 Ipr 600 mg,分 3 次口服,经 1~2 年观察, Ipr 组均增加骨密度,尿羟脯氨酸/肌肝(HOP/Cr)值明显降低;对照组骨密度减低, HOP/Cr 值升高,说明 Ipr 明显降低骨转换,抑制骨吸收作用^[11-13]。Ipr 抑制骨吸收机制的原因,未完全明白,现多认为 Ipr 提高甲状腺对雌激素的敏感性,实验证明 Ipr 使鼠的甲状腺中 C 细胞分泌、合成降钙素

的能力增强,达到抑制破骨细胞的生成和活性,促进钙盐沉积^[2]。单独应用 Ipr 不影响血浆降钙素水平。Ipr 与雌激素合用,降钙素在血浆中水平,大大高于单独应用雌激素水平。Brandi^[2]临床研究每日服用 600 mg Ipr,同时服 0.3 mg 结合雌激素(此剂量单独应用,不能防止骨丢失),可以明显增加骨矿盐密度。Melis^[2]将 133 名绝经后妇女,随意分成 5 组,所有病人实验前及后 6 个月、12 个月,分别用 DPA 测量 BMD。在安慰剂组及单纯用雌激素组, BMD 均有中等度减少; Ipr 合用结合雌激素组 BMD 均有增加,以 Ipr 合用 0.30 mg 结合雌激素组 BMD 增加明显($P < 0.01$)。说明 Ipr 防止骨丢失,同时小剂量结合雌激素控制了更年期症状,因此减少了用雌激素的危险性。再用 Ipr 与雌激素合用于去卵巢大鼠,增加雌激素对子宫的营养作用,合用 6 小时即出现,认为 Ipr 直接作用于雌激素靶器,提高其敏感性所致^[2]。

3.2 促进骨形成作用 石明健等^[13]观察 Ipr 可使去卵巢鼠的尿钙排出减少,碱性磷酸酶活性增加,也增加血清骨钙素水平;增加股骨远端骨密度、骨干皮质厚度,皮质密度、骨干髓质密度及骨密度;增加骨干重、灰重和骨钙含量等改善鼠的骨质疏松现象。Civitelli^[14]体外用人成骨细胞模型研究, Ipr 及其代谢产物能刺激模型中细胞产生唾液酸蛋白、去角蛋白、I 型胶原,且促进基质矿化,这皆证明 Ipr 有促进成骨作用。对骨髓基质细胞的人骨祖细胞培养发现, Ipr 及其代谢产物诱导骨祖细胞向成骨细胞分化和刺激基质矿化作用的进行。Mazzuoli^[11]在多中心,进行了双盲、随机、对比临床研究中,对 50~65 岁绝经后骨质疏松妇女,口服 Ipr 200 mg,一日 3 次,明显增加脊柱骨密度。另一些报告证明对周围骨亦增加骨密度。骨密度增加,骨量及强度也增加,绝经后妇女脊柱骨折的危险性降低了 50%^[15]。

3.3 对其他代谢性骨病的影响 Agnusdei^[16]将 16 例活动性畸形性骨炎(Paget 病)患者,分成 2 组; A 组 9 例,先日服 3 次 Ipr,每次 400 mg 30

天,休息15天后,再日服3次 Ipr,每次200 mg 30天;B组7例先日服3次 Ipr,每次200 mg,休息15天后,再日服3次,每次400 mg 30天。服药前后查 ALP、尿 HOP/Cr。A组分别降33% ($P < 0.01$)和24.1% ($P < 0.05$);B组分别降32%和25.6%。所有病人疼痛缓解,A组更为显著。说明 Ipr 对 Paget 病能控制其活动期的生化指标和抑止疼痛。Mazzuoli^[17]用 Ipr 21天,日服3次、每次400 mg,治疗9例原发性副甲亢患者(男3女6)中5例延长服药至42天。所有病人的血、尿检查的各种参数均证明 Ipr 抑制骨吸收,而不影响骨形成。故认为 Ipr 可用以治疗以骨吸收为主的、骨转换率高的骨代谢性疾病。

3.4 对骨组织在力学上的影响 Ipr 使骨组织在力学上强度增加,Civitelli^[14]给12周龄雄鼠服 Ipr 1个月,检测其股骨机械特性,骨矿成分及结晶等。雄鼠股骨受振动时,振动衰减变缓,这因骨质疏松时,骨组织孔隙多,骨阻尼随之增加;Ipr 治疗后,骨密度增加而孔隙减少,骨阻尼随之减少,能有效的获得抵抗应力的能力,振动衰减因之变缓。使服 Ipr 鼠股骨折断所需的应力较未服用 Ipr 者所需致股骨折断的应力增加1.5倍。Ipr 增加了骨密度,改善了骨的机械特性,而骨盐成分和结晶均无改变。

参 考 文 献

- 1 王国杰,韩正康.植物异黄酮研究新进展.天然产物研究与开发,1994,6(3):81.
- 2 Brandi ML. Ipriflavone *in vitro* and *in vivo* effect on bone metabolism. Osteoporosis, 1996,1335-1344.
- 3 苗慧.异黄酮化合物的药理作用.国外医学药理学分册,1989,19:355.
- 4 刘根桃.异黄酮植物雌激素研究概况.南京农业大学博士学位论文,1996,20-26.

- 5 郑元林.β-肾上腺素能激动剂和异黄酮植物雌激素对肝脏内分泌及生长代谢影响的研究.南京农业大学博士学位论文,1996,20-26.
- 6 Wolf AS. Phytoestrogen. J Med Assoc Thal, 1998,81 (Suppl 1):49.
- 7 Miksicek RJ. Estrogenic flavonoids: structural requirements for biological activity. Proc Soc Exp Biol Med, 1995,204:44.
- 8 Draper CR, Edel MJ, Dick IM, et al. Phytoestrogens reduce bone loss and bone resorption in oophorectomized rats. J Nutr, 1997,127:1795.
- 9 郑高利.大豆异黄酮的药理作用(I、II).中国现代应用药学,1998,15(1-2):4,9.
- 10 刘忠厚主编.骨质疏松学.北京:科学出版社,1998:271-280.
- 11 Mazzuoli GF. Inhibitory effect of ipriflavone on vertebral bone mass loss in postmenopausal women with low bone mass. Amsterdam World Congress on Osteoporosis, 1996.
- 12 Melis GB, Paeletti AM, Bartolini R, et al. Ipriflavone and low doses of estrogen in the prevention of bone mineral loss in climacterium. Bone Miner, 1992, 19 (Supple):49-56.
- 13 石明健,刘维尧,李宗桃,等.依扑拉芬对摘除卵巢所致大鼠骨质疏松的作用.中国骨质疏松杂志,1996,2(1):70.
- 14 Civitelli R. *In vitro* and *in vivo* effects of ipriflavone on bone formation and bone biomechanics. Amsterdam World Congress on Osteoporosis, 1996.
- 15 曾珍,王自正,李宗桃,等.国产依扑拉芬在健康人体中的生物利用度及药动力学研究.中国骨质疏松杂志,1996,2(4):30.
- 16 Agnusdei D, Campreale A, Gonnellis, et al. Short-term treatment of Paget's disease of bone with ipriflavone. Bone Miner, 1992,19(Supple):35-42.
- 17 Mazzuoli GF, Romagnoli E, Carnevale V, et al. Effects of ipriflavone on bone remodeling in primary hyperparathyroidism. Bone Miner, 1992,19(Suppl):27-33.