

比较以不同品质的羊脂油炙淫羊藿的温肾阳作用

李寅超^{1,2}, 何永侠², 孙曼², 黄兰岚¹, 陈慧芳², 谷艳², 李娆娆^{1*}

(1. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700; 2. 郑州大学药学院, 郑州 450001)

[摘要] 目的: 对比以不同品质的羊脂油炙淫羊藿对肾虚证小鼠的温肾阳作用。方法: 采用肌肉注射(im)大剂量氢化可的松建立肾虚证小鼠模型。以生品淫羊藿和不同品种(山羊、绵羊)、不同性别(公、母绵羊)、不同部位(绵羊肚子、尾巴油)的 6 种羊脂油炙淫羊藿为供试品以淫羊藿总黄酮为阳性对照, 加设阴性和模型对照。造模同时给药, 其中阴性和模型对照组小鼠 ig 等体积的生理盐水(N.S), 阳性对照组小鼠 ig 淫羊藿总黄酮提取物 $0.46 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ (含淫羊藿总黄酮 $0.23 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$), 各供试品组小鼠 ig 剂量相当于生药 $18 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, ig 容量均为 $15 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$, 1 次 $\cdot \text{d}^{-1}$, 连续 9 d。以肾虚小鼠症状体征(体重、体表温度、自主活动次数), 动物抓力、凝血时间, 血清超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)含量为指标, 考察各供试品对肾虚证小鼠的影响。结果: 与阴性对照组比较, 模型对照组小鼠体重、体表温度、自主活动、血清 SOD 含量显著下降, MDA 含量升高, 差异均有显著性(均 $P < 0.01$), 此外, 抓力和凝血时间亦呈降低趋势, 提示造模是成功的。与模型对照组比较, 各供试品明显延缓或抑制小鼠体重下降(惟山羊油炙淫羊藿对体重减轻的抑制作用不明显), 提高小鼠体表温度, 增加小鼠自主活动次数, 差异均有显著性($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$); 各供试品均可提高小鼠血清 SOD 水平、降低 MDA 含量, 其中, 以山羊油、绵羊油、肚子油、尾巴油炙淫羊藿作用显著($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$); 各供试药组小鼠抓力呈增强趋势, 但无统计学显著性; 除绵羊油炙淫羊藿具有延长模型小鼠凝血时间的作用趋势外, 其余各组未见明显影响。与生品比, 6 种不同品质的羊脂油炙淫羊藿均可不同程度地改善肾虚证(如体重下降、自主活动减少、抓力下降)的虚弱状态, 差异多具有显著性; 而各炙品之间在温肾阳作用上有一定差异, 但是差异多不具有显著性。结论: 炙淫羊藿炮制品温肾阳作用优于生品淫羊藿; 不同品质的羊脂油对炙淫羊藿的温肾阳药效有一定影响, 但差异多不具有显著性。

[关键词] 羊脂油炙淫羊藿; 不同品质的羊脂油; 肾虚; 对比研究

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)19-0197-06

[doi] 10.11653/syfj2013190197

Study on Warming Kidney Yang Effect of Epimedii Folium Processed by Different Quality of Oils from *Capra hircus* or *Ovis aries*

LI Yin-chao^{1,2}, HE Yong-xia², SUN Man², HUANG Lan-lan¹, CHEN Hui-fang², GU Yan², LI Rao-rao^{1*}

(1. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;

2. Pharmaceutical Department of Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China)

[Abstract] **Objective:** To explore different effects in Epimedii Folium processed pieces which processed by different quality oils from *Capra hircus* L. or *Ovis aries* L. on kidney-yang deficiency syndrome mice. **Method:** The kidney Yang deficiency syndrome mice model was established that mice were intramuscular injected (im) large dose of hydrocortisone. Crude drug and 6 kinds of pieces processed by different quality of oils, such as oil from *C. hircus* or *O. aries*, oil in abdominal or tail, oil from rams or ewes, were used as test group. The total flavonoids of Epimedium folium was used as positive control. Negative control group and model control group were also applied in the lab. The models were created and at the same time drugs were administered. The same volume normal saline

[收稿日期] 20130716(015)

[基金项目] 国家科技部科研院所社会公益研究专项(2005D1B1J169-01); 北京自然科学基金(7112097); 中国中医科学院自选课题(ZZ2009096)

[第一作者] 李寅超, 博士, 副教授, 硕士生导师, 从事中药药理与毒理研究, Tel: 0371-67732202, E-mail: lyehi@163.com

[通讯作者] * 李娆娆, 博士, 副研究员, Tel: 010-64014411-2975; E-mail: leeraorao@163.com

(NS) was given to negative control group and model control group by ig administration. The concentration of total flavonoid extracts was $0.46 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ and the content of total flavonoid was $0.23 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$. The extracts were given to positive control group. Doses were given to test groups were $18 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, which equivalent to the crude drug. Dosing volume was $15 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ for each group. Administration was one time a day for 9 days, successively. The signs and symptoms of kidney Yang deficiency mice, such as weight, temperature of animal's surface, number of independent activities, were used as index. Animal holding power, clotting time, contents of superoxide dismutase (SOD) and malondialdehyde(MDA) in serum were also used. The difference of effects between different samples on kidney Yang deficiency syndrome in mice were studied. **Result:** It was decreasing significantly for the weight, temperature of animal's surface, number of independent activities, contents of SOD and MDA in serum in model control group in contrast with negative control group and the difference was statistically ($P < 0.01$, in all). It was decreasing for the trend of animal holding power and clotting time. That means the model is successful. The test group can inhibit the decrease of weight, except the pieces processed by oil from *C. hircus* in contrast with model control group. The test group can increase the temperature and the number of activities, and all the difference were statistically ($P < 0.01$ or $P < 0.05$). The test group can increase the content of SOD and decrease the content of MDA, especially for the pieces processed by oils from *C. hircus* and from *O. aries*, oil in abdominal and in tail. There was statistical significance ($P < 0.01$ or $P < 0.05$). Otherwise, it was increase for the trend of holding power, but there was no statistical significance. It had the trend to extend clotting time only in the test group of pieces processed by oil from *O. aries*. The weak condition of kidney Yang deficiency syndrome in mice (including Yang) have been strongly improved by the processed pieces according in contrast with the crude drug. There are no significant difference between the processed pieces. **Conclusion:** The effect of processed pieces group is super to crude drug. The efficacy can be affected by the different quality of oils from *C. hircus* or *O. aries*, but there is no statistical significance.

[**Key words**] Epimedii Folium processed by the oil from *Capra hircus* or *Ovis aries*; different quality of oils; kidney Yang deficiency; comparative study

羊脂油来源于牛科动物山羊 *Capra hircus* Linnaeus 或绵羊 *Ovis aries* Linnaeus 的脂肪油,作为中药传统的炮制辅料,羊脂油炙淫羊藿可以增强淫羊藿的温肾助阳作用^[1]。羊脂油含有油酸、棕榈酸和硬脂酸等脂肪酸类成分。研究发现^[2-3],羊脂油脂肪酸类成分的组成和含量受羊的品种、性别和部位等因素的影响,品质有一定差异,且目前国家对作为炮制辅料的羊脂油尚未制定药用质量标准,造成各地炮制用羊脂油的取材范围宽泛,良莠不一。炮制辅料的品质直接影响炮制品的质量,那么究竟不同品质的羊脂油炙淫羊藿其温阳作用是否存在差别?应该选择什么样的羊脂油最好?本研究从药效学角度研究了源于羊的不同品种(山羊、绵羊)、不同性别(公、母绵羊)和不同部位(绵羊肚子、尾巴油)的 6 种羊脂油炙淫羊藿对肾阳虚小鼠的影响,分析比较其药效的强弱,判断和优选药效最佳的炮制品,为制定羊脂油药用辅料的质量标准提供参考。

1 材料

1.1 动物 昆明种小鼠,SPF 级,雄性,体重(28 ±

2)g,由军事医学科学院实验动物中心提供,动物生产许可证号 SCXK-(军)2007-004,动物质量合格证号 NO0010394,检疫并适应性喂养 3 d 后开始试验。小鼠用全价颗粒饲料(经⁶⁰Co 照射灭菌),购于河南省实验动物中心。采用 BJ-500 型无菌饮水器供小鼠饮水。动物饲养于郑州大学药学院 IVC 动物房,实验环境符合 GB14925-2001,实验动物使用合格证号 SYXK(豫)2007-0009。

1.2 受试药 淫羊藿生品及各炮制品由中国中医科学院中药研究所中药炮制研究中心提供,淫羊藿经本文作者鉴定为小檗科淫羊藿属的朝鲜淫羊藿 *Epimedium koreanum* Nakai 的干燥地上部分。羊脂油为牛科动物山羊 *Capra hircus* Linnaeus 或绵羊 *Ovis aries* Linnaeus 的脂肪油,均购自北京,分别为山羊脂肪油(山羊油)、绵羊脂肪油(绵羊油)、公绵羊脂肪油(公羊油)、母绵羊脂肪油(母羊油)、绵羊肚子脂肪油(肚子油)、绵羊尾巴脂肪油(尾巴油)。6 种不同品质的羊脂油炙淫羊藿包括:山羊油炙淫羊藿、绵羊油炙淫羊藿、公羊油炙淫羊藿、母羊油炙淫羊藿、

肚子油炙淫羊藿、尾巴油炙淫羊藿,均参照2010年版《中国药典》附录项下的炮制方法进行炮制。

炮制方法:取各羊脂油分别加热熔化,分别加入淫羊藿丝,用文火炒至均匀有光泽,取出,放凉。每淫羊藿100 kg,用炼羊脂油30 kg。

炙淫羊藿:各批炙淫羊藿样品,按干燥品计算,含淫羊藿苷和宝藿苷I的总量不得少于0.60% (《中国药典》2010年版)。

1.3 试剂 注射用氢化可的松琥珀酸钠(批号20080312,天津生物化学制药有限公司,临用前用注射用生理盐水配制成所需浓度),羧甲基纤维素钠(CMC-Na,分析纯,天津市科密欧化学试剂开发中心,批号20080828,配制成2%的水溶液,待冷却至室温置4℃冰箱备用)。淫羊藿总黄酮(含淫羊藿总黄酮50%,批号TY20080116,西安天园生物制剂厂,临用前用2% CMC-Na配成所需浓度)。丙二醛(MDA)试剂盒,批号20080604;超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒,批号20080604,均由南京建成生物科技有限公司提供。

1.4 仪器 IR25 笼一拖二型 IVC 独立送风隔离笼具(苏州市冯氏实验动物设备有限公司) FS-CJ-3F 型双人垂直净化工作台(苏州安泰空气技术有限公司), ATAY 型亚太电子天平(中外合资亚太计量仪器有限公司),热电偶(北京雅欣理仪科技有限公司)。YLS-1B 型多功能小鼠自主活动记录仪, YLS-13A 型大、小鼠抓力测定仪(山东省医学科学院设备维修供应站)。

2 方法

2.1 供试样品制备 取生品淫羊藿100 g,各批炙淫羊藿则按照生品折合比例称取。通过正交试验法确定煎煮工艺为煎煮3次,每次加水30倍,煎煮0.5 h。首煎前加30倍沸水浸泡1 h,合并3次煎液,滤过,浓缩至70.42 mL,相当于饮片1.42 g·mL⁻¹。

2.1 分组 雄性小鼠100只,准确称重,按体重随机分为10组,每组10只。分别为阴性对照组、模型对照组、阳性对照(淫羊藿总黄酮)组、淫羊藿生品组、山羊油炙淫羊藿组、绵羊油炙淫羊藿组、公羊油炙淫羊藿组,母羊油炙淫羊藿组,肚子油炙淫羊藿组,尾巴油炙淫羊藿组。

2.2 造模与给药 除阴性对照组小鼠后肢 im 等容量生理盐水外,其余各组小鼠均按5 mL·kg⁻¹ im 氢化可的松琥珀酸钠25 mg·kg⁻¹·d⁻¹,1次·d⁻¹,连续9 d,复制肾虚证模型^[4-6]。造模同时给药,其中阴

性和模型对照组小鼠 ig 等体积的生理盐水(N.S),淫羊藿总黄酮组小鼠 ig 淫羊藿总黄酮提取物0.46 g·kg⁻¹(含淫羊藿总黄酮0.23 g·kg⁻¹),其余各组参照文献[7]临床成人(按60 kg计算)治疗常用剂量30 g·d⁻¹,换算成小鼠 ig 剂量,约相当于生药18 g·kg⁻¹,该剂量约为临床用量的36倍。ig 容量均为15 mL·kg⁻¹,1次·d⁻¹,连续9 d。禁食(不禁水)12 h后处理动物。

2.3 观察内容及检测指标 造模前,准确称量每只小鼠体重、检测体表(小鼠膻中部心尖搏动处皮肤)温度和5 min内小鼠自主活动次数,造模开始后,每3天检测1次体重、体温和自主活动。末次给药1 h后,测试各组小鼠体温、自主活动和抓力,用毛细玻璃管法^[8]检测小鼠凝血时间,眶后静脉丛取血,测定血清SOD活力和MDA含量^[8]。自主活动次数和抓力实验环境温度控制在(20±2)℃。

2.4 统计方法 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用多重方差分析,用SPSS 13.0统计软件处理。 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

3 结果

3.1 对肾虚小鼠体重的影响 结果显示,阴性对照组小鼠在给药前后(1~9 d内)体重增加(+)6.13 g左右,而经氢化可的松处理的模型对照组小鼠体重9 d内平均下降(-)1.27 g;与阴性对照组比较,模型对照组小鼠自造模6 d始至9 d时体重下降显著($P < 0.01$);在给药9 d时,绵羊油、公羊油、母羊油、肚子油和尾巴油炙淫羊藿均具有延缓氢化可的松所致小鼠体重下降的作用,与模型对照组比较差异显著($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。从9 d~1 d的体重差值看,除山羊油炙淫羊藿组外,其余各炙淫羊藿组体重均较生品淫羊藿组有不同程度的增加,尤以尾巴油炙淫羊藿组增重(+3.16 g)更为明显。本实验条件下,山羊油炙淫羊藿延缓或抑制氢化可的松所致小鼠体重下降的作用不明显。见表1。

3.2 对肾虚小鼠体表温度的影响 结果显示,在造模3,6,9 d时,与阴性对照组比较,模型对照组小鼠体表温度均下降显著($P < 0.01$);与模型对照组比较,各给药组均能明显改善模型小鼠形寒肢冷的体征,使小鼠体表温度向正常回升($P < 0.01$ 或0.05);但各给药组组间差异无显著性意义。见表2。

3.3 对肾虚小鼠自主活动次数的影响 结果显示,造模3~9 d,模型对照组小鼠自主活动呈明显下降趋势,与阴性对照组,差异有显著性意义($P < 0.01$)。在给药6 d时,绵羊油、母羊油、肚子油和尾巴

表 1 6 种不同品质的羊脂油炙淫羊藿对肾阳虚小鼠体重的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	体重/g					体重差值(d ₀ - d ₁)
		1 d	3 d	6 d	9 d		
阴性对照	-	28.00 ± 1.69	31.55 ± 2.84	32.54 ± 2.36	34.13 ± 2.50	+6.13	
模型对照	-	27.62 ± 1.70	28.90 ± 1.02	27.50 ± 2.36 ²⁾	26.35 ± 0.95 ²⁾	-1.27	
淫羊藿总黄酮	0.23	27.04 ± 1.44	28.41 ± 1.90	29.06 ± 2.02	30.41 ± 2.39 ⁴⁾	+3.37	
生品淫羊藿	18	28.15 ± 1.34	29.24 ± 2.48	28.99 ± 3.14	29.31 ± 2.58 ³⁾	+1.16	
山羊油炙淫羊藿	18	28.21 ± 1.86	30.16 ± 2.09	29.46 ± 2.60 ³⁾	27.03 ± 1.02 ⁵⁾	-1.18	
绵羊油炙淫羊藿	18	27.01 ± 1.21	27.98 ± 2.01	28.00 ± 2.08	28.43 ± 2.75 ³⁾	+1.42	
公羊油炙淫羊藿	18	27.97 ± 0.96	29.55 ± 2.29	29.77 ± 2.85 ³⁾	30.63 ± 3.23 ⁴⁾	+2.66	
母羊油炙淫羊藿	18	28.14 ± 1.89	28.70 ± 3.06	29.46 ± 3.58	30.56 ± 3.48 ⁴⁾	+2.42	
肚子油炙淫羊藿	18	27.79 ± 1.20	29.69 ± 1.53	29.32 ± 1.90	30.58 ± 2.30 ⁴⁾	+2.79	
尾巴油炙淫羊藿	18	27.60 ± 0.95	28.85 ± 1.21	29.15 ± 1.65	30.76 ± 1.86 ⁴⁾	+3.16	

注:与阴性对照组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$;与模型对照组比较³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$;③与淫羊藿总黄酮组比较⁵⁾ $P < 0.05$, ⁶⁾ $P < 0.01$ (表 2~4 同)。

表 2 6 种不同品质的羊脂油炙淫羊藿对肾阳虚小鼠体表温度的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	体表温度/°C			
		1 d	3 d	6 d	9 d
阴性对照	-	33.68 ± 0.16	35.98 ± 0.54	35.58 ± 0.66	35.42 ± 0.30
模型对照	-	34.58 ± 0.40	33.00 ± 0.70 ²⁾	32.92 ± 0.45 ²⁾	32.38 ± 0.68 ²⁾
淫羊藿总黄酮	0.23	34.10 ± 0.48	35.04 ± 0.36 ⁴⁾	35.08 ± 0.47 ⁴⁾	33.98 ± 0.72 ³⁾
生品淫羊藿	18	34.02 ± 0.20	34.82 ± 0.60 ³⁾	34.78 ± 0.46 ³⁾	33.88 ± 0.60 ³⁾
山羊油炙淫羊藿	18	33.64 ± 0.45	34.40 ± 0.55 ³⁾	34.62 ± 0.62 ³⁾	34.13 ± 0.97 ³⁾
绵羊油炙淫羊藿	18	33.54 ± 0.40	34.42 ± 0.74 ³⁾	35.30 ± 0.50 ⁴⁾	33.88 ± 0.66 ³⁾
公羊油炙淫羊藿	18	33.44 ± 0.45	35.44 ± 0.48 ⁴⁾	34.82 ± 0.54 ³⁾	34.12 ± 0.58 ³⁾
母羊油炙淫羊藿	18	35.92 ± 0.30	34.52 ± 0.50 ³⁾	34.94 ± 0.49 ³⁾	33.34 ± 0.73 ³⁾
肚子油炙淫羊藿	18	33.28 ± 0.52	34.78 ± 0.49 ³⁾	34.84 ± 0.32 ³⁾	33.72 ± 0.46 ³⁾
尾巴油炙淫羊藿	18	33.86 ± 0.35	34.22 ± 0.24 ³⁾	34.72 ± 0.42 ³⁾	34.26 ± 0.44 ⁴⁾

油炙淫羊藿组小鼠自主活动次数均较模型对照组及生品淫羊藿组显著增加 ($P < 0.05$)。在给药 9 d 时,与模型对照组比较,各给药组小鼠自主活动次数虽均有不同程度的增加趋势但有差异,以公羊油、母羊油和尾巴油炙淫羊藿组、生品淫羊藿组及阳性对照组小鼠自主活动次数增加显著 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),而与生品淫羊藿组比较,公羊油和尾巴油炙淫羊藿组小鼠自主活动次数显著增加 ($P < 0.05$)。见表 3。

3.4 对肾阳虚小鼠抓力的影响 与阴性对照组小鼠抓力 (142.49 ± 54.26) g 比较,模型对照组小鼠抓力 (135.01 ± 42.42) g 呈下降趋势,但无统计学差异。与模型对照组比较,小鼠抓力生品淫羊藿组 (143.08 ± 46.00) g、山羊油炙淫羊藿组 (153.36 ± 33.14) g、绵羊油炙淫羊藿组 [(138.99 ± 33.34) g、公羊油炙淫羊藿组 (161.43 ± 46.13) g、母羊油炙淫羊藿组 (152.64 ± 37.76) g、肚子油炙淫羊藿组 (147.03 ± 34.12) g、尾巴油炙淫羊藿组 (149.09 ±

40.22) g,均有不同程度的增强趋势,但差异无显著性意义。

3.5 对肾阳虚小鼠凝血时间的影响 与阴性对照组比较,模型对照组小鼠凝血时间呈缩短趋势,但差异无统计学意义;与模型对照组比较,除绵羊油炙淫羊藿具有延长模型小鼠凝血时间的作用趋势外,其余各组未见明显影响。见表 4。

3.6 对肾阳虚小鼠血清 SOD,MDA 含量的影响 与阴性对照组比较,模型对照组小鼠血清 SOD 活力降低、MDA 含量升高,差异有显著性意义 ($P < 0.01$);与模型对照组比较,各给药组均可不同程度地提高小鼠血清 SOD 活力,降低 MDA 含量,其中以山羊油、绵羊油、肚子油、尾巴油炙淫羊藿和淫羊藿总黄酮升高 SOD 水平,降低 MDA 含量的作用显著 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。生品淫羊藿组 SOD 虽较模型对照组高,但差别无显著性意义;本实验条件下生品淫羊藿降低 MDA 的作用不明显。见表 4。

表3 6种不同品质的羊脂油炙淫羊藿对肾阳虚小鼠自主活动的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	5 min 自主活动数/次			
		1 d	3 d	6 d	9 d
阴性对照	-	97.70 ± 17.46	97.90 ± 16.49	80.30 ± 13.12	95.80 ± 19.01
模型对照	-	96.90 ± 20.30	71.90 ± 18.57 ²⁾	69.30 ± 11.75 ²⁾	66.10 ± 21.26 ²⁾
淫羊藿总黄酮	0.23	96.80 ± 6.80	74.80 ± 25.11	51.50 ± 14.58 ⁴⁾	89.90 ± 18.42 ⁴⁾
生品淫羊藿	18	92.40 ± 14.50	68.30 ± 16.26	59.30 ± 23.50 ^{4,6)}	80.00 ± 20.93 ³⁾
山羊油炙淫羊藿	18	91.50 ± 17.80	61.30 ± 19.49 ^{3,7)}	69.90 ± 33.76 ⁶⁾	73.60 ± 29.32 ⁵⁾
绵羊油炙淫羊藿	18	99.20 ± 11.91 ⁷⁾	70.00 ± 16.11	85.20 ± 22.48 ^{3,6,8)}	72.40 ± 20.85 ⁵⁾
公羊油炙淫羊藿	18	88.40 ± 18.36	59.90 ± 25.91 ^{3,5,7)}	70.90 ± 18.19 ⁶⁾	86.20 ± 11.81 ^{4,7)}
母羊油炙淫羊藿	18	90.80 ± 18.52	72.70 ± 17.67	82.30 ± 17.94 ^{3,5,6,8)}	81.80 ± 21.02 ³⁾
肚子油炙淫羊藿	18	98.90 ± 14.93 ⁷⁾	64.20 ± 23.04	79.30 ± 20.62 ^{3,6,8)}	73.70 ± 25.11 ⁵⁾
尾巴油炙淫羊藿	18	91.80 ± 10.88	66.40 ± 20.13	76.10 ± 18.66 ^{3,6,8)}	86.30 ± 12.49 ^{4,7)}

注:与生品淫羊藿组比较⁷⁾ $P < 0.05$, ⁸⁾ $P < 0.01$ (表4同)。

表4 6种不同品质羊脂油炙淫羊藿对肾阳虚小鼠凝血时间,血清SOD活力及MDA含量的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	凝血时间/min	SOD/NU·mL ⁻¹	MDA/mmol·L ⁻¹
阴性对照	-	2.65 ± 1.78	235.55 ± 25.36	4.77 ± 1.43
模型对照	-	2.31 ± 1.69	173.84 ± 36.40 ²⁾	7.80 ± 1.72 ²⁾
淫羊藿总黄酮	0.23	1.66 ± 1.01 ³⁾	228.67 ± 35.00 ^{4,6)}	5.65 ± 1.33 ^{4,6)}
生品淫羊藿	18	2.18 ± 1.58	189.85 ± 19.12	7.95 ± 1.68
山羊油炙淫羊藿	18	2.12 ± 1.63	199.15 ± 41.38 ³⁾	6.31 ± 0.86 ^{3,5,7)}
绵羊油炙淫羊藿	18	2.88 ± 1.43 ^{5,7)}	201.84 ± 12.07 ^{3,7)}	6.01 ± 0.81 ^{4,6,8)}
公羊油炙淫羊藿	18	1.46 ± 0.90 ^{3,7)}	180.91 ± 38.93	7.42 ± 1.97
母羊油炙淫羊藿	18	1.58 ± 1.08 ³⁾	182.00 ± 24.01	7.20 ± 1.71
肚子油炙淫羊藿	18	2.30 ± 1.04	203.58 ± 31.00 ^{3,7)}	6.07 ± 1.17 ^{4,6,8)}
尾巴油炙淫羊藿	18	1.94 ± 1.09	198.02 ± 40.16 ³⁾	6.82 ± 1.54 ³⁾

4 讨论

中药炮制辅料品质的优劣直接影响着中药饮片的质量,而中药炮制辅料的品质要求应遵循相关药用标准。羊脂油虽然是中药(如淫羊藿)炮制中的常用辅料,但尚缺乏国家统一的药用标准^[9],各地炮制用羊脂油辅料的取材范围宽泛,品质不一,如羊脂油依羊的品种不同有山羊油、绵羊油之分,依羊性别分为公羊油、母羊油,依羊身体部位不同又有尾巴油、肚子油等的区别。羊脂油主要含脂肪酸类成分,研究表明,受羊的品种、性别和部位等来源因素的影响,取材对象不同,羊脂油脂肪酸类成分的组成和含量就有较大变异^[2-3]。在缺乏药用标准的情况下,必然带来应该选择什么样的羊脂油炙淫羊藿其增效作用最佳的疑问。有关炙淫羊藿的现代药理研究很多,但对比不同品种、性别、身体部位的羊脂油炙淫羊藿对动物肾阳虚证的影响尚未见报道。为此,本实验采用中药实验药理学技术手段,对比分析6种不同品质的羊脂油炙淫羊藿在温肾阳方面的药效强弱,为优选增效作用强的炮制辅料提供参考。

有关小鼠肾阳虚证模型,目前应用最广泛的方

法是采用大剂量皮质激素造成小鼠的耗竭状态来模拟祖国医学中的“肾阳虚”证候。大量外源性皮质激素的影响,可导致肾上腺皮质萎缩和机能减退,内源性皮质激素合成及释放减少,这与“肾阳虚”患者皮质功能减退一致^[4]。目前肾阳虚证动物模型的症状诊断标准主要通过观察动物的症状体征来判断其与肾阳虚证的符合程度,如消瘦、体重下降或生长发育缓慢、体毛枯疏、失去光泽都反映模型的虚证状态;“阳虚则寒”,体温下降、畏寒肢冷是肾阳虚的特异性指标之一,可与阴虚的皮温升高相鉴别;“阳主动,阴主静”,自主活动减少,抗应激能力下降反映机体虚证状态;抓力与自主活动次数检测均能客观反映小鼠气(包括阳气)的盛衰,可用以模拟人类的乏力、懒动、精力、肌力,准确地反映阳气虚程度。但由于动物的个体差异、兴奋状态以及对检测的耐受、适应、疲劳不同,会导致抓力检测和自主活动次数出现偏差,而连续多次的重复检测,会增加动物的耐受,检测值会不断下降。鉴于炙淫羊藿具有较强的温补肾阳作用,本实验把抓力引入肾阳虚评价体系,结合自主活动次数,这样可以弥补单独采用自主活

动次数或抓力带来的偏差,最大程度地贴近肾阳气虚的真实程度。中医学认为肾是先天之本,生气之源,血液环周不休、运行不息,需要阳气的温煦与推动,以致血脉充盛,若肾阳虚衰,则气化无权,血气难行,则易于“浓、黏、凝、聚”,通过检测凝血时间变化反映该症状,凝血时间的长短主要与各种凝血因子的含量和功能有关。作为反映肾阳虚证代谢功能异常与否的指标,可同时检测血清 SOD 活力和 MDA 含量^[10]等。研究认为,“肾阳虚”机体处于氧化应激状态,自由基通过损伤线粒体膜,影响线粒体功能”,同时消耗清除自由基的 SOD 等,抗氧化损伤能力减弱及氧化损伤程度增强,故血清 SOD 活性下降、MDA 浓度增高^[11]。本实验利用大剂量氢化可的松造成小鼠的肾阳虚证模型,结果显示动物出现明显的阳虚证表现,如竖毛无光泽,倦怠,精神萎靡,肛周污秽,体重减轻,体温下降,自主活动能力减弱,肢体力量下降,凝血时间缩短,血清 SOD 水平下降,MDA 含量上升,提示造模是成功的。

淫羊藿总黄酮为炙淫羊藿温肾阳作用的主要活性成分群(物质基础)^[12],对雄性肾阳虚大鼠有明显的补益肾阳功效,可改善肾阳虚证大鼠下丘脑-垂体-肾上腺-胸腺轴的功能抑制状态^[13],对雄性生殖系统和生殖内分泌有促进作用^[14]。因此作为阳性对照品用于本试验。从实验结果看,6 种不同品质(山羊、绵羊、公绵羊、母绵羊、绵羊肚子、绵羊尾巴)的羊脂油炙淫羊藿可不同程度地增强生品淫羊藿的温肾助阳作用,使肾阳虚证小鼠气(包括阳气)的虚弱状态得以改善。具体表现为:延缓或抑制模型小鼠的体重下降(惟山羊油炙淫羊藿无抑制模型小鼠体重下降作用);增强模型小鼠肢体力量(抓力);增加自主活动次数;提高模型小鼠体表温度,改善小鼠形寒肢冷的体征;使模型小鼠血清 SOD 活力升高、MDA 含量降低,纠正肾阳虚证代谢功能的异常等。该结果符合“羊脂油炙淫羊藿,可发挥协同作用,增强其温肾壮阳的功效”^[16]这一重要理论。

究竟不同品种(山羊、绵羊)、不同性别(公、母绵羊)和不同部位(绵羊肚子、尾巴油)的 6 种羊脂油炙淫羊藿其温阳作用是否存在差别?我们的实验结果初步提示,以绵羊油、肚子油、尾巴油炙淫羊藿增强温肾阳作用优于山羊油、公羊油、母羊油炙淫羊藿,但是差异不具有显著性。

本实验首次对比分析了 6 种不同品质的羊脂油炙淫羊藿在温肾助阳方面的药效强弱,其结果为制

定羊脂油辅料药用标准积累了实验数据。

[参考文献]

- [1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草, 第 9 册[M]. 上海:上海科学技术出版社,1999:8940.
- [2] 黄兰岚,李烧烧,钟利群,等. 气相色谱-质谱联用法分析羊脂油的脂肪酸成分[J]. 时珍国医国药,2009,20(10):2488.
- [3] 贾海珍. 小尾寒羊不同部位脂质脂肪酸组成研究[J]. 上海畜牧兽医通讯,2009,4:22.
- [4] 李仪奎. 中药药理实验方法学[M]. 2 版. 上海:上海科学技术出版社,2006:155,685.
- [5] 陈英华,欧阳轶强,孙琪,等. 肾阳虚证动物模型规范化研究中诊断指标选择的初步探讨[J]. 中国中医基础医学杂志,2003,10(9):746.
- [6] 肖静,何立群,高建东,等. 腺嘌呤与氢化可的松大鼠肾阳虚模型造模方法比较[J]. 中国比较医学杂志,2008,18(3):77.
- [7] 牛锐. 淫羊藿炮制前后对小鼠血浆睾酮及附性器官的影响[J]. 中国中药杂志,1989,14(9):18.
- [8] 张丹,朱庆均. 肾阳虚小鼠睾丸 NO、NOS、MDA、SOD 变化的实验研究[J]. 中国中医药科技,2009,16(2):84.
- [9] 黄兰岚,李烧烧,原思通,等. 中药炮制辅料羊脂油质量标准研究进展[C]. 焦作:中华中医药学会四大怀药与地道药材研究论坛暨中药炮制分会第二届第五次学术会议与第三届会员代表大会论文集,2007:350.
- [10] 葛争艳,金龙,刘建勋. 五子衍宗丸补肾壮阳作用的实验研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(7):173.
- [11] 李天禹,何清湖,卢芳国,等. 天蚕壮阳散对肾阳虚型雄性亚健康大鼠血清 SOD、MDA 的影响[J]. 时珍国医国药,2012,23(3):685.
- [12] 徐智胜,黄兰岚,孙婷婷,等. 羊脂油来源、产地和部位对淫羊藿炮制品总黄酮含量影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(23):149.
- [13] 李寅超,黄兰岚,赵宜红,等. 不同炼制温度和用量的羊脂油制淫羊藿对肾阳虚大鼠的影响[J]. 中国中药杂志,2011,36(16):2250.
- [14] 余白蓉,秦达念,王晟,等. 淫羊藿总黄酮对雄性大鼠生殖功能影响的初步研究[J]. 中国男科学杂志,2003,17(5):294.
- [15] 叶定江,原思通. 中药炮制学辞典[M]. 上海:上海科学技术出版社,2005:112.

[责任编辑 聂淑琴]