

七味温阳软胶囊补肾温阳作用的实验研究

高云娟¹, 王志旺¹, 蔺兴遥¹, 任远^{1*}, 邓月婷², 任一杰², 张喜明²

(1. 甘肃省中药药理与毒理学重点实验室, 兰州 730000; 2. 甘肃陇神药物研究院, 兰州 730101)

[摘要] 目的: 研究观察七味温阳软胶囊对肾阳虚模型动物垂体-肾上腺皮质系统、垂体-性腺系统功能及应激反应的影响。方法: 将 60 只 Wistar 种大鼠、78 只昆明种小鼠, 分别按性别体重均衡随机分为正常对照组, 模型对照组, 阳性药对照组, 七味温阳软胶囊高、中、低剂量组。大鼠从给药第 1 天起, 除正常对照组外, 各组均 ig 氢化可的松 $5 \times 10^{-5} \text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 每天 1 次, 连续 9 d, 制造肾阳虚模型, 继续给药至第 12 天, 各组动物股动脉取血, 离心, 取血清, 检测促肾上腺皮质激素 (ACTH)、皮质醇 (Cortisol) 水平; 小鼠连续给药 14 d, 于给药的 8 至 14 天时, 除正常对照组外, 每只 ig 氢化可的松 $0.75 \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 每天 1 次, 连续 7 d, 末次给药后检测小鼠包皮腺、精液囊脏器官指数及小鼠游泳和耐缺氧时间。结果: 七味温阳软胶囊 $0.96, 0.48 \text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 2 个剂量可明显升高肾阳虚模型大鼠血清 ACTH、Cortisol 水平 ($P < 0.05$); $1.35, 0.68 \text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 2 个剂量可明显增加肾阳虚小鼠包皮腺脏器官指数 ($P < 0.05$); $0.68, 0.34 \text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 2 个剂量可明显增加肾阳虚小鼠精液囊脏器官指数 ($P < 0.05, P < 0.01$); $1.35, 0.68, 0.34 \text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 3 个剂量均可明显延长小鼠游泳时间和常压耐缺氧时间 ($P < 0.05$)。结论: 七味温阳软胶囊对肾阳虚模型大鼠垂体-肾上腺皮质功能和小鼠垂体-性腺系统功能具有一定的保护作用。

[关键词] 七味温阳软胶囊; 肾阳虚; 补肾温阳

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)19-0242-03

[doi] 10.11653/syfy2013190242

Experimental Study on Warming and Nourishing Kidney Yang Effects of Qiwei Wenyang Softcapsule

GAO Yun-juan¹, WANG Zhi-wang¹, LIN Xing-yao¹, REN Yuan^{1*},
DENG Yue-ting², REN Yi-jie², ZHANG Xi-ming²

(1. Gansu Province Key Laboratory of Tradition Chinese Medicine Pharmacology and Toxicology, Lanzhou 730000, China;
2. Gansu Longshen Pharmaceutical Research Institute, Lanzhou 730101, China)

[Abstract] **Objective:** To observe effect of Qiwei Wenyang softcapsule on pituitary-adrenal cortex system and pituitary-gonadal system function in animal kidney Yang deficiency model. **Method:** The high dose of hydrocortisone was used to establish the kidney Yang deficiency model, at the same time, Qiwei Wenyang soft capsule was given, and serum corticotrophin (ACTH) and cortisol level preputial gland, seminal vesicle organ index, the mice swimming time and hypoxia tolerance time were observed. **Result:** The high and medium dose Qiwei Wenyang softcapsule ($0.96, 0.48 \text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$) could obviously increase the serum ACTH and cortisol levels ($P < 0.05$) in rats, 1 and preputial gland organ index in mice ($P < 0.05$), Qiwei Wenyang softcapsule at dose of $0.68, 0.34 \text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ could obviously increase seminal vesicle organ index ($P < 0.05$ or $P < 0.01$); significantly prolong the swimming time and the normal pressure hypoxia tolerance time at dose of $1.35, 0.68, 0.34 \text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ of mice ($P < 0.05$). **Conclusion:** Qiwei Wenyang softcapsule has a protective effect on kidney Yang deficiency model.

[Key words] Qiwei Wenyang softcapsule; kidney Yang deficiency; Bushen Wenyang

[收稿日期] 20130403(009)

[基金项目] 兰州市生物医药专项(2012-2-75)

[第一作者] 高云娟, 在读硕士, 从事中药药理与毒理研究, Tel: 13679484665, E-mail: gaoyunjuan1988@163.com

[通讯作者] * 任远, 教授, 从事中药药理与毒理研究, Tel: 0931-8762653, E-mail: ry@gszy.edu.cn

肾阳虚多由素体阳虚,或年高肾亏,或久病伤肾等因素引起。研究表明,肾阳虚证与下丘脑-垂体-肾上腺皮质等系统功能紊乱有关。七味温阳软胶囊具有补肾温阳、益精养血的功效。本文通过动物实验研究了七味温阳软胶囊对肾阳虚模型动物垂体-肾上腺系统和垂体-性腺系统等功能的影响。

1 材料

1.1 药品与试剂 七味温阳软胶囊,由甘肃陇神戎发制药公司研制(由鹿角胶、鹿角霜、熟地黄、菟丝子、柏子仁、补骨脂、茯苓等药物组成,以上7味中鹿角霜、柏子仁、菟丝子、熟地黄、茯苓加水煎煮,补骨脂加乙醇回流提取,合并滤液,浓缩成清膏,与鹿角胶粉合并,加入大豆油、蜂蜡,混匀,制成软胶囊,每粒软胶囊含异补骨脂素不低于 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$)。右归丸(河南省宛西制药股份有限公司生产,生产批号110604);氢化可的松注射液[上海现代哈森(商丘)药业有限公司,生产批号11072611];大鼠促肾上腺皮质激素(ACTH)酶联免疫分析试剂盒(批号201203),大鼠皮质醇(Cortisol)酶联免疫分析试剂盒(生产批号201203)均为上海丰翔科技有限公司生产。

1.2 动物 昆明种小鼠,SPF级,雌雄兼用,体重 $18 \sim 22 \text{ g}$;Wistar种大鼠,SPF级,雌雄兼用,体重 $180 \sim 220 \text{ g}$,许可证号均为SCXK(甘)2011-0001,由甘肃中医学院实验动物中心提供。试验场所:甘肃中医学院科研实验中心,使用许可证号SYXK(甘)2011-0001。

1.3 仪器 Benchmark酶标仪(美国,BIO-RAD),Biofuge Stralos高速冷冻离心机(美国,Heraeus)。

2 方法

2.1 对肾阳虚模型大鼠垂体-肾上腺系统功能的影响 大鼠60只,体重 $180 \sim 200 \text{ g}$,雌雄各半。按性别体重均衡随机分为6组,每组10只。阳性药对照组ig右归丸 $5.40 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,受试物高、中、低剂量组分别ig七味温阳软胶囊 $0.96, 0.48, 0.24 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$;正常对照组与模型对照组ig蒸馏水,给药容积均为 $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$,连续给药12 d。给药第1天时,除正常对照组外,各组大鼠按文献方法^[1-2] ig氢化可的松 $5 \times 10^{-5} \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 制造大鼠肾阳虚模型,每天1次,连续9 d。第10天时各组继续给药,于第12天末次给药后各组动物股动脉取血,离心,取血清,按试剂盒方法检测血清ACTH和Cortisol。

2.2 对肾阳虚模型小鼠垂体-性腺系统的影响 小鼠78只,雄性,体重 $18 \sim 22 \text{ g}$,按体重均衡随机分为

6组,每组13只。阳性药对照组ig右归丸 $7.60 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,受试物高、中、低剂量组分别ig七味温阳软胶囊 $1.35, 0.68, 0.34 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,正常对照组与模型组ig蒸馏水,给药容积均为 $25 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$,连续给药14 d。于给药的第8至14天时,除正常对照组外,各组小鼠每只ig氢化可的松 $0.75 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,每天1次,连续7 d,按文献方法复制肾阳虚小鼠模型^[3-4]。末次给药后24 h称重,断颈椎处死,摘取小鼠精液囊和包皮腺,称重,计算脏器指数。

2.3 对小鼠游泳时间的影响 小鼠90只,体重 $18 \sim 22 \text{ g}$,雌雄兼用,按性别体重均衡随机分为5组,每组18只。各组适应性饲养3 d后,正常对照组ig蒸馏水,阳性对照组ig右归丸 $7.60 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,受试物高、中、低剂量组剂量和给药容积同2.2,连续给药12 d。末次给药后1 h,参考文献方法^[5]测试各组小鼠游泳时间。

2.4 对小鼠常压耐缺氧的影响 小鼠80只,体重 $18 \sim 22 \text{ g}$,雌雄兼用,按性别体重均衡随机分为5组,每组16只。组别、剂量同2.3,连续给药12 d。末次给药后1 h,参考文献方法^[5]测试各组小鼠耐缺氧时间。

2.5 统计分析 采用SPSS 17.0统计处理软件,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素方差分析,组间差异采用 t 检验处理, $P < 0.05$ 为有统计学意义。

3 结果

3.1 对肾阳虚模型大鼠垂体-肾上腺轴功能的影响 氢化可的松肾阳虚模型大鼠血清ACTH和Cortisol水平均明显降低,与正常对照组比较组间差异均有统计学意义。七味温阳软胶囊可使肾阳虚模型大鼠血清ACTH和Cortisol水平升高,其中 $0.96, 0.48 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量组与模型组比较组间差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

表1 七味温阳软胶囊对肾阳虚模型大鼠垂体-肾上腺系统的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 $/\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	ACTH $/\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$	Cortisol $/\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$
正常对照	-	$3.085 \pm 0.116^{2)}$	$1.631 \pm 0.245^{2)}$
模型	-	2.912 ± 0.131	1.104 ± 0.393
右归丸	5.40	$3.060 \pm 0.134^{1)}$	$1.480 \pm 0.269^{2)}$
七味温阳软胶囊	0.96	$3.056 \pm 0.112^{1)}$	$1.512 \pm 0.434^{1)}$
	0.48	$3.040 \pm 0.081^{1)}$	$1.450 \pm 0.336^{1)}$
	0.24	2.990 ± 0.154	1.454 ± 0.406

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$ (表2同)。

3.2 对垂体-性腺轴的影响 七味温阳软胶囊可使肾阳虚模型小鼠包皮腺和精液囊脏器指数升高,其

中对包皮腺的影响,七味温阳软胶囊 1.35,0.68 g·kg⁻¹剂量组与模型组比较,组间差异有统计学意义($P < 0.05$);对精液囊脏器指数的影响,七味温阳软胶囊 0.68,0.34 g·kg⁻¹剂量组与模型组比较组间差异有统计学意义($P < 0.05, P < 0.01$)。见表 2。

表 2 七味温阳软胶囊对肾阳虚模型小鼠包皮腺、精液囊脏器指数的影响($n = 13$) mg·g⁻¹

组别	剂量/g·kg ⁻¹	包皮腺指数	精液囊指数
正常对照	-	1.38 ± 0.51 ¹⁾	2.49 ± 0.94 ²⁾
模型	-	0.94 ± 0.35	1.51 ± 0.36
右归丸	7.60	1.32 ± 0.56 ¹⁾	2.05 ± 0.82 ¹⁾
七味温阳软胶囊	1.35	1.15 ± 0.51 ¹⁾	1.91 ± 0.74
	0.68	1.39 ± 0.57 ¹⁾	2.30 ± 1.25 ¹⁾
	0.34	1.23 ± 0.42	2.58 ± 0.98 ²⁾

3.3 对正常小鼠应激反应的影响 七味温阳软胶囊可明显延长小鼠游泳时间和常压耐缺氧时间,1.35,0.68,0.34 g·kg⁻¹剂量组与正常对照组比较,组间差异均有统计学意义($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。见表 3。

表 3 七味温阳软胶囊对小鼠游泳时间的影响

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	游泳时间 /s($n = 18$)	耐缺氧时间 /s($n = 16$)
正常对照	-	566.2 ± 92.6	528.8 ± 56.5
右归丸	7.60	731.7 ± 27.4 ¹⁾	592.1 ± 75.0 ²⁾
七味温阳软胶囊	1.35	634.6 ± 103.1 ¹⁾	594.4 ± 73.1 ²⁾
	0.68	725.0 ± 121.7 ¹⁾	620.8 ± 88.0 ²⁾
	0.34	683.2 ± 116.2 ¹⁾	611.6 ± 74.3 ²⁾

注:与正常对照组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$ 。

4 讨论

七味温阳软胶囊全方以补肾温阳、益精养血立法,鹿角胶与鹿角霜补肾温阳,益精化气,阴中求阳,合为君药;熟地黄补血滋阴,益精填髓,菟丝子补益肝肾,固精缩尿,两者合为臣药,以助君药填精温阳之力;柏子仁养心安神,润肠,止汗,补骨脂温肾助阳,纳气平喘,温脾止泻,茯苓健脾渗湿,宁心安神。诸药相配,共奏补肾温阳,益精养血之功效。

本文以大剂量氢化可的松制造大、小鼠肾阳虚模型,造模后动物出现体重下降、活动减少、反应迟钝、弓背蜷缩、畏寒、体毛疏松、多尿等肾阳虚体征,同时大鼠血清 ACTH 和 Cortisol 水平及小鼠包皮腺和精液囊脏器指数也明显降低,符合肾阳虚模型的一系列表现^[7-9]。连续给药七味温阳软胶囊后,动物肾阳虚体征明显得到恢复和改善,同时动物血清 ACTH、Cortisol 水平及包皮腺和精液囊脏器指数明

显高于肾阳虚模型组,提示七味温阳软胶囊对大剂量氢化可的松导致的垂体-肾上腺和垂体-性腺系统的功能具有一定的保护作用。小鼠连续给药七味温阳软胶囊后,游泳和耐缺氧时间明显延长,提示动物抗应激反应的能力也得到了增强。

外源性大剂量氢化可的松可通过负反馈机制抑制下丘脑-垂体系统功能,导致肾上腺皮质和性腺功能减退,从而出现类似肾阳虚的体征和相关指标的改变^[10-12]。本文研究结果显示,七味温阳软胶囊可有效改善肾阳虚模型动物垂体-肾上腺和垂体-性腺系统的功能,这可能是其发挥补肾温阳作用的机制之一。

[参考文献]

[1] 刘旭光,宋开源. 阴虚阳虚大鼠促肾上腺皮质激素及皮质酮昼夜节律的差异研究[J]. 四川中医, 2002, 20(1):35.

[2] 邹忠杰,龚梦卿,谢媛媛,等. 氢化可的松诱导的肾阳虚大鼠尿液代谢组学研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(8):133.

[3] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2006:719, 797, 801.

[4] 金龙,葛争艳,刘建勋. 五子衍宗丸对大鼠交配功能和肾阳虚模型小鼠的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(16):228.

[5] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2006:778, 779.

[6] 刘天成,崔撼难. 右归丸对肾阳虚大鼠下丘脑-垂体-性腺轴影响的实验研究[J]. 吉林中医药, 2007, 27(4):56.

[7] 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.

[8] 彭国瑞,许志奇,杨学海,等. 不同糖皮质激素所致“阳虚”动物模型的实验研究[J]. 中医杂志, 1984, 25(4):74.

[9] 樊莹,周安南. 肾阳虚证在肾上腺皮质轴上的根本表现及肾阳虚证的量化分度[J]. 南京中医学院学报, 1996, 10(6):6.

[10] 杨裕华,李震. 肾阳虚动物模型及其诊断指标研究近况[J]. 辽宁中医药大学学报, 2007, 9(5):40.

[11] 徐启华,胡明华,马方励,等. 虚证动物模型的研究现状[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(11):307.

[12] 吴启端,熊带水,梁文能,等. 肾阳虚动物模型的研究概况[J]. 中国实验方剂学杂志, 2001, 7(6):54.

[责任编辑 聂淑琴]