

## 五味子“生熟异用”之补肾阳作用

高 慧<sup>1,2,3\*</sup>, 佟 鑫<sup>1,2,3</sup>, 裴启洋<sup>1,2,3</sup>, 贾天柱<sup>1,2,3</sup>

1. 辽宁中医药大学药学院, 辽宁 大连 116600
2. 国家中医药管理局中药炮制原理解析重点实验室, 辽宁 大连 116600
3. 辽宁省中药炮制工程技术研究中心, 辽宁 大连 116600

**摘要:** 目的 比较五味子、醋五味子、酒五味子对肾虚小鼠的影响, 为五味子“入补药熟用”的研究及临床合理应用提供科学依据。方法 采用小鼠 ig 给予腺嘌呤方法制备肾虚模型, 以桂附地黄丸为阳性对照, 以小鼠体征, 血清皮质醇、睾酮、肌酐(Cr)水平, 精囊腺、睾丸的脏器指数, 及睾丸、肾脏组织病理观察等为评价指标, 比较五味子、醋五味子、酒五味子水煎液的补肾阳作用。结果 五味子、醋五味子、酒五味子对肾虚小鼠均有一定的治疗作用, 可改善小鼠的激素水平, 增加脏器指数, 其中酒五味子作用最好, 各剂量组以中剂量组作用最好。结论 炮制与剂量均会对五味子补肾阳作用产生影响, 临床应用于治疗肾虚时应首选酒五味子, 并注意五味子的使用剂量。

**关键词:** 五味子; 炮制; 肾虚; 腺嘌呤; 激素

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2014)13-1889-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.13.015

## Effect of raw and processed *Schisandrae Fructus* on tonifying kidney yang

GAO Hui<sup>1,2,3</sup>, TONG Xin<sup>1,2,3</sup>, PEI Qi-yang<sup>1,2,3</sup>, JIA Tian-zhu<sup>1,2,3</sup>

1. College of Pharmacy, Liaoning University of TCM, Dalian 116600, China
2. Key Laboratory of Processing Theory Analysis of State Administration of TCM, Dalian 116600, China
3. Engineering Technology Research Center of TCM Processing of Liaoning Province, Dalian 116600, China

**Abstract: Objective** To provide the scientific basis for the research and clinical application of “the processed *Schisandrae Fructus* as a tonic” through comparing the effects of raw, vinegar steaming and wine steaming *Schisandrae Fructus* on tonifying kidney-yang of mice. **Methods** The kidney-yang deficiency mouse model was established by adenine. With Fugui Dihuang Pill as positive control drug, the effects of raw and differently processed *Schisandrae Fructus* on kidney-yang deficiency mice were compared regarding by the contents of serum cortisol, testosterone, creatinine, the viscera indexes of seminal vesicle, testicle, and the pathological sections of testis and kidney. **Results** The raw and differently processed *Schisandrae Fructus* had certain therapeutic effects on kidney-yang deficiency mice, such as meliorating the hormonal condition and raising the viscera index of kidney-yang deficiency mice. In terms of therapeutic effects, the wine steaming *Schisandrae Fructus* was the best among the different kinds of *Schisandrae Fructus*, and the mid-dose was better than others. **Conclusion** Both of the processing methods and dosages of *Schisandrae Fructus* will affect the therapeutic action on kidney-yang deficiency. The wine steaming *Schisandrae Fructus* is preferred in the treatment for kidney-yang deficiency, and the dosage should be paid attention to.

**Key words:** *Schisandrae Fructus*; processing; kidney-yang deficiency; adenine; hormone

五味子为木兰科植物五味子 *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. 的干燥成熟果实, 收敛固涩, 益气生津, 补肾宁心<sup>[1]</sup>。《本草纲目》记载五味子“入补药熟用, 入嗽药生用”, 即五味子“生熟异

用”。近年来关于五味子及其炮制品补益作用的研究有部分报道, 主要是对免疫系统的影响<sup>[2]</sup>及抗衰老、抗氧化<sup>[3]</sup>等方面。明《本草经疏》载五味子“劳伤羸瘦, 补不足, 强阴, 益男子精”, 现代药理研究

收稿日期: 2013-10-31

基金项目: 国家发改委 2011 年中医药行业科研专项项目: 19 种生熟异用中药饮片临床规范使用研究 (20110700704)

作者简介: 佟 鑫 (1989—), 女, 辽宁沈阳人, 硕士研究生在读, 研究方向为中药炮制研究。E-mail: 568894854@qq.com

\*通信作者 高 慧 (1974—), 女, 辽宁沈阳人, 副教授, 博士, 硕士生导师, 研究方向为中药炮制原理研究。

Tel: (0411)85890146 E-mail: gaohuitcm@163.com

也证明五味子有补肾助阳的功效<sup>[4-6]</sup>。故本课题组对生、熟五味子的补肾阳作用进行研究,比较五味子、醋五味子、酒五味子对肾阳虚小鼠的影响,以说明五味子“入补药熟用”的炮制原理,为五味子“生熟异用”研究及临床合理应用提供依据。

## 1 材料

### 1.1 药品与试剂

五味子,购自辽宁丹东大梨树五味子 GAP 基地,由辽宁中医药大学药学院王冰教授鉴定为木兰科植物五味子 *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. 的干燥成熟果实;醋五味子:取净五味子加米醋(100:20)拌匀,闷润 1.5 h,蒸制 5 h,50 °C 干燥至恒定质量;酒五味子:取净五味子加黄酒(100:20)拌匀,闷润 1 h,蒸制 4 h,50 °C 干燥至恒定质量;腺嘌呤(购自北京索来宝科技有限公司,批号 201208012);桂附地黄丸(北京同仁堂药业,批号 1016341);皮质醇、睾酮、肌酐(Cr) ELISA 试剂盒(上海科兴商贸有限公司)。

### 1.2 动物

昆明种雄性小鼠,体质量 22~30 g,由大连医科大学实验动物中心提供,许可证号 SCXK(辽)2008-0002,普通饲料,定时定量喂食,自由饮水。

### 1.3 仪器

离心机(上海安亭科学仪器厂),分析天平(上海天平仪器厂),酶标仪(上海赛默飞世尔仪器有限公司),石蜡切片机(德国 LEICA 公司),BX51 生物显微镜(日本奥林巴斯)。

## 2 方法

### 2.1 供试液制备

五味子水煎液制备:取五味子粗粉,加 10 倍水量,浸泡 0.5 h,回流提取 3 次,每次 1 h,合并水煎液,浓缩,得五味子水煎液(含五味子醇甲 0.40 mg/g),将水煎液分别配成 22.5、45.0、90.0 mg/mL。

醋五味子、酒五味子水煎液制备:分别取醋五味子、酒五味子粗粉,同五味子水煎液制备方法制成醋五味子水煎液(含五味子醇甲 0.42 mg/g)、酒五味子水煎液(含五味子醇甲 0.45 mg/g)。

阳性对照药液制备:取桂附地黄丸,加纯净水制成 67.5 mg/mL 混悬液。

### 2.2 分组与给药

将小鼠随机分为 12 组:对照组,模型组,桂附地黄丸(1.35 g/kg)组,生五味子低、中、高剂量(生药 0.45、0.90、1.80 g/kg,其中低剂量相当

于临床常用量)组,醋五味子低、中、高剂量(生药 0.45、0.90、1.80 g/kg)组,酒五味子低、中、高剂量(生药 0.45、0.90、1.80 g/kg)组,每组 10 只。除对照组 ig 等体积生理盐水外,其他组均 ig 腺嘌呤(150 mg/kg),连续 15 d。造模成功后,桂附地黄丸组与五味子各给药组 ig 相应药液,对照组和模型组 ig 等体积生理盐水,给药体积 20 mL/kg,连续 20 d。每 3 天称体质量,记录观察精神行为状况。

### 2.3 检测指标

末次给药后小鼠禁食不禁水,24 h 后摘眼球取血,离心取血清,-20 °C 保存备用。严格按照试剂盒说明书提供方法,经过稀释、加样、温育、洗涤、显色后于 450 nm 处测定吸光度(A)值,计算皮质醇、睾酮、Cr 水平。

分离小鼠精囊腺、睾丸、肾脏,将精囊腺、睾丸用生理盐水洗净,滤纸拍干,于分析天平称定质量,计算脏器指数(脏器指数=脏器质量/小鼠体质量×1 000)。肾脏与睾丸取材后,用福尔马林浸泡,经脱水、透明、浸蜡、包埋、脱蜡、染色等步骤制成病理切片,在显微镜下观察。

### 2.4 统计学分析

数据均以  $\bar{x} \pm s$  表示,应用 SPSS 12.0 统计软件进行单因素方差分析,组间比较采用 *t* 检验。

## 3 结果

### 3.1 小鼠一般情况观察

模型组小鼠体毛疏松,蜷缩弓背,形体消瘦,反应迟钝,畏寒扎堆,小便增多,伴有“满月脸”,呈现较典型的肾阳虚症状,其肾脏多体积增大,颜色苍白,表面呈颗粒状。而对照组小鼠毛发整洁,活泼好动,眼睛有神,肾脏形态正常。各给药组中,桂附地黄丸组、酒五味子各剂量组、生五味子及醋五味子的中剂量组小鼠状态良好,与对照组相似;但生五味子、醋五味子的低、高剂量组有部分小鼠出现肾阳虚症状。

### 3.2 对肾阳虚小鼠血清皮质醇、睾酮和 Cr 的影响

与对照组比较,模型组小鼠血清皮质醇、睾酮水平显著降低( $P < 0.01$ ),Cr 水平显著升高( $P < 0.01$ );与模型组比较,各给药组小鼠血清皮质醇、睾酮水平不同程度升高( $P < 0.05$ 、 $0.01$ ),Cr 水平降低( $P < 0.05$ 、 $0.01$ )。各炮制品中,酒五味子组效果最好,生五味子组与醋五味子组之间差异不显著;不同剂量组中,对皮质醇、睾酮的影响,均以中剂量组效果最好。结果见表 1。

表1 五味子对肾虚小鼠血清皮质醇、睾酮、Cr水平的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 1 Effects of *Schisandrae Fructus* on levels of cortisol, testosterone, and creatinine in serum of kidney-yang deficiency mice ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量 / (g·kg <sup>-1</sup> )	皮质醇 / (μmol·L <sup>-1</sup> )	睾酮 / (μmol·L <sup>-1</sup> )	Cr / (μmol·L <sup>-1</sup> )
对照组	—	239.52 ± 15.63**	248.51 ± 4.74**	78.62 ± 5.32**
模型组	—	181.51 ± 12.20	142.52 ± 7.33	134.04 ± 9.56
桂附地黄丸	1.35	222.57 ± 24.29**	203.07 ± 9.20**	77.64 ± 9.60**
生五味子	0.45	198.76 ± 9.05	145.70 ± 4.15	94.36 ± 5.50**
	0.90	236.97 ± 14.47**	176.22 ± 7.11**	96.66 ± 12.89**
	1.80	204.47 ± 33.85*	148.47 ± 5.37	98.70 ± 3.37**
酒五味子	0.45	225.07 ± 24.37**△	161.54 ± 11.93**△△	100.65 ± 18.55**
	0.90	261.36 ± 19.43**△	210.81 ± 11.22**△△	88.11 ± 11.75**
	1.80	249.40 ± 29.49**△△	206.54 ± 8.77**△△	94.19 ± 10.93**
醋五味子	0.45	193.92 ± 14.20	139.76 ± 6.61	82.43 ± 6.32**△
	0.90	226.42 ± 26.01**	155.64 ± 1.17*△△	101.82 ± 7.91**
	1.80	191.28 ± 15.05	140.47 ± 4.41	98.44 ± 6.28**

与模型组比较: \*P<0.05 \*\*P<0.01; 与同剂量生五味子组比较: △P<0.05 △△P<0.01, 下同

\*P<0.05 \*\*P<0.01 vs model group; △P<0.05 △△P<0.01 vs raw *Schisandrae Fructus* group in same dosage, same as below

### 3.3 对肾虚小鼠睾丸、精囊腺脏器指数的影响

结果表明,与对照组比较,模型组小鼠的睾丸、精囊腺的脏器指数显著降低 (P<0.05、0.01),各给药组小鼠脏器指数较模型组有明显改善,其中醋五味子组中、高剂量组对小鼠睾丸指数的影响最为明显 (P<0.01),酒五味子的中、高剂量组及醋五味子的低剂量组对小鼠精囊腺的脏器指数影响较大 (P<0.01)。结果见表2。

### 3.4 各组小鼠肾脏和睾丸病理观察结果

对照组镜下所见肾脏结构清楚,肾小球结构形态完整,肾小管上皮细胞、管腔大小正常,肾小球系膜细胞稍增生,系膜区稍增宽。模型组镜下所见肾脏形态、结构破坏,肾小球萎缩,近端、远端小管不规则,管腔变大,结构模糊,肾小球内可见弥散性大量的炎性细胞,肾小球系膜细胞增生,系膜区增宽,被膜增厚。各给药组情况较模型组有所改善,但组间差异不十分明显,见图1。

对照组镜下所见睾丸组织形态、结构清晰完整,曲细精管上皮细胞排列紧密有序,横切面呈圆形或椭圆形,各期生精细胞形态大小正常,管腔内可见大量精子,各级生精细胞按次序规则排列于管壁上,染色质清晰,核仁明显,成熟的精子很多,支持细胞规则分布于生精细胞之间,睾丸间质少,间质细胞圆形或椭圆形,散在或群集于间质之中。模型组主要病理变化为管壁萎缩,生精细胞排列次序破坏,生精细胞变性、坏死以及变性的精子细胞

表2 五味子对肾虚小鼠睾丸和精囊腺脏器指数的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 2 Effects of *Schisandrae Fructus* on viscera indexes of seminal vesicle and testicle of kidney-yang deficiency mice ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量 / (g·kg <sup>-1</sup> )	睾丸 / %	精囊腺 / %
对照组	—	84.64 ± 12.75*	74.68 ± 4.31**
模型组	—	69.21 ± 15.19	18.13 ± 1.91
桂附地黄丸	1.35	79.56 ± 8.18*	34.25 ± 7.87**
生五味子	0.45	81.62 ± 1.79*	28.50 ± 3.27**
	0.90	81.05 ± 1.21*	28.29 ± 5.89**
	1.80	77.21 ± 1.04	18.99 ± 1.75
酒五味子	0.45	75.09 ± 6.77	23.49 ± 0.28*△
	0.90	85.78 ± 12.44*	30.86 ± 6.00**
	1.80	84.84 ± 13.05*	29.63 ± 7.04**△△
醋五味子	0.45	75.99 ± 8.40	30.82 ± 4.41**
	0.90	96.71 ± 10.41**△	20.85 ± 2.65△
	1.80	92.88 ± 9.78**△	26.49 ± 2.11*△

或精母细胞融合形成多核巨细胞,间质渗出液增多,局灶性损害,呈特殊的“斑点样”表现,即病变与正常生精小管交错存在,主要表现为生精上皮退行性病变,细胞层数减少,排列疏松、紊乱,精子发生停滞,大量生精细胞脱落于管腔中。各给药组情况较模型组有所改善,但组间差异不十分明显,见图2。

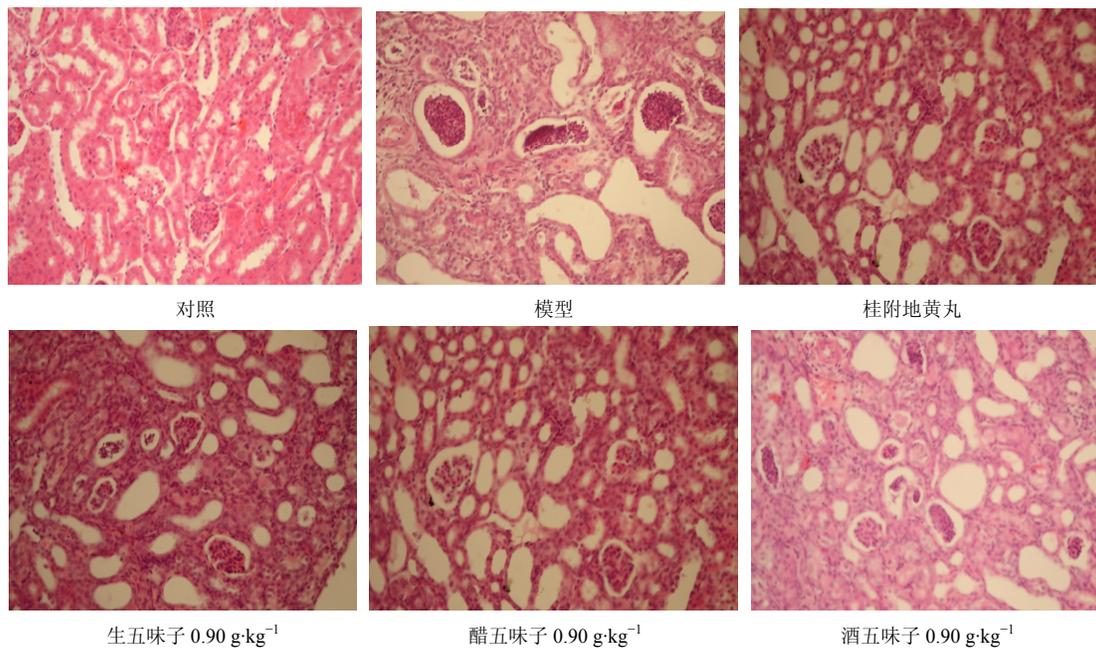


图 1 五味子对小鼠肾脏形态学改变的影响

Fig. 1 Effect of *Schisandrae Fructus* on morphological changes in kidneys of mice

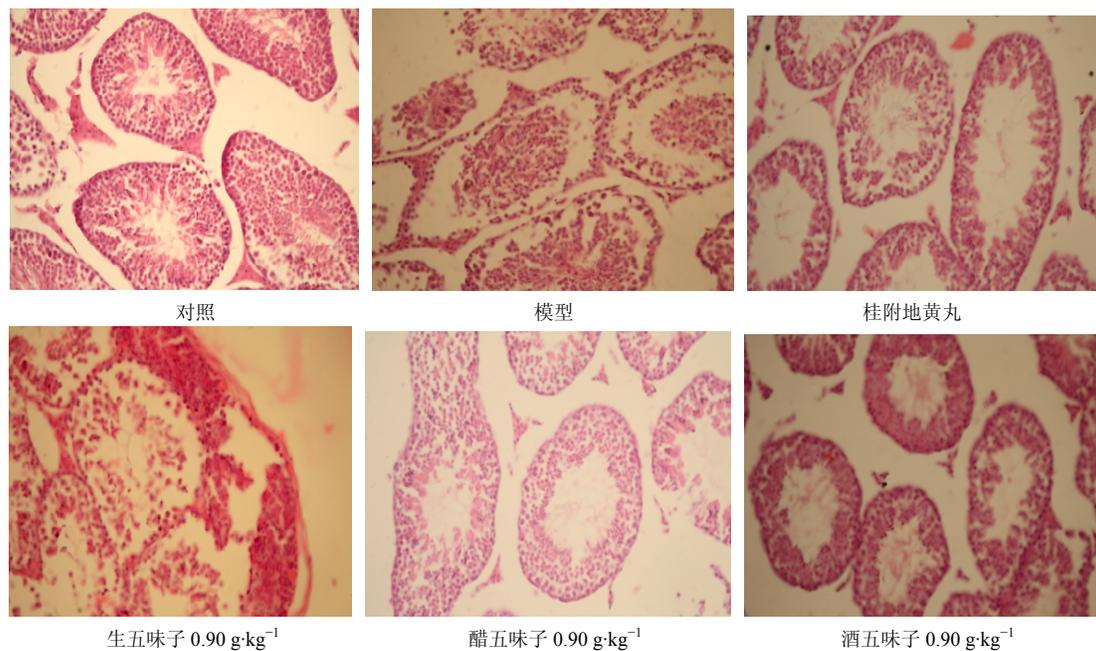


图 2 五味子对小鼠睾丸形态学改变的影响

Fig. 2 Effect of *Schisandrae Fructus* on morphological changes in testis of mice

#### 4 讨论

五味子为临床常用中药，益肾固精，炮制后更有“入补药熟用”的记载。1977 年以来历版《中国药典》收载五味子、醋五味子，而酒五味子为传统炮制品种，在唐宋时期就已有记载<sup>[7]</sup>，在 1963 年版《中国药典》中有收载，同时也被现行《全国中药

炮制规范》所收载，故本实验选择五味子、醋五味子、酒五味子进行比较研究。

腺嘌呤是广泛应用于临床的抗肿瘤类药物，是一种含氮杂环嘌呤类化合物，化学名为 6-氨基嘌呤，是合成维生素 B4（腺嘌呤磷酸盐）的主要原料，最终代谢产物为尿酸。研究表明，腺嘌呤可经消化

道吸收入血,在肝内形成极难溶于水的2,8-二羟基腺嘌呤,2,8-二羟基腺嘌呤在肾内大量沉积形成结晶,阻塞、压迫肾小管引起肾小管上皮损伤和肾间质肉芽肿性炎症,晚期出现肾小管间质纤维化,造成肾功能损害<sup>[8]</sup>。经腺嘌呤诱导后的动物模型可出现食欲下降、饮水量增多、尿量增多、畏寒、体毛稀疏、失去光泽等,符合中医学肾阳虚的典型体征,是祖国医学广泛认可的肾阳虚证模型的诱导药物<sup>[9]</sup>,优于糖皮质激素、甲状腺激素造模<sup>[10-11]</sup>。本实验中,给予腺嘌呤20 d后,模型组小鼠无论是外观状态,还是皮质醇、睾酮、Cr水平,以及精囊腺、睾丸脏器指数等均表明实验造模成功。

本研究结果表明五味子及其炮制品均能改善小鼠腺嘌呤中毒后的激素水平,并提高睾丸与精囊腺的脏器指数,其机制可能为改善睾丸的血液循环,增强睾丸功能,对下丘脑-垂体-肾上腺(HPA)轴有兴奋作用,从而皮质醇、睾酮水平升高,并减轻腺嘌呤对肾脏功能的损害,从而使Cr水平降低。

组织病理切片结果亦表明五味子及其炮制品对肾阳虚小鼠肾脏、睾丸具有一定程度的保护作用,但因实验周期较短,对于腺嘌呤所致的损伤,治疗作用不十分明显,今后研究中,可考虑适当延长实验周期,观察长时间给药后的治疗作用。

研究表明,五味子各炮制品中,对性激素的影响(如皮质醇、睾酮),均为中剂量组最好,其原因可能为中药成分复杂,当中剂量时某种成分能够促进性激素分泌,而高剂量时,可能有另一种成分对性激素分泌有抑制作用,从而使整体作用降低,故五味子及其炮制品未表现出较明显的量效关系。提示在临床应用于治疗肾阳虚时应注意五味子剂量的确定。

对激素水平的影响研究表明,酒五味子作用最优。关于五味子“入补药熟用”之说见于明代,而

醋五味子是近代新增品种,故古代“入补药熟用”的理论应该是指酒五味子,与本实验结果一致。提示在临床上用于治疗肾阳虚时,应首选酒五味子。

在今后的研究工作中,将对五味子补益作用的物质基础进行研究,为生制五味子的合理应用提供药理和化学方面的研究依据。

#### 参考文献

- [1] 中国药典[S].一部.2010.
- [2] 陆兔林,毛春芹,吕高虹,等.五味子不同炮制品补益作用的实验研究[J].中国药学杂志,2009,44(15):1147-1149.
- [3] 陆兔林,殷放宙,何箐旋,等.炮制对五味子药理作用的影响[J].中药材,2005,28(10):933-935.
- [4] 张铁梅,王宝思,刘耕陶.五味子乙素对原代培养大鼠肝细胞脂质过氧化作用[J].中国药理学报,1989,10(4):353-356.
- [5] 彭国端.五味子对家兔泌尿生殖系统酶组织化学的影响及其抗衰老作用的初步观察[J].上海中医药杂志,1989,35(2):43-44.
- [6] 史琳,王志成,冯叙桥.五味子化学成分及药理作用的研究进展[J].药物评价研究,2011,34(3):208-212.
- [7] 佟鑫,高慧,贾天柱.五味子“生熟异用”研究进展[J].中国中医药信息杂志,2013,20(12):1-3.
- [8] Philips F S, Thiersh J B, Bendic H A. Adenine intoxication in relation to *in vivo* formation and deposition of 2, 8-dioxyadenine in renal tubules [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 1990, 104: 20-30.
- [9] 李蕊,刘曼丽,田心,等.不同剂量腺嘌呤诱导肾阳虚不育大鼠模型实验研究[J].安徽中医学院学报,2010,29(2):41-44.
- [10] 陈奇.中药药理研究方法学[M].第2版.北京:人民卫生出版社,2006.
- [11] 邵命海,肖静,王毅兴,等.从“肾主生殖”角度评价腺嘌呤与氢化可的松诱导的肾阳虚模型[J].上海中医药杂志,2008,42(2):57-59.