

表 2 CSA 作用 24 h 后对 HepG2 细胞 $[Ca^{2+}]_i$ 的影响
($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Table 2 Effect of CSA on variation of $[Ca^{2+}]_i$
of HepG2 cells for 24 h ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

组 别	$\rho/(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$	$[Ca^{2+}]_i$ (荧光强度)
对照	-	15.758 $\pm$ 2.339
阿霉素	2.5	148.012 $\pm$ 28.344 **
CSA	75	30.358 $\pm$ 2.987
	150	48.232 $\pm$ 2.826 **
	300	76.574 $\pm$ 7.543 **

形态学观察是检测细胞凋亡最可靠的方法^[6], 本实验采用 Hoechst 33258 荧光染色方法观察了被不同质量浓度 CSA 作用 48 h 后的肿瘤细胞形态上的变化。从结果可知随着药物质量浓度的加大, 镜下凋亡细胞比例逐渐增加, 凋亡细胞特征性形态明显, 染色体 DNA 断裂并聚集成细小的凝聚块, 并可见到凋亡小体, 说明细胞在药物作用下产生凋亡。

流式细胞仪检测结果表明 CSA 处理 HepG2 细胞 72 h 后, 所有标本均出现“亚 G_1 期”峰, 提示细胞出现了凋亡, 凋亡细胞比率明显高于自然凋亡率。本实验还研究了不同质量浓度 CSA 作用于 HepG2 细胞 72 h 对其细胞周期的影响。实验结果发现, 各个剂量组均出现了 G_0/G_1 期细胞比例显著下降, S 期细胞比例显著升高的趋势, 在中剂量 (150 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 组, 出现了 G_2 期显著下降的现象, 提示 CSA 能够阻断细胞由 S 期向 G_2 期的移行, 导致细胞在 S 期大量堆积, 从而减少进入 G_2/M 期的细胞数目, 减少其有丝分裂和进入下一个细胞增殖周期, 并最终导致肿瘤细胞快速凋亡。

Ca^{2+} 与细胞凋亡的关系极其密切, 细胞钙信号是与细胞凋亡关系比较密切的信号分子^[7]。肿瘤细胞内 Ca^{2+} 浓度的持续性升高, 会通过不同途径诱导凋亡。本实验发现 CSA 在 150、300 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 可非常显著地升高 HepG2 细胞 $[Ca^{2+}]_i$ ($P < 0.01$), 并且随着药物剂量的增加, 细胞 $[Ca^{2+}]_i$ 增幅也相应地增大, 二者具有显著正相关性 ($r = 0.9982$), 说明细胞 $[Ca^{2+}]_i$ 与药物质量浓度呈量效正相关。结果提示, CSA 能够引起线粒体内 Ca^{2+} 缓慢积累导致线粒体 Ca^{2+} 超载, 能启动高导电性 PT 孔开放, 线粒体膜电位下降, 线粒体膨胀, 外膜破裂, 诱导凋亡。

CSA 能够引起 HepG2 细胞凋亡, 并能够阻断细胞由 S 期向 G_2 期的移行, 导致细胞内钙超载是其引起细胞凋亡的机制之一, 进一步的机制还有待于深入研究。

参考文献:

- [1] 朱江丽. 荨麻、老鼠瓜治风湿 [J]. 中国民族民间医药杂志, 1996, 20: 24-25.
- [2] Rhizopoulou S, Psaras G K. Development and structure of drought-tolerant leaves of the mediterranean shrub *Capparis spinosa* L. [J]. Ann Bot, 2003, 92: 377-383.
- [3] 季宇彬, 东方, 高世勇, 等. 野西瓜多糖诱导人肝癌 HepG2 细胞凋亡的实验研究 [J]. 中草药, 2008, 39(9): 1364-1367.
- [4] 美丽万, 阿不都热依木, 张晓玲. 正交设计法优选维药老鼠瓜生物碱提取工艺的研究 [J]. 时珍国医国药, 2007, 18(2): 344-345.
- [5] 姜 薇, 林文翰, 郭守东. 野西瓜果实的化学成分研究 [J]. 哈尔滨商业大学学报: 自然科学版, 2005, 21(16): 684-689.
- [6] 刘 镭, 邢 达, 陈同生, 等. 利用荧光探针 DsRed-Mit 的细胞凋亡形态学研究 [J]. 激光生物学报, 2006, 15(3): 267-270.
- [7] 郭 静, 蒲咏梅, 张东才. 钙离子信号与细胞凋亡 [J]. 生物物理学报, 2005, 1: 112-114.

海马不同提取物对雌二醇致肾阳虚小鼠的影响

陈素红¹, 吕圭源^{2*}, 范 景², 颜美秋², 叶 合², 方 哲², 汤小华¹, 吴海峰¹

(1. 温州医学院, 浙江 温州 325035; 2. 浙江中医药大学, 浙江 杭州 310053)

摘 要:目的 观察海马 4 个提取物(水、正丁醇、醋酸乙酯、石油醚提取物)对雌二醇致肾阳虚模型小鼠的影响, 认识其“甘、温、入肝、肾经”药性的现代科学内涵。方法 采用 ip 苯甲酸雌二醇造成小鼠肾阳虚模型, 对小鼠体征、肛温、抓力、游泳时间、自主活动、血清肌酐 (Cr) 及尿素 (UR)、血液学指标、睾丸和精囊腺指数进行测定。结果 海马 4 个提取物均能改善肾阳虚小鼠体征, 升高精囊腺指数和血液 RBC、Hb、PLT, 降低血清 UR 水平; 海马水提取物、石油醚提取物均能提高肾阳虚小鼠肛温、抓力、游泳时间、自主活动次数、睾丸指数、WBC、淋巴细胞 (LY)、单核细胞 (MO)、嗜中性粒细胞 (NE); 正丁醇提取物能提高小鼠自主活动次数、NE; 醋酸乙酯提取物能提高小鼠抓力、游泳时间。结论 海马的药效可作为改善肾阳虚证之腰膝酸软、性欲减退、畏寒肢冷、精神萎靡、阳虚水泛, 以

* 收稿日期: 2008-05-11

基金项目: 国家重点基础研究发展计划 (973 计划), 资助项目 (2007CB512603)

作者简介: 陈素红 (1973—), 女, 副教授, 博士, 硕士生导师, 主要从事中药药理及产品开发。

* 通讯作者 吕圭源 Tel: (0571) 86613601 E-mail: lv.gy@263.net

及肾精亏虚、肝气虚弱所致血液亏虚的基础,并作为其甘温、入肝、肾经药性现代科学内涵的组成部分。海马水提取物和石油醚提取物的作用较为接近且较强,为认识海马甘、温、归肝肾经共同药效物质群提供了启示。

关键词:海马;肾阳虚;甘温;肝经;肾经

中图分类号:R285.1

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2009)02-0258-05

Effects of different extracts from *Hippocampus japonicus* on kidney-yang deficiency mice induced by estradiol

CHEN Su-hong¹, LU Gui-yuan², FAN Jing², YAN Mei-qiu²,
YE He², FANG Zhe², TANG Xiao-hua¹, WU Hai-feng¹

(1. Wenzhou Medical College, Wenzhou 325035, China; 2. Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China)

Abstract : Objective To observe effects of four extracts (water, *n*-butanol, acetoacetate and petroleum benzene extracts) from *Hippocampus japonicus* on kidney-yang deficiency mice induced by estradiol, and reveal the modern scientific connotation about sweet-flavor, warm-nature, meridian tropism in liver and kidney. **Methods** Kidney-yang deficiency mice was induced by intraperitoneal injection of estradiol benzoate. Effects of four extracts from *H. japonicus* were observed by measuring physical signs, rectal temperature, grip strength, swimming time, autonomic mobility, creatinine (Cr) and urea (UR) level in serum, haematological indexes, testis index and seminal vesicle index. **Results** All the four extracts from *H. japonicus* could markedly improve physical signs and increase seminal vesicle index, RBC, Hb and PLT in blood, and decrease UR level in serum of kidney-yang deficiency mice, water extract and petroleum benzene extract could increase rectal temperature, grip strength, swimming time, autonomic mobility, testis index, WBC, lymphocyte (LY), monocyte (MO), and neutrophilic granulocyte (NE), *n*-butanol extract could increase autonomic mobility and NE, acetoacetate extract could enhance grip strength and prolong swimming time. **Conclusion** All above effects of extracts from *H. japonicus* could be as the basic of improving kidney-yang deficiency, could be an important part of the modern scientific connotation about sweet-flavor, warm-nature, meridian tropism in liver and kidney. Effects of water extract and petroleum ether extract were closer and stronger, which offer enlightenment for searching the common effective substance groups of *H. japonicus*.

Key words: *Hippocampus japonicus* Kaup; kidney-yang deficiency; sweet-warm; liver meridian; kidney meridian

《中国药典》2005 年版记载海马味甘、性温,归肝、肾经,功能温肾壮阳,散结消肿。《本草纲目》曰“海马可暖五脏、壮阳道、消癥块、治疗疮肿毒。”海马用于治疗各种肾阳不足所致之证^[1]。为探讨其性、味、归经在功能方面的现代科学内涵,本课题组制备了雌二醇致肾阳虚动物模型,根据肾阳虚证的中医临床指征,药效学研究观察指标尽可能符合中医药特点。

1 材料

1.1 药物:海马,批号 071105,购自浙江中医药大学中药饮片厂,经浙江中医药大学中药鉴定教研室黄真教授鉴定为海龙科动物小海马 *Hippocampus japonicus* Kaup 去皮膜及内脏的干燥体。药材先制成水提取物(含胆甾醇 0.26 mg/g);再取药材用 10 倍体积 95% 乙醇提取 3 次,分别制成石油醚提取物(含胆甾醇 8.27 mg/g)、醋酸乙酯提取物、正丁醇提取物。4 个提取物分别加聚山梨酯-80 稀释至生药 0.10 g/mL。

1.2 试剂:肌酐(Cr)、尿素(UR)试剂盒,上海复兴长征医学科学有限公司,批号 P071254、P080431)。血液分析试剂(美国 A Drew Scientific Group Co.,批号 5018)。苯甲酸雌二醇(上海通用药业股份有限公司,批号 070902)。桂附地黄丸(兰州太宝制药有限公司,批号 80080542)。

1.3 动物:ICR 小鼠,雄性,体质量 18~22 g,由浙江省实验动物中心提供,合格证号:SCXK(浙)2003-0001。

1.4 仪器:HEMAVET950 动物血液分析仪(美国 A Drew Scientific Group Co.);X-Z4 型 5 光道小鼠自发活动自动记录仪、YSL-13A 大小鼠抓力测定仪(山东省医学科学院设备供应维修站);威图 SELECTRA-E 全自动生化仪(荷兰威图公司);DT-ITB 电子体温计(上海华辰医用仪表有限公司);LP123 电子天平(常熟市衡器厂)。

2 方法

2.1 造模与给药:健康 ICR 雄性小鼠 84 只,随机分为对照组,模型组,桂附地黄丸组,海马水提取物组、正丁醇提取物组、醋酸乙酯提取物、石油醚提取物组,共 7 组,每组 12 只。除对照组,其余 6 组按 0.1 mL/10 g ip 0.4 mg/mL 苯甲酸雌二醇大豆油稀释液,每日 1 次,连续 15 d,造成肾阳虚模型^[2]。各受试药组给予相应的生药 0.10 g/mL 提取物,桂附地黄丸组给予生药 0.15 g/mL 桂附地黄丸混悬液,对照组和模型组给予 0.4% 聚山梨酯-80,ig 给药,每日 1 次,连续 15 d,体积为 0.1 mL/10 g。

2.2 指标检测:观察小鼠一般体征。于给药前 3 d 和给药第 12 天测量肛温。给药前 3 d 和给药第 13 天测定游泳时间,超过 1 h 的以 1 h 计。给药前 2 d 和给药第 14 天测定抓力,每只小鼠连续测定 2 次,取平均值。给药前 1 d 和给药第 15、16 天,记录 10 min 内小鼠自主活动次数。末次给药后,摘眼球取血,一份不加抗凝剂,取血清,依说明书测定血清 Cr、UR;另一份加枸橼酸钠抗凝,取血后 4 h 内测血液学指标:红细胞数量(RBC)、血红蛋白浓度(Hb)、平均红细胞体积(MCV)、平均红细胞血红蛋白量(MCH)、平均红细胞血红蛋白浓度(MCHC)、血小板数量(PLT)、白细胞数量(WBC)、嗜中性粒细胞数量(NE)、淋巴细胞数量(LY)、单核细胞数量(MO)、嗜酸性粒细胞数量(EO)、嗜碱性粒细胞数量(BA)。处死小鼠,取睾丸、精囊腺,计算脏器指数。

2.3 统计分析:数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验。

3 结果

3.1 对一般体征的影响:对照组小鼠皮毛干爽光滑,精神状态良好,喜动而不喜卧。模型组小鼠皮毛汗湿竖立,精神萎靡,弓背萎缩,喜挤卧而不喜动。海马 4 个提取物组在实验前期(给药第 1~7 天)也出现与模型组小鼠相同体征,但在实验后期(给药第 8~15 天)逐渐恢复正常。

3.2 对肛温的影响:给药前各组间肛温无明显差异;与对照组比较,给药第 12 天,模型组肛温明显降低($P < 0.01$),体温下降说明造模成功;与模型组比较,海马水提取物组和石油醚提取物组的肛温明显升高($P < 0.01$),正丁醇提取物对肛温有升高趋势。说明海马具有升高肾阳虚小鼠肛温的作用,见表 1。

3.3 对游泳时间的影响:给药前,各组间游泳时间无明显差异。与对照组比较,给药第 13 天模型组游泳时间显著减少($P < 0.01$),说明造模成功;与模型

组比较,海马水提取物组、醋酸乙酯提取物组和石油醚提取物组游泳时间明显延长($P < 0.01$),正丁醇提取物亦有升高趋势。说明海马可能有改善肾阳虚小鼠腰膝酸软的作用,见表 1。

3.4 对抓力的影响:给药前,各组间抓力无明显差异。给药后,与对照组比较,给药第 14 天模型组小鼠抓力显著减弱($P < 0.01$),说明造模成功;与模型组比较,海马水提取物、醋酸乙酯提取物和石油醚提取物组小鼠抓力明显增强($P < 0.01, 0.05$),正丁醇提取物有升高趋势。说明海马可能具改善肾阳虚小鼠腰膝酸软的作用,见表 1。

3.5 对自主活动的影响:给药前,各组间自主活动无明显差异。给药后,与对照组比较,给药第 15~16 天,模型组小鼠自主活动次数明显减少($P < 0.01$),说明精神萎靡造模成功;与模型组比较,海马水提取物、正丁醇提取物和石油醚提取物组自主活动次数显著增多($P < 0.01$),醋酸乙酯提取物有增加趋势。说明海马具改善肾阳虚小鼠精神萎靡的作用,见表 1。

3.6 对血清 Cr、UR 水平的影响:与对照组比较,模型组 Cr 水平有升高趋势;与模型组比较,海马水提取物、正丁醇提取物、醋酸乙酯提取物皆有降低 Cr 水平趋势。与对照组比较,模型组 UR 水平显著升高($P < 0.01$),说明造模成功;与模型组比较,海马 4 个提取物组皆能明显降低 UR 水平($P < 0.01, 0.05$)。说明海马具有降低肾阳虚小鼠肾功能血生化 UR 水平的作用,见表 2。

3.7 对血液学指标的影响:与模型组比较,海马 4 个提取物组皆明显升高 RBC、Hb($P < 0.01$)。与模型组比较,海马水提取物和石油醚提取物组 WBC、LY、MO、NE 明显升高($P < 0.05$),EO、BA 变化不明显。与模型组比较,海马 4 个提取物组 PLT 均显著升高($P < 0.05, 0.01$)。说明海马提取物能不同程度地影响肾阳虚小鼠血液学指标,见表 2 和 3。

3.8 对小鼠睾丸、精囊腺指数的影响:与对照组比较,模型组睾丸指数明显减小($P < 0.01$);与模型组比较,海马水提取物组和石油醚提取物组睾丸指数显著升高($P < 0.01$),正丁醇提取物和醋酸乙酯提取物有改善趋势。与对照组比较,模型组精囊腺指数明显减小($P < 0.01$);与模型组比较,海马 4 个提取物组精囊腺指数皆显著升高($P < 0.01, 0.05$)。模型组睾丸、精囊腺指数低于对照组,说明成功;受试药组睾丸、精囊腺指数高于模型组,说明海马具有改善肾阳虚小鼠性欲减退的作用。结果见表 4。

表 1 海马提取物对雌二醇致肾阳虚小鼠肛温、游泳时间、抓力、自主活动的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 12$)

Table 1 Effect of extracts from *H. japonicus* on rectal temperature, swimming time, grip strength, and autonomic mobility of kidney-yang deficiency mice induced by estradiol ($\bar{x} \pm s$, $n = 12$)

组别	剂量/ (g · kg ⁻¹)	肛温/		游泳时间/min		抓力/g		自主活动/(次 · 10 min ⁻¹)	
		给药前 3 d	给药第 12 天	给药前 3 d	给药第 13 天	给药前 2 d	给药第 14 天	给药前 1 d	给药第 15、16 天
对照	-	37.6 ± 0.6	36.6 ± 0.6	52.9 ± 5.1	51.8 ± 13.0	150.5 ± 19.4	324.6 ± 45.4	353.3 ± 70.3	236.1 ± 49.8
模型	-	37.5 ± 0.5	35.5 ± 0.6	50.3 ± 9.1	34.0 ± 12.8	159.4 ± 19.5	193.1 ± 24.4	375.9 ± 57.6	162.3 ± 28.1
桂附地黄丸	1.5	37.5 ± 0.6	35.7 ± 0.7	53.9 ± 5.9	46.2 ± 12.7 *	157.5 ± 37.5	326.2 ± 63.2 **	392.2 ± 33.7	294.6 ± 111.9 **
海马水提取物	1.0	37.4 ± 0.4	36.3 ± 0.3 **	52.0 ± 7.5	53.8 ± 10.7 **	166.3 ± 23.3	227.2 ± 55.5 *	353.1 ± 45.6	248.7 ± 92.4 **
海马正丁醇提取物	1.0	37.5 ± 0.7	35.9 ± 0.5	57.0 ± 5.6	42.9 ± 15.9	154.8 ± 34.1	210.8 ± 37.5	365.9 ± 33.3	257.3 ± 84.8 **
海马醋酸乙酯提取物	1.0	37.6 ± 0.4	35.4 ± 0.6	51.0 ± 6.3	51.5 ± 9.6 **	149.9 ± 29.7	309.4 ± 46.1 **	389.4 ± 59.2	182.0 ± 79.1
海马石油醚提取物	1.0	36.9 ± 0.7	36.2 ± 0.6 **	54.0 ± 10.3	56.5 ± 10.2 **	158.2 ± 31.4	287.6 ± 39.2 **	379.7 ± 39.7	323.5 ± 71.7 **

与对照组比较: $P < 0.01$; 与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 下表同

$P < 0.01$ vs control group; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs model group; Following tables are same

表 2 海马提取物对雌二醇致肾阳虚小鼠血清 Cr、UR 水平及红细胞参数的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 12$)

Table 2 Effects of extract from *H. japonicus* on Cr and UR levels in serum and RBC parameters of kidney-yang deficiency mice induced by estradiol ($\bar{x} \pm s$, $n = 12$)

组别	剂量/ (g · kg ⁻¹)	Cr/ (μmol · L ⁻¹)	UR/ (mmol · L ⁻¹)	RBC/ (1 × 10 ¹² · L ⁻¹)	Hb/ (g · L ⁻¹)	MCV/ fL	MCH/ pg	MCHC/ (g · L ⁻¹)
对照	-	36.4 ± 4.1	6.29 ± 1.12	8.84 ± 1.85	117.2 ± 26.7	77.5 ± 4.9	13.2 ± 0.5	182.9 ± 6.4
模型	-	39.4 ± 4.9	8.51 ± 1.36	9.61 ± 1.44	127.3 ± 20.1	78.3 ± 2.8	13.3 ± 1.6	170.3 ± 19.8
桂附地黄丸	1.5	37.9 ± 3.7	7.20 ± 1.45 **	9.83 ± 0.90	138.1 ± 13.2 *	79.7 ± 1.8	14.1 ± 0.8	176.6 ± 10.8
海马水提取物	1.0	37.1 ± 3.2	6.78 ± 2.47 **	11.60 ± 0.76 **	161.8 ± 10.5 **	79.3 ± 2.2	14.0 ± 0.5	175.9 ± 7.1
海马正丁醇提取物	1.0	37.2 ± 3.3	6.84 ± 0.60 **	12.44 ± 1.06 **	175.4 ± 16.4 **	79.6 ± 2.4	14.1 ± 0.4	177.1 ± 3.5
海马醋酸乙酯提取物	1.0	36.5 ± 3.3	6.14 ± 1.52 *	11.61 ± 0.71 **	162.0 ± 9.3 **	74.5 ± 17.7	14.0 ± 0.5	174.8 ± 2.4
海马石油醚提取物	1.0	39.1 ± 4.3	6.66 ± 1.28 **	11.14 ± 2.23 **	157.7 ± 21.9 **	83.0 ± 13.7	14.4 ± 1.7	174.2 ± 7.2

表 3 海马提取物对雌二醇致肾阳虚小鼠白细胞参数及 PLT 的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 12$)

Table 3 Effects of extract from *H. japonicus* on leukocyte parameters and PLT of kidney-yang deficiency mice induced by estradiol ($\bar{x} \pm s$, $n = 12$)

组别	剂量/ (g · kg ⁻¹)	WBC/ (1 × 10 ⁹ · L ⁻¹)	LY/ (1 × 10 ⁹ · L ⁻¹)	MO/ (1 × 10 ⁹ · L ⁻¹)	NE/ (1 × 10 ⁹ · L ⁻¹)	EO/ (1 × 10 ⁹ · L ⁻¹)	BA/ (1 × 10 ⁹ · L ⁻¹)	PLT/(1 × 10 ⁹ · L ⁻¹)
对照	-	4.30 ± 1.45	2.84 ± 0.86	0.54 ± 0.30	0.85 ± 0.65	0.05 ± 0.05	0.02 ± 0.02	317.6 ± 107.1
模型	-	3.77 ± 1.55	2.72 ± 0.91	0.30 ± 0.21	0.67 ± 0.52	0.08 ± 0.08	0.02 ± 0.03	332.6 ± 100.0
桂附地黄丸	1.5	3.94 ± 1.43	2.78 ± 0.81	0.26 ± 0.11	0.77 ± 0.46	0.10 ± 0.11	0.04 ± 0.05	476.1 ± 214.3 *
海马水提取物	1.0	4.92 ± 1.40 *	3.53 ± 0.64 *	0.43 ± 0.06 *	1.05 ± 0.17 *	0.04 ± 0.06	0.01 ± 0.03	416.5 ± 124.6 **
海马正丁醇提取物	1.0	4.36 ± 0.93	2.89 ± 0.72	0.31 ± 0.15	1.13 ± 0.55 *	0.02 ± 0.02	0.01 ± 0.00	491.2 ± 165.6 **
海马醋酸乙酯提取物	1.0	4.70 ± 0.95	3.36 ± 0.98	0.37 ± 0.18	0.89 ± 0.55	0.05 ± 0.08	0.01 ± 0.03	477.5 ± 158.5 *
海马石油醚提取物	1.0	4.88 ± 1.34 *	3.46 ± 0.76 *	0.43 ± 0.07 *	1.25 ± 1.34 *	0.12 ± 0.14	0.03 ± 0.05	557.3 ± 117.5 **

表 4 海马提取物对雌二醇致肾阳虚小鼠睾丸、精囊腺指数的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 12$)

Table 4 Effects of extract from *H. japonicus* on testis and seminal vesicle indexes of kidney-yang deficiency mice induced by estradiol ($\bar{x} \pm s$, $n = 12$)

组别	剂量/(g · kg ⁻¹)	睾丸指数/%	精囊腺指数/%
对照	-	0.789 ± 0.090	0.429 ± 0.120
模型	-	0.394 ± 0.141	0.121 ± 0.033
桂附地黄丸	1.5	0.513 ± 0.169	0.183 ± 0.068 **
海马水提取物	1.0	0.586 ± 0.131 **	0.195 ± 0.041 **
海马正丁醇提取物	1.0	0.503 ± 0.158	0.182 ± 0.047 **
海马醋酸乙酯提取物	1.0	0.485 ± 0.156	0.153 ± 0.044 *
海马石油醚提取物	1.0	0.549 ± 0.163 **	0.206 ± 0.046 **

4 讨论

肾阳虚证的主症有腰膝酸软,性欲减退,畏寒肢冷;次症有精神萎靡,夜尿频多,下肢浮肿,动则气促,发槁齿摇,舌淡苔白,脉沉迟。具备以上主症 2 项、次症 2 项,即可诊断为肾阳虚证。

腰膝酸软是肾阳虚证主症之一,该症定位于肾,因肾主骨,而寒凝于肾致痛所致^[3]。本实验模型小鼠抓力减小和游泳时间缩短反映该症。结果,海马水提取物、石油醚提取物和醋酸乙酯提取物均能不同程度提高小鼠抓力和延长游泳时间,这可能与海马性温、归肾经,能温阳补肾,从而改善腰膝酸软症状有关。

性欲冷淡是肾阳虚证主症之二,该症定位于肾,是由肾阳虚衰,精失而藏所致^[3]。本实验考察了生殖器官指数。结果,海马 4 个提取物均能提高小鼠囊腺指数,水提取物和石油醚提取物能提高辜丸指数。这些作用可能与海马甘温入肾,能温补肾阳、填精益肾,从而改善性欲冷淡症状有关。

畏寒肢冷是肾阳虚证的主症之三,该症是阳虚证的一般表现,表现为四肢发冷^[3]。海马水提取物和石油醚提取物能提高小鼠肛温,这可能与海马性温,能温阳散寒,改善畏寒肢冷症状有关。

精神萎靡是肾阳虚证次证之一,喜静不喜动为阳虚的一般表现^[3]。海马水、石油醚、正丁醇提取物均能增加小鼠自主活动次数,这可能与海马性温,能温补阳气,从而改善精神萎靡状态功能有关。

肾阳虚水泛为兼证,常以血清 Cr、UR 水平升高反映该证^[4]。结果,海马 4 个提取物均能降低 UR 水平,这可能与海马性温、归肾经,能温阳行气利水,从而改善阳虚水泛有关。

由于肾精亏虚及肝气虚弱导致化血无力、肝不

藏血,最终致使血液亏虚^[3]。血液学指标结果显示,海马的 4 个提取物能不同程度升高 RBC、Hb、PLT;水和石油醚提取物还可升高 WBC、LY、MO。这些作用可能与海马甘温入肝肾,能补肾填精,温阳补血,从而改善化血无力、肝不藏血有关。

海马不同提取物的上述药理作用,说明海马甘温、归肝肾经,则能改善肾阳虚证之腰膝酸软、性欲减退、畏寒肢冷、精神萎靡、阳虚水泛,以及肾精亏虚、肝气虚弱所致血液亏虚。这些药效学研究结果可认为是海马甘、温、归肝肾经的主要药效群。海马水提取物和石油醚提取物的作用较为接近且较强,这为其甘、温、归肝肾经共同药效群的药效物质群提供了启示。

参考文献:

- [1] 田代华. 实用中药辞典 [M]. 北京:人民卫生出版社, 2005.
- [2] 苗明三, 朱飞鹏. 常用医药研究动物模型 [M]. 北京:人民卫生出版社, 2007.
- [3] 印会河, 童 瑶. 中医基础理论 [M]. 北京:人民卫生出版社, 2007.
- [4] 赵洪钧. 三种小鼠“肾虚”模型的生化指标比较研究 [J]. 中国中医基础医学杂志, 1997, 3(5): 60-61.

蛹虫草菌丝体醇提物对氢化可的松致小鼠肝损伤的保护作用

施明珠^{1,2}, 李有贵², 钟 石², 樊美珍¹, 计东风^{2*}

(1. 安徽省微生物防治重点实验室, 安徽 合肥 230036; 2. 浙江省农业科学院, 浙江 杭州 310021)

摘要:目的 研究蛹虫草菌丝体醇提物对外源性糖皮质激素氢化可的松致老龄小鼠肝损伤的治疗作用,并对其进行机制进行探讨。方法 ICR 雄性老龄小鼠随机分为对照组,模型组和蛹虫草菌丝体醇提物低、中、高剂量 (0.167、0.334、0.668 g/kg) 组。除对照组外各组均 im 氢化可的松 (25 mg/kg) 造模,实验结束时测定小鼠肝组织丙二醛 (MDA) 水平及 ATP 酶 (Na^+ , K^+ -ATP、 Ca^{2+} , Mg^{2+} -ATP)、超氧化物歧化酶 (SOD) 和谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 活性;同时通过光镜观察小鼠肝组织结构病理变化。结果 蛹虫草菌丝体醇提物可显著提高模型小鼠肝组织 ATP 酶、SOD 和 GSH-Px 活性;降低脂质过氧化物 MDA 水平;减轻氢化可的松引起的肝组织病理损伤。结论 蛹虫草菌丝体醇提物对氢化可的松致小鼠肝脏损伤具有明显的保护作用。

关键词:蛹虫草; 氢化可的松; 肝损伤

中图分类号:R285.5

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2009)02-0262-04

蛹虫草 *Cordyceps militaris* (L. ex Fr.) Link, 又称北冬虫夏草,是一种传统的名贵中药材,具有抑制肿瘤、增强免疫力、抗氧化、抗疲劳、抗炎等多种药理作用^[1,2]。大量临床和实验结果表明,虫草及虫草菌丝体对化学性、免疫性、病毒性等肝损伤具有一定程度的保护作用^[3]。现代药理研究发现,外

源性糖皮质激素氢化可的松造成的动物模型,其病理改变集中发生在肝、肾、心、脾、肺等器官。因此,本实验以老龄模型小鼠为对象,对小鼠肝脏中一些相关生化指标进行测量,结合小鼠肝脏病理变化,探讨人工蛹虫草菌丝体醇提物对外源性糖皮质激素氢化可的松致老龄小鼠肝损伤的治疗作用及其可能机制,为进

* 收稿日期:2008-05-05

基金项目:浙江省重大国际科技合作项目资助 (2004C14009)

作者简介:施明珠 (1982—),男,江苏淮安人,硕士研究生,主要从事虫生真菌研究。

*通讯作者 计东风 Tel: (0571) 86404288 E-mail: shimingzhu2005@126.com