

海马补肾丸滋阴补肾作用研究

只德广¹, 庞纪平^{2,3}, 金兆祥³, 陈芙蓉^{1*}, 王玉晶³, 范迪³, 姜溪¹, 岳南¹

1. 天津药物研究院新药评价有限公司, 天津 300301

2. 天津中新药业集团股份有限公司中新制药厂, 天津 300457

3. 天津中新药业集团股份有限公司乐仁堂制药厂, 天津 300112

摘要: 目的 采用多种实验模型评价海马补肾丸滋阴补肾作用, 为临床提供实验依据。方法 采用 im 氢化可的松致小鼠肾阳虚模型, 观察海马补肾丸抗阳虚作用; 采用 ig 甲状腺素加利血平致小鼠肾阴虚模型, 观察海马补肾丸抗阴虚作用; 采用 im 氢化可的松致大鼠肾阳虚模型, 观察海马补肾丸对勃起功能的影响; 采用去势雄性大鼠模型及正常幼龄雄性大鼠连续 ig 给药, 观察海马补肾丸雄性激素样作用。结果 给药 10 d, 海马补肾丸 1.1、2.2 g/kg 明显增加肾阳虚小鼠的自主活动次数, 延长低温游泳时间, 增加胸腺、脾脏的脏器指数; 明显减少肾阴虚小鼠跳台错误次数、延长错误潜伏期, 明显提高小鼠痛阈, 增加小鼠胸腺、脾脏的脏器指数。给药 2 周, 海马补肾丸 0.56、1.12 g/kg 明显增加大鼠 bR/rR 值、海绵体内压, 明显改善勃起功能; 明显增加去势大鼠血清睾酮 (T) 水平及前列腺、包皮腺、提肛肌的脏器指数; 明显增加正常幼龄大鼠 T、促卵泡激素 (FSH) 水平及精液囊的脏器指数。结论 海马补肾丸具有明显的滋阴补肾作用。

关键词: 海马补肾丸; 滋阴补肾; 去势; 肾阳虚; 雄激素; 勃起

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2019)11-2632-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.11.019

Effect of Haima Bushen Pills on nourishing *yin* and reinforcing kidney

ZHI De-guang¹, PANG Ji-ping^{2,3}, JIN Zhao-xiang³, CHEN Fu-rong¹, WANG Yu-jing³, FAN Di³, JIANG Xi¹, YUE Nan¹

1. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research New Drug Evaluation Co., Ltd., Tianjin 300301, China

2. Zhongxin Pharmaceutical Factory, Tianjin Zhongxin Pharmaceutical Group Co., Ltd., Tianjin 300457, China

3. Lerentang Factory, Tianjin Zhongxin Pharmaceutical Group Co., Ltd., Tianjin 300112, China

Abstract: Objective To evaluate the effect of Haima Bushen Pills (HBP) on nourishing *yin* and reinforcing kidney, and study the mechanism of the action with aim to provide the experimental evidence for the clinic. **Methods** Rats model with kidney-*yang* deficiency was induced by hydrocortisone through intramuscular injection to observe the anti kidney-*yang* deficiency effect of HBP. The effect of HBP against kidney-*yin* deficiency was observed using the kidney-*yin* deficiency model induced by oral administration of thyroxine and reserpine. The effect of HBP on erectile function was observed by intramuscular injection of hydrocortisone in rats. Castrated male rats and normal young male rats were administered orally to observe the androgenic effect of HBP. **Results** After 10 d of administration, HBP at dose of 1.1 g/kg and 2.2 g/kg significantly increased the number of autonomic activities of kidney-*yang* deficiency mice, extended the duration of low-temperature swimming, and increased the organ coefficients of thymus and spleen. It also significantly reduced the number of platform jumping errors and prolonged the incubation period of errors, significantly increased the pain threshold and increased the organ coefficients of thymus and spleen in mice with kidney-*yin* deficiency. After 2 weeks of administration, HBP at doses of 0.56 g/kg and 1.12 g/kg significantly increased the bR/rR ratio and intravitreal pressure in rats, significantly improved the erectile function, significantly increased the serum testosterone (T) concentration and the viscera coefficients of prostate, foreskin gland and levator ANI of castrated rats. The serum concentration of testosterone (T), follicle-stimulating hormone (FSH) and viscera index of seminal vesicle were significantly increased in normal young rats after administration of HBP. **Conclusion** HBP has obvious effect on nourishing *yin* and reinforcing kidney.

Key words: Haima Bushen Pills; nourishing *yin* and reinforcing kidney; castration; kidney *yang* deficiency; androgen; erection

收稿日期: 2018-12-11

作者简介: 只德广, 男, 本科, 副研究员, 研究方向为药理学。E-mail: zdg_tj@163.com

*通讯作者 陈芙蓉, 女, 硕士, 副研究员, 研究方向为药理学。E-mail: chenfr@tjipr.com

海马补肾丸为临床名方，由鹿茸、鹿肾、海马、虎骨等 36 味药材组成，具有滋阴补肾、强壮健脑的功效，临床用于身体衰弱、气血两亏、肾气不足、面黄肌瘦、心跳气短、腰酸腿疼、健忘虚喘等临床症状。本实验采用多种动物模型，研究海马补肾丸滋阴补肾作用及机制，为其临床应用提供实验依据。

1 材料

1.1 药物与试剂

海马补肾丸（0.27 g/丸，批号 0340157），天津乐仁堂制药厂；龟龄集胶囊（0.3 g/粒，批号 103170408），山西广誉远国药有限公司；丙酸睾酮注射液（25 mg/mL，批号 1405221），天津金耀药业有限公司；六味地黄丸（批号 171210048），药圣堂（湖南）制药有限公司；复方利血平片（批号 361171111），石药集团欧意药业有限公司；甲状腺片（40 mg/片，批号 170205），山东省惠诺药业有限公司；氢化可的松注射液（规格每支 10 mg、2 mL，批号 1702015、1702016），百正药业有限公司；橄榄油（分析纯，批号 F20100512），国药集团化学试剂有限公司；羧甲基纤维素钠（批号 20110520），上海禾丰化学试剂有限公司；大鼠促黄体生成素（LH）、睾酮（T）、促卵泡激素（FSH）、血清皮质酮（CORT）、促肾上腺皮质激素（ACTH）酶联免疫试剂盒，上海依赫生物科技有限公司。

1.2 仪器

JZZ98-CM 动物自主活动检测仪及 JZZ98-鼠跳台、避暗检测仪，中国医学科学院药物研究所；TP-400 压力换能器、SEN-3201 电刺激器，日本光电工业株式会社；MP-150 数据采集系统，美国 Biopac 公司；RT-6100 型酶标仪，深圳雷杜生命科学股份有限公司；FA1104 型电子天平、TGL-16B 型高速台式离心机，上海安亭科学仪器厂；SSW-600-2S 型电热恒温水槽，上海博远实业有限公司医疗设备厂；ECA522 电子天平、ECC2201 电子天平，南京博尼塔科学仪器有限公司。

1.3 动物

SD 大鼠及 ICR 小鼠，SPF 级，北京维通利华实验动物技术有限公司，许可证号 SCXK（京）2016-0006。

2 方法与结果

2.1 数据统计

实验数据采用统计软件 SPSS 13.0 进行组间单因素方差分析检验，数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

2.2 抗肾阳虚作用

采用氢化可的松致小鼠肾阳虚模型^[1-2]。选用健康 ICR 小鼠，体质量 18~20 g，按体质量随机分为对照组、模型组、阳性药丙酸睾酮（4 mg/kg）组、海马补肾丸 0.55、1.10（相当于临床用量）、2.20 g/kg 组、龟龄集（0.24 g/kg）组，共 7 组，每组 10 只，雌雄各半。除对照组外，均 im 氢化可的松 25 mg/kg（5 mL/kg），每天 1 次，连续 10 d，造模同时 ig 给药，对照组及模型组给予相同体积的蒸馏水，丙酸睾酮组 im 丙酸睾酮 4 mg/kg，末次给药后 1 h，用 JZZ98-CM 动物自主活动检测仪测定小鼠 5 min 内自主活动次数，然后在 5 ℃ 水中测定游泳存活时间，实验结束后解剖，取出脾脏、胸腺，称质量，计算脏器指数（脏器指数=脏器质量/体质量），结果见表 1~3。结果表明，与对照组比较，模型组小

表 1 海马补肾丸对肾阳虚小鼠自主活动的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Table 1 Effect of Haima Bushen Pills on autonomic activity of kidney-yang deficiency mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	5 min 内自主活动次数
对照	—	466.7 ± 85.9
模型	—	354.8 ± 102.7 [△]
海马补肾丸	0.550	426.2 ± 102.5
	1.100	491.3 ± 129.6*
	2.200	554.3 ± 154.3**
龟龄集	0.240	473.7 ± 128.6*
丙酸睾酮	0.004	570.3 ± 126.3*

与对照组比较：[△] $P < 0.05$ ；与模型组比较：* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

[△] $P < 0.05$ vs control group; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs model group

表 2 海马补肾丸对肾阳虚小鼠低温游泳时间的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Table 2 Effect of Haima Bushen Pills on swimming time at low temperature in kidney-yang deficiency mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	游泳时间/min
对照	—	9.7 ± 1.6
模型	—	6.8 ± 1.6 ^{△△}
海马补肾丸	0.550	7.8 ± 1.2
	1.100	8.8 ± 1.6*
	2.200	9.2 ± 2.0*
龟龄集	0.240	8.7 ± 1.6*
丙酸睾酮	0.004	8.2 ± 1.7

与对照组比较：^{△△} $P < 0.01$ ；与模型组比较：* $P < 0.05$

^{△△} $P < 0.01$ vs control group; * $P < 0.05$ vs model group

表 3 海马补肾丸对肾阳虚小鼠脏器指数的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)Table 3 Effect of Haima Bushen Pills on viscera index of kidney-yang deficiency mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	胸腺指数/ (mg·g ⁻¹)	脾脏指数/ (mg·g ⁻¹)
对照	—	1.85±0.52	5.77±1.13
模型	—	0.97±0.34 ^{△△}	4.16±0.72 ^{△△}
海 马 补 肾 丸	0.550	0.95±0.21	44.90±13.10
	1.100	1.40±0.52*	54.10±13.40*
	2.200	1.47±0.37**	56.30±16.60*
龟龄集	0.240	1.50±0.53*	57.40±17.10*
丙酸睾酮	0.004	1.34±0.52	56.20±14.20*

与对照组比较: ^{△△} $P < 0.01$; 与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ ^{△△} $P < 0.01$ vs control group; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs model group

鼠自主活动次数、游泳存活时间及脾脏、胸腺脏器指数均明显减少 ($P < 0.05$ 、 0.01)，显示肾阳虚模型制备成功。与模型组比较，连续给药 10 d，海马补肾丸 1.1、2.2 g/kg 能明显增加肾阳虚小鼠自主活动次数、胸腺及脾脏的脏器指数，延长小鼠低温游泳存活时间 ($P < 0.05$ 、 0.01)。提示海马补肾丸有明显的抗肾阳虚作用。

2.3 滋阴作用

采用甲状腺素加利血平致小鼠肾阴虚模型^[3-4]。选用健康 ICR 小鼠，体质量 18~20 g，按体质量随机分成对照组、模型组、阳性药六味地黄丸 (10 g/kg) 组、海马补肾丸 0.55、1.10、2.20 g/kg 组、龟龄集 (0.24 g/kg) 组，共 7 组，每组 10 只，雌雄各半。除对照组外，其余各组小鼠均 ig 给予甲状腺

素 150 mg/kg 和利血平 0.5 mg/kg 造模，连续 10 d，同时 ig 给药，对照组及模型组小鼠给予相同体积的蒸馏水，末次给药后 1 h，称体质量，用小鼠跳台、避暗检测仪测定 5 min 内错误次数及错误潜伏期，然后在 50 °C 热水中测定痛阈 (甩尾时间)，实验结束，解剖取出脾脏、胸腺称量，计算脏器指数。结果见表 4、5。结果表明，与对照组比较，模型组小鼠跳台错误次数明显增加，错误潜伏期缩短，痛阈降低，脾脏及胸腺指数减小 ($P < 0.05$ 、 0.01)，显示已造成肾阴虚模型。与模型组比较，海马补肾丸 1.10、2.20 g/kg 能明显减少小鼠跳台错误次数、延长错误潜伏期、提高痛阈、增加胸腺和脾的脏器指数 ($P < 0.05$ 、 0.01)。提示海马补肾丸有明显的滋阴作用。

2.4 填精壮阳作用

采用氢化可的松致肾阳虚大鼠勃起功能障碍模型^[5]。选用 SD 雄性大鼠 70 只，体质量 160~180 g，正常饲养 3 d 后，随机选出 10 只作为对照组，其余大鼠 im 氢化可的松 25 mg/kg 造模，连续 2 周。模型大鼠按体质量随机分为模型组、海马补肾丸 0.28、0.56 (相当于临床用量)、1.12 g/kg 组，阳性对照药丙酸睾酮注射液 2 mg/kg 组 (以橄榄油稀释成 2 mg/mL)，龟龄集 (0.12 g/kg) 组，每组 10 只，每天 ig 给药 1 次，连续 2 周，对照组与模型组给予相同体积的蒸馏水，丙酸睾酮组 im 1 mL/kg。末次给药后 1 h，麻醉，分离颈总动脉和阴茎海绵体，测定颈动脉压力及海绵体内压。大鼠 ip 戊巴比妥钠 (50 mg/kg) 麻醉，仰卧位，固定四肢、颈部和下腹部备皮。平均动脉压 (MAP) 测定：颈部正中切口，

表 4 海马补肾丸对肾阴虚小鼠跳台及甩尾时间 (痛阈) 的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)Table 4 Effect of Haima Bushen Pills on jumping platform and tail flailing time (pain threshold) in kidney-yin deficiency mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	跳台		甩尾时间/min
		潜伏期/s	错误次数	
对照	—	51.1±35.3	5.4±3.4	15.6±7.9
模型	—	14.4±10.0 ^{△△}	34.7±29.5 [△]	7.7±4.5 [△]
海马补肾丸	0.550	35.7±34.1	17.6±10.5	10.6±5.5
	1.100	44.4±33.2*	12.4±9.2*	12.4±5.1*
	2.200	57.0±30.7**	5.5±4.8*	12.5±5.1*
龟龄集	0.240	29.2±24.4	8.8±7.3*	14.2±6.4*
六味地黄丸	10.000	45.5±41.3*	9.8±11.2*	13.1±6.0*

与对照组比较: [△] $P < 0.05$ ^{△△} $P < 0.01$; 与模型组比较: * $P < 0.05$ [△] $P < 0.05$ ^{△△} $P < 0.01$ vs control group; * $P < 0.05$ vs model group

表 5 海马补肾丸对肾阴虚小鼠脏器系数的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Table 5 Effect of Haima Bushen Pills on viscera coefficient of kidney-yin deficiency mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	胸腺指数/ (mg·g ⁻¹)	脾脏指数/ (mg·g ⁻¹)
对照	—	3.37±0.54	56.00±17.70
模型	—	2.76±0.38 [△]	26.80± 6.50 ^{△△}
海马补肾丸	0.550	2.97±0.57	43.80±10.90
	1.100	3.30±0.57*	47.40±13.20*
	2.200	3.50±0.54**	51.70±12.30**
龟龄集	0.240	3.42±0.66*	53.70±15.00**
六味地黄丸	10.000	3.56±0.94*	50.50±12.10**

与对照组比较: ^{△△} $P < 0.01$; 与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$
^{△△} $P < 0.01$ vs control group; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs model group

暴露并切开左侧颈总动脉置入 PE10 管, 后方通过 PE50 管连接压力换能器, 直接法持续监测大鼠 MAP。阴茎海绵体内压 (ICP) 测定: 阴茎包皮纵行切口, 分离皮肤与白膜, 暴露两侧阴茎海绵体。于一侧海绵体内插入 22G 金属针头后连接 PE50 管 (PE50 管内充满肝素生理盐水 250 U/mL), 并连接于压力换能器, 以测定 ICP。海绵体神经电刺激: 下腹部正中切口, 于前列腺右侧叶前外侧表面暴露右侧海绵体神经, 铂金双极电极连接于电刺激器, 对神经进行电刺激。电刺激参数为: 9.5 V, 20 ms, 25 Hz, 刺激持续时间 1 min。

电刺激 CN 前的 ICP 记录为“静息 ICP”(resting ICP, rICP), 相应的 MAP 记录为“静息 MAP”(resting MAP, rMAP), 计算 rICP/rMAP (resting-

ratio, rR), 以 rR 代表阴茎海绵体静息状态。电刺激 CN 诱发的 ICP 最大值记录为“基础 ICP”(baseline ICP, bICP), 相应的 MAP 记录为“基础 MAP”(baseline MAP, bMAP), 计算 bICP/bMAP (baseline-ratio, bR), 以 bR 代表大鼠的基础勃起功能。以 bR/rR 代表阴茎勃起后的海绵体内压增高程度。因造模及手术过程中有动物死亡, 故每组大鼠数量不同。结果见表 6。与对照组比较, 模型组大鼠 bR/rR 明显降低 ($P < 0.05$), 显示已造成勃起功能障碍。与模型组比较, 海马补肾丸 0.56、1.12 g/kg 明显增加大鼠 bR/rR ($P < 0.05$ 、0.01)。提示海马补肾丸能明显改善肾阳虚大鼠的勃起功能。

2.5 雄激素样作用

2.5.1 对去势大鼠的雄激素样作用^[6] 采用大鼠去势模型。选用 SD 种健康雄性大鼠 85 只, 体质量 180~200 g, 适应性饲养 3 d 后行去势手术, ip 4% 水合氯醛 1 mL/kg 进行麻醉, 麻醉后, 消毒阴囊皮肤, 除对照组 10 只大鼠外, 其余大鼠均摘除双侧睾丸, 手术后 im 青霉素以防感染, 1 周后大鼠按体质量随机分组, 分别为模型组、海马补肾丸 0.14、0.28、0.56、1.12 g/kg 组, 龟龄集 (0.12 g/kg) 组, 阳性药丙酸睾酮 (2 mg/kg) 组, 每组 10 只。海马补肾丸和龟龄集各组大鼠按 10 mL/kg ig 给药, 对照与模型组给予相同体积的 0.5% CMC-Na, 丙酸睾酮组大鼠 im 丙酸睾酮 1 mL/kg, 每天 1 次, 连续 2 周。末次给药 1 h 后, 大鼠眼眶静脉丛取血, 测定血清睾酮 (T)。实验结束, 处死大鼠, 解剖, 分离并称重包皮腺、精液囊、提肛肌、前列腺, 计算脏器指数。结果见表 7、8。

表 6 海马补肾丸对氢化可的松致肾阳虚大鼠勃起功能的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 6 Effect of Haima Bushen Pills on erectile function in rats with kidney-yang deficiency induced by hydrocortisone ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	<i>n</i>	rICP/ mmHg	rMAP/ mmHg	rR/%	bICP/ mmHg	bMAP/ mmHg	bR/%	bR/rR
对照	—	8	8.2±3.9	125.8±5.5	6.6±3.3	32.3±14.4	123.5±3.8	26.2±11.9	4.9±3.1
模型	—	9	8.4±3.8	125.5±6.3	6.7±2.8	13.1± 5.9	123.1±8.0	10.6± 4.5 ^{△△}	1.8±0.8 [△]
海马补肾丸	0.280	9	9.2±5.3	127.5±5.2	7.3±4.5	17.2±13.1	127.1±4.0	13.6±10.6	1.9±0.4
	0.560	9	7.2±4.8	125.7±6.5	5.9±4.0	21.8± 9.2	122.9±6.6	18.1± 8.6*	4.8±3.9*
	1.120	10	8.0±2.9	127.3±3.1	6.3±2.3	24.5± 9.3	123.9±3.3	19.7± 7.4**	3.7±1.7**
龟龄集	0.120	8	5.6±3.6	127.8±5.7	4.3±2.7	23.9±11.3	124.6±4.7	19.1± 8.5*	6.4±5.0*
丙酸睾酮	0.002	9	8.9±4.3	128.3±3.9	6.9±3.3	28.4± 9.2	125.8±4.3	22.7± 7.7**	3.6±1.5**

与对照组比较: [△] $P < 0.05$ ^{△△} $P < 0.01$; 与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$, 下同, 1 mmHg=0.133 kPa

[△] $P < 0.05$ ^{△△} $P < 0.01$ vs control group; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs model group, same as below, 1 mmHg = 0.133 kPa

结果表明,与对照组比较,模型组大鼠 T 水平明显降低,包皮腺、精液囊、提肛肌及前列腺的脏器指数明显减小 ($P<0.05$ 、 0.01),显示模型成功。与模型组比较,海马补肾丸 0.56、1.12 g/kg 可明显提高大鼠血清中 T 浓度,增加前列腺、包皮腺及提肛肌的脏器指数 ($P<0.05$ 、 0.01),提示其具有明显的雄激素样作用。

2.5.2 对幼龄大鼠的雄激素样作用^[6] 选用 SD 种健康雄性大鼠 70 只,体质量 60~80 g,适应性饲养

表 7 海马补肾丸对去势大鼠雄激素的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)
Table 7 Effect of Haima Bushen Pills on androgen in castrated rats ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	T/(nmol·L ⁻¹)
对照	—	16.29±1.29
模型	—	14.64±1.10 ^{△△}
海马补肾丸	0.140	15.42±1.53
	0.280	15.51±0.78
	0.560	16.07±1.23*
	1.120	16.34±1.05**
龟龄集	0.120	16.06±1.37*
丙酸睾酮注射液	0.002	16.37±1.21**

3 d 后,按体质量随机分组,分别为对照组、海马补肾丸 0.14、0.28、0.56、1.12 g/kg 组,龟龄集 (0.12 g/kg) 组及阳性药丙酸睾酮 (2 mg/kg) 组,每组 10 只。海马补肾丸组和龟龄集组大鼠 ig 给药,给药体积 10 mL/kg,对照组大鼠给予相同体积的蒸馏水,丙酸睾酮组大鼠肌肉注射 1 mL/kg,每天 1 次,连续 2 周。末次给药 1 h 后,大鼠眼眶静脉丛取血,测定 T、LH、FSH、促肾上腺皮质激素 (ATCH)、CORT。实验结束,处死大鼠,解剖,分离并称量包皮腺、精液囊、提肛肌、前列腺,计算脏器指数,结果见表 9、10。

结果表明,与对照组比较,海马补肾丸能明显提高幼龄大鼠血清中 T、FSH 浓度,增加精液囊脏器指数 ($P<0.05$ 、 0.01),提示其具有明显雄激素样作用。

3 讨论

本研究通过 im 氢化可的松造成小鼠体内肾上腺皮质激素产生受到抑制,破坏了下丘脑-垂体-肾上腺轴的平衡,小鼠表现为畏寒肢冷、精神倦怠、全身功能低下等肾阳虚症状,给予海马补肾丸后,

表 8 海马补肾丸对去势大鼠脏器指数的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 8 Effect of Haima Bushen Pills on organ coefficients of castrated rats ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	精液囊/ (g·kg ⁻¹)	前列腺/ (g·kg ⁻¹)	包皮腺/ (g·kg ⁻¹)	提肛肌/ (g·kg ⁻¹)
对照	—	3.44±0.36	1.58±0.20	0.63±0.09	2.79±0.29
模型	—	0.25±0.05 ^{△△}	0.16±0.08 ^{△△}	0.40±0.10 ^{△△}	0.71±0.13 ^{△△}
海马补肾丸	0.140	0.30±0.07	0.23±0.08	0.48±0.12	0.79±0.12
	0.280	0.24±0.04	0.25±0.11	0.36±0.12	0.73±0.13
	0.560	0.28±0.06	0.28±0.14*	0.51±0.09*	0.89±0.19*
	1.120	0.23±0.06	0.27±0.05**	0.54±0.18*	0.84±0.11*
龟龄集	0.120	0.37±0.11*	0.23±0.04*	0.55±0.07**	0.83±0.12*
丙酸睾酮注射液	0.002	3.04±0.67**	1.09±0.29**	0.66±0.27*	2.46±0.28**

表 9 海马补肾丸对幼龄大鼠的雄激素样作用 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 9 Effects of Haima Bushen Pills on androgen-like effects in young rats ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	T/(nmol·L ⁻¹)	LH/(mU·mL ⁻¹)	FSH/(U·L ⁻¹)	ATCH/(pg·mL ⁻¹)	CORT/(ng·mL ⁻¹)
对照	—	14.25±1.27	37.99±3.67	14.71±0.92	26.66±2.05	157.94±14.08
海马补肾丸	0.140	14.86±2.03	35.34±2.84	15.18±1.26	28.00±2.26	145.88±16.80
	0.280	15.26±2.16	35.99±1.57	15.31±1.11	27.36±2.42	148.25±19.76
	0.560	15.97±1.80*	39.88±3.34	15.88±1.30*	25.38±3.20	145.22±19.57
	1.120	16.29±1.79**	40.39±2.85	16.10±1.54*	27.26±2.41	148.73±17.14
龟龄集	0.120	15.91±1.77*	39.58±2.60	15.76±1.25*	28.16±1.71	147.97±20.28
丙酸睾酮注射液	0.002	16.18±1.94*	41.72±4.53	15.97±1.18*	27.84±1.54	147.96±18.93

表 10 海马补肾丸对幼龄大鼠脏器指数的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 10 Effect of Haima Bushen Pills on viscera coefficients of young rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	精液囊/(g·kg ⁻¹)	前列腺/(g·kg ⁻¹)	包皮腺/(g·kg ⁻¹)	提肛肌/(g·kg ⁻¹)
对照	—	0.43 ± 0.06	0.58 ± 0.09	0.43 ± 0.15	1.04 ± 0.16
海马补肾丸	0.140	0.54 ± 0.09**	0.58 ± 0.13	0.34 ± 0.10	0.95 ± 0.21
	0.280	0.63 ± 0.17**	0.65 ± 0.12	0.34 ± 0.11	1.00 ± 0.16
	0.560	0.56 ± 0.10**	0.62 ± 0.09	0.41 ± 0.13	0.92 ± 0.20
	1.120	0.65 ± 0.11**	0.64 ± 0.10	0.32 ± 0.12	1.04 ± 0.18
龟龄集	0.120	0.72 ± 0.14**	0.64 ± 0.15	0.38 ± 0.20	1.15 ± 0.22
丙酸睾酮注射液	0.002	3.84 ± 0.86**	1.24 ± 0.19**	0.52 ± 0.22	2.31 ± 0.18**

小鼠的自主活动次数明显增加,低温游泳时间延长,胸腺、脾脏指数增加,显示海马补肾丸有明显的补肾阳作用^[1,7]。

中医理论认为“肾主先天,肾开窍于耳,上通于脑”,通过使用大剂量甲状腺激素,形成外源性甲状腺素水平升高,促进物质代谢,增加耗竭,表现为头昏耳鸣、健忘、怕热、抗应激能力下降等阴虚症状。给予海马补肾丸治疗后,肾阴虚小鼠学习记忆和耐高温能力明显增强,胸腺、脾脏指数增加,显示海马补肾丸有明显的滋阴作用^[8-11]。

通过 im 氢化可的松制备大鼠肾虚模型,使大鼠下丘脑-垂体-性腺轴功能紊乱,激素水平失衡,导致大鼠勃起功能障碍。海马补肾丸给药后,使肾虚大鼠平滑肌舒张、阴茎海绵体血流增加、海绵体内压升高、bR/rR 明显提高,表明海马补肾丸能明显改善肾虚大鼠的勃起功能^[12-16]。

正常雄性动物大部分的雄性激素 T 是由睾丸产生,故雄性大鼠摘除睾丸后,血液中 T 水平明显降低,给予海马补肾丸后,大鼠血清中 T 水平、前列腺及包皮腺等相关脏器指数明显增加,显示海马补肾丸有直接雄激素样作用,可能是含有雄激素样物质或含有可以在体内转变成雄激素样的物质^[17]。

雄性幼龄大鼠 ig 给予海马补肾丸后,精液囊脏器指数明显升高,实际可见精液囊精液明显充盈,血清中 T、FSH 水平明显升高,显示具有明显的雄激素样作用。可能是通过调节下丘脑-垂体-性腺轴,促进 FSH 分泌增加,使幼龄大鼠雄激素分泌增加。

综上结果,推测海马补肾丸通过 2 条途径产生雄激素样作用,既有直接作用,也能通过下丘脑-垂体-性腺轴的调节起作用^[18]。其通过调节体内肾上腺皮质激素水平,促进下丘脑-垂体-肾上腺轴的平衡,达到补肾阳、滋肾阴的作用;通过调节下丘脑-

垂体-性腺轴功能,改变大鼠体内雄激素水平,使平滑肌舒张,阴茎海绵体血流增加,海绵体内压升高,改善肾虚大鼠的勃起障碍。

参考文献

- [1] 姜 华,王永洲,胡君茹. 金刚酒对肾虚大、小鼠模型的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(8): 211-214.
- [2] 郝志红,张剑宇,赵思俊. 补肾方对肾虚模型小鼠影响的实验研究 [J]. 山西中医, 2008, 24(3): 42-44.
- [3] 朱萱萱,吴旭同,倪文彭,等. 补肾活血方对肾阴虚小鼠的抗应激作用的实验研究 [J]. 中国医药导刊, 2009, 11(7): 1172-1173.
- [4] 崔建美,马树祥,孙 娜,等. 针刺小鼠后三里对热水、冰水甩尾痛阈的影响 [J]. 时珍国医国药, 2009, 20(7): 1666-1667.
- [5] 王先进,沈周俊,张敏光,等. 电刺激阴茎海绵体神经测定大鼠勃起功能的方法探讨 [J]. 临床泌尿外科杂志, 2012, 27(2): 228-232.
- [6] 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): 173-176.
- [7] 秦文艳,陈 贺,朱竟赫,等. 不同氢化可的松小鼠肾虚模型制备方法对比研究 [J]. 实验动物学, 2017, 34(4): 11-14.
- [8] 胡正远,孟艳梅,周雪梅. 中医实验动物阴虚证造模方法研究 [J]. 中医药临床杂志, 2015, 27(10): 1395-1397.
- [9] 黄文慧,张莉莉,郭伊霖,等. 肾阴虚证模型的构建及实验研究进展 [J]. 中国药业, 2017, 26(10): 1-7.
- [10] 张嘉妮,李玉星,杨梦琳,等. 六味地黄汤及“补泻”药对对肾阴虚模型小鼠下丘脑-垂体-性腺轴功能的影响 [J]. 中国现代应用药学, 2017, 34(1): 25-29.
- [11] 傅万山,杨解人,丁伯平,等. 六味地黄丸对肾上腺皮质激素型肾阴虚小鼠的药效学研究 [J]. 皖南医学院学报, 2002, 21(1): 11-15.

- [12] 李天禹, 何清湖, 卢芳国, 等. 雄性“肾阳虚”亚健康大鼠模型的研究 [J]. 湖南中医药大学学报, 2011, 31(1): 22-24.
- [13] 马晓宇, 姜梦如, 张 涛, 等. 氢化可的松诱导大鼠肾阳虚模型评价 [J]. 中国兽医学报, 2017, 37(9): 1763-1765.
- [14] 陆 茵, 陈文星, 华永庆, 等. 海马壮阳软胶囊温肾壮阳的实验药理学研究 [J]. 南京中医药大学学报: 自然科学版, 2001, 17(2): 99-101.
- [15] 韦桂宁, 周 军, 李 茂, 等. 益元酒壮阳及免疫调节作用的实验研究 [J]. 云南中医中药杂志, 2010, 31(8): 70-71.
- [16] 王朝霞, 邵玉宇, 李 擎, 等. 公驼宝克对肾阳虚大鼠的影响 [J]. 内蒙古农业大学学报, 2012, 33(4): 266-271.
- [17] 王 清, 朱凡河, 司端运. 归仙口服液对雄性去势大鼠性功能的影响 [J]. 中国临床康复, 2002, 6(19): 2940-2941.
- [18] 曾金雄, 许家杰. 针灸调节下丘脑-垂体-性腺轴功能的研究 [J]. 中国性科学, 2001, 10(4): 22-24.