

不同品种淫羊藿黄酮类有效成分的主成分分析及对肾阳虚大鼠保护作用的研究

杨 洋¹, 尹程程¹, 陈昊媛²,
李佳奇¹, 赵大庆¹, 睢博文¹, 齐 滨^{2*}

¹长春中医药大学吉林省人参科学研究院; ²长春中医药大学药学院,长春 130117

摘要:采用 HPLC 测定不同品种淫羊藿黄酮类即淫羊藿苷、朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C 4 种有效成分含量,结合主成分分析对不同品种淫羊藿进行质量分析与评价,并考察淫羊藿对大鼠肾阳虚保护作用。将实验动物随机分为阳虚模型对照组(模型组)、金匮肾气丸干预组(阳性组)、淫羊藿低(125 mg/kg)、中(250 mg/kg)、高(500 mg/kg)剂量组。四周后测定肾阳虚大鼠血清中尿酸(UA)、肌酐(CRE)和尿素氮(BUN)。主成分分析结果显示,主成分 1 淫羊藿苷、朝藿定 C 和主成分 2 朝藿定 B 是影响样品质量评价的主要因子。12 批淫羊藿药材整体质量较好。药理学结果显示,与空白组相比,大鼠血清中 UA、CRE 和 BUN 含量显著降低。上述结果表明:本方法同时测定淫羊藿黄酮类 4 种有效成分,为建立淫羊藿质量评价提供参考;淫羊藿对氢化可的松诱导的肾阳虚具有明显的保护作用,具有量效关系。

关键词:4 种有效成分;含量测定;主成分分析;肾阳虚

中图分类号:R932

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2021)2-0179-09

DOI:10.16333/j.1001-6880.2021.2.001

Principal component analysis of active flavonoid compounds from different species of *Epimedium* and its protective effect on kidney-yang deficiency rats

YANG Yang¹, YIN Cheng-cheng¹, CHEN Hao-yuan²,
LI Jia-qi¹, ZHAO Da-qing¹, SUI Bo-wen¹, QI Bin^{2*}

¹Jilin Ginseng Academy, Changchun University of Chinese Medicine;

²College of Pharmacy, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China

Abstract: The flavonoids of *Epimedium*, namely icariin, epimedins A, B and C, were determined by HPLC. Combined with principal component analysis (PCA), the quality of different species of *Epimedium* was analyzed and evaluated. Moreover, the protective effect of *Epimedium* on kidney-yang deficiency in rats was also investigated. The experimental animals were randomly divided into yang deficiency model control group (model group), Jinkui Shenqi pill intervention group (positive group), *Epimedium* low (125 mg/kg), medium (250 mg/kg), high (500 mg/kg) dose group. Four weeks later, uric acid (UA), creatinine (CRE) and urea nitrogen (BUN) in serum of rats with kidney-yang deficiency were measured. The results of principal component analysis showed that principal component 1 icariin, epimedins C and principal component 2 epimedins B were the main factors affecting the quality evaluation of samples. The 12 batches of *Epimedium* medicinal materials were of good overall quality. The pharmacological results showed that compared with the blank group, the levels of UA, CRE and BUN in rat serum were significantly reduced. The above results indicated that the method measured four effective constituents of *Epimedium* flavonoids in the meantime, which provided a reference for establishing quality evaluation system of *Epimedium*; *Epimedium* has obvious protective effect on hydrocortisone-induced kidney-yang deficiency and has a dose-effect relationship.

Key words: four active ingredients; content determination; principal component analysis; kidney yang deficiency

淫羊藿为小檗科植物巫山淫羊藿 *Epimedium wushanense* T. S. Ying、箭叶淫羊藿 *Epimedium sagittatum* (Sieb. et Zucc.) Maxim.、柔毛淫羊藿 *Epimedium pubescens* Maxim. 或朝鲜淫羊藿 *Epimedium koreanaum* Nakai 的干燥叶,4个种收载在2015版《中华人民共和国药典》^[1]。本药始载于《神农本草经》,列为上品,别名诸多,《本经》中称刚前,《雷公炮炙论》中称仙灵脾,《日华子本草》中称放杖草、弃杖草、千两金、干鸡筋、黄连祖。《别录》、《药性论》、《蜀本草》以及《滇南本草》皆有记载,其性味辛、甘、温,归肝、肾二经,具有补肾阳、强筋骨、祛风湿的功效^[2-7]。现代药理学研究表明,淫羊藿能兴奋性机能,提高人体免疫力,调节心脏供血供氧平衡,改善心脑缺血缺氧,促进造血功能,防治骨质疏松,亦有抗衰老、抗病毒、抗肿瘤、抗抑郁、抗炎等作用^[8]。淫羊藿的化学成分包括黄酮、木脂素、苯酚苷、生物碱、多糖、挥发油、微量元素、有色原酮、菲、蒽醌、鞣质、倍半萜、甾醇等^[9],其中,黄酮类成分如淫羊藿苷、朝藿定A、朝藿定B、朝藿定C为其主要活性成分^[10]。主成分分析法是常用的对样本信息进行综合评价的方法之

一,在中药领域的应用弥补了中药质量优劣评价中各指标权重的不确定性及某些指标间存在的相关性带来的不便,进一步完善了中药质量评价方法^[11]。本研究采用高效液相色谱法,对其黄酮类主要有效成分淫羊藿苷、朝藿定A、朝藿定B、朝藿定C进行了含量测定,并结合主成分分析对淫羊藿进行了综合性评价,近期查阅文献得知,淫羊藿主要集中在免疫调节、抗炎、抗衰老、抗肿瘤等活性的研究,关于淫羊藿的补肾阳作用研究甚少,所以我们对其补肾阳的作用进行初步的探究。为淫羊藿的临床应用提供科学的理论依据和医用基础。

1 材料

1.1 样品采集

选择4个品种的淫羊藿,每个品种各3批,12个不同来源淫羊藿药材均来自各个主产区,经长春中医药大学药学院肖井雷副教授鉴定均为小檗科植物巫山淫羊藿 *Epimedium wushanense* T. S. Ying、箭叶淫羊藿 *E. sagittatum* (Sieb. et Zucc.) Maxim.、柔毛淫羊藿 *E. pubescens* Maxim. 和朝鲜淫羊藿 *E. koreanaum* Nakai 的干燥叶。样品来源见表1。

表1 淫羊藿药材样品来源情况
Table 1 Source of Herba Epimedii samples

品种 Variety	植物名 Plant name	批次 Batch	产地 Origin
柔毛淫羊藿	<i>Epimedium pubescens</i> Maxim	S1	湖北恩施家族苗族自治州恩施市
柔毛淫羊藿	<i>E. pubescens</i> Maxim	S2	安徽省马鞍山市
柔毛淫羊藿	<i>E. pubescens</i> Maxim	S3	山东省菏泽市
巫山淫羊藿	<i>E. wushanense</i> T. S. Ying	S4	陕西渭南市蒲城县
巫山淫羊藿	<i>E. wushanense</i> T. S. Ying	S5	安徽亳州
巫山淫羊藿	<i>E. wushanense</i> T. S. Ying	S6	重庆市巫山县高唐
箭叶淫羊藿	<i>E. sagittatum</i> (Sieb. et Zucc.) Maxim.	S7	湖北宜昌市长阳土家族自治县
箭叶淫羊藿	<i>E. sagittatum</i> (Sieb. et Zucc.) Maxim.	S8	陕西安康市石泉县
箭叶淫羊藿	<i>E. sagittatum</i> (Sieb. et Zucc.) Maxim.	S9	四川巴中市通江县
朝鲜淫羊藿	<i>E. koreanaum</i> Nakai	S10	吉林
朝鲜淫羊藿	<i>E. koreanaum</i> Nakai	S11	辽宁
朝鲜淫羊藿	<i>E. koreanaum</i> Nakai	S12	浙江

1.2 药品与试剂

淫羊藿苷、朝藿定A、朝藿定B、朝藿定C(南京森贝伽生物科技有限公司);氢化可的松注射液(河

南润弘制药股份有限公司);乙腈、超纯水、无水乙醇、二甲苯、乙酸、生理盐水(北京化工厂);水合氯醛(北京酷来搏科技有限公司);HE染色试剂盒(南

京建成生物科技有限公司);尿酸(UA)试剂盒(酶比色法)、尿素氮(BUN)ELISA试剂盒、肌酐(Cr)ELISA试剂盒(江苏菲亚生物科技有限公司);金匮肾气丸(北京同仁堂制药厂);石蜡(52~54℃,上海华永石蜡有限公司)。

1.3 动物

SPF级雄性SD大鼠,体重180~220g,由依思实验动物科技公司提供。将动物实验室温度控制在 $24\pm2^{\circ}\text{C}$,湿度控制在55%±5%,光照时间为6:30~18:00。适应性喂养3天,进食普通饲料,自由饮水。

1.4 仪器

紫外可见分光光度计(UV-2550型,日本岛津公司);高效液相色谱仪(LC-1100型,安捷伦公司);安捷伦ZORBAX SB-Aq C₁₈色谱柱(4.6 mm×250 mm,5μm,安捷伦公司);粉碎机(AK-400A,温岭市奥力中药机械有限公司);分析天平(梅特勒MS204S型,瑞士梅特勒-托利多公司);注射器(20180918,江苏治宇医疗器械有限公司);灌胃器(20170923,江苏治宇医疗器械有限公司);全自动生化分析仪(CX4,美国贝克曼公司);移液枪(OH37709,Thermo仪器公司);自动包埋机(EG1150H型,德国LEICA);手摇切片机(RM2235型,德国LEICA);烘片机(HI1220型,德国LEICA);铺片机(HI1210型,HI1210型);体视显微镜(SMZ25,尼康仪器有限公司)。

2 方法

2.1 4种活性成分含量测定

2.1.1 色谱条件

色谱柱:安捷伦ZORBAX SB-Aq C₁₈色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm);以乙腈为流动相A,以水为流动相B;流速:1 mL/min;柱温:35℃;270 nm检测波长;理论板数按淫羊藿苷峰计算应不低于1500。

表2 流动相梯度洗脱表

Table 2 Mobile phase gradient elution table

时间 Time (min)	流动相 A Mobile phase A (%)	流动相 B Mobile phase B (%)
0~29	25	75
29~30	25→41	75→59
30~55	41	59

2.1.2 对照品溶液的制备

取淫羊藿苷、朝藿定A、朝藿定B、朝藿定C对照品适量,精密称定,加甲醇分别制成每1 mL各含0.1 mg的溶液,即得。

2.1.3 供试品溶液的制备

供试品溶液的制备 取本品粉末(过三号筛)约0.2 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入50%乙醇20 mL,称定重量,超声处理(功率200 W,频率40 kHz)1 h,放冷,再称定重量,用50%乙醇补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.1.4 精密度试验

分别精密吸取“2.1.2”项下混合对照品储备液各10 μL,连续进样6次,计算峰面积,得出RSD值。

2.1.5 稳定性试验

精密吸取按“2.1.2”项下混合对照品储备液各10 μL,分别于0、2、4、8、12、24 h进样测定,计算峰面积,得出RSD值。

2.1.6 重复性试验

精密称取淫羊藿6份,按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液,按“2.1.1”项下色谱条件测定,计算峰面积,得出RSD值。

2.1.7 线性关系考察

精密吸取“2.1.2”项下混合对照品溶液0.2、0.4、0.8、1.2、1.6、2.0、2.4 mL,分别置5 mL量瓶中,甲醇定容至刻度,摇匀,制成系列浓度对照品溶液。分别吸取上述七份对照品溶液各10 μL,按“2.1.1”项下色谱条件检测。以各对照品溶液的浓度(X)为横坐标,以峰面积(Y)为纵坐标绘制标准曲线。

2.1.8 加样回收率实验

取淫羊藿药材粉末(S1)6份,精密称定每份0.25 g,定量加入淫羊藿苷、朝藿定A、朝藿定B、朝藿定C对照品适量,按“2.1.3”项制备供试品溶液并进样分析,记录各化学成分峰面积并计算含量,按“2.1.1”项下方法进样检测。

2.2 样品含量测定

取“2.1.2”项下混合对照品溶液和“2.1.3”项下供试品溶液各10 μL,按“2.1.1”项下色谱条件进样分析。计算出各样品中淫羊藿苷、朝藿定A、朝藿定B、朝藿定C的含量。

2.3 主成分分析

主成分分析法是常用的对样本信息进行综合评价的方法之一,在中药领域的应用弥补了中药质量

优劣评价中各指标权重的不确定性及某些指标间存在的相关性带来的不便,进一步完善了中药质量评价方法^[11]。通过 IBM SPSS 21.0 统计软件,对 12 淫羊藿进行降维和因子分析,计算成分特征值、贡献率及特征向量。

2.4 肾阳虚大鼠保护作用

2.4.1 造模、分组与给药

取 SD 雄性大鼠 40 只,将 34 只大鼠每日腹腔注射氢化可的松注射液,给药剂量为 100 mg/kg;剩余 6 只大鼠作为正常对照组,注射等体积生理盐水,连续四周。四周后挑选 30 只造模成功的大鼠随机分为阳虚模型对照组(模型组)、金匮肾气丸干预组(阳性组)、淫羊藿水提物低剂量组(YYH-LG 组)、淫羊藿水提物中剂量组(YYH-MG 组)和淫羊藿水提物高剂量组(YYH-HG 组)。干预组给药量按照人鼠等效剂量折算。阳性组给予金匮肾气丸水溶液灌胃;淫羊藿干预组给予淫羊藿提取物浓缩液灌胃;模型组与空白对照组灌胃等体积蒸馏水。灌胃体积均为 10 mL/kg,连续灌胃四周。

2.4.2 取材

连续给药 30 天,最后一天给药后 24 h 内禁食

不禁水,采用水合氯醛麻醉,腹主动脉取血,以 3 000 rpm 速率离心 10 min,取上层血清,分装,冻存于-20 ℃备用。取大鼠肾脏,置于 20 倍体积 4% 多聚甲醛中固定 24 h,备用。

2.4.3 生化指标检测

采用全自动生化分析仪检测尿酸(UA)、肌酐(CRE)和尿素氮(BUN)的含量。

2.4.4 HE 染色

按照 HE 染色试剂盒说明对组织切片进行染色。

2.4.5 数据分析

脏器指数计算公式:

$$\text{脏器指数} = (\text{脏器质量}/\text{体重}) \times 100\%$$

采用 SPSS 17.0 对实验数据进行处理分析^[12],各项指标均以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用单因素方差分析进行组间比较。

3 实验结果

3.1 4 种有效成分含量测定结果

3.1.1 方法学考察

方法学考察结果见表 3,结果表明,该方法精密度、重复性、稳定性良好,符合含量测定要求。

表 3 方法学考察结果($n=6$)

Table 3 Methodology ($n=6$)

成分 Composition	精密度 Precision RSD(%)	稳定性 Stability RSD(%)	重复 Repeatability RSD(%)
淫羊藿苷 Icarin	1.19	0.97	0.89
朝藿定 A Epimedin A	0.81	0.77	0.68
朝藿定 B Epimedin B	0.80	1.05	0.85
朝藿定 C Epimedin C	0.70	0.95	0.79

3.1.2 线性考察结果

线性考察结果见表 4。结果表明淫羊藿苷、朝

藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C, $R^2 > 0.999$, 线性关系良好,符合含量测定要求。

表 4 4 种指标性成分线性范围

Table 4 Linear relationships of four constituents

成分 Compound	回归方程 Regression equation	线性范围 Linear range (mg/mL)	R^2
淫羊藿苷 Icarin	$Y = 2541.253.78X + 33816.43$	0.2017 ~ 2.4115	0.9993
朝藿定 A Epimedin A	$Y = 2319.229.55X + 14328.13$	0.1031 ~ 1.2609	0.9992
朝藿定 B Epimedin B	$Y = 2142.213.48X + 7246.136$	0.0535 ~ 0.6537	0.9992
朝藿定 C Epimedin C	$Y = 2620.872.07X + 5418.28$	0.0411 ~ 0.5152	0.9991

3.1.3 加样回收率结果

加样回收率实验结果如表 5 所示,加样回收率

均高于 98%,加样回收试验结果良好。

表 5 加样回收率试验结果($n=6$)
Table 5 Results of recovery test ($n=6$)

成分 Compound	样品原有量 Original amount of sample (mg)	加入量 Added amount (mg)	测得量 Detected amount (mg)	回收率 Rate of recovery (%)
淫羊藿苷 Icariin	1.044	0.971	2.002	98.75
朝藿定 A Epimedin A	0.280	0.266	0.541	98.21
朝藿定 B Epimedin B	0.225	0.238	0.460	98.67
朝藿定 C Epimedin C	0.290	0.266	0.551	98.27

3.1.4 淫羊藿苷、朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C 含量测定结果 对 12 批淫羊藿淫羊藿苷、朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C 进行含量测定, 测定结果如表 6。

表 6 不同批次淫羊藿淫羊藿苷、朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C 含量测定结果

Table 6 The quantification of icariin, epimedin A, epimedin B and epimedin C in different samples

批次 Batch	淫羊藿苷 Icariin (%)	朝藿定 A Epimedin A (%)	朝藿定 B Epimedin B (%)	朝藿定 C Epimedin C (%)
S1	1.48	1.11	1.12	1.35
S2	1.48	1.11	1.13	1.35
S3	1.52	1.14	1.12	1.36
S4	1.48	1.13	1.11	1.34
S5	1.47	1.13	1.11	1.34
S6	1.41	1.12	1.13	1.32
S7	1.42	1.12	1.13	1.32
S8	1.42	1.13	1.12	1.32
S9	1.44	1.10	1.32	1.37
S10	1.42	1.10	1.17	1.27
S11	1.41	1.10	1.13	1.27
S12	1.30	1.12	1.18	1.23

3.2 主成分分析结果

应用 SPSS 21.0 统计分析软件对含量测定结果

进行分析, 方差贡献率结果见表 7, 主成分计算结果

见表 8。

表 7 主成分的方差值和贡献率

Table 7 Characteristic value and variance contribution rate of principle components

成份 Ingredient	初始特征值 Initial eigenvalue			提取平方和载入 Extract square sum load		
	合计 Total	方差贡献率 Variance contribution (%)	累积贡献率 Cumulative variance contribution (%)	合计 Total	方差贡献率 Variance contribution (%)	累积贡献率 Cumulative variance contribution (%)
1	2.100	52.501	52.501	2.100	52.501	52.501
2	1.322	33.059	85.559	1.322	33.059	85.559
3	0.503	12.571	98.131	0.503	12.571	98.131
4	0.075	1.869	100.000	0.075	1.869	100.000

表 8 主成分分析结果
Table 8 Principal component analysis (PCA)

指标 Index	成分矩阵 Composition matrix		得分系数 Score coefficient		特征向量 Feature vector	
	因子 1 Factor 1	因子 2 Factor 2	因子 1 Factor 1	因子 2 Factor 2	向量 1 Vector 1	向量 2 Vector 2
淫羊藿苷 Icarin	0.894	0.330	0.426	0.250	0.617	0.228
朝藿定 A Epimedin A	0.640	-0.570	0.305	-0.431	0.557	-0.496
朝藿定 B Epimedin B	-0.489	0.766	-0.233	0.579	-0.689	1.080
朝藿定 C Epimedin C	0.808	0.549	0.385	0.415	2.950	2.005

如表 7 所示,提取特征值大于 1 的成分,可提取两个主成分。第一主成分特征值为 2.100,方差贡献率是 52.501%;第二主成分特征值为 1.322,方差贡献率是 33.059%;根据特征向量矩阵,建立主成分分析模型。

$$F = 52.501\% F_1 + 33.059\% F_2$$

$$F_1 = 0.617X_1 + 0.442X_2 - 0.337X_3 + 0.558X_4$$

$$F_2 = 0.287X_1 - 0.496X_2 + 0.666X_3 + 0.477X_4$$

X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 分别为淫羊藿苷、朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C 原始变量标准化后的变量。F1、F2 为主成分 1 和主成分 2 得分。以主成分贡献率对主成分得分进行加权平均,得综合评分 F。结果见表 9,如表 9 所示,选择得分较高的柔毛淫羊藿,进行肾阳虚保护作用试验。

表 9 12 批淫羊藿药材样品得分
Table 9 Score of 12 batches of *Epimedium* medicinal herbs samples

样品编号 Sample No.	X1	X2	X3	X4	F1	F2	F
1	0.536	0.449	-1.158	-0.060	0.886	-0.869	0.017
2	0.496	0.548	-1.019	-0.140	0.814	-0.875	-0.061
3	1.603	-0.228	0.802	-0.160	0.529	1.031	1.560
4	0.934	-0.384	0.155	-0.120	0.287	0.505	0.792
5	0.858	-0.428	0.243	0.150	0.342	0.692	1.034
6	-0.083	-0.375	0.186	0.300	-0.112	0.429	0.317
7	-0.007	-0.331	0.099	0.210	-0.067	0.328	0.261
8	0.257	-0.748	0.712	-0.050	-0.440	0.895	0.455
9	-0.607	2.765	1.316	-0.090	0.354	-0.712	-0.358
10	-1.069	0.212	-1.117	-0.060	-0.223	-1.184	-1.407
11	-0.985	-0.229	-1.583	0.050	-0.148	-1.200	-1.347
12	-1.933	-1.251	1.363	-0.110	-2.266	0.921	-1.345

3.3 药理实验结果

3.3.1 全身一般情况

造模的大鼠逐渐出现活动减少、精神萎靡、背部弓起、皮毛枯燥、饮水增多等现象,随着腹腔注射天数的延长,大鼠体重逐渐下降,并伴随畏寒、毛色灰暗、背部蜷缩等现象。空白对照组大鼠均未见异常情况。经灌胃给予不同剂量淫羊藿提取物与金匮肾

气丸干预后,四组大鼠活动有所增加,以上症状也均有所改善。模型组大鼠体重略有回升,但状态无明显改善。

3.3.2 脏器指数变化

肾脏指数:如表 10 所示,与空白组相比,模型组肾脏指数显著升高($P < 0.05$);经金匮肾气丸与淫羊藿提取物灌胃干预后,与模型组相比,干预组肾脏

指数显著降低($P < 0.01$)；YYH-LG 组肾脏指数较低, YYH-MG 组和 YYH-HG 组肾脏指数基本一致($P > 0.05$)。

表 10 肾脏指数($\bar{x} \pm s, n=6$)Table 10 Renal index($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别 Group	肾脏指数 Renal index
空白组 Control group	0.659 ± 0.178
模型组 Model group	0.953 ± 0.089
阳性组 Positive group	$0.794 \pm 0.056^{**}$
YYH-LG	$0.790 \pm 0.029^{**}$
YYH-MG	$0.831 \pm 0.057^{**}$
YYH-HG	$0.839 \pm 0.108^{**}$

注:与模型组比较, $^{**} P < 0.01$ 。

Note: Compared with model group, $^{**} P < 0.01$.

3.3.3 肾功能

尿酸(UA):如表 11 所示,与空白组相比,模型组 UA 显著降低($P < 0.05$);干预后,干预组 UA 含量均有上升趋势,但与模型组无显著差异($P >$

0.05)；YYH-LG 组 UA 含量相对较高,YYH-MG 组和 YYH-HG 组 UA 含量基本一致,无显著差异($P > 0.05$)。

肌酐(CRE):如表 11 所示,与空白组相比,模型组 CRE 显著升高($P < 0.05$)；干预后,干预组 CRE 含量均有下降趋势,与模型组相比均有显著差异($P < 0.01$)；与 YYH-MG 组和 YYH-HG 组相比,YYH-LG 组 CRE 下降效果较好,且与 YYH-MG 组有显著差异($P < 0.05$)。

尿素氮(BUN):如表 11 所示,与空白组相比,模型组 BUN 显著升高($P < 0.05$)；干预后,干预组 BUN 含量均有下降趋势,与模型组相比均有显著差异($P < 0.01$)；与 YYH-HG 组相比,组和 YYH-HG 组相比,YYH-LG 组 CRE 下降效果较好,且与 YYH-MG 组 BUN 含量下降趋势明显,具有显著差异($P < 0.001$)；与组和 YYH-HG 组相比,YYH-LG 组和 YYH-HG 组 BUN 含量下降趋势明显,具有显著差异($P < 0.05$)。

表 11 UA、CRE、BUN 含量变化($\bar{x} \pm s, n=6$)Table 11 UA, CRE, BUN content changes ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别 Group	UA (mmol/L)	CRE (mmol/L)	BUN (mmol/L)
空白组 Control group	96.486 ± 2.626	20.653 ± 0.812	8.459 ± 0.590
模型组 Model group	$81.715 \pm 7.596^{*}$	$42.751 \pm 2.364^{*}$	$21.684 \pm 1.098^{*}$
阳性组 Positive group	89.265 ± 1.828	$30.981 \pm 1.920^{**}$	$15.239 \pm 0.716^{***}$
YYH-LG	89.694 ± 1.118	$29.125 \pm 1.900^{***}$	$13.639 \pm 0.491^{***}$
YYH-MG	84.521 ± 2.249	$35.482 \pm 1.274^{**}$	$16.694 \pm 0.945^{***}$
YYH-HG	85.639 ± 1.897	$32.451 \pm 1.789^{**}$	$11.593 \pm 1.197^{***}$

注:与模型组比较, $^{*} P < 0.05$, $^{**} P < 0.01$, $^{***} P < 0.001$

Note: Compared with model group, $^{*} P < 0.05$, $^{**} P < 0.01$, $^{***} P < 0.001$

3.3.4 组织镜检

3.3.4.1 肾脏组织病理变化

如图 1A、B 所示,空白组大鼠肾脏组织髓质和皮质分界清晰,肾小管基底膜未见增厚,肾小球和肾间质未见异常。如图 1C、D 所示,模型组大鼠肾脏组织中肾小管管腔增大,基底膜增厚,肾小管数目减少;肾小球数目减少,肾小球萎缩,肾小囊腔扩大;肾间质纤维化严重。如图 1E~L 所示,干预后,与模型组相比,阳性组、YYH-LG 组、YYH-MG 组和 YYH-HG 组大鼠肾脏组织中均见肾小管基底膜增厚减轻,肾小管管腔缩小,肾小球萎缩减轻,肾小囊腔基本无扩大迹象,肾间质纤维化减轻。对比干预组肾脏组织,阳性组和 YYH-HG 组肾脏中肾小球恢复效

果较好,数目增加,系膜细胞分布均匀,肾间质纤维化较轻。

4 讨论与结论

本研究主成分分析结果显示,将四个成分提取出两个主成分,第一主成分淫羊藿苷、朝藿定 C,第二主成分为朝藿定 B。利用贡献率对主成分进行加权平均,比较 12 批淫羊藿药材得分,发现其中有 5 批样品得分较低,提示 12 批样品质量存在差异。本研究选择得分较高的柔毛淫羊藿进行接下来的肾阳虚保护作用研究。

在临幊上,肾功能损伤时,UA、CRE 和 BUN 含量会改变^[13~16]。在本研究中,以氢化可的松诱导形成的大鼠肾阳虚为实验对象,以 UA、CRE 和 BUN

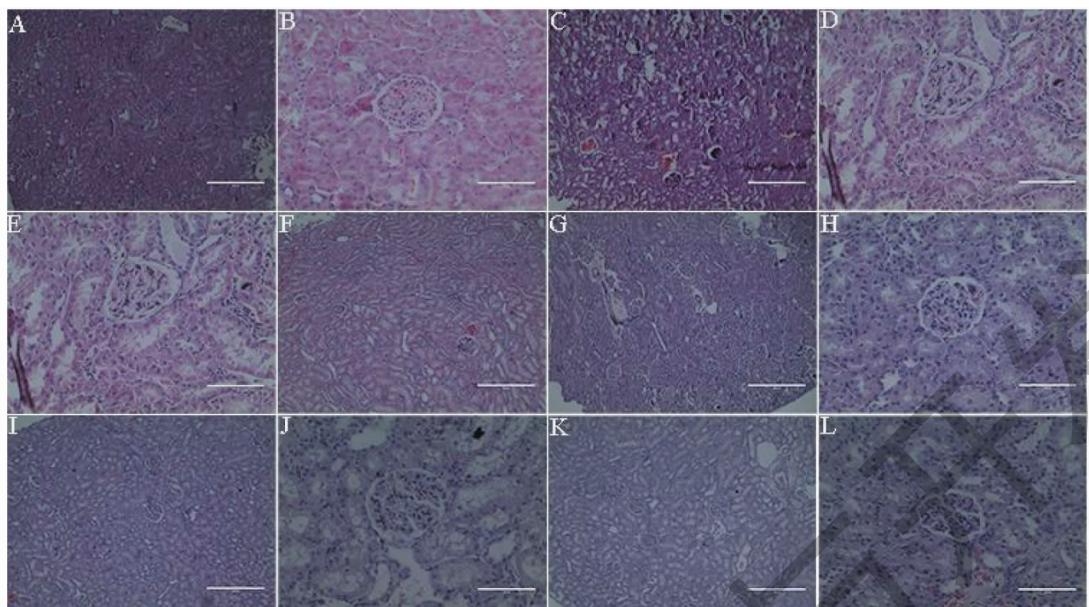


图 1 柔毛淫羊藿对肾阳虚大鼠肾组织形态结构的影响

Fig. 1 Effects of *E. pubescens* on the morphological structure of kidney tissue in rats with kidney-yang deficiency

注:A:空白组($\times 10$);B:空白组($\times 40$);C:模型组($\times 10$);D:模型组($\times 40$);E:阳性组($\times 10$);F:阳性组($\times 40$);G:YYH-LG 组($\times 10$);H:YYH-LG 组($\times 40$);I:YYH-MG 组($\times 10$);J:YYH-MG 组($\times 40$);K:YYH-HG 组($\times 10$);L:YYH-HG 组($\times 40$) Note: A: Control group ($\times 10$); B: Control group ($\times 40$); C: Model group ($\times 10$); D: Model group ($\times 40$); E: Positive group ($\times 10$); F: Positive group ($\times 40$); G: YYH-LG group ($\times 10$); H: YYH-LG group ($\times 40$); I: YYH-MG group ($\times 10$); J: YYH-MG group ($\times 40$); K: YYH-HG group ($\times 10$); L: YYH-HG group ($\times 40$).

为检测指标。结果显示,YYH-LG 组、YYH-MG 组和 YYH-HG 组均可以减少 UA、CRE 和 BUN 的含量。总体而言,YYH-LG 组对各指标、肾脏损伤改善效果较好。因此,淫羊藿作为药品在治疗肾阳虚中具有重要意义。

参考文献

- 1 Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's republic of China: Vol. I(中华人民共和国药典:第一部)[M]. Beijing: China Medical Science Press, 2015: 8.
- 2 He LJ, Jiang JJ, Zhang L, et al. Advances in research on pharmacological effects and clinical application of *Epimedium* [J]. Clin J Chin Med (中医临床研究), 2020, 12 (2) : 17-20.
- 3 Wang CC, Su JY, Cai JY, et al. Response surface analysis for the optimization of extraction condition for polysaccharides from *Epimedium* polysaccharides and studies on its tumor immune activities[J]. Acta Pharm Sin(药学学报), 2016, 51: 1464-1471.
- 4 Yin X, Ding JQ, Jiang WL, et al. Determination of echinoside in *Epimedium* soft capsule by RP-HPLC [J]. Ginseng Res(人参研究), 2019, 31 (5) : 38-40.

- 5 Gao H, Fan Y, Wang D, et al. Optimization on preparation condition of *Epimedium* polysaccharide liposome and evaluation of its adjuvant activity[J]. Int J Biol Macromol, 2012, 50 (1) : 207-213.
- 6 Hou LL, Chen HM, Zhang SQ. Extracting polysaccharides from *Epimedium koreanum* Nakai. [J]. Hubei Agr Sci(湖北农业科学), 2015, 54 (1) : 145-147.
- 7 Cui L, Sun E, Zhang ZH, et al. Metabolite profiles of epimedin B in rats by ultraperformance liquid chromatography/quadrupole-time-of-flight mass spectrometry[J]. J Agr Food Chem, 2013, 61 (15) : 3589.
- 8 Wang HZ, Chai YH, Chen YZ, et al. Advances in research on chemical constituents and pharmacological effects of *Epimedium*[J]. Asia-Pac Tradit Med(亚太传统医药), 2016, 12 (7) : 63-65.
- 9 Yang LJ, Lu DF, Guo JJ, et al. Icariin from *Epimedium brevicornutum* Maxim promotes the biosynthesis of estrogen by aromatase(CYP19) [J]. J Ethnopharmacol, 2013, 145: 715-721.
- 10 Jiang J, Feng L, Li J, et al. Multielemental composition of saponin oil based on quantification by ultrawave/ICP-MS coupled with chemometric analysis [J]. Molecules, 2014, 19 (4) : 4452.
- 11 Tan J, Zheng M, Duan S, et al. Chemical profiling and screen-

- ing of the marker components in the fruit of cassia fistula by HPLC and UH-PLC/LTQ-Orbitrap MSn with chemometrics [J]. Molecules, 2018, 23(7):1501.
- 12 Lu P, Chen JX, Zhao HH, et al. In silico syndrome prediction for coronary artery disease in traditional Chinese medicine [J]. Evid-Based Compl Alt Med, 2012; 142584.
- 13 Quinn CJ, Burns PD, Gibson NM, et al. Effects of chronic endurance exercise on doxorubicin-induced thymic damage [J]. Integr Cancer Ther, 2016, 15:535-541.
- 14 Cui KH, Ji B. Summary of research on modern evaluation in- dexes of kidney yang deficiency animal model [J]. J Gansu Univ Tradit Chin Med (甘肃中医药大学学报), 2016, 33 (1), 75-78.
- 15 Li C, Li Q, Mei Q, et al. Pharmacological effects and pharmacokinetic properties of icariin, the major bioactive component in Herba Epimedii [J]. Life Sci, 2015, 126(4):57-68.
- 16 Luan Q, Fan Y, Zhang M, et al. Protective effect of active ingredients of *Lycium barbarum* leaves on acute alcoholic liver injury in mice [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2020, 32:1803-1810.

《天然产物研究与开发》青年编委会

青年编委(以姓氏笔划为序)

Members

王红兵	戈惠明	尹文兵	尹 胜	吕兆林	刘相国
WANG Hongbing	GE Huiming	YIN Wenbing	YIN Sheng	LV Zhaolin	LIU Xiangguo
孙昊鹏	孙桂波	李良成	李国友	邱 莉	汪海波
SUN Haopeng	SUN Guibo	LI Liangcheng	LI Guoyou	QIU Li	WANG Haibo
沐万孟	张炳火	陈益华	林昌俊	欧阳杰	易华西
MU Wanmeng	ZHANG Binghuo	CHEN Yihua	LIN Changjun	OU Yangjie	YI Huaxi
罗应刚	周 文	胡友财	袁 涛	夏永刚	高慧敏
LUO Yinggang	ZHOU Wen	HU Youcai	YUAN Tao	XIA Yonggang	GAO Huimin
唐金山	黄胜雄	韩秀珍	韩淑燕	曾克武	蓝蔚青
TANG Jinshan	HUANG Shengxiong	HAN Xiuzhen	HAN Shuyan	ZENG Kewu	LAN Weiqing
廖晨钟	薛永波				
LIAO Chenzhong	XUE Yongbo				