

# 九香虫提取物的抗疲劳和补肾壮阳活性评价

李娟<sup>1,2,3</sup>, 张一唱<sup>3</sup>, 崔光红<sup>1,2</sup>, 马晓晶<sup>1,2</sup>, 陈科力<sup>3</sup>, 黄璐琦<sup>1,2,\*</sup>

(1 中国中医科学院 博士后科研流动站 北京 100700 ;

2 中国中医科学院 中药资源中心 北京 100700; 3 湖北中医药大学 武汉 430065)

**摘要** 目的: 评价九香虫提取物的抗疲劳和补肾壮阳活性. 方法: 以九香虫水提取物低、高剂量组(1.4, 7.0 g · kg<sup>-1</sup>) 小鼠灌胃给药 15 d 后, 测定了小鼠的力竭游泳时间、血清尿素氮和血乳酸含量等. 皮下注射氢化可的松建立了小鼠的肾阳虚模型. 九香虫提取物低、高剂量组连续灌胃 30 d, 检测了小鼠胸腺、脾脏、肾上腺、睾丸、精囊腺等脏器系数, 以及交配能力(捕捉潜伏期、捕捉率、交配潜伏期、交配率等). 结果: 九香虫提取物高剂量组能显著降低小鼠血清乳酸和尿素含量, 延长力竭游泳时间, 具有明显的抗疲劳作用. 高剂量组还能显著增加肾阳虚小鼠的免疫器官、睾丸和附性器官的脏器系数, 提高交配能力, 具有明显的补肾壮阳作用. 结论: 九香虫提取物具有明显的抗疲劳和补肾壮阳作用.

**关键词** 九香虫; 水提取物; 抗疲劳; 补肾壮阳

中图分类号 Q956 文献标识码 A 文章编号 1672-4321(2018)02-0045-04

## Evaluation of Anti-fatigue and Aphrodisiac Activity of Extract from *Aspongopus chinensis*

Li Juan<sup>1,2,3</sup>, Zhang Yichang<sup>3</sup>, Cui Guanghong<sup>1,2</sup>, Ma Xiaojing<sup>1,2</sup>, Chen Keli<sup>3</sup>, Huang Luqi<sup>1,2</sup>

(1 Post-doctoral Research Station, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China; 2 National Resource Center for Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China; 3 Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, China)

**Abstract** Objective: To evaluate the anti-fatigue and aphrodisiac activities of the extract from *Aspongopus chinensis*. Method: After low and high doses of extracts of *Aspongopus chinensis* (1.4, 7.0 g · kg<sup>-1</sup>) were intragastrically administered for 15 days, the loaded swimming time, serum urea nitrogen and lactic acid were measured. Kidney Yang deficiency mice model was established by subcutaneous administration of hydrocortisone. The viscera coefficients of thymus, spleen, adrenal gland, testis, seminal vesicle, and the mating ability (capture latency, capture rate, mating latency, mating rate) were measured after the two groups of mice were treated by gavage for 30 consecutive days. Result: High dose group showed significant anti-fatigue activity, as evidenced by the decrease of the content of serum lactic acid and urea, and the increase of the loaded swimming time. In addition, the high dose group also showed significant aphrodisiac activity by increasing the viscera coefficient of the immune organs, testicles and accessory sex organs of Yang deficiency mice, and improving the mating ability. Conclusion: The extracts of *Aspongopus chinensis* had apparent anti-fatigue and aphrodisiac effect.

**Keywords** *Aspongopus chinensis*; water extract; anti-fatigue effect; aphrodisiac activities

九香虫为半翅目蝽科九香虫亚科昆虫九香虫 *Aspongopus chinensis* 的干燥体, 别名黑兜虫、瓜黑蝽、臭屁虫、屁巴虫等, 为中国特有种. 《中国药典》(2015 年版) 记载九香虫具有理气止痛, 温中助阳的功效, 用

于胃寒胀痛, 肝胃气痛, 肾虚阳痿, 腰膝酸痛. 它始载于《本草纲目》: “咸温无毒, 用于膈脘滞气, 脾肾亏损, 壮元阳”. 《本草新编》中记载 “虫中之至佳者, 亦兴阳之物, 以扶衰弱最宜”. 九香虫的壮阳功效虽屡

收稿日期 2018-01-15 \* 通讯作者 黄璐琦(1968-), 男, 中国工程院院士, 研究员, 研究方向: 中药资源, E-mail: huangluqi01@126.com

作者简介 李娟(1982-), 女, 副教授, 博士后, 研究方向: 中药资源与活性评价, E-mail: lz198207@126.com

基金项目 中国博士后科学基金资助项目(2016M601237); 湖北省教育厅科学研究计划资助项目(Q20172009); 湖北省自然科学基金资助项目(2017CFB397)

有记载<sup>[1,2]</sup> 但未见其壮阳功效的实验报道.为此,本文结合壮阳行为与机体疲劳密切相关的相关性,拟评价九香虫提取物的抗疲劳和补肾壮阳作用.

## 1 实验材料

### 1.1 试剂和仪器

氢化可的松(成都艾科达化学试剂,纯度 98%,批号 201608122),大株红景天胶囊(江苏康缘药业,批号 150314),金匱肾气丸(北京同仁堂,批号 15032476),补佳乐(戊酸雌二醇,拜耳医药,批号 283A),生理盐水(武汉滨湖双鹤药业,批号 1603300901),乳酸测试盒(南京建成,批号 20160603),尿素氮试剂盒(南京建成,批号 20160923),超纯水(Water purifier 实验室专用超纯水机).

电子分析天平(XB220A,瑞士 Precisa),冷冻离心机(Centrifuge 5804 R,德国 Eppendorf),酶标仪(Synergy 2 美国 Bio-Tek).

### 1.2 实验动物

昆明种小鼠 6~8 周龄,体重 18~22 g,购自湖北省实验动物研究中心,SPF 级,行政许可证编号:SYXK(鄂)2012-0068,生产许可证编号:SCXK(鄂)2015-0018,合格证编号:42000400004612,实验动物从业人员上岗证号:W20150346,W20170310.实验前适应性喂养 5 d.

### 1.3 药材样品

昆虫九香虫购自河北安国药材市场,经湖北中医药大学陈科力教授鉴定为正品.将九香虫打成粗粉,取 6 倍量石油醚回流提取 2 次,每次 30 min,倾去石油醚,药渣用 8 倍量水回流提取 2 次,合并滤液,浓缩至 2 g·mL<sup>-1</sup> 备用.

## 2 实验方法

### 2.1 血乳酸测定

参照卫生部《保健食品功能学评价程序和检验方法》(2003 年版)中《抗疲劳作用检验方法》进行.昆明种雄性小鼠,随机分为 4 组,每组 10 只,分别为九香虫提取物低剂量组(1.4 g·kg<sup>-1</sup>,按原药材计)、高剂量组(7.0 g·kg<sup>-1</sup>)、阳性药组(大株红景天胶囊,590 mg·kg<sup>-1</sup>)、空白对照组(生理盐水).给药时间为 15 d,末次给药 30 min 后采血 20 μL,不负重在 30 ℃ 的水中游泳 10 min 后和休息 20 min 后各采血 20 μL.用毛细管从眼眶内眦采血,上述 3 个时间点各采血 20 μL,EDTA 抗凝,离心取上清液,按照乳酸测定试剂盒

检测乳酸含量.血乳酸曲线下面积计算方法:血乳酸曲线下面积 = 5×(游泳前血乳酸值+3×游泳后 0 min 的血乳酸值+2×游泳后休息 20 min 的血乳酸值)

### 2.2 负重游泳实验

剂量分组和给药时间同 2.1(血乳酸测定).末次给药 30 min 后,按小鼠体重 5% 负重铁丝,将其放入水温(25±1) ℃ 的水槽中使其游泳,开始计时,直至小鼠沉入水底 8 s 不再浮起,为力竭游泳结束,记录游泳时间.

### 2.3 血清尿素测定

剂量分组及给药时间同 2.1.末次给药 30 min 后,在 30 ℃ 的水中不负重游泳 90 min,休息 60 min 后采血.采血约 0.5 mL,置 4℃ 冰箱约 3 h,血凝固后离心取血清,用尿素检测试剂盒检测尿素含量<sup>[3]</sup>.

### 2.4 对肾阳虚小鼠交配能力的影响

雄性小鼠随机分为 5 组:正常对照组、模型组、阳性对照组(金匱肾气丸,1.4 g·kg<sup>-1</sup>),九香虫提取物低、高剂量组(1.4,7.0 g·kg<sup>-1</sup>).正常对照组和模型组灌胃生理盐水 20 mL·kg<sup>-1</sup>,其余各组分别灌胃相应药物 20 mL·kg<sup>-1</sup>,每日 1 次,连续 30 d,从给药第 4 d 开始,除正常对照组皮下注射生理盐水 5 mL·kg<sup>-1</sup> 外,其余各组均注射氢化可的松 25 mg·kg<sup>-1</sup>,每日 1 次,连续 7 d,造模同时连续给药.雌性小鼠于交配前 48 h 和 3 d 按照 20 mL·kg<sup>-1</sup> 灌胃补佳乐混悬液(戊酸雌二醇 0.4 mg·kg<sup>-1</sup>),使之发情时间同步于交配时间.给药后第 30 d 给药 30 min 后观察 30 min 内交配能力实验(捕捉潜伏期、捕捉率、交配潜伏期、交配率等).脱颈椎处死小鼠,迅速分离胸腺、脾、肾上腺、睾丸、附睾,剖取精囊腺、包皮腺称湿重,计算脏器系数<sup>[4-6]</sup>.

### 2.5 统计学处理

利用 SPSS 18.0 软件,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,各组间用单因素方差分析,检验水准为  $\alpha = 0.05$ .以  $P < 0.05$  代表有显著性差异,以  $P < 0.01$  表示有极显著差异.

## 3 实验结果

### 3.1 血乳酸测定

九香虫提取物对小鼠乳酸含量的影响结果见表 1.由表 1 可知:九香虫提取物低、高剂量组游泳前、游泳后 10 min、休息后 20 min 血乳酸含量均稍低于空白对照组,各剂量组小鼠游泳前后 3 个时间点的血乳酸曲线下面积均下降,其中九香虫提取物高剂量组与空白对照组比较有显著性差异( $P < 0.05$ ).

表 1 九香虫提取物对小鼠乳酸含量的影响( $\bar{x}\pm s$   $n=10$ )

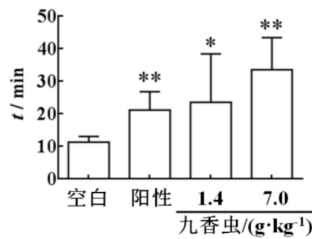
Tab.1 Effect of extract from *Aspongopus chinensis* on lactic acid content of mice

组 别	乳酸含量/ mM			血乳酸曲线下面积
	游泳前	游泳后 10 min	休息 20 min 后	
空白对照	7.542±1.076	6.059±0.596	6.835±0.617	196.945±20.494
九香虫低剂量组	8.717±0.960	4.333±0.258	6.065±0.429	169.239±12.963
九香虫高剂量组	6.755±0.713	4.838±0.588	4.980±0.505*	156.145±17.434*
阳性对照	6.783±0.877	5.635±0.407	5.974±0.641	178.174±16.899

注: 与空白对照组比较, \*  $P<0.05$

### 3.2 负重游泳实验

九香虫提取物对小鼠力竭游泳时间的影响结果见图 1. 由图 1 可知: 阳性对照组、九香虫提取物低、高剂量组的力竭游泳时间明显高于空白对照组, 均具有显著性差异 ( $P<0.05$  或  $P<0.01$ ); 九香虫提取物高剂量组对小鼠力竭游泳时间的影响最为显著 ( $P<0.01$ ).



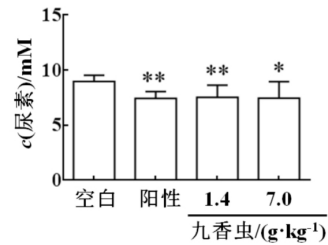
与空白组比较, \*  $P<0.05$ , \*\*  $P<0.01$

图 1 九香虫提取物对小鼠力竭游泳时间的影响( $\bar{x}\pm s$   $n=10$ )

Fig.1 Effect of extract from *Aspongopus chinensis* on the loaded swimming time of mice

### 3.3 血清尿素含量测定

九香虫提取物对小鼠尿素含量的影响结果见图 2.



与空白组比较, \*  $P<0.05$ , \*\*  $P<0.01$

图 2 九香虫提取物对小鼠尿素含量的影响( $\bar{x}\pm s$   $n=10$ )

Fig.2 Effect of extract from *Aspongopus chinensis* on the urea content of mice

由图 2 可知: 阳性对照组、九香虫提取物低、高剂量组的尿素含量均明显低于空白对照组, 具有显著性差异 ( $P<0.05$  或  $P<0.01$ ).

### 3.4 对肾阳虚小鼠交配能力的影响

#### 3.4.1 脏器系数

九香虫提取物对小鼠脏器系数的影响结果见表 2 和表 3.

表 2 九香虫提取物对小鼠胸腺、脾脏和肾上腺脏器系数的影响( $\bar{x}\pm s$   $n=10$ )

Tab.2 Effect of extract from *Aspongopus chinensis* on mice organ coefficient of thymus, spleen, and adrenal gland

组 别	不同性脏器系数 / %		
	胸 腺	脾	肾 上 腺
正常对照	0.256±0.059	0.305±0.063	0.019±0.007
模型对照	0.204±0.033 $\Delta$	0.251±0.037 $\Delta$	0.010±0.002 $\Delta\Delta$
阳性对照	0.248±0.051	0.283±0.042	0.012±0.005*
九香虫低剂量	0.212±0.069	0.300±0.082	0.013±0.004*
九香虫高剂量	0.193±0.051	0.242±0.045	0.011±0.003

注: 与正常组比较,  $\Delta P<0.05$ ,  $\Delta\Delta P<0.01$ ; 与模型对照组比较, \*  $P<0.05$

表 3 九香虫提取物对小鼠性腺脏器系数的影响( $\bar{x}\pm s$   $n=10$ )

Tab.3 Effect of extract from *Aspongopus chinensis* on the the organ coefficient of sexual gland

组 别	不同性脏器系数 / %			
	辜 丸	附 辜	精 囊 腺	包 皮 腺
正常对照	0.620±0.094	0.093±0.028	0.463±0.072	0.229±0.061
模型对照	0.559±0.090 $\Delta$	0.092±0.009	0.341±0.095 $\Delta\Delta$	0.157±0.046 $\Delta\Delta$
阳性对照	0.644±0.054*	0.110±0.016	0.532±0.102**	0.247±0.064*
九香虫低剂量	0.614±0.066	0.097±0.011	0.350±0.097	0.194±0.061
九香虫高剂量	0.630±0.109*	0.092±0.019	0.479±0.095**	0.223±0.042*

注: 与正常组比较,  $\Delta P<0.05$ ,  $\Delta\Delta P<0.01$ ; 与模型对照组比较, \*  $P<0.05$ , \*\*  $P<0.01$

由表 2 3 可知:模型组注射氢化可的松造成小鼠肾上腺、胸腺、脾脏、睾丸和附性器官(精囊腺和包皮腺除附睾)等重量较正常组显著降低( $P<0.05$ ),说明肾阳虚造模成功.灌胃给药九香虫提取物 30 d 后相对于模型组而言,九香虫提取物高、低剂量组均可不同程度相对增加小鼠免疫器官、睾丸和附性器官的重量( $P<0.05$  或  $P<0.01$ ).

### 3.4.2 交配能力

九香虫提取物对小鼠交配能力的影响结果见表

表 4 九香虫提取物对小鼠交配能力的影响( $\bar{x}\pm s$   $n=10$ )

Tab.4 Effect of extract from *Aspongopus chinensis* on the mating ability

组别	扑捉潜伏期 $t/\text{min}$	扑捉次数 $n/\text{次}$	扑捉率/%	交配潜伏期 $t/\text{min}$	交配次数 $n/\text{次}$	交配率/%
正常对照	17.12±11.33	2.90±3.98	50	23.20±8.86	1.30±1.77	30
模型对照	26.92±5.20	0.80±1.03	40	29.08±2.08 <sup>△</sup>	0.30±0.67 <sup>△</sup>	20
阳性对照	19.21±11.49	1.90±2.28	50	24.13±8.77	0.60±0.84	40
九香虫低剂量	24.86±5.94	0.90±0.99	50	28.18±3.83	0.30±0.67	20
九香虫高剂量	17.44±8.74 <sup>**</sup>	3.30±2.58 <sup>**</sup>	80	23.95±5.72 <sup>*</sup>	1.40±1.35 <sup>*</sup>	60

注:与正常组比较,<sup>△</sup> $P<0.05$ ;与模型对照组比较,<sup>\*</sup> $P<0.05$ ,<sup>\*\*</sup> $P<0.01$

4.由表 4 可知:注射氢化可的松造成小鼠肾阳虚模型组交配潜伏期和交配次数较正常组均有显著性差异( $P<0.05$ ),说明造模成功.相对于模型组而言,给药后九香虫提取物高剂量组小鼠的扑捉潜伏期和扑捉次数(以 30 min 计)、交配潜伏期和交配次数均有显著性差异( $P<0.05$  或  $P<0.01$ ).由扑捉率和交配率可见,九香虫提取物高剂量组能明显提高扑捉和交配百分数,而低剂量组对小鼠交配能力的影响不显著.

## 4 讨论

九香虫含有脂肪、蛋白质、氨基酸、维生素、尿酸、嘌呤、以及多种微量元素等<sup>[2]</sup>.臭气类成分主要为醛酮类,十三烷等低极性成分<sup>[7,8]</sup>.程永现教授从九香虫中发现了结构新颖的多巴胺三聚体( $\pm$ )-Aspongamide A,该化合物可防治慢性肾病<sup>[9]</sup>;虫类药物中微量元素锌、锰、钙等可为中药补肾的物质基础.

本文结合中药传统水煎煮的用药方法,先用石油醚除去九香虫中极性较低的油脂类成分,再用水提取得到九香虫水提取物.实验结果表明:九香虫提取物高剂量组能显著降低血清乳酸含量,延长力竭游泳时间,降低血清尿素含量,具有明显的抗疲劳作用.某种程度上较阳性药金匱肾气丸效果更佳;高剂量组还能显著增加氢化可的松导致的肾阳虚小鼠的免疫器官、睾丸和附性器官的脏器系数,提高交配能力,具有明显的补肾壮阳作用,并且功效相对强于金匱肾气丸.同时,九香虫提取物低剂量组也有一定的抗疲劳作用.以上结果说明:九香虫水提取具有显著的抗疲劳和补肾壮阳作用,并呈现一定剂量相关性.本研究为九香虫的药用和功能食品开发提供了研究基础.

## 参 考 文 献

- [1] 郭玉红,张庆林.药食昆虫九香虫的生物学及开发利用研究进展[J].时珍国医国药,2015,26(3):692-693.
- [2] 宋政伟,尹卫平,刘普,等.常见蜡类昆虫的化学成分及药理活性研究进展[J].应用昆虫学报,2011,48(3):753-756.
- [3] 林新丽,方祝元,朱萱萱,等.复方一把针颗粒对原发性高血压大鼠早期肾损伤的影响[J].医药导报,2016,35(2):125-129.
- [4] 中华人民共和国卫生部药政管理局.中药新药研究指南(药学 药理学 毒理学)[M].北京:中华人民共和国卫生部药政管理局,1994:85-86.
- [5] 唐爱存,陈兆霓,梁韬,等.葫芦茶乙醇提取物对肝损伤小鼠的保护作用[J].医药导报,2016,35(3):242-245.
- [6] 冯新玲,陈科力,李娟.龙蔓藤茶增强免疫力功能的实验研究[J].中南民族大学学报(自然科学版),2016,35(1):67-69.
- [7] 侯晓晖,李晓飞,孙廷.九香虫“臭气”挥发性成分的GC-MS分析[J].广东农业科学,2012,18(7):133-134.
- [8] 南京中医药大学.中药大辞典[M].上海:上海科学技术出版社,2006:45-46.
- [9] Yan Y M, Ai J, Shi Y N, et al. ( $\pm$ )-Aspongamide A, an N-acetyldopamine trimer isolated from the insect *Aspongopus chinensis*, is an inhibitor of p-Smad3[J].Org Lett, 2014, 16(2):532-535.

(责任编辑 刘 钊)