

的元素测定, 很难发现其他有害元素的残留。但目前针对中药制剂的有害元素残留量并无统一规定, 2015年版《中国药典》仅对部分中药限制了Pb、Cd、As、Hg、Cu的量, ICH Q3D元素杂质指南亦不适用于中药制剂, 因此建立中药材和中药制剂范围较广的有害元素限量标准势在必行。

本实验建立的ICP-MS半定量筛查方法准确度较高, 操作简便, 与全定量相结合, 检查26批小儿哮喘灵颗粒的元素种类及部分元素含量, 为中药制剂特别是在成分复杂、有害元素种类未知的情况下, 提供范本。也为中药制剂质量控制及有害元素的快速检测提供依据。

#### 参考文献:

[1] 郑艳青, 马斐, 张静, 等. 小儿哮喘灵颗粒中金银花的质量分析[J]. 中成药, 2015, 37(12): 2660-2664.  
[2] 徐文峰, 金鹏飞, 徐硕, 等. 电感耦合等离子质谱在药物分析中的应用[J]. 药物分析杂志, 2017, 37(12): 2123-2132.  
[3] 于趁, 艾连峰, 马育松, 等. 基于电感耦合等离子体质谱技术的乳制品中多种元素的半定量分析方法[J]. 食品安全质量检测学报, 2016, 7(2): 755-761.  
[4] 沈沁怡, 徐蓬蓬, 季彦璠, 等. ICP-MS半定量分析在应急

监测中的应用研究[J]. 环境科学与管理, 2014, 39(2): 132-136.  
[5] 左甜甜, 李耀磊, 李永鹏, 等. 电感耦合等离子体质谱法半定量快速筛查13种中药材中重金属及毒性元素[J]. 药物分析杂志, 2017, 37(12): 2238-2244.  
[6] 姜小林, 董素萍, 舒靖能. ICH Q3D新药制剂元素杂质评估及控制的要点解读[J]. 中国药事, 2017, 31(8): 854-860.  
[7] 中国国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2015年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 87.  
[8] 吴文辉, 冯健, 潘新, 等. ICP-MS半定量分析箭叶淫羊藿中重金属元素种类[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(8): 56-60.  
[9] NSF. International standard/american national standard for dietary supplements (NSF/ANSI 173-2010) [S].  
[10] 张更宇, 吴超, 邓宇杰. 电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)联用技术的应用及展望[J]. 中国无机分析化学, 2016, 6(3): 19-26.  
[11] Fischer L, Zipfel B, Koellensperger G, et al. Flow injection combined with ICP-MS for accurate high throughput analysis of elemental impurities in pharmaceutical products according to USP<232>/<233>[J]. J Pharm Biomed Anal, 2014, 95: 121-129.  
[12] YBZ08702004, 小儿哮喘灵冲剂[S].  
[13] YBZ01852005, 小儿哮喘灵颗粒[S].

## 五子衍宗丸中药物盐制前后的药效分析

张希<sup>1</sup>, 杨卓<sup>1,2</sup>, 陈志敏<sup>1</sup>, 李文兵<sup>3</sup>, 周海婷<sup>1</sup>, 权亮<sup>1</sup>, 胡昌江<sup>1\*</sup>

(1. 成都中医药大学药学院, 四川 成都 611137; 2. 成都市妇女儿童中心医院药学部, 四川 成都 611137; 3. 四川新绿色药业科技发展有限公司, 四川 成都 611930)

**摘要:** 目的 以五子衍宗丸为基础, 分析覆盆子五味子盐制前后对肾虚大鼠温肾助阳作用的影响。方法 通过雷公藤多苷建造肾虚精亏型生精障碍大鼠, 以单味筛选药入复方来研究对肾精亏虚证大鼠的治疗改善作用; 采用HPLC对生品及其炮制品复方共有HPLC图谱进行比较。结果 与模型组相比, 盐制组能显著提高对雷公藤多苷所致的肾精亏虚证生精障碍型大鼠的精子密度与精子活率( $P < 0.05$ ), 同时对大鼠的睾丸与精囊腺脏器指数具有显著改善作用( $P < 0.05$ ); 五子衍宗丸生品同炮制品复方HPLC色图谱254 nm下标记32个共有峰, 360 nm下标记31个共有峰; 未发现成分的新增或消失, 但存在分量上的变化。结论 该方法简单, 重复性好, 初步为五子衍宗丸中药物的质量标准奠定基础, 证实了五子衍宗丸中药物盐制能增强疗效的科学性。

**关键词:** 五子衍宗丸; 覆盆子; 五味子; 盐制; HPLC

**中图分类号:** 文献标志码: A 文章编号: 1001-1528(2019)11-2706-05

**doi:** 10.3969/j.issn.1001-1528.2019.11.029

收稿日期: 2018-11-02

基金项目: 国家自然科学基金(8177140760)

作者简介: 张希(1994—), 女, 硕士生, 研究方向为中药炮制与制剂。E-mail: 992786224@qq.com

\*通信作者: 胡昌江(1952—), 男, 教授, 博士生导师, 主要从事中药炮制原理与质量标准研究。Tel: 13980980796, E-mail: hhccjj@hotmail.com

# Pharmacodynamics analysis of medicinal materials from Wuzi Yanzong Pills before and after processing with salt

ZHANG Xi<sup>1</sup>, YANG Zhuo<sup>1,2</sup>, CHEN Zhi-min<sup>1</sup>, LI Wen-bing<sup>3</sup>, ZHOU Hai-ting<sup>1</sup>, QUAN Liang<sup>1</sup>, HU Chang-jiang<sup>1\*</sup>

(1. College of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China; 2. Department of Pharmacy, Chengdu Women and Children's Center Hospital, Chengdu 611137, China; 3. Neo-Green Pharmaceutical Co., Ltd., Chengdu 611390, China)

**KEY WORDS:** Wuzi Yanzong Pill; *Rubus chingii* Hu; *Schisandra chinensis* (Turcz. Ball); processing with salt; HPLC

五子衍宗丸作为千古名方，有“种子第一方”的美誉，是中医补肾益精的经典名方，又名五子丸、五子补肾丸，广泛用于治疗肾虚腰痛、阳痿、不育等疾病。最早对其记载始于明·张时彻《摄生众妙方》。方药组成为五味子、菟丝子、覆盆子、枸杞子、车前子，功善补益肾精。方中用菟丝子性温，入肾经，以壮肾阳；枸杞子育阴益精；覆盆子以滋阴养精；五味子酸甘化阴；加车前子利湿固气，具有很好的补肾填精作用<sup>[1-3]</sup>。

复方入药、炮制是中医用药的两大特色，目前在复方中探讨药物炮制机制的研究较少，但中医临床功效的发挥是以复方为载体，将生、熟饮片纳入复方进行研究更符合中医临床用药的特点<sup>[4-5]</sup>。本实验先将单味药物炮制前后作药效对比，然后将盐制后的药物纳入五子衍宗丸中，研究炮制作用的机制，以反映中药炮制与中医临床用药的实际关联性<sup>[6]</sup>。

在五子衍宗丸中单味盐炙药研究中发现，车前子盐炙后其中化合物京尼平苷酸、毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷的含有量升高，且盐炙品对膜性肾病大鼠的肾保护作用和对肾脏中免疫调节因子的调节作用均优于生品<sup>[6-8]</sup>。菟丝子盐炙能促进槲皮苷在体内的吸收，并能延缓其体内消除过程，临床多用其炮制品，《中国药典》记载为盐菟丝子，菟丝子盐炙后能引药归肾，具有止泻、涩精补肾、固胎力强、提高固涩补肾的功效；覆盆子盐制后能增强补肾固涩作用<sup>[9]</sup>，宋平顺等<sup>[10]</sup>等测定了一批盐制品五味子中的五味子酯甲和五味子甲素的含有量，发现盐制后含有量升高。课题组前期工作已证实枸杞子的盐制品与生品没有显著性差异，但有一定的趋势。本实验将生、盐覆盆子和生、盐五味子分别入复方进行生品和炮制品药效比较，并对炮制前后的药物复方进行 HPLC 研究，分析比较炮制前后组方的图谱差异，初步探讨五子衍宗丸中药物盐制的科

学性，以期为后期五子衍宗丸温肾助阳的有效成分或谱效关系的研究奠定基础。

## 1 材料

1.1 试药 枸杞子、菟丝子、覆盆子、五味子、车前子均由四川新绿色药业科技发展股份有限公司提供，经成都中医药大学卢先明教授分别鉴定为茄科植物宁夏枸杞 *Lycium barbarum* L. 的干燥成熟果实、旋花科植物南方菟丝子 *Cuscuta australis* R. Br. 的干燥成熟种子、蔷薇科植物华东覆盆子 *Rubus chingii* Hu 的干燥果实、木兰科植物五味子 *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. 的干燥成熟果实、车前科植物车前 *Plantago asiatica* L. 的干燥成熟种子。对照品绿原酸（批号 110753-201415）、金丝桃苷（批号 11521-201205）、五味子醇甲（批号 110857-201714）、槲皮素（批号 100081-201610）、山柰酚（批号 110861-201611）均由中国食品药品检定研究院提供。甲醇、乙腈为色谱纯，其他试剂均为分析纯；雷公藤多苷购于湖南千金协力药业有限公司（批号 20171104）。

1.2 动物 SD 大鼠，雄性，体质量 180~220 g，清洁级，由四川达硕动物实验中心提供。实验动物生产许可证号 SCXK (川) 2015-030。

1.3 仪器 Shimadzu2040C（配 PDA 检测器，日本岛津公司）；JY20002 电子天平（百分之一，上海方瑞仪器有限公司）；ME204E 电子天平（万分之一，瑞士 Mettler Toledo 公司）；B×60 金相显微镜（日本 Olympus 公司）；DPD-700 电热恒温水浴锅（天津市泰斯特仪器有限公司）；KQ-300E 超声波清洗器（昆山市超声仪器有限公司）；摩尔超纯水机（重庆摩尔水处理设备有限公司）；78-1 磁力加热搅拌器（金坛市医疗仪器厂）。

## 2 方法

2.1 药物配制 枸杞子、菟丝子、覆盆子、车前子、五味子炮制前后分别按表 1 中药物需求组合

(4味药材盐炙品为课题组按炮制规范自制), 分别粉碎成细粉, 过80目筛, 按8:8:4:1:2(2015年版《中国药典》处方比例)混匀, 共同用纯净水配制成剂量(1.2 g/mL)混悬液备用, 使用时置于磁力搅拌器上保持均匀混悬状态<sup>[11]</sup>。

表1 复方五子衍宗丸药物配比

Tab. 1 Compound ratio of Wuzi Yanzong Pills

组别	枸杞	菟丝子	覆盆子	车前子	五味子
空白组	-	-	-	-	-
模型组	-	-	-	-	-
组合I组	生	炒	生	盐	蒸
组合II组	生	生	生	生	生
组合III组	生	盐	生	盐	盐
组合IV组	生	盐	生	盐	生
组合V组	生	盐	盐	盐	生
组合VI组	生	盐	盐	盐	盐

2.2 动物分组及造模 取SD大鼠80只, 随机分为正常组、模型组、组合I、II、III、IV、VI组, 每组10只大鼠。除正常组外, 其余各组大鼠均按雷公藤多苷20 mg/(kg·d)灌胃<sup>[12]</sup>, 1次/日共

表2 五子衍宗丸对少弱精症模型大鼠精子质量影响( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=10$ )

Tab. 2 Effects of Wuzi Yanzong Pills on sperm quality in rats with oligozoospermia ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=10$ )

组别	剂量/(g·kg <sup>-1</sup> )	精子密度/( $\times 10^6$ /mL)	精子活率/%	睾丸指数/%	精囊腺指数/%
正常组	-	26.16 $\pm$ 5.40 <sup>Δ</sup>	82.7 $\pm$ 14.24 <sup>Δ</sup>	1.41 $\pm$ 0.10 <sup>Δ</sup>	0.34 $\pm$ 0.05
模型组	-	15.90 $\pm$ 2.72*	31.80 $\pm$ 2.80*	1.23 $\pm$ 0.09**	0.23 $\pm$ 0.06
组合I组	0.65	20.93 $\pm$ 3.23* <sup>Δ</sup>	54.93 $\pm$ 9.57* <sup>Δ</sup>	1.30 $\pm$ 0.13	0.32 $\pm$ 0.07
组合II组	0.65	16.44 $\pm$ 5.59*	44.98 $\pm$ 6.63*	1.24 $\pm$ 0.12**	0.25 $\pm$ 0.06
组合III组	0.65	16.44 $\pm$ 3.80*	51.82 $\pm$ 10.33* <sup>Δ</sup>	1.31 $\pm$ 0.10	0.28 $\pm$ 0.08
组合IV组	0.65	12.89 $\pm$ 5.89*	50.66 $\pm$ 3.50*	1.29 $\pm$ 0.10*	0.23 $\pm$ 0.09
组合V组	0.65	15.62 $\pm$ 3.85*	46.20 $\pm$ 7.27*	1.30 $\pm$ 0.12	0.27 $\pm$ 0.04
组合VI组	0.65	22.41 $\pm$ 4.42* <sup>Δ</sup>	56.65 $\pm$ 10.27* <sup>Δ</sup>	1.35 $\pm$ 0.08 <sup>Δ</sup>	0.33 $\pm$ 0.02

注:与正常组比较,\* $P<0.05$ ,\*\* $P<0.01$ ;与模型组比较,<sup>Δ</sup> $P<0.05$

表2显示, 雷公藤多苷连续造模30d后, 模型大鼠的精子活力与精子密度明显下降, 与正常组比较有显著性差异( $P<0.05$ ), 连续给药30d后, 五子衍宗丸各剂量组动物的精子活力和精子密度均明显增加。与模型组比较, 空白组、组合I组、组合VI组的精子密度显著提高( $P<0.05$ ), 活动精子数明显增多( $P<0.05$ ), 而组合II组对大鼠精子密度与精子活率有一定的影响, 但无显著性差异( $P>0.05$ ); 根据组合III、IV组, 比较在4味药都相同的情况下, 生五味子与盐五味子入复方对大鼠的药效影响, 结果发现盐五味子的组方对大鼠精子的密度与精子活力都有一定的改善, 睾丸指数与精囊腺指数也都有提高, 且组合III组与正常组比较有显著性差异( $P<0.05$ ); 根据组合IV、V组, 比较在4味药都相同的情况下, 生覆盆子与盐覆盆子入复方对大鼠的药效影响, 结果发现盐制组的精子密度与精子活率都有一定改善, 且与模型组相比, 两组的精子活率均有显著性差异( $P<0.05$ )。

30d, 制备肾精亏虚生精障碍大鼠, 同时灌胃给药30d。

2.3 大鼠精子密度、活率及其活力观测 于末次给药后禁食不禁水24h, 处死大鼠。取5mL试管, 加入2mL生理盐水置于37℃恒温水浴锅内, 将大鼠双侧睾丸剪碎放入试管中, 摇匀, 37℃保温5min, 使精子充分游离, 用内径0.5mm的毛细管吸取中层液体(上层有脂肪油或者漂浮物)滴入血细胞计数板上, 100倍显微镜下计数5个中方格内精子数( $n$ )。另取1滴涂片, 观察精子活率和活力(观察100个精子, 分别计数有活力及无活力的精子数)<sup>[13-14]</sup>。

2.4 数据分析 计量资料用( $\bar{x}\pm s$ )表示, 数据采用SPSS 21.0进行方差分析(完全随机设计单因素方差分析)统计方法处理。

2.5 结果 对雷公藤多苷诱导的肾虚精亏型生精障碍大鼠精子密度与精子活率的影响, 见表2。

### 3 HPLC 色谱图比较

3.1 色谱条件 Agilent Extend C<sub>18</sub>柱(4.6mm $\times$ 250mm, 5 $\mu$ m); 流动相乙腈-甲醇(10:1)(A)-0.4%磷酸溶液(B), 梯度洗脱(0~5min, 5%~15%A; 5~15min, 15%~19%A; 15~25min, 19%~21%A; 25~35min, 21%~26%A; 35~80min, 26%~90%A); 体积流量1.0mL/min; 检测波长为五味子醇甲254nm, 其他均360nm; 进样量5 $\mu$ L。

3.2 供试品溶液制备 分别取10批菟丝子、覆盆子、车前子和五味子4味药材按照处方比例过筛混匀(4味药材炮制品为课题组按炮制规范自制), 取约2g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入70%甲醇50mL, 称定质量, 超声(600W, 40kHz)处理60min, 取出, 放冷, 再称定质量, 用70%甲醇补足减失质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

3.3 对照品溶液制备 取绿原酸、金丝桃苷、槲皮

素、山柰酚、五味子醇甲适量于量瓶中，加入70%甲醇溶解定容至10.0 mL，制成含金丝桃苷123.5 μg、槲皮素121.4 μg、绿原酸222.1 μg、山柰酚74.5 μg、五味子醇甲157.8 μg的混合对照品溶液。

### 3.4 方法学考察

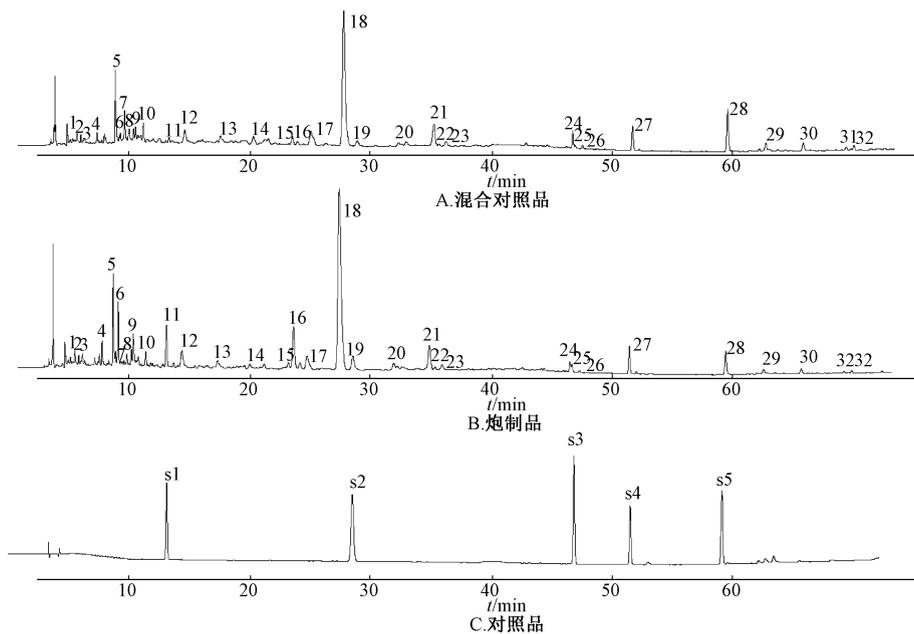
3.4.1 精密度试验 按“3.2”项下方法制备供试品溶液，在“3.1”项色谱条件下，同一样品精密吸取5 μL，连续进样6次，测得各共有峰相对保留时间RSD均小于1%，相对峰面积RSD均小于2%，表明仪器精密度良好。

3.4.2 稳定性试验 按“3.2”项下方法制备供试品溶液，在“3.1”项色谱条件下，分别于0、2、4、8、12、24 h进样5 μL，测得各共有峰相对

峰面积RSD均小于2%，表明供试品溶液在24 h稳定性良好。

3.4.3 重复性试验 取同一批次的组合药材6份，按“3.2”项下方法制备供试品溶液，分别精密吸取5 μL，在“3.1”项色谱条件下进样，测得各共有峰相对峰面积RSD均小于3%，表明该方法重复性良好。

3.5 图谱比较 供试品溶液在“3.2”项色谱条件下进样得相应HPLC色图谱，并导入中药色谱指纹图谱相似度软件（2004A版）处理，选取中位数法分别生成五子衍宗丸不同炮制品的对照指纹图谱<sup>[15]</sup>，并选取5个共有峰为特征指纹峰，见图1~2。



S1 (11). 绿原酸 S2 (18). 金丝桃苷 S3 (25). 槲皮素 S4 (27). 山柰酚 S5 (28). 五味子醇甲

S1 (11). chlorogenic acid S2 (18). hyperoside S3 (25). quercetin S4 (27). kaempferol S5 (28). schisandrin A

图1 各样品HPLC色图谱(254 nm)

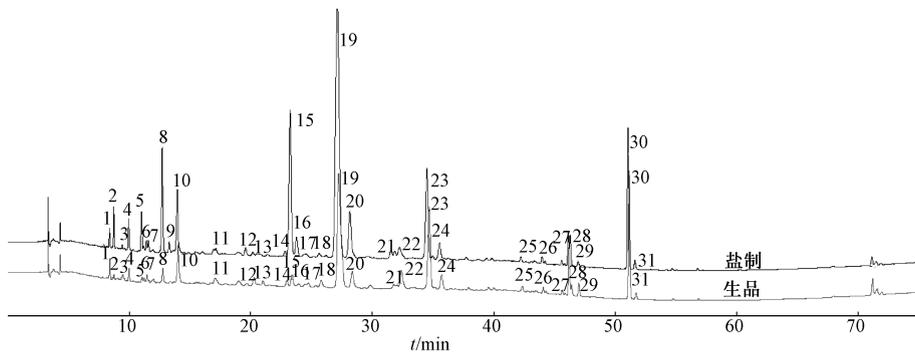
Fig. 1 HPLC chromatograms of various samples (254 nm)

## 4 讨论

本课题组以“盐味咸，咸入肾”理论为指导，研究五子衍宗丸中单味药材盐制后能增强补肾作用，然后以单味筛选药入复方来研究对肾精亏虚证大鼠的治疗改善作用<sup>[17]</sup>。通过前期对3味药材作了炮制前后的药效筛选，本实验以生品与《中国药典》收录的盐覆盆子和盐五味子作对照，将覆盆子和五味子炮制前后分别组成复方来验证对肾精亏虚证大鼠少精症的治疗作用。利用控制变量法+双因素法组合入复方进行药效学验证，比较覆盆子和五味子盐制前后入复方对少弱精子大鼠的治疗作用。在验证试验中发现，与模型组相比，盐制后的

药物组方对大鼠的精子密度和精子活率具有显著性差异，表明盐制之后的复方对生精障碍型大鼠的治疗效果最佳。

其中在药效比较中枸杞子以生品为佳，故为了排除干扰只对炮制品作HPLC的前后比较<sup>[18]</sup>；从基于五子衍宗丸不同组合药材的HPLC特征图谱中发现盐制品（组合VI）与生品比较254 nm下共有峰32个，360 nm下共有峰31个，未发现成分的增加或消失，但存在某些分量上的变化。盐制品组方中绿原酸、金丝桃苷、槲皮素的峰面积增大，峰吸收增强，且在360 nm吸收下，复方生品组的吸收峰明显减弱，峰面积减小，而盐制品组明显增



S1 (8). 绿原酸 S2 (19). 金丝桃苷 S3 (28). 槲皮素 S4 (30). 山柰酚  
S1 (8). chlorogenic acid S2 (19). hyperoside S3 (28). quercetin S4 (30). kaempferol

图2 生品和炮制品 HPLC 色谱图 (360 nm)

Fig. 2 HPLC chromatograms of raw and processed samples (360 nm)

强, 但本实验只对比了炮制品和生品 HPLC 色图谱的差异, 关于含有量的差异和共有峰的指认还需进一步研究。

本实验考察了乙腈-0.1% 磷酸水系统、乙腈-甲醇 (10 : 1) -0.4% 磷酸水系统, 结果表明, 后者分离峰较多, 分离度较好, 且基线较稳定。对于检测波长的选择, 采用二极管阵列检测器 (PAD) 分别考察了 220、254、270、280、320、360 nm 波长处的色谱图, 结果表明色谱图在 254 nm 处峰形较好, 信息丰富, 且分离度较好, 360 nm 处绿原酸、金丝桃苷、槲皮素、山柰酚的分离较好。样品提取方法的选择, 分别以甲醇、乙醇、70% 甲醇、70% 乙醇作为提取溶剂, 70% 甲醇超声提取的样品峰数量更多, 故选 70% 甲醇超声提取 60 min。

中药炮制和复方入药是中医用药的特色, 近年来关于饮片炮制的药理研究多局限于单味药, 很少纳入复方使用, 导致临床复方入药出现差异; 中药复方成分复杂, 功效多样, 在每个复方中发挥的作用也不尽相同, 因此只用单味药的炮制依据来解释在复方中是否炮制入药缺乏理论依据。本实验将中药炮制理论—“盐炙入肾”与中医基本理论—“肾主生殖”紧密结合, 突出了中医药理论, 增强了研究的实用性, 下一步将从“盐炙入肾-肾主生殖”继续深入研究, 拟阐明五子衍宗丸的作用机制。

#### 参考文献:

[1] 孔令青, 李鸣镝. 中医方剂“五子衍宗丸”组方的历史源流[J]. 中国中医基础医学杂志, 2009, 15(1): 67-68.  
[2] 谢晓丽. 米烈汉主任医师运用五子衍宗汤(丸)经验整理[J]. 陕西中医, 2013, 34(8): 1031-1033.  
[3] 李磊, 王桐生. 五子衍宗丸历史变迁及现代药理研究[J]. 中医药临床杂志, 2018, 30(4): 608-611.  
[4] 熊瑞, 李艺丹, 张婷婷, 等. 补骨脂炮制前后纳入复方

二神丸的提取物 HPLC 指纹图谱的建立及多种模式识别分析[J]. 中草药, 2017, 48(19): 3977-3985.

[5] 许济群. 方剂学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1998: 133.  
[6] 吴珊珊, 龚晓猛, 张美, 等. 缩泉丸中益智仁盐炙前后对肾虚大鼠肾脏功能的改善作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(5): 1-4.  
[7] 赵宏, 李洋, 柴桂芳, 等. 车前子不同炮制品抗大鼠膜性肾病的比较[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(15): 125-131.  
[8] 王莉, 张学兰, 赵资堂, 等. 菟丝子生制品提取物中槲皮苷在大鼠血浆的药动学特征比较[J]. 中成药, 2014, 36(2): 401-404.  
[9] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2015年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 309.  
[10] 重庆市卫生计生. 重庆市中药饮片炮制规范及标准[S].  
[11] 宋平顺, 丁永辉, 赵建邦. 南五味子不同炮制品中五味子酯甲和五味子甲素含量的 HPLC 法测定[J]. 中药材, 2008, 31(5): 652-654.  
[12] 胡麟, 吴珊珊, 吴文辉, 等. 五子衍宗丸中药物盐制对补肾生精作用的影响[J]. 中医药导报, 2016, 22(19): 23-25; 28.  
[13] 刘保兴, 王琦, 赵厚薇, 等. 黄精赞育胶囊对弱精子症大鼠精子鞭毛超微结构的影响[J]. 北京中医药大学学报, 2006, 29(11): 765-767.  
[14] 李莉, 戴宁, 那莎, 等. 五子衍宗丸对实验性少弱精子症大鼠的保护作用与机制研究[J]. 中华男科学杂志, 2016, 22(9): 827-833.  
[15] 王秋萍, 王桐生, 龙子江, 等. 五子衍宗丸对少弱精症模型大鼠精子质量及睾丸组织的影响[J]. 中成药, 2011, 33(10): 1796-1797.  
[16] 耿媛媛, 胡昌江, 潘新, 等. 二神丸不同提取部位温脾止泻的谱效关系研究[J]. 中草药, 2014, 45(18): 2658-2663.  
[17] 李文兵, 胡昌江, 吴珊珊, 等. 益智仁盐炙前后对肾虚多尿大鼠肾脏改善作用研究[J]. 中成药, 2012, 34(9): 1767-1769.  
[18] 周建良, 刘伟, 谭春梅, 等. 五子衍宗丸的质量控制标准研究[J]. 中国药理学杂志, 2015, 50(2): 125-130.