

桑白皮化学拆分组分对正常大鼠物质代谢与能量代谢的影响

克迎迎^{1,2} 袁培培^{1,2} 王小兰^{1,2} 冯卫生^{1,2} 郑晓珂^{1,2}

(1 河南中医学院, 郑州, 450046; 2 呼吸疾病诊疗与新药研发河南省协同创新中心, 郑州, 450046)

摘要 目的:检测正常大鼠体内物质代谢与能量代谢相关酶的含量,考察桑白皮拆分组分对其表达的影响,以期阐释其寒热属性。方法:SD 雄性大鼠随机分为正常组(Control)、寒性药黄连组(HL)、黄芩组(HQ)、黄柏组(HB)、热性药附子组(FZ)、干姜组(GJ)、花椒组(HJ),桑白皮 30% 乙醇洗脱组(S-30)、桑白皮-脂肪油组(S-Z)。连续给药 9d,留取肝脏、心脏等脏器,检测物质代谢相关酶葡萄糖激酶(GCK)、果糖磷酸激酶(PFK-1)、磷酸甘油酸激酶(PGK)、丙酮酸激酶(PK)、丙酮酸脱氢酶(PDH)、乙酰辅酶 A(acetyl-CoA)、柠檬酸合酶(CS)、异柠檬酸脱氢酶(ICD)、 α -酮戊二酸脱氢酶(α -KGDHC)、延胡索酸酶(FUM)、糖原磷酸化酶(PYGL)、糖原合成酶激酶-3(GSK-3)、脂肪甘油三酯脂酶(ATGL)及能量代谢相关酶细胞色素 C 还原酶(CCR)、细胞色素 C 氧化酶(COX)、ATP 合酶(ATPs)、腺苷酸激酶(ADK)、 $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATP 酶的表达和 ATP、ADP、 NAD^+ 、NADH、 NAD^+/NADH 含量,初步探讨桑白皮拆分组分对物质代谢与能量代谢的影响。结果:与正常组相比,HL、HQ 组大鼠体重有显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),其他组没有统计学意义($P > 0.05$);HL、HQ、HB 组 GCK、PFK-1、PGK、PK、ICD、CCR、COX、ATPs、ADK 的表达显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),acetyl-CoA、 α -KGDHC、PYGL、ATGL 的表达显著升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),ATP 含量虽有所降低但没有统计学意义($P > 0.05$),ADP、 NAD^+ 、NADH、 NAD^+/NADH 含量均没有统计学意义($P > 0.05$);FZ、GJ、HJ 组 GCK、PGK、CCR、COX、ATPs、ADK、ICD 的表达显著升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),acetyl-CoA、 α -KGDHC、PYGL 的表达显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),ATP 含量虽有所升高但没有统计学意义($P > 0.05$),ADP、 NAD^+ 、NADH、 NAD^+/NADH 含量均没有统计学意义($P > 0.05$);S-30、S-Z 组 GCK、PFK-1、PGK、PK、PDH、ICD、GSK-3、CCR、COX、ATPs、ADK 的表达显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), α -KGDHC 的表达显著升高($P < 0.05$),与寒凉性中药 HL、HQ、HB 具有相同或相似的作用趋势。结论:典型寒、热中药可以影响机体物质能量代谢,且寒性药能够抑制物质能量代谢,热性药能够促进物质能量代谢,这与本课题首席科学家匡海学教授提出的新假说相契合;总体来看,S-30、S-Z 组也能够抑制物质能量代谢,与寒性药作用类似,可初步推断其药性可能为寒凉。

关键词 典型寒热中药;寒热药性;桑白皮拆分组分;物质代谢;能量代谢

The influence on substance and energy metabolism of the cold and warm property of fraction of Mori Cortex in normal rats

Ke Yingying^{1,2}, Yuan Peipei^{1,2}, Wang Xiaolan^{1,2}, Feng Weisheng^{1,2}, Zheng Xiaoke^{1,2}

(1 Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China; 2 Collaborative Innovation Center for Respiratory Disease Diagnosis and Treatment & Chinese Medicine Development of Henan Province, Zhengzhou 450046, China)

Abstract Objective: To explore the cold and warm property of fraction of Mori Cortex by detecting related enzyme activity in substance and energy metabolism in normal rats. **Methods:** SD rats were randomly divided into normal, cold medicine Coptis chinensis Franch group, Scutellaria baicalensis Georgi group, Phellodendron chinense Schneid. Group, and warm medicine Aconitum carmichaelii Debx group, Zingiber officinale Rosc group, Zanthoxylum bungeanum Maxim. group, 30% split fraction of Mori Cortex group, fatty oil fraction of Mori Cortex group. All groups were administered orally for 9 days and detected glucokinase (GCK), phosphofructokinase (PFK-1), phosphoglycerate kinase (PGK), pyruvate kinase (PK), pyruvate dehydrogenase (PDH), acetyl coenzyme A (acetyl-CoA), citrate synthase (CS), isocitrate dehydrogenase (ICD), α -ketoglutarate dehydrogenase (α -KGDHC), fumarase (FUM), glycogen phosphorylase (PYGL), glycogen synthase kinase (GSK-3), adipose triglyceride lipase (ATGL), which related to substance metabolism in liver and heart; as well as cytochrome C reductase (CCR), cytochrome C oxidase (COX), ATP synthase (ATPs), adenylate kinase (ADK), $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATPase and the levels of ATP, ADP, NAD^+ , NADH, NAD^+/NADH , which related to energy metabolism. In this way, we can explore the influence on substance and energy metabolism of the cold and warm property of

基金项目:国家重点基础研究发展计划(973 计划)资助项目:宣泻利水中药的药性研究(编号:2013CB531802)

作者简介:克迎迎(1988. 3—),女,籍贯河南商丘,在读博士,研究方向:中药活性成分及其作用机制研究

通信作者:郑晓珂,女,博士,教授,博士生导师,主要研究领域为:中药活性成分及其作用机制研究, E-mail: zhengxk. 2006@163. com, Tel: (0371) 65680011

fraction of Mori Cortex. **Results:** Comparing with the normal group, the weight of *Coptis chinensis* Franch group and *Scutellaria baicalensis* Georgi group were reduced ($P < 0.05$ or $P < 0.01$) and there were no difference in other groups ($P > 0.05$). The level of GCK, PFK-1, PGK, PK, ICD, CCR, COX, ATPs, ADK were significantly decreased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), acetyl-CoA, α -KGDHC, PYGL, ATGL were significantly increased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), the level of ATP was decreased without significantly and the levels of ADP, NAD^+ , NADH, NAD^+/NADH had no significant difference ($P > 0.05$) in the groups of *Coptis chinensis* Franch, *Scutellaria baicalensis* Georgi and *Phellodendron chinense* Schneid. The activity of GCK, PGK, CCR, COX, ATPs, ADK, ICD were significantly increased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$) and acetyl-CoA, α -KGDHC, PYGL, ATGL were significantly decreased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), the level of ATP was increased without significantly and the levels of ADP, NAD^+ , NADH, NAD^+/NADH had no significant difference ($P > 0.05$) in the groups of *Aconitum carmichaelii* Debx, *Zingiber officinale* Rosc and *Zanthoxylum bungeanum*. The activity of GCK, PFK-1, PGK, PK, PDH, ICD, GSK-3, CCR, COX, ATPs, ADK were significantly increased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$) and α -KGDHC was significantly decreased ($P < 0.05$) in the groups of 30% split fraction, fatty oil fraction of Mori Cortex, which showed the similar trend with cold medicine. **Conclusion:** The cold and warm property of Chinese traditional medicines can influence substance and energy metabolism of our body, which means the cold medicines can inhibit substance and energy metabolism and the warm medicines do the opposite, which is fit in with the new hypothesis that proposed by chief scientist Kuang Haixue professor. Overall, the groups of 30% split fraction, fatty oil fraction of Mori Cortex could inhibit substance and energy metabolism, which were similar with the cold medicines. We inferred that the property of these fractions maybe belong to the cold property.

Key Words Typical medicines of cold and warm; The cold and warm property of Chinese Herbal Medicine; Fraction of Mori Cortex; Substance metabolism; Energy metabolism

中图分类号: R293 文献标识码: A doi: 10.3969/j.issn.1673-7202.2015.12.005

中药药性包括中药四气五味、归经、升降浮沉和毒性等,而中药性味理论是中药药性理论的重要组成部分,中药寒、热药性反映了药物对人体阴阳盛衰、寒热变化的作用倾向^[1-3]。在中药药性研究思路的整体框架下,本项目首席科学家匡海学教授提出:药性(气)是药物通过不同途径,以主要影响机体的能量代谢、物质代谢为特征的、与治疗作用有关或无关的、但均可影响药物疗效发挥或与副作用发生有关的一类生物学效应。促进机体能量、物质代谢的中药具有热(或温)性,抑制机体能量、物质代谢的中药具有寒(或凉)性。

黄连为毛茛科植物黄连 *Coptis chinensis* Franch.、三角叶黄连 *Coptis deltoidea* C. Y. Cheng et Hsiao 或云连 *Coptis teeta* wall. 的干燥根茎,味苦性寒^[4];黄芩为唇形科植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 的干燥根,味苦性寒^[4];黄柏为芸香科植物黄皮树 *Phellodendron chinense* Schneid. 的干燥树皮,味苦性寒^[4]。附子为毛茛科植物乌头 *Aconitum carmichaelii* Debx. 的子根的加工品,味辛甘性大热^[4];干姜为姜科植物 *Zingiber officinale* Rosc. 的干燥根茎,味辛性热^[4];花椒为芸香科植物青椒 *Zanthoxylum schinifolium* Sieb. et Zucc. 或花椒 *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. 的干燥成熟果皮,味辛性温^[4]。本研究分别采用黄连、黄芩、黄柏三味典型寒凉性中药以及附子、干姜、花椒三味典型温热性中药对正常大鼠物质代谢、能量代谢的影响进行研究,以期佐证

本项目的假说,同时为阐释中药寒热药性的作用特点奠定基础。

桑白皮为桑科植物桑 *Morus Cortex* L. 的干燥根皮,性寒味甘^[4],在前期研究中,我们将桑白皮拆分为成分互不交叉的桑白皮-30%乙醇洗脱组分、桑白皮-50%乙醇洗脱组分、桑白皮-80%乙醇洗脱组分、桑白皮醇沉组分、桑白皮-脂肪油组分^[5],通过历代本草研究及现代文献检索,并结合现代分析技术和数理统计方法初步推断桑白皮-30%乙醇洗脱组分、桑白皮-脂肪油组分可能是桑白皮药性寒凉的物质基础,且在前期我们采用物质能量代谢紊乱的糖尿病模型对桑白皮-30%乙醇洗脱组分、桑白皮-脂肪油组分进行研究,发现桑白皮-30%乙醇洗脱组分、桑白皮-脂肪油组分能够在改善糖尿病小鼠物质能量代谢紊乱状况,基于此,我们在研究6种典型寒热中药对物质能量代谢的基础上,进一步研究各组分对物质能量代谢的影响,以期初步阐释各组分的寒热属性。

1 实验材料

1.1 实验动物 健康雄性 Wistar 大鼠 90 只,体重 180~220 g, SPF 级,由山东鲁抗医药股份有限公司提供,许可证编号:SCXK 鲁 20170001。饲养于 18~22℃ 清洁级动物实验室内,自由饮食、饮水。

1.2 药物 黄连、黄芩、黄柏、附子、干姜、花椒均购自河南张仲景大药房,桑白皮购自郑州市中药材市场,由河南中医学院陈随清教授鉴定为正品。

各药水煎剂的制备:称取定量的上述药材,加入 10 倍量水,浸泡 60 min,快速加热至沸腾,煎煮 60 min,倾出药液,残渣再加入 8 倍水,煎煮提取 60 min。合并 2 次药液,滤过、浓缩后制成不同浓度的中药水提液,4 ℃ 储存备用。

桑白皮化学拆分组分的制备:桑白皮水煎液浓缩后,加 2 倍量的石油醚萃取,上清液浓缩后真空干燥 6 h,得石油醚组分(该组分为脂肪油组分),提取率为 3.10%,其余水提液上 DiaionHP-20 柱,依次用水、30%乙醇、50%乙醇、80%乙醇洗脱,得到桑白皮 30%、50%、80%乙醇组分提取率分别为 5.8%、0.31%、0.25%,其中,水洗脱部分经过醇沉得到醇沉组分,提取率分别为 4.4%。

1.3 试剂与仪器 GCK、PFK-1、PGK、PK、PDH、acetyl-CoA、CS、ICD、α-KGDHC、FUM、PYGL、GSK-3、ATGL、CCR、COX、ATPs、ADK、Na⁺ - K⁺ ATP 酶检测试剂盒(苏州卡尔文生物科技有限公司,批号 20141203A),ATP、ADP、NAD⁺、NADH 含量测定试剂盒(苏州科铭生物技术有限公司,批号:20150708),其他各种化学试剂均为市售分析纯(天津市恒兴化学试剂制造有限公司)。

Multiskan MK3 酶标仪(Thermo, USA); Advantage A10 超纯水仪(Sartorius, Germany);5810R 高速冷冻离心机(Eppendorf, Germany);SK-1 快速混匀器(常州国宇仪器制造有限公司);移液器(Gilson, France);BT25S 十万分之一精密分析天平(Sartorius, Germany);Genesys 10 分光光度计(Thermo Fisher, USA);90-3 型双向定时恒温磁力搅拌器(上海楚定分析仪器有限公司);DZF-6050B 真空干燥箱(北京恒泰丰科试验设备有限公司);BCD-206TAS 低温冰箱(海尔公司);常规手术器械。

2 实验方法

2.1 动物的分组及给药 动物适应性喂养 1 周后,

随机分为正常对照组(Control)、黄连组(HL)、黄芩组(HQ)、黄柏组(HB)、附子组(FZ)、干姜组(GJ)、花椒组(HJ)、桑白皮-30%部位组(S-30)、桑白皮-脂肪油部位组(S-Z)。Control 组给予蒸馏水,HL 组给予 7.0 g/kg 黄连水煎液,HQ 组给予 6.0 g/kg 黄芩水煎液,HB 组给予 8.4 g/kg 黄柏水煎液,FZ 组给予 10.5 g/kg 附子水煎液,GJ 组给予 8.4 g/kg 干姜水煎液,HJ 组给予 4.0 g/kg 花椒水煎液,S-30 组给予 0.49 g/kg 桑白皮-30%部位组,S-Z 组给予 0.25 g/kg 桑白皮-脂肪油部位组。连续给药 9d 后摘眼球取血,颈椎脱臼法处死大鼠,取肝脏、心脏等迅速冻存于液氮中后,转移至 -80 ℃ 冰箱保存备用。

2.2 物质代谢相关指标的检测 连续给药 9d 后,迅速取出肝脏组织,快速冻于液氮中,实验结束后置于 -80 ℃ 冰箱中保存备用。依照试剂盒说明书检测 GCK、PFK-1、PGK、PK、PDH、acetyl-CoA、CS、ICD、α-KGDHC、FUM、PYGL、GSK-3、ATGL 的表达。

2.3 能量代谢相关指标的检测 依照试剂盒说明书检测 CCR、COX、ATPs、ADK、Na⁺ - K⁺ ATP 酶的表达以及 ATP、ADP、NAD⁺、NADH 的含量。

2.4 统计方法 实验数据以($\bar{x} \pm s$)表示,SPSS 18.0 进行单因素方差分析(One-Way ANOVA)统计处理。 $P < 0.05$, $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

表 1 各组大鼠体重的变化($\bar{x} \pm s$, n = 6)

分组	给药剂量(g/kg)	体重(g)
正常组	Control	268.70 ± 35.39
典型寒性药	HL	224.30 ± 43.43 **
	HQ	238.65 ± 18.11 *
	HB	260.06 ± 25.96
	FZ	259.48 ± 32.93
典型热性药	GJ	273.51 ± 26.00
	HJ	264.94 ± 29.81
	S-30	259.65 ± 28.84
桑白皮拆分组分	S-Z	247.56 ± 35.50

注:与正常组相比,*表示 $P < 0.05$; **表示 $P < 0.01$ 。

表 2 典型寒、热中药及桑白皮拆分组分对葡萄糖氧化成丙酮酸阶段相关酶的影响($\bar{x} \pm s$, n = 6)

分组		GCK(U/kg)	PFK-1(ng/mL)	PGK(U/kg)	PK(pg/g)
正常组	Control	450. 97 ± 66. 82	117. 54 ± 8. 30	1174. 48 ± 72. 76	1312. 99 ± 204. 07
典型寒性药	HL	385. 29 ± 39. 64 * *	115. 06 ± 14. 72	1018. 16 ± 70. 22 * *	1014. 30 ± 235. 11 * *
	HQ	362. 75 ± 39. 25 * *	95. 38 ± 13. 39 * *	1048. 19 ± 74. 42 *	1244. 19 ± 178. 10
	HB	388. 04 ± 56. 08 *	78. 54 ± 7. 07 * *	1004. 85 ± 193. 39 * *	972. 92 ± 66. 35 * *
典型热性药	FZ	456. 20 ± 28. 06	124. 39 ± 18. 28	1276. 13 ± 82. 24	1164. 71 ± 182. 29
	GJ	505. 66 ± 48. 35 *	127. 34 ± 17. 53	1319. 69 ± 91. 47 * *	1283. 60 ± 331. 90
	HJ	510. 38 ± 35. 21 *	126. 59 ± 16. 91	1284. 71 ± 60. 56 *	1324. 32 ± 307. 90
桑白皮拆分组分	S-30	372. 99 ± 45. 87 * *	78. 68 ± 7. 89 * *	1064. 91 ± 99. 76 *	964. 71 ± 218. 97 * *
	S-Z	394. 31 ± 53. 03 *	79. 17 ± 5. 17 * *	1074. 15 ± 83. 96	976. 78 ± 190. 39 * *

注:与正常组相比,*表示 $P < 0.05$; **表示 $P < 0.01$ 。

表3 典型寒、热中药及桑白皮拆分组分对丙酮酸氧化成 Acetyl-CoA 阶段相关酶的影响($\bar{x} \pm s, n = 6$)

分组		PDH(U/kg)	Acetyl-CoA(U/g)
正常组 典型寒性药	Control	834. 39 ± 140. 60	260. 25 ± 19. 52
	HL	825. 39 ± 75. 23	324. 51 ± 39. 97 * *
	HQ	782. 66 ± 106. 90	314. 45 ± 37. 57 * *
	HB	752. 87 ± 87. 15	240. 90 ± 18. 27
典型热性药	FZ	742. 75 ± 65. 75	213. 03 ± 51. 88 *
	GJ	798. 00 ± 50. 55	256. 38 ± 25. 82
	HJ	818. 09 ± 35. 04	212. 77 ± 11. 08 *
桑白皮拆分组分	S-30	732. 47 ± 161. 61 *	282. 19 ± 51. 07
	S-Z	794. 15 ± 89. 99	264. 55 ± 35. 94

注:与正常组相比,*表示 $P < 0.05$; **表示 $P < 0.01$ 。

3 结果

3.1 各组大鼠体重的变化 如表1所示,与正常对照组相比,HL、HQ组大鼠体重有显著下降($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),而其余各组均没有统计学意义($P > 0.05$)。

3.2 典型寒、热中药及桑白皮拆分组分对正常大鼠物质代谢的影响

3.2.1 典型寒、热中药及桑白皮拆分组分对葡萄糖氧化成丙酮酸阶段相关酶表达情况的影响 如表2所示,与正常对照组相比,HL、HQ、HB组GCK、PFK-

1、PGK、PK的表达均显著下降($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),FZ、GJ、HJ组GCK、PFK-1、PGK、PK的表达均显著升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。而S-30、S-Z组能够在一定程度上降低GCK、PFK-1、PGK、PK等的表达($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),与寒凉性药物作用类似。

3.2.2 典型寒、热中药及桑白皮拆分组分对丙酮酸氧化成 Acetyl-CoA 阶段相关酶表达情况的影响 如表3所示,与正常对照组相比,HL、HQ、HB、FZ、GJ、HJ组PDH的表达没有显著变化,但是HL、HQ组Acetyl-CoA的表达显著升高($P < 0.01$),FZ、HJ组Acetyl-CoA的表达显著降低($P < 0.05$)。

3.2.3 典型寒、热中药及桑白皮拆分组分对三羧酸循环阶段相关酶表达情况的影响 如表4所示,与正常对照组相比,HL、HQ、HB组能够升高 α -KG-DHC的表达($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),降低ICD的表达($P < 0.01$),FZ、GJ、HJ组能够降低 α -KGDHC的表达($P < 0.05$),升高ICD的表达($P < 0.05$)。而S-30、S-Z组能够升高Acetyl-CoA、 α -KGDHC的表达($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),降低ICD的表达($P < 0.01$),与寒凉性药物作用类似。

表4 典型寒、热中药及桑白皮拆分组分对三羧酸循环阶段相关酶的影响($\bar{x} \pm s, n = 6$)

分组		CS(ng/g)	ICD(pg/g)	α -KGDHC(U/Kg)	FUM(U/Kg)
正常组 典型寒性药	Control	616. 91 ± 133. 34	317. 70 ± 24. 99	1030. 75 ± 158. 50	726. 99 ± 128. 86
	HL	701. 44 ± 188. 25	247. 43 ± 34. 69 * *	1187. 53 ± 175. 03 *	685. 52 ± 41. 34
	HQ	595. 45 ± 63. 82	249. 84 ± 16. 11 * *	1203. 72 ± 120. 63 *	693. 06 ± 89. 64
	HB	549. 22 ± 55. 80	288. 56 ± 27. 37	1259. 48 ± 248. 01 * *	674. 96 ± 38. 94
典型热性药	FZ	616. 21 ± 125. 05	361. 51 ± 49. 50	866. 46 ± 69. 71 *	648. 12 ± 96. 60
	GJ	552. 05 ± 88. 54	363. 91 ± 69. 23 *	890. 75 ± 66. 01 *	686. 42 ± 91. 02
	HJ	606. 143 ± 146. 60	372. 71 ± 52. 97 *	879. 05 ± 104. 14 *	710. 85 ± 48. 96
桑白皮拆分组分	S-30	567. 38 ± 118. 03	252. 94 ± 40. 84 * *	1183. 15 ± 123. 84 *	747. 57 ± 117. 78
	S-Z	528. 30 ± 77. 40	226. 83 ± 25. 13 * *	1191. 81 ± 53. 07 *	700. 60 ± 121. 17

注:与正常组相比,*表示 $P < 0.05$; **表示 $P < 0.01$ 。

表5 典型寒、热中药及桑白皮拆分组分对糖原合成与分解途径相关酶的影响($\bar{x} \pm s, n = 6$)

分组		PYGL(U/kg)	GSK-3(pg/g)
正常组 典型寒性药	Control	3227. 50 ± 200. 92	17593. 38 ± 1661. 63
	HL	3512. 17 ± 217. 48 *	17149. 01 ± 3292. 54
	HQ	3595. 78 ± 224. 38 * *	16352. 76 ± 1310. 60
	HB	3437. 11 ± 172. 07	15387. 62 ± 2248. 45
典型热性药	FZ	2887. 17 ± 61. 96 *	15918. 45 ± 1271. 43
	GJ	2847. 41 ± 88. 49 * *	17527. 02 ± 867. 25
	HJ	2876. 04 ± 144. 33 *	16071. 26 ± 1264. 23
桑白皮 拆分组分	S-30	3491. 50 ± 467. 76	10971. 09 ± 2427. 80 * *
	S-Z	3442. 20 ± 148. 52	10527. 73 ± 1367. 77 * *

注:与正常组相比,*表示 $P < 0.05$; **表示 $P < 0.01$ 。

表6 典型寒、热中药及桑白皮拆分组分对脂代谢进程相关酶的影响($\bar{x} \pm s, n = 6$)

分组		ATGL(pmol/kg)
正常组 典型寒性药	Control	12586. 78 ± 802. 16
	HL	14131. 31 ± 2171. 58
	HQ	14694. 92 ± 1380. 66 * *
	HB	13435. 79 ± 1108. 96
典型热性药	FZ	12356. 54 ± 1504. 18
	GJ	13176. 77 ± 2486. 61
	HJ	13104. 82 ± 1127. 96
桑白皮拆分组分	S-30	12528. 02 ± 1650. 07
	S-Z	13474. 46 ± 1113. 56

注:与正常组相比,*表示 $P < 0.05$; **表示 $P < 0.01$ 。

3.2.4 典型寒、热中药及桑白皮拆分组分对糖原合成与分解途径相关酶表达情况的影响 如表 5 所示,与正常组相比,HL、HQ 组均能够升高 PYGL 的表达($P<0.05$ 或 $P<0.01$),对 GSK-3 没有显著影响($P>0.05$),FZ、GJ、HJ 组能够降低 PYGL 的表达($P<0.05$ 或 $P<0.01$),对 GSK-3 没有显著影响($P>0.05$)。而 S-30、S-Z 组能够显著降低 GSK-3 的表达,对 PYGL 的表达没有显著影响。

3.2.5 典型寒、热中药及桑白皮拆分组分对脂代谢途径相关酶表达情况的影响 如表 6 所示,与正常组相比, HQ 组均能够升高 ATGL 的表达 ($P<$

0.01),FZ、GJ、HJ 组对 ATGL 的表达没有显著影响 ($P>0.05$)。而 S-30、S-Z 组对 ATGL 的表达没有显著影响 ($P>0.05$)。

3.3 典型寒、热中药及桑白皮拆分组分对能量代谢过程中相关酶含量的影响 如表 7、8 所示,与正常对照组相比,HL、HQ、HB 组能够降低 CCR、COX、ATPs、ADK 的表达 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$);FZ、GJ、HJ 组能够升高 CCR、COX、ADK 的表达 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。而 S-30、S-Z 组能够降低 CCR、COX、ATPs、ADK 的表达 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$),显示出抑制能量代谢的作用特点,与寒凉性药物作用相似。

表 7 典型寒、热中药及桑白皮拆分组分对能量代谢过程中相关酶的影响($\bar{x}\pm s,n=6$)

分组		CCR (U/kg)	COX (U/kg)	ATPs (U/kg)	ADK (U/kg)	Na ⁺ - K ⁺ ATP 酶(μmol/mL)
正常组	Control	113.36±8.72	25.80±1.90	839.60±60.26	232.79±37.15	12.23±1.01
典型寒性药	HL	94.35±12.03**	24.02±0.94	677.54±29.98**	148.56±30.30**	11.68±1.32
	HQ	99.65±5.39**	23.66±1.06*	724.1565±91.52**	151.00±20.60**	12.77±2.45
	HB	100.24±7.44**	23.29±1.08*	698.0175±50.84**	162.86±18.46**	11.89±2.07
典型热性药	FZ	124.35±7.42*	27.90±1.57*	808.6726±71.99	263.31±15.73	11.56±2.31
	GJ	124.93±7.93**	26.49±1.89	850.9306±58.93	289.19±73.60*	11.38±3.37
	HJ	124.87±6.05*	28.36±1.44**	771.0614±47.62	281.87±41.60*	12.78±0.82
桑白皮拆分组分	S-30	97.73±3.79**	23.17±2.55**	761.4045±117.56*	160.77±54.19**	12.11±1.16
	S-Z	100.67±13.55**	22.88±1.99**	705.369±62.34**	148.91±50.12**	11.41±2.02

注:与正常组相比,*表示 $P<0.05$; **表示 $P<0.01$ 。

表 8 典型寒、热中药及桑白皮拆分组分对能量代谢过程中相关物质的影响($\bar{x}\pm s,n=6$)

分组		ATP(μmol/g)	ADP (U/kg)	NAD ⁺ (μmol/g)	NADH(μmol/g)	NAD ⁺ /NADH
正常组	Control	16.25±7.35	6.07±1.63	0.0063±0.0043	0.0176±0.0125	0.4989±0.3516
典型寒性药	HL	13.68±7.54	6.08±2.28	0.0072±0.0045	0.0200±0.0149	0.4476±0.3891
	HQ	10.41±6.29	5.90±1.38	0.0058±0.0034	0.0200±0.0143	0.4007±0.3601
	HB	13.23±7.72	7.65±2.27	0.0040±0.0041	0.0231±0.0189	0.3359±0.3903
典型热性药	FZ	20.50±9.46	7.40±2.92	0.0045±0.0022	0.0172±0.0166	0.2397±0.1047
	GJ	21.81±7.10	7.49±1.98	0.0032±0.0013	0.0253±0.0154	0.3161±0.4463
	HJ	21.72±5.75	6.80±1.02	0.0039±0.0011	0.0152±0.0024	0.2536±0.2838
桑白皮拆分组分	S-30	14.18±9.65	7.52±2.69	0.0067±0.0071	0.0143±0.0032	0.536±0.6452
	S-Z	13.59±8.88	7.45±1.98	0.0068±0.0057	0.0218±0.0137	0.5684±0.7070

注:与正常组相比,*表示 $P<0.05$; **表示 $P<0.01$ 。

4 讨论

中药四气,又称四性,是指药物寒热温凉四种不同的药性,明确药物的四性有益于利用药物的寒、热之偏性来纠正人体寒热之证^[6]。故陶弘景在《本草经集注》中就明确指出:“药物甘苦之味可略,唯冷热须明。”那药物寒热温凉的药性到底影响机体那些进程呢?马清翠等认为热性药附子对正常大鼠的能量代谢有一定的促进作用^[7];崔光志等也认为热性药胡椒、荜茇能促进大鼠肝脏能量代谢。黄丽萍等认为寒性中药黄芩能抑制大鼠能量代谢^[8];徐珊等也认为寒性药生黄柏能够改善热证大鼠的能量代谢^[9]。所以在前期本草考证及实验研究的基础上,

本课题组首席科学家匡海学教授提出“药性可以通过不同途径影响机体的物质及能量代谢,且热(或温)性中药能够促进机体物质及能量代谢,而寒(或凉)性中药能够抑制机体物质及能量代谢”这一假说。故本实验采用典型寒性热性中药对物质能量代谢的影响进行研究,以期诠释寒热药性对物质能量代谢的影响,在论证本项目假说的基础上,也为中药寒凉药性的判断归属奠定基础。

正常情况下,体内物质能量代谢处于动态平衡中,现代研究表明机体需要的能量大部分是由葡萄糖氧化分解过程提供的,其中有氧氧化过程是其主要供能方式,所以葡萄糖有氧氧化过程的顺利进

行是机体维持正常运转的基本条件^[10-11]。而体内能量的直接供应者是 ATP, ATP 生成的方式主要包括底物水平磷酸化和氧化磷酸化, 其中氧化磷酸化生成的 ATP 约占 ATP 总量的 80% 左右, 是维持生命活动所需能量的主要来源^[12-13]。

首先我们看一下物质代谢中葡萄糖有氧氧化过程。葡萄糖有氧氧化过程可分为三个阶段, 首先在第一阶段葡萄糖或糖原分解为丙酮酸过程中, 从实验结果我们可以看出 HL、HQ、HB 组显著降低 GCK、PFK-1、PGK、PK 的表达, FZ、GJ、HJ 组显著升高 GCK、PFK-1、PGK、PK 的表达, 可见典型寒凉性药物能够抑制葡萄糖分解为丙酮酸进程, 而典型温热性药能够促进葡萄糖分解为丙酮酸进程。

在第二阶段丙酮酸氧化脱羧生成 acetyl-CoA 过程中, 是由丙酮酸脱氢酶复合体催化完成的, 该复合体由三种酶和五种辅助因子构成, 是有氧化途径的关键酶之一, 而 PDH 在其中发挥着重要作用。从实验结果看 HL、HQ、HB、FZ、GJ、HJ 组与正常对照组相比 PDH 均没有显著差异, 但是 Acetyl-CoA 的表达在 HL、HQ 组显著升高, 既然 PDH 的表达没有显著变化, 那 Acetyl-CoA 的表达为什么会增加呢? 在体内 Acetyl-CoA 不仅来源于糖代谢途径, 脂肪动员生成的脂肪酸, 经 β 氧化可生成大量的 Acetyl-CoA, 从实验结果我们可以看出 HL、HQ 组 ATGL 的表达升高, 可见这两组的脂肪动员进程是明显促进的, 这就解释了 PDH 没有显著升高, 而 Acetyl-CoA 的表达显著升高的原因, 同时脂肪分解代谢的加速也与 HL、HQ 组大鼠体重的降低有直接关系。

下面我们看一下第三阶段三羧酸循环, 由实验结果可以看出 HL、HQ、HB 组能够升高 α -KGDHC 的表达, 降低 ICD 的表达, FZ、GJ、HJ 组能够降低 α -KGDHC 的表达, 升高 ICD 的表达。这两个酶与 NADH 生成有关, 然而不论是在寒性药组还是热性药组, 对 α -KGDHC 和 ICD 这两个酶的调节正负相抵, 提示我们典型寒热药对三羧酸循环阶段相关酶的表达并没有明显的影响。同时三羧酸循环是 NAD^+ , NADH 生成的主要来源, 从实验结果我们可以看出, NAD^+ , NADH 及 NAD^+/NADH 各组之间均没有显著差异, 这也进一步说明了典型寒热药及桑白皮拆分组分对于三羧酸循环阶段并没有显著的影响。

糖原是糖的储存形式, 机体通过糖原的合成与分解维持血糖水平。糖原分解过程中 PYGL 是催化糖原分解生成葡萄糖的关键限速酶, 从实验结果我

们可以看出, HL、HQ 组能够促进 PYGL 的表达, 加速糖原的分解, 促进葡萄糖的生成, 用于维持体温等; 而 FZ、GJ、HJ 组表现出抑制 PYGL 表达的趋势, S-30、S-Z 组对 PYGL 调节不明显, 未表现出明显的促进糖原分解作用; 而在糖原合成过程中 GSK-3 能够磷酸化糖原合酶(GS)使其失活, 从而抑制糖原合成进程, 从实验结果我们发现 HL、HQ、HB、FZ、GJ、HJ 组对其均没有显著影响, 而 S-30、S-Z 组则表现出抑制 GSK-3 表达的趋势, 结果提示 S-30、S-Z 组具有促进糖原合成的作用, 结合实验室前期实验结果 S-30、S-Z 能够调节糖尿病小鼠糖脂紊乱状况, 发挥降血糖作用, 这也进一步提示 S-30、S-Z 可能是通过促进糖原的合成发挥降血糖的作用, 该结果与前期实验结果相一致。

在氧化磷酸化过程中, 呼吸链占据着至关重要的作用。目前已知体内主要包括 NADH 氧化呼吸链和琥珀酸氧化呼吸链(或称 FADH₂ 氧化呼吸链)。从实验结果来看, HL、HQ、HB 组均能够抑制 CCR、COX、ATPs 等酶的表达, 而 FZ、GJ、HJ 组能够促进 CCR、COX、ATPs 等酶的表达, 说明寒性药对于呼吸链表现出抑制作用, 而热性药则表现出促进作用。因此在对呼吸链及 ATP 生成过程, 寒凉性药物表现出明显的抑制作用, 而温热性药物则表现出显著的促进作用。但最终的结果显示各组之间 ATP 的含量并没有显著变化, 原因可能是: 首先 NADH 是生成 ATP 重要的原料, 而主要生成 NADH 的阶段是三羧酸循环, 因此这是 ATP 含量没有变化的重要原因; 其次由于机体对于给药之后出现的应答反应, 如给予寒性药后, 机体的物质代谢和能量代谢都处于被抑制的状态, 从而反馈促进糖原的分解以及脂肪的动员来合成能量用于机体低水平的物质代谢以及维持体温, 保持机体的正常功能; 而给予热性药后, 机体物质与能量代谢均处于促进的状态, 但 ATP 的含量与正常组相比没有显著差异, 其原因可能是机体旺盛的物质代谢需要能量的参与, 而物质代谢所产生的能量一部分以热能的形式散发了。

故对于物质代谢和能量代谢而言, 寒凉性药物倾向于抑制机体物质代谢和能量代谢, 这些抑制作用主要体现在对第一阶段葡萄糖氧化成丙酮酸相关酶表达情况的影响以及对呼吸链上相关酶表达的下调; 温热性药物倾向于促进机体物质代谢, 主要表现在对第一阶段葡萄糖氧化成丙酮酸相关酶表达的上调及对呼吸链上相关酶表达的上调。这与本课题“促进机体能量、物质代谢的中药具有热(或温)性,

抑制机体能量、物质代谢的中药具有寒(或凉)性。”这一假说相契合。S-30、S-Z 均能够降低 GCK、PFK-1、PGK、PK 等酶的表达,同时也能降低 CCR、COX、ATPs、ADK 等酶的表达,表现出与寒凉性药物相似的作用趋势,故我们推测 S-30、S-Z 可能是桑白皮药性寒凉的物质基础。

参考文献

- [1] 王艳艳,孙雪,裴晓蕾,等. 中药寒热药性与线粒体能量代谢关系研究[J]. 中医药信息,2013,30(4):48-50.
- [2] 黄璐琦. 论中药药性理论的研究方向[J]. 中药与临床,2011,2(2):1-3.
- [3] 匡海学,王艳宏,王秋红,等. 基于中药性味可拆分性和可组合性的中药性味理论研究新模式[J]. 世界科学技术-中医药现代化,2011,13(1):25-29.
- [4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:285,283,282-283,132-133,13,143,280.
- [5] 王绅,张鑫,王小兰,等. 桑白皮性味物质基础的可拆分性研究[A]. 2013 全国中药与天然药物高峰论坛论文集,2013:37.
- [6] 孙振,彭淑红,嵇琴,等. 黄连药性研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2015,21(5):221-223.
- [7] 马清翠,于华芸,赵俭,等. 附子、干姜、黄连、大黄对正常大鼠能

量代谢的影响[J]. 山东中医药大学学报,2010,34(5):379-390.

- [8] 黄丽萍,周蓉,蒙晓芳,等. 寒性中药黄芩对大鼠能量代谢的影响[J]. 中药材,2010,33(4):575-577.
- [9] 徐珊,张凡,刘蓬蓬,等. 黄柏及其酒和盐炙品改善热证大鼠能量代谢及其机制的研究[J]. 现代药物与临床,2014,29(12):1334-1339.
- [10] C. I. Nabuurs, C. U. Choe, A. Veltien, et al. Disturbed energy metabolism and muscular dystrophy caused by pure creatine deficiency are reversibly by creatine intake [J]. The Journal of Physiology, 2013:571-592.
- [11] Dajun Liu, Luping Huang, Yanlin Wang, et al. Human Stanniocalcin-1 Suppresses Angiotensin III-induced Superoxide Generation in Cardiomyocytes through UCP3-Mediated Anti-Oxidant Pathway [J]. PLOS ONE, 2012, 7(5):1-9.
- [12] D Grahame Hardie. AMPK: positive and negative regulation, and its role in whole-body energy homeostasis [J]. Current Opinion in Cell Biology, 2015, 33:1-7.
- [13] Maria C. Franco, Karina C. Ricart, Analía S. Gonzalez, et al. Nitration of Hsp90 on tyrosine 33 regulates mitochondrial metabolism [J]. The Journal of Biological Chemistry, 2015, 19:1-23.

(2015-12-09 收稿 责任编辑:洪志强)

(上接第 1846 页)

- [12] 颜欣,刘一瑾,梁智,等. 飞机草不同提取物对正常小鼠免疫功能的影响[J]. 广西中医药,2015,38(1):033.
- [13] 李静,刘力源,任捷,等. 地锦粗提物对脾虚小鼠脏器指数和抗氧化能力的影响[J]. 中国微生态学杂志,2011,23(12):1060-1063.
- [14] 石娟,邓兴安,周玲,等. 黄精粗多糖对正常小鼠免疫功能的影响[J]. 中国现代应用药学,2011,28(1):18-21.
- [15] 许晓燕,余梦瑶,魏巍,等. 灵芝对正常小鼠免疫功能作用的研究

研究[J]. 时珍国医国药,2014,25(3):567-569.

- [16] 晏永新,张丽,贾海芳,等. 党参多糖口服液对小鼠免疫功能的影响[J]. 中国兽药杂志,2013,47(3):18-20.
- [17] 郑平原,易爱纯,胡咏华. 松黄颗粒对小鼠迟发型变态反应及血清半数溶血值影响的实验研究[J]. 中南药学,2009,7(8):586-589.
- [18] 张晓双,穆娟,宋延平,等. 缩宫止血片对大鼠在体子宫平滑肌收缩的影响[J]. 甘肃中医学院学报,2009,26(3):8-10.

(2015-12-09 收稿 责任编辑:洪志强)