

• 药理与临床 •

基于代谢组学研究黄芩对干酵母热证模型的影响及苦寒性效关系

汪娜, 柳长风*, 刘树民*, 杨智明, 李煦照

黑龙江中医药大学 中医药研究院, 黑龙江 哈尔滨 150040

摘要: 目的 基于代谢组学研究黄芩对干酵母诱导的热病证候模型的影响, 揭示黄芩的苦寒性效关系。方法 实验分对照组、模型组、黄芩高和低剂量(生药 12、3 g/kg)组。除对照组外, 其他3组 sc 干酵母悬液(10 mL/kg); 黄芩组分别于造模后 4、8 h 分别 ig 给予黄芩水提取液各 1 次, 对照组和模型组 ig 同体积蒸馏水。以热证的生物标志物及其变化规律为切入点, 应用代谢组学、UPLC/ESI-TOF-MS 法、主成分分析(PCA)和正交偏最小二乘-判别分析(OPLS-DA)法等技术, 研究干酵母诱导的热病证候的代谢特性及黄芩的干预作用, 进而探讨中药性味与药效的相关性。**结果** 确定了 30 个热证特异性生物标志物, 鉴定其中 1 个离子结构为 *L*-苯丙氨酰-*L*-羟脯氨酸, 并与脯氨酸和苯丙氨酸代谢通路等代谢途径相关。黄芩高、低剂量组各对 13 个离子具有明显的回调作用。**结论** 从热病证候代谢物组的整体及生物标志物的变化, 揭示了黄芩干预热病证候的作用及其苦寒性效关系。

关键词: 黄芩; 代谢组学; 热证; 生物标志物; 苦寒性效关系; *L*-苯丙氨酰-*L*-羟脯氨酸

中图分类号: R282.710.5; R285.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2013)18-2556-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.18.013

Effect of *Scutellariae Radix* on fever syndrome induced by dry yeast and its property-effect relationship between bitter and cold based on metabolomics

WANG Na, LIU Chang-feng, LIU Shu-min, YANG Zhi-ming, LI Xu-zhao

Institute of Traditional Chinese Medicine, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China

Abstract: Objective To study the intervention of *Scutellariae Radix* on the fever syndrome induced by dry yeast based on metabolomics and reveal its property-effect relationship between bitter and cold. **Methods** There were control, model, low- and high-dose (3 and 12 crude drug g/kg) *Scutellariae Radix* groups. The rats in all groups were sc dry yeast suspension (10 mL/kg) except control group. The rats in *Scutellariae Radix* group were ig given water extract from *Scutellariae Radix* 4 and 8 h once after modeling, and the rats in model and control groups were given the same volume distilled water. From the aspect of biomarkers of fever syndrome and the variation, the characteristics of dry yeast-induced fever syndrome and intervention of *Scutellariae Radix* were investigated by metabolomics, ultra-performance liquid chromatography/electrospray ionization time-of-flight mass spectrometry (UPLC/ESI-TOF-MS), PCA, and OPLS-DA analyses. **Results** Thirty specific biomarkers were determined, and the structure of *L*-phenylalanyl-*L*-hydroxyproline was identified, and it is correlated with metabolic pathway proline and phenylalanine. The rats in both high- and low-dose *Scutellariae Radix* groups showed the obvious regulation against 13 ions. **Conclusion** The property-effect relationship between bitter and cold of *Scutellariae Radix* is represented by studying the changes of the whole metabolites and biomarkers of fever syndrome.

Key words: *Scutellariae Radix*; metabolomics; fever syndrome; biomarker; property-effect relationship between bitter and cold; *L*-phenylalanyl-*L*-hydroxyproline

中药药性理论是祖国医药学理论体系中的重要组成部分, 是指导中医临床用药的重要依据。然而较少按照中医药学自身思维特点对中药四性五味药

性理论进行系统研究^[1]。了解中药药性理论实质, 对临床“证候”的生物学特征及其中药干预机制进行科学阐释, 是当今中医药走向国际亟待解决的问题。

收稿日期: 2012-12-11

基金项目: 国家重点基础研究发展计划 973 计划 (2007CB512608, 2013CB531804)

作者简介: 汪娜 (1985—), 女, 满族, 博士研究生, 研究方向为中药药性理论。Tel: 13796057026 E-mail: christina85721@163.com

*通信作者 柳长风 Tel: 13503658915 E-mail: liuchangfeng1976@126.com

刘树民 Tel: (0451)87266988/13945133028 E-mail: keji-liu@163.com

给药后药性中的某一方面在机体出现相关效应的基础既可能是药物本身的成分(单一成分或多因素成分群),更可能是药物在机体中的代谢产物^[2]。因此,基于机体病症生物代谢标志物,探究中药改善病理状态下异常代谢的作用规律,由此得出代表药性作用的有效物质基础,是研究中药药性的正确和有效方法^[3]。代谢组学能够研究机体或药物对机体所形成的生物物质的总体代谢变化,具有与中医治疗疾病的整体观、辨证观相一致的优势^[4-5]。酵母菌所致动物发热是由注射部位局部溃烂引发的剧烈炎症反应导致的,其全身表现与人临床上炎症的里热证类似,适合考察清热药的解热作用^[6]。本实验依据中医药“热者寒之”传统理论,采用干酵母诱导的热证模型,运用代谢组学中的主成分分析(PCA)和正交偏最小二乘-判别分析法(OPLS-DA)^[7-8],研究苦寒代表药黄芩给药后对大鼠尿液中代谢物的影响,从代谢物组的整体变化及热病证候的特异性生物标志物的变化阐述黄芩的作用及其苦寒性效关系。

1 材料

1.1 药材

黄芩,购自黑龙江省药材公司,经黑龙江中医药大学中医药研究院王连芝副研究员鉴定为唇形科植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 的干燥根。

高活性干酵母,安琪酵母股份有限公司;乙腈,色谱纯,墨克公司;甲酸色谱级,美国霍尼韦尔公司;亮氨酸-脑啡肽, Sigma 公司;氢氧化钠,分析纯。

1.2 动物

雄性 Wistar 大鼠,清洁级,体质量(200±20)g,北京维通利华实验动物技术有限公司提供,合格证号:SCXK(京)2007-0001。

1.3 仪器

美国 Waters Acquity™ UPLC 液相色谱仪(四元梯度泵-在线真空脱气机-自动进样器-二极管阵列检测器-柱温箱);美国 Waters LCT Premier XE 飞行时间质谱仪(电喷雾离子源-Lockspray);MassLynx V4.1 工作站;KDC-160HR 高速冷冻离心机,科大创新股份有限公司中佳分公司;MC-612 型电子数字式温度计,欧姆龙有限公司。

2 方法

2.1 黄芩提取物及干酵母悬液制备

取黄芩 600 g,第 1 次加 10 倍量水煎煮 1 h,第 2 次加 8 倍量水煎煮 1 h,合并煎液,浓缩干燥,研成细粉备用,按《中国药典》2010 年版测定,按干

燥品计算,黄芩苷质量分数为 9.05%。

称取干酵母 20 g,置乳钵中,逐渐加入蒸馏水研磨成均匀的悬浆,最后定容为 100 mL,临用前配制。

2.2 模型制备、分组与给药

大鼠适应环境 3 d 后,每日早晚各测定大鼠肛温 1 次,连测 3 d,选取基础肛温在 38.0~39.5 °C、波动在 0.5 °C 以内者纳入实验。36 只大鼠随机分为对照组、模型组、黄芩高和低剂量(生药 12、3 g/kg)组。除对照组外,其他组大鼠 sc 干酵母悬液 10 mL/kg。黄芩组大鼠分别于造模后 4、8 h 分别 ig 相应剂量黄芩水提取物各 1 次,对照组和模型组 ig 同体积的蒸馏水。

2.3 样品采集

分别于与造模前及造模后 3、6、8、10、12、15、18 h 监测体温 1 次。于造模前 3 d,每天 8:00 时用代谢笼收集 24 h 尿液 1 次,并收集造模前 12 h 尿液;收集造模后 0~6 h、6~10 h、10~16 h、16~22 h、22~28 h 尿液各 1 次。收集的尿液置冰箱中保存,用时 4 °C、13 000 r/min 离心 15 min,取上清液供 UPLC-TOF-MS 分析。

2.4 色谱条件

色谱柱为 Acquity UPLC™ BEH C₁₈ 柱(50 mm×2.1 mm, 1.7 μm);体积流量 0.4 mL/min;柱温 40 °C;流动相 A 为 0.1%甲酸水溶液, B 为 0.1%甲酸乙腈溶液。梯度洗脱:0~8 min, 98%A; 8~10 min, 60%A; 10~12 min, 2%A; 12~15 min, 98%A,进样量 2.0 μL。样品不经紫外检测器直接导入质谱系统检测。

2.5 质谱条件

电喷雾离子源(ESI),正离子扫描检测;毛细管电压为 1 000 V,样本锥孔电压为 40 V;离子源温度为 100 °C,脱溶剂温度为 350 °C;脱溶剂气流量扫描为 700 L/h,锥孔气流量为 10 L/h;微通道板电压为 2 300 V;扫描时间为 0.3 s;准确质量校正采用亮氨酸-脑啡肽([M+H]⁺为 556.277 1),质量浓度为 1.0 ng/mL,校正溶液进样体积流量为 30 μL/min,校正频率为 15 s;扫描方式为全扫描,质量扫描范围 *m/z* 50~1 000。

2.6 数据处理

记录每只大鼠各时间点体温值,取同一时间点各个样本体温平均值,作平均体温反应曲线,对各时间点平均体温差(Δ*T*=造模后体温值-造模前体温值)进行 *t* 检验,采用 MarkerLynx XP 软件进行色谱峰识别以及峰匹配,并采用 PCA 和 OPLS-DA

对获得的多维数据进行处理。

通过对模型组造模前后不同时间大鼠尿液中代谢物组进行 PCA, 绘制反映组间离散程度的 Scores plot, 进一步选择与对照组离散程度最大的时间点进行 OPLS-DA 分析, 结合各组间各离子点量的变化趋势, 在 Scores plot 图中选择潜在的干酵母诱导热证的生物标志物。源于黄芩的大量外源性代谢物会明显干扰大鼠体内物质的代谢, 给热证模型的生物标志物的筛选带来困难, 因此应剔除黄芩的外源性代谢物。首先采用 PCA 对获得的多维复杂数据进行处理, 描述造模前后及给药前后各时间段的代谢物组变化轨迹, 在 loading plot 的 4 个象限中分别给出在

对照组、模型组、黄芩组间不同变化趋势的离子, 最后解释 Scores plot 中各组代谢物组的变化轨迹, 并在 loading plot 中辨识药物引起的上调或者下调的离子, 分别存在于 loading plot 的 2 个相反的象限内。

3 结果

3.1 对热证大鼠体温的影响

黄芩各剂量组对干酵母诱导的大鼠热病证候作用均有不同程度的影响, 其中高剂量组的效果最为显著。结果见表 1。

3.2 热证大鼠尿样液相质谱检测结果

在液相色谱和质谱分析条件下, 应用正离子模式取得了良好的分析效果。结果见图 1。从基峰离子色

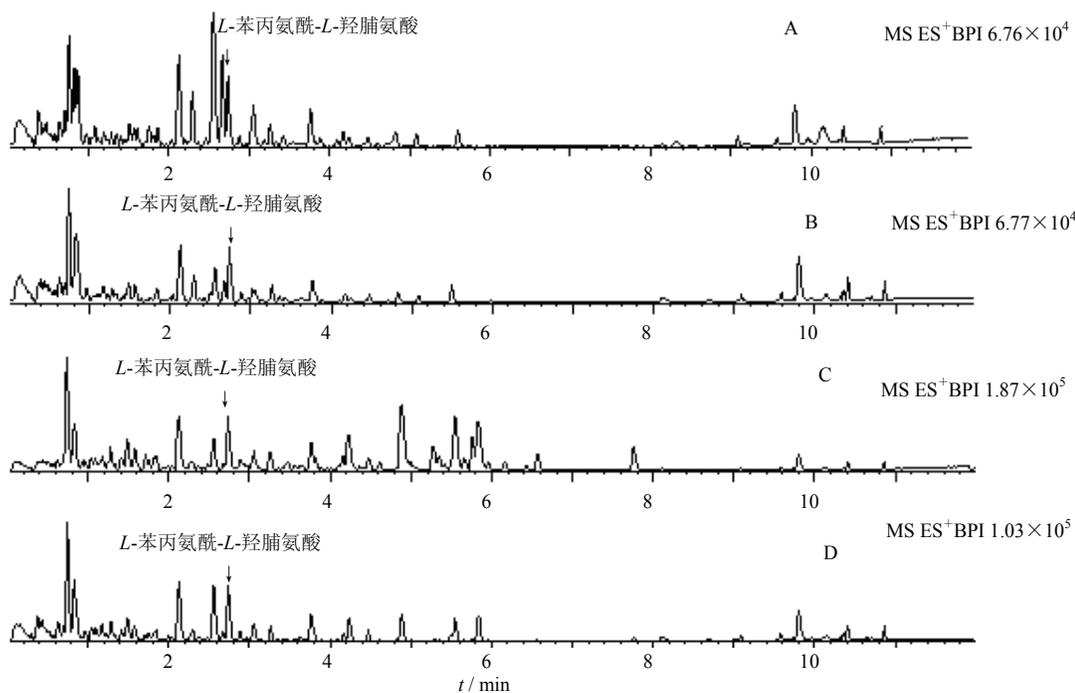
表 1 黄芩对热证大鼠体温的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 1 Effect of *Scutellariae Radix* on body temperature of rats with fever syndrom ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量 / (g·kg ⁻¹)	$\Delta T / ^\circ\text{C}$						
		造模后 3 h	造模后 6 h	造模后 8 h	造模后 10 h	造模后 12 h	造模后 15 h	造模后 18 h
对照	—	-1.10±0.41	-1.25±0.43	-1.03±0.28	-1.01±0.54	-1.20±0.25	-0.65±0.39	-1.03±0.36
模型	—	-0.29±0.79	0.74±0.79*	0.81±0.29*	0.43±0.54*	-0.20±0.46*	-0.45±0.42	-1.67±0.68
黄芩	12	-0.53±0.47 [▲]	0.16±0.38 [▲]	0.36±0.52 [▲]	0.16±0.41	-0.19±0.63 ^{▲▲}	-0.53±0.58 [▲]	-1.00±0.41
	3	-0.28±0.36 [▲]	0.45±0.28 [▲]	0.70±0.55 [▲]	0.47±0.54 [▲]	-0.23±0.32 [▲]	-0.05±0.59 ^{▲▲}	-0.08±0.44 ^{▲▲}

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: [▲] $P < 0.05$ ^{▲▲} $P < 0.01$, 下表同

* $P < 0.05$ vs control group; [▲] $P < 0.05$ ^{▲▲} $P < 0.01$ vs model group, same as below



A-对照组 B-模型组 C-黄芩 12 mg·kg⁻¹组 D-黄芩 3 mg·kg⁻¹组

A-control group B-model group C-high-dose (12 mg·kg⁻¹) *Scutellariae Radix* group D-low-dose (3 mg·kg⁻¹) *Scutellariae Radix* group

图 1 各组大鼠尿液检测 BPI 图

Fig. 1 BPI chromatograms of rat urine samples from each group

谱图(BPI)图中可看到各组尿样中物质的差异,在 10.0 min 有效洗脱时间内获得较好的分离和响应效果。

3.3 对热病证候的代谢变化

疾病的病理过程使生物代谢网络、细胞产生的内源性产物的种类和浓度及相对比例发生扰动,这种扰动体现在小分子代谢产物集合轮廓的改变。因此通过比较对照组与模型组的代谢产物集合轮廓,从 2 组内源性产物种类、浓度、相对比例的差别推断造模是否成功。

由图 2 可见,大鼠 sc 干酵母后,尿液代谢物组发生明显变化,与对照组相比明显被分类。模型组大鼠在造模后 0~6 h,内源性产物的种类、浓度和相对比例发生扰动,逐渐远离对照组,分类趋势趋向明显;造模后在 6~10 h 达峰值;在造模后 10~22 h,内源性产物的种类、浓度和相对比例逐渐回调至对照组位置,这与热病证候模型造模过程中体温变化趋势相吻合,表明造模成功。造模后 6~10 h 大鼠代谢轮廓变化最大,因此对造模前和造模后 6~10 h 的尿液代谢轮廓进行 OPLS-DA 分析,对其特征进行抽提及模式识别。作为干酵母诱导发热的

特异性生物标志物的选择依据为:(1)根据 Scores plot 图(图 3-A 和 C)中离子的置信度和 VIP 值可知离子对分类贡献的大小,离子变量重要性值(VIP)值越大贡献越大,因此选择 VIP 值较大的离子;(2)根据 Treading plot 图(图 3-B 和 D)选择在对照组和模型组大鼠尿液中量有显著变化的离子。根据以上原则,初步确认了 30 个(表 2)具有显著分类意义的干酵母致热病证候模型的生物标志物,其中表

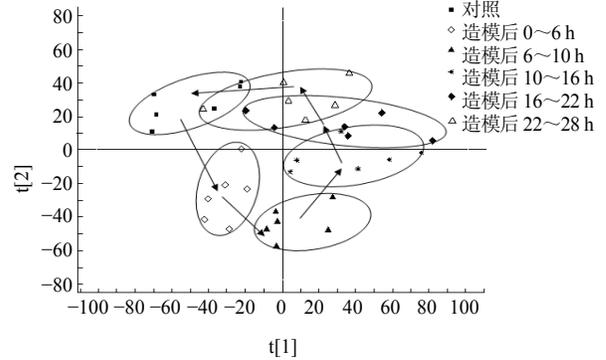
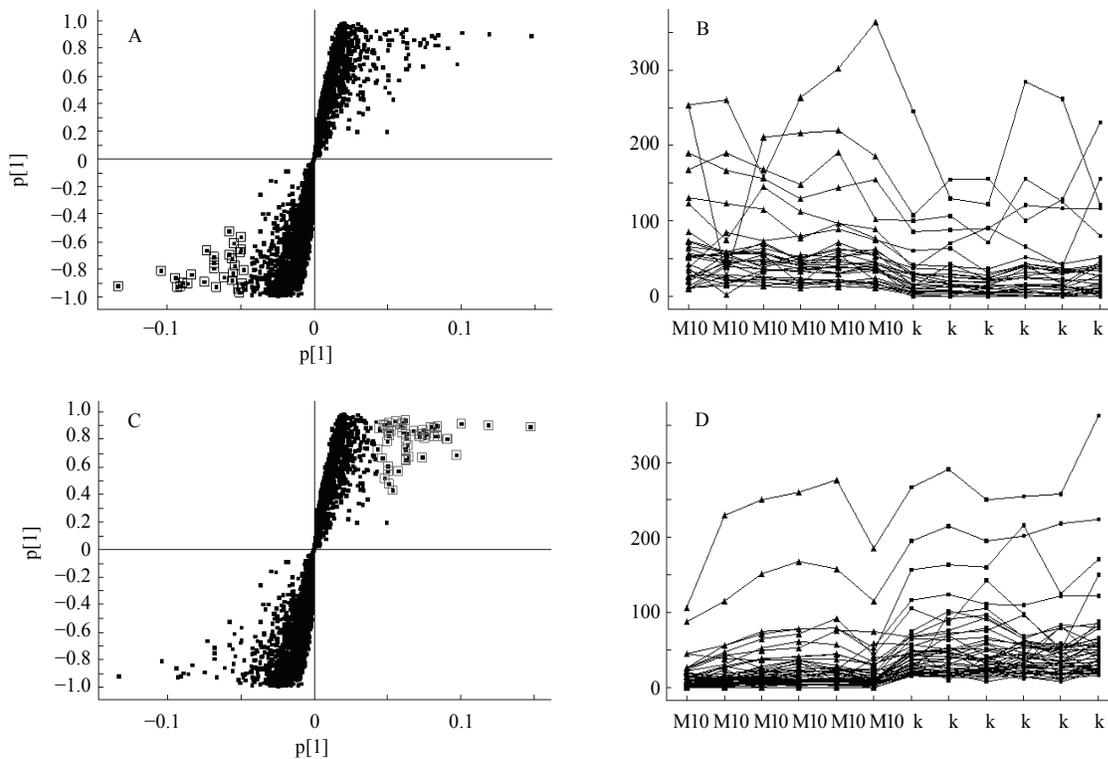


图 2 模型组不同时间段大鼠尿液 PCA 分析 Scores plot 图
Fig. 2 PCA Scores plot of urine samples from model group at different time points



与对照组比较量升高的离子的 Scores plot 图 (A) 及其 Treading plot 图(B);与对照组比较量下降的离子的 Scores plot 图 (C) 及其 Treading plot 图 (D)
Scores plot of higher content ions vs control group (A) and its Treading plot (B); Scores plot of lower content ions vs control group (C) and its Treading plot (D)

图 3 造模后 6~10 h 模型组大鼠尿液代谢轮廓的 Scores plot 图及对应标志物的 Treading plot 图
Fig. 3 Scores plot and Treading plot of ions in urine samples of rats 6—10 h after modeling

达上调的有 19 个, 表达下调的有 11 个。

3.4 黄芩给药后干酵母诱导热病证候的代谢变化

在确定干酵母诱导的热病证候大鼠模型的内源性生物标志物的基础上, 进一步研究黄芩对干酵母诱导热病证候的整体代谢的干预作用、对特异性生物标志物的调节作用。

利用 MarkerLynx V4.1 工作站中 Ezifo 软件处理剔除外源性物质, 得 Scores plot 图 (图 4)。由图 4 可知, 与模型组在同一时间比较, 黄芩组的代谢物组轮廓明显偏离模型组, 稍趋向于对照组方向, 黄芩高、低剂量组混在一起, 表明这 2 个剂量对干酵母诱导热病证候均具有干预作用。黄芩高、低剂量组预选出的干酵母诱导热病证候的生物标志物结果见表 2 和 3。将各组生物标志物的量的变化进行定量比较, 可见在表现上调的 19 个离子中, 黄芩高剂量组对其中的 9 个有明显的上调抑制作用, 低剂量组对其中的 8 个有明显的上调抑制作用; 在表现下调的 11 个离子中, 黄芩高剂量组对其中的 4 个有明显干预作用, 低剂量组对其中的 5 个有明显干预作用。即给予黄芩干预后, 高剂量组和低剂量组各对 13

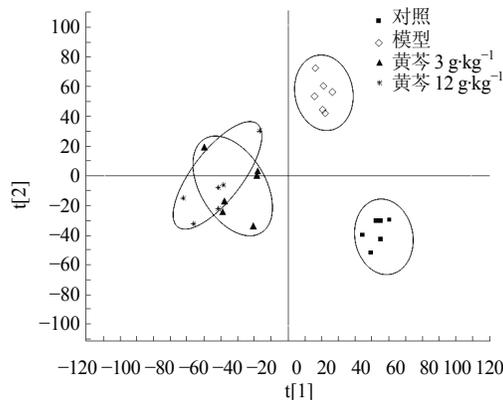


图 4 造模后 6~10 h 各组大鼠尿液代谢物组 PCA Scores plot 图

Fig. 4 PCA Scores plot of urine samples of rats from each group 6—10 h after modeling

个离子具有明显的回调作用。经二级质谱鉴定其中一个生物标志物的结构为 *L*-苯丙氨酰-*L*-羟脯氨酸, 具体信息见表 4。

4 讨论

本课题组前期实验结果表明, 20%干酵母混悬液诱导的热病证候模型可持续发热约 30 h, 是制备

表 2 正离子检测模式下潜在的生物标志物 (上调) 信息

Table 2 Information of potential biomarkers (up-regulation) under ESI⁺ mode

<i>t</i> / min	<i>m/z</i> [M+H] ⁺	对照	模型	黄芩 12 g·kg ⁻¹	黄芩 3 g·kg ⁻¹
0.30	140.011 1	7.32±4.48	28.97±6.70*	7.81±4.74 [▲]	11.64±6.16 [▲]
0.36	188.175 7	1.09±0.71	3.53±1.29*	3.32±1.74	4.40±2.33
0.38	175.071 7	3.4×10 ⁻⁸ ±7.07×10 ⁻²⁴	2.40±0.80*	1.44±0.93	2.12±2.02
0.38	176.093 7	1.69×10 ⁻⁸ ±0	1.04±0.19*	1.11±0.58	0.96±0.47
0.39	114.067 2	26.55±6.08	48.96±6.77*	33.58±7.54 [▲]	36.76±8.37 [▲]
0.41	169.039 6	2.00±1.10	7.09±2.31*	2.92±1.44 [▲]	4.37±2.66
0.42	267.060 4	2.00±1.50	4.72±1.89*	3.69±2.90	5.44±3.10
0.43	212.103 2	26.31±6.84	42.99±7.53*	35.76±9.21	38.68±12.23
0.44	229.119 3	5.45±2.83	19.24±7.70*	11.57±4.14	13.14±5.55
0.46	322.108 9	0±2.83×10 ⁻²³	3.02±0.62*	1.39±1.25 [▲]	1.61±0.61 [▲]
0.47	234.068 1	1.95×10 ⁻⁷ ±2.83×10 ⁻²³	6.58±3.96*	2.37±3.94	3.46±4.16
0.49	226.081 3	7.94±3.05	13.74±2.50*	6.43±5.33 [▲]	8.37±4.36 [▲]
0.56	286.139 0	2.26±0.91	6.56±2.24*	2.03±1.80 [▲]	4.15±1.11 [▲]
0.80	258.109 1	15.61±6.69	21.67±3.31*	20.18±7.99	10.07±3.17 [▲]
0.82	271.096 0	1.80±1.53	3.69±0.54*	2.78±0.52 [▲]	3.02±0.74
0.98	190.111 0	6.53±1.22	8.22±0.74*	10.59±4.67	8.58±2.81
2.55	235.108 2	27.90±8.16	53.00±8.22*	24.17±5.34 [▲]	22.90±3.04 [▲]
2.80	219.119 9	8.510 ⁻⁹ ±0	1.88±0.98*	0.91±0.85	0.79±0.71 [▲]
9.80	279.159 2	39.96±8.53	102.95±23.29*	64.80±32.50 [▲]	86.49±37.39

表 3 正离子检测模式下潜在的生物标志物 (下调) 信息

Table 3 Information of potential biomarkers (down-regulation) under ESI⁺ mode

<i>t</i> / min	<i>m/z</i> [M+H] ⁺	对照	模型	黄芩 12 g·kg ⁻¹	黄芩 3 g·kg ⁻¹
1.03	199.107 8	43.38±21.28	22.08±5.59*	26.34±9.83	32.17±10.33
1.08	303.071 4	54.73±16.91	14.46±9.07*	28.21±10.91 [▲]	37.03±17.00 [▲]
1.60	210.082 7	3.20±0.83	0.56±1.37*	0.99±0.82	0.38±0.68
2.03	225.081 3	1.24±0.19	2.25×10 ⁻⁸ ±0*	0.51±0.82	0.48±0.75
2.08	270.090 6	2.95±0.45	1.98±0.87*	1.00±0.50 [▲]	0.78±0.78 [▲]
2.73	279.133 9	117.28±6.32	63.40±14.08*	65.95±3.59	80.68±16.02
2.88	431.097 6	38.85±19.54	14.28±9.65*	27.24±16.25	41.31±13.17 [▲]
4.00	151.075 8	1.28±0.68	0.12±0.26*	0.75±0.51 [▲]	0.55±0.81
4.09	239.139 4	34.82±10.58	10.25±5.59*	11.73±5.40	16.03±6.26
4.69	325.150 8	5.75±2.08	1.81±0.77*	2.53±1.61	3.27±1.43 [▲]
4.47	281.149 8	61.29±5.10	17.60±7.13*	28.21±8.27 [▲]	34.68±14.09 [▲]

表 4 正离子检测模式下热证生物标志物信息

Table 4 Information of fever syndrome biomarker identified under ESI⁺ mode

<i>t</i> / min	<i>m/z</i>		分子式	MS/MS 离子碎片 (<i>m/z</i>)	碎片结构分子式	生物标志物
	测量值	理论值				
2.73	279.1339	278.1267	C ₁₄ H ₁₈ N ₂ O ₄	279	C ₁₄ H ₁₉ N ₂ O ₄	<i>L</i> -苯丙氨酰- <i>L</i> -羟脯氨酸
				278	C ₁₄ H ₁₈ N ₂ O ₄	
				262	C ₁₄ H ₁₆ NO ₄	
				233	C ₁₃ H ₁₇ N ₂ O ₂	
				148	C ₆ H ₁₆ N ₂ O ₂	

长时程热病证候模型的可靠方法,可以保证结果的可重复性^[10]。

本实验利用代谢组学方法,研究干酵母致热的大鼠尿样最终代谢产物的变化,明确了热病证候发生、发展中的 30 个潜在的生物标志物,鉴定了其中 1 个生物标志物的结构为 *L*-苯丙氨酰-*L*-羟脯氨酸。*L*-苯丙氨酰-*L*-羟脯氨酸是胶原蛋白的分解产物,而胶原蛋白是人体内量最丰富的蛋白质^[9],占全身总蛋白质量的 30% 以上。胶原蛋白富含人体需要的甘氨酸、脯氨酸、羟脯氨酸等氨基酸,羟脯氨酸是一种非必需氨基酸,测定血、尿和组织中羟脯氨酸的量是衡量机体胶原组织代谢的重要指标^[11]。大鼠尿液中 *L*-苯丙氨酰-*L*-羟脯氨酸的量明显降低,表明体内胶原蛋白代谢减慢^[12],与前期研究采用的 2,4-二硝基苯模型相符^[13],表明 *L*-苯丙氨酰-*L*-羟脯氨酸作为热证的生物标志物有一定的可行性。

从本实验 PCA 的结果可见,大鼠 sc 干酵母后,尿液代谢物组发生明显变化,与对照组相比明显被分类,说明大鼠正常生理代谢被干扰。黄芩各组聚

于一类,在 Scores plot 图中与对照组显著分离,处于热证继续发展但已向空白方向恢复的路线上,表明黄芩抑制热病证候的发展。在 30 个潜在热证生物标志物中,对上调的 19 个离子,黄芩高剂量组对其中的 9 个离子有明显抑制作用,低剂量组对其中 8 个离子有明显抑制作用;对表现下调的 11 个离子中,黄芩高剂量组对其中的 4 个有明显干预作用,低剂量组对其中的 5 个有明显干预作用。从被干预的离子的数量和含量变化可见,黄芩对热病证候中表现上调的生物标志物具有显著抑制上调的作用,高剂量组的效果优于低剂量组;但对下调的生物标志物,黄芩低剂量组的效果优于高剂量组。产生此结果的原因可能是由于:(1)机体的寒热处于动态平衡,一方变化必然导致另一方改变,符合中医的阴阳理论;(2)黄芩苦寒肃降之性,可显著抑制导致机体热性的生物标志物上升;(3)苦寒易伤正,机体的免疫调节作用相对下降,导致黄芩对下调的生物标志物的作用不明显,反相佐证了黄芩的苦寒之性。由此可见,黄芩既可以治疗热证的临床症状,

又可以改善机体的免疫能力。与张元素的“黄芩九用说”有异曲同工之意。

综上,黄芩对部分代谢异常的代谢通路具有干预和拮抗作用,表明其对热病证候的异常代谢具有干预作用,其作用可能是通过干预脯氨酸-苯丙氨酸的代谢通路实现的。本实验从体内代谢的整体网络及生物标志物的变化揭示了黄芩干预热病证候的作用,反证了黄芩的苦寒药性。

参考文献

- [1] 商庆新. 中药四性理论现代研究是中药现代化的前提和关键 [J]. 山东中医药大学学报, 2006, 30(2): 111-113.
- [2] 王普霞, 周春祥. 基于“证-药效-药性”观念及“药性本质多元”假说探讨中药药性本质 [J]. 南京中医药大学学报, 2006, 22(6): 345-347.
- [3] 刘树民, 卢芳, 董培良, 等. 基于代谢组学整体表征中药药性及性效关系 [J]. 云南中医学院学报, 2009, 32(6): 1-4.
- [4] 罗和古, 陈家旭. 代谢组学技术与中医证候的研究 [J]. 中国中医药信息杂志, 2007, 14(5): 3-5.
- [5] Nicholson J K, Lindon J C, Holmes E. ‘Metabonomics’: understanding the metabolic responses of living systems to pathophysiological stimuli via multivariate statistical analysis of biological NMR spectroscopic data [J]. *Xenobiotica*, 1999, 29(11): 1181-1189.
- [6] 黄世福, 徐鹏夫, 陈菡, 等. 芩贝止咳颗粒解热、镇咳、祛痰作用的实验研究 [J]. 中国中医药科技, 2006, 13(2): 114-116.
- [7] Lindon J C, Holmes E, Nicholson J K. So what's the deal with metabonomics [J]. *Anal Chem*, 2003, 75(17): 384A-391A.
- [8] 夏建飞, 梁琼麟, 胡坪, 等. 代谢组学研究策略与方法的新进展 [J]. 分析化学, 2009, 37(1): 136-143.
- [9] Perumal S, Antipova O, Orgel J P, et al. Collagen fibril architecture, domain organization, and triple-helical conformation govern its proteolysis [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(8): 2824-2829.
- [10] 临床生化检验 [S]. 第一版. 1984.
- [11] Lévi S, Grady R M, Henry M D, et al. Dystroglycan is selectively associated with inhibitory GABAergic synapses but is dispensable for their differentiation [J]. *J Neurosci*, 2002, 22(11): 4274-4285.
- [12] 卢芳, 董培良, 陈平平, 等. 三种热病证候模型的最佳造模方法的探索和评价 [J]. 山东中医杂志, 2009, 28(2): 114-116.
- [13] 黄志桓, 柳长风, 刘树民, 等. 基于代谢组学技术的 2, 4-二硝基苯酚和干酵母致热病证候模型的对比研究 [J]. 中药药理与临床, 2010, 26(3): 61-65.