

• 药理与临床 •

基于典型热证动物模型物质能量代谢的葶苈子及其性味拆分组分药性归属探讨

李亚格¹, 克迎迎¹, 王梦梦¹, 杨翠兰¹, 单增福¹, 米汪洋¹, 冯卫生^{1,2}, 郑晓珂^{1,2*}

1. 河南中医药大学, 河南 郑州 450046

2. 河南省中药开发工程技术研究中心, 河南 郑州 450046

摘要: **目的** 通过对热证大鼠物质能量代谢的相关指标进行检测, 对葶苈子及其拆分组分的药性进行验证归属, 以期阐述葶苈子及其性味拆分组分的寒热属性。 **方法** 健康雄性 SD 大鼠随机分组, 分为对照组、模型组、葶苈子水提物组 (DS)、葶苈子黄酮苷拆分组 (FG)、葶苈子黄酮苷元拆分组 (FA)、葶苈子低聚糖拆分组 (Oli)、葶苈子多糖拆分组 (Pol)、葶苈子脂肪油拆分组 (FO)。大鼠通过 ig 优甲乐 120 mg/kg 制备热证模型, 连续给药 15 d 后腹主动脉取血, 取肝脏、心脏等, 检测物质能量代谢相关指标, 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)、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)、 Na^+ , K^+ -ATP 酶的表达及腺嘌呤核苷三磷酸 (ATP)、二磷酸腺苷 (ADP)、烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (NAD^+)、还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (NADH) 的含量。 **结果** 与对照组相比, 模型组大鼠体质量极显著下降 ($P < 0.01$); 与模型组相比, DS 组、FG 组、FA 组、Pol 组、FO 组大鼠体质量有显著或极显著升高 ($P < 0.05, 0.01$)。与对照组相比, 模型组大鼠 5 min 内的自主活动次数极显著增多 ($P < 0.01$); 给药后各组大鼠 5 min 内的自主活动次数显著降低 ($P < 0.01$)。与对照组相比, 模型组大鼠显著或极显著升高 GCK、PFK-1、PK、PGK、PDH、acetyl-CoA、CS、ICD、 α -KGDHC、FUM、PYGL、GSK-3、ATGL、ATP、CCR、COX、ATPs、ADK、 Na^+ , K^+ -ATP、NADH 的表达或含量 ($P < 0.05, 0.01$), 降低 ADP、 NAD^+ 、 NAD^+/NADH 的含量 ($P < 0.05, 0.01$); 给药后各组大鼠与模型组相比, 显著或极显著降低物质能量代谢相关酶的表达水平 ($P < 0.05, 0.01$)。 **结论** 葶苈子拆分组分可以改善热证模型大鼠表现出物质能量代谢相关指标显著增高的状态, 验证了葶苈子性味拆分组分表现出寒 (凉) 的药性, 也从侧面体现了“热者寒之”的作用机制可能与物质能量代谢有关。

关键词: 热证; 药性; 热者寒之; 葶苈子; 物质代谢; 能量代谢; 葡萄糖激酶; 果糖磷酸激酶; 磷酸甘油酸激酶; 丙酮酸激酶; 丙酮酸脱氢酶; 乙酰辅酶 A; 柠檬酸合酶; 异柠檬酸脱氢酶; α -酮戊二酸脱氢酶; 延胡索酸酶; 糖原磷酸化酶; 糖原合成酶激酶-3; 脂肪甘油三酯脂酶; 细胞色素 C 还原酶; 细胞色素 C 氧化酶; ATP 合酶; 腺苷酸激酶; Na^+ , K^+ -ATP 酶; 腺嘌呤核苷三磷酸; 二磷酸腺苷; 烟酰胺腺嘌呤二核苷酸; 还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2020)13-3465-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.13.014

Discussion on medicinal attribution of *Descurainia sophia* and its nature and flavor splitting components based on typical energy metabolism of heat syndrome animal models

LI Ya-ge¹, KE Ying-ying¹, WANG Meng-meng¹, YANG Cui-lan¹, SHAN Zeng-fu¹, MI Wang-yang¹, FENG Wei-sheng^{1,2}, ZHENG Xiao-ke^{1,2}

1. Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China

2. Henan Engineering and Technology Center for Chinese Medicine Development, Zhengzhou 450046, China

收稿日期: 2019-11-27

基金项目: 国家重点基础研究发展计划 (“973” 计划) ——基于利水功效的中药药性理论研究 (2013CB531802); 基于病势在表在里的麻黄和葶苈子升降浮沉药性研究 (2019YFC1708802); 河南省高层次人才特殊支持计划 “中原千人计划” (ZYQR2018100)

作者简介: 李亚格, 女, 硕士研究生, 研究方向为中药活性成分及其作用机制。Tel: 18639669863 E-mail: lyagetcm@163.com

***通信作者** 郑晓珂, 女, 教授, 研究方向为中药活性成分及其作用机制。Tel: (0371)60190296 E-mail: zhengxk.2006@163.com

Abstract: Objective The relevant indicators of energy metabolism in rats with heat syndrome were tested to verify the medicinal properties of *Descurainia sophia* and its nature and flavor splitting components, in order to explain the cold and heat properties of *D. sophia* and its splitting components. **Methods** Healthy male Sprague-Dawley rats were randomly divided into normal control group (NC), model group (M), water extract of gardenia (DS), flavonoid glycosides composition of *D. sophia* (FG), flavonoid aglycone composition of *D. sophia* (FA), oligosaccharide resolution component group (Oli), gardenia polysaccharide decomposition component group (Pol), and *D. sophia* fatty oil component separation group (FO). The model of heat syndrome was established by intragastric administration of Euthyrox (120 mg/kg). After 15 days of continuous administration, blood was taken from the abdominal aorta and the liver and heart were taken to detect the indicators related to the energy metabolism of the substance. The enzyme expression of glucokinase (GCK) and fructose phosphokinase (PFK-1), phosphoglycerate kinase (PGK), pyruvate kinase (PK), pyruvate dehydrogenase (PDH), acetyl-CoA, citrate synthase (CS), isocitrate dehydrogenase (ICD), alpha-ketoglutarate dehydrogenase (alpha-KGDHC), fumarate (FUM), glycogen phosphorylase (PYGL), glycogen synthase kinase-3 (GSK-3), adipose triglyceride lipase (ATGL), cytochrome C reductase (CCR), cytochrome C oxidase (COX), ATP synthase (ATPs), adenylate kinase (ADK), Na^+ , K^+ -ATPase and the content of adenosine triphosphate (ATP), adenosine diphosphate (ADP), nicotinamide adenine dinucleotide (NAD^+), reduced nicotinamide adenine dinucleotide (NADH) were determined. **Results** Compared with NC group, the weight of M group rats was decreased significantly ($P < 0.01$). Compared with M group, the body weights of rats in DS, FG, FA, Pol and tFO groups were significantly or highly significantly increased ($P < 0.05, 0.01$). Compared with NC group, the number of spontaneous activities in M group was increased significantly ($P < 0.01$) within 5 min, and the number of locomotor activities of each group within 5 min after administration was significantly decreased ($P < 0.01$). Compared with NC group, the levels of GCK, PFK-1, PK, PGK, PDH, acetyl-CoA, CS, ICD, α -KGDHC, FUM, PYGL, GSK-3, ATGL, ATP, CCR, COX, ATPs, ADK, Na^+ , K^+ -ATP, NADH expression or content in M group of rats were significantly increased ($P < 0.05, 0.01$), the content of ADP, NAD^+ and NAD^+/NADH was decreased ($P < 0.05, 0.01$). After administration, the expression level of material energy metabolism of the rats in each group was significantly or extremely significantly reduced compared with the M group ($P < 0.05, 0.01$). **Conclusion** *D. sophia* can improve the state of the energy-metabolism related indicators of the rats in the heat syndrome model group. It is verified that *D. sophia* nature and flavor splitting components show the cold (cool) properties. From the side, it reflects the mechanism of “treating heat with cold drug” is related with the substance energy metabolism.

Key words: heat syndrome; medicinal properties; treating heat with cold drug; *Descurainia sophia* (L.) Webb. ex Prantl; substance metabolism; energy metabolism; glucokinase; fructose phosphokinase; phosphoglycerate kinase; pyruvate kinase; pyruvate dehydrogenase; acetyl-CoA; citrate synthase; isocitrate dehydrogenase; alpha-ketoglutarate dehydrogenase; fumarate; glycogen synthase kinase-3; glycogen phosphorylase; adipose triglyceride lipase; cytochrome C reductase; cytochrome C oxidase; ATP synthase; adenylate kinase; Na^+ , K^+ -ATPase; adenosine triphosphate; adenosine diphosphate; nicotinamide adenine dinucleotide; reduced nicotinamide adenine dinucleotide

中药的药性理论是以中医基础理论为核心, 经长期的临床实践总结出来的药物属性规律, 包括四气、五味等一些基础理论, 反映药物具有不同的药理特性^[1-5]。“四气”一词记于《神农本草经》, “药有寒、热、温、凉四气”用来描述中药药性, 指中药对人的机体产生的寒热温凉等调节作用。“寒者热之”就是根据传统的药性理论而应用于临床治疗的原则之一, 是指寒凉药可清热、解毒、泻火而治热症^[6-7]。从现代的药理学方面来说, 则认为中药的寒热温凉主要是反映了中药对人体产生的生物学效应^[8]。国家“973”计划的中药药性理论课题研究组在中药性味科学内涵新假说中提出药性与机体物质能量代谢相关, 同时本项目的首席科学家匡海学教授认为药性是可以拆分的, 并且可以通过影响机体

能量、物质代谢来影响药物疗效发挥或与副作用发生有关的一系列生物学效应^[9]。

葶苈子为十字花科植物独行菜 *Lepidium apetalum* Willd. 或播娘蒿 *Descurainia sophia* (L.) Webb ex Prantl. 的干燥成熟种子, 性寒味辛苦^[10]。在前期研究中, 本实验室已经将葶苈子拆分为成分互不交叉的黄酮苷、黄酮苷元、低聚糖、多糖、脂肪油拆分组分^[11-12]。同时实验室前期已发现与典型寒性药作用相似的葶苈子性味拆分组分可以显著降低正常动物的物质能量代谢, 但各性味拆分组分的寒凉程度不同^[13]。

为进一步验证葶苈子寒凉药性以及探讨其药性的化学物质基础, 本实验采用 ig 给予优甲乐 (左甲状腺素钠片) 的方法建立物质能量代谢旺盛的甲亢

模型, 其在中医范畴上属于热证^[14-15]。给药后分别从体征指标、物质能量代谢相关指标进行考察, 对葶苈子及其拆分组分的药性进行验证归属, 以期阐述其寒热属性、探究药性物质基础。

1 材料

1.1 动物

SPF 级 SD 大鼠 80 只, 北京维通利华实验动物技术有限公司, 许可证号 SCXK(京)2012-0001, 体质量 180~220 g。在 18~22 °C 清洁级动物实验室内饲养, 自由饮食、饮水。

1.2 药物

葶苈子购自河南省郑州市中药材市场, 经河南中医药大学药学科董诚明教授鉴定为十字花科植物播娘蒿 *Descurainia Sophia* (L.) Webb ex Prantl. 的干燥成熟种子。取葶苈子称定质量后加 10 倍量蒸馏水包煎反复 2 次, 每次 0.5 h, 即得葶苈子水煎液。

取水煎液用石油醚萃取, 即为石油醚组分(脂肪油拆分组分), 然后将萃取后的水层浓缩, 上 DiaionHP-20 柱, 依次用水、20%乙醇、80%乙醇洗脱。洗脱液分别浓缩干燥后分别得低聚糖拆分组分和多糖拆分组分、黄酮苷拆分组分、黄酮苷元拆分组分, 并采用 HPLC-PDA 色谱法建立各拆分组分色谱条件, 进行制备工艺稳定性检验^[11]。优甲乐, Merck Serono, 批号 210128。

1.3 试剂与仪器

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)、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)、 Na^+ 、 K^+ -ATP 酶及腺嘌呤核苷三磷酸(ATP)、二磷酸腺苷(ADP)、烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD^+)、还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NADH)检测试剂盒, 苏州卡尔文生物科技有限公司。

BT25S 十万分之一精密分析天平、Advantage A10 超纯水仪, 德国 Sartorius 公司; 5810R 高速冷冻离心机, 德国 Eppendorf 公司; SK-1 快速混匀器, 常州国宇仪器制造有限公司; Multiskan MK3 酶标仪、Genesys 10 分光光度计, 美国 Thermo Fisher

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, 中国海尔公司; 移液器, 法国 Gilson 公司。

2 方法

2.1 动物的分组及给药

动物适应性喂养 1 周后, 按照随机分配原则分为对照组、模型组、葶苈子水提物组(DS)、葶苈子黄酮苷拆分组(FG)、葶苈子黄酮苷元拆分组(FA)、葶苈子低聚糖拆分组(Oli)、葶苈子多糖拆分组(Pol)、葶苈子脂肪油拆分组(FO)。

热证模型的建立方法为大鼠每日 9:00 时 ig 优甲乐 120 mg/kg, 每日 15:00 时 ig 给药, 对照组与模型组 ig 给予等量蒸馏水(1 mL/100 g)。各给药组参照《中国药典》2015 年版中葶苈子给药剂量, 折算后生药剂量均为 10 g/kg, 按提取率计算后各给药组 ig 相应剂量的药物(DS 组给药剂量为 2 340.0 mg/kg、FG 组为 22.9 mg/kg、FA 组为 13.9 mg/kg、Oli 组为 119.5 mg/kg、Pol 组为 60.9 mg/kg、FO 组为 634.0 mg/kg), 连续给药 15 d 后, 留取肝脏、心脏等于液氮中速冻后, 转移至-80 °C 冰箱, 备用。

2.2 给药对各组大鼠体质量、肛温、自主活动的影响

记录给药前及给药期间各组大鼠的基础体征指标如体质量、肛温, 同时记录给药 15 d 后各组大鼠 5 min 内自主活动的次数^[18]。

2.3 物质能量代谢相关指标的检测

取待测组织加入 10 倍量生理盐水匀浆, 4 °C、3 000 r/min 离心 10 min 取上清备用, 根据试剂盒说明书检测肝脏中 GCK、PFK-1、PGK、PK、PDH、acetyl-CoA、CS、ICD、 α -KGDHC、FUM、PYGL、GSK-3、ATGL、CCR、COX、ATPs、ADK、 Na^+ 、 K^+ -ATP 酶的表达及心脏中 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 软件进行单因素方差分析(One-Way ANOVA)统计处理。

3 结果

3.1 葶苈子性味拆分组分对热证大鼠体质量及肛温的影响

如表 1 所示, 与对照组相比, 模型组大鼠体质量极显著下降($P < 0.01$), 与模型组相比, DS、FG、

FA、Pol、FO 组大鼠体质量有显著或极显著升高 ($P<0.05$ 、 0.01)。

如表 1 所示, 与对照组相比, 模型组大鼠的肛温极显著性升高 ($P<0.01$), 与模型组相比, 葶苈子各给药组大鼠的肛温极显著降低 ($P<0.01$)。

3.2 葶苈子性味拆分组对热证大鼠自主活动的影响

如表 2 所示, 与对照组相比, 模型组大鼠 5 min 内的自主活动次数极显著增多 ($P<0.01$); 与模型组相比, 葶苈子各给药组大鼠 5 min 内的自主活动次数显著降低 ($P<0.01$)。

3.3 葶苈子性味拆分组对热证大鼠葡萄糖氧化成丙酮酸阶段相关酶的影响

如表 3 所示, 与对照组相比, 模型组肝脏中的表 1 葶苈子性味拆分组对热证大鼠体质量及肛温的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 1 Effect of *D. sophia* splitting components on body weight and rectal temperature of rats with heat syndrome ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	体质量/g	肛温/℃
对照	—	332.68 ± 42.52	36.33 ± 0.15
模型	—	296.06 ± 19.32**	37.28 ± 0.62**
DS	2 340.0	322.20 ± 35.92 [#]	36.52 ± 0.15 ^{###}
FG	22.9	347.11 ± 23.53 ^{###}	36.52 ± 0.15 ^{###}
FA	13.9	340.57 ± 14.77 ^{###}	36.65 ± 0.25 ^{###}
Pol	60.9	335.31 ± 28.38 ^{###}	36.68 ± 0.31* ^{###}
Oli	119.5	317.71 ± 30.04	36.60 ± 0.40* ^{###}
FO	634.0	326.16 ± 21.39 [#]	36.57 ± 0.31 ^{###}

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

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

表 3 葶苈子性味拆分组对热证大鼠葡萄糖氧化成丙酮酸相关酶的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 3 Effect of *D. sophia* splitting components on glucose oxidation to pyruvate-related enzymes in rats with heat syndrome ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	GCK/(U·L ⁻¹)	PFK-1/(U·L ⁻¹)	PGK/(U·L ⁻¹)	PK/(mU·L ⁻¹)
对照	—	48.41 ± 7.12	759.67 ± 81.93	113.95 ± 8.17	279.62 ± 39.04
模型	—	65.03 ± 7.20**	1 024.85 ± 140.46**	142.27 ± 10.58**	341.08 ± 36.14*
DS	2 340.0	44.82 ± 4.14 ^{###}	750.24 ± 76.01 ^{###}	120.01 ± 9.00 ^{###}	229.71 ± 46.17 ^{###}
FG	22.9	57.59 ± 4.48* ^{###}	881.62 ± 26.54* ^{###}	128.23 ± 7.18* [#]	299.07 ± 10.14
FA	13.9	43.66 ± 2.94 ^{###}	795.34 ± 105.41 ^{###}	122.01 ± 12.93 ^{###}	262.31 ± 48.83 ^{###}
Pol	60.9	51.10 ± 6.09 ^{###}	905.04 ± 116.12* ^{###}	123.60 ± 7.26 ^{###}	287.99 ± 80.71 [#]
Oli	119.5	59.09 ± 3.03**	909.08 ± 46.40* ^{###}	124.16 ± 15.08 ^{###}	225.38 ± 36.02* ^{###}
FO	634.0	52.17 ± 8.03 ^{###}	872.74 ± 105.81* ^{###}	125.28 ± 23.96 [#]	286.26 ± 64.71 [#]

表 2 葶苈子性味拆分组对热证大鼠自主活动的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 2 Effect of *D. sophia* splitting components on spontaneous activity of rats with heat syndrome ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	自主活动次数 (5 min)
对照	—	103.80 ± 14.67
模型	—	149.67 ± 34.09**
DS	2 340.0	110.30 ± 27.07 ^{###}
FG	22.9	115.20 ± 16.69 ^{###}
FA	13.9	112.50 ± 26.22 ^{###}
Pol	60.9	107.67 ± 12.48 ^{###}
Oli	119.5	106.40 ± 27.86 ^{###}
FO	634.0	110.00 ± 13.27 ^{###}

GCK、PFK-1、PGK、PK 的表达均显著或极显著升高 ($P<0.05$ 、 0.01); 与模型组相比, 葶苈子各给药组 GCK、PFK-1、PGK、PK 的表达显著或极显著降低 ($P<0.05$ 、 0.01)。

3.4 葶苈子性味拆分组对热证大鼠丙酮酸氧化成 acetyl-CoA 相关酶的影响

如表 4 所示, 与对照组相比, 模型组大鼠肝脏中的 PDH、acetyl-CoA 的表达显著或极显著升高 ($P<0.05$ 、 0.01); 与模型组相比, 葶苈子各给药组 PDH、acetyl-CoA 的表达显著或极显著升高 ($P<0.05$ 、 0.01)。

3.5 葶苈子性味拆分组对热证大鼠三羧酸循环阶段相关酶表达情况的影响

如表 5 所示, 与对照组相比, 模型组大鼠肝脏的 CS、ICD、 α -KGDHC、FUM 的表达极显著升高 ($P<0.01$), 与模型组相比, 葶苈子各给药组 CS、ICD、 α -KGDHC、FUM 的表达显著或极显著降低 ($P<0.05$ 、 0.01)。

表 4 葶苈子性味拆分组分对热证大鼠 PDH、acetyl-CoA 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 4 Effect of *D. sophia* splitting components on PDH and acetyl-CoA in rats with heat syndrome ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	PDH/(IU·L ⁻¹)	acetyl-CoA/(U·mL ⁻¹)
对照	—	5.09 ± 1.13	13.83 ± 4.40
模型	—	6.60 ± 0.83*	27.61 ± 4.29**
DS	2 340.0	5.17 ± 0.95 [#]	14.14 ± 2.90 ^{###}
FG	22.9	5.36 ± 0.44 [#]	13.64 ± 1.91 ^{###}
FA	13.9	4.37 ± 1.08 ^{###}	15.21 ± 2.70 ^{###}
Pol	60.9	4.15 ± 1.63 ^{###}	15.62 ± 2.78 ^{###}
Oli	119.5	3.61 ± 0.82 ^{***}	15.58 ± 1.78 ^{###}
FO	634.0	4.62 ± 1.23 ^{###}	15.19 ± 3.16 ^{###}

表 5 葶苈子性味拆分组分对热证大鼠三羧酸循环阶段相关酶的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 5 Effect of *D. sophia* splitting components on enzymes involved in tricarboxylic acid cycle in rats with heat syndrome ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	CS/(U·L ⁻¹)	ICD/(U·L ⁻¹)	α-KGDHC/(μg·mL ⁻¹)	FUM/(U·L ⁻¹)
对照	—	15.23 ± 1.04	229.12 ± 25.60	33.22 ± 2.88	39.34 ± 6.90
模型	—	18.57 ± 2.59**	332.16 ± 14.84**	45.04 ± 2.15**	53.97 ± 6.58**
DS	2 340.0	15.27 ± 1.70 ^{##}	273.02 ± 18.11 ^{####}	35.30 ± 1.66 ^{##}	44.93 ± 5.93 [#]
FG	22.9	13.77 ± 1.55 ^{##}	301.45 ± 20.67 ^{**#}	39.81 ± 2.91 ^{####}	49.53 ± 5.57 ^{**}
FA	13.9	15.79 ± 1.21 ^{##}	345.35 ± 22.90**	33.42 ± 3.56 ^{##}	40.18 ± 6.54 ^{##}
Pol	60.9	14.95 ± 2.15 ^{##}	311.46 ± 65.78**	38.53 ± 1.15 ^{####}	49.11 ± 6.50 ^{**}
Oli	119.5	14.81 ± 1.12 ^{##}	288.49 ± 15.84 ^{####}	38.77 ± 2.66 ^{####}	44.84 ± 10.79 [#]
FO	634.0	16.28 ± 1.02 [#]	223.66 ± 23.20 ^{##}	37.82 ± 1.90 ^{####}	50.78 ± 3.28 ^{**}

表 6 葶苈子性味拆分组分对热证大鼠 GSK-3、PYGL、ATGL 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 6 Effects of *D. sophia* splitting components on GSK-3, PYGL and ATGL in rats with heat syndrome ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	GSK-3/(ng·mL ⁻¹)	PYGL/(U·L ⁻¹)	ATGL/(pmol·L ⁻¹)
对照	—	6.26 ± 0.12	272.10 ± 24.50	1 739.26 ± 169.63
模型	—	7.03 ± 0.71*	414.40 ± 47.20**	2 307.55 ± 150.36**
DS	2 340.0	6.42 ± 0.41	317.60 ± 38.34 ^{###}	1 860.88 ± 143.61 ^{##}
FG	22.9	7.45 ± 0.79**	368.43 ± 13.44 ^{###}	2 184.80 ± 123.01 ^{**}
FA	13.9	7.81 ± 1.09 ^{**#}	279.53 ± 35.05 ^{##}	1 619.92 ± 185.81 ^{##}
Pol	60.9	7.65 ± 0.28**	354.27 ± 81.19 ^{***}	1 800.64 ± 59.41 ^{##}
Oli	119.5	7.04 ± 0.41**	321.77 ± 19.25 ^{###}	1 882.47 ± 140.34 ^{##}
FO	634.0	7.71 ± 0.70**	351.49 ± 41.77 ^{####}	2 134.11 ± 65.34 ^{###}

NAD⁺的含量及 NAD⁺/NADH 比值极显著下降 ($P < 0.01$)；与模型组相比，葶苈子各给药组 CCR、COX、ATPs、ADK、Na⁺、K⁺-ATP 酶的表达显著或极显著降低 ($P < 0.05$ 、0.01)，ATP、NADH 的含量极显著性降低 ($P < 0.01$)，ADP、NAD⁺的含量及 NAD⁺/NADH 值极显著升高 ($P < 0.01$)。

3.6 葶苈子性味拆分组分对热证大鼠糖原合成分解途径及脂代谢相关酶的影响

如表 6 所示，与对照组相比，模型组大鼠肝脏 GSK-3、PYGL、ATGL 的表达显著或极显著升高 ($P < 0.05$ 、0.01)，与模型组相比，葶苈子各给药组 GSK-3、PYGL、ATGL 的表达显著或极显著降低 ($P < 0.05$ 、0.01)。

3.7 葶苈子性味拆分组分对热证大鼠能量代谢过程中相关酶的影响

如表 7、8 所示，与对照组相比，模型组大鼠肝脏中的 CCR、COX、ATPs、ADK、Na⁺、K⁺-ATP 酶的表达极显著升高 ($P < 0.01$)，心脏中 ATP、NADH 的含量极显著性升高 ($P < 0.01$)，心脏中 ADP、

4 讨论

中药的四气，又称四性，包括寒、热、温、凉 4 种不同的药性，可对人体进行相应的寒热温凉的调节作用。研究表明寒性药黄柏可以降低正常大鼠的能量代谢^[17]，热性药附子可以促进大鼠线粒体的能量代谢^[18]。杨玉娇等^[19]的研究也表明寒热中药可

表 7 葶苈子性味拆分组分对热证大鼠能量代谢过程中相关酶的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)Table 7 Effects of *D. sophia* splitting components on related enzymes during energy metabolism in rats with heat syndrome($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	CCR/(U·L ⁻¹)	COX/(U·L ⁻¹)	ATPs/(U·L ⁻¹)	ADK/(U·L ⁻¹)	Na ⁺ , K ⁺ -ATP 酶/(μmol·mL ⁻¹)
对照	—	11.23±0.75	2.75±0.23	74.28± 6.14	61.36± 5.35	13.62±1.34
模型	—	12.72±0.68**	3.44±0.64**	98.98±14.72**	74.73±11.86**	17.16±0.56**
DS	2 340.0	10.51±1.02##	2.92±0.25##	82.75± 7.75##	65.49± 5.05##	13.50±0.57##
FG	22.9	11.35±0.29#	3.19±0.27*	85.50± 9.04*##	69.60± 3.58*	15.47±0.42***
FA	13.9	11.52±1.51#	2.67±0.11##	73.88± 8.22##	61.95± 5.27##	15.47±0.42***
Pol	60.9	11.69±0.47	3.21±0.22**	91.45± 5.14**	66.52± 7.56#	15.63±0.40***
Oli	119.5	11.49±0.53	2.65±0.36##	88.71± 4.08***	68.78± 3.66*	14.73±0.71*##
FO	634.0	11.82±0.40	2.54±0.32##	84.15±13.48***	72.55± 3.21**	15.22±1.15***##

表 8 葶苈子性味拆分组分对热证大鼠能量代谢相关物质含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)Table 8 Effects of *D. sophia* splitting components on content of energy metabolism related substances in rats with heat syndrome ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	ATP/(μmol·g ⁻¹)	ADP/(nmol·L ⁻¹)	NAD ⁺ /(nmol·g ⁻¹)	NADH/(nmol·g ⁻¹)	NAD ⁺ /NADH
对照	—	749.73±143.65	1 385.28±257.49	0.080±0.018	0.015±0.002	5.26±1.16
模型	—	1 961.26±281.85**	200.20± 15.41**	0.010±0.004**	0.040±0.016**	0.22±0.09**
DS	2 340.0	669.14±202.70##	550.72±137.37***	0.073±0.012##	0.022±0.003##	3.49±0.90##
FG	22.9	816.37± 72.09##	428.57±139.08***	0.082±0.012##	0.020±0.006##	3.48±1.01##
FA	13.9	801.47±108.05##	548.44±196.06***	0.074±0.030##	0.024±0.005***	3.47±0.69##
Pol	60.9	746.40±142.95##	469.54±138.25***	0.079±0.019##	0.019±0.004##	4.48±1.07*##
Oli	119.5	835.22± 82.40##	568.17±117.70***	0.071±0.011##	0.018±0.003##	3.81±0.65***
FO	634.0	754.98± 57.20##	571.96±235.69***	0.085±0.012##	0.019±0.006##	3.62±0.62##

在基因及蛋白水平上影响小鼠的脂代谢。这都与匡海学教授提出的“药性可以通过不同途径影响机体的物质及能量代谢，寒（或凉）性中药能够抑制机体物质及能量代谢”这一假说具有一致性。那可否应用临床用药的治则“热者寒之”来验证归属中药的寒热药性呢？

李毅等^[20]认为温热类的中药如附子、干姜、肉桂可以通过线粒体调节使机体的能量代谢增多，从而使寒证症状得到改善。徐珊等^[21]也认为典型的寒性药黄柏可以改善热证大鼠的能量代谢。本实验则在“热者寒之”这一重要的临床用药的治则基础上，采用经典热证模型来进一步验证归属葶苈子及其拆分组分的药性。

首先基础体征指标可以直接反映动物的综合状态，与对照组相比，热证模型组大鼠的体质量显著降低，肛温及自主活动显著升高，这与中医的热证类似^[22]。给予葶苈子及各性味拆分组分后体质量回调，肛温及自主活动下降，即给药后对大鼠的热证

模型有改善作用。这也可间接推测药物的属性为寒性。

机体的代谢包括物质代谢即物质的分解与合成；能量代谢即能量的产生和消耗。其中机体的能量主要来源于 3 大物质在体内的氧化分解^[23-24]。而这可以分为 3 大阶段，第 1 阶段是 3 大物质代谢生成 acetyl-CoA，第 2 阶段则是生成的 acetyl-CoA 进入三羧酸循环产生 NADPH+H⁺和 FADH₂。第 3 阶段就是 NADPH+H⁺和 FADH₂ 携氢通过呼吸链传递，与氧结合生成水，生成 ATP，释放能量。ATP 作为机体的直接供能者，是通过氧化磷酸化中 NADPH 呼吸链生成的^[25]。

在第 1 阶段中有 2 个重要分支，分别为糖代谢和脂代谢，生成 acetyl-CoA。虽然机体的主要供能者来源于葡萄糖的有氧氧化，但脂肪动员也是产生的 acetyl-CoA 的重要来源之一。在葡萄糖有氧氧化中，首先机体内的葡萄糖或糖原在关键酶 GCK、PFK-1、PGK、PK 作用下分解为丙酮酸。从实验结

果看出热证动物 GSK、PFK-1、PGK、PK 的表达均显著升高, 葶苈子及拆分 FA、Pol、FO 组各关键酶的表达均显著降低。这表明热证动物机体内葡萄糖氧化为丙酮酸的水平升高。葶苈子及性味拆分组分可以抑制升高的葡萄糖的氧化水平。

丙酮酸在 PDH 的催化作用下氧化脱羧生成 acetyl-CoA, 脂肪动员下的脂肪在在限速酶 ATGL 的作用下, 同样氧化生成 acetyl-CoA。可以看到模型组关键酶 PDH、ATGL 的表达显著的增高, 进而使生成的 acetyl-CoA 含量极显著升高, 给药后除 FG 组对脂代谢关键酶无作用, 其余各组 PDH、ATGL 的表达和 acetyl-CoA 含量都显著降低。即热证动物的糖代谢和脂代谢水平升高, 给予葶苈子及其拆分组分后可回调热证升高的糖脂代谢水平。

同时机体通过糖原的合成与分解维持血糖平衡。糖原也可以分解为葡萄糖, 进而参与葡萄糖的有氧氧化。在糖原合成过程中 GSK-3 能够失活磷酸化糖原合酶, 抑制糖原合成^[26]。PYGL 是可以催化糖原分解生成葡萄糖的关键酶。从实验结果可以看出, 热证大鼠的 GSK-3、PYGL 的表达均显著升高, 给予寒性药葶苈子及各性味拆分组分后, PYGL 的表达显著降低。GSK-3、PYGL 表达的升高, 说明热证大鼠的糖原的合成减少但糖原的分解增多。给予葶苈子及其拆分组分后, 虽不能缓解被抑制的糖原生成水平, 但是可以有效减缓升高的糖原分解水平。结合升高的脂代谢水平, 也可以从另一方面解释热证大鼠体重的减少和体温升高。

第 2 阶段是第 1 阶段生成的 acetyl-CoA 进入三羧酸循环, 产生 ATP 的原料 NADPH^[27], 可以看到热证大鼠的 CS、ICD、 α -KGDHC、FUM 的表达极显著升高, NADPH 水平升高, 说明热证可能会促进三羧酸循环整体的进程, 产生了更多的 ATP 原料。给予寒性药葶苈子及其拆分组分后, CS、ICD、 α -KGDHC、FUM 的表达显著降低, NADPH 水平较模型组下降, 说明葶苈子及其拆分组分后可以抑制三羧酸循环的高水平状态, 其中以葶苈子的 Oli 组效果最佳, 对各关键酶均有显著及显著影响。

第 3 阶段是生成的 NADPH 携氢进入呼吸链, 在 ADP 的参与下生成 ATP。与呼吸链相关的酶如 CCR、COX、ATPs、ADK、 Na^+ 、 K^+ -ATP 酶在热证模型上均有显著性的高表达, 给予葶苈子及各性味拆分组分后呼吸链相关酶的表达有降低, 但各拆分组分的抑制程度有所不同。与能量代谢相关物质

ATP、NADH 的含量极显著性升高, ATP、NADH 的含量极显著性升高。给予寒性药葶苈子及各性味拆分组分后, 体内的直接供能者 ATP 极显著的降低, 生成 ATP 的原料 NADH 表达降低。说明热证情况下机体呼吸链处于活跃状态, 给予葶苈子及各性味拆分组分后可回调活跃是呼吸链运行水平, 其中 FA 组各关键酶的均有显著影响, 效果更好。

综上所述, 热证机体的物质能量代谢都处于促进的状态, 糖原的分解和脂肪的分解活动都有显著增加, 从而使热证的大鼠的体温升高, 体质量降低。给予葶苈子及其性味拆分组分后, 虽然各拆分组分对代谢不同阶段影响具有差异, 如葶苈子黄酮苷元、多糖、脂肪油拆分组分在葡萄糖有氧化阶段作用良好, 低聚糖拆分组分侧重于三羧酸循环, 黄酮苷元拆分组分可能对脂代谢无作用, 黄酮苷元拆分在呼吸链阶段较其余拆分组分作用更良好。但葶苈子及各拆分组分均可以抑制热证模型下高水平的物质能量代谢, 使体温下降, 体质量回升, 最终维持机体的正常功能。这与临床上的用药原则“热者寒之”是相一致的。即葶苈子及其拆分组分的药性为寒凉。同时这也提示寒性药可能是通过对热证机体的过高物质能量代谢发挥调节作用来达到“纠正人体寒热之证”的目的。

参考文献

- [1] 王文欣, 杜武勋. 中药四气五味理论及相关性研究探析 [J]. 中国民族民间医药, 2017, 26(24): 61-63.
- [2] 李 盼, 陈雨微, 丁丽琴, 等. 辛味中药在治疗消渴证中的应用价值及中药五味理论现代研究的思考 [J]. 中草药, 2019, 50(22): 5577-5583.
- [3] 方金苗, 杜武勋. 中药四气、五味药性物质基础研究 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2015, 17(12): 66-68.
- [4] Li L P, Zhang B G, Zhang Z, et al. Towards a scientific rationale for traditional properties of Chinese medicinal plants: “Natures” and “flavors” [J]. Chin Herb Med, 2019, 11(3): 258-266.
- [5] 贺 鹏, 李海英, 樊启猛, 等. 超分子“印迹模板”理论解析中药五味 [J]. 中草药, 2019, 50(12): 2763-2770.
- [6] 王光耀, 盛 良, 王兴华. 四气五味研究思路与方法 [J]. 中国现代药物应用, 2013, 7(19): 235-237.
- [7] 杨文国, 朱学敏, 吴凤辉, 等. 基于逐步判别法分析辛味中药挥发油“四气”药性、透皮促渗能力和化学成分的相关因素 [J]. 中草药, 2019, 50(17): 4219-4224.
- [8] 杨兴鑫, 徐 风, 俞 捷, 等. 中药对线粒体功能的影响及其药理作用研究进展 [J]. 生命科学仪器, 2017, 15(4): 15-21.

- [9] 吕春艳, 吕邵娃, 李国玉, 等. 中药性味拆分与组合药理效应的研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2018, 43(14): 2892-2898.
- [10] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [11] 张明辉, 张艳丽, 赵薇, 等. 南葶苈子化学拆分工艺研究 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2015, 17(3): 476-484.
- [12] 冯卫生, 李春阁, 陈文静, 等. 南葶苈子各化学拆分组分化学成分的研究 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2015, 17(3): 455-463.
- [13] 克迎迎, 袁培培, 王小兰, 等. 葶苈子化学拆分组分对正常大鼠物质与能量代谢的影响 [A] // 第一届《药学报》药学前沿论坛暨 2015 年中国药学会中药与天然药物专业委员会会议论文摘要集 [C]. 天津: 中国药学会中药与天然药物专业委员会, 2015.
- [14] 肖航, 谭成, 窦德强. 3 种寒性中药对优甲乐所致甲亢模型动物的影响 [J]. 中华中医药学刊, 2016, 34(9): 2122-2125.
- [15] 张宁, 李自辉, 赵洪伟, 等. 基于尿液代谢组学研究玄参对阴虚火旺甲亢大鼠的滋阴降火作用机制 [J]. 药学报, 2018, 53(11): 1843-1851.
- [16] 李先行, 杜昊炎. 龙骨汤加琥珀粉对东莨菪碱诱导小鼠多动症的影响 [J]. 吉林中医药, 2019, 39(12): 1624-1627.
- [17] 徐珊, 张凡, 刘蓬蓬, 等. 基于大鼠物质、能量代谢研究炮制对黄柏药性的影响 [J]. 中药材, 2015, 38(9): 1835-1841.
- [18] 郑全福. 基于线粒体能量代谢的附子“热性”客观真实性研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2015.
- [19] 杨玉娇, 王朋倩, 张淼, 等. 寒性与热性中药对小鼠棕色脂肪组织中产热调节蛋白 UCP1 基因和蛋白表达的影响 [J]. 中华中医药杂志, 2019, 34(4): 1679-1681.
- [20] 李毅, 杨贞, 许健, 等. 温热中药对寒症模型大鼠肝线粒体蛋白质组的影响 [J]. 中草药, 2014, 45(3): 373-379.
- [21] 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.
- [22] 梁月华. 寒、热证本质研究回顾及展望 [J]. 中国中西医结合杂志, 2019, 39(4): 397-404.
- [23] Song Y Z, Li X, Liu Y Y, *et al.* Arctigenin improves lipid metabolism by regulating AMP-activated protein kinase and downstream signaling pathways [J]. *J Cell Biochem*, 2019, doi: 10.1002/jcb.28602.
- [24] Han X, Yang Y, Metwally M, *et al.* The Chinese herbal formulae (Yitangkang) exerts an antidiabetic effect through the regulation of substance metabolism and energy metabolism in type 2 diabetic rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2019, doi: 10.1016/j.jep.2019.111942.
- [25] 纪坤乾. 线粒体病基因型——临床表型异质性和能量代偿调控机制研究 [D]. 济南: 山东大学, 2016.
- [26] 谢巍. 天然活性产物乌药醚内酯和姜花素 A 对肝脏糖代谢的调控作用及机制研究 [D]. 上海: 中国科学院大学 (中国科学院上海药物研究所), 2018.
- [27] Ke T, Yu Y D, Zhu L Y, *et al.* Hypoxia-reprogrammed tricarboxylic acid cycle promotes the growth of human breast tumorigenic cells [J]. *Oncogene*, 2019, 38(44): 6970-6984.