

基于甜味受体整合中药“效味”和“滋味”探索玉竹甘味药性物质基础

李 婷, 邓碧莲, 欧阳征海, 柳 婷, 吴 璐, 杨华生*

江西中医药大学药学院, 江西 南昌 330004

摘要:目的 基于甜味受体整合中药“效味”和“滋味”探索玉竹 *Polygonatum odoratum* 甘味药性物质基础, 为中药药性物质研究提供新视角。方法 以多糖、皂苷、黄酮成分为玉竹甘味药性物质筛选对象, 分析其对“阴虚”小鼠体质量、体温、食量、饮水量、大便含水量、皮肤含水量及 Na^+ , K^+ -ATP 酶、 Ca^{2+} , Mg^{2+} -ATP 酶活性和水通道蛋白 1 (aquaporin 1, *AQP1*)、*AQP3* mRNA 表达量的影响, 基于“效味”探索玉竹甘味药性物质; 以典型甘、苦、辛、酸、咸味中药建立中药“五味”标准, 利用电子舌技术及主成分分析法 (principal component analysis, PCA), 分别比较玉竹多糖、皂苷、黄酮与中药“五味”的欧式距离及投射的区域, 基于“滋味”探索玉竹甘味药性物质。将基于“效味”和“滋味”相同的甘味药性物质确定为玉竹甘味药性物质基础, 并采用整体动物考察其对胰高血糖素样肽-1 (glucagon-like peptide-1, GLP-1) 分泌的影响, 分子对接考察甘味药性物质与甜味受体的结合性, 以此揭示效味、滋味与甜味受体的关联性。结果 与“阴虚”模型组比较, 玉竹多糖、皂苷组小鼠的体质量、食量、饮水量、大便含水量、皮肤含水量及 Na^+ , K^+ -ATP 酶、 Ca^{2+} , Mg^{2+} -ATP 酶活性和 *AQP1*、*AQP3* mRNA 表达量均表现出明显的回调 ($P < 0.05$), 而玉竹黄酮组小鼠的回调作用不明显; 电子舌结果显示, 玉竹多糖、皂苷与甘味中药的欧式距离最小, 而玉竹黄酮与苦味中药的欧式距离最小; 同时, 玉竹皂苷投射到甘味中药区域, 多糖则投射到辛味和甘味中药 2 个区域, 而黄酮投射到苦味中药区域。动物实验进一步显示, 与模型组比较, 玉竹皂苷、多糖可明显促进 GLP-1 的分泌 ($P < 0.05$); 分子对接结果显示, 玉竹皂苷分子与鼠源、人源的甜味受体的结合能均小于 -7.0 kJ/mol 。结论 皂苷为玉竹“甘味”的药性物质基础, 基于甜味受体整合中药“效味”和“滋味”可用于中药甘味药性物质研究。

关键词: 甜味受体; 玉竹; 滋味; 效味; 甘味

中图分类号: R285 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2023)03-0849-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.03.019

Exploration on material basis of sweet medicinal properties of *Polygonatum odoratum* by integrating “effective taste” and “taste” of traditional Chinese medicine based on sweet receptors

LI Ting, DENG Bi-lian, OUYANG Zheng-hai, LIU Ting, WU Lu, YANG Hua-sheng

Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China

Abstract: Objective To explore the material basis of “sweet” medicinal properties of Yuzhu (*Polygonatum odoratum*) based on the sweet receptors to integrate “effective taste” and “taste” of traditional Chinese medicine (TCM), in order to provide a new perspective for the research of material basis of medicinal properties in TCM. **Methods** The polysaccharides, saponins, and flavonoids were selected as the screening objects for material basis of “sweet” medicinal properties of *P. odoratum*, to analyze the effects of them on body weight, body temperature, food intake, water intake, stool water content and skin water content, activities of Na^+ , K^+ -ATPase and Ca^{2+} , Mg^{2+} -ATPase, mRNA expression levels of aquaporin aquaporin 1 (*AQP1*) and *AQP3* of mice with “yin deficiency”, to determine the material basis of “sweet” medicinal properties of *P. odoratum* from the perspective of “effective taste”. The standard of “five tastes” of TCM was established based on typical sweet, bitter, pungent, sour and salty TCM. The Euclidean distance and projection area of polysaccharides, saponins and flavones and “five tastes” of TCM were compared by electronic tongue technique and principal component analysis (PCA). The medicinal substance of *P. odoratum* based on “taste” was determine. Finally, the same substances of “sweet” medicinal properties based on “effective taste” and “taste” was selected as the material basis of “sweet” medicinal properties

收稿日期: 2022-10-23

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81960724)

作者简介: 李 婷 (1996—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药制剂及中药传统理论研究。E-mail: ltjyft@163.com

*通信作者: 杨华生 (1974—), 男, 博士生导师, 教授, 研究方向为传统中医药理论及制剂研究。E-mail: yanghuasheng456@126.com

of *P. odoratum*, and to investigate its effect on glucagon-like peptide-1 (GLP-1) secretion. Molecular docking was conducted to investigate the binding properties of “sweet” medicinal properties substances and sweet taste receptors, so as to reveal the relationship between “effective taste”, “taste” and sweet taste receptors. **Results** Compared with the “yin deficiency” model group, the body weight, food intake, water intake, stool moisture content and skin moisture content, activities of Na^+ , K^+ -ATPase and Ca^{2+} , Mg^{2+} -ATPase, mRNA expression levels of *AQP1* and *AQP3* of the mice in the polysaccharide and saponin groups were showed significant callback effect ($P < 0.05$), while the callback effect of flavonoid group was not obvious. The results of the electronic tongue showed that the Euclidean distance between polysaccharides, saponins and sweet TCMs were the smallest, while that of flavonoids and bitter TCMs was the smallest; At the same time, saponins projected to the area of sweet TCMs, polysaccharides projected to the two areas of pungent and sweet TCMs, and flavonoids projected to the areas of the bitter TCM area. Animal experiments further showed that compared with the model group, saponins and polysaccharides could significantly promote the secretion of GLP-1 ($P < 0.05$). Molecular docking results showed that the binding scores of saponins to mice and human sweet receptors were less than -7.0 kJ/mol. **Conclusion** The saponins are the material basis of “sweet” medicinal basis of *P. odoratum*. Based on the sweet receptor integration of the “effective taste” and “taste” of TCM can be used for the research on the material basis of medicinal properties of “sweet” TCM. **Key words:** sweet receptor; *Polygonatum odoratum* (Mill.) Druce; taste; effective taste; sweet taste

甘味又称“甜味”，是中药五味之一。中药的甘味可能是基于“效味”，也可能是基于“滋味”。因此，确定甘味药性物质基础，可基于“效味”，也可基于“滋味”。基于“效味”确定甘味药性物质，即中药含有的成分/部位具有“甘补、甘缓、甘和”3种效应中的1种，即可确定该成分为“甘味”药性物质；基于“滋味”确定甘味药性物质，即中药含有的成分/部位的“滋味”是“甜”的，即可确定该成分为“甘味”药性物质。可以预见，基于“效味”和“滋味”确定的甘味药性物质可能不同；换句话说，基于“效味”确定的甘味药性物质其滋味不一定“甜”，而基于“滋味”确定的甘味药性物质其效应不一定“补”。事实上，甘味只是大脑对客观物质的一种感觉。研究表明，甜味受体介导甜味感觉的形成，因此中药的甘味可能与甜味受体有关。甜味受体主要存在于味蕾细胞^[1]，葡萄糖、蔗糖等与之结合后，激活甜味信号通路，向中枢传递甜味感觉，是为“滋味”。研究还发现，甜味受体在消化系统中也有表达，虽不传递甜味感觉，但能促进胰高血糖素样肽-1 (glucagon-like peptide-1, GLP-1) 等胃肠激素的释放，发挥药理效应^[2]，是为“效味”。可见，甜味受体不仅与“滋味”有关，还与“效味”也有联系。因此，可基于甜味受体整合“效味”和“滋味”，即同时关注“效味”和“滋味”，探索中药的甘味药性物质基础。

玉竹是为百合科植物玉竹 *Polygonatum odoratum* (Mill.) Druce 的干燥根茎，主要含有多糖、皂苷、黄酮等成分。玉竹属于典型的补阴药，主要用于治疗“阴虚”证。研究表明，阴虚可出现体质

量下降、体温升高、少食、多饮、大便干结、皮肤干燥等症状^[3]；同时，针对阴虚“阳亢内热”“阴液亏损”的病机，现代也从 Na^+ , K^+ -ATP 酶等能量代谢酶、调节水液代谢的水通道蛋白 (aquaporins, AQPs) 等方面来研究阴虚^[4]。因此，本研究以玉竹为研究对象，首先采用阴虚动物模型，研究玉竹多糖、皂苷、黄酮对阴虚小鼠体质量、体温、摄食量、摄水量、粪便含水率、皮肤含水率及 Na^+ , K^+ -ATP 酶、 Ca^{2+} , Mg^{2+} -ATP 酶活性和 *AQP1*、*AQP3* mRNA 表达量的影响，从“效味”的角度探索玉竹的甘味药性物质；再利用电子舌识别玉竹多糖、皂苷、黄酮的“滋味”，从“滋味”的角度探索玉竹的甘味药性物质；最后，选择基于“效味”和“滋味”相同的甘味药性物质，确定为玉竹甘味药性物质。在此基础上，采用整体动物考察确定的甘味药性物质对 GLP-1 分泌的影响，分子对接考察确定的甘味药性物质与甜味受体的结合性，以此揭示效味、滋味与甜味受体的关联性。

1 仪器与材料

1.1 仪器

SmarTongue 型电子舌 (上海瑞玢国际贸易有限公司); A100 PCR 基因扩增仪 (杭州朗基科学仪器有限公司); Agilent 1260 型高效液相色谱仪 (美国 Agilent 公司); ELSD 6000 检测器 (美国 Alltech 公司); 全波长扫描式多功能读数仪 (美国 Thermo 公司); 核酸蛋白测定仪、伯乐 PCR 仪 (美国赛默飞公司); 752 紫外可见分光光度计 (上海欣茂仪器有限公司); 红外额式体温计 (昆山热映光电有限公司)。

1.2 试剂与药材

小鼠 GLP-1 试剂盒 (批号 H2106Y28) 购自上海恒远生物科技有限公司; Na^+ , K^+ -ATP 酶 (批号 20221208)、 Ca^{2+} , Mg^{2+} -ATP 酶试剂盒 (批号 20221208) 购自南京建成生物公司; 总 RNA 提取试剂盒 (批号 20220424) 购自北京索莱宝科技有限公司; M5 First Strand cDNA Synthesis Kit (批号 22CB2308)、2X M5 UltraSYBR Mixture (批号 21HA0201) 购自北京聚合美生物科技有限公司; 无水葡萄糖 (批号 130407)、芦丁 (批号 wkq21020402)、重楼皂苷 (批号 wkq21031603) 对照品均购自四川省维克奇生物科技有限公司, 质量分数均为 98%; 葡萄糖 (批号 120926)、酒石酸 (批号 151008) 购自西陇化工股份有限公司; 氯化钾 (批号 20140108) 购自天津市福晨化学试剂厂; 谷氨酸钠 (批号 20210711) 购自江西省祥橱实业有限公司; 蔗糖 (批号 D1527058) 购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 盐酸小檗碱片 (批号 2200127) 购自东北制药集团沈阳第一制药有限公司; 玉竹药材 (批号 200901) 购自安徽道源堂中药饮片有限公司, 附子 (批号 20180405)、肉桂 (批号 20180521)、干姜 (批号 20180301) 药材购自江西吁江生态科技有限公司, 甘草、党参、黄芪、黄连、黄芩、大黄、白芷、川芎、山楂、乌梅、山茱萸、芒硝、玄明粉等药材均购自南昌市北京同仁堂药店, 经江西中医药大学付小梅教授鉴定, 分别为百合科植物玉竹 *P. odoratum* (Mill.) Druce 的干燥根茎、毛茛科植物乌头 *Aconitum carmichaelii* Debx. 的干燥子根、樟科植物肉桂 *Cinnamomum cassia* Presl 的干燥树皮及姜科植物姜 *Zingiber officinale* Rosc. 的干燥根茎、豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根茎、桔梗科植物党参 *Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannf. 的干燥根茎、豆科植物黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge 的干燥根茎、毛茛科植物黄连 *Coptis chinensis* Franch. 的干燥根茎、唇形科植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 的干燥根茎、蓼科植物大黄 *Rheum palmatum* L. 的干燥根茎、伞形科植物白芷 *Angelica dahurica* (Fisch. ex Hoffm.) Benth. et Hook. f. 的干燥根茎、伞形科植物川芎 *Ligusticum chuanxiong* Hort. 的干燥根茎、蔷薇科植物山楂 *Crataegus pinnatifida* Bunge 的干燥成熟果实、蔷薇科植物梅 *Prunus mume* (Sieb.) Sieb. et Zucc. 的干燥成熟果实、山茱萸科植物山茱萸 *Cornus officinalis* Sieb. et Zucc. 的干燥成熟果

实、硫酸盐类矿物芒硝 *Natrii Sulfas* 经加工精制而成的结晶体、硫酸盐类矿物芒硝 *Natrii Sulfas* 风化干燥的产物。

1.3 动物

雄性昆明种小鼠, 30 只, 清洁级, 6~7 周龄, 体质量 (24 ± 2) g, 由江西中医药大学实验动物中心提供, 许可证号 SCXK (赣) 2018-0003。动物饲养于温度为 22~25 °C, 相对湿度为 40%~60%, 12 h 明暗交替的环境中。所有实验操作均符合实验动物使用指导原则, 实验方案取得江西中医药大学伦理委员会审核批准 (批准号 JZSYDWLL-20201215)。

2 方法

2.1 玉竹有效部位的制备及表征^[5]

取玉竹药材适量, 粉碎, 用水提取 3 次, 每次 2 h, 合并提取液, 浓缩蒸干, 得到总提取物; 总提取物水溶、醇沉, 得醇沉物及上清液; 将醇沉物透析, 即得玉竹多糖 (9.8%)。将上清液浓缩蒸干, 即得醇溶物; 将醇溶物水溶, 用醋酸乙酯萃取, 收集醋酸乙酯层蒸干, 用水溶解, 上 AB-8 大孔树脂柱; 过夜吸附后, 依次用水、10%乙醇除杂, 再用 40%乙醇、60%乙醇洗脱; 40%乙醇洗脱液蒸干后水溶, 用乙醚按 1:1 比例萃取, 收集乙醚层, 蒸干, 即得玉竹黄酮 (0.06%)。收集 60%乙醇洗脱液, 蒸干, 得玉竹皂苷 (0.1%)。利用紫外分光光度计及高效液相色谱对玉竹多糖、皂苷、黄酮质量分数及游离糖成分进行检测^[6-8]。

2.2 基于“效味”探索玉竹甘味药性物质

2.2.1 阴虚模型建立、分组及给药 小鼠适应性饲养 7 d 后, 随机分为 5 组, 即正常组、模型组、多糖组、皂苷组、黄酮组, 每组 6 只。除正常组外, 其余各组小鼠 ig 给予等比例的附子、肉桂、干姜热性中药提取物 (取附子适量, 用水提取 1 h, 再加入肉桂、干姜提取 1 h, 滤过, 药渣再提取 1 h, 合并 2 次提取液, 浓缩至生药质量浓度 1 g/mL, 即得热性中药提取液, 4 °C 储存), 持续给药 28 d, 制备阴虚小鼠模型^[9]。第 29 天开始, 各给药组小鼠分别 ig 给予玉竹多糖 (1784 mg/kg)、皂苷 (18.2 mg/kg)、黄酮 (10.9 mg/kg), 其剂量均相当于人临床等效剂量的 10 倍; 正常组、模型组给予等体积蒸馏水, 持续 28 d。

2.2.2 “阴虚”指标的测定及玉竹“甘味”药性物质的初步确定 给药期间, 每 7 天测量 1 次体质量、

心前区温度,用代谢笼测定 24 h 摄食量、24 h 摄水量,收集 24 h 粪便,精密称定湿质量,放烘箱 105 °C 烘干 24 h,称干质量,计算粪便含水率[粪便含水率=(湿质量-干质量)/湿质量]。末次给药后,动物麻醉,取背部皮肤及肺、胃、肝、肾等组织,保存于-80 °C 备用;取皮肤适量,精密称定,再放入烘箱中于 80 °C 烘干 12 h,称干质量,计算皮肤含水率[皮肤含水率=(湿质量-干质量)/湿质量]。按照试剂盒说明书测定肝、肾、胃组织中 Na^+ , K^+ -ATP 酶、 Ca^{2+} , Mg^{2+} -ATP 酶活力;采用 qRT-PCR 法测定肺、胃、肾组织 *AQP1*、*AQP3* mRNA 表达量,引物序列: β -actin 上游 5'-CTGTGCCCATCTACGAGGGCTAT-3',下游 5'-TTTGATGTCACGCACGATTCC-3';*AQP1* 上游 5'-ACATCATCGCCAGTGTG-3',下游 5'-CTGCAGAGTGCCAATGATCTC-3';*AQP3* 上游 5'-GCCAAGGTAGGATAGCAAATAA-3',下游 5'-TTGAAACTTGGTCCCTTGC-3'。扩增程序为 95 °C 预变性 45 s,95 °C 变性 15 s,60 °C 退火 15 s,72 °C 延伸 45 s,45 个循环。分析玉竹多糖、皂苷、黄酮对上述指标的回调作用,即补阴作用,具有补阴作用的物质即可初步认定为玉竹“甘味”药性物质。

2.3 基于“滋味”探索玉竹甘味药性物质

2.3.1 电子舌识别“滋味”的可靠性考察 参考电子舌说明书,以葡萄糖、盐酸小檗碱、酒石酸、氯化钾、谷氨酸钠 5 种化合物为甘、苦、酸、咸、辛“五味”标准品,以蔗糖为受试品。将“五味”标准品及蔗糖受试品配制质量浓度为 1.0 mg/mL 的溶液,利用电子舌的 6 个电极在 1、10、100 Hz 的频率段下采集信号数据。将“五味”标准品及蔗糖受试品的数据进行传感器优化,选择区分指数(discrimination index, DI)值最大的电极及频率段组合,进行主成分分析(principal component analysis, PCA),基于 PCA 计算“五味”标准品与蔗糖之间的欧式距离^[10],如葡萄糖与蔗糖之间的距离最近,则认为基于 PCA 的欧式距离可准确识别“滋味”。去除蔗糖受试品,将“五味”标准品数据进行传感器优化,选择最大 DI 值的电极及频率段组合,在 PCA 的基础上,利用判别因子分析(discriminant factor analysis, DFA)建立“五味”分区模型;再将蔗糖数据投射入模型中,如蔗糖投射于葡萄糖区域,则认为基于 PCA 的 DFA 可准确识别“滋味”。

2.3.2 “滋味”的测定及玉竹“甘味”药性物质的初步确定 以甘草、党参、黄芪为“甘味”基准,黄连、黄芩、大黄为“苦味”基准,干姜、白芷、川芎为“辛味”基准,山楂、乌梅、山茱萸为“酸味”基准,芒硝、玄明粉、食盐为“咸味”基准,建立甘、苦、辛、酸、咸的中药“五味”标准,以玉竹多糖、皂苷、黄酮为检测样品,利用电子舌采集信号数据。按“2.3.1”项下方法进行分析,计算甘、苦、辛、酸、咸味中药与玉竹多糖、皂苷、黄酮样品之间的欧式距离,分析玉竹多糖、皂苷、黄酮在中药五味分区模型上所投射的区域。最后综合分析欧式距离以及样品投射的区域,初步确定玉竹“甘味”药性物质。

2.4 玉竹“甘味”药性物质与甜味受体的关联性

2.4.1 “甘味”药性物质对 GLP-1 分泌的影响 “甘味”药性物质结合并激动甜味受体,启动甜味信号通路,促进 GLP-1 的分泌。可见,GLP-1 在一定程度上可表征甜味物质与甜味受体之间的结合。因此,采用整体动物实验考察“甘味”药性物质与甜味受体的结合性。阴虚模型建立、分组及给药同“2.2.1”项,末次给药后 1 h,将小鼠麻醉,摘眼球取血,血液静置 2 h 后,4 °C,3500 r/min 离心 10 min,分离血清,用 ELISA 法检测血清 GLP-1 含量。

2.4.2 “甘味”药性物质与甜味受体结合性研究 分子对接是研究分子与蛋白之间结合性的常用方法。小鼠、人甜味受体的三级结构不明确,因此本研究首先以青鲑鱼甜味受体的三级结构 5X2M_B 为模板^[11],以小鼠、人甜味受体的一级序列为基础,利用 SWISS-MODELL 构建小鼠(mT1R2/mT1R3)及人(hT1R2/hT1R3)甜味受体三级结构,并利用在线同源模型评估软件 ERRAT、VERIFY3D 和 PROCHECK 对其进行评估;如评估结果显示所构建的甜味受体结构合理,则可用于分子对接分析。然后在 TCMSP 上下载玉竹皂苷分子(MOL010393),分子及甜味蛋白用 AutoDockTools-1.5.6 进行处理,用 AutoDock Vina 进行分子对接,再利用 PyMOL 生成分子与蛋白结合的文件,利用 Discovery Studio 4.5 Client 绘制对接结合图。

2.5 统计学分析

实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 19.0 统计软件进行数据处理,组间比较用单因素方差分析,组间两两比较采用最小显著差数(least significant difference, LSD)检验,方差不齐时用 Tamhane 检

验, 以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

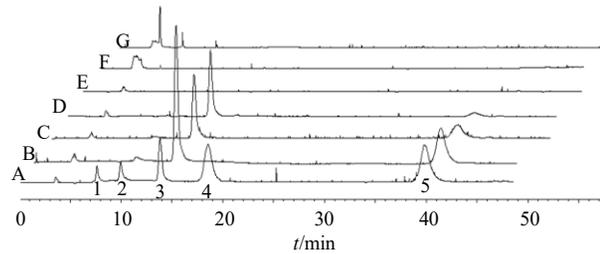
3 结果

3.1 玉竹有效部位表征分析

玉竹经提取、纯化后, 得玉竹多糖、皂苷、黄酮, 其质量分数分别为 85.1%、63.5%、51.0%; 同时, 经 ELSD-HPLC 分析 (图 1), 玉竹总提取物、醇沉物、醇溶物等粗提取物中含有木糖、果糖、蔗糖等糖成分, 而分离纯化后的多糖、皂苷、黄酮中均不含玉竹中常见的鼠李糖、木糖、果糖、葡萄糖、蔗糖, 这也消除了多糖、皂苷、黄酮含有的小分子糖类成分对实验结果的干扰。

3.2 基于“效味”的玉竹甘味药性物质的初步确定

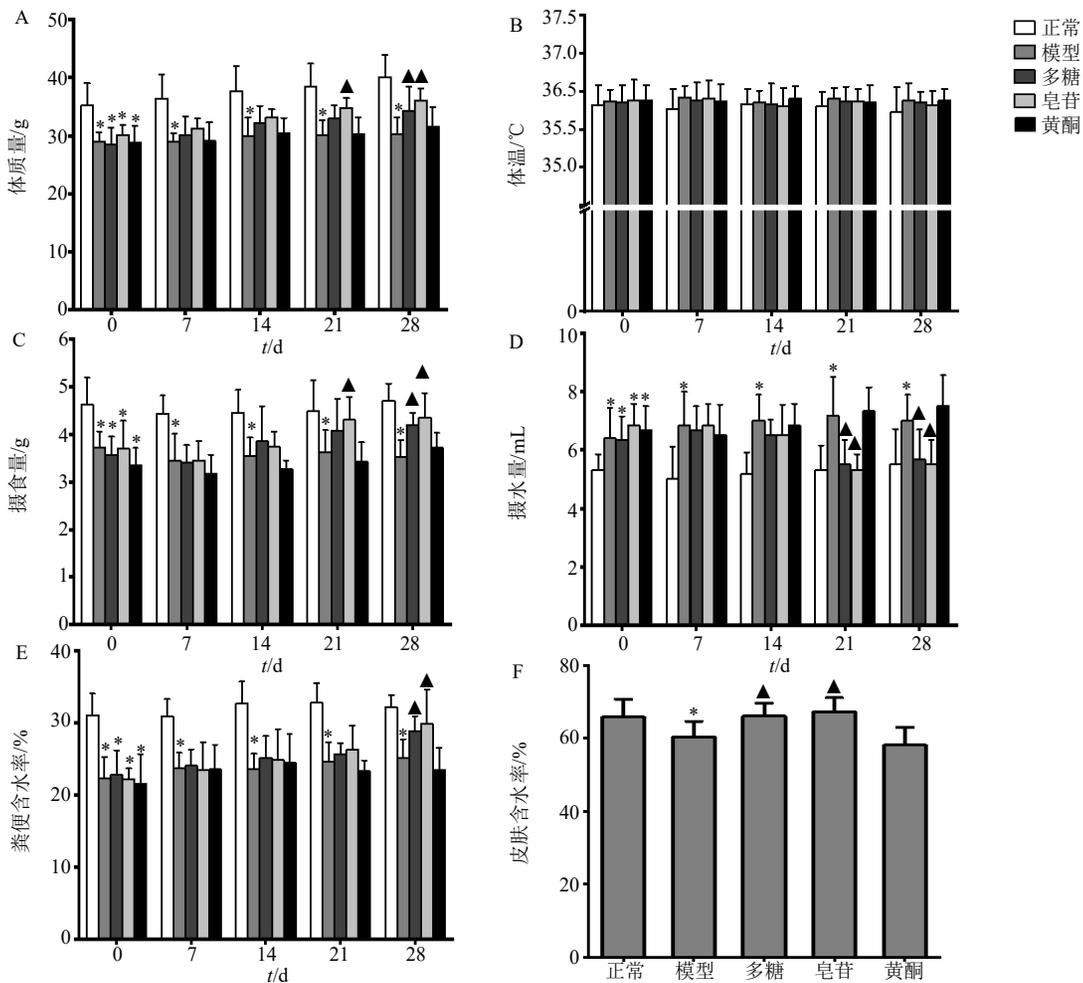
3.2.1 玉竹对阴虚模型小鼠体质量、体温、摄食量、摄水量、粪便含水率、皮肤含水率的影响 玉竹对阴虚模型小鼠体质量的影响见图 2-A。结果显示,



A-混合对照品 (1-鼠李糖 2-木糖 3-果糖 4-葡萄糖 5-蔗糖) B-玉竹总提取物 C-玉竹醇溶物 D-玉竹醇沉物 E-玉竹多糖 F-玉竹皂苷 G-玉竹黄酮
A-mixed reference substance (1-rhamnose 2-xylose 3-fructose 4-glucose 5-sucrose) B-total extract of *P. odoratum* C-alcohol soluble substance of *P. odoratum* D-alcohol precipitate substance of *P. odoratum* E-polysaccharide of *P. odoratum* F-saponin of *P. odoratum* G-flavonoid of *P. odoratum*

图 1 玉竹提取物中小分子糖类成分分析

Fig. 1 Analysis of small molecular sugars in extracts of *P. odoratum*



与正常组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: ▲ $P < 0.05$, 下图同
* $P < 0.05$ vs normal group; ▲ $P < 0.05$ vs model group, same as below figures

图 2 玉竹对阴虚小鼠体质量 (A)、体温 (B)、摄食量 (C)、摄水量 (D)、粪便含水率 (E)、皮肤含水率 (F) 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)
Fig. 2 Effects of *P. odoratum* on body weight (A), body temperature (B), food intake (C), water intake (D), fecal moisture content (E), and skin moisture content (F) of mice with *yin* deficiency ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

与正常组相比,模型组小鼠体质量明显下降($P<0.05$);给药21 d后,与模型组相比,皂苷组小鼠体质量显著增加($P<0.05$);给药28 d后,与模型组相比,多糖组和皂苷组小鼠体质量显著增加($P<0.05$);在整个治疗期间,与模型组比较,黄酮组小鼠体质量未见明显差异。玉竹对小鼠体温的影响见图2-B。结果显示,在造模及治疗期间,小鼠体温未见明显差异。玉竹对阴虚小鼠摄食量的影响见图2-C。与正常组相比,模型组小鼠摄食量明显降低($P<0.05$);给药21 d后,与模型组相比,皂苷组小鼠摄食量明显增加($P<0.05$);给药28 d后,与模型组相比,多糖组和皂苷组小鼠摄食量明显增加($P<0.05$)。玉竹对阴虚小鼠饮水量的影响见图2-D。结果显示,与正常组相比,模型组小鼠饮水量明显升高($P<0.05$);给药21、28 d后,与模型组相比,多糖组和皂苷组小鼠饮水量显著下降($P<0.05$)。玉竹对

阴虚小鼠粪便含水率的影响见图2-E。结果显示,与正常组相比,模型组小鼠粪便含水率明显降低($P<0.05$);给药28 d后,多糖、皂苷组小鼠粪便含水率显著升高($P<0.05$)。玉竹对阴虚小鼠皮肤含水率的影响见图2-F。与正常组相比,模型组小鼠皮肤含水率显著下降($P<0.05$);与模型组相比,多糖组及皂苷组小鼠皮肤含水率显著增高($P<0.05$)。

3.2.2 玉竹对 Na^+ , K^+ -ATP 酶、 Ca^{2+} , Mg^{2+} -ATP 酶活性的影响 玉竹对 Na^+ , K^+ -ATP 酶、 Ca^{2+} , Mg^{2+} -ATP 酶活性的影响见图3。结果显示,与正常组相比,模型组小鼠胃、肝、肾组织 Na^+ , K^+ -ATP 酶、 Ca^{2+} , Mg^{2+} -ATP 酶活性显著升高($P<0.05$);与模型组相比,多糖组和皂苷组小鼠胃、肝、肾组织中的 Na^+ , K^+ -ATP 酶、 Ca^{2+} , Mg^{2+} -ATP 酶活性显著下降($P<0.05$)。黄酮组小鼠胃、肝、肾组织 Na^+ , K^+ -ATP 酶、 Ca^{2+} , Mg^{2+} -ATP 酶活性未见明显变化。

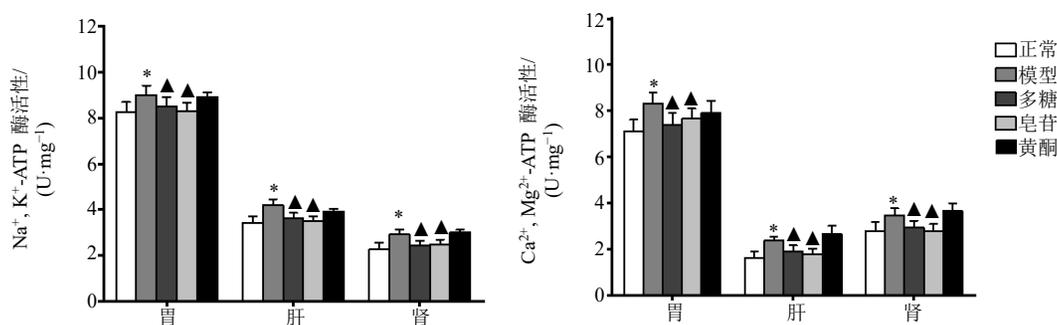


图3 玉竹对阴虚小鼠 Na^+ , K^+ -ATP 酶、 Ca^{2+} , Mg^{2+} -ATP 酶活性的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 3 Effects of *P. odoratum* on Na^+ , K^+ -ATPase and Ca^{2+} , Mg^{2+} -ATPase activity of mice with *yin* deficiency ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

3.2.3 玉竹对 $AQP1$ 、 $AQP3$ mRNA 表达的影响 玉竹对 $AQP1$ 、 $AQP3$ mRNA 表达的影响见图4。与正常组比较,模型组小鼠肺、胃、肾 $AQP1$ 、 $AQP3$ mRNA 表达显著降低($P<0.05$);与模型组比较,多糖组和皂苷组小鼠肺、胃、肾 $AQP1$ 、 $AQP3$ mRNA 表达显著升高($P<0.05$),黄酮组小鼠肺、胃、肾 $AQP1$ 、 $AQP3$ mRNA 表达未见明显变化。

3.2.4 基于“效味”的玉竹甘味药性物质的初步确定 综合分析玉竹多糖、皂苷、黄酮对阴虚小鼠体质量、摄食量、饮水量、粪便含水率、皮肤含水率, Na^+ , K^+ -ATP 酶、 Ca^{2+} , Mg^{2+} -ATP 酶活性及 $AQP1$ 、 $AQP3$ mRNA 表达的影响,其中,玉竹多糖、皂苷对以上指标有显著的回调作用,表明玉竹多糖、皂苷对阴虚小鼠有治疗作用。因此,基于“效味”,可初步确定玉竹的甘味药性物质为多糖、皂苷类成分。

3.3 基于“滋味”的玉竹甘味药性物质的初步确定

3.3.1 电子舌识别“滋味”的可靠性分析 葡萄糖、盐酸小檗碱、酒石酸、氯化钾、谷氨酸钠五味标准品及蔗糖受试品的 PCA 结果见图5-A,五味标准品与蔗糖的欧式距离见图5-B。可以看出,葡萄糖与蔗糖距离最近,说明葡萄糖与蔗糖“滋味”相近或相同,即均为甘味。去除蔗糖受试品,葡萄糖、盐酸小檗碱、酒石酸、氯化钾、谷氨酸钠五味标准品的 PCA 结果见图5-C,蔗糖在“五味”分区模型上的投射见图5-D。结果显示,蔗糖归属葡萄糖区域。以上结果表明,电子舌可准确识别物质“滋味”。

3.3.2 基于“滋味”的玉竹甘味药性物质的初步确定 中药“五味”标准品与玉竹多糖、皂苷、黄酮样品的 PCA 结果见图6-A,欧式距离见图6-B。可以看出,玉竹皂苷与甘味中药距离最近;多糖与甘

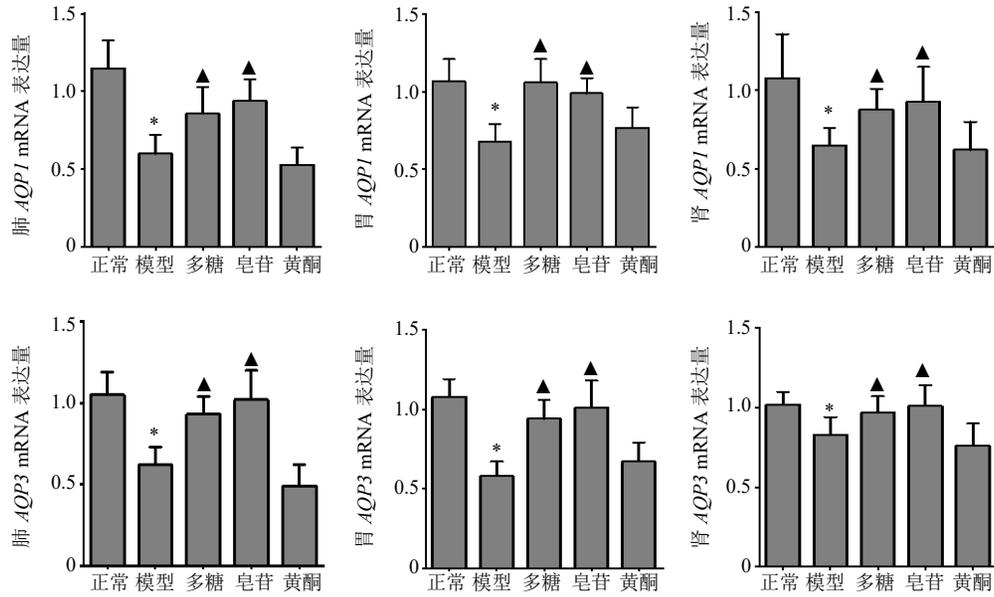
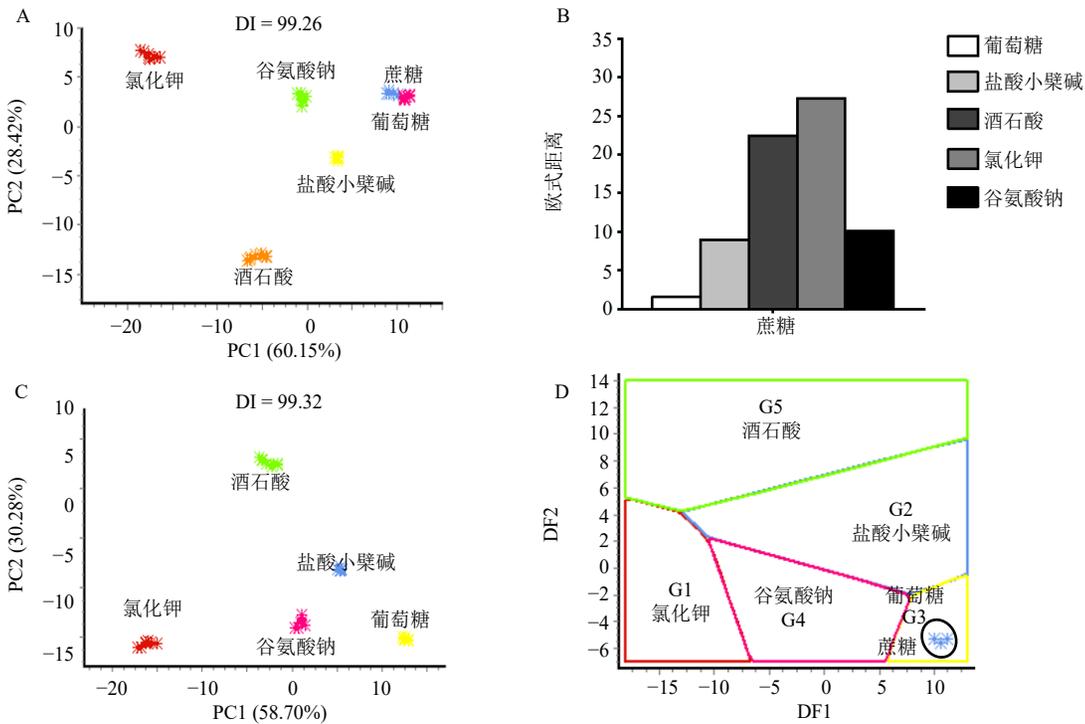


图4 玉竹对阴虚小鼠 AQP1、AQP3 mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 4 Effects of *P. odoratum* on expression of AQP1 and AQP3 mRNA of mice with yin deficiency ($\bar{x} \pm s, n = 6$)



A-PCA B-“五味”标准品与蔗糖的欧氏距离 C-去除蔗糖的 PCA D-蔗糖在“五味”分区模型上的投射
A-PCA B-euclidean distance of the “five flavor” standard and sucrose C-PCA for sucrose removal D-projection of sucrose on the “five flavors” partitioning model

图5 电子舌识别滋味可靠性分析

Fig. 5 Reliability analysis of taste recognition by electronic tongue

味、辛味中药的距离均较近；黄酮与苦味中药距离最近。除去样品，中药“五味”标准品 PCA 结果见图 6-C，玉竹多糖、皂苷、黄酮在“五味”

分区模型上的投射见图 6-D。结果显示，皂苷投射于甘味中药区域，多糖投射于辛味、甘味中药 2 个区域，黄酮则投射于苦味中药区域。因此，

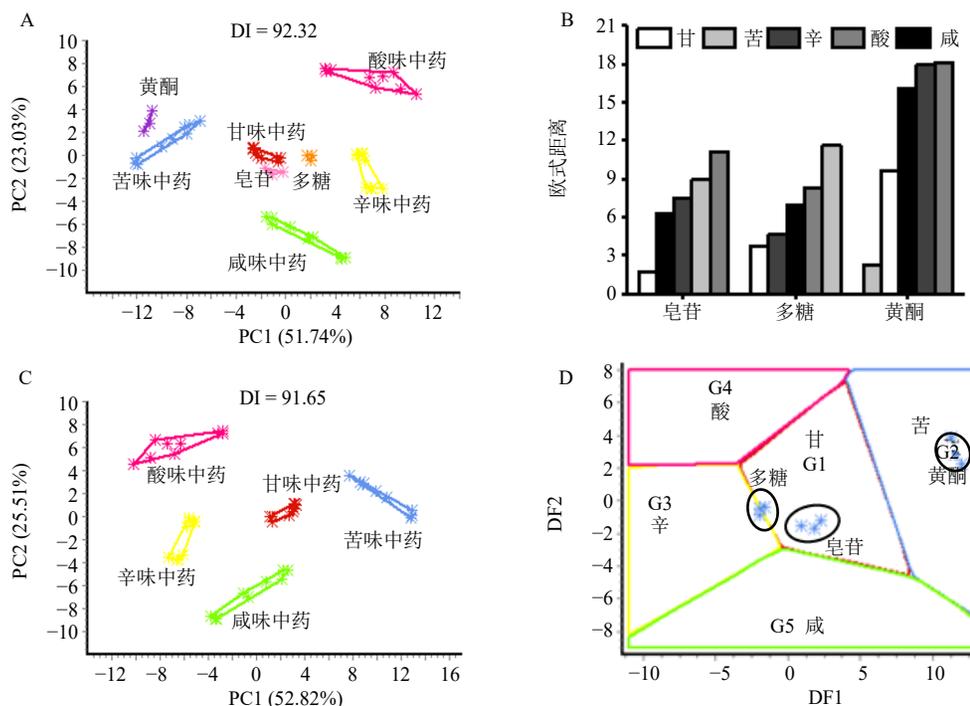
基于“滋味”，可初步确定玉竹的甘味药性物质为皂苷。

3.4 玉竹“甘味”药性物质与甜味受体的关联性分析

以上结果表明，基于“效味”，玉竹的甘味药性物质为多糖、皂苷，而基于“滋味”，玉竹的甘味药性物质为皂苷。综合基于“效味”和“滋味”的结果，最终确定皂苷为玉竹甘味药性物质。接下来采用整体动物考察玉竹皂苷对 GLP-1 的分泌的影响，

并与玉竹多糖、黄酮对比；采用分子对接考察玉竹皂苷与甜味受体的结合性，从以上 2 个方面揭示效味、滋味与甜味受体的关联性。

3.4.1 玉竹皂苷对 GLP-1 分泌的影响 结果见图 7。结果显示，与正常组相比，模型组小鼠血清 GLP-1 含量显著下降 ($P < 0.05$)；与模型组相比，皂苷组和多糖组小鼠血清 GLP-1 含量显著增加 ($P < 0.05$)，而黄酮组小鼠血清 GLP-1 含量无明显变化。



A-PCA B-中药“五味”标准品与玉竹皂苷、多糖、黄酮的欧氏距离 C-去样品的 PCA D-玉竹皂苷、多糖、黄酮在“五味”分区模型上的投射
A-PCA B-euclidean distance of TCM “five flavor” standard and saponin, polysaccharide, flavonoid of *P. odoratum* C-PCA for sample removal D-projection of saponin, polysaccharide, flavonoid of *P. odoratum* on the “five flavors” partitioning model

图 6 玉竹味“甘”药性物质分析

Fig. 6 Analysis of material basis of “sweet” medicinal properties of *P. odoratum*

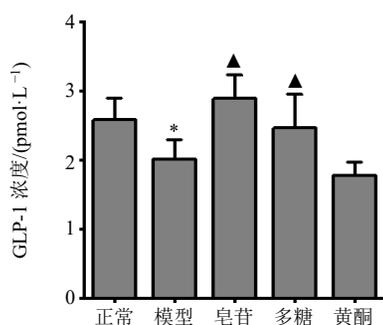


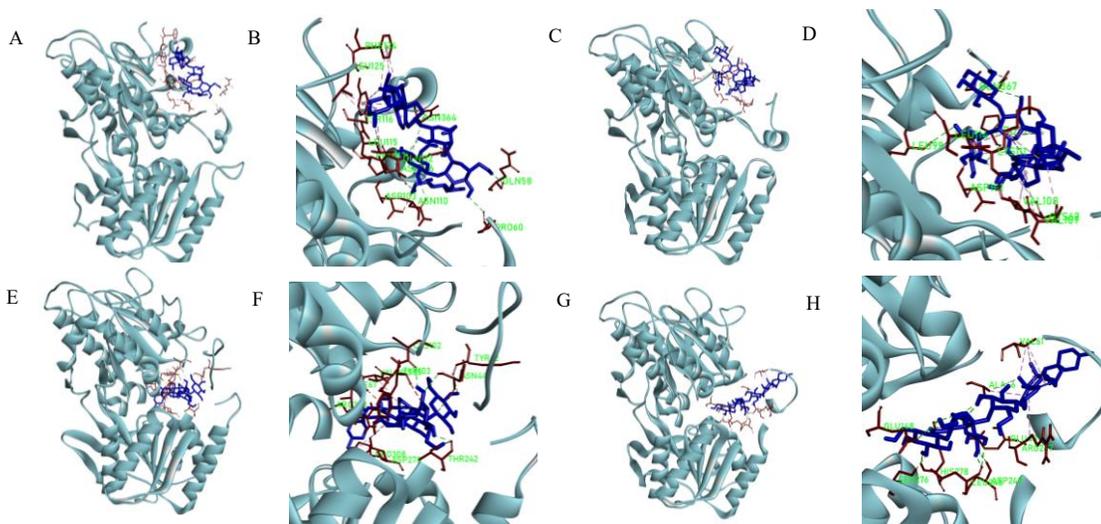
图 7 “甘味”药性物质对 GLP-1 分泌的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 7 Effects of material basis of “sweet” medicinal properties on secretion of GLP-1 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

3.4.2 玉竹皂苷与甜味受体结合性分析 “甘味”药性物质玉竹皂苷分别与鼠源甜味受体 mT1R2、mT1R3 及人源甜味受体 hT1R2、hT1R3 对接结合，见图 8。结果显示，皂苷分子可与甜味受体多个氨基酸残基形成结合键；玉竹皂苷分子与 mT1R2、mT1R3 之间的结合能分别为 -39.3、-31.8 kJ/mol；与 hT1R2、hT1R3 之间的结合能分别为 -40.6、-42.3 kJ/mol。可以看出，玉竹皂苷与甜味受体有较好的结合性。

4 讨论

研究表明，电子舌可模拟人类味觉感受机制，根据传感器响应信号来识别不同味道的物质，结构



A、B-皂苷与 mT1R2 结合图 C、D-皂苷与 mT1R3 结合图 E、F-皂苷与 hT1R2 结合图 G、H-皂苷与 hT1R3 结合图

A, B-binding diagrams of saponin and mT1R2 C, D-binding diagrams of saponin and mT1R3 E, F-binding diagrams of saponin and hT1R2 G, H-binding diagrams of saponin and hT1R3

图 8 玉竹皂苷与甜味受体分子对接图

Fig. 8 Docking diagrams of saponin of *P. odoratum* and sweet receptors

相似的样品有相近的传感器响应特征^[12]。本研究以甘草、党参、黄芪为标准甘味中药，结果显示皂苷与标准甘味中药距离最近，且能投射于标准甘味中药区域，因此皂苷与标准甘味中药含有的成分具有“相似性”；采用分子对接分析还发现，玉竹皂苷与甜味受体有较好的结合性，表明玉竹皂苷可能是甜味受体的激动剂，而葡萄糖、蔗糖是甜味受体的典型激动剂，因此基于“配体-受体”的相关性质，玉竹皂苷与葡萄糖在结构上也应具有一定“相似性”。基于以上分析，甘味中药可能含有结构“相似”的成分，通过激活舌头味蕾细胞上的甜味受体，传递甜味感觉。这不仅在一定程度上揭示了“滋味”与甜味受体之间存在关联的分子机制，还阐明了甘味中药滋味为“甘”的生物学基础，即从“滋味”的角度，能激活舌头味蕾细胞上的甜味受体的成分，均可确定为甘味药性物质。

本研究采用阴虚小鼠模型研究发现，玉竹皂苷可促进 GLP-1 的分泌。GLP-1 可促进胰岛素的分泌，而胰岛素可改变葡萄糖在细胞内外的分布从而改善阴虚证（症状）；同时研究表明，甜味信号通路中的环磷酸腺苷（cyclic adenosine monophosphate, cAMP）、蛋白激酶 A（protein kinase A, PKA）、Ca²⁺ 等信号分子与 AQP_s 均存在密切联系^[13]，且 Ca²⁺ 还能调节 Na⁺, K⁺-ATP 酶的活性^[14]。可见，甜味受体还可通过甜味通路上的信号分子作用 AQP_s、Na⁺,

K⁺-ATP 酶，发挥抗“阴虚”作用。这不仅在一定程度上揭示了“效味”与甜味受体之间存在关联的分子机制，还阐明了甘味中药效应为“补”的生物学基础，即从“效味”的角度，能激活胃肠组织上的甜味受体的成分，均可确定为甘味药性物质。需要指出的是，玉竹多糖也可促进 GLP-1 的分泌，结合分子对接结果分析，玉竹多糖可能并不是通过激动甜味受体来促进 GLP-1 的分泌，可能存在其他机制。

玉竹功能养阴润燥、生津止渴，临床主要用于胃阴虚、肺阴虚。阴虚证临床证候表现多样，但基于阴虚“阴液亏损”“阳亢内热”的病机，水液代谢、能量代谢是阴虚重点关注的 2 个方面。一般而言，水液代谢与 AQP_s 有关，而能量代谢与 Na⁺, K⁺-ATP 酶、Ca²⁺, Mg²⁺-ATP 酶有密切关联。有研究表明，阴虚可导致 AQP_s 表达下调^[15]，Na⁺, K⁺-ATP 酶、Ca²⁺, Mg²⁺-ATP 酶活性升高^[16]。水液代谢紊乱进一步导致大便干燥、皮肤干涩、口干咽燥、多饮的症状^[17]，而能量代谢紊乱则可导致体温升高^[18]。但也有研究表明，阴虚动物体温与正常动物无明显差异^[19]。本研究发现玉竹多糖、皂苷对阴虚小鼠的体质量、摄食量、摄水量、大便含水率、皮肤含水率，Na⁺, K⁺-ATP 酶、Ca²⁺, Mg²⁺-ATP 酶活性及 AQP1、AQP3 mRNA 的表达均有明显的回调作用，而玉竹黄酮的回调作用不明显，据此初步确定玉竹的甘味药性物质为多糖、皂苷。需要指出的是，阴虚证临床证候表现多样，

因此评价药物的“抗阴虚”作用也有 Na^+ 、 K^+ -ATP 酶、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} -ATP 酶活性, *AQP1*、*AQP3* mRNA, 饮水量、大便含水量、皮肤含水量等多个指标, 因此基于各指标的权重构建一个综合指标评价药物的“抗阴虚”作用可能更合理。

目前, 基于效味探索五味药性物质是药性物质研究的一种主要方法, 其可概括为“有效物质即为药性物质”。可以看出, 这种研究方法与现代药理学研究方法类似。然而, 中药不能简单看成是有效物质与无效物质的集合体, 因为“有效”与“无效”并不能截然分开, 有时“有效”与“无效”之间还能相互转化。因此, 仅仅基于“效味”探索五味药性物质, 可能还存在一定的局限性。事实上, 中药“味”的确定最初是依据药物的真实“滋味”。《黄帝内经·素问》记载:“五气入鼻、五味入口”^[20]。因此, 中药五味药性物质基础研究, 不仅要关注“效味”, 还要关注“滋味”。本研究以玉竹为研究对象, 基于甜味受体整合中药“效味”和“滋味”挖掘玉竹甘味药性物质, 研究结果为中药五味药性物质的研究提供了新视角, 同时研究结果对玉竹药材的质量评价也提供了实验依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Laffitte A, Neiers F, Briand L. Functional roles of the sweet taste receptor in oral and extraoral tissues [J]. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2014, 17(4): 379-385.
- [2] Devillier P, Naline E, Grassin-Delyle S. The pharmacology of bitter taste receptors and their role in human airways [J]. *Pharmacol Ther*, 2015, 155: 11-21.
- [3] 张潞潞, 苏晓鹏, 张秀平, 等. 阴虚体质相关病症和方药探析 [J]. *中华中医药杂志*, 2022, 37(2): 851-854.
- [4] Gong X M, Hu C J. The effect and mechanism of new processing method of *Codonopsis pilosula* on endocrine physique index in rats [J]. *Comput Math Methods Med*, 2022, 2022: 7703612.
- [5] Deng Y F, He K, Ye X L, et al. Saponin rich fractions from *Polygonatum odoratum* (Mill.) Druce with more potential hypoglycemic effects [J]. *J Ethnopharmacol*, 2012, 141(1): 228-233.
- [6] 赖长江生, 周融融, 余意, 等. 基于近红外分析和化学计量学方法对不同产地灵芝快速鉴别及多糖含量测定的研究 [J]. *中国中药杂志*, 2018, 43(16): 3243-3248.
- [7] 黄金月, 崔芙蓉, 郑时嘉, 等. 响应面优化黄精根茎总皂苷、总黄酮提取方法及其在不同产地黄精成分含量比较中的应用 [J]. *中医学报*, 2021, 49(9): 56-61.
- [8] 吴璐, 吴维刚, 谭丽霞, 等. 麦芽炒制过程中炒制温度和时间对糖类成分的影响 [J]. *中草药*, 2017, 48(7): 1334-1339.
- [9] 吕依妍, 李寒冰, 马晓庆, 等. 采用复合因素建立内热消渴小鼠模型的特点分析 [J]. *中国组织工程研究*, 2022, 26(8): 1187-1193.
- [10] 王素霞, 赵镭, 史波林, 等. 基于差别度的电子舌对花椒麻味物质的定量预测 [J]. *食品科学*, 2014, 35(18): 84-88.
- [11] 李伟, 王海军, 夏咏梅. 通过计算方法预测甜菊糖苷的甜味和苦味 [J]. *食品与生物技术学报*, 2020, 39(4): 24-32.
- [12] 周霞, 杨诗龙, 胥敏, 等. 电子舌技术鉴别黄连及其炮制品 [J]. *中成药*, 2015, 37(9): 1993-1997.
- [13] Agre P, King L S, Yasui M, et al. Aquaporin water channels: From atomic structure to clinical medicine [J]. *J Physiol*, 2002, 542(Pt 1): 3-16.
- [14] Liu J, Yan Y L, Liu L J, et al. Impairment of Na/K-ATPase signaling in renal proximal tubule contributes to Dahl salt-sensitive hypertension [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(26): 22806-22813.
- [15] 李荣科, 李海龙, 王志旺, 等. 当归对阴虚哮喘 BALB/c 小鼠肺水通道蛋白 1、5 表达的影响 [J]. *中国老年学杂志*, 2016, 36(10): 2309-2311.
- [16] Han B B, Wang S J, Li L, et al. Gene expression profiling of rat livers with Yin-deficiency-heat syndrome [J]. *J Tradit Chin Med*, 2013, 33(3): 378-383.
- [17] 崔荣兴, 战丽彬, 孙晓霞, 等. 阴虚津亏模型小鼠颌下腺 AQP5 及 cAMP/PKA-CREB 信号通路的表达与意义 [J]. *中华中医药学刊*, 2022, 40(6): 149-153.
- [18] 冯加华, 卫克昭, 许旭, 等. 六味地黄丸对甲状腺素诱导阴虚证小鼠肝脏损伤的保护作用 [J]. *上海中医药杂志*, 2019, 53(11): 71-75.
- [19] 孙晓霞, 任威铭, 崔荣兴, 等. 阴虚证动物模型的建立与评价 [J]. *中医杂志*, 2021, 62(13): 1156-1163.
- [20] 李春深. 黄帝内经 [M]. 天津: 天津科学技术出版社, 2017: 44-45.

[责任编辑 潘明佳]