

黄芩拆分组分对正常大鼠物质代谢、能量代谢、内分泌系统及植物神经系统的影响*

张亚男¹, 陈平平¹, 王洪玉¹, 高鑫², 刘树民²

(1.黑龙江中医药大学中医药研究院, 哈尔滨 150040; 2.黑龙江中医药大学药物安全评价中心, 哈尔滨 150040)

摘要:[目的] 通过检测正常大鼠体内物质代谢、能量代谢、内分泌系统及植物神经系统相关酶的含量, 考察黄芩拆分组分对其表达的影响, 以阐述其寒热属性。[方法] 将 SD 雄性大鼠随机分为空白对照组、全成分组、苷元组、苷类组、多糖组; 连续灌胃给药 15 d, 留取肝脏、心脏、肌肉等脏器, 检测物质代谢、能量代谢、内分泌系统及植物神经系统的相关指标。[结果] 与空白组相比, 黄芩全成分抑制物质代谢、能量代谢、内分泌系统及植物神经系统; 苷元和苷类有明显的寒凉药的抑制趋势; 多糖组的倾向不明显。[结论] 总体来看, 黄芩全成分具有寒性, 再一次验证了黄芩的寒凉药性; 同时可推断苷元和苷类的药性为寒凉, 为黄芩寒凉药性的主要物质基础; 初步推测多糖的药性可能为微寒, 有待于进一步的探究。

关键词:黄芩拆分组分; 寒热药性; 物质代谢; 能量代谢; 内分泌系统; 植物神经系统

中图分类号:R289.5

文献标志码:A

文章编号:1673-9043(2018)02-0137-04

黄芩为唇形科植物黄芩 (*Scutellaria baicalensis* Georgi) 的干燥根, 2015 版中国药典记载黄芩味苦性寒。归肺、胆、脾、大肠、小肠经^[1-5]。

中药的四性(四气)是指中药温热寒凉 4 种不同的药性, 但也有一部分中药药性平和, 故现在四气一般指“寒、热、温、凉、平”5 种药性, 它反映了药物影响人体阴阳盛衰、寒热变化方面的作用趋势^[6]。基于此本实验检测大鼠体内物质代谢、能量代谢、内分泌系统、植物神经系统相关酶的含量, 考察黄芩拆分组分对其表达的影响, 以初步诠释黄芩拆分组分的寒热属性。

1 实验材料

1.1 实验动物 取 SD 种雄性大鼠 50 只, SPF 级, 体质量(200±20)g, 动物由黑龙江中医药大学药物安全性评价中心提供[许可证号: SCXK(黑)2015-004], 室温为(22±1)℃, 相对湿度为(65±5)%, 实验动物自由摄食饮水。将大鼠随机分成 5 组, 空白组, 全成分组、苷元组、苷类组、多糖组, 每组 10 只。

1.2 药物 黄芩生品[河北承德药材有限公司(生

产批号: 20140623)]。黄芩拆分组分的制备: 黄芩饮片加石油醚(料液比 1:6)超声 50 min, 2 次, 抽滤。合并滤液减压浓缩, 挥去石油醚得挥发油组分; 药渣干燥后, 水煎煮, 第 1 煎加入 10 倍量的蒸馏水提取, 第 2 煎加入 8 倍量水(两煎均冷凝回流 2 h), 合并两煎药液, 减压回收提取液至适当浓度, 得到全成分。加入 95%乙醇(大约 5 倍量体积), 不断搅动, 至乙醇的浓度约为 80%, 静置 24 h(此过程反复 3~4 次), 收集沉淀部分, 沉淀经抽滤, 离心后, 经无水乙醇, 乙醚交替洗涤, 自然干燥沉淀得多糖组分; 滤液减压回收至无醇味, 过 D101 大孔树脂, 用 3 倍柱体积的 30%乙醇和 95%的乙醇进行洗脱, 分别得到黄芩苷元组分和苷类组分, 缩至稠浸膏, 冻干, 干燥保存待用。

1.3 试剂与仪器 葡萄糖激酶(GCK)、果糖磷酸激酶(PFK)、乙酰辅酶 A(Ac-CoA)、丙酮酸脱氢酶(PDH)、柠檬酸合酶(CS)、异柠檬酸脱氢酶(ICD)(南京建成生物工程研究所, 批号 20150610)、腺苷酸激酶(ADK)、ATP 合成酶(ATPs)、细胞色素 C 还原酶(CCR)、细胞色素 C 氧化酶(COX)(南京建成生物工程研究所, 批号 20150617)、三碘甲状腺原氨酸(T3)、四碘甲状腺原氨酸(T4)、5-羟色胺(5-HT)、乙酰胆碱(AchE)、去甲肾上腺素(NE)酶联免疫试剂盒、超微量 Na-K-ATP 酶测试剂盒(南京建

* 基金项目: 国家重点基础研究发展计划(973 计划)(2013CB531804); 黑龙江中医药大学优秀创新人才支持计划。

作者简介: 张亚男(1991-), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药性味理论研究。

通讯作者: 刘树民, E-mail: keji-liu@163.com。

成生物工程研究所,批号 20150624)。

酶标仪 M200 PRO(奥地利);AL204 电子天平(梅特勒-托利多仪器有限公司);TGL-20M 高速台式冷冻离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司);移液枪(德国梅特勒-托利多);水浴锅(北京市长风仪器有限公司)。

2 实验方法

2.1 动物的分组及给药 动物适应性喂养 3 d 以后,随机分为空白组、全成分组、苷元组、苷类组、多糖组,每组 10 只。全成分组给予(生药 3 g/kg),苷元组(生药 0.05 g/kg),苷类组(生药 0.41 g/kg),多糖组(0.42 g/kg),空白组给予等剂量生理盐水。连续给药 2 周后取心脏、肝脏、肌肉等迅速冻存于液氮中,转移至-80 °C 冰箱中保存备用。

2.2 物质代谢相关指标的检测 取出之前冻存的肝脏组织解冻后,取剪碎的组织 0.2 g,按照 1:9 的质量体积比,加入 1.8 mL 的生理盐水,加入玻璃匀浆器中,于冰上充分研磨,最后将匀浆液以 4 000 r/min,离心 10 min,依据试剂盒说明书检测 GCK、PFK、PK、Ac-CoA、PDH、CS、ICD 的含量。

2.3 能量代谢相关指标的检测 操作方法如上,依据试剂盒说明书检测 ADK、ATP、CCR、COX、Na-K-ATP 酶(肌肉)、Na-K-ATP 酶(肝脏)的含量。

2.4 内分泌系统相关指标的检测 取材后的全血样品于室温放置 2 h 或者 4 °C 过夜后以 3 000 r/min 离心 15 min,取上清液,依据试剂盒说明检测 T3、T4 的含量。

2.5 植物神经系统相关指标的检测 操作方法如 2.4,依据试剂盒说明检测 5-HT、AChE、NE 的含量。

2.6 统计方法 采用 SPSS 22.0 进行统计处理,实验数据以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD 法, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 黄芩拆分组分对正常大鼠物质代谢的影响

3.1.1 黄芩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 见表 1。实验结果所示,与空白组比较,全成分组大鼠 GCK、PFK 的表达下调且具有统计学差异($P < 0.05$);苷元组 GCK 显著下调($P < 0.05$);苷类组 PFK 显著下调($P < 0.05$)。

3.1.2 黄芩拆分组分对丙酮酸氧化成乙酰辅酶 A 阶段相关酶表达情况的影响 见表 2。实验结果所示,与空白组比较,全成分组大鼠 Ac-CoA 表达显著

表 1 黄芩拆分组分对大鼠 GCK、PFK、PK 表达的

组别	n	影响($\bar{x}\pm s$)	
		GCK	PFK
空白组	10	3.33±0.45	3.49±0.57
全成分组	10	2.89±0.25*	2.77±0.68*
苷元组	10	3.16±0.23	3.17±0.28*
苷类组	10	3.03±0.41*	3.47±0.69
多糖组	10	3.21±0.59	3.89±0.44

注:与空白组比较,* $P < 0.05$ 。

表 2 黄芩拆分组分对大鼠 Ac-CoA、PDH

组别	n	蛋白影响($\bar{x}\pm s$)	
		AC-COA	PDH
空白组	10	9.69±1.59	13.40±2.20
全成分组	10	12.32±2.49*	11.66±3.33*
苷元组	10	10.46±1.36	14.81±3.51
苷类组	10	10.42±1.65	10.01±2.88*
多糖组	10	10.95±0.96	13.27±1.99

注:与空白组比较,* $P < 0.05$ 。

升高、PDH 表达显著性下降且具有统计学差异($P < 0.05$);苷类组 PDH 显著下调($P < 0.05$)。

3.1.3 黄芩拆分组分对三羧酸循环过程相关酶表达情况的影响 见表 3。结果可以得出,与空白组比较,全成分组 CS、ICD 蛋白表达下调,且具有统计学差异($P < 0.05$);苷元组 CS 蛋白表达下调明显($P < 0.05$)。

表 3 黄芩拆分组分对大鼠 CS、ICD 蛋白的

组别	n	影响($\bar{x}\pm s$)	
		CS	ICD
空白组	10	7.13±1.67	12.84±2.19
全成分组	10	5.70±0.72*	10.76±1.07*
苷元组	10	6.55±0.68*	12.24±1.51
苷类组	10	6.73±1.19	12.63±1.27
多糖组	10	7.75±1.01	14.77±2.09

注:与空白组比较,* $P < 0.05$ 。

3.2 黄芩拆分组分对能量代谢过程中相关酶表达的影响 见表 4。实验结果所示,与空白组比较,全成分组可显著性的降低 ADK、CCR、NA-K-ATP 酶(肝脏)的表达,具有统计学差异($P < 0.01$);苷元组可明显降低 COX、NA-K-ATP 酶(肝脏)的表达且具有统计学差异($P < 0.05$),其余指标均有回调趋势;苷类组显著性降低 COX 蛋白表达及 NA-K-ATP(肌肉)活性($P < 0.05$),其余指标均有回调作用;多糖组 ATP 显著降低($P < 0.05$)。

3.3 黄芩拆分组分对正常大鼠内分泌系统相关酶表达的影响 见表 5。实验结果所示,与空白组比

表 4 黄芩拆分组分对大鼠 ADK、ATP、CCR、COX、NA-K-ATP 的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	n	ADK(ng/mL)	ATP(ng/mL)	CCR(ng/mL)	COX(ng/mL)	NA ⁺ -K ⁺ -ATP(U/mg)(肝脏)	NA ⁺ -K ⁺ -ATP(U/mg)(肌肉)
空白组	10	4.54±0.33	3.26±0.50	0.69±0.20	1.23±0.19	2.16±0.40	2.62±0.48
全成分组	10	4.20±3.75*	3.75±0.47	0.51±0.13*	1.12±0.15	1.50±0.46**	2.35±0.90
苷元组	10	4.68±3.23	3.23±0.39	0.67±0.19	1.05±0.12*	1.61±0.77*	2.40±0.87
苷类组	10	4.38±3.30	3.20±0.36	0.60±0.18	1.03±0.16*	1.76±0.72	2.13±0.39*
多糖组	10	4.43±2.77	2.77±0.29*	0.64±0.18	1.09±0.13	2.71±0.51	2.65±0.69

注:与空白组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$ 。

表 5 黄芩拆分组分对大鼠 T3、T4 的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	n	ng/mL	
		T3	T4
空白组	10	0.99±0.12	23.56±3.98
全成分组	10	0.97±0.11	19.77±4.37*
苷元组	10	0.95±0.39	21.79±3.85*
苷类组	10	0.85±0.13*	19.14±4.01*
多糖组	10	1.03±0.12	21.37±4.68

注:与空白组比较,* $P<0.05$ 。

较,全成分组和苷元组 T4 明显降低($P<0.05$);苷类组 T3、T4 水平降低且具有明显差异($P<0.05$)。

3.4 黄芩拆分组分对正常大鼠植物神经系统相关酶表达的影响 见表 6。实验结果所示,与空白组比较,全成分组大鼠 5-HT 水平显著上升($P>0.05$);苷元组大鼠 5-HT 水平明显升高、AchE 水平显著降低($P<0.05$),NE 有降低趋势但不明显;苷类组 5-HT 水平明显升高、NE 水平明显下降,AchE 有降低趋势;多糖组 5-HT 升高,AchE 和 NE 下降,但均不显。

表 6 黄芩拆分组分对大鼠 5-HT、AchE、NE 的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	n	5-HT(U/mL)	AchE(ng/mL)	NE(nmol/mL)
空白组	10	7.38±1.91	33.17±2.26	7.79±0.78
全成分组	10	10.59±2.74*	31.53±4.45	7.78±0.93
苷元组	10	12.42±3.35*	30.70±2.14*	8.19±0.62
苷类组	10	7.21±1.94	32.72±2.04	7.16±1.00
多糖组	10	8.24±1.98	31.57±2.26	8.31±0.93

注:与空白组比较,* $P<0.05$ 。

4 讨论

王伽伯等^[6]提出中药药性物质基础研究,研究药性相同或相近的中药中的一类化学成分是揭示药性实质的有效途径,发现寒性药抑制中枢神经系统的兴奋性、减弱循环系统、降低机体产热量。王艳艳等^[7]发现具有寒凉药性的中药抑制线粒体的能量代谢;温热药与之相反。黄丽萍等^[8-9]提出寒性中药黄芩抑制能量代谢,抑制 NA-K-ATP 酶的生成。戴璐^[10]通过观察寒性中药黄连和大黄对实热证大鼠物

质代谢、能量代谢及甲状腺轴功能的影响,发现寒凉中药抑制物质代谢、能量代谢及甲状腺轴功能。滕佳林等^[11]也发现寒性药使脑内 5-HT 增加,NE 减少。黄俊山等^[12]发现寒凉药抑制甲状腺激素。克迎迎等^[13]发现桑白皮拆分组分抑制物质能量代谢,推测其药性可能为寒凉。SONG 等^[14]发现苍术能够通过线粒体中的 C2C12 肌管促进糖代谢和脂肪代谢。在前期的实验研究基础上,本实验考察物质代谢、能量代谢、内分泌系统以及植物神经系统相关指标的表达,以探讨黄芩拆分组分的药性归属。

总体来说黄芩全成分抑制物质代谢;苷元和苷类具有与寒凉中药相同的作用趋势,推测其抑制物质代谢;在物质代谢阶段多糖的作用趋势不明显^[15]。

在能量代谢的过程中,黄芩全成分显著降低 ADK、CCR、COX、NA-K-ATP 酶的表达;对 ATP 的影响不明显,主要可能是三羧酸循环过程被抑制,而该过程是主要生成 ATP 的过程,糖原的合成和分解均处于动态过程提供能量,脂肪分解提供能量以保持机体的正常功能。由以上指标可以推断出黄芩全成分对正常大鼠的能量代谢具有抑制作用;通过部分指标的表达,推测苷元和苷类具有与寒凉中药相同的作用趋势,推测其抑制能量代谢;在该过程中多糖抑制 ATP 的生成,推测多糖抑制能量代谢过程。

黄芩全成分和苷元抑制植物神经系统,苷类有抑制倾向,NE 和 AchE 降低,5-HT 升高,表现出与寒凉中药相似的作用趋势,由此可以推断出其黄芩全成分和苷元药性为寒性,该阶段苷类组分和多糖组分的趋势不明显,需要进一步证实。

陈慧等^[17]提出中药寒热平性质与化学成分类别及含量有相关性,在寒性中药中黄酮类化合物出现的频率以及含量明显高于其他化合物,在热性中药中萜类和挥发油出现的频率以及含量最高,在平性中药中黄酮类化合物出现的频率和糖类、萜类和挥发油相差不大,平性中药无寒热之偏,糖类在寒热平 3 种中药中出现的频率相差不大。综合上述实

验结果,根据黄芩拆分组分对物质代谢、能量代谢、内分泌系统及植物神经系统相关指标表达的影响,推断出苷元和苷类的药性为寒,是黄芩药性为寒的主要物质基础,多糖的药性可能为微寒,尚需进一步的实验来进行验证。

参考文献:

[1] 彭成.中药药理学[M].北京:中国中医药出版社,2012.
[2] 李学林,高晓洁.试论中药药性理论的整体性[J].中华中医药杂志,2016,31(6):2038-2041.
[3] 匡海学,王艳宏.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:中医现代化,2011,13(1):25-29.
[4] 欧阳兵,王振国.中药四性“性-效-物质三元论”假说及其论证[J].山东中医药大学学报,2008,32(3).
[5] 国家药典委员会.中国药典[M].北京:中国医药科技出版社,2015:301.
[6] 王伽伯,金城,肖小河,等.中药药性研究回顾与思考[J].中华中医药杂志,2008,23(7):572-576.
[7] 王艳艳,孙雪.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.
[8] 黄丽萍,周蓉.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] 黄丽萍,彭淑红.6味寒性中药对大鼠肝脏能量代谢的影响[J].中国中药杂志,2009,34(24):3255-3259.
[10] 戴璐.寒性中药对实热证疗效的表述及大黄、黄连对实热证大鼠效应的实验研究[D].济南:山东中医药大学,

2011.

[11] 滕佳林,张斌.黄连、栀子、附子、干姜对正常大鼠中枢神经系统的影响[C].北京:第3届临床中药学学术研讨会论文集,2010.
[12] 黄俊山,黄国良.从血中检测 FT3、FT4、T、E2 及皮质醇等指标探讨寒热证的本质[J].中国中西医结合杂志,2002,22(2):113-115.
[13] 克迎迎,袁培培.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[J].世界中医药,2015,10(12):1847-1853.
[14] Song MY, Kang SY, Oh TW, et al. The roots of *Atractylodes macrocephala* koidzumi enhanced glucose and lipid metabolism in C2C12 myotubes via mitochondrial regulation[J]. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2015, 11(4):108-112.
[15] Nabuurs CI, Choe CU, Veltien A, et al. Disturbed energy metabolism and muscular dystrophy caused by pure creatine deficiency are reversible by creatine intake[J]. The Journal of Physiology, 2013:571-592.
[16] 李振宇,王秋红.基于对植物神经系统相关指标影响的洋金花各化学拆分组分的药性研究[J].中国实验方剂学杂志,2016,22(9):86-90.
[17] 陈慧,孙慧,杨秀艳,等.中药寒热平性质与其化学成分类别相关性研究[J].辽宁中医药大学学报,2016,18(7):102-105.

(收稿日期:2017-10-13)

The influence on substance and energy metabolism, endocrine system and autonomic nervous system of fraction of *Scutellaria baicalensis* in normal rats

ZHANG Yanan¹, CHEN Pingping¹, WANG Hongyu¹, GAO Xin², LIU Shumin²

(1. Institute of Traditional Chinese Medicine, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China;

2. Drug Safety Evaluation Center, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China)

Abstract: [Objective] To illuminate the cold and warm property of fraction of *Scutellaria baicalensis* by detecting related enzyme expression in substance metabolism, energy metabolism, endocrine system and autonomic nervous system in normal rats. [Methods] Fifty male SD rats were randomly divided into blank control group, total composition group, aglycone group, glycosides group, polysaccharide group; All groups were gavaged for 15 days, taking the liver, heart, muscle and detecting the relevant index. [Results] Compared with the blank group, the total composition group of *Scutellaria baicalensis* can inhibit substance metabolism, energy metabolism, endocrine system and autonomic nervous system, aglycones and glycosides have the similar trend with the cold medicine polysaccharide group has no obvious tendency. [Conclusion] Overall, the total composition group of *Scutellaria baicalensis* has cold property and confirm the cold property once again; at the same time we can infer that aglycones and glycosides have cold property and they are the main material basis of *Scutellaria baicalensis* cold property; polysaccharide has a little cold property and we need to do deep research.

Key words: the fraction of *Scutellaria baicalensis*; cold and warm property; substance metabolism; energy metabolism; endocrine system; autonomic nervous system