

基于能量代谢与燥性相关性考察茅苍术、北苍术药性差异

詹鑫, 刘春莲, 王燕, 宋成程, 郭秀丽, 李水清, 刘艳菊*
(湖北中医药大学药学院, 湖北省中药炮制工程技术研究中心, 武汉 430065)

[摘要] 目的:探讨苍术燥性与能量代谢的相关性,分析茅苍术、北苍术的药性差异。方法:将110只健康SD大鼠随机分为11组,分别为正常组、茅苍术挥发油1~5组(S1~S5组,剂量分别为447、473、442、489、496 mg·kg⁻¹)和北苍术挥发油1~5组(N1~N5组,剂量分别为197、118、281、222、185 mg·kg⁻¹),给药体积均为10 mL·kg⁻¹,灌胃给药21 d。通过比较大鼠体质量、饮水量、尿量、全血黏度及颌下腺病理组织切片评估茅苍术、北苍术对大鼠燥性效应的影响,采用免疫组织化学法测定大鼠肾脏中水通道蛋白2(AQP2)的表达,实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)检测肝脏中细胞色素C氧化酶亚基7A2(COX7A2)、琥珀酸脱氢酶复合体D亚基(SDHD)mRNA的表达量,比色法测定大鼠血浆中琥珀酸脱氢酶(SDH)、乳酸脱氢酶(LDH)和钠离子-钾离子-三磷酸腺苷酶(Na⁺-K⁺-ATPase)的含量。应用变异系数法对茅苍术、北苍术质量进行评价,并运用Pearson相关系数分析苍术燥性与能量代谢之间的相关性。结果:与正常组比较,茅苍术挥发油组与北苍术挥发油组大鼠饮水量、尿量增加,颌下腺腺泡萎缩;茅苍术挥发油组大鼠全血黏度显著增加($P<0.01$),COX7A2、SDHD mRNA表达水平和SDH、LDH、Na⁺-K⁺-ATPase活性均显著上升($P<0.01$),肾脏AQP2表达量显著降低($P<0.01$);北苍术挥发油组COX7A2 mRNA表达水平、SDH活性、全血黏度明显升高($P<0.05$, $P<0.01$),肾脏AQP2表达量、SDHD mRNA表达水平、LDH和Na⁺-K⁺-ATPase活性的差异则均无统计学意义。经各指标综合评分分析,发现茅苍术挥发油对大鼠产生的燥性影响和能量代谢强于北苍术挥发油,燥性指标和能量代谢指标呈正相关。结论:两类指标均表明茅苍术药性作用强于北苍术,且能量代谢与苍术燥性密切相关。提示从能量代谢角度评价苍术燥性效应具有一定合理性,可以进一步丰富苍术药性评价指标。

[关键词] 苍术;燥性效应;能量代谢;中药药性;变异系数法;Pearson相关性分析;挥发油

[中图分类号] R22;R28;R96;O657 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2022)19-0139-09

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20220253

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20220126.1008.002.html>

[网络出版日期] 2022-01-27 12:59

Analysis on Difference of Medicinal Properties Between *Atractylodes lancea* and *A. chinensis* Based on Correlation of Energy Metabolism and Dryness

ZHAN Xin, LIU Chunlian, WANG Yan, SONG Chengcheng, GUO Xiuli, LI Shuiqing, LIU Yanju*
(Hubei Engineering Research Center of Chinese Materia Medica Processing, School of Pharmacy,
Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the correlation between dryness and energy metabolism of *Atractylodes Rhizoma*, and to analyze the difference of medicinal properties between *Atractylodes lancea* and *A. chinensis*. **Method:** A total of 110 healthy SD rats were randomly divided into 11 groups, including normal group, volatile oil of *A. lancea* 1-5 group (S1-S5 group, doses of 447, 473, 442, 489, 496 mg·kg⁻¹) and volatile oil of *A. chinensis* 1-5 group (N1-N5 group, doses of 197, 118, 281, 222, 185 mg·kg⁻¹), the administration volume was 0.01 mL·g⁻¹ with intragastric administration for 21 days. Dryness effect of *A. lancea* and *A. chinensis* on rats was evaluated by comparing the body weight, drinking water volume, urine volume,

[收稿日期] 2021-10-11

[基金项目] 湖北省卫健委中医药重点项目(ZY2021Z006);湖北省中央引导地方科技发展专项(2020ZYDD030)

[第一作者] 詹鑫,在读硕士,从事中药饮片炮制工艺、质量控制及原理研究,E-mail:872247547@qq.com

[通信作者] *刘艳菊,博士生导师,教授,从事中药饮片炮制工艺、质量控制及原理研究,E-mail:lyj1965954@sohu.com

whole blood viscosity and pathological sections of submandibular gland stained with hematoxylin-eosin (HE). The expression of aquaporin 2 (AQP2) in rat kidney was measured by immunohistochemistry, the mRNA expressions of cytochrome C oxidase subunit 7A2 (COX7A2) and succinate dehydrogenase (SDH) complex subunit D (SDHD) in liver tissue were detected by real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction (Real-time PCR). The contents of SDH, lactate dehydrogenase (LDH) and sodium ion-potassium ion-adenosine triphosphatase ($\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$) in rat plasma were determined by colorimetry. The quality of *A. lancea* and *A. chinensis* was evaluated by coefficient of variation method, and Pearson correlation coefficient was used to analyze the correlation between dryness and energy metabolism. **Result:** Compared with the normal group, the amounts of drinking water and urine in volatile oil of *A. lancea* group and volatile oil of *A. chinensis* group increased, and the submandibular gland acini atrophied, the whole blood viscosity of rats in the volatile oil of *A. lancea* group increased significantly ($P<0.01$), the expression levels of COX7A2 and SDHD mRNA, the activities of SDH, LDH and $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ increased significantly ($P<0.01$), and the expression of AQP2 in kidney decreased significantly ($P<0.01$). Compared with the normal group, the expression level of COX7A2 mRNA, SDH activity and whole blood viscosity in the volatile oil of *A. chinensis* group increased ($P<0.05$, $P<0.01$), the AQP2 and SDH mRNA expression levels, LDH and $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ activities had no significant difference. The comprehensive score analysis of each index showed that the effect of volatile oil of *A. lancea* on dryness and energy metabolism was stronger than that of volatile oil of *A. chinensis*, and there was a positive correlation between dryness index and energy metabolism index. **Conclusion:** The two indexes show that medicinal properties of *A. lancea* is stronger than that of *A. chinensis*, and energy metabolism is closely related to the dryness of *Atractylodis Rhizoma*. It is suggested that it is reasonable to evaluate the dryness effect of *Atractylodis Rhizoma* from the perspective of energy metabolism, which can further enrich the evaluation indexes of medicinal properties.

[Keywords] *Atractylodis Rhizoma*; dryness effect; energy metabolism; Chinese materia medica property; coefficient of variation method; Pearson correlation analysis; volatile oil

苍术具有燥湿健脾、祛风散寒、明目的功效^[1],按基原可分为茅苍术和北苍术。茅苍术主产于江苏、湖北、浙江及安徽等地,以江苏茅山一带的质量最佳;北苍术主产于内蒙古、辽宁、吉林、黑龙江等地^[2]。自古以来,茅苍术作为道地药材,质量优于北苍术^[3]。目前中药质量评价多以有效成分含量为指标,但所测指标性成分能否反映该中药的临床价值存在不确定性。药性是中药的重要属性,其临床反映为药效,可直观体现中药质量,因此以药性强弱评价中药质量更为客观,值得探索。

苍术为温燥类中药,其药性体现在温、燥两方面,温能助阳,燥能祛湿,该性能具有特定的效用表征,包括治疗作用和不良反应,其不良反应引起机体的不适属于中医内燥证的范畴^[4]。中医理论认为“燥胜则干”“燥热伤阴”,过服辛温燥热之品导致阴液暗耗是阴虚证的主要病因之一^[5-7]。阴虚会引起阳气亢盛,阳亢则能使阴液耗损,临床表现如潮热、颧红、盗汗、五心烦热、消瘦或失眠、烦躁易怒等,会导致甲状腺激素分泌过多,造成机体代谢亢进和交

感神经兴奋^[8]。从能量代谢角度看,可以理解为能量消耗增加、产热增加。苍术的燥性效应明确,但关于其燥性与机体能量代谢的相关性尚未见报道。在前期对苍术燥性效应量效关系和燥性效应指标的研究基础上,本文拟收集茅苍术和北苍术各5批,制备苍术挥发油,以健康SD大鼠为对象,灌胃给予相应剂量苍术挥发油,考察其对大鼠燥性和能量代谢各指标的影响,利用变异系数法计算燥性指标和能量代谢指标的权重,并运用Pearson相关系数进一步分析燥性与能量代谢的关系,从能量代谢角度阐释苍术燥性理论,丰富其燥性评价效应指标,为苍术质量评价提供新思路和新方法。

1 材料

SA-6900型全自动血流变测试仪(北京赛科希德科技股份有限公司),EPOCH2型酶标仪(美国伯腾仪器有限公司),DQ-103/104型台式方形中药切片机(温岭市林大机械有限公司),101-0AB型电热鼓风干燥箱(天津市泰斯特仪器有限公司),Cary 60型紫外-可见分光光度计(美国安捷伦公司),

qTOWER3G型实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)仪(德国耶拿分析仪器公司),1580R型离心机(基因有限公司),CKX31型倒置显微镜(日本奥林巴斯公司),KZ-III-F型低温高速组织研磨仪(武汉赛维尔生物科技有限公司)。

茅苍术药材采自湖北英山,北苍术药材采自河北承德或购自安国药材市场,经湖北中医药大学杨红兵教授鉴定,分别为菊科植物茅苍术 *Atractylodes lancea* 和北苍术 *A. chinensis* 的干燥根茎;大豆油(益海嘉里食品营销责任公司,批号20201212),TRIzol试剂(ABP Biosciences公司,批号AB2012F1),焦碳酸二乙酯(DEPC)-水(H₂O)(Biosharp公司,批号701070),HiScript II Q RT SuperMix for qPCR试剂盒、ChamQ SYBR qPCR Master Mix试剂盒(南京诺唯赞生物科技股份有限公司,批号分别为7E531L1、7E501C1),多聚甲醛溶液(武汉赛维尔生物科技有限公司,批号HJ193206),苏木素、伊红染色液(北京索莱宝科技有限公司,货号分别为H8070、G1100),水通道蛋白2(AQP2)抗体(北京博奥森生物技术有限公司,批号AG09082567),琥珀酸脱氢酶(SDH)测试盒、乳酸脱氢酶(LDH)测试盒(南京建成生物工程研究所,批号分别为20210531、20210525),钠离子-钾离子-三磷酸腺苷酶(Na⁺-K⁺-ATPase)比色法测试盒(武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司,批号V8LQPWTZJ3),水为超纯水,试剂均为分析纯。PCR引物细胞色素C氧化酶亚基7A2(COX7A2)、SDH复合体D亚基(SDHD)和β-肌动蛋白(β-actin)由北京擎科生物科技有限公司合成,引物序列信息见表1。

健康 SPF 级 SD 大鼠,雄性,体质量 150~180 g,

表2 苍术样品来源及挥发油得率

Table 2 Source of *Atractylodis Rhizoma* and its yield of volatile oil

样品	编号	产地或购自地	挥发油得率/%	挥发油质量浓度/g·mL ⁻¹	挥发油给药剂量/mg·kg ⁻¹
茅苍术	S1	湖北省英山县界坊岭	4.47	0.044 7	447
	S2	湖北省英山县余家冲	4.73	0.047 3	473
	S3	湖北省英山县界碑石	4.42	0.044 2	442
	S4	湖北省英山县大沟村	4.89	0.048 9	489
	S5	湖北省英山县杜畈村	4.96	0.049 6	496
北苍术	N1	河北省承德市高新区	1.97	0.019 7	197
	N2	安国药材市场(承德市)	1.18	0.011 8	118
	N3	安国药材市场(辽宁省)	2.81	0.028 1	281
	N4	河北省承德市高新区	2.22	0.022 2	222
	N5	河北省承德市宽城区	1.85	0.018 5	185

表1 PCR引物的序列信息

Table 1 Primer sequences of PCR

引物	序列(5'-3')	长度/bp
COX7A2	上游 GAGTTCGTTTCCGGTCTGG	283
	下游 GCATACGCTGTTCCACCAAC	
SDHD	上游 TGTGTCCGCATTTCTCCAGG	239
	下游 CTTGTCCAATGCCCCAGTGA	
β-actin	上游 GCAGGAGTACGATGAGTCCG	74
	下游 ACGCAGCTCAGTAACAGTCC	

由湖北省实验动物中心提供,合格证号 SCXK(鄂)2017-0012,饲养于湖北中医药大学实验动物房,环境温度控制在 22~24 °C,相对湿度 45%~65%,12 h 明暗循环。本文所涉及的动物实验操作均符合湖北中医药大学动物伦理委员会的相关规定,批准号 202105001。

2 方法

2.1 试药的制备 取茅苍术、北苍术药材,按照 2020 年版《中华人民共和国药典》制备成饮片,粉碎成粗粉。称取茅苍术、北苍术粗粉各 400 g,置 5 L 圆底烧瓶中,加水 3 L,用电热套加热至 180 °C 恒温回流提取,收集提取器内挥发油至其体积不再增加,加入石油醚 10 mL 萃取,无水硫酸钠干燥过滤,自然挥干,所得挥发油密封后置 -20 °C 冰箱保存备用,挥发油为淡黄色油状物,计算茅苍术、北苍术的挥发油提取率,样品信息及得率见表 2。参照本课题组前期研究的给药剂量制备试药^[9],根据苍术挥发油得率,制成生药质量浓度均为 1 g·mL⁻¹的试药,即分别吸取适量茅苍术、北苍术挥发油于量瓶中,加入大豆油定容至 50 mL,混合均匀,各组挥发油质量浓度见表 2。

2.2 动物的分组与给药 将110只大鼠随机分成11组,每组10只,依次为正常组、茅苍术挥发油1~5组(S1~S5组)、北苍术挥发油1~5组(N1~N5组),按照前期研究的给药剂量^[9],茅苍术和北苍术按照相同饮片剂量($10\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$),依据挥发油得率换算得到各组的给药剂量,见表2。适应性饲养1周后,按给药体积 $10\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ 灌胃给药,正常组给予大豆油,S1~S5组给相应剂量的茅苍术挥发油,N1~N5组给相应剂量的北苍术挥发油,连续给药21 d。

2.3 饮水量的测定 按每只大鼠每日饮水量(即体质量150 g的大鼠每24 h的饮水量)计算,每日定时添加饮用水并测量,各组所剩水质量(M_1)与前1 d所给水质量(M_0)之间的差值即为该组大鼠当日总饮水量。所得总饮水量除以该组大鼠只数,即为该组大鼠日平均饮水量^[10]。

2.4 血液流变学指标测定 大鼠腹腔麻醉后腹主动脉取血约5 mL,置于含有肝素钠抗凝的采血管中,上下颠倒数次,备用。吸取大鼠全血2 mL缓慢加入血液流变仪的样品槽中,于恒温 $37\text{ }^\circ\text{C}$ 测量切变率为1、5、200 s^{-1} 时的全血黏度,记录数据。

2.5 大鼠尿量和肾脏中AQP2含量的测定 各给药组给药2周后,将大鼠放入代谢笼中禁食不禁水24 h,收集各组大鼠每天尿液并记录,各组大鼠每天尿量除以大鼠数量,即为该组每只大鼠每天平均尿量,连续测量1周。大鼠处死后快速取出肾脏,解剖刀矢状面切开,组织块置于4%多聚甲醛溶液中固定,包埋,切片,采用免疫组织化学法(IHC)检测,每组随机盲选3张进行拍照,应用Image-Pro Plus 6.0软件选取相同的棕黄色作为判断所有照片阳性的统一标准,对每张照片进行分析,得每张照片阳性的积分吸光度(IA)。

2.6 大鼠颌下腺病理切片 大鼠处死后取出颌下腺,置于4%多聚甲醛溶液中固定,洗涤脱水,石蜡包埋,切片,苏木素-伊红(HE)染色,于光学显微镜下观察组织形态。

2.7 大鼠肝组织细胞COX7A2、SDHD mRNA表达水平的检测 取各组大鼠肝脏组织样本于匀浆器中,加入TRIzol试剂提取总RNA,测定其浓度与纯度,根据逆转录试剂盒说明,将RNA逆转录为互补脱氧核糖核酸(cDNA)进行PCR扩增。反应条件为 $95\text{ }^\circ\text{C}$ 预变性30 s; $95\text{ }^\circ\text{C}$ 变性10 s, $60\text{ }^\circ\text{C}$ 延伸30 s,循环40次; $95\text{ }^\circ\text{C}$ 变性15 s, $60\text{ }^\circ\text{C}$ 退火60 s, $95\text{ }^\circ\text{C}$ 延伸15 s。以 β -actin为内参基因,采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算mRNA表达水平。

2.8 大鼠血浆SDH、LDH和 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活性测定 腹主动脉取血约5 mL,将收集的血液离心分离血浆($4\text{ }^\circ\text{C}$, $3\text{ }000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$,10 min,离心半径10 cm),分别按照试剂盒说明书处理血浆,测定SDH、LDH和 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 含量。

2.9 苍术对各评价指标的影响^[11] 采用变异系数法分析上述可量化指标的权重,由于各指标单位不同,计算权重之前需要计算其变异系数,即进行无纲化处理。变异系数的计算公式为 $V_i=\sigma_i/\bar{x}_i$,式中 V_i 表示第 i ($i=1,2,3,\dots,n$,下同)项指标的变异系数, σ_i 表示第 i 项指标的标准差, \bar{x}_i 表示第 i 项指标的算数平均值;各指标权重计算公式为 $W_i=V_i/(V_1+V_2+V_3+\dots+V_i)$,式中 W_i 表示第 i 项指标的指标权重;采用Z-Score标准化法将各项指标的数据进行标准化处理,计算公式为 $Z_{ij}=(X_{ij}-\bar{x}_i)/\sigma_i$,式中 Z_{ij} 表示第 i 项指标第 j 组($j=1,2,3,\dots,j$)数据标准化值, X_{ij} 表示第 i 项指标第 j 组数据的实测值。对于越小越好的指标,标准化之后需要在数据前加上负号,然后将各指标标准化的数值与权重相乘,即得综合评分。

2.10 苍术燥性与能量代谢的相关性分析 将燥性表征、能量代谢指标相关数据及两者综合评分共同导入SPSS 21.0,选择双变量相关分析,进行Pearson相关分析以获得苍术燥性与能量代谢的相关性。

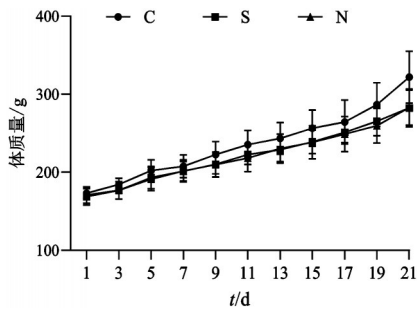
2.11 统计学分析 采用GraphPad Prism 8.0软件进行统计学分析,数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组间样本均数比较采用单因素方差分析, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。统计分析时将S1~S5组实验数据合并为茅苍术挥发油组,N1~N5组数据合并为北苍术挥发油组。

3 结果

3.1 大鼠一般情况 灌胃给药3周后,与正常组比较,茅苍术挥发油组、北苍术挥发油组大鼠体质量增长缓慢,见图1。茅苍术挥发油组大鼠竖毛,毛发枯黄无光泽,大便干结,部分大鼠表现狂躁;北苍术挥发油组大鼠则未见以上明显表现。

3.2 大鼠饮水量 各组大鼠日平均饮水量数据见图2。结果显示,茅苍术挥发油组、北苍术挥发油组大鼠的饮水量均高于正常组,其中茅苍术挥发油组大鼠的饮水量总体高于北苍术挥发油组。

3.3 大鼠血液流变学指标 各组全血黏度见表3。结果发现与正常组比较,在低、中、高(1、5、200 s^{-1})切变率下,茅苍术挥发油组和北苍术挥发油组大鼠全血黏度均明显升高($P<0.05$, $P<0.01$)。在低、中切变率下,茅苍术挥发油组大鼠的全血黏度明显高于



注: C. 正常组($n=10$); S. S1~S5组平均值($n=50$); N. N1~N5组平均值($n=50$)(图2-图3同)

图1 茅苍术、北苍术挥发油对大鼠体质量的影响($\bar{x}\pm s$)
Fig. 1 Effect of *Atractylodes lancea* and *A. chinensis* volatile oil on body weight of rats ($\bar{x}\pm s$)

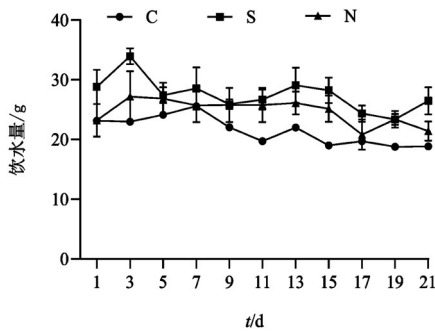


图2 茅苍术、北苍术挥发油对大鼠饮水量的影响($\bar{x}\pm s$)
Fig. 2 Effect of *A. lancea* and *A. chinensis* volatile oil on water intake of rats ($\bar{x}\pm s$)

北苍术挥发油组($P<0.05, P<0.01$)。

3.4 大鼠尿量和肾脏AQP2含量 由图3可知,在禁食不禁水的情况下,茅苍术挥发油组、北苍术挥发油组大鼠的日平均尿量均高于正常组,其中茅苍术挥发油组大鼠的尿量高于北苍术挥发油组。肾

表3 茅苍术、北苍术挥发油对大鼠燥性的影响($\bar{x}\pm s$)

Table 3 Effect of *A. lancea* and *A. chinensis* volatile oil on dryness effect of rats ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	全血黏度/mPa·s			AQP2 IA
		1 s ⁻¹	5 s ⁻¹	200 s ⁻¹	
正常组	10	34.3±2.4	12.7±0.9	4.0±0.3	72 673±11 265
茅苍术挥发油组	50	44.8±5.6 ²⁾	16.9±2.2 ²⁾	5.5±0.8 ²⁾	37 645±11 275 ²⁾
北苍术挥发油组	50	40.1±4.1 ^{1,4)}	15.5±1.8 ^{2,3)}	5.3±0.8 ²⁾	62 636±9 472 ⁴⁾

注:与正常组比较¹⁾ $P<0.05$,²⁾ $P<0.01$;与茅苍术挥发油组比较³⁾ $P<0.05$,⁴⁾ $P<0.01$ (表4同)

脏中AQP2的IHC切片见图4,AQP2表达的IA统计数据见表3,结果与正常组比较,茅苍术挥发油组大鼠肾脏中AQP2的表达量显著降低($P<0.01$),而北苍术挥发油组的差异则无统计学意义;与茅苍术挥发油组比较,北苍术挥发油组大鼠肾脏中AQP2的表达量显著升高($P<0.01$)。

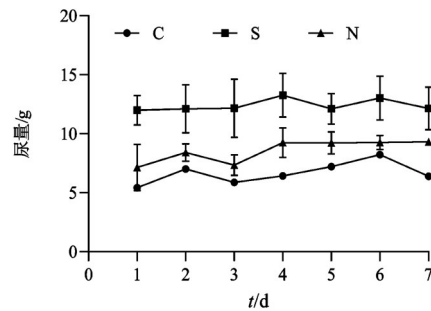
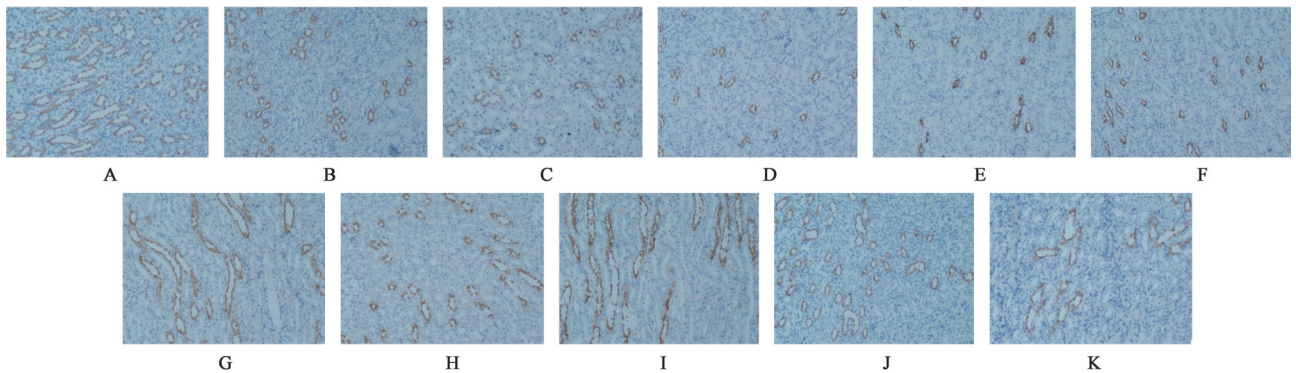


图3 茅苍术、北苍术挥发油对大鼠尿量的影响($\bar{x}\pm s$)
Fig. 3 Effect of *A. lancea* and *A. chinensis* volatile oil on urine volume of rats ($\bar{x}\pm s$)



注: A. 正常组; B. S1组; C. S2组; D. S3组; E. S4组; F. S5组; G. N1组; H. N2组; I. N3组; J. N4组; K. N5(图4同)

图4 茅苍术、北苍术挥发油对大鼠肾脏中AQP2表达的影响(IHC,×400)
Fig. 4 Effect of *A. lancea* and *A. chinensis* volatile oil on AQP2 expression in rat kidney (IHC,×400)

3.5 大鼠颌下腺组织形态学观察 图5中红色箭头表示导管,黄色箭头表示腺泡,黑色箭头表示细胞间隙。结果发现正常组颌下腺腺泡形状呈圆形,结构正常。茅苍术挥发油组、北苍术挥发油组大鼠

腺泡萎缩,细胞间隙增大,导管扩张,但北苍术挥发油组大鼠腺泡萎缩程度不及茅苍术挥发油组。

3.6 大鼠肝脏组织中COX7A2及SDHD mRNA的表达 由表4可知,与正常组比较,茅苍术挥发油组

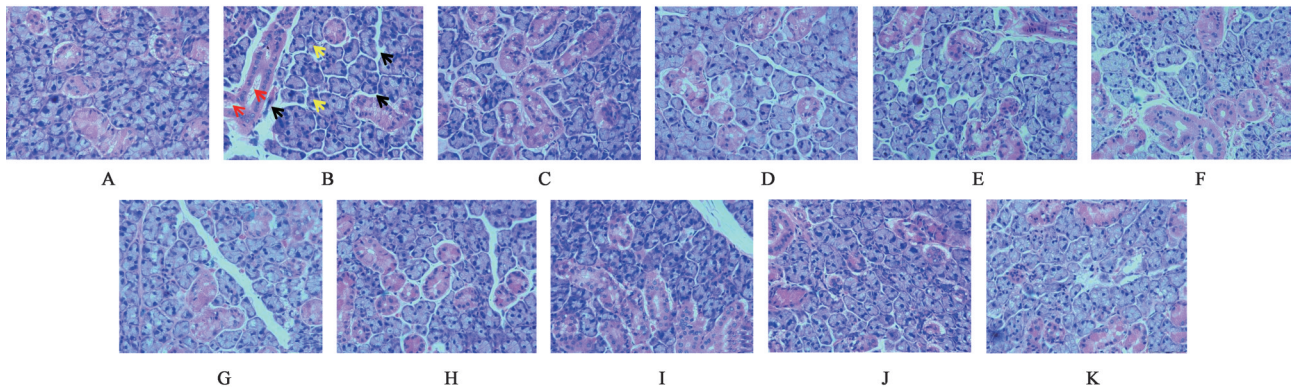


图5 茅苍术、北苍术挥发油对大鼠颌下腺形态的影响(HE,×400)

Fig. 5 Effect of *A. lancea* and *A. chinensis* volatile oil on morphology of submandibular gland of rats (HE,×400)

大鼠肝脏 COX7A2 和 SDHD mRNA 表达水平均显著升高 ($P<0.01$); 北苍术挥发油组大鼠 COX7A2 mRNA 表达水平明显升高 ($P<0.05$), 而 SDHD

mRNA 表达水平差异则无统计学意义。与茅苍术挥发油组比较, 北苍术挥发油组大鼠 COX7A2、SDHD mRNA 表达水平均显著下降 ($P<0.01$)。

表4 茅苍术、北苍术挥发油对大鼠能量代谢的影响($\bar{x}\pm s$)

Table 4 Effect of *A. lancea* and *A. chinensis* volatile oil on energy metabolism of rats ($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	COX7A2 mRNA	SDHD mRNA	SDH/U·mL ⁻¹	LDH/U·L ⁻¹	Na ⁺ -K ⁺ -ATPase/μmol pi·mL ⁻¹ ·h ⁻¹
正常组	10	1.00±0.05	1.00±0.48	24.70±4.26	4 469±1 162	6.77±2.74
茅苍术挥发油组	50	2.00±0.38 ²⁾	1.80±0.37 ²⁾	68.04±12.82 ²⁾	7 575±1 642 ²⁾	18.53±4.88 ²⁾
北苍术挥发油组	50	1.40±0.27 ^{1,4)}	1.10±0.31 ⁴⁾	50.06±14.46 ^{2,4)}	5 583±1 288 ⁴⁾	11.07±4.57 ⁴⁾

3.7 对血浆中 SDH、LDH 和 Na⁺-K⁺-ATPase 活性的影响 由表4可知, 与正常组比较, 茅苍术挥发油能够显著增加大鼠血浆中 Na⁺-K⁺-ATPase、LDH 及 SDH 的活性 ($P<0.01$), 而北苍术挥发油仅能显著提高 SDH 的活性 ($P<0.01$); 与茅苍术挥发油组比较, 北苍术挥发油组大鼠血浆中 Na⁺-K⁺-ATPase、LDH 及 SDH 的活性显著下降 ($P<0.01$)。

3.8 苍术的评价指标分析 苍术燥性指标(饮水量、尿量、全血黏度、AQP2 含量)和能量代谢指标(COX7A2 mRNA 表达量、SDHD mRNA 表达量、SDH 活性、LDH 活性、Na⁺-K⁺-ATPase 活性)的权重见表5和表6。茅苍术、北苍术各指标的综合评分见表7。结果从综合评分来看, 苍术对大鼠燥性效应及能量代谢影响强弱顺序为 S5 组>S4 组>S3 组>S2 组>S1 组>N3 组>N4 组>N1 组>N2 组>N5 组, 表明茅苍术挥发油对大鼠燥性和能量代谢的影响强于北苍术挥发油。

3.9 燥性与能量代谢的相关性分析 由表8可知, 基于 Pearson 相关系数(*r*)的绝对值相关度的定义, 0.6≤|*r*|≤1 表示显著相关^[12]。结果发现燥性各指标与能量代谢各指标均有一定相关性, 其中 AQP2 含量与各指标之间呈负相关, 能量代谢综合评分与燥性

表5 苍术燥性指标的权重

Table 5 Weight of dryness index of *Atractylodis Rhizoma*

指标	水平	平均值	标准差	变异系数	权重
饮水量		25.29	1.98	0.08	0.08
尿量		9.58	2.68	0.28	0.28
全血黏度	1 s ⁻¹	41.72	4.75	0.11	0.11
	5 s ⁻¹	15.88	1.88	0.12	0.12
	200 s ⁻¹	5.30	0.72	0.14	0.14
AQP2		52 055.64	14 161.07	0.27	0.27

表6 苍术能量代谢指标的权重

Table 6 Weight of energy metabolism index of *Atractylodis Rhizoma*

指标	平均值	标准差	变异系数	权重
COX7A2	1.63	0.41	0.25	0.19
SDHD	1.42	0.36	0.25	0.20
SDH	56.44	15.08	0.27	0.21
LDH	6 365.82	1 199.12	0.19	0.15
Na ⁺ -K ⁺ -ATPase	14.05	4.43	0.32	0.25

综合评分的 $r=0.90$, 即显著相关。

4 讨论

4.1 剂量的选择 中医理论认为燥性之药物多用于祛湿, 有辛香走窜之性, 易损伤人体津液且燥性

表7 茅苍术、北苍术各指标综合评分

Table 7 Comprehensive score of each index of *A. lancea* and *A. chinensis*

组别	饮水量	尿量	全血黏度			AQP2	燥性综合评分/分	COX7A2	SDHD	SDH	LDH	Na ⁺ -K ⁺ -ATPase	能量代谢综合评分/分	综合评分/分
			1 s ⁻¹	5 s ⁻¹	200 s ⁻¹									
正常组	-0.16	-0.36	-0.18	-0.20	-0.24	-0.40	-1.54	-0.30	-0.23	-0.44	-0.23	-0.41	-1.61	-3.15
S1组	0.03	0.17	-0.08	-0.11	-0.15	0.19	0.05	0.14	0.15	0.35	0.24	0.13	1.01	1.06
S2组	0.09	0.44	0.01	-0.01	-0.07	0.23	0.69	0.20	0.20	0.06	0.12	0.39	0.97	1.66
S3组	0.09	0.05	0.23	0.21	0.17	0.36	1.11	0.13	0.05	0.13	0.22	0.22	0.75	1.86
S4组	0.04	0.46	0.10	0.11	0.13	0.34	1.18	0.20	0.30	0.06	-0.01	0.28	0.83	2.01
S5组	0.07	0.26	0.11	0.12	0.14	0.30	1.00	0.31	0.30	0.24	0.13	0.20	1.18	2.18
N1组	-0.06	-0.30	-0.03	0.00	0.06	-0.27	-0.60	-0.02	-0.11	0.01	-0.09	-0.22	-0.43	-1.03
N2组	-0.11	-0.18	-0.11	-0.11	-0.10	-0.10	-0.71	-0.22	-0.14	-0.05	-0.05	-0.27	-0.73	-1.44
N3组	0.00	-0.16	-0.02	0.02	0.09	-0.18	-0.25	-0.18	-0.13	0.01	-0.05	0.00	-0.35	-0.60
N4组	0.03	-0.12	0.07	0.09	0.11	-0.32	-0.14	-0.18	-0.20	-0.09	-0.13	-0.15	-0.75	-0.89
N5组	-0.02	-0.25	-0.11	-0.12	-0.13	-0.14	-0.77	-0.07	-0.19	-0.27	-0.14	-0.17	-0.84	-1.61

表8 苍术燥性指标与能量代谢指标的 Pearson 相关性分析

Table 8 Pearson correlation coefficient between dryness and energy metabolism of *Atractylodis Rhizoma*

指标	饮水量	尿量	全血黏度			AQP2	燥性综合评分
			1 s ⁻¹	5 s ⁻¹	200 s ⁻¹		
COX7A2	0.80 ²⁾	0.85 ²⁾	0.62 ¹⁾	0.62 ¹⁾	0.55	-0.90 ²⁾	0.87 ²⁾
SDHD	0.70 ¹⁾	0.94 ²⁾	0.54	0.54	0.48	-0.91 ²⁾	0.86 ²⁾
SDH	0.70 ¹⁾	0.66 ¹⁾	0.54	0.54	0.51	-0.74 ²⁾	0.73 ²⁾
LDH	0.74 ²⁾	0.69 ¹⁾	0.55	0.55	0.46	-0.86 ²⁾	0.75 ²⁾
Na ⁺ -K ⁺ -ATPase	0.90 ²⁾	0.93 ²⁾	0.68 ¹⁾	0.68 ¹⁾	0.62 ¹⁾	-0.90 ²⁾	0.93 ²⁾
能量代谢综合评分	0.84 ²⁾	0.89 ²⁾	0.64 ¹⁾	0.64 ¹⁾	0.58	-0.93 ²⁾	0.90 ²⁾

注: ¹⁾P<0.05, ²⁾P<0.01

伤阴,表现为五心烦热、口干咽燥、神烦气粗、尿黄便干等^[13],所以燥性具双面性,临床上应对症用药。据报道,苍术燥性部位为挥发油,生苍术挥发油对小鼠的半数致死量(LD₅₀)2 454.71 mg·kg⁻¹,约为临床等效剂量的18.7倍^[14]。本课题组前期研究了燥性效应量效关系,发现健康小鼠给予8倍剂量苍术挥发油(740 mg·kg⁻¹)可产生明显燥性^[15]。在燥性指标确立方法的文献中,大鼠给予苍术挥发油的剂量约为临床饮片用药剂量的10倍^[9]。故本文采用10倍临床饮片用量,根据挥发油不同得率,制备相同生药质量浓度的苍术挥发油进行实验,既可显示燥性又未达到毒性剂量。

4.2 药性指标的选择 在本课题组前期研究基础上,本文以健康大鼠为研究对象,对比相同饮片给药剂量下,茅苍术与北苍术燥性效应的差异^[16]。传统中医理论认为燥性干涩,最易伤及人体津液,从而导致系列干燥失润的病理现象,表现有口渴多

饮,口、鼻、皮肤、大便干结,小便短少等^[17],同时苍术挥发油具有利尿作用^[18]。前期研究发现长期给予高剂量苍术挥发油,会使正常大鼠的饮水量、尿量显著增加,血液黏度也会显著增高,颌下腺腺泡萎缩破坏,同时会使AQP2表达显著降低,故本文选择这些指标作为苍术燥性指标。

根据中医理论“燥胜伤阴”,阴虚证表现为阴虚燥热、阴虚发热,其中的“热”可能是由于Na⁺-K⁺-ATPase活性增强导致的^[19]。Na⁺-K⁺-ATPase参与生命体生理活动、能量代谢,以维持机体生理、能量平衡状态。三磷酸腺苷(ATP)是生物体生命活动的直接能源物质,存在于人体每个组织细胞内,在生理状态下,能量生成及利用之间的平衡关系可通过机体的寒热变化来反映,而机体的寒热变化可通过ATPase的活性表达检测,说明研究ATPase活性可阐明中药作用于机体能量代谢的变化与影响^[20]。中药进入机体后通过作用于机体的寒热感受环节

影响能量代谢,这一过程与中药寒热药性的现代表征密切相关^[21],温热中药会导致机体功能及代谢的加剧,大部分的代谢会伴随着能量的释放,SDH是线粒体内三羧酸循环中的关键酶,其活性增高表明三羧酸循环的加快,同时也标志着细胞内ATP生成增强^[22]。一般来说,当组织的能量无法通过有氧呼吸得以满足,组织无法获得足够氧的情况下,乳酸的浓度会上升,同时LDH的活性也升高,从而加快ATP的循环^[23]。COX7A2参与氧化呼吸链上第4个复合体——细胞色素C氧化酶的构成,是维持细胞色素C氧化酶正常功能所必须的。细胞色素C氧化酶为氧化呼吸链上最后1个复合体,位于线粒体内膜,功能是传递电子,把氧分子转变成H₂O,完成能量生成,该酶也是电子传递链最后的限速步骤^[24]。故本实验选择了COX7A2、SDHD mRNA表达水平,以及SDH、LDH、Na⁺-K⁺-ATPase水平等与能量代谢相关指标进行考察,综合评价茅苍术、北苍术的药性强弱。

4.3 茅苍术、北苍术的药性结果分析 研究结果显示,经过长时间给药后,对于燥性效应指标,与正常组比较,茅苍术挥发油组与北苍术挥发油组大鼠饮水量、尿量增加,颌下腺腺泡萎缩;AQP2是AQP家族中一员,存在于肾脏集合管的主细胞中,是抗利尿激素(ADH)敏感性AQP,ADH经过一系列机制激发,促进含AQP小泡向腔膜上镶嵌,并使AQP开放从而提高腔膜对水的通透性,促进尿液重吸收,大量研究表明尿量的增加可能与AQP2的降低有关^[9],在本实验中,茅苍术挥发油组大鼠AQP2表达量下降,尿量显著增加,而北苍术挥发油组大鼠AQP2表达量变化不明显。燥伤阴津,而津血同源,所以茅苍术挥发油组、北苍术挥发油组大鼠的全血黏度增加;对于能量代谢效应指标,与正常组比较,茅苍术挥发油组大鼠COX7A2、SDHD mRNA表达水平显著升高,SDH、LDH和Na⁺-K⁺-ATPase活性显著增强,而北苍术挥发油组大鼠COX7A2 mRNA表达水平和SDH活性显著升高,SDHD mRNA表达水平、LDH和Na⁺-K⁺-ATPase活性则变化不明显。

4.4 药性综合评价及相关性分析 变异系数法是一种根据各指标包含信息来计算权重的方法,避免了人为因素的影响,可以较为客观地反映实际情况^[25]。Pearson分析的 r 可用于定量衡量2个变量之间紧密联系程度,用于表征不同变量间相互关系的强弱程度^[26]。依据变异系数法对药性指标的权重分析,再经过Z-Score标准化法将标准化后的指标与

权重进行相乘后得到综合评分,结果发现茅苍术对大鼠燥性和能量代谢的影响强于北苍术,该结果验证了历代医家认为茅苍术药效强于北苍术的说法。在相关性分析中,发现苍术燥性与能量代谢之间存在紧密关系,说明苍术燥性可能会影响机体的能量代谢,提示能量代谢指标可作为评价苍术燥性的指标之一。

综上所述,本文在前期的研究基础上,初步确立了以能量代谢指标表征苍术燥性的方法,丰富了苍术药性评价体系,使用变异系数法评价茅苍术和北苍术的药性差异,增加了该方法在中药质量评价过程中的应用。本文从中药药性角度证明茅苍术质量优于北苍术,并认为苍术燥性可能会影响机体的能量代谢,但苍术燥性与能量代谢之间的相互关系需要进一步验证,且苍术使机体产生燥性的作用机制尚不明确,有待进一步研究。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020:168-169.
- [2] 张金龙,秦昆明,徐自升,等. 南北苍术炮制前后特征图谱及苍术素含量研究[J]. 科学技术与工程,2011,11(20):4843-4847.
- [3] 刘春莲,瞿领航,涂济源,等. 基于中药道地性优势对苍术现行质量标准的思考[J]. 中国实验方剂学杂志,2022,28(3):212-219.
- [4] 王瑾,王强,李鹏,等. 中药燥性理论溯源及研究思路探讨[J]. 中国中药杂志,2014,39(2):346-349.
- [5] 佚名. 黄帝内经·素问[M]. 傅景华,陈心智,点校. 北京:中医古籍出版社,1997:141.
- [6] 朱震亨. 金匱钩玄[M]. 北京:人民卫生出版社,1980:66.
- [7] 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.
- [8] 肖丹,唐宇,刘子毓,等. 龟甲胶滋阴功效及对甲亢阴虚证的研究进展[J]. 江西中医药大学学报,2019,31(1):120-124.
- [9] 瞿领航,涂济源,曹国胜,等. 基于燥胜则干和燥性伤阴理论的苍术燥性效应研究[J]. 中国中药杂志,2018,43(13):2705-2712.
- [10] 瞿领航,曹国胜,涂济源,等. 基于灰色关联度与正交偏最小二乘法分析的苍术挥发油燥性谱效关系研究[J]. 中草药,2019,50(1):150-156.
- [11] 张云亮,窦博鑫,刘丽宅,等. 基于变异系数法分析四种改良剂对马铃薯面条品质的影响[J]. 食品工业科技,2021,42(5):26-32.

- [12] ZHANG Y, LI S Y, LIANG Y T, et al. A systematic strategy for uncovering quality marker of *Asari Radix et Rhizoma* on alleviating inflammation based chemometrics analysis of components [J]. *J Chromatogr A*, 2021, 1642: 461960.
- [13] 夏亚楠, 余凌英, 王德健, 等. 补骨脂盐炙对肾阳虚、脾虚模型动物燥性影响研究[J]. *亚太传统医药*, 2016, 12(4): 5-8.
- [14] 刘艳菊, 肖波, 季光琼, 等. 苍术炮制前后挥发油的急性毒性实验[J]. *中国医院药学杂志*, 2013, 33(20): 1670-1673.
- [15] 谢颖. 苍术挥发油燥性效应量效关系及其对 IBS-D 大鼠药效与机制研究[D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2021.
- [16] 徐依依, 瞿领航, 曹国胜, 等. 南苍术与北苍术的燥性效应比较[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2019, 25(19): 87-92.
- [17] 胡平, 村上政隆, 张前德, 等. 养阴清热活血中药对大鼠离体灌流颌下腺唾液分泌的作用[J]. *微循环学杂志*, 2010, 20(4): 22-25, 89, 93.
- [18] 刘国生, 孙备, 明亮. 苍术挥发油与水溶性成分的主要药理作用比较[J]. *安徽医科大学学报*, 2003, 38(2): 124-126.
- [19] 瞿领航, 刘艳菊, 涂济源, 等. 苍术燥性探讨及研究展望[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 24(20): 217-222.
- [20] 师韩菲, 孙万森. 中药对机体能量代谢影响的实验研究概况[J]. *环球中医药*, 2019, 12(7): 1124-1128.
- [21] 杨玉娇, 王朋倩, 张森, 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.
- [22] 黄丽萍, 彭淑红, 胡强, 等. 6味热性中药对大鼠骨骼肌能量代谢相关因子的影响[J]. *中华中医药杂志*, 2010, 25(2): 228-230.
- [23] 崔光志, 李峰, 宋晓玲, 等. 胡椒、葶苈对正常大鼠肝脏能量代谢因子的影响[J]. *世界科学技术—中医药现代化*, 2013, 15(6): 1314-1317.
- [24] 赵秀军, 郭银, 宋庆亮, 等. 何首乌饮对运动疲劳大鼠睾丸组织 COX7A2 表达的影响[J]. *四川大学学报: 医学版*, 2013, 44(2): 205-208.
- [25] 任广跃, 刘亚男, 乔小全, 等. 基于变异系数权重法对怀山药干燥全粉品质的评价[J]. *食品科学*, 2017, 38(1): 53-59.
- [26] 张命龙, 彭密军, 杨秋玲, 等. 显齿蛇葡萄抗氧化活性与主要成分相关性研究[J]. *天然产物研究与开发*, 2019, 31(3): 387-394.

[责任编辑 刘德文]