

DOI:10.13288/j.11-2166/r.2022.22.013

不同配比生姜-黄芩药对对胃寒证模型大鼠 能量代谢酶、胃肠动力及脑肠肽的影响

张瑞欣[✉], 杨志军[✉], 黄蓉, 崔彦红, 李一洁, 杨秀娟, 闫潇

甘肃中医药大学药学院, 甘肃省兰州市城关区定西东路 35 号, 730000

[摘要] **目的** 观察生姜、黄芩不同比例配伍对胃寒证的影响, 并探讨可能的作用机制。**方法** SD 大鼠随机分为空白组 12 只和造模组 60 只。采用“0℃纯净水灌胃+冷水泡浴+氢氧化钠刺激”的方法建立大鼠胃寒证模型, 造模 18 天。将造模成功的 50 只大鼠随机分为模型组、生姜组、生姜黄芩 1:1 组、生姜黄芩 5:3 组、生姜黄芩 2:1 组, 每组 10 只。空白组与模型组灌胃生理盐水 10 ml/kg, 生姜组灌胃生姜水煎液 3.6 g/kg, 生姜黄芩 1:1 组、5:3 组、2:1 组分别灌胃相应水煎液 7.2、9.6、10.8 g/kg, 各组均每天灌胃 1 次, 连续 7 天。观察大鼠一般状况。检测各组大鼠肝组织能量代谢酶葡萄糖激酶 (GCK)、丙酮酸脱氢酶 (PDH)、异柠檬酸脱氢酶 (ICD)、 $\text{Na}^+\text{-K}^+$ -三磷酸腺苷酶 ($\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$)、脂肪甘油三酯脂肪酶 (ATGL) 含量; 观察各组大鼠胃组织病理形态, 计算胃排空率和小肠推进率, 测定胃组织脑肠肽胃动素 (MTL)、5-羟色胺 (5-HT)、胃泌素 (GAS)、生长抑素 (SS)、血管活性肠肽 (VIP) 含量。**结果** 与空白组比较, 模型组大鼠胃黏膜结构不完整, 黏膜组织坏死脱落, 腺体排列紊乱, 可见大量炎性细胞浸润; 与模型组比较, 生姜黄芩 1:1 组局部黏膜坏死脱落, 炎细胞浸润; 其余各给药组胃黏膜上皮结构完整, 腺体排列整齐, 未见明显炎细胞浸润。与空白组比较, 模型组大鼠肝组织 GCK、PDH、ICD 及 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ 的含量, 胃排空率、小肠推进率显著降低, 胃组织 5-HT、MTL、GAS 含量显著降低, SS、VIP 含量显著升高 ($P<0.01$)。与模型组比较, 生姜组及生姜黄芩 5:3、2:1 组肝组织 GCK、PDH、ICD 及 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ 的含量, 胃排空率, 小肠推进率及胃组织 5-HT、MTL、GAS 含量显著升高, SS、VIP 含量显著降低; 生姜黄芩 1:1 组肝组织 PDH、ICD 的含量显著升高, 胃组织 SS、VIP 含量显著降低 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。与生姜组比较, 生姜黄芩 5:3 组肝组织 GCK、PDH、 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ 的含量, 胃排空率、小肠推进率, 胃组织 5-HT、MTL、GAS 含量显著升高, VIP 含量显著降低; 生姜黄芩 2:1 组肝组织 GCK、PDH、ICD、 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ 的含量, 小肠推进率显著升高 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。与生姜黄芩 5:3 组比较, 生姜黄芩 2:1 组肝组织 GCK、PDH、ICD, 胃组织 VIP 显著升高, 胃排空率, 胃组织 5-HT、MTL、GAS 含量显著降低 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。**结论** 不同配比生姜、黄芩水煎液均能通过调节能量代谢酶活性以及脑肠肽含量等机制, 不同程度地治疗胃寒证, 以生姜、黄芩 5:3 配伍效果更佳。**[关键词]** 胃寒证; 生姜; 黄芩; 相恶; 能量代谢; 脑肠肽

中药“七情”理论, 奠定了中药配伍理论的基础。“相恶”配伍属于七情之一, 历代本草著作关于相恶的实际含义有“配伍后减效”与“配伍后减毒”之争。目前《中药学》将“相恶”定义为: 两药合用, 一种药物能使另一种药物的某一种功效降

低, 甚至丧失, 认为相恶是药效拮抗的减效配伍, 属于配伍禁忌^[1]。“生姜恶黄芩”首载于《本草经集注》, 其后《新修本草》《本草纲目》等诸多本草著作均有此记载, 认为两药同用属于拮抗减效配伍。然而, 张仲景、孙思邈等医家却将生姜、黄芩合用组方, 如生姜泻心汤、甘草泻心汤、小续命汤等。有学者认为, 本草著作记载与经方应用貌似存在相悖之处, 可能与两药配伍比例、适用的证型、

基金项目: 国家自然科学基金(82160755); 甘肃省中医药管理局科研基金(GZK-2019-20); 甘肃省教育厅高等学校教学质量提高和创新创业教育改革项目(2020-120)。

[✉] 通讯作者: yangzhijun1971@yeah.net

组方中其他药物的作用等因素有关^[2]。课题组前期通过高效液相色谱 (HPLC) 法建立生姜-黄芩水提液色谱图, 发现两药配伍比例不同时, 一方面生姜对黄芩中黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素等化学成分溶出率影响不同^[3], 另一方面, 黄芩对生姜中主要化学成分 6-姜辣素溶出率亦有促进或拮抗的不同作用。化学成分是发挥药效的物质基础, 两药配伍后对彼此主要化学成分溶出率的影响结果提示, 生姜、黄芩配伍可能存在药效“相恶”。生姜辛温, 归胃经, 长于温中散寒止呕, 善治胃寒证。以生姜、黄芩配伍组成的生姜泻心汤治疗“伤寒汗后, 胃阳虚弱, 水饮内停, 肠鸣下利”(《伤寒论》)^[4]。古代方剂配伍中去性存用、寒热并用之法为仲景立方的一大特色, 使药物在不同配伍比例之下发挥最佳效果^[5]。通过对张仲景方及现代临床应用数据挖掘发现, 生姜、黄芩配伍以 1:1、5:3、2:1 居多, 且临床上多用于治疗胃痛、呕吐、痞满等脾胃疾病^[6]。故本研究将黄芩的量作为定量, 动态调整生姜的用量, 选择上述三种不同配伍比例进行研究, 从能量代谢-脑肠轴调控角度探讨两药配伍治疗胃寒模型大鼠的作用机制, 为两药临床合理有效配伍提供依据。本实验通过甘肃中医药大学实验动物伦理委员会审批 (批件号 2020-275)。

1 材料与方法

1.1 动物

SPF 级 SD 大鼠 72 只, 雌雄各半, 体质量 (200±20) g, 购自兰州大学实验动物中心, 动物生产许可证号: SCXK (甘) 2018-0002。于室内温度 22~26℃、相对湿度 40%~60%、12 h 明暗周期环境下普通饲料喂养。

1.2 实验药物

生姜购自兰州华联超市, 参照《中药炮制学》^[7]制备饮片; 黄芩饮片购自甘肃中医药大学附属医院。经甘肃中医药大学中药炮制学教研室李芸教授鉴定, 分别为姜 (*Zingiber officinale* Rosc.) 的新鲜根茎, 黄芩 (*Scutellaria baicalensis* Georgi) 的干燥根。生姜、黄芩饮片分别加入 10 倍、8 倍量纯净水煎煮两次, 合并滤液, 水浴浓缩成含生药量为 1 g/ml 的药液, 再分别制成生姜水煎液, 生姜黄芩 1:1、5:3、2:1 水煎液。4℃冷藏, 备用。

1.3 主要试剂及仪器

丙酮酸脱氢酶 (PDH)、异柠檬酸脱氢酶 (ICD)、Na⁺-K⁺-三磷酸腺苷酶 (Na⁺-K⁺-ATP)、中性

树胶、伊红、苏木素试剂盒 (北京索莱宝科技有限公司, 批号分别为: 20210824、20210802、20210824、G8590、G1100、G1080); 大鼠葡萄糖激酶 (GCK)、脂肪甘油三酯脂肪酶 (ATGL) ELISA 试剂盒 (苏州卡尔文生物科技有限公司, 批号分别为: E20210801A、E20210801A); 羧甲基纤维素钠 (CMC-Na, 天津市光复精细化工研究所, 批号: 20180308); 氢氧化钠 (NaOH, 天津市大茂化学试剂厂, 批号: 20190501); 水合氯醛 (郑州市德众化学试剂厂, 批号: 201900417); 4% 多聚甲醛 (Biosharp 公司, 批号: 69111800); 大鼠胃动素 (MTL)、5-羟色胺 (5-HT)、血管活性肠肽 (VIP)、胃泌素 (GAS)、生长抑素 (SS) ELISA 试剂盒 (江苏菲亚生物科技有限公司, 批号分别为: 2105R61、2105R76、2105R72、2105R63、2105R67)。营养糊制备: 将 10 g CMC-Na 加入 250 ml 蒸馏水中, 再加入奶粉、糖、淀粉及活性炭末 (剂量分别为 16、8、8、2 g), 混匀配制成约 300 ml 半固体营养糊, 4℃冰箱中冷藏备用。

KD-BM 型包埋机 (浙江省金华市科迪仪器有限公司); RM2016 型切片机 (德国 LEICA 公司); RX50 型显微镜 (宁波舜宇仪器有限公司); TDZ5-WS 型医用离心机 (湖南平凡科技有限公司); 1681130A 型酶标仪 (美国 Bio-Rad 公司)。

1.4 分组、造模与给药

72 只 SD 大鼠按照随机数字表法分为空白组 12 只、造模组 60 只。空白组灌胃生理盐水 20 ml/(kg·d), 每天 2 次。造模组大鼠参照文献 [8-9] 建立胃寒证模型, 灌胃 0℃纯净水 20 ml/(kg·d), 每天 2 次, 10℃冷水浴 15 min/次, 每天 1 次, 禁食不禁水 12 h, 第 18 天灌胃 0.3 mol/L 4℃NaOH 溶液 2 ml/d, 每天 2 次, 第一次灌胃 NaOH 溶液后 3 h 正常饲养, 造模 18 天。模型评价标准^[8]: 以大鼠饮食、饮水量减少, 喜群聚, 神情倦怠, 耳廓、趾爪颜色变淡且肢冷, 大便黄软甚至出现稀溏; 病理学观察胃黏膜有炎症病变判断为造模成功。

共 50 只大鼠造模成功, 按照随机数字表法分为模型组, 生姜组及生姜黄芩 1:1 组、生姜黄芩 5:3 组、生姜黄芩 2:1 组, 每组 10 只。造模结束后第二天开始, 空白组与模型组灌胃生理盐水 10 ml/kg, 生姜组灌胃生姜水煎液 3.6 g/kg, 生姜黄芩 1:1 组、生姜黄芩 5:3 组、生姜黄芩 2:1 组分别灌胃相应水煎液 7.2、9.6、10.8 g/kg, 每天 1 次, 连续 7 天。黄芩给药剂量确定方法: 成人临床

用药剂量黄芩为 10 g/d, 取大鼠标准体质量为 200 g, 人标准体质量为 70 kg, 按照人与大鼠体重体表面积换算公式^[10] 换算等效剂量, 确定大鼠黄芩给药剂量为 4 倍等效剂量 3.6 g/kg。以黄芩为定量, 生姜组生姜剂量与黄芩一致为 3.6 g/kg, 生姜黄芩 1:1 组、5:3 组、2:1 组给药剂量分别为 7.2、9.6、10.8 g/kg。

1.5 观察指标及方法

第 6 天给药后, 各组大鼠禁食不禁水, 24 h 后末次给药, 2 h 后再灌胃营养糊 (3 ml/kg)。25 min 后, 腹腔注射 5% 水合氯醛 6 ml/kg 麻醉, 颈椎脱臼处死大鼠, 剖腹取出大鼠肝、胃组织。各组按照随机数字表法选取 4 只大鼠, 取胃黏膜损伤部分置于 4% 多聚甲醛的离心管中固定, 用于病理学观察。另分别剪取所有大鼠剩余胃、肝组织, 生理盐水冲洗, 滤纸吸干, 装于 1.5 ml 的冻存管中, 迅速放于 -80 ℃ 冰箱内冷冻。每组按照随机数字表法选取 8 只大鼠肝、胃组织用于后续肝组织能量代谢酶、胃肠动力及胃组织脑肠肽含量检测。

1.5.1 一般情况 实验期间, 观察各组大鼠精神状态、皮毛色泽、行为活动、粪便量及质地、饮水、饮水量及体重等情况。

1.5.2 肝组织能量代谢酶 剪取约 0.5 g 肝组织, 制备组织匀浆, 3500 r/min 4 ℃ 离心 10 min (离心半径 6.5 cm) 后取上清, 按照试剂盒说明书, 分别测定肝组织 GCK、PDH、ICD、Na⁺-K⁺-ATP、ATGL 含量。

1.5.3 胃肠动力 剪取大鼠全胃, 滤纸吸拭干净血液, 称重 (胃全质量), 再沿胃大弯剪开胃体, 生理盐水洗去胃内容物, 用滤纸拭干称重 (胃净质量)。剪取小肠, 铺直, 测量幽门至营养糊前端的距离 (推进长度) 及幽门至回盲部距离 (小肠全长), 计算各组大鼠胃排空率、小肠推进率。胃排空率 = 1 - (全胃质量 - 胃净质量) / 所灌固体糊重 × 100%^[11]。小肠推进率 % = 1 - (小肠全长 - 推进距离) / 小肠全长 × 100%^[12]。

1.5.4 胃组织病理学形态 剪取胃黏膜损伤部位, 置于装有 4% 多聚甲醛的离心管中固定, 包埋切片, HE 染色, 显微镜下观察胃组织结构变化。

1.5.5 胃组织脑肠肽表达 取 0.5 g 胃组织, 制备组织匀浆, 3500 r/min 4 ℃ 离心 10 min (离心半径 6.5 cm) 后取上清, 按照试剂盒说明书, 分别测定胃组织 5-HT、MTL、GAS、SS、VIP 的含量。

1.6 统计学方法

采用 SPSS 24.0 统计软件处理。计量资料均符合正态分布以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 两两比较方差齐者用 LSD 法, 不齐者用 Games-Howell 法检验。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠一般状况比较

空白组大鼠活泼好动, 耳廓、鼻唇、趾爪呈粉红色, 肢体温度正常, 毛发顺滑有光泽, 饮食、饮水量无明显变化, 体重逐渐增加, 增长速度较其他组快, 粪便呈黄褐色, 软硬度适中。模型组大鼠出现神疲倦怠、肢体冰凉、喜群卧现象, 饮水、饮水量减少, 粪便稀软色黄, 部分大鼠便溏, 皮毛逐渐枯槁无光泽, 体重增长缓慢。与模型组比较, 各给药组大鼠耳廓、鼻唇、趾爪颜色逐渐转为粉红, 肢体温度逐渐升高, 接近正常, 粪便由稀溏转为正常, 饮食、饮水量及体重增加。

2.2 各组大鼠肝组织能量代谢酶含量比较

表 1 示, 与空白组比较, 模型组大鼠肝组织 GCK、PDH、ICD 及 Na⁺-K⁺-ATP 的含量显著降低 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 生姜组及生姜黄芩 5:3、2:1 组 GCK、PDH、ICD 及 Na⁺-K⁺-ATP 的含量显著升高, 生姜黄芩 1:1 组 PDH、ICD 的含量显著升高, 生姜黄芩 2:1 组 ATGL 的含量显著升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 与生姜组比较, 生姜黄芩 1:1 组 GCK、PDH、ICD、Na⁺-K⁺-ATP 的含量显著降低, 生姜黄芩 5:3 组 GCK、PDH、Na⁺-K⁺-ATP 的含量显著升高, 生姜黄芩 2:1 组 GCK、PDH、ICD、Na⁺-K⁺-ATP 的含量显著升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 与生姜黄芩 1:1 组比较, 生姜黄芩 5:3 组、2:1 组 GCK、PDH、ICD、Na⁺-K⁺-ATP、ATGL 显著升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 与生姜黄芩 5:3 组比较, 生姜黄芩 2:1 组 GCK、PDH、ICD 显著升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

2.3 各组大鼠胃排空率与小肠推进率比较

表 2 示, 与空白组比较, 模型组大鼠胃排空率、小肠推进率显著降低 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 生姜组、生姜黄芩 5:3 组和生姜黄芩 2:1 组大鼠胃排空率、小肠推进率显著增加 ($P < 0.01$); 与生姜组比较, 生姜黄芩 1:1 组大鼠胃排空率、小肠推进率显著降低, 生姜黄芩 5:3 组胃排空率、小肠推进率显著增加, 生姜黄芩 2:1 组

表 1 各组大鼠肝组织能量代谢酶含量比较 (x̄±s)

组别	鼠数	GCK/mU·L ⁻¹	PDH/U·g ⁻¹	ICD/U·g ⁻¹	Na ⁺ -K ⁺ -ATP/U·g ⁻¹	ATGL/pmol·L ⁻¹
空白组	8	933.61±34.92	409.04±24.66	341.50±27.46	89.01±3.79	1652.19±31.97
模型组	8	778.47±19.19 ^{a)}	223.20±20.28 ^{a)}	197.99±32.08 ^{a)}	56.44±5.50 ^{a)}	1637.97±22.76
生姜组	8	831.81±20.33 ^{c)}	314.81±24.60 ^{c)}	262.91±23.96 ^{c)}	74.80±6.90 ^{c)}	1645.78±38.57
生姜黄芩 1:1 组	8	803.82±23.34 ^{d)}	255.07±27.73 ^{b) e)}	230.15±22.33 ^{b) d)}	60.03±4.93 ^{e)}	1616.56±54.91
生姜黄芩 5:3 组	8	859.79±32.35 ^{c) d) g)}	349.76±31.40 ^{c) d) g)}	270.35±33.22 ^{c) f)}	81.59±3.75 ^{c) e) g)}	1660.31±21.51 ^{f)}
生姜黄芩 2:1 组	8	888.75±28.44 ^{c) e) g) h)}	381.52±37.81 ^{c) e) g) h)}	316.58±41.66 ^{c) e) g) i)}	82.05±4.43 ^{c) e) g)}	1681.41±39.69 ^{b) g)}

注: GCK,葡萄糖激酶; PDH,丙酮酸脱氢酶; ICD,异柠檬酸脱氢酶; ATGL,脂肪甘油三酯脂肪酶; Na⁺-K⁺-ATP,Na⁺-K⁺-三磷酸腺苷酶。
a) 与空白组比较, $P<0.01$; b) 与模型组比较, $P<0.05$; c) 与模型组比较, $P<0.01$; d) 与生姜组比较, $P<0.05$; e) 与生姜组比较, $P<0.01$; f) 与生姜黄芩 1:1 组比较, $P<0.05$; g) 与生姜黄芩 1:1 组比较, $P<0.01$; h) 与生姜黄芩 5:3 组比较, $P<0.05$; i) 与生姜黄芩 5:3 组比较, $P<0.01$ 。

小肠推进率显著增加 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$); 与生姜黄芩 1:1 组比较, 生姜黄芩 5:3 组、2:1 组胃排空率、小肠推进率显著升高 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。与生姜黄芩 5:3 组比较, 生姜黄芩 2:1 组胃排空率显著降低 ($P<0.05$)。

2.4 各组大鼠胃组织病理形态学情况

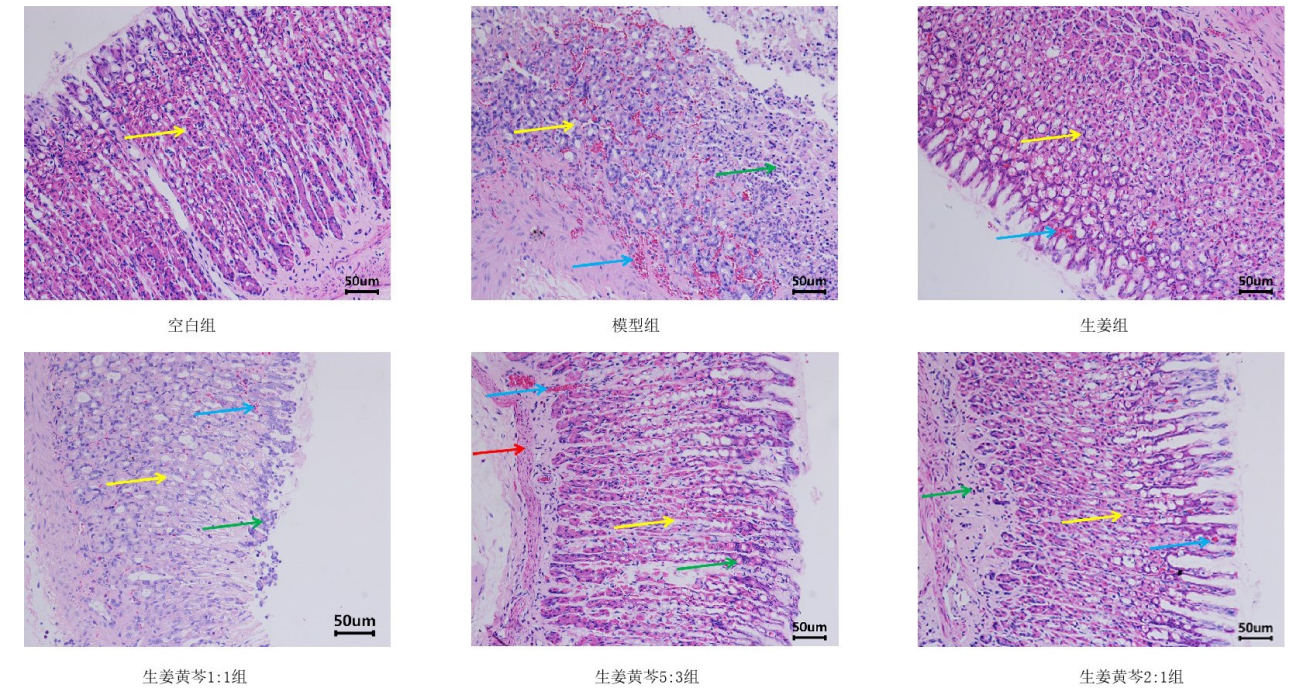
图 1 示, 空白组大鼠胃黏膜结构完整清晰, 腺体排列整齐, 间质血管无扩张充血, 未见炎细胞浸润; 与空白组比较, 模型组大鼠胃黏膜结构不完整, 可见黏膜组织坏死脱落, 腺体排列紊乱, 边界模糊, 间质血管扩张充血, 可见大量炎性细胞浸润; 与模型组比较, 生姜黄芩 1:1 组局部黏膜坏死脱落, 炎细胞浸润, 间质血管弥漫性扩张充血;

表 2 各组大鼠胃排空率与小肠推进率比较 (x̄±s)

组别	鼠数	胃排空率/%	小肠推进率/%
空白组	8	70.44±6.77	76.15±3.95
模型组	8	50.25±5.27 ^{a)}	54.56±5.21 ^{a)}
生姜组	8	60.42±5.53 ^{b)}	63.69±3.97 ^{b)}
生姜黄芩 1:1 组	8	54.83±4.75 ^{c)}	58.00±3.77 ^{c)}
生姜黄芩 5:3 组	8	67.75±3.05 ^{b) d) f)}	70.16±4.45 ^{b) d) f)}
生姜黄芩 2:1 组	8	61.16±4.46 ^{b) e) g)}	68.32±4.12 ^{b) e) f)}

注: a) 与空白组比较, $P<0.01$; b) 与模型组比较, $P<0.01$; c) 与生姜组比较, $P<0.05$; d) 与生姜组比较, $P<0.01$; e) 与生姜黄芩 1:1 组比较, $P<0.05$; f) 与生姜黄芩 1:1 组比较, $P<0.01$; g) 与生姜黄芩 5:3 组比较, $P<0.05$ 。

其余各给药组胃黏膜上皮结构完整, 腺体排列整齐, 间质血管扩张充血明显减轻, 未见明显炎细胞浸润, 且生姜黄芩 5:3 组的组织恢复情况最好。



注: 黄色箭头指示胃黏膜上皮; 蓝色箭头指示血管; 绿色箭头指示炎细胞; 红色箭头指示黏膜肌层

图 1 大鼠胃组织病理学形态 (HE 染色, ×200)

表3 各组大鼠胃组织脑肠肽含量比较

(x±s)

组别	鼠数	5-HT/ng·ml ⁻¹	MTL/pg·ml ⁻¹	GAS/pg·ml ⁻¹	SS/pg·ml ⁻¹	VIP/pg·ml ⁻¹
空白组	8	5.87±0.36	121.92±6.01	75.67±3.80	20.00±1.38	38.85±3.96
模型组	8	3.76±0.20 ^{a)}	87.90±7.13 ^{a)}	53.19±5.81 ^{a)}	28.53±1.72 ^{a)}	64.66±2.97 ^{a)}
生姜组	8	4.50±0.71 ^{b)}	100.87±12.89 ^{c)}	63.42±5.18 ^{c)}	22.63±2.93 ^{c)}	49.40±4.19 ^{c)}
生姜黄芩1:1组	8	3.89±0.53 ^{d)}	86.75±11.12 ^{e)}	56.31±2.22 ^{e)}	25.76±4.22 ^{b) d)}	55.72±7.10 ^{c) e)}
生姜黄芩5:3组	8	5.10±0.69 ^{c) d) f)}	117.43±10.67 ^{c) e) f)}	69.28±6.40 ^{c) d) f)}	22.04±2.73 ^{c) f)}	43.15±3.12 ^{c) e) f)}
生姜黄芩2:1组	8	4.41±0.65 ^{b) g)}	104.32±6.57 ^{c) f) h)}	59.49±5.61 ^{b) h)}	24.17±1.75 ^{c)}	49.13±5.01 ^{c) f) g)}

注: 5-HT, 5-羟色胺; MTL, 胃动素; GAS, 胃泌素; SS, 生长抑素; VIP, 血管活性肠肽。

a) 与空白组比较, $P<0.01$; b) 与模型组比较, $P<0.05$; c) 与模型组比较, $P<0.01$; d) 与生姜组比较, $P<0.05$; e) 与生姜组比较, $P<0.01$; f) 与生姜黄芩1:1组比较, $P<0.01$; g) 与生姜黄芩5:3组比较, $P<0.05$; h) 与生姜黄芩5:3组比较, $P<0.01$ 。

2.5 各组大鼠胃组织脑肠肽含量比较

表3示, 与空白组比较, 模型组大鼠胃组织5-HT、MTL、GAS含量显著降低, SS、VIP含量显著升高 ($P<0.01$); 与模型组比较, 生姜组及生姜黄芩5:3组、2:1组大鼠胃组织5-HT、MTL、GAS含量显著升高, SS、VIP含量显著降低, 生姜黄芩1:1组大鼠胃组织SS、VIP含量显著降低 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$); 与生姜组比较, 生姜黄芩1:1组5-HT、MTL、GAS含量显著降低, SS、VIP含量显著升高, 生姜黄芩5:3组5-HT、MTL、GAS含量显著升高, VIP含量显著降低 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$); 与生姜黄芩1:1组比较, 生姜黄芩5:3组5-HT、MTL、GAS含量显著升高, SS、VIP含量显著降低, 生姜黄芩2:1组MTL显著升高、VIP显著降低 ($P<0.01$)。与生姜黄芩5:3组比较, 生姜黄芩2:1组5-HT、MTL、GAS含量显著降低, VIP含量显著升高 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。

3 讨论

李时珍《本草纲目》云:“相恶者, 夺我之能也”, 明确指出相恶关系是药物效能制约, 属于减效配伍。然而有学者^[13]通过本草、经方理论研究发现, “相恶”可能存在着一定的特殊性和相对性, 并非绝对配伍禁忌。中医认为过食生冷或寒邪直中脾胃, 胃失和降, 是形成胃寒证的病因病机。因此, 本实验采用“0℃水灌胃+冷水泡浴+氢氧化钠刺激”的方法复制胃寒大鼠模型, 探讨生姜、黄芩配伍究竟是寒温相制(药效削弱)亦或寒温相成(药效增强)。

生姜、黄芩一温一寒, 属于寒温相配, 两药配伍比例不同, 则温中散寒作用亦不相同。研究发现, 温热性药物多能促进机体能量代谢, 寒凉药物则具有抑制作用^[14], 因此可以借助能量代谢变化能阐释生姜与黄芩配伍前后温中作用强弱变化。机

体代谢可以通过葡萄糖有氧氧化、脂代谢等途径实现^[15]。葡萄糖有氧氧化分为糖酵解、乙酰辅酶A生成、三羧酸循环三个阶段, 其中GCK、PDH、ICD对各阶段代谢过程具有重要影响, $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ 酶能在氧化过程中提供能量, 其酶活性越高, 机体能量代谢越快^[16]。ATGL为脂肪代谢中甘油三酯水解的核心酶, 能特异性水解甘油三酯的第一脂键^[17]。本实验结果显示, 与生姜组比较, 生姜黄芩1:1组葡萄糖有氧氧化关键酶GCK、PDH、ICD、 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ 的含量显著降低, 生姜黄芩5:3组、生姜黄芩2:1组GCK、PDH、 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ 的含量显著升高, 且生姜黄芩2:1组GCK、PDH、ICD显著高于生姜黄芩5:3组, 表明生姜、黄芩5:3及2:1配伍时温热药性较单味生姜及1:1配伍时强, 其中2:1配伍温热药性更强。提示生姜、黄芩5:3及2:1配伍时能上调胃寒大鼠葡萄糖有氧氧化关键酶活性, 促进机体能量代谢, 其中生姜、黄芩2:1配伍效果更优; 而生姜、黄芩1:1配伍下调机体有氧氧化关键酶活性, 抑制能量代谢, 使生姜的温中散寒作用被削弱。

生姜、黄芩均归胃经, 善治胃经病证, 研究配伍用药后胃寒证大鼠的胃肠功能变化, 能从生姜“温中”角度探讨生姜、黄芩不同配比后的“相恶”内涵。本研究结果发现, 生姜组、生姜黄芩5:3组和生姜黄芩2:1组大鼠胃排空率、小肠推进率较模型组显著增加, 提示此三组均能显著改善胃寒大鼠胃肠动力和病理损伤, 而生姜黄芩1:1组无显著改善作用。与生姜黄芩5:3组比较, 生姜黄芩2:1组胃排空率显著降低, 结合病理切片提示, 生姜、黄芩5:3配伍时对于胃寒大鼠胃肠动力障碍有较好的恢复作用。脑肠肽是由中枢神经、肠神经系统和胃肠道分泌细胞分泌的多种胃肠激素, 是脑肠通路重要的物质基础和靶点, 对胃肠功能具有调节作用^[18]。肠嗜铬细胞合成5-HT, 该物质具

有收缩胃肠道平滑肌,促进胃肠道张力增加,加快肠蠕动作用^[19]。MTL主要分布在胃肠,可促进胃肠运动,MTL分泌减少,则会延长胃排空,引发胃肠动力障碍^[20]。GAS主要分布于胃窦部,能增强胃肠道的分泌功能,促进胃窦、胃体、幽门括约肌收缩,增加胃肠蠕动^[21-22]。主要分布于下丘脑和胃肠道的SS可以抑制胃酸分泌,抑制胃蛋白酶、胃泌素的释放,影响胃肠道的吸收功能^[23]。VIP水平的变化是研究胃肠道疾病的重要指标,其分布于全部胃肠道中,具有舒张胃肠道平滑肌,抑制胃肠动力作用^[24]。本研究结果显示,与生姜组比较,生姜黄芩1:1组5-HT、MTL、GAS含量显著降低,SS、VIP含量显著升高,生姜黄芩5:3组5-HT、MTL、GAS含量显著升高,VIP含量显著降低,表明生姜、黄芩1:1配伍时,削弱了生姜对胃寒证大鼠胃肠功能的改善作用,而生姜、黄芩2:1配伍时各指标与应用单味生姜时差异无统计学意义,则表明其与单味生姜作用相当,而生姜、黄芩5:3配伍时增强了生姜的作用。与生姜黄芩1:1组比较,生姜黄芩5:3组5-HT、MTL、GAS含量显著升高,SS、VIP含量显著降低,生姜黄芩2:1组MTL显著升高、VIP显著降低;与生姜黄芩5:3组比较,生姜黄芩2:1组5-HT、MTL、GAS含量显著降低,VIP含量显著升高。以上结果表明生姜、黄芩5:3、2:1配伍时对于胃寒证大鼠胃肠功能有一定的调节作用,其中生姜、黄芩5:3配伍时能显著促进胃寒证模型大鼠胃肠蠕动,调节胃肠道激素分泌,发挥较好的作用。

综上,生姜水煎液及不同配比生姜、黄芩水煎液,能通过调节机体能量代谢酶活性及脑肠肽含量等机制,发挥强弱程度不同的温中散寒作用。生姜、黄芩1:1配伍时,抑制机体能量代谢,降低脑肠调节作用,说明生姜、黄芩1:1治疗胃寒证存在“相恶”减效,即生姜的温中作用被黄芩清胃作用牵制,两药寒温相制。生姜、黄芩5:3、2:1配伍时,生姜的温中作用增强,两药寒温相成。在促进能量代谢层面,生姜、黄芩2:1配伍效果最优,而基于脑肠轴调节胃肠功能层面,生姜、黄芩5:3配伍效果最优,这可能与不同配比药对的温热药性变化及由此产生的功效、副作用有关。生姜、黄芩2:1配伍温热药性增强,故促进胃寒大鼠能量代谢作用最强。药对的温热药性虽能温中散寒,但是生姜用量过大则温燥伤阴,适量黄芩能遏制生姜不良作用^[25],因此生姜、黄芩5:3配伍时

对胃寒大鼠胃肠功能的调节作用最佳。本研究初步证实存在“生姜恶黄芩”,且与配伍比例、证型有一定关联。但本研究仅从能量代谢-脑肠肽方面进行初步研究,因脑肠肽在胃肠和神经系统双重分布,而本实验仅研究了在胃组织分布情况,因此对于神经-内分泌-胃肠功能网络系统整体影响尚需进一步系统研究。

参考文献

- [1]钟赣生,杨柏灿. 中药学[M]. 北京:中国中医药出版社,2021:38-39.
- [2]段金廛,宿树兰,范欣生,等. 基于药物相互作用探讨中药七情合和相反/相恶/相畏配伍禁忌作用模式与机制[J]. 世界科学技术-中医药现代化,2012,14(3):1547-1552.
- [3]黄钰芳,杨志军,邵晶,等. 不同配伍比例下生姜对黄芩中化学成分溶出率的影响[J]. 中国现代应用药学,2020,37(17):2086-2092.
- [4]张仲景. 伤寒论. 南宁:广西科学技术出版社,2015:107.
- [5]丁沛. 张仲景“去性存用”立方思想举隅[J]. 南阳理工学院学报,2009,1(6):100-103.
- [6]吴嘉瑞,张宇晶,张晓朦,等. 基于文献挖掘的相恶药对生姜与黄芩临床应用特点研究[J]. 中国中医药信息杂志,2014,21(7):15-17.
- [7]龚千锋. 中药炮制学[M]. 4版. 北京:中国中医药出版社,2016:79-86.
- [8]杨万斌,文彬,张凌杭,等. 大鼠胃寒证模型造模方法探索[J]. 中国中药杂志,2015,40(20):4031-4036.
- [9]陈艳芬,陈蔚文,李茹柳. 大鼠寒热型胃粘膜损伤模型的研究[J]. 中药药理与临床,2002,18(2):44-46.
- [10]陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 3版. 北京:人民卫生出版社,2011:27-28.
- [11]ARUMUGAM M, RAES J, PELLETIER E, et al. Enterotypes of the human gut microbiome[J]. Nature, 2011, 473(7345):174-180.
- [12]SCALDAFERRI F, GERARDI V, LOPETUSO LR, et al. Gut microbial flora, prebiotics, and probiotics in IBD: their current usage and utility[J]. Biomed Res Int, 2013, 2013:435268. doi: 10.1155/2013/435268.
- [13]陈少泽,唐迎雪,梁晓东. 论中药配伍关系中的相恶配伍[J]. 辽宁中医药大学学报,2012,14(2):105-106.
- [14]匡海学,王艳宏,王秋红,等. 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-中医药现代化,2011,13(1):25-29.
- [15]蔡志强,朱劼. 生物化学[M]. 北京:化学工业出版社,2020:253.
- [16]GORINI A, CANOSI U, DEVECCHI E, et al. ATPases enzyme activities during ageing in different types of

- somatic and synaptic plasma membranes from rat frontal cerebral cortex [J]. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry, 2002, 26(1):81-90.
- [17] ZIMMERMANN R, STRAUS JG, HAEMMERLE G, et al. Fat mobilization in adipose tissue is promoted by adipose triglyceride lipase [J]. Science, 2004, 306(5700):1383-1386.
- [18] 刘娅薇, 惠华英, 谭周进. 脑肠轴传输中的胃肠肽类激素[J]. 世界华人消化杂志, 2019, 27(16):1007-1012.
- [19] SIKANDER A, RANA SV, PRASAD KK. Role of serotonin in gastrointestinal motility and irritable bowel syndrome [J]. Clin Chim Acta, 2009, 403(1-2):47-55.
- [20] SANGER GJ, WANG Y, HOBSON A, et al. Motilin: towards a new understanding of the gastrointestinal neuropharmacology and therapeutic use of motilin receptor agonists [J]. Br J Pharmacol, 2013, 170(7):1323-1332.
- [21] 何美蓉, 宋于刚, 智发朝, 等. 功能性消化不良患者胃动力障碍与胃肠激素及 G、D 细胞的关系 [J]. 中华消化杂志, 2004, 24(1):56-57.
- [22] TOSETTI C, STANGHELLINI V, TUCCI A, et al. Gastric emptying and dyspeptic symptoms in patients with nonautoimmune fundic atrophic gastritis [J]. Dig Dis Sci, 2000, 45(2):252-257.
- [23] SVENSSON E, KIM O, PARKER D. Altered GABA and somatostatin modulation of proprioceptive feedback after spinal cord injury in lamprey [J]. Neuroscience, 2013, 235:109-118. doi: 10.1016/j.neuroscience.2013.01.017.
- [24] IVANOVA M, BELCHEVA S, BELCHEVA I, et al. Modulatory effect of VIP injected into hippocampal CA1 area on anxiety in olfactory bulbectomized rats [J]. Acta Neurobiol Exp (Wars), 2014, 74(3):317-327.
- [25] 金光亮. 论相辅相成与相反相成的方剂配伍思维 [J]. 中医杂志, 2018, 59(2):91-94.

Effects of Shengjiang (*Rhizoma Zingiberis Recens*) -Huangqin (*Radix Scutellariae*) Herbal Pair at Different Composition Ratios on Energy Metabolism Enzymes, Gastrointestinal Motility and Brain-gut Peptides in Rats with Stomach Cold Syndrome

ZHANG Ruixing, YANG Zhijun, HUANG Rong, CUI Yanhong, LI Yijie, YANG Xiujuan, YAN Xiao

School of Pharmacy, Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou, 730000

ABSTRACT Objective To observe the effects of Shengjiang (*Rhizoma Zingiberis Recens*) -Huangqin (*Radix Scutellariae*) herbal pair at different composition ratios in the treatment of stomach cold syndrome, and to explore its potential mechanism. **Methods** SD rats were randomly divided into blank group (n=12) and model group (n=60). The rat model of stomach cold syndrome was established by the method of gavage with pure water at 0 °C plus cold water bath and sodium hydroxide stimulation for 18 days. Fifty successfully modeled rats were randomly divided into model group, Shengjiang group, Shengjiang-Huangqin (S-H) 1 : 1, 5 : 3, and 2 : 1 group, with 10 rats in each group. The blank group and the model group were gavaged with 10 mL/kg of normal saline, while Shengjiang group was gavaged with 3.6 g/kg of Shengjiang decoction, and S-H 1 : 1, 5 : 3 and 2 : 1 groups were gavaged with 7.2, 9.6 and 10.8 g/kg of corresponding S-H decoction, respectively. All groups were gavaged once a day for 7 consecutive days. The general condition of rats was observed. The contents of energy metabolizing enzymes glucokinase (GCK), pyruvate dehydrogenase (PDH), isocitrate dehydrogenase (ICD), Na⁺-K⁺-ATPase (Na⁺-K⁺-ATP) and adipose-triglyceride lipase (ATGL) in liver tissue of rats in each group were detected. The pathological morphology of gastric tissue was observed, and the gastric emptying rate and small intestinal propulsion were calculated. The contents of motilin (MTL), 5-hydroxytryptamine (5-HT), gastrin (GAS), somatostatin (SS) and vasoactive intestinal peptide (VIP) in gastric tissue were determined. **Results** Compared to those in the blank group, the gastric mucosa of the rats in the model group was incomplete, and the mucosal tissue was necrotic and exfoliated, with disorderly arranged glands and a large number of infiltrated inflammatory cells. Compared to those in the model group, local mucosal necrosis and shedding, as well as inflammatory cell infiltration were seen in the S-H 1 : 1 group. The gastric mucosa epithelial structure was complete, and the glands were neatly arranged in other medicinal groups, with no obvious inflammatory cell infiltration. Compared to those in the blank group, the contents of GCK, PDH, ICD and Na⁺-K⁺-ATP in liver tissue, gastric emptying rate and small intestinal propulsion, as well as the contents of 5-HT, MTL and GAS were significantly reduced in the model group, while the contents of SS and VIP significantly increased ($P <$

0.01)。Compared to those in the model group, the contents of GCK, PDH, ICD and $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ in liver tissue, gastric emptying rate and small intestinal propulsion, as well as the contents of 5-HT, MTL and GAS in stomach tissue significantly increased, while the contents of SS and VIP significantly decreased in Shengjiang group, S-H 5 : 3 and 2 : 1 groups; the contents of PDH and ICD in liver tissue significantly increased, while the contents of SS and VIP in stomach tissue significantly decreased in the S-H 1 : 1 group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Compared to those in the Shengjiang group, the contents of GCK, PDH, ICD, and $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ in liver tissue, gastric emptying rate, small intestinal propulsion, and the contents of 5-HT, MTL and GAS in stomach tissue significantly increased, while the VIP content significantly decreased in S-H 5 : 3 group; the contents of GCK, PDH, and $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ in liver tissue, and small intestinal propulsion significantly increased in S-H 2 : 1 group ($P < 0.01$ or $P < 0.01$). S-H 2 : 1 group had higher GCK, PDH, ICD contents in liver tissue and VIP content in stomach tissue, as well as lower gastric emptying rate and contents of 5-HT, MTL and GAS in stomach tissue than S-H 5 : 3 group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). **Conclusion** S-H decoction at different composition ratios all have effects on stomach cold syndrome by regulating the activity of energy metabolism enzyme and the content of brain-gut peptide. The effect is varied, and S-H at the ratio of 5 : 3 may be the best.

Keywords stomach cold syndrome; Shengjiang (*Rhizoma Zingiberis Recens*); Huangqin (*Radix Scutellariae*); mutual inhibition; energy metabolism; brain-gut peptide

(收稿日期: 2022-02-21; 修回日期: 2022-09-08)

[编辑: 王利芬]

· 信 息 窗 ·

《“十四五”中医药人才发展规划》印发： 为促进中医药传承创新发展提供坚强人才支撑

日前,为加快推进中医药人才工作,建设高质量中医药人才队伍,国家中医药管理局印发《“十四五”中医药人才发展规划》,提出到2025年,符合中医药特点的中医药人才发展体制机制将更加完善,培养、评价体系更加合理,人才规模快速增长,结构布局更趋合理,成长环境明显优化,培养和造就一支高素质中医药人才队伍,为促进中医药传承创新发展提供坚强的人才支撑。

《规划》分九部分,确定六项重点工作任务,一是加强中医药高层次人才队伍建设,二是加强基层中医药人才队伍建设,三是推进中医药专业人才队伍建设,四是统筹加强其他重点领域中医药人才培养,五是加强高水平中医药人才发展平台建设,六是完善中医药人才培养体系。

《规划》提出,要加强中医药高层次人才队伍建设,壮大中医药领军人才,培育中医药青年拔尖人才,集聚多学科交叉创新人才,培养高层次中西医结合人才,实施中国中医科学院人才强院计划。要加强基层中医药人才队伍建设,加大基层人才供给力度,提升基层中医药人才服务能力。要推进中医药专业人才队伍建设,加强中医医师队伍、中药师队伍、中医护理队伍、中医技师队伍和少数民族医药人才队伍建设。要统筹加强中医药急需紧缺人才、健康服务技术技能人才、管理人才、文化传播和国际化人才、标准化人才等专业人才队伍建设。要加强中医药人才发展平台建设,加强高水平中医药重点学科、名老中医药专家传承工作室、中医临床教学基地建设,推动形成中医药人才发展高地。要完善中医药人才培养体系,深化中医药教育改革,健全中医药毕业后教育,推进中医药继续教育,深化中医药师承教育,加快构建符合中医药特点的人才培养模式。

《规划》强调,要加强组织领导,加大投入保障,组织实施中医药特色人才培养工程(岐黄工程)。要完善发展机制,健全人才评价体系和激励机制,落实用人自主权。要强化《规划》实施的评估督导,建立评估指标体系,组织开展中期、末期评估。要加强宣传引导,选树中医药行业优秀人才模范和工作典型,营造识才爱才敬才用才的良好发展环境。

《规划》要求,各级中医药主管部门要坚持人才优先发展战略,结合本地实际制定中医药人才发展规划和实施方案,组织开展具有区域特色的中医药人才项目,用好用足人才培养、引进和使用等方面的政策措施,形成联动推进中医药人才工作的生动局面。

(本文来源《中华中医药学会》)