

杜仲不同提取物对帕金森病小鼠的治疗作用及谱效关系研究

李莉莉¹, 马宁宁¹, 范姗姗¹, 马 静¹, 杨昌硕¹, 郭 虹^{2*}, 宋丽丽^{1*}, 庄朋伟²

1. 天津中医药大学, 天津市现代中药重点实验室-省部共建国家重点实验室培育基地, 天津 301617

2. 方剂学教育部重点实验室, 天津市中药药理学重点实验室, 天津 301617

摘要: **目的** 探究杜仲不同提取物对帕金森病小鼠的治疗作用及其超高效液相色谱(UPLC)分析与治疗帕金森病的谱效关系。**方法** 通过小鼠爬杆实验、脑内纹状体多巴胺(DA)含量, 观察杜仲不同梯度的乙醇提取物对帕金森病小鼠的治疗作用; 采用超高效液相色谱-四级杆飞行时间质谱(UPLC-Q-TOF/MS)对杜仲不同提取物进行分析; 结合爬杆实验及DA水平结果, 采用偏最小二乘法回归(PLSR)分析建立其谱效关系, 明确杜仲治疗帕金森病的药效成分。**结果** 杜仲50%、75%乙醇提取物均能明显缩短小鼠爬杆时间; 杜仲75%乙醇提取物能显著增加小鼠脑内纹状体DA水平; PLSR分析结果显示, 杜仲中杜仲醇苷、鹅掌楸苷、5-羟甲基糠醛、咖啡酸与爬杆实验结果和纹状体多巴胺含量密切相关。**结论** 杜仲乙醇提取物具有抗帕金森病作用, 其中75%乙醇提取物效果最显著; 杜仲醇苷、鹅掌楸苷、5-羟甲基糠醛、咖啡酸可能是杜仲治疗帕金森病的主要有效成分。

关键词: 杜仲; 帕金森病; 谱效关系; 偏最小二乘法回归分析; 杜仲醇苷; 鹅掌楸苷; 5-羟甲基糠醛; 咖啡酸

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2019)06-1400-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.06.021

Therapeutic effects and spectra-effect relationship of different extracts of *Eucommia ulmoides* on Parkinson's disease mice

LI Li-li¹, MA Ning-ning¹, FAN Shan-shan¹, MA Jing¹, YANG Chang-shuo¹, GUO Hong², SONG Li-li¹, ZHUANG Peng-wei²

1. Tianjin Key Laboratory of Modern Chinese Medicine-Provincial and State-owned National Key Laboratory Breeding Base, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China

2. Key Laboratory of Prescription Medicine of Ministry of Education, Tianjin Key Laboratory of Pharmacology of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China

Abstract: **Objective** To explore the therapeutic effects of different extracts of *Eucommia ulmoides* on Parkinson's disease mice, as well as the relationship between ultra-high performance liquid chromatography (UPLC) fingerprint and treatment of Parkinson's disease. **Methods** Through the mouse climbing test and the content of dopamine (DA) in the striatum of the brain, the therapeutic effect of different gradient ethanol extracts of *E. ulmoides* on Parkinson's disease mice was observed. Ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry (UPLC-Q-TOF/MS) was used to analyze the fingerprints of different extracts of *E. ulmoides*. Combined with the results of climbing rod test and dopamine content, partial least squares regression (PLSR) analysis was used to establish the pharmacodynamic relationship between *E. ulmoides* and Parkinson's disease. **Results** The 50% and 75% ethanol extracts of *E. ulmoides* could significantly shorten the climbing time. The 75% ethanol extract of *E. ulmoides* significantly increased the striatum dopamine content in the brain. The results of PLSR analysis showed that ulmoside, lirioidendrin, 5-hydroxymethylfurfural, caffeic acid in *E. ulmoides* were closely related to climbing rod and dopamine content of mice. **Conclusion** The ethanol extract of *E. ulmoides* has anti-Parkinson's disease effect, and the effect is most significant with 75% alcohol extract. The compounds of ulmoside, lirioidendrin, 5-hydroxymethylfurfural, caffeic acid may be the main active ingredients of *E. ulmoides* in the treatment of Parkinson's disease.

收稿日期: 2018-12-03

基金项目: “十三五”期间天津市高等学校“创新团队培养计划”(TD13-5050); 国家自然科学基金青年项目(81703827)

作者简介: 李莉莉(1994—), 女, 在读硕士, 从事中药药理方面研究。Tel: 15320038780 E-mail: lili2017xs@163.com

*通信作者 郭 虹, 副研究员, 从事中药脑血管及神经药理研究。Tel: 15522311879 E-mail: cacti1983@163.com

宋丽丽, 高级实验师, 从事中药体内成分分析及代谢组学研究。Tel: 18622545966 E-mail: slil0204@163.com

Key words: *Eucommia ulmoides* Oliv.; Parkinson's disease; spectral effect relationship; partial least squares regression analysis; ulmoside; liriiodendrin; 5-hydroxymethylfurfural; caffeic acid

杜仲为杜仲科 (Eucommiaceae) 杜仲属 *Eucommia* Oliver 植物杜仲 *E. ulmoides* Oliv. 的干燥树皮, 是我国名贵的滋补药材。杜仲性温, 味甘, 归肝、肾经, 具有补肝肾、强筋骨、安胎的功效^[1]。现代研究发现, 杜仲主要成分为木脂素类、多糖类、环烯醚萜类、黄酮类、氨基酸类等, 其主要有增强免疫力、抗癌、抗病毒、抗氧化、抗衰老、抗肝纤维化、抗炎等药理作用^[2]。帕金森病 (Parkinson's disease, PD) 是一种常见的渐进性神经系统退行性疾病, 发病机制主要为多巴胺 (DA) 能神经元退行性死亡, 临床表现主要为静止性震颤、运动迟缓、肌强直、姿势步态不稳等运动症状及情绪障碍、睡眠障碍、感觉障碍、自主神经功能障碍等非运动症状^[3-4]。

1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶 (MPTP) 是建立 PD 模型的常用药物, 能够直接损伤小鼠脑内多巴胺能神经元, 减少多巴胺的产生, 导致小鼠出现 PD 症状^[5]。爬杆实验是常用的衡量 PD 动物模型运动状况的行为学指标^[6-7]。近年来, 中药谱效关系在药效物质基础方面的研究应用越来越广泛^[8], 而杜仲改善 PD 症状的药效物质基础研究较少。本实验采用不同梯度的杜仲乙醇提取物 ig 给予 MPTP 诱导的 PD 小鼠, 检测其行为学指标爬杆时间和脑内纹状体 DA 水平, 以考察杜仲对 PD 的治疗作用。同时采用超高效液相色谱-四级杆飞行时间质谱 (UPLC-Q-TOF/MS) 技术对杜仲不同提取物进行分析, 并将分析结果与爬杆时间和 DA 含量相结合, 分别进行偏最小二乘回归法 (PLSR) 分析, 阐述 UPLC 特征峰与抗 PD 作用的相关性, 综合分析 2 组谱效关系得出的结果, 找出与治疗 PD 密切相关的有效成分, 为深入研究杜仲治疗 PD 作用及阐明其药效物质基础提供依据。

1 材料

1.1 药物及试剂

杜仲药材购于河北省安国药材批发市场, 经天津中医药大学李天祥教授鉴定为杜仲科杜仲属植物杜仲 *Eucommia ulmoides* Oliv. 的干燥树皮。

无水乙醇购自天津市康科德科技有限公司; MPTP (批号 SLBS6630, 质量分数≥98%)、盐酸 DA (批号 606A023, 质量分数≥98%) 均购自美国 Sigma 公司; 熊果酸 (批号 1213A025, 质量分数≥

98%)、京尼平 (批号 117B021, 质量分数≥98%) 购自北京索莱宝科技公司。高氯酸 (批号 201201) 购自天津市鑫源化工有限公司。

1.2 动物

清洁级雄性 C57BL/6J 小鼠, 60 只, 体质量 19~23 g, 由北京华阜康生物科技股份有限公司提供, 动物合格证号 SCXK (京) 2014-0004。

1.3 仪器

高效液相色谱系统 (Agilent 公司, 美国); 电化学检测器 (Antec Leyden 公司, 荷兰); Waters 反相 C₁₈ 色谱柱、Waters ACQUITY UPLC HSS T3 C₁₈ 色谱柱 (100 mm×2.1 mm, 1.8 μm)、超高效液相色谱-质谱联用仪 (Waters 公司, 美国); 万分之一天平 (上海赞衡衡器有限公司)。

2 方法

2.1 杜仲提取物的制备

分别称取 50 g 杜仲至 1 L 圆底烧瓶中, 分别加入 10 倍量即 500 mL 纯水及 25%、50%、75%、95% 乙醇, 回流提取 2 h, 抽滤, 将药渣按同样方法加入 8 倍量溶剂, 回流提取 2 h, 抽滤, 2 次提取的药液合并旋蒸至 50 mL, 即制成含生药 1 g/mL 的药液。

2.2 PD 模型的制备、分组及给药

将 60 只小鼠按体质量随机分为对照组、模型组、杜仲纯水提取物组 (纯水组) 及杜仲 25%、50%、75%、95% 乙醇提取物组 (25%、50%、75%、95% 乙醇组)。小鼠适应性饲养 3 d, 自由饮食饮水。对照组、模型组小鼠 ig 给予蒸馏水 (0.01 mL/g), 纯水组及 25%、50%、75%、95% 乙醇组分别 ig 给予相应的药液 (0.01 mL/g), 连续给药 3 d。第 4 天开始, 模型组、纯水组和 25%、50%、75%、95% 乙醇组小鼠每天给药 1 h 后 ip 给予 MPTP (30 mg/kg), 3~5 min 后小鼠出现震颤、站立行走不稳、毛发竖立等症状。对照组小鼠 ip 等剂量生理盐水, 连续 5 d。

2.3 爬杆实验

取 1 根长约 60 cm, 直径约 1 cm 的竖杆, 顶端固定直径约 2.5 cm 的塑料小球, 竖杆缠上纱布以防打滑。将小鼠头部朝下置于顶端球上。记录其开始向下爬行到双后肢落地的时间, 如小鼠中途停顿或反向爬行, 则重新测量, 超过 60 s 则记为 60 s。正

式实验前 3 d 每天进行训练使小鼠适应爬杆行为。末次给药 1 h 后为正式实验,重复 3 次,每次间隔 5 min。

2.4 小鼠脑内纹状体 DA 含量测定^[9]

2.4.1 样品制备 爬杆实验结束后,将小鼠快速断头取脑,冰上剥离纹状体,称质量,每毫克组织加 10 μ L 0.1 mol/L 高氯酸溶液,匀浆,4 $^{\circ}$ C、14 000 r/min 离心 20 min,取上清,置于冰上备用。

2.4.2 对照品溶液的制备 精密称取对照品 DA 10 mg,分别置于 10 mL 量瓶中,加高氯酸定容至刻度,过 0.22 μ m 微孔滤膜,取续滤液备用。

2.4.3 HPLC 色谱条件 色谱柱: Waters 反相 C₁₈ 色谱柱 (150 mm $\times$ 4.5 mm, 5 μ m); 流动相为 19% 甲醇-3%乙腈-78%水 (含辛烷基 11.56 mmol/L、NaH₂PO₄ 100 mol/L、EDTA-2Na 0.095 mmol/L), pH 3.3~3.4; 体积流量 1 mL/min; 柱压 1.35×10^4 kPa; 进样体积 10 μ L。

2.5 杜仲不同提取物的 UPLC-Q-TOF/MS 分析

2.5.1 色谱条件 Waters Acquity UPLC HSS T3 C₁₈ 色谱柱 (100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.8 μ m), 流动相为 0.1%甲酸乙腈溶液 (A)-0.1%甲酸水溶液 (B), 梯度洗脱程序见表 1。柱温 40 $^{\circ}$ C; 体积流量 0.3 mL/min; 样品室温度 4 $^{\circ}$ C; 进样体积 5 μ L, 进样时间 33 min。

表 1 UPLC-Q-TOF/MS 梯度洗脱条件
Table 1 UPLC-Q-TOF/MS elution conditions

t/min	A/%	B/%
0	5	95
2.0	30	70
25.0	90	10
25.1	5	95
33.0	5	95

2.5.2 质谱条件 运用四极杆飞行时间串联质谱仪进行分析与鉴定。采用正、负离子模式,电喷雾离子源 (ESI 源)。毛细管电压 1.0 kV, 脱溶剂温度 300 $^{\circ}$ C, 离子源温度 120 $^{\circ}$ C, 脱溶剂气体积流量 800 L/h, 锥孔气体积流量 50 L/h。相对分子质量扫描范围 m/z 50~1 200, 数据采集采用 MSE 模式。

2.5.3 对照品溶液的制备 精密称取对照品熊果酸、京尼平各 1 mg, 分别置于 10 mL 量瓶中, 加甲醇定容至刻度, 过 0.22 μ m 微孔滤膜, 取滤液备用。

2.5.4 供试品溶液的制备 分别称取杜仲 5 种不同

提取液, 用 50%乙醇配制成质量浓度为生药 20 mg/mL 的供试品溶液, 超声 (功率 100 W, 频率 40 kHz) 30 min 后过 0.22 μ m 微孔滤膜, 取续滤液, 备用。

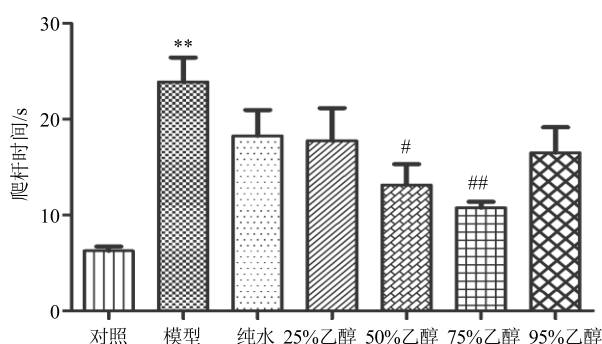
2.6 统计学分析

数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用单因素方差分析 (One-way ANOVA), 采用 SPSS 17.0 软件进行分析。

3 结果

3.1 杜仲不同提取物对 PD 小鼠爬杆时间的影响

给药结束后, 模型组小鼠精神萎靡, 行动迟缓, 步态不稳。与对照组比较, 模型组小鼠爬杆时间显著延长 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 其他各给药组小鼠爬杆时间缩短, 其中, 50%及 75%乙醇组小鼠爬杆时间差异显著 ($P < 0.05$ 、0.01), 见图 1。



与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$, 下同

** $P < 0.01$ vs control group, # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs model group, same as below

图 1 杜仲不同提取物对 PD 小鼠爬杆时间的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

Fig. 1 Effects of different extracts of *E. ulmoides* on climbing time of PD mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

3.2 杜仲不同提取物对 PD 小鼠脑纹状体 DA 水平的影响

采用 HPLC-ECD 法检测 PD 小鼠脑纹状体组织 DA 水平。如图 2 所示, 与对照组比较, 模型组小鼠纹状体组织中 DA 量明显降低 ($P < 0.01$); 给予杜仲提取物后, 75%乙醇组小鼠纹状体组织中 DA 水平显著升高 ($P < 0.05$)。

3.3 杜仲不同提取物的 UPLC-Q-TOF/MS 分析

采用正、负离子模式采集杜仲不同提取物的质谱信息。通过 MassLynx 4.1 工作站得到杜仲 5 种提取物的正、负离子模式 UPLC 叠加图 (图 3)。与对照品比对并结合文献信息^[10-20], 对 UPLC 分离出的 50 个主要特征峰进行分析, 鉴定出 26 个成分 (表 2)。

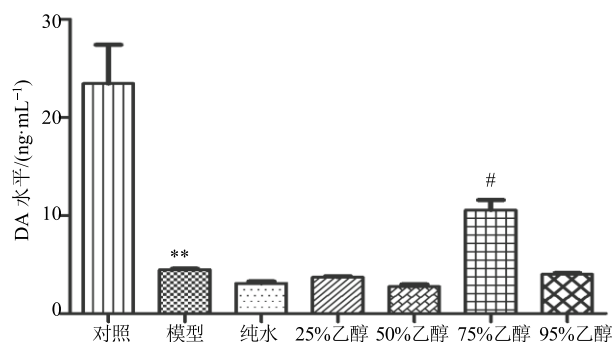


图 2 杜仲不同提取物对 PD 小鼠脑纹状体 DA 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Fig. 2 Effects of different extracts of *E. ulmoides* on content of striatal dopamine in brain of PD mice ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

3.4 杜仲提取物 UPLC 图谱与抗 PD 作用的 PLSR 分析

采用 SIMCA-P 12.0 数据处理软件, 将 UPLC 检测出的 50 个化合物的相对含量 (X) 分别与爬杆时间 (Y_1)、DA 水平 (Y_2) 2 个药效指标进行 PLSR 分析, 经处理计算得到各变量标准化的回归系数和变量重要性投影 (VIP) 值。

3.4.1 杜仲提取物 UPLC-Q-TOF/MS 分析结果与爬杆时间的相关性 杜仲提取物化合物分析结果与爬杆时间的 PLSR 回归系数及 VIP 贡献值见图 4。分析结果显示杜仲提取物中的色谱峰有 23 个与爬杆时间呈正相关, 其余 27 个峰与其呈负相关。一般而

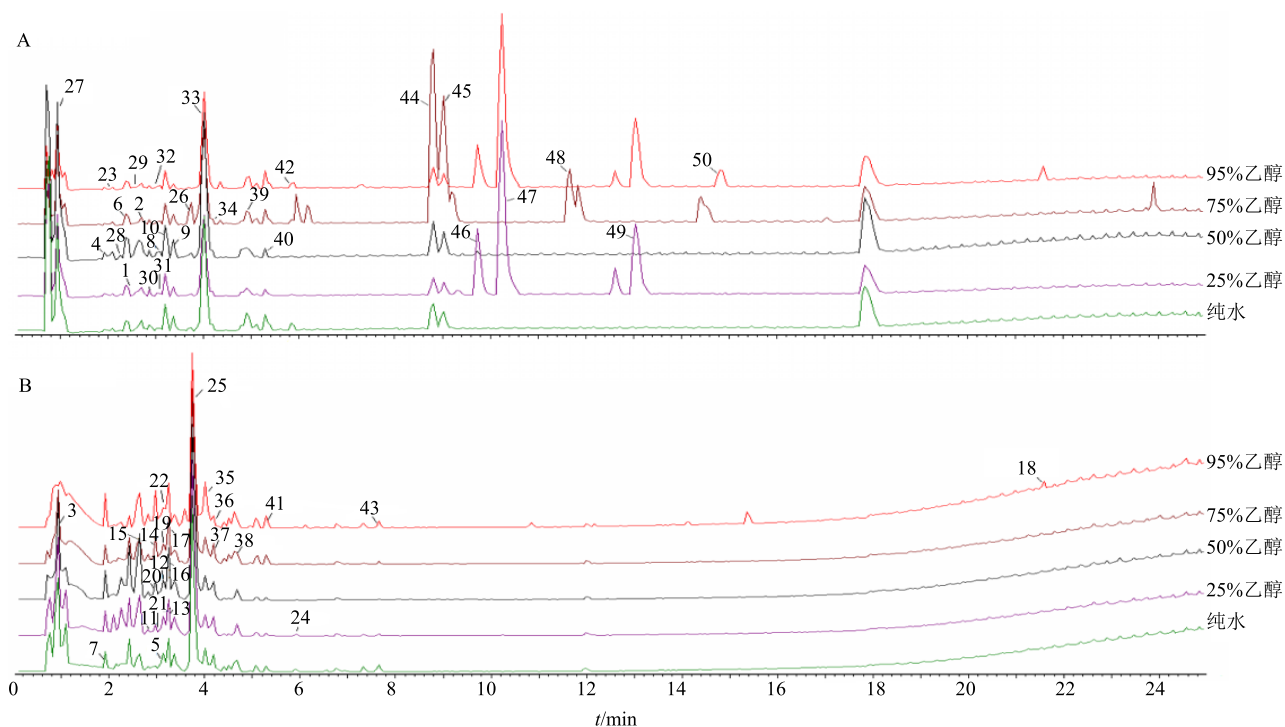


图 3 杜仲不同提取物在正 (A) 和负 (B) 离子模式下的总离子流图

Fig. 3 Total ion flow chart of different extracts of *E. ulmoides* in positive (A) and negative (B) ion mode

言, VIP 值 > 1 , 说明其对模型有显著贡献, 对爬杆时间进行 PLSR 分析, 结果显示峰 26、48、45、44、13、5、31、10、4、19、23、22、35、36、9、49、47、30、3 的 VIP 值 > 1 , 说明在杜仲提取物的 UPLC 分析结果中, 相对应的成分对药效指标爬杆时间发挥着重要影响。

3.4.2 杜仲提取物 UPLC-Q-TOF/MS 分析结果与 DA 水平的相关性 杜仲提取物化合物分析结果与 DA 水平的 PLSR 回归系数及 VIP 贡献值见图 5。杜仲提取物中的色谱峰中有 21 个与 DA 水平呈正相关,

其余 29 个峰与其呈负相关。同时对纹状体 DA 水平也进行 PLSR 分析, 结果显示峰 45、44、48、22、7、26、24、41、33、5、29、31、23 的 VIP 值 > 1 , 说明在杜仲提取物的 UPLC 指纹图谱中, 相对应的成分对药效指标纹状体 DA 水平发挥着重要影响。

结合 2 个药效指标的 PLSR 分析结果, 发现 45、44、48、22、26、5、31、23 号峰对爬杆时间和 DA 水平均发挥着重要的影响, 其中 5、22、23、26 号峰经鉴定分别为杜仲醇苷、鹅掌楸苷、5-羟甲基糠醛、咖啡酸。

表 2 杜仲提取物 UPLC-Q-TOF/MS 图谱特征峰的指认结果

Table 2 Identification of characteristic peaks of *E. ulmoides* extracts by UPLC-Q-TOF/MS

峰号	化合物	<i>t_R</i> /min	相对分子质量	[M+H] ⁺ /[M-H] ⁻ 实测值 (<i>m/z</i>)	分子式	离子碎片 (<i>m/z</i>)
1	愈创木基丙三醇 ^[9-10]	2.524 6	214.084 1	213.074 3	C ₁₀ H ₁₄ O ₅	195, 166, 151
2	京尼平*	2.600 8	226.084 1	225.074 8	C ₁₁ H ₁₄ O ₅	207, 123, 101
3	异麦芽糖 ^[11]	0.955 5	342.116 2	341.106 8	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	323, 309, 161
4	koaburaside ^[12]	1.891 1	332.110 7	333.114 7	C ₁₄ H ₂₀ O ₉	171, 156
5	杜仲醇苷 ^[13]	3.055 8	350.157 7	349.147 2	C ₁₅ H ₂₆ O ₉	187, 169
6	绿原酸 ^[14]	2.387 3	354.095 1	353.086 8	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	191, 179, 135
7	京尼平苷酸 ^[14]	1.968 8	374.121 3	373.112 6	C ₁₆ H ₂₂ O ₁₀	211, 167, 149
8	绿原酸甲酯 ^[14]	2.954 4	368.110 7	367.102 0	C ₁₇ H ₂₀ O ₉	352, 205
9	松脂素 ^[14]	3.260 9	358.141 6	357.132 4	C ₂₀ H ₂₂ O ₆	342, 339, 327
10	橄榄树脂素 ^[13]	3.215 4	376.152 2	375.143 8	C ₂₀ H ₂₄ O ₇	360, 179
11	赤式-二羟基脱氢二松柏醇/苏式-二羟基 脱氢二松柏醇 ^[15]	2.864 9	392.147 1	391.137 8	C ₂₀ H ₂₄ O ₈	373, 355
12	中脂素 ^[14]	3.198 8	388.152 2	387.142 1	C ₂₁ H ₂₄ O ₇	357, 369
13	(+)-松脂酚- <i>O</i> -β- <i>D</i> -吡喃葡萄糖苷 ^[16]	3.218 7	520.194 5	519.186 0	C ₂₆ H ₃₂ O ₁₁	357, 341
14	1-羟基松脂素单糖苷 ^[14]	2.953 1	536.189 4	535.180 7	C ₂₆ H ₃₂ O ₁₂	373
15	橄榄素单糖苷 ^[14]	2.622 3	538.205 0	537.194 3	C ₂₆ H ₃₄ O ₁₂	365
16	杜仲脂素 A ^[13,17]	3.216 7	550.205 0	549.196 8	C ₂₇ H ₃₄ O ₁₂	387, 372, 357
17	丁香树脂酚葡萄糖苷 ^[14]	3.248 8	580.215 6	579.207 2	C ₂₈ H ₃₆ O ₁₃	417
18	熊果酸*	21.584 6	456.360 3	455.351 9	C ₃₀ H ₄₈ O ₃	437, 409, 247
19	松脂醇二葡萄糖苷 ^[13,16]	3.127 9	682.247 3	681.239 2	C ₃₂ H ₄₂ O ₁₆	519, 357, 151
20	1-羟基松脂素二糖苷 ^[14]	3.064 0	698.242 2	697.234 4	C ₃₂ H ₄₂ O ₁₇	535
21	中脂素二糖苷 ^[14]	3.094 2	712.257 8	711.251 3	C ₃₃ H ₄₄ O ₁₇	549, 387
22	鹅掌楸苷 ^[14]	3.157 0	742.268 4	741.259 8	C ₃₄ H ₄₆ O ₁₈	579
23	5-羟甲基糠醛 ^[18]	2.007 4	126.031 7	127.039 5	C ₆ H ₆ O ₃	109, 97
24	1-去氧杜仲醇 ^[19]	5.989 0	172.109 9	171.101 1	C ₉ H ₁₆ O ₃	153, 143, 115
25	杜仲醇 ^[13]	3.740 2	188.104 9	187.096 3	C ₉ H ₁₆ O ₄	169, 125
26	咖啡酸 ^[14]	3.023 4	180.042 3	179.033 6	C ₉ H ₈ O ₄	135

*代表根据对照品确定物质

*represents determination of substances based on standards

4 讨论

近年来,越来越多的研究表明杜仲及其化学成分具有神经保护作用,不少治疗中枢神经系统疾病的临床成方或经方中均含有杜仲^[21],一些治疗 PD 的方剂中也多以杜仲入药^[22-24]。但目前杜仲对于 PD 的治疗还仅停留在临床阶段,少见实验依据。本研究观察了杜仲提取物对 PD 小鼠的治疗作用。运动功能障碍是 PD 患者的主要临床表现,爬杆实验主要考察 PD 小鼠的肢体运动协调能力,可以作为金指标反映药物对 PD 的治疗作用。PD 主要病理改变是黑质致密部 DA 神经元严重缺失,纹状体 DA 水平下降,导致肌肉运动障碍、运动震颤麻痹等,因此调节脑内纹状体 DA 水平亦是治疗 PD 的关键。

小鼠 ip MPTP 后出现静止性震颤、运动协调能力下降、运动减少等 PD 症状,ig 给予杜仲提取物后,其行为活动状态有所改善。与模型组小鼠比较,杜仲给药组小鼠爬杆时间、纹状体 DA 水平亦明显改善,证实杜仲对 PD 有治疗作用。

本研究采用 UPLC-Q-TOF/MS 法分析并鉴定出杜仲不同提取物中 26 种化合物。分别将行为学指标爬杆时间、纹状体 DA 水平与所得到的特征峰进行 PLSR 分析,评价各成分对药效作用的贡献,再将对爬杆时间和 DA 水平起较大贡献的 2 组成分进行合并分析,发现杜仲醇苷、鹅掌楸苷、5-羟甲基糠醛、咖啡酸等成分既能改善 PD 小鼠运动障碍,又能升高其纹状体 DA 水平,可能是杜仲治疗 PD 的药效成分。

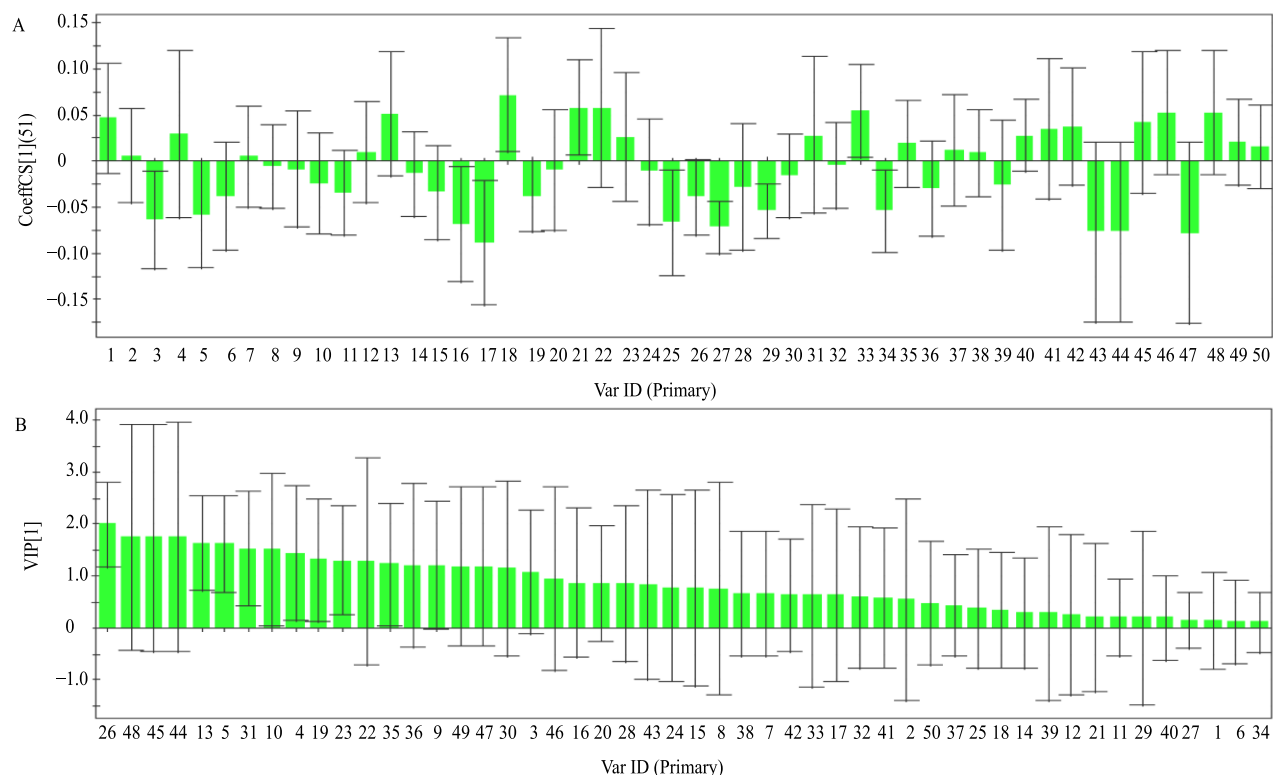


图 4 杜仲 HPLC-Q-MS-TOF 分析结果与爬杆时间变化的 PLSR 标准化回归系数 (A) 及 VIP 贡献 (B)

Fig. 4 PLSR normalized regression coefficient (A) and VIP contribution of fingerprints by HPLC-Q-MS-TOF and changes of climbing time (B)

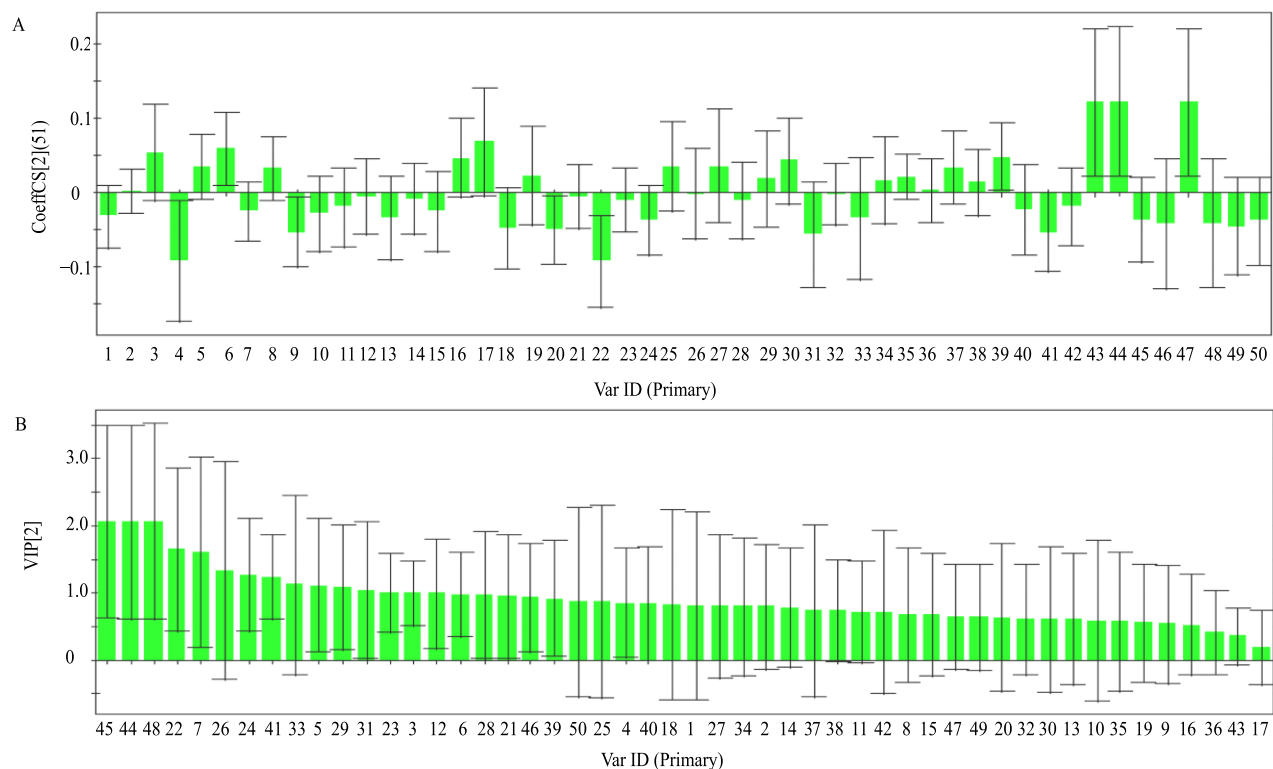


图 5 杜仲 HPLC-Q-MS-TOF 分析结果与 DA 水平变化的 PLSR 标准化回归系数 (A) 及 VIP 贡献 (B)

Fig. 5 PLSR standardized regression coefficient (A) and VIP contribution of fingerprints by HPLC-Q-MS-TOF and DA content changes (B)

PD 患者及动物模型体内存在氧化应激和神经损伤,并伴随着炎症的产生^[25-26]。据文献报道^[27],鹅掌楸苷具有抗炎镇痛作用;5-羟甲基糠醛具有抗氧化、脑神经保护的作用,且能减轻纹状体神经元损伤^[28-29];咖啡酸具有抗氧化、抗炎及抑菌作用^[30],这与本实验结果一致。下一步将继续对这几种成分进行药效验证,为深入研究杜仲治疗 PD 的药效物质基础提供依据。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [2] 王娟娟,秦雪梅,高晓霞,等. 杜仲化学成分、药理活性和质量控制现状研究进展 [J]. 中草药, 2017, 48(15): 3228-3237.
- [3] 陈宗元,黄春丽,官检发,等. 帕金森病的流行病学、发病机制及药物的研究进展 [J]. 海峡药学, 2018, 30(3): 48-50.
- [4] 蔡丽,刘毅,李文涛,等. 止颤汤联合西药治疗帕金森病 43 例随机双盲对照研究 [J]. 江苏中医药, 2017, 49(11): 33-35.
- [5] Jacksonlewis V, Blesa J, Przedborski S. Animal models of Parkinson's disease [J]. *Neurophysiol Clin*, 2014, 18(1/2): S183-S185.
- [6] 董璐萌,王雅溶,陈阳,等. 菊花提取物对帕金森病小鼠的保护作用及机制研究 [J]. 营养学报, 2017, 39(3): 294-298.
- [7] 孙法威. 依达拉奉可经 Nrf2/ARE 通路对 PD 小鼠黑质多巴胺神经元起保护作用 [D]. 石家庄: 河北联合大学, 2014.
- [8] 王琰,王虹熙. 中药谱效关系的研究进展 [J]. 中国民族民间医药, 2018, 27(4): 50-52.
- [9] Ren Y R, Nishida Y, Yoshimi K, et al. Genetic vitamin E deficiency does not affect MPTP susceptibility in the mouse brain [J]. *J Neurochem*, 2006, 98(6): 1810-1816.
- [10] 朱红薇. 杜仲和新疆紫草的抗补体活性成分 [D]. 上海: 复旦大学, 2008.
- [11] Deyama T, Ikawa T, Kitagawa S, et al. The constituents of *Eucommia ulmoides* Oliv. III. Isolation and structure of a new lignan glycoside [J]. *Chem Pharm Bull*, 1986, 34(2): 523-527.
- [12] 侯娅,马阳,邹立思,等. 基于 UPLC-Triple TOF-MS/MS 技术的不同产地太子参水提物化学组成分析 [J]. 食品工业科技, 2015, 36(15): 275-280.
- [13] Chung M I, Lai M H, Yen M H, et al. Phenolics from *Hypericum geminiflorum* [J]. *Phytochemistry*, 1997, 44(5): 943-947.
- [14] 严颖,赵慧,邹立思,等. 杜仲化学成分的 LC-Triple TOF MS/MS 分析 [J]. 质谱学报, 2017, 38(1): 146-156.
- [15] 刘才英. 杜仲活性成分与土壤因子相关性及其化学成分 HPLC-Q-TOF-MS 分析的研究 [D]. 长沙: 湖南中医药大学, 2013.
- [16] Deyama T, Ikawa T, Kitagawa S, et al. The constituents of *Eucommia ulmoides* Oliv. V. isolation of dihydroxydehydrodiconiferyl alcohol isomers and phenolic compounds [J]. *Chem Pharm Bull*, 1987, 35(5): 1785-1789.
- [17] 何峰,王永林,郑林,等. UPLC-PDA-ESI-MS 分析杜仲中化学成分 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(3): 59-62.
- [18] Qi L W, Chen C Y, Li P. Structural characterization and identification of iridoid glycosides, saponins, phenolic acids and flavonoids in *Flos Lonicerae Japonicae* by a fast liquid chromatography method with diode-array detection and time-of-flight mass spectrometry [J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2010, 23(19): 3227-3242.
- [19] 尹宏权,齐秀兰,华会明,等. 云木香化学成分研究 [J]. 中国药物化学杂志, 2005, 15(4): 217-220.
- [20] 张忠立,左月明,李于益,等. 杜仲叶化学成分 II [J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(20): 118-120.
- [21] 冀晓敏. 从神经导向因子探讨右归丸“阴中求阳”促进 EAE 小鼠神经再生的作用机制 [D]. 北京: 首都医科大学, 2016.
- [22] 荆雷,马云枝. 马云枝教授治疗中晚期帕金森病经验总结 [J]. 光明中医, 2018, 33(19): 2813-2815.
- [23] 杨凯,邹久利,吉永相. 天麻钩藤饮治疗帕金森病临床疗效观察 [J]. 临床医学研究与实践, 2017, 2(9): 97-98.
- [24] 窦维华,刁丽梅. 补肾活血汤治疗帕金森病的临床研究 [J]. 长春中医药大学学报, 2010, 26(4): 501-502.
- [25] 吴红平. 帕金森病患者血清尿酸水平检测及其与神经营养、神经损伤、全身氧化应激反应的相关关系 [J]. 海南医学院学报, 2018, 24(20): 1806-1809.
- [26] 梁志刚,罗鼎真,王晓民. 氧化应激、线粒体功能障碍与帕金森病 [J]. 中国老年学杂志, 2018, 38(11): 2809-2812.
- [27] Jung H J, Park H J, Kim R G, et al. In vivo anti-inflammatory and antinociceptive effects of liriiodendrin isolated from the stem bark of *Acanthopanax senticosus* [J]. *Planta Med*, 2003, 69(7): 610-616.
- [28] 傅紫琴,王明艳,蔡宝昌. 5-羟甲基糠醛 (5-HMF) 在中药中的研究现状探讨 [J]. 中华中医药学刊, 2008, 26(3): 508-510.
- [29] Ya B L, Li H F, Wang H Y, et al. 5-HMF attenuates striatum oxidative damage via Nrf2/ARE signaling pathway following transient global cerebral ischemia [J]. *Cell Stress Chaperon*, 2016, 22(1): 1-11.
- [30] 包伊凡,沈新春,汪芳. 咖啡酸及其主要衍生物的研究进展及开发前景 [J]. 天然产物研究与开发, 2018, 30(10): 1825-1833.