

基于 Nrf2/HO-1/GPX4 信号通路及代谢组学探讨诃子砂烫炮制对溃疡性结肠炎增效作用机制

安悦言¹, 韩宇², 张强¹, 朱麒麟¹, 郝季¹, 杨武杰¹, 王小晴¹, 李学涛¹, 鞠成国^{1,3*}, 王巍^{1*}

1. 辽宁中医药大学药学院, 辽宁 大连 116600

2. 辽宁中医药大学医学检验学院, 辽宁 沈阳 110874

3. 国家中医药管理局中药炮制技术传承基地(辽宁), 辽宁 大连 116600

摘要: 目的 基于核转录因子 E2 相关因子(nuclear factor E2-related factor 2, Nrf2)/血红素加氧酶-1(heme oxygenase-1, HO-1)/谷胱甘肽过氧化物酶 4(glutathione peroxidase 4, GPX4) 信号通路及血清代谢组学探讨诃子砂烫炮制前后对溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)的作用机制, 揭示诃子炮制增效机制。方法 采用葡聚糖硫酸钠(dextran sulfate sodium, DSS)法建立大鼠 UC 模型, 给予诃子生品及砂烫品, 观察大鼠一般体征、疾病活动指数(disease activity index, DAI)、结直肠长度及结肠病理状态; 通过定量实时聚合酶链反应(quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR)法检测结肠组织中肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , *TNF- α*)、白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , *IL-1 β*)、*IL-10*、*Nrf2*、*HO-1*、*GPX4*、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, *SOD*)的 mRNA 相对表达; 通过 Western blotting 法检测结肠组织中 Nrf2、HO-1、GPX4 的蛋白相对表达; 采用超高效液相色谱-串联四极杆飞行时间质谱(ultra performance liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight mass spectrometry, UPLC-Q-TOF-MS)检测大鼠血清中非靶向代谢物, 筛选潜在生物标志物, 并结合人类代谢组学数据库(human metabolomics database, HMDB)和京都基因与基因组百科全书数据库(Kyoto encyclopedia database of genes and genomes, KEGG)分析潜在代谢通路。结果 诃子生品与砂烫品均能缓解 DSS 诱导的 UC 大鼠疾病症状、降低 DAI 评分、恢复结直肠长度、改善结肠组织病理损伤; 与模型组比较, 各组大鼠结肠中炎症因子与氧化应激因子的 mRNA 表达水平显著逆转($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001); Nrf2、HO-1、GPX4 的蛋白表达被回调, 除生品组对 GPX4 的调节作用外, 其余各因子均具有显著性($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001); 与诃子生品组比较, 诃子砂烫品在上述作用中表现出更佳效果, 其中砂烫品对 *Nrf2*、*HO-1* mRNA 表达、HO-1 蛋白表达的调节作用具有显著性($P < 0.001$)。共筛选得到 36 个潜在生物标志物, 其中, 诃子生品与砂烫品分别调控 10、12 个潜在生物标志物。诃子砂烫品通过作用于精氨酸生物合成等 8 条信号通路, 恢复机体内代谢物的平衡。结论 诃子经砂烫炮制后, 可能通过抑制炎症反应, 干预 Nrf2/HO-1/GPX4 信号通路, 调节血清代谢物与精氨酸生物合成等代谢通路, 发挥更强的改善 UC 作用。

关键词: 诃子; 炮制; 溃疡性结肠炎; 氧化应激; 代谢组学; 诃子酸; 诃黎勒酸; 鞣花酸; 没食子酸

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)02-0516-13

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.02.015

Analysis of enhanced efficacy mechanism of *Terminalia chebula* sand stir-frying processing on ulcerative colitis based on Nrf2/HO-1/GPX4 signaling pathway and metabolomics

AN Yueyan¹, HAN Yu², ZHANG Qiang¹, ZHU Qizhen¹, HAO Ji¹, YANG Wujie¹, WANG Xiaoqing¹, LI Xuetao¹, JU Chengguo^{1,3}, WANG Wei¹

1. College of Pharmacy, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116600, China

2. College of Medical Laboratory Science, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110847, China

3. Traditional Chinese Medicine Processing Technology Inheritance Base (Liaoning) of the State Administration of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116600, China

收稿日期: 2024-09-16

基金项目: 辽宁省教育厅高校基本科研项目(LJ212410162048); 辽宁省教育厅高校基本科研项目储备项目(2024-JYTCB-011); 辽宁中医药大学自然科学类重点项目(2021LZY034)

作者简介: 安悦言(1997—), 女, 博士研究生, 从事中药质量评价及新药开发研究。E-mail: 852762698@qq.com

*通信作者: 王巍(1979—), 女, 硕士生导师, 教授, 从事中药质量评价及新药开发研究。E-mail: ww_101737@126.com

鞠成国(1979—), 男, 博士生导师, 博士后合作导师, 教授, 从事中药炮制工艺与原理研究。E-mail: jcg7092357@163.com

Abstract: Objective To explore the mechanism of *Terminalia chebula* before and after sand stir-frying processing on ulcerative colitis (UC) based on nuclear factor E2-related factor 2 (Nrf2)/heme oxygenase-1 (HO-1)/glutathione peroxidase 4 (GPX4) signaling pathway and serum metabolomics, and to reveal the enhanced efficacy mechanism of *T. chebula* processing. **Methods** UC rat model was established using the dextran sulfate sodium (DSS) method. The raw and sand stir-fried *T. chebula* were administered by gavage to observe the general signs, disease activity index (DAI), the length of colorectum, and colon pathological status in rats. The mRNA relative expression levels of tumor necrosis factor- α (*TNF- α*), interleukin-1 β (*IL-1 β*), *IL-10*, *Nrf2*, *HO-1*, *GPX4*, and superoxide dismutase (*SOD*) in colon tissues were detected by quantitative real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR). The protein relative expression levels of Nrf2, HO-1, and GPX4 in colon tissues were detected by western blotting. Ultra-performance liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight mass spectrometry (UPLC-Q-TOF-MS) was performed to detect the serum non-targeted metabolites in rats, screen for potential biomarkers in serum, and analyze potential metabolic pathways in combination with the human metabolome database (HMDB) and Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG). **Results** The raw and sand stir-fried *T. chebula* both mitigated the disease symptoms of DSS-induced UC rats, reduced the DAI scores, restored the length of colorectum, and improved colonic pathological damage. Compared to the model group, the mRNA expression levels of inflammatory cytokines and oxidative stress cytokines in the colon of rats were significantly reversed ($P < 0.05, 0.01, 0.001$). The protein expression of Nrf2, HO-1, and GPX4 was restored, with all factors except for the regulation of GPX4 by the raw *T. chebula* group demonstrating significant effects ($P < 0.05, 0.01, 0.001$). Compared to the raw *T. chebula* group, the sand stir-fried *T. chebula* demonstrated superior efficacy in the above effects. Among these effects, the sand stir-fried *T. chebula* significantly regulated the expression of *Nrf2* and *HO-1* mRNA, as well as HO-1 protein expression ($P < 0.001$). A total of 36 potential biomarkers were screened, with the raw and sand stir-fried *T. chebula* regulating 10 and 12 potential biomarkers, respectively. The sand stir-fried *T. chebula* affected eight signaling pathways, including arginine biosynthesis, to restore the balance of metabolites in the body. **Conclusion** After being processed by sand stir-frying, *T. chebula* may exert a stronger ameliorative effect on UC by inhibiting inflammatory responses, interfering with the Nrf2/HO-1/GPX4 signaling pathway, and regulating metabolic pathways such as serum metabolites and arginine biosynthesis.

Key words: *Terminalia chebula* Retz.; processing; ulcerative colitis; oxidative stress; metabolomics; chebulinic acid; corilagin; ellagic acid; gallic acid

诃子收载于《中国药典》2020 年版一部,为使君子科植物诃子 *Terminalia chebula* Retz. 或绒毛诃子 *T. chebula* Retz. var. *tomentella* Kurt. 的干燥成熟果实,其味苦、酸、涩,性平,归肺、大肠经,具有涩肠止泻、敛肺止咳、降火利咽之功效^[1]。《本经逢原》中记载:“诃子,生用清金止嗽,煨熟固肠止泻”,表明诃子在临床应用时存在生熟异用现象^[2]。“煨”指的是古代“塘灰火煨”之法,其操作是将药物以湿纸、湿面等包裹,置于塘灰中加热,该法操作复杂,难以控制温度,在工业生产中较难实现,因此,寻找合理的现代炮制方法十分必要。砂煨法,即砂烫法,是以河砂为传热介质,将药物与河砂同炒,通过河砂包埋传递热量,使药物受热均匀。与古代塘灰火煨法相比,该方法不仅操作简单,而且适合工业生产,在原理上与古法相似,能够模拟古代塘灰火煨的炮制方法^[3]。

诃子酸涩性收,入于大肠,善能涩肠止泻,主要用于治疗肠风泻血、肠癖,即现代临床中的溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC)。前期研究表明,诃子生品与炮制品均能缓解 UC,且炮制品的药理作

用更好,但其炮制增效的科学内涵尚不清楚^[4]。氧化应激是 UC 重要的致病因素之一,机体氧化平衡失调将影响 UC 的发生与发展,加剧患者肠道粘膜的炎症反应^[5]。核转录因子 E2 相关因子 (nuclear factor E2-related factor 2, Nrf2) 是机体主要的抗氧化反应的重要因子,其能够通过影响活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 的产生,调控氧化还原平衡,维持细胞的正常功能^[6]。当 Nrf2 的泛素化和降解减弱时, Nrf2 的核表达被激活,通过与抗氧化反应元件结合,启动下游血红素加氧酶-1 (heme oxygenase-1, HO-1)、谷胱甘肽过氧化物酶 4 (glutathione peroxidase 4, GPX4)、超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 等抗氧化酶基因的转录,进而维持机体氧化还原稳态,抑制炎症反应^[7]。HO-1 既能够直接调节促炎因子的表达,又可以通过催化血红素分解产生一氧化碳,抑制炎症调节因子的表达,从而抑制促炎信号^[8]。GPX4 是一种脂质修复酶,能够清除机体内过量的 ROS,抑制脂质过氧化,保护细胞免受氧化应激的损伤^[12]。SOD 主要参与催化产生超氧自由基,清除并阻断自由基生成,是体

内重要的自由基清除剂^[14]。因此, Nrf2/HO-1/GPX4 信号通路可能是诃子治疗 UC 的关键途径。此外, UC 的发生与发展中还伴随机体内源物质代谢紊乱^[15]。代谢组学借助现代分析技术与生物信息学, 对机体内源代谢物的变化进行综合分析, 阐明内源代谢物的变化规律, 不仅与中医药的整体观相契合, 而且能够快速、准确地获得潜在生物标志物与代谢途径, 有助于深入理解中药对机体内源物质代谢情况的影响^[12]。

本研究基于 Nrf2/HO-1/GPX4 信号通路, 探究诃子炮制前后对 UC 的影响及潜在的作用机制, 并通过血清代谢组学分析内源代谢产物的变化, 深入解析诃子炮制增效机制, 为临床治疗 UC 与中药炮制机制的解析提供理论依据。

1 材料

1.1 动物

SPF 级雄性 SD 大鼠 40 只, 体质量 (220 ± 20) g, 购自辽宁长生生物技术股份有限公司, 动物生产许可证号为 SCXK(辽) 2020-0001。大鼠饲养于温度 (22 ± 2) ℃、相对湿度 (50 ± 3) %、12 h/12 h 光照/黑暗环境下饲养。本研究动物实验经辽宁中医药大学附属医院动物伦理委员会批准 [批准号 2019YS(DW)-010-01]。

1.2 药品与试剂

诃子药材购自河北安国药材市场, 产地为云南, 经辽宁中医药大学药学院宋慧鹏副教授鉴定为使君子科植物诃子 *T. chebula* Retz. 的干燥成熟果实。

葡聚糖硫酸钠 (dextran sulfate sodium, DSS, 批号 9011-18-1) 购自大连美仑生物技术有限公司; 美沙拉嗪肠溶片 (批号 20211002) 购自黑龙江天宏药业股份有限公司; 苏木素-伊红 (hematoxylin eosin, HE) 染色试剂盒 (批号 G1120) 购自北京索莱宝科技有限公司; Trizol (批号 A33250) 购自美国 Invitrogen 公司; Evo M-MLV 反转录预混型试剂盒 (批号 AG11728)、SYBR®Green Pro Taq HS 预混型定量实时聚合酶链反应 (quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR) 试剂盒 (批号 AG11738) 均购自艾科瑞生物科技有限公司; Nrf2 抗体 (批号 80593-1-RR)、HO-1 抗体 (批号 10701-1-AP)、GPX4 抗体 (批号 67763-1-Ig)、 β -肌动蛋白 (β -actin) 抗体 (批号 66009-1-Ig)、山羊抗兔二抗 (批号 SA00001-2)、山羊抗小鼠二抗 (批号 SA00001-

1) 均购自武汉三鹰生物技术有限公司; 甲醇 (质谱级)、乙腈 (质谱级) 均购自德国 Merck 公司; 甲酸 (质谱级) 购自美国 Fisher 公司; 纯净水购自杭州娃哈哈集团有限公司。

1.3 仪器

FSH-2A 型可调高速匀浆机 (常州市国旺仪器制造有限公司); Sigma3k15 型高速冷冻离心机 (德国 SIGMA 公司); FA1004B 型分析天平 (上海精密科学仪器有限公司); ABI GeneAmp PCR System 9700 型 PCR 仪 (美国应用生物系统公司); DYY-6C 型电泳仪 (北京六一仪器工厂); DU640 型蛋白核酸分析仪 (美国贝克曼); Agilent 1290 型快速高效液相色谱仪 (美国安捷伦科技有限公司); Agilent 6550 型 Q-TOF-MS 质谱仪 (美国安捷伦科技有限公司)。

2 方法

2.1 诃子砂烫炮制品的制备

取净河砂置锅内炒热, 倒入净诃子 100 g, 温度 (260 ± 10) ℃、翻埋 6 min, 取出放凉, 砸去果核, 留取果肉, 即得。

2.2 溶液的制备

取诃子生品及砂烫炮制品各 50 g, 粉碎, 过 200 目筛, 备用。称取诃子生品、炮制品粉末各 1.8 g, 加蒸馏水 20 mL, 配成质量浓度为 90 mg/mL 的混悬液, 经检测, 生品中诃子酸、诃黎勒酸、鞣花酸、没食子酸的质量分数分别为 101.48、140.63、12.74、3.13 mg/g, 炮制品中上述成分的质量分数分别为 6.35、15.73、36.94、10.84 mg/g。取美沙拉嗪肠溶片 16 片 (规格 0.25 g), 刮去包衣, 研磨成粉末, 称取 0.54 g, 加蒸馏水 20 mL, 配制质量浓度为 27 mg/mL 的混悬液, 备用。

2.3 动物分组、造模与给药

将大鼠按随机数字表法分为对照组、模型组、美沙拉嗪组 (0.27 g/kg, 临床等效剂量)、诃子生品组 (0.9 g/kg)、砂烫炮制品组 (0.9 g/kg), 每组 8 只。诃子各组给药剂量以《中国药典》2020 年版诃子最大日服用量计算, 按体表面积折算法换算而得, 除对照组外, 其余各给药组大鼠均自由饮用 5% DSS 溶液 5 d, 以大鼠毛色晦暗、聚堆现象明显、粪便隐血测试阳性为标准判定造模成功^[13], 对照组大鼠自由饮用蒸馏水。于造模第 4 天开始, 各给药组 ig 给予药物 (0.1 mL/kg), 对照组和模型组 ig 等体积蒸馏水, 连续给药 7 d。

2.4 大鼠一般体征及疾病活动指数 (disease activity index, DAI) 的测定

每日记录大鼠体质量变化,并计算大鼠体质量降低率;每日观察大鼠腹泻情况,并收集各组大鼠粪便,进行粪便隐血检测。将粪便放在载玻片上,滴加邻联甲苯胺溶液 2~3 滴,再滴加 3%过氧化氢 2~3 滴,立即观察显色结果,并记录数据^[14]。以大鼠体质量降低率、腹泻情况、粪便隐血评分的平均值为 DAI 得分,判断标准见表 1^[15]。

体质量降低率=1-当日体质量/第 1 天体质量

2.5 血清及结肠样本的收集

末次给药 1 h 后,眼眶取血,置于采血管中,4 ℃、3 000 r/min 离心 10 min,取上清,于-80 ℃保存,备用。各组大鼠禁食不禁水 24 h,ip 20%乌拉坦麻醉处死,剖开腹腔,剥离肛门到盲肠段结肠组

织,用 PBS 缓冲液冲洗,吸干水分后,测量每只大鼠结直肠长度。结直肠组织长度测定完毕后,迅速剪取距肛门 1 cm 以上结肠组织,沿肠系膜纵轴剪开,用 PBS 缓冲液冲洗,吸干水分后,取部分结肠组织以 4%多聚甲醛溶液固定,HE 染色,观察组织病理改变。另取部分结肠组织于-80 ℃保存,备用。

2.6 结肠组织中炎症因子及 Nrf2/HO-1/GPX4 信号通路相关因子 mRNA 相对表达量检测

称取各组大鼠结肠组织适量,使用 Trizol 试剂提取总 RNA。测定 RNA 浓度,并通过逆转录试剂盒合成 cDNA。根据 SYBR®Green Pro Taq HS 试剂盒说明书,进行 PCR 反应。PCR 循环反应条件为 95 ℃预变性 30 s,95 ℃变性 15 s,60 ℃退火 1 min,95 ℃延长 15 s,40 个循环。通过 2^{-ΔΔCt} 法计算每个样品中靶基因的相对表达量,引物序列见表 2。

表 1 DAI 评分标准

Table 1 DAI score criteria

评分	体质量降低率/%	腹泻情况	粪便隐血情况
0	0	正常	滴加试剂 2 min 后仍不显色
1	1~5	软便、松散	滴加试剂 10 s 后,由浅蓝色渐变蓝色
2	5~10	稀便、不成形	滴加试剂后初显浅蓝褐色,逐渐呈明显蓝褐色
3	10~15	稀水样便	滴加试剂后立即呈现蓝褐色
4	>15	稀水样便	肉眼可见血便

表 2 引物序列

Table 2 Primer sequence

基因	引物序列 (5'-3')
<i>TNF-α</i>	F: GGGCAGGTCTACTTTGGAGT R: GCTGGGTAGAGAACGGATGA
<i>IL-1β</i>	F: GGGATGATGACGACCTGCTA R: TGTCGTTGCTTGTCTCTCCT
<i>IL-10</i>	F: CGACGCTGTCATCGATTCT R: TAGATGCCGGGTGGTTCAAT
<i>Nrf2</i>	F: TTAAGCAGCATACAGCAGGACAT R: GGACAGTGGTAGTCTCAGCCT
<i>HO-1</i>	F: ACAGACAGAGTTTCTTCGCCAGA R: ATAAATTCCCACTGCCACGGTC
<i>GPX4</i>	F: CACGAGTTCCTGGGCTTGT R: GTCGGTTTTGCCTCATTGC
<i>SOD</i>	F: CAGTTGTGGTGTGACGACAGATT R: GGACCGCCATGTTTCTTAGAGT
<i>β-actin</i>	F: CACCATGTACCCAGGCATTG R: CCTGCTTGCTGATCCACATC

2.7 结肠组织中 Nrf2、HO-1、GPX4 蛋白相对表达检测

取 1 cm 大鼠结肠组织,加入适量裂解液匀浆,置于冰上裂解 30 min,4 ℃、12 000 r/min 离心 30 min,取上清。采用核酸蛋白检测仪测定各组样品蛋白浓度。蛋白样品经十二烷基硫酸钠-聚丙烯

酰胺凝胶电泳,转至 PVDF 膜,采用 5%脱脂奶粉封闭 1 h,洗膜,加入相应一抗 Nrf2 (1:6 000)、HO-1 (1:3 000)、GPX4 (1:10 000)、β-actin (1:5 000),4 ℃摇床孵育过夜。次日洗膜,与二抗 (1:2 000) 室温下摇床孵育 1 h,洗膜,滴加化学发光液发光,凝胶成像系统采集图像,采用 Image-J 软件计算目标蛋白灰度值。

2.8 代谢组学研究

2.8.1 血清样本处理 将大鼠血清样本解冻后,精密吸取 120 μL,加入 3 倍体积甲醇,涡旋 2 min,4 ℃、12 000 r/min 离心 10 min,取上清,氮气吹干,残渣加入 100 μL 50%甲醇复溶,涡旋 2 min,4 ℃、12 000 r/min 离心 10 min,取上清,进样分析。等体积吸取不同组别的同一测试样品混匀,制备质控 (quality control, QC) 样品,QC 样品进样体积与测试样品相同。

2.8.2 色谱条件 采用 Agilent Poroshell SB-C₁₈ 色谱柱 (100 mm×2.1 mm, 2.7 μm),流动相为水 (A)-乙腈 (B);梯度洗脱:0~3 min,3% B;3~4 min,3%~20% B;4~10 min,20%~40% B;10~15 min,

40%~100% B; 15~20 min, 100% B; 体积流量 0.3 mL/min; 柱温 25 °C; 进样体积 1 μ L。

2.8.3 质谱条件 电喷雾离子源 (Dual AJS ESI), 正/负离子模式, 毛细管电压 (Vcap) 正离子 4000 V、负离子 3500 V, 干燥气与鞘气均为高纯氮气, 干燥气体体积流量 11 L/min, 干燥气温度 150 °C, 雾化器压力 25 psi (1 psi=6.895 kPa), 鞘气体积流量 10 L/min, 鞘气温度 350 °C, 碎裂电压 125 V, 一级质荷比检测范围 m/z 100~1000。采用 auto MS/MS 模式, 利用数据库查询等方法对化学成分进行解析。样本队列中每 6 个样品间进 1 针 QC 样品, 用以监测和评价系统的稳定性。

2.8.4 代谢数据处理 将获得的质谱原始数据文件导入 Agilent MassHunter Profinder (B.08.00 版) 软件中, 进行峰提取、峰对齐、峰归属、峰匹配及峰校正等处理, 最终获得质谱矩阵信息并以“CEF”格式导出, 借助 Mass Profiler Professional B.14.00 软件将所得数据进行归一化、标准化处理, 得到代谢物及其丰度质谱数据矩阵信息。

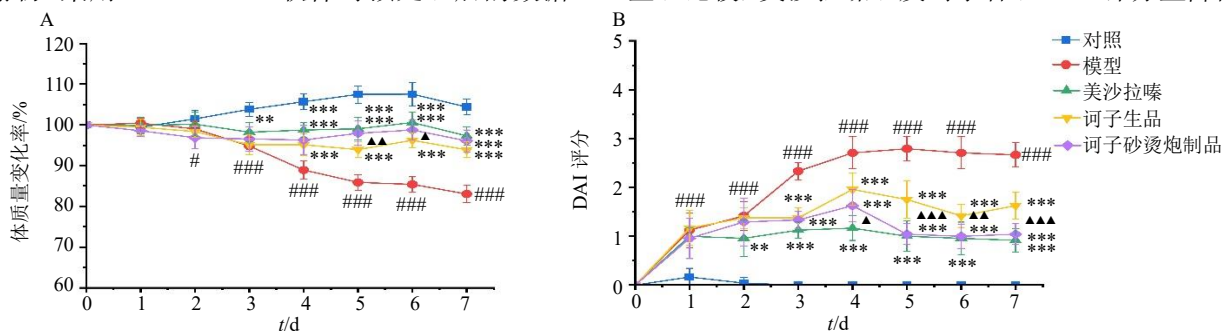
2.8.5 差异代谢物的筛选及代谢通路分析 采用多元变量统计与单变量统计, 并结合文献筛选组间差异代谢物。在多元变量统计中, 采用变量权重 (variable importance in projection, VIP) 值和相关系数 $|P(\text{corr})|$ 筛选对组间分类影响较大代谢物, 以 $VIP > 1.5$ 、 $|P(\text{corr})| > 0.7$ 的代谢物作为差异代谢物; 同时, 以单变量统计中的变异倍数 (fold change, FC) 和 t 检验进一步筛选差异代谢物, $FC > 2$ 、 $P < 0.05$ 得到差异代谢物, 即以 $VIP > 1.5$ 、 $|P(\text{corr})| > 0.7$ 、 $FC > 2$ 、 $P < 0.05$ 为标准, 筛选差异代谢物。采用 SIMCA 14.1 软件对预处理后的数据

进行自动建模分析, 采用主成分分析 (principal component analysis, PCA) 法对各组样本分布情况进行考察, 采用正交偏最小二乘法判别分析 (orthogonal partial least squares discriminant analysis, OPLS-DA) 进行 2 组间差异分析。将最终筛选得到的差异代谢物与人类代谢组学数据库 (human metabolomics database, HMDB)、京都基因与基因组百科全书数据库 (Kyoto encyclopedia database of genes and genomes, KEGG)、Massbank、PubChem 等数据库进行比对, 对其进行鉴定。将鉴定得到的潜在生物标志物导入 MetaboAnalyst 数据库进行通路富集分析, 随后借助 KEGG 数据库对诃子炮制品涉及到的代谢通路进行预测分析。

3 结果

3.1 对 UC 大鼠一般体征、DAI 评分的影响

对照组大鼠一般体征良好, 体质量呈上升趋势, 未出现腹泻及便血现象; 与对照组比较, 模型组大鼠体质量逐渐降低、毛色晦暗、聚堆现象明显, 腹泻及便血现象严重。经美沙拉嗪及诃子干预后, UC 大鼠上述现象均呈现不同程度好转。如图 1-A 所示, 与对照组比较, 模型组大鼠体质量呈现逐渐降低趋势, 给药 2 d 后开始显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.001); 与模型组比较, 美沙拉嗪组及诃子各组大鼠体质量逐渐升高, 给药 4 d 后, 诃子生品与砂烫品均显著回调 UC 大鼠体质量 ($P < 0.001$), 而诃子砂烫品的回调作用更强。与对照组比较, 模型组大鼠 DAI 评分显著升高 ($P < 0.001$), 给药 3 d 后 DAI 评分上升趋势较为明显, 4 d 后逐渐趋于平稳; 与模型组比较, 美沙拉嗪组及诃子各组 DAI 评分呈降低



与对照组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ ### $P < 0.001$; 与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$; 与诃子生品组比较: ▲ $P < 0.05$ ▲▲ $P < 0.01$ ▲▲▲ $P < 0.001$, 下图同。

$P < 0.05$ ## $P < 0.01$ ### $P < 0.001$ vs control group; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs model group; ▲ $P < 0.05$ ▲▲ $P < 0.01$ ▲▲▲ $P < 0.001$ vs raw *T. chebula* group, same as below figures.

图 1 UC 大鼠体质量变化率 (A) 和 DAI 评分 (B) ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

Fig. 1 Body mass change rate (A) and DAI score (B) of UC rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

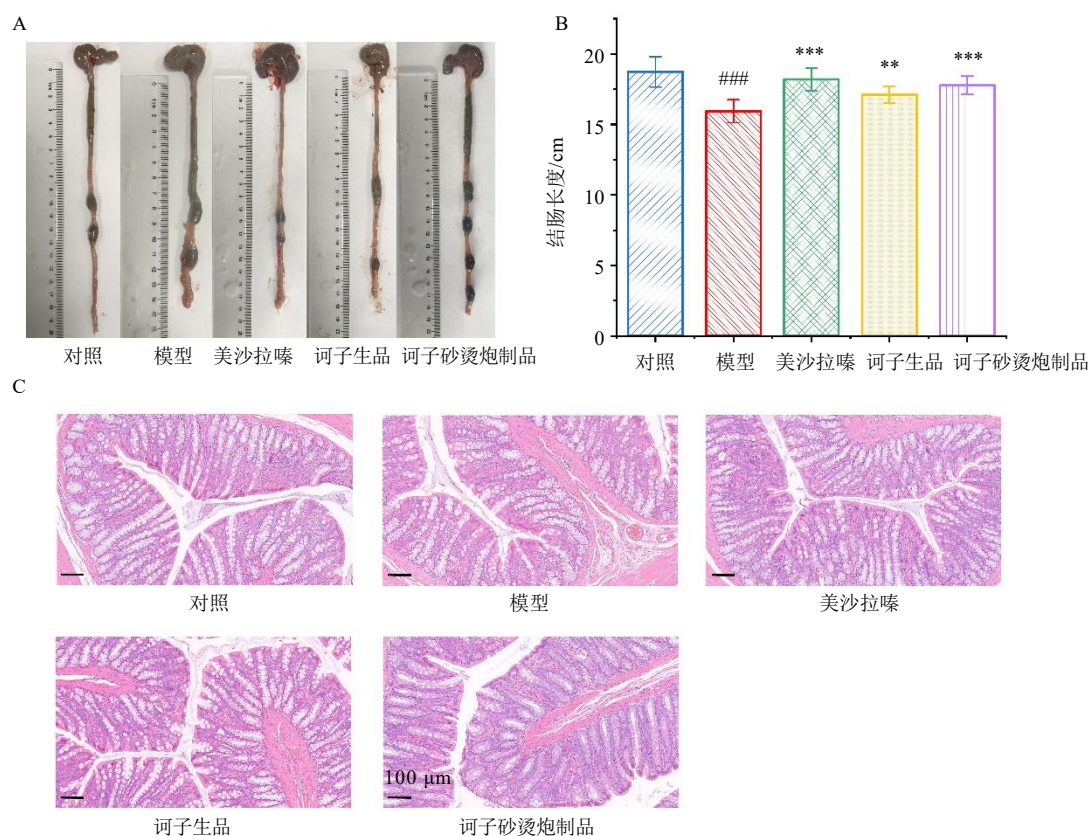
趋势, 给药 3 d 后, 诃子生品与砂烫品均显著回调 UC 大鼠 DAI 评分, 其中, 诃子砂烫品表现出更佳回调作用 ($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001), 见图 1-B。

3.2 对 UC 大鼠结直肠长度及病理学变化的影响

各组大鼠代表性结直肠组织见图 2-A, 与对照组比较, 模型组大鼠结直肠显著缩短 ($P < 0.001$); 与模型组比较, 美沙拉嗪组及诃子各组大鼠结直肠长度显著增加 ($P < 0.01$ 、 0.001); 与诃子生品组比较, 砂烫品组的结直肠长度有增加趋势, 但无显著性差异, 见图 2-B。如图 2-C 所示, 对照组大鼠结肠上皮结构完整, 固有层腺体隐窝结构正常, 未见明显炎性细胞浸润现象; 模型组大鼠结肠上皮、固有层腺体隐窝结构被破坏, 并伴有炎性细胞浸润; 经美沙拉嗪及诃子给药后, 大鼠结肠固有层隐窝结构被修复, 杯状细胞完整, 炎性细胞浸润现象减轻, 炎症症状减轻。

3.3 对 UC 大鼠结肠炎症因子及氧化应激因子 mRNA 相对表达的影响

如图 3 所示, 与对照组比较, 模型组大鼠结肠组织中肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , *TNF- α*)、白细胞介素- 1β (interleukin- 1β , *IL-1 β*) 的 mRNA 相对表达显著升高 ($P < 0.001$), *IL-10* 的 mRNA 相对表达显著降低 ($P < 0.001$); 与模型组比较, 美沙拉嗪组及诃子各组上述指标均显著逆转 ($P < 0.01$ 、 0.001)。与对照组比较, 模型组大鼠结肠组织中 *Nrf2*、*HO-1*、*GPX4*、*SOD* 的 mRNA 相对表达显著降低 ($P < 0.001$); 与模型组比较, 美沙拉嗪组及诃子各组上述指标均显著升高 ($P < 0.05$ 、 0.001); 与诃子生品组比较, 诃子砂烫品组上述指标的 mRNA 相对表达升高, 其中 *Nrf2*、*HO-1* 具有显著性 ($P < 0.001$), 提示诃子经砂烫炮制后, 可能通过缓解 UC 大鼠氧化应激状态, 更好地发挥治疗作用。



A-各组大鼠代表性结直肠组织; B-结直肠长度; C-结肠组织病理形态显微镜。

A-representative colorectal tissue in each group of rats; B-length of colorectum; C-microscopic images of colonic tissue pathology.

图 2 诃子对 UC 大鼠结直肠长度及结肠组织病理变化的影响 ($\times 200$; $\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

Fig. 2 Impact of *T. chebula* on length of colorectum and pathological changes in colonic tissue of UC rats ($\times 200$; $\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

3.4 对 Nrf2/HO-1/GPX4 信号通路的影响

如图 4 所示,与对照组比较,模型组大鼠结肠组织 Nrf2、HO-1、GPX4 蛋白表达水平均显著降低 ($P < 0.001$);与模型组比较,美沙拉嗪组及诃子砂烫品组 Nrf2、HO-1、GPX4 蛋白表达水平均显著升高 ($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001);与诃子生品

组比较,诃子砂烫品组显著调节 HO-1 蛋白表达 ($P < 0.001$),以上结果表明诃子生品与砂烫品均能通过干预 Nrf2/HO-1/GPX4 信号通路,进而发挥改善 UC 的作用,且诃子经砂烫后,调节该途径的作用优于生品,这可能为诃子炮制后改善 UC 作用增强的原因之一。

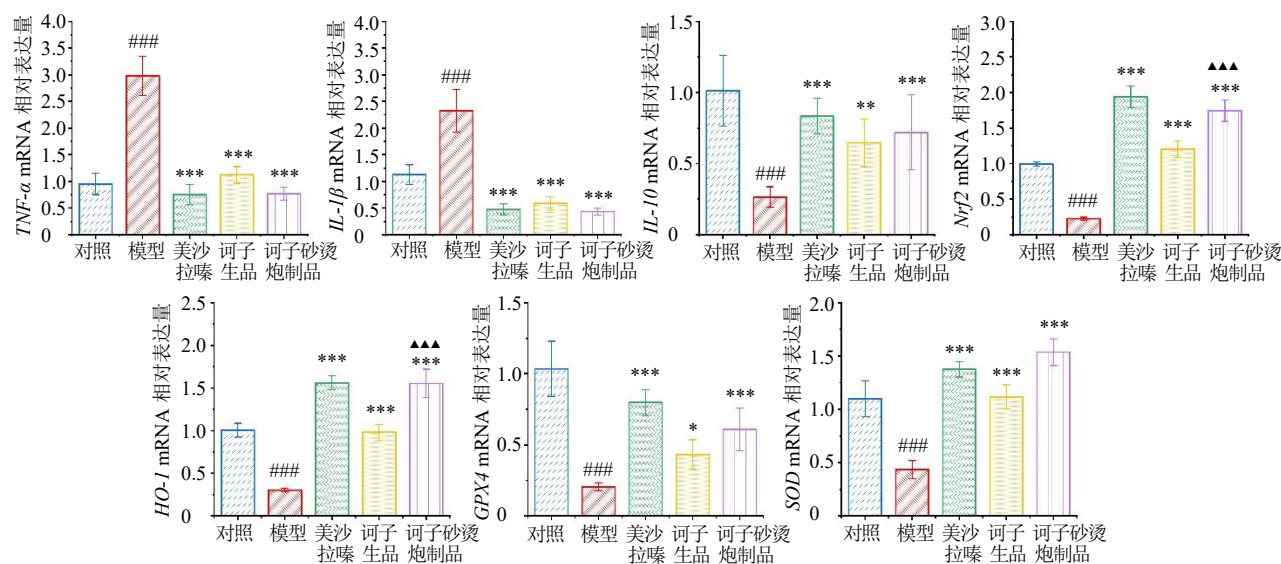


图 3 诃子对 UC 大鼠炎症因子及氧化应激因子 mRNA 相对表达量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Fig. 3 Impact of *T. chebula* on relative expression of inflammatory and oxidative stress factors mRNA in UC rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

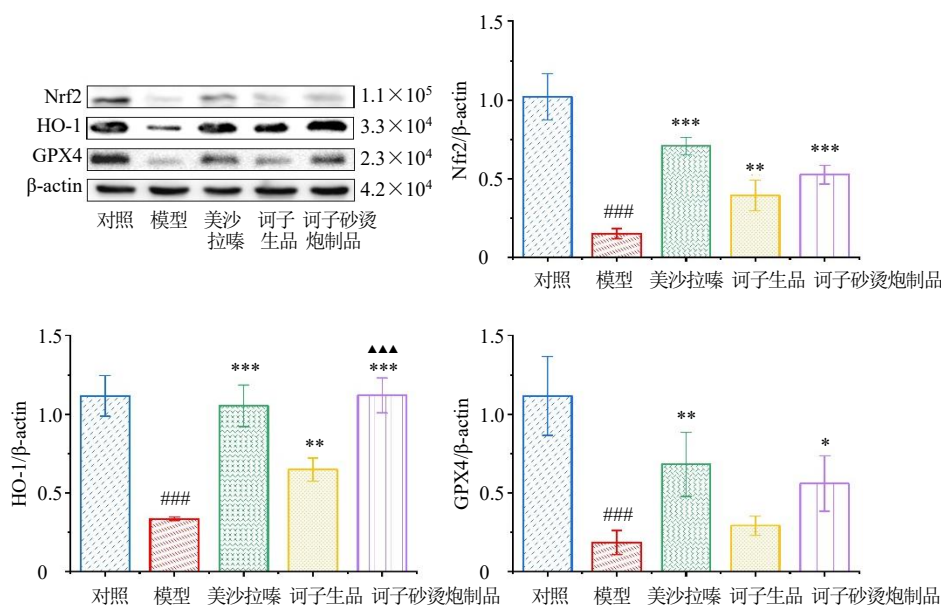


图 4 诃子对 UC 大鼠氧化应激因子蛋白相对表达量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 4 Effect of *T. chebula* on relative expression of oxidative stress factors protein in UC rats ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

3.5 对 UC 大鼠血清代谢组学的影响

3.5.1 UC 大鼠血清代谢轮廓 各组样品的代表性总离子流图，见图 5，结果显示，各组样品的总离子流图较为相似，但峰形与峰面积存在一定差异，表明经诃子生品及砂烫品给药后，UC 大鼠体内代谢产物水平产生变化，诃子生品与砂烫品对 DSS 诱导的 UC 模型调节能力不同。

3.5.2 多元变量统计分析 采用 PCA 法对 UC 大鼠血清代谢轮廓进行分析，结果显示，各组样本均聚集在 95% 的置信区间内。在正、负离子模式下，模型组与其余各组距离较远，表明经 DSS 干预后，

大鼠血清代谢产物组成发生改变；经美沙拉嗪及诃子干预后，样本远离模型组，并向对照组靠近，其中诃子砂烫品组比生品组更加接近对照组，见图 6。

为了进一步探索诃子对 UC 大鼠血清代谢物的影响，采用 OPLS-DA 进一步分析各组样本，见图 7。结果显示，对照组与模型组、模型组与诃子各组在正、负离子模式下均显著分离。采用 200 次随机置换检验对上述模型进行验证，结果显示，在正、负离子模式下，各组左侧的 R^2 值低于右侧的 R^2 值， Q^2 的回归线截距 < 0.05 ，表明上述模型均未出现过拟合现象。

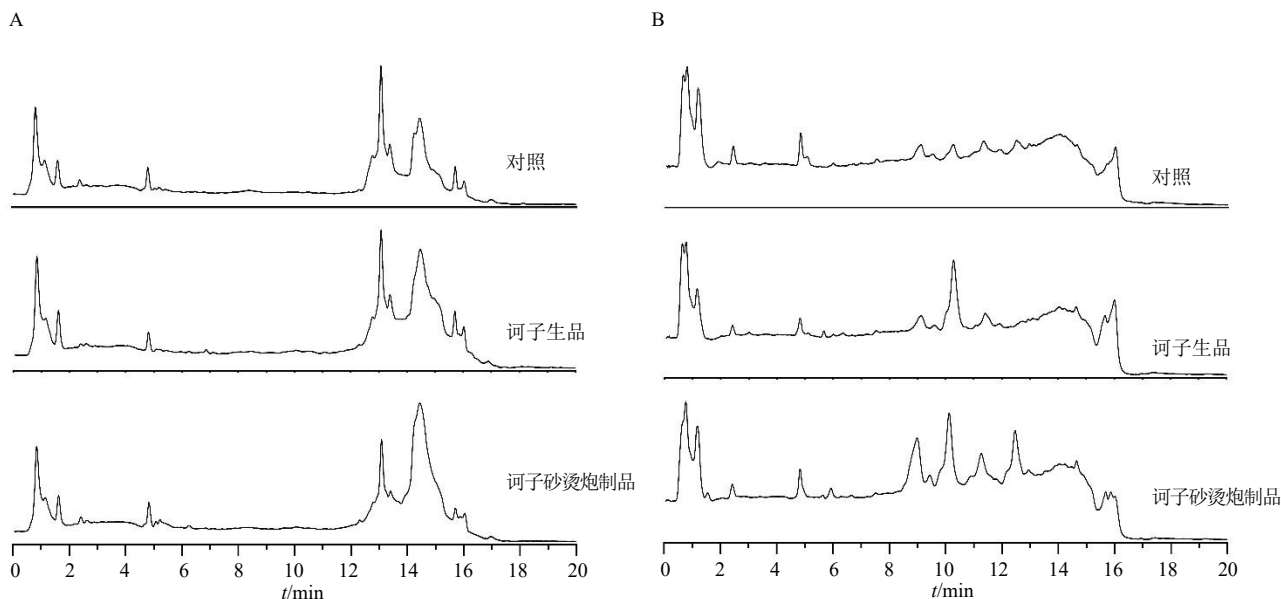


图 5 UC 大鼠血清样品在正 (A)、负 (B) 离子模式下的总离子流图

Fig. 5 Total ion chromatograms of UC rat serum samples in positive (A) and negative (B) ion modes

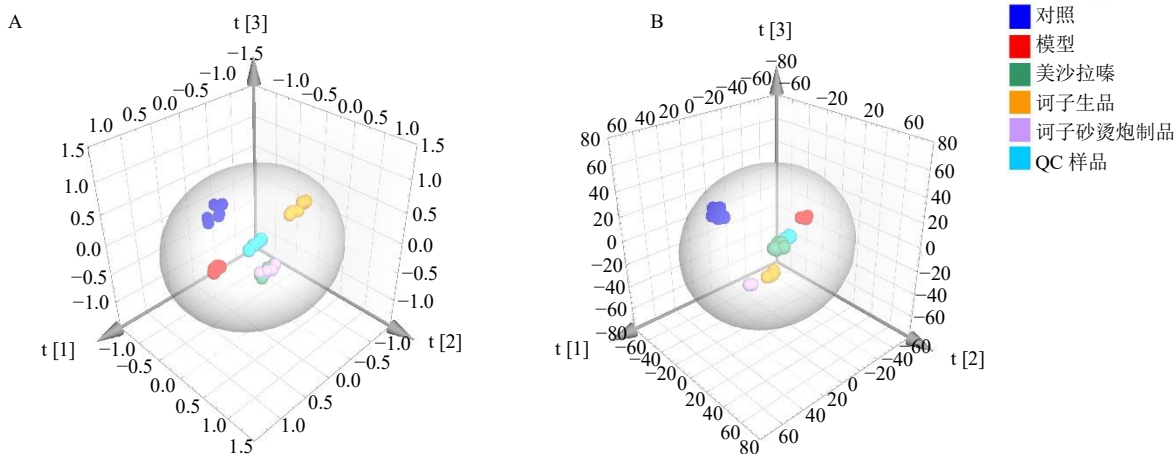
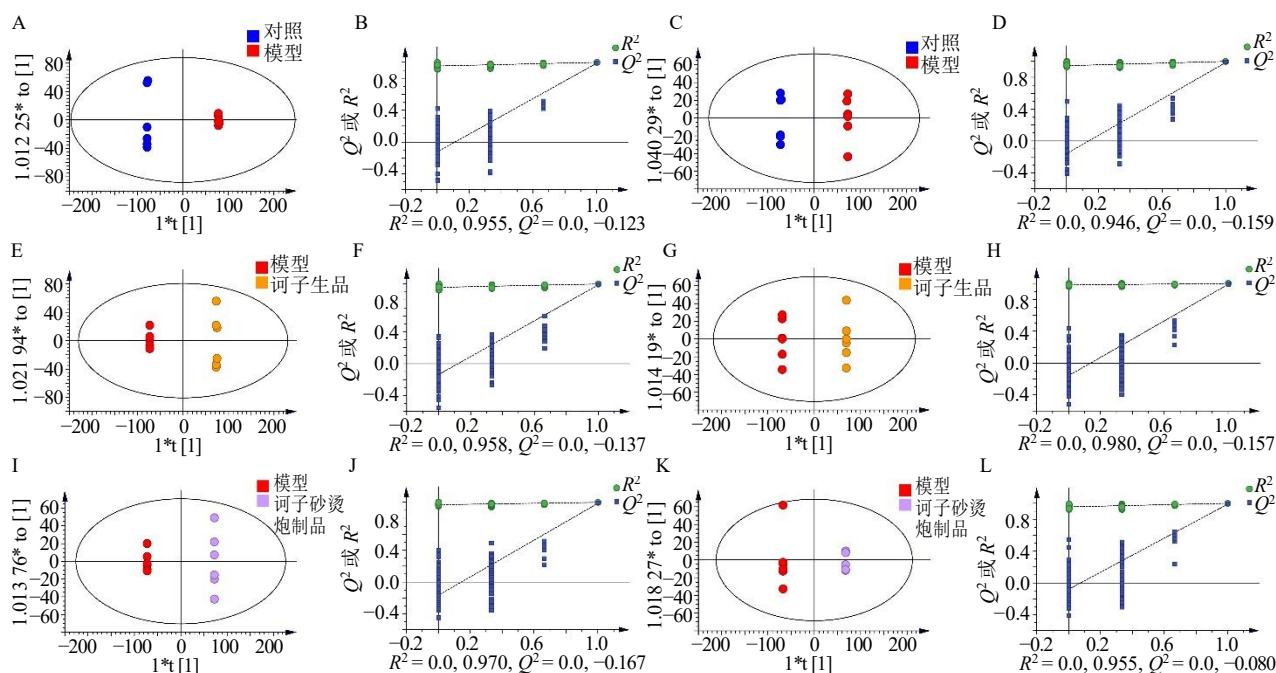


图 6 各组样本在正 (A)、负 (B) 离子模式下的 PCA 得分图

Fig. 6 PCA score plots of each group of samples in positive (A) and negative (B) ion modes



A-对照组与模型组 OPLS-DA 得分图 (正离子模式); B-对照组与模型组置换检验图 (正离子模式); C-对照组与模型组 OPLS-DA 得分图 (负离子模式); D-对照组与模型组置换检验图 (负离子模式); E-模型组与生品组 OPLS-DA 得分图 (正离子模式); F-模型组与生品组置换检验图 (正离子模式); G-模型组与生品组 OPLS-DA 得分图 (负离子模式); H-模型组与生品组置换检验图 (负离子模式); I-模型组与炮制品组 OPLS-DA 得分图 (正离子模式); J-模型组与炮制品组置换检验图 (正离子模式); K-模型组与炮制品组 OPLS-DA 得分图 (负离子模式); L-模型组与炮制品组置换检验图 (负离子模式)。

A-OPLS-DA score plot between control group and model group (positive ion mode); B-permutation test plot between control group and model group (positive ion mode); C-OPLS-DA score plot between control group and model group (negative ion mode); D-permutation test plot between control group and model group (negative ion mode); E-OPLS-DA score plot between model group and raw *T. chebula* group (positive ion mode); F-permutation test plot between model group and raw *T. chebula* group (positive ion mode); G-OPLS-DA score plot between model group and raw *T. chebula* group (negative ion mode); H-permutation test plot between model group and raw *T. chebula* group (negative ion mode); I-OPLS-DA score plot between model group and processed *T. chebula* group (positive ion mode); J-permutation test plot between model group and processed *T. chebula* group (positive ion mode); K-OPLS-DA score plot between model group and processed *T. chebula* group (negative ion mode); L-permutation test plot between model group and processed *T. chebula* group (negative ion mode).

图 7 各组正、负离子模式下 OPLS-DA 得分图与 200 次置换检验图

Fig. 7 OPLS-DA score plots and 200 permutation test plots of each group in positive and negative ion modes

3.5.3 血清潜在生物标志物筛选 根据 VIP 值、 $|P(\text{corr})|$ 、FC、 P 值筛选 UC 大鼠血清差异代谢物, 并借助 HMDB 等数据库进行鉴定, 结果共鉴定得到 36 个差异代谢物, 可能为 UC 大鼠血清潜在生物标志物。将筛选得到的差异代谢物按 P 值由小到大排列, 见表 3。诃子生品能显著调节 10 个潜在生物标志物; 诃子砂烫品能显著调节 12 个潜在生物标志物, 表明诃子经砂烫炮制后, 对 DSS 诱导的 UC 大鼠血清代谢物的调节能力产生差异, 且炮制品的调节能力更强。进一步借助聚类分析热图, 直观展示诃子生品与炮制品对大鼠血清潜在生物标志物的调节作用, 见图 8。

3.5.4 潜在代谢通路分析 为进一步明确诃子砂

烫后调节 UC 大鼠代谢通路的影响, 将诃子炮制品影响的潜在生物标志物进行通路预测分析, 共预测得到 8 条代谢通路, 影响较强的为氮代谢、精氨酸生物合成、丙酮酸代谢通路, 见图 9。

4 讨论

中药炮制为中医临床用药的一大特色, 其方法的选择直接影响到中药饮片的质量以及临床治疗效果^[16]。诃子的古代炮制方法有净制、切制、炒制、煨制、蒸制等 15 余种炮制方法, 而今沿用的仅有净制、炒制和煨制法, 其余炮制方法多未被沿用^[17]。煨法为古代诃子炮制的主流方法, 从唐代到清代均有收载, 但其操作较为繁杂, 不适用于现代工业大生产^[17]。由于诃子为果实类药材, 形状为类圆形,

表 3 潜在血清生物标志物
Table 3 Potential serum biomarkers

序号	离子模式	代谢物	t _R /min	m/z	分子式	模型组	生品组	炮制品组
						vs 对照组	vs 模型组	vs 模型组
1	负离子	甲硫氨酸	1.14	149.05	C ₅ H ₁₁ NO ₂ S	↑	—	—
2	负离子	香草丙酮酸	0.41	210.05	C ₁₀ H ₁₀ O ₅	↓	↑	↑
3	正离子	磷脂酰胆碱 [22:5(7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)/14:0]	16.01	779.54	C ₄₄ H ₇₉ NO ₈ P	↑	—	—
4	负离子	xi-2,3-二氢-2-氧代-1H-咪唑-3-乙酸	2.68	191.06	C ₁₀ H ₉ NO ₃	↓	↑	—
5	负离子	胸腺嘧啶脱氧核苷酸	4.83	322.06	C ₁₀ H ₁₅ N ₂ O ₈ P	↑	—	—
6	正离子	斑鸠菊酸	15.34	296.23	C ₁₈ H ₃₂ O ₃	↓	—	—
7	正离子	磷脂酰乙醇胺 (O-16:0/19:0)	0.66	719.58	C ₄₀ H ₈₂ NO ₇ P	↑	—	↓
8	正离子	赤霉素 A3 O-β-D-葡萄糖苷	14.13	508.20	C ₂₅ H ₃₂ O ₁₁	↑	—	↓
9	负离子	磷脂酸 [12:0/22:6(4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)]	15.87	664.41	C ₃₇ H ₆₁ O ₈ P	↑	—	—
10	负离子	硫酸吡啶酚	1.13	213.01	C ₈ H ₇ NO ₄ S	↓	↑	↑
11	正离子	S-谷胱甘肽-L-半胱氨酸	1.23	426.09	C ₁₃ H ₂₂ N ₄ O ₈ S ₂	↑	—	↓
12	正离子	11-羟基二十碳四烯酸甘油酯	14.79	394.27	C ₂₃ H ₃₈ O ₅	↑	—	—
13	负离子	乙酸	0.88	60.02	C ₂ H ₄ O ₂	↑	↓	↓
14	正离子	中卟啉 IX	13.68	566.29	C ₃₄ H ₃₈ N ₄ O ₄	↓	—	—
15	正离子	(R)-2-羟基硬脂酸	15.62	310.25	C ₁₉ H ₃₄ O ₃	↓	↑	↑
16	正离子	鞘氨醇	15.85	299.28	C ₁₈ H ₃₇ NO ₂	↑	—	—
17	正离子	磷脂酰肌醇 [O-20:0/22:4(7Z,10Z,13Z,16Z)]	16.04	928.65	C ₅₁ H ₉₃ O ₁₂ P	↑	—	—
18	正离子	1-甲基-2,3,8,8a-四氢吡咯并 (2,3-b) 咪唑-3a-醇	6.58	190.11	C ₁₁ H ₁₄ N ₂ O	↑	—	—
19	正离子	L-犬尿氨酸	2.67	208.08	C ₁₀ H ₁₂ N ₂ O ₃	↑	↓	↓
20	正离子	磷脂酰乙醇胺 [p-18:1(9Z)/14:1(9Z)]	0.75	671.49	C ₃₇ H ₇₀ NO ₇ P	↓	—	—
21	负离子	磷脂酰丝氨酸 (16:0/0:0)	6.35	497.28	C ₂₂ H ₄₄ NO ₉ P	↑	—	—
22	负离子	磷脂酰甘油 (O-20:0/0:0)	15.72	526.36	C ₂₆ H ₅₅ O ₈ P	↑	—	—
23	正离子	半胱氨酰-半胱氨酸	0.84	224.03	C ₆ H ₁₂ N ₂ O ₃ S ₂	↓	—	—
24	负离子	氢甲酰磷酸	1.94	201.00	CH ₄ NO ₅ P	↓	↑	↑
25	正离子	磷脂酰胆碱 [22:6(4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)/20:3(8Z,11Z,14Z)]	15.85	855.57	C ₅₀ H ₈₃ NO ₈ P	↑	↓	↓
26	正离子	磷脂酰胆碱 [19:3(10Z,13Z,16Z)/0:0]	14.77	531.33	C ₂₇ H ₅₁ NO ₇ P	↑	—	—
27	负离子	麝香酮 F	11.37	318.09	C ₂₀ H ₁₄ O ₄	↓	—	—
28	负离子	醛固酮 18-葡萄糖醛酸苷	9.11	536.23	C ₂₇ H ₃₆ O ₁₁	↑	—	—
29	负离子	甘氨酸去氧胆酸	6.38	449.31	C ₂₆ H ₄₃ NO ₅	↓	↑	↑
30	负离子	2-甲基异茨醇	12.83	168.15	C ₁₁ H ₂₀ O	↓	—	—
31	正离子	磷脂酰胆碱 [18:3(6Z,9Z,12Z)/0:0]	12.80	517.32	C ₂₆ H ₄₉ NO ₇ P	↑	↓	↓
32	正离子	磷脂酸 (O-20:0/0:0)	18.19	452.33	C ₂₃ H ₄₉ O ₆ P	↑	—	—
33	负离子	肉豆蔻酸	15.41	228.21	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	↓	—	—
34	负离子	磷脂酰乙醇胺 [p-20:0/20:5(5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)]	0.66	777.57	C ₄₅ H ₈₀ NO ₇ P	↑	—	—
35	负离子	辛酸	8.31	144.11	C ₈ H ₁₆ O ₂	↓	—	—
36	正离子	L-肉碱	1.08	161.11	C ₇ H ₁₅ NO ₃	↑	—	—

“↑”表示上调,“↓”表示下调,“—”表示无显著变化。

“↑” indicates up-regulation, “↓” indicates down-regulation, “—” indicates no significant change.

直接加热难以使其受热均匀,因此炮制时需要选择合适的媒介进行传热。河砂的性质较为稳定,砂烫法采用河砂作为传热介质,使诃子在炮制的过程中不易产生焦斑,且受热均匀,与古代煨法较为相似^[4]。然而,目前对诃子炮制的科学内涵的研究较少。诃子经炮制之后,其温性增强,功专温中固脾,涩肠止泻^[19]。据此,本研究以砂烫法模拟古代煨灰火煨法,对诃子进行炮制,并以 UC 为疾病模型,比较

诃子炮制前后对 UC 的治疗作用,借此对诃子的炮制增效机制进行解析。

UC 为一种非特异性、复发性炎症性肠病,其主要临床表现包括腹泻、黏液脓性血便等,严重影响患者日常生活^[20]。目前,UC 病因不明,现代医学治疗的手段主要以氨基水杨酸类、糖皮质激素类、免疫抑制剂、单克隆抗体等药物为主,然而临床尚存在药物不良反应、需要长期服药、药物价格昂贵

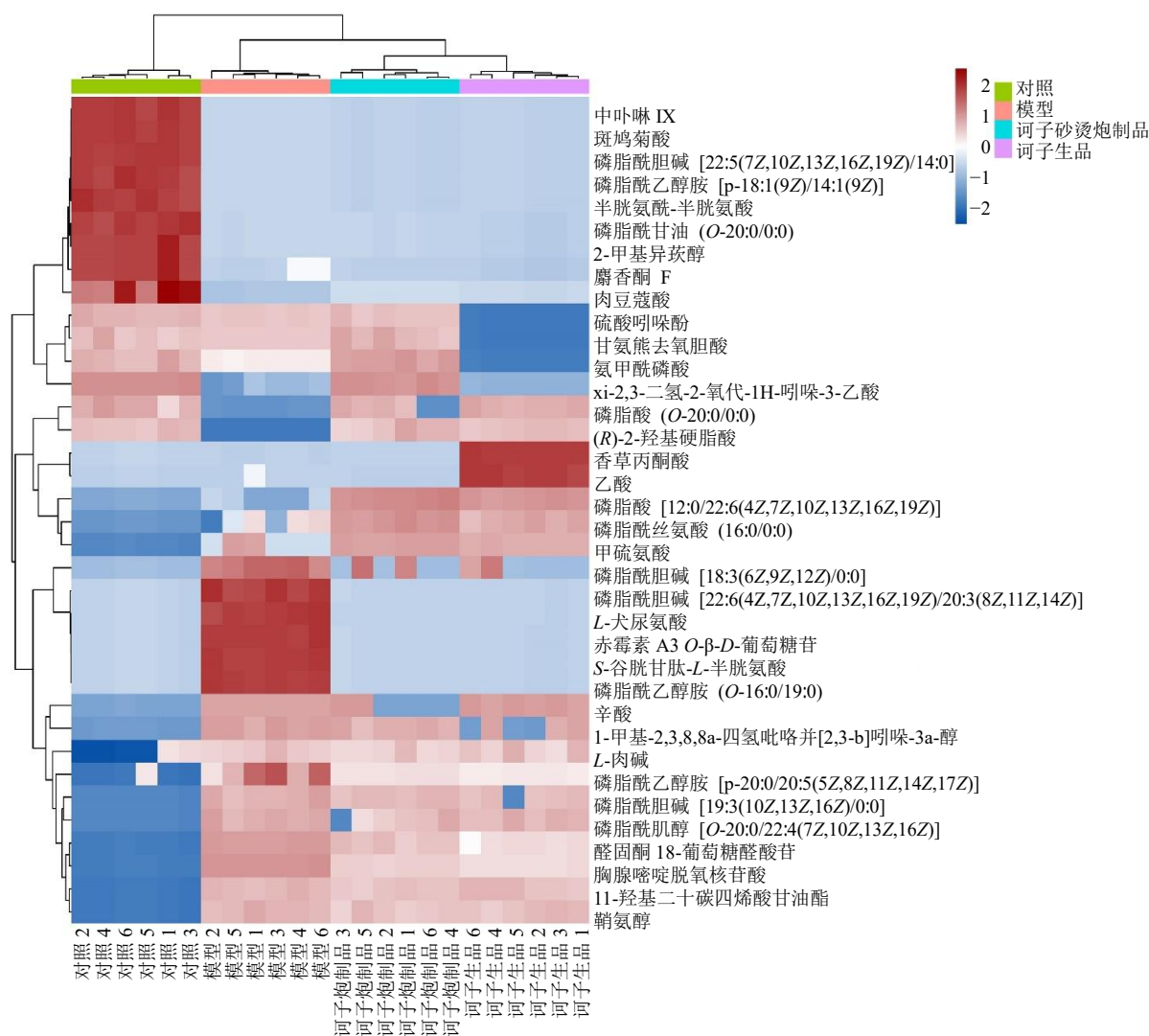


图 8 各组大鼠血清潜在生物标志物热图

Fig. 8 Heat map of serum potential biomarkers of rats in each group

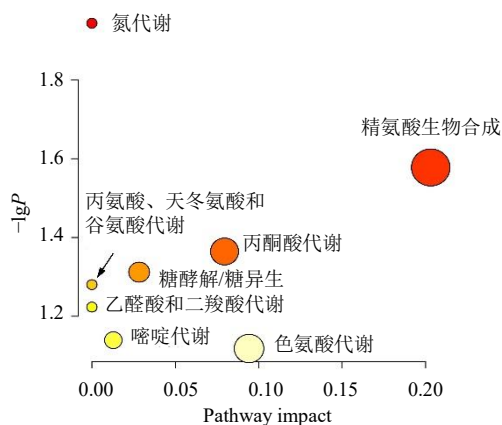


图 9 诃子炮制品对 UC 大鼠代谢通路的影响

Fig. 9 Effect of processed *T. chebula* on metabolic pathways in UC rats

等问题^[21]。近年来,中医辨证施治对 UC 的控制取得了较好成果。中药的不良反应相对较小,通过多靶点、多途径的方式,从整体上调节 UC,从而提高临床疗效,体现了中医 UC 临床诊治的特色与优势^[22]。

炎症反应与氧化应激失调被认为是 UC 发展的重要因素,在结肠病灶区域,促炎介质水平显著升高,抗炎介质水平显著降低,炎症因子表达失衡,一方面将刺激机体产生并释放大量的 ROS,另一方面又将使清除自由基的酶活性降低,使 ROS 不断积累,进而引发结肠组织严重损伤,加重炎症反应^[23]。Nrf2 是一种负责调节细胞氧化还原平衡的转录因子,其包含 6 个功能性的 Neh 结构域,位于氨基末端的 Neh2 结构域控制着与 Kelch 样 ECH 关联蛋白 1

(Kelch-like ECH-associated protein 1, Keap1) 的结合。在生理条件下, Keap1 将 Nrf2 隔离在细胞质中; 在应激条件下, 亲电试剂和氧化剂会激活 Nrf2 依赖的细胞防御机制, 此时 Nrf2 从 Keap1 上释放并转位到细胞核中, 与抗氧化反应元件结合, 激活下游抗氧化酶基因的转录, 发挥抗氧化的作用^[24]。本研究中, 诃子生品及炮制品均能改善 DSS 诱导的 UC 大鼠体重质量降低、DAI 评分升高、结直肠长度缩短和结肠病理损伤现象, 降低促炎介质 TNF- α 、IL-1 β 表达水平, 提高抗炎介质 IL-10 表达水平, 恢复炎症因子平衡, 发挥抑制 UC 大鼠炎症反应的作用。同时, 诃子生品与炮制品均能提高 Nrf2、HO-1、GPX4、SOD 表达水平, 发挥调节机体氧化还原平衡的作用。其中, 诃子砂烫炮制品对炎症反应及氧化应激的调节作用均强于生品, 提示诃子经砂烫炮制后, 改善 UC 作用增强, 其增效机制可能与抑制机体炎症反应、调节 Nrf2/HO-1/GPX4 通路有关。

基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术的代谢组学能够为疾病发生发展机制及中药作用机制的解析提供思路。本研究对 UC 大鼠血清差异代谢物进行鉴定, 共得到 36 个差异代谢物, 主要包括氨基酸、肽和类似物, 脂质和脂质样分子, 核苷、核苷酸和类似物及其他代谢物。模型组大鼠血清上述代谢物表达异常, 提示经 DSS 干预后, UC 大鼠血清代谢物发生紊乱; 经诃子生品与砂烫品治疗后, 生品组 10 个、砂烫品 12 个代谢物水平得到不同程度回调, 表明诃子生品与砂烫品均能够调节机体内源性代谢物水平, 恢复代谢稳态, 进而发挥改善 UC 的作用, 其中砂烫诃子的调节能力强于生品。进一步对诃子炮制后调节 UC 代谢通路进行预测分析, 结果共鉴定得到 8 条代谢通路。氮代谢通路是本研究鉴定得到影响最强的通路, 氮是构成氨基酸和蛋白质等分子的重要元素, 其代谢包括蛋白质合成与降解、氨基酸转氨等生物过程。氨基酸是促进肠道生长、维持肠道黏膜完整性与屏障功能的必需物质, 是机体内重要的营养物质与能量底物^[26]。精氨酸是一种条件性必需氨基酸, 与细胞的生长、增殖具有密切关系, 在调节肠道炎症中发挥重要作用^[27]。精氨酸能够通过抑制多种促炎因子 (如 IL-1 β 、IL-2、IL-17) 的释放, 提高抑炎因子 IL-10 和免疫球蛋白 A (immunoglobulin A, IgA) 和 IgG 的含量, 进而缓解肠道炎症。此外, 精氨酸能够激活 Nrf2/抗氧化反应元件通路, 促进如 GPX、SOD、过氧化氢酶等抗

氧化蛋白的基因表达, 提高机体抗氧化能力, 进而增强免疫系统功能^[28]。研究表明, 在活动期 UC 患者的结肠黏膜中, L-精氨酸的表达降低, 通过斯皮尔曼相关性分析发现, L-精氨酸与 DAI 呈现负相关^[29]。本研究结果显示, 诃子砂烫炮制品可能通过调节精氨酸生物合成途径, 进而发挥改善 UC 的作用, 这与文献报道的精氨酸与 UC 的关系具有一致性。丙酮酸是糖酵解或丙氨酸转氨作用的产物, 在生物体的代谢过程中具有重要作用。三羧酸循环是所有需氧生物普遍存在的一系列酶催化化学反应, 是人体糖、蛋白质、脂肪三大类营养物质的共同代谢通路^[30]。当丙酮酸进入到线粒体中, 被氧化生成乙酰辅酶 A, 随后进入三羧酸循环, 进一步被氧化成二氧化碳和水, 完成葡萄糖的有氧氧化供能过程, 并通过此过程实现体内糖、脂肪和氨基酸间的相互转化^[31]。此外, 丙酮酸也是一种抗氧化剂, 能够抑制机体内氧自由基的氧化, 进而保护 UC 患者肠粘膜^[32]。本研究结果表明, 诃子经过砂烫法炮制后, 能够参与丙酮酸代谢通路, 其作用机制可能为砂烫诃子通过调节机体能量代谢与氧化应激状态, 进而改善 UC 疾病症状。

综上, 诃子生品与砂烫品均能够改善 UC 大鼠炎症反应, 调节 Nrf2/HO-1/GPX4 信号通路, 影响 UC 大鼠血清代谢产物, 进而发挥治疗 UC 的作用。诃子经砂烫法炮制后, 表现出更强的改善 UC 作用, 体现出砂烫法在提升诃子疗效方面的潜在价值, 其炮制增效的科学内涵可能与 Nrf2/HO-1/GPX4 信号通路和血清代谢产物具有一定关联。本研究为中药炮制机制的深入解析提供了新策略, 并为临床治疗 UC 提供中医药思路。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 194-195.
- [2] 清·张璐著. 本经逢原 [M]. 赵小青, 裴晓峰校注. 北京: 中国中医药出版社, 1996. 7: 194.
- [3] 郝季, 鞠成国, 张强, 等. 诃子砂烫炮制工艺及砂烫诃子中鞣花酸提取工艺研究 [J]. 药学研究, 2023, 42(4): 247-250.
- [4] 安悦言, 鞠成国, 张强, 等. 诃子不同温度炮制品的化学成分含量变化及抗溃疡性结肠炎作用比较 [J]. 中国药房, 2022, 33(3): 332-337.
- [5] 杜丽东, 王颖, 辛蕊华, 等. 乌梅丸调控 Keap1-Nrf2/HO-1 信号通路抑制溃疡性结肠炎小鼠氧化应激损伤 [J]. 中国临床药理学杂志, 2024, 40(14):

- 2088-2092.
- [6] 胡思义, 王梅, 高宁. Nrf2 信号通路在结肠癌发生、转移和耐药中的作用 [J]. 遵义医科大学学报, 2022, 45(6): 797-803.
- [7] Liu Y H, Wang S T, Jin G, *et al.* Network pharmacology-based study on the mechanism of ShenKang injection in diabetic kidney disease through Keap1/Nrf2/Ho-1 signaling pathway [J]. *Phytomedicine*, 2023, 118: 154915.
- [8] Zhang Y G, Ye P, Zhu H, *et al.* Neutral polysaccharide from *Gastrodia elata* alleviates cerebral ischemia-reperfusion injury by inhibiting ferroptosis-mediated neuroinflammation via the Nrf2/HO-1 signaling pathway [J]. *CNS Neurosci Ther*, 2024, 30(3): e14456.
- [9] 王磊, 蒯鑫, 李青松, 等. 姜黄素抑制 GPX4 介导的铁死亡减轻大鼠脓毒症急性肺损伤 [J]. 中国免疫学杂志, 2024, 40(10): 2116-2120.
- [10] 罗洁, 黄永亮, 郑绘, 等. 知母抗老年痴呆有效部位筛选及作用机制研究 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2020, 22(8): 3030-3035.
- [11] 葛畅畅, 卢一, 沈洪, 等. 溃疡性结肠炎活动期大肠湿热证患者血清代谢组学特征分析 [J]. 北京中医药大学学报, 2024, 47(5): 686-698.
- [12] 张杰, 王旭, 宋晓雨, 等. 基于肠道菌群与代谢组学探讨补肾通腑方对 AD 小鼠神经炎症的影响 [J]. 中国药理学通报, 2024, 40(7): 1258-1266.
- [13] 李芳, 陈正君, 葛俊李, 等. PI3K/AKT 信号通路在党参干预溃疡性结肠炎中的差异基因表达 [J]. 中药药理与临床, 2024, 40(1): 61-69.
- [14] 雷娜, 雷兰平, 吴容, 等. 甘草泻心汤对溃疡性结肠炎大鼠水通道蛋白 3、4 的影响 [J]. 中国比较医学杂志, 2023, 33(8): 47-54.
- [15] An Y, Wang W, Gao H, *et al.* Investigating the mechanism of enhanced medicinal effects of *Terminalia chebula* fruit after processing based on intestinal flora and metabolomics [J]. *Int Immunopharmacol*, 2024, 143(Pt 1): 113271.
- [16] 程一平. 中药炮制对中药饮片的化学成分及疗效影响研究 [J]. 内蒙古中医药, 2017, 36(20): 81.
- [17] 盛书贵, 蒋纪洋, 孙龙宇. 诃子古今炮制研究初探 [J]. 时珍国医国药, 1998, 6: 81-82.
- [18] 常玉清, 普学富, 朱新焰, 等. 基于熵权法和灰色关联度分析法的不同加工方式诃子药材质量评价 [J]. 中国现代中药, 2023, 25(12): 2464-2470.
- [19] 陆兔林. 中药炮制学 第 2 版 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2018: 383.
- [20] Wang X M, Liang F N, Dai Z Y, *et al.* Combination of *Coptis chinensis* polysaccharides and berberine ameliorates ulcerative colitis by regulating gut microbiota and activating AhR/IL-22 pathway [J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 318(Pt B): 117050.
- [21] 侯伟欣, 韩涛涛, 徐甜, 等. 中医药调节肠道微生态缓解溃疡性结肠炎的研究进展 [J]. 中国中西医结合消化杂志, 2023, 31(12): 946-950.
- [22] 陈锡培, 柯颖川. 白术饮片经不同方式炮制后的化学成分变化及其对溃疡性结肠炎患者的临床疗效研究 [J]. 中国处方药, 2022, 20(12): 149-150.
- [23] 杨慧, 蒋且英, 刘璇, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 技术白术多糖干预溃疡性结肠炎的代谢组学研究 [J]. 中草药, 2023, 54(15): 4895-4904.
- [24] Loboda A, Damulewicz M, Pyza E, *et al.* Role of Nrf2/HO-1 system in development, oxidative stress response and diseases: An evolutionarily conserved mechanism [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2016, 73(17): 3221-3247.
- [25] 张梦, 萧闵, 蔡婷, 等. 三七皂苷 R₁ 调控 Nrf2 介导的铁死亡途径改善 ApoE^{-/-}小鼠动脉粥样硬化 [J]. 中草药, 2024, 55(15): 5135-5144.
- [26] 张炳艳, 吴静, 牛俊坤, 等. 氨基酸在炎症性肠病治疗中的作用 [J]. 胃肠病学, 2022, 27(10): 632-636.
- [27] 李玖炎, 雷连成, 黄晶. 精氨酸代谢对肿瘤生长及肿瘤免疫的影响 [J]. 中国免疫学杂志, 2024, 40(5): 999-1009.
- [28] 熊传帅, 黎力之, 周建旭, 等. 精氨酸对动物肠道炎症的影响及其在畜牧生产上的应用研究进展 [J]. 中国畜牧杂志, 2021, 57(12): 20-25.
- [29] Coburn L A, Horst S N, Allaman M M, *et al.* L-arginine availability and metabolism is altered in ulcerative colitis [J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2016, 22(8): 1847-1858.
- [30] 王元元, 刘晓鹰, 张雪荣, 等. 金水清治疗儿童孤立性血尿代谢组学机制探讨 [J]. 时珍国医国药, 2024, 35(7): 1759-1766.
- [31] 李峥, 李文杰, 杜毅, 等. 基于液相质谱技术探讨真武汤对阿霉素诱导的扩张型心肌病大鼠血浆代谢物的影响 [J]. 中华中医药学刊, 2021, 39(12): 82-86.
- [32] 阿不来提·阿合买提, 买提哈斯木·吾布力艾山, 张景萍, 等. 维药溃结安对异常黏液质溃疡性结肠炎大鼠干预效果的血清代谢组学研究 [J]. 中华中医药杂志, 2017, 32(1): 335-340.

[责任编辑 罗 曦]