

基于 UPLC-Q/TOF-MS 代谢组学技术探究药根碱治疗溃疡性结肠炎模型小鼠的作用机制

谢佳辰¹, 杨 艺¹, 李昆蔚², 章方玲³, 黎 璐¹, 文建霞^{1*}

1. 西华大学食品与生物工程学院, 四川 成都 610039

2. 西南交通大学生命科学与工程学院, 四川 成都 610031

3. 成都中医药大学药学院, 西南特色中药资源国家重点实验室, 四川 成都 611137

摘要: **目的** 采用代谢组学技术, 研究药根碱对葡聚糖硫酸钠(dextran sulfate sodium, DSS)诱导的溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)小鼠内源代谢物的影响, 探讨其代谢途径及作用机制。**方法** 雄性 C57BL/6 小鼠, 随机分为对照组、模型组、美沙拉嗪(0.3 g/kg)组和药根碱低、高剂量(40、80 mg/kg)组, 每组 10 只, 连续 7 d 给美沙拉嗪及药根碱, 同时自由饮用 3% DSS 溶液诱导溃疡性结肠炎模型。通过疾病活动指数(disease activity index, DAI)、血清生化指标、结肠病理组织染色明确药根碱治疗溃疡性结肠炎的药理作用。收集小鼠结肠组织进行非靶向代谢组学分析, 标定差异代谢物与特征通路, 探究药根碱治疗溃疡性结肠炎的代谢通路作用机制。**结果** 与对照组比较, 模型组小鼠 DAI 评分显著升高($P < 0.01$), 血清中肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)、IL-16 和 IL-1 β 水平均显著升高($P < 0.01$); 与模型组比较, 给予药根碱后, 上述指标显著降低($P < 0.05$ 、 0.01), 且高剂量效果更明显。同时药根碱能够改善 UC 小鼠结肠黏膜充血与水肿、缓解结肠萎缩、减轻结肠出血的症状。非靶向代谢组学结果显示, 与对照组比较, 模型组磷脂酰胆碱、胆酸、鹅去氧胆酸、PE [14:0/20:1(11Z)]、高香草醛含量显著降低($P < 0.01$), 但花生四烯酸和松柏醇含量显著升高($P < 0.01$); 上述差异代谢物含量经过药根碱干预后明显回调($P < 0.05$ 、 0.01)。**结论** 药根碱能够下调相关炎症因子, 调节花生四烯酸代谢和甘油磷脂代谢等通路的代谢紊乱, 恢复结肠屏障, 改善 DSS 诱导的溃疡性结肠炎。

关键词: 药根碱; 溃疡性结肠炎; 代谢组学; 葡聚糖硫酸钠; 花生四烯酸代谢

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)05-1617-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.05.013

Mechanism of jatrorrhizine in treating ulcerative colitis model mice based on UPLC-Q/TOF-MS metabolomics technology

XIE Jiachen¹, YANG Yi¹, LI Kunwei², ZHANG Fangling³, LI Lu¹, WEN Jianxia¹

1. School of Food and Bioengineering, Xihua University, Chengdu 610039, China

2. School of Life Sciences and Engineering, Southwest Jiaotong University, Chengdu 610031, China

3. State Key Laboratory of Southwestern Chinese Medicine Resources, School of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China

Abstract: **Objective** To investigate the effect of jatrorrhizine on endogenous metabolites in dextran sulfate sodium (DSS)-induced ulcerative colitis (UC) mice using metabolomics technology, and to explore its metabolic pathway and mechanism of action. **Methods** Male C57BL/6 mice were randomly divided into control group, model group, 5-amino salicylic acid (5-ASA, 0.3 g/kg) group, jatrorrhizine low dose (40 mg/kg), and high dose (80 mg/kg) groups, with 10 mice in each group. Mice were intragastrically administered with 5-ASA or jatrorrhizine for seven consecutive days, while freely drinking with 3% DSS solution to induce an UC model. The pharmacological effects of jatrorrhizine on UC were determined through disease activity index (DAI), serum biochemical indicators, and colon pathological tissue staining. Mice colon tissue was collected for untargeted metabolomics analysis. Differential metabolites and characteristic pathways were calibrated, and the metabolic pathway mechanism of jatrorrhizine in treating UC was

收稿日期: 2024-10-11

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(82304738); 四川省科技计划资助(2024NSFSC1835); 西华大学人才引进项目(Z211060)

作者简介: 谢佳辰, 在读本科生, 研究方向为天然化合物药效机制研究。E-mail: Jiachen_Xie1073@163.com

*通信作者: 文建霞, 副教授, 博士, 研究方向为中药活性成分发现与评价。E-mail: wenjx32@163.com

further explored. **Results** Compared with the control group, the DAI score of the model group mice was significantly increased ($P < 0.01$), and the levels of tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-6 (IL-6), IL-16 and IL-1 β in serum were significantly increased ($P < 0.01$). After administration of jatrorrhizine, compared with the model group, the above indicators significantly decreased ($P < 0.05, 0.01$), and the effect was more pronounced at high doses. Simultaneously, jatrorrhizine had effect on improving congestion and edema of the colon mucosa in mice, alleviating colon atrophy, and reducing colon bleeding. Untargeted metabolomics results showed that compared with the control group, the levels of phosphatidylcholine, cholic acid, chenodeoxycholic acid, PE [14:0/20:1(11Z)], and homovanillin were significantly reduced in the model group ($P < 0.01$), but the levels of arachidonic acid and coniferyl alcohol were significantly increased ($P < 0.01$). The differential metabolite levels mentioned above were significantly overturned after intervention with jatrorrhizine ($P < 0.05, 0.01$). **Conclusion** Jatrorrhizine has effect on downregulating related inflammatory factors, regulating metabolic disorders in pathways such as arachidonic acid metabolism and glycerophospholipid metabolism, restoring the colon barrier, and improving DSS-induced UC.

Key words: jatrorrhizine; ulcerative colitis; metabolomics; dextran sulfate sodium; arachidonic acid metabolism

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 是结肠黏膜的一种慢性特发性的炎症性肠病 (inflammatory bowel disease, IBD) [1]。临床上, 溃疡性结肠炎是一种直肠、结肠黏膜及黏膜下层的慢性非特异性炎症, 主要表现为腹痛、腹泻、黏液脓血便 [2]。目前尚无较好的治愈方法, 因此, 治疗目标是解决症状、提高生活质量以及预防和治疗并发症 [3]。临床上对于溃疡性结肠炎的治疗主要采用外科治疗、营养支持治疗、生物制剂治疗等方法。然而, 该方法往往有激素使用量大、复发率和住院率高、手术率高与生活质量较差的缺陷 [4]。我国溃疡性结肠炎的发病率呈现出逐年增高的趋势 [5]。溃疡性结肠炎是一种病情漫长、反复发作的消化系统疾病, 若不及时治疗, 将损伤肠道黏膜, 导致胃肠道穿孔, 甚至可发展为结肠恶性肿瘤, 对患者健康和生命质量造成严重影响 [6]。因此, 有效预防和治疗溃疡性结肠炎十分必要。目前, 溃疡性结肠炎的病因和发病机制尚未明确, 但现代医学认为, 其原因主要有遗传、环境、心理、免疫、感染等因素共同作用, 导致肠道黏膜屏障受损, 神经内分泌功能紊乱和免疫失衡, 从而引起肠道黏膜局部溃烂 [2, 7]。近年来, 中医药在治疗溃疡性结肠炎方面显示出独特的优势, 具有灵活多变、不良反应少、患者临床可接受等优点 [8-11]。

药根碱是中药黄连和黄柏的主要有效成分之一, 属于四氢异喹啉类生物碱, 其具有抗糖尿病、抗菌、抗原虫、抗癌、抗肥胖和高血脂症的特性 [12], 近些年来已成为一个热门研究化合物。然而, 大多数研究仅局限于其检测方法及其含量测定的研究, 而对其干预炎症性疾病的研究却较少 [13]。代谢组学是一种广泛采用的高通量分析方法, 是对生物样本或器官中的小分子代谢物进行彻底和系统研究的科

学 [14-15], 其主要研究方法和思路是选择合适的代谢物, 通过对不同代谢产物的比较, 可以揭示机体在不同的生理和病理状况下代谢产物的改变, 从而揭示药物作用机制 [16-17]。本研究采用葡聚糖硫酸钠 (dextran sulfate sodium, DSS) 诱导溃疡性结肠炎小鼠模型, 并通过代谢组学技术分析药根碱对溃疡性结肠炎小鼠内源性代谢物的影响, 探究药根碱干预溃疡性结肠炎的代谢途径和作用机制, 为中医药治疗溃疡性结肠炎的作用机制和作用靶点提供理论依据。

1 材料

1.1 动物

SPF 级 C57BL/6 小鼠 50 只, 8 周龄, 雄性, 体重 (20 $\pm$ 2) g, 购自成都达硕实验动物有限公司, 生产许可证号为 SCXK (川) 2020-0030; 饲养于 (25 $\pm$ 0.5) $^{\circ}\text{C}$, 相对湿度 (50 $\pm$ 5) %, 光暗周期 12 h 的环境中, 饲养期间动物自由进食和饮水。本研究所有动物护理和实验程序均经成都中医药大学动物伦理委员会批准 (批准号 TCM-2022-305)。

1.2 药品与试剂

药根碱 (质量分数 $\geq$ 98%, 批号 CHB210110) 购自成都克洛玛生物科技有限公司; 葡聚糖硫酸钠 (批号 OU2702A) 购自西宝生物科技股份有限公司; 美沙拉嗪 (5-amino salicylic acid, 5-ASA, 批号 L20032A) 购自德国 Dr. Falk Pharma GmbH 公司; 小鼠肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 酶联免疫吸附 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) 试剂盒 (批号 MB-2868A)、小鼠白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6) ELISA 试剂盒 (批号 MB-2899A)、小鼠 IL-16 ELISA 试剂盒 (批号 MB-2776A)、小鼠 IL-1 β ELISA 试剂盒 (批号 MB-

2907A) 均购自江苏酶标生物科技有限公司; 4% 多聚甲醛 (批号 BL539A) 购自成都迪普维乐科技有限公司; 质谱级甲酸 (批号 214911) 购自美国 Fisher Scientific 公司; 质谱级乙腈 (批号 I1231229229) 购自美国 Sigma Aldrich 公司。

1.3 仪器

Agilent 6550 iFunnel Q-TOF LC/MS 型超高效液相色谱-四极杆飞行时间串联质谱 (美国安捷伦公司); TripleTOF 4600 型高分辨串联质谱仪 (美国 AB SCIEX 公司); Infinite F200 型荧光化学发光分析仪 (瑞士 TECAN 公司); HBS-ScanX 型全波长酶标分析仪 (南京德铁实验设备有限公司); Sceintz-48 型多样品组织研磨仪 (成都世纪方舟科技有限公司); Ci-S 型倒置显微镜 (日本尼康公司); TGL-16 型高速冷冻离心机 (四川蜀科仪器有限公司); TP-214 型电子天平 (北京赛多利斯仪器有限公司); AL204 型分析天平 (瑞士 Mettler Toledo 公司); KQ-500DE 型数控超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司)。

2 方法

2.1 动物分组、造模及给药

将 50 只小鼠随机分为对照组、模型组、美沙拉嗪 (0.3 g/kg) 组和药根碱低、高剂量 (40、80 mg/kg) 组, 每组 10 只。对照组小鼠饮用纯净水, 其他各组自由饮用 3% DSS 溶液进行造模, DSS 溶液每 2 d 更换 1 次, 对照组每天更换新鲜饮用水, 连续 7 d。药物剂量设置、组别设置及造模参考文献方法^[8, 18], 在实际实验开展过程中, 最优化为当前实验方法。造模的同时, 各给药组 ig 相应药物 (20 mL/kg), 对照组和模型组 ig 等体积纯净水, 1 次/d, 连续给药 7 d。

2.2 小鼠的一般情况观察

每日称量小鼠体质量, 观察记录小鼠的一般情况, 观察腹泻、粪便性状、精神状态等情况, 参考疾病活动指数 (disease activity index, DAI) 评分规则^[19]对小鼠体质量、粪便性状及大便隐血等情况进行评分。

体质量下降分数 = (初始质量 - 测量时体质量) / 初始体质量

DAI = (体质量下降分数 + 大便性状分数 + 大便隐血分数) / 3

2.3 小鼠血清炎症因子水平的检测

末次给药后, 小鼠禁食不禁水 12 h, 眼眶内静脉取血后置于抗凝管中, 3 500 r/min 离心 15 min, 取上清液, -80 °C 保存备用。采用 ELISA 测定法检测小鼠 TNF- α 、IL-6、IL-16、IL-1 β 水平, 操作过程

按照 ELISA 试剂盒说明书进行。

2.4 小鼠结肠组织病理学评分

颈椎脱臼处死小鼠后, 迅速取出结肠, 记录结肠长度后, 将一部分小鼠结肠浸入 4% 多聚甲醛固定, 经脱水、包埋、切片、苏木素-伊红 (hematoxylin eosin, HE) 染色后制成病理切片。其余结肠组织冻存于 -80 °C 保存备用。采用 Leica DFC 显微拍照系统对病理切片进行观察与拍照, 进行结肠组织病理学评分, 评价结肠组织损伤程度^[19]。

2.5 结肠组织代谢组学分析

2.5.1 结肠组织代谢组学样本的制备

取小鼠结肠组织 30 mg, 加入 4 °C 预冷的超纯水 100 μ L 后匀浆, 再加入 4 °C 预冷的甲醇溶液 400 μ L, 涡旋后低温超声 30 min, 超声 2 次。将混合液置于 -20 °C 放置 20 min 以沉淀蛋白及其他固形物, 4 °C、12 000 r/min 离心 10 min 后取上清液过 0.22 μ m 微孔滤膜。从每个样本中吸取等量样本至新的进样瓶, 混合均匀, 即可制得质控 (quality control, QC) 样本, 用于评价代谢组学分析系统的稳定性。

2.5.2 色谱和质谱条件

(1) 色谱条件: 采用 Agilent ZORBAX RRHD C₁₈ (100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.8 μ m) 色谱柱, 柱温 40 °C, 进样体积 5 μ L, 体积流量 0.20 mL/min, 流动相为 0.1% 甲酸水溶液 (A)-乙腈 (B), 梯度洗脱程序: 0~1 min, 10% B; 1~7 min, 10%~40% B; 7~12 min, 40%~90% B; 12~20 min, 90%~100% B; 20~24 min, 100% B。

(2) 质谱条件: 电喷雾离子源 (ESI), 正/负离子模式, 毛细管电压 (V_{cap}) 正离子 3 500 V、负离子 3 000 V, 干燥气与鞘气均为高纯氮气, 干燥气体积流量 8 L/min, 干燥气温度 320 °C, 雾化器压力 35 psi (1 psi = 6.895 kPa), 鞘气体积流量 11 L/min, 鞘气温度 350 °C, 碎裂电压 175 V, 一级质荷比检测范围 m/z 80~1 500, 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。

2.5.3 代谢组学数据提取与通路分析

(1) 代谢组学数据的提取与处理: 将获取的代谢组学原始数据使用 MassHunter Profinder B.06.00 软件对样品的保留时间、 m/z 以及峰面积进行提取, 输出数据汇总保存为 “csv” 格式文件。将代谢组学实验得到的原始数据导入 MetaboAnalyst 6.0 在线分

析软件,进行单变量统计分析,将正离子模式和负离子模式的原始数据进行标准化和归一化处理后,将归一化表格导入 SIMCA-P 14.1 软件中,进行主成分分析(principal component analysis, PCA)和正交偏最小二乘法-判别分析(orthogonal partial least square-discriminate analysis, OPLS-DA)。在 OPLS-DA 中,将变量重要性投影(variable importance in the projection, VIP)值 ≥ 1.0 , $|p(\text{corr})|\geq 0.58$ 且 t 检验 $P<0.05$ 的差异代谢物作为潜在生物标志物,绘制置换检验图、S-plots 曲线等。

(2)特征代谢通路分析:采用 MassHunter PCDL Manager B.04.00 软件鉴定潜在的特征代谢标志物,并结合二级质谱数据进行再次确认。将通过单因素统计分析和多元统计分析筛选出的差异代谢标志物的京都基因与基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)号导入 MetaboAnalyst 6.0 在线分析软件进行通路富集与分析,发现药根碱治疗溃疡性结肠炎可能参与的体内代谢通路,探讨其作用机制。

2.6 统计学分析

所有数据均以 $\bar{x}\pm s$ 表示,并采用 IBM SPSS Statistics 26 (Chicago) 软件进行统计学分析,采用单因素方差分析进行多组间的比较,发现有显著性差异时,使用 LSD- t 法进行两两比较。

3 结果

3.1 小鼠的一般情况观察

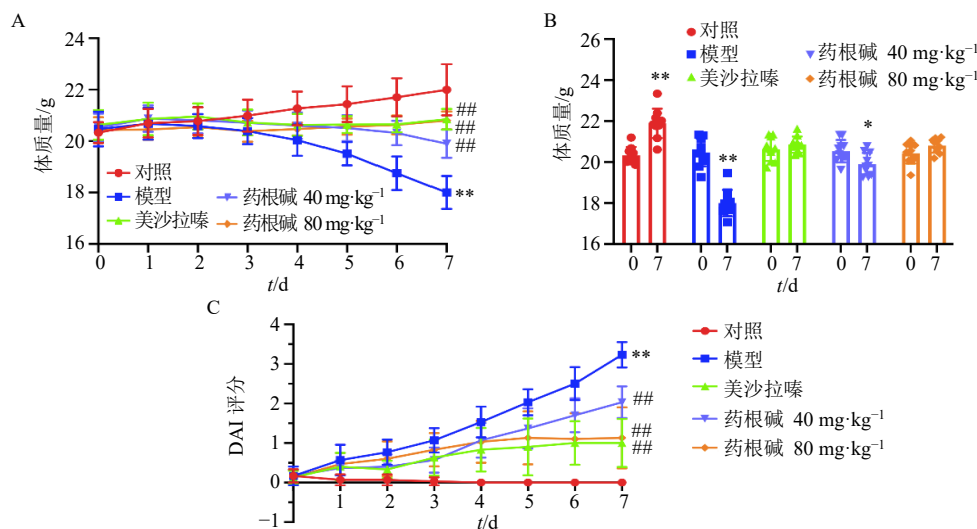
适应性喂养时,各组小鼠的精神状态、体质量和大便性状均正常,表现为活泼好动、被毛光整有光泽、摄食、饮水和排便正常。在造模过程中,模型组小鼠精神懒散、拱背、毛色暗淡无光泽、嗜睡成团、出现腹泻、便血、肛周黏附干血便的情况;与模型组小鼠比较,药根碱各剂量组和美沙拉嗪组小鼠随着给药时间的延长,小鼠精神状态、体质量减轻和大便性状等情况逐渐好转。

3.2 小鼠体质量变化及 DAI 评分

小鼠体质量变化及 DAI 评分如图 1 所示,对照组小鼠体质量随着时间的延长持续上升。造模期间,除对照组外,各组小鼠均出现体质量下降、腹泻、便溏、大便隐血阳性等典型溃疡性结肠炎症状。与对照组比较,模型组小鼠体质量下降明显($P<0.01$),模型组小鼠 DAI 评分显著升高($P<0.01$)。与模型组比较,美沙拉嗪组、药根碱各剂量组能够缓解溃疡性结肠炎所致体质量减轻的情况($P<0.01$),并降低小鼠的 DAI 评分($P<0.01$)。药根碱高剂量组及美沙拉嗪组小鼠治疗前后体质量无显著变化,表明二者对溃疡性结肠炎治疗效果较好。

3.3 结肠黏膜表观形态学及病理变化

如图 2-A 所示,对照组小鼠结肠肉眼观察没有

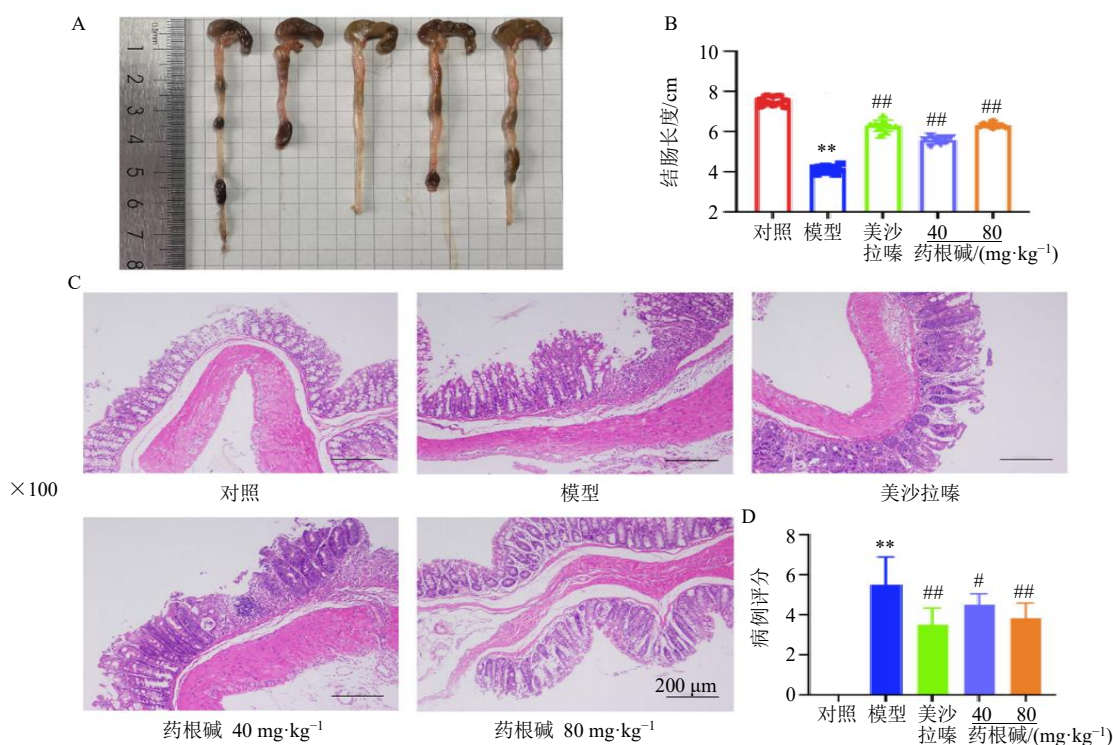


A-体质量每日变化折线图; B-治疗前后体质量对比图; C-UC 小鼠 DAI 评分图; 与对照组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$; 与模型组比较: # $P<0.05$ ## $P<0.01$, 下图同。

A-line graph of daily changes in body mass; B-comparison chart of body mass at the beginning and end of a two-day period; C-DAI score chart of UC mice; * $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs control group; # $P<0.05$ ## $P<0.01$ vs model group, same as below figures.

图 1 药根碱对溃疡性结肠炎小鼠体重和 DAI 评分的影响 ($\bar{x}\pm s, n=10$)

Fig. 1 Effect of jatrorrhizine on body weight and DAI score in mice with UC ($\bar{x}\pm s, n=10$)



A-结肠表现形态学示意图; B-药根碱对各组小鼠结肠长度的影响; C-药根碱对溃疡性结肠炎小鼠组织病理学变化的影响; D-结肠组织病理学评分。

A-schematic diagram of colonic apparent morphology; B-effect of jatrorrhizine on colon length of mice in each group; C-effect of jatrorrhizine on histopathological changes of UC mice; D-histopathological scoring of colonic tissues.

图 2 药根碱对溃疡性结肠炎小鼠结肠表现形态学及组织病理学变化的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 2 Effect of jatrorrhizine on apparent morphology and histopathological changes of colon in mice with UC ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

明显损伤, 模型组小鼠结肠有肉眼可见的黏膜充血和水肿情况。如图 2-B 所示, 与对照组比较结肠出现明显萎缩, 结肠长度显著缩短 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 药根碱低剂量组小鼠也有轻微的结肠出血情况, 美沙拉嗪、药根碱高剂量组结肠黏膜损伤情况有所改善, 美沙拉嗪组、不同剂量药根碱组结肠长度显著增加 ($P < 0.01$)。如图 2-C、D 所示, 对照组小鼠的结肠黏膜组织完好, 未见炎症细胞浸润; 模型组小鼠的结肠杯状细胞数目减少或大量丧失, 炎症细胞浸润较多, 部分可达黏膜下层; 低剂量药根碱可使小鼠的结肠杯状细胞数目下降, 并有炎症细胞浸润; 药根碱高剂量组、美沙拉嗪组的结肠黏膜组织中, 有少量的炎症细胞浸润, 结肠杯状细胞发育良好; 与对照组比较, 模型组病理评分显著升高; 与模型组比较, 美沙拉嗪组、不同剂量药根碱组病理评分均显著下降 ($P < 0.05, 0.01$)。以上结果表明药根碱对 DSS 所致小鼠结肠萎缩的现象均有不同程度的缓解, 且药根碱高剂量组效果明显优于低剂量组。

3.4 小鼠血清炎症因子水平

如图 3 所示, 与对照组比较, 模型组小鼠的血清中 $\text{TNF-}\alpha$ 、 $\text{IL-1}\beta$ 、 IL-6 和 IL-16 的水平显著升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 美沙拉嗪组和药根碱高剂量组 $\text{TNF-}\alpha$ 、 $\text{IL-1}\beta$ 、 IL-6 和 IL-16 的水平显著降低 ($P < 0.05, 0.01$), 而药根碱低剂量组仅有降低 $\text{TNF-}\alpha$ 、 $\text{IL-1}\beta$ 和 IL-6 趋势, 而无显著性差异, 但可显著降低 IL-16 的水平 ($P < 0.01$), 结果表明药根碱能降低结肠组织炎症因子水平, 缓解炎症, 且高剂量组治疗效果与美沙拉嗪相近, 优于低剂量组。

3.5 结肠组织代谢组学分析

3.5.1 PCA 分析 如图 4 所示, QC 样本相对集中, 表明了实验条件和仪器设备的稳定性。在正、负离子模式下, 各组别均可进行聚类, 其中对照组和模型组可较好地分离, 表明溃疡性结肠炎模型的成功构建。美沙拉嗪组和药根碱高剂量组与对照组靠近, 与模型组较远, 表明其对溃疡性结肠炎具有一定的治疗作用。

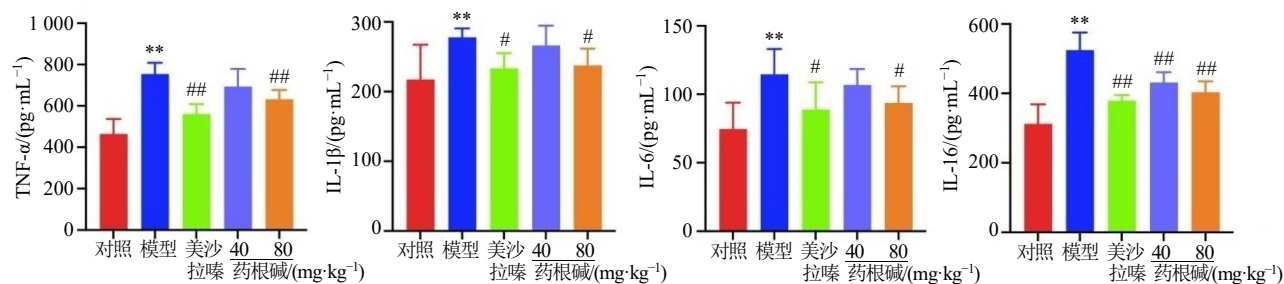
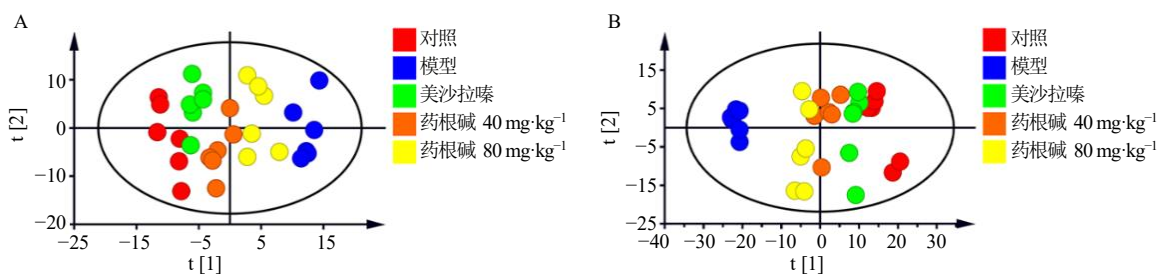


图 3 药根碱对溃疡性结肠炎小鼠血清 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 和 IL-16 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 3 Effect of jatrorrhizine on serum TNF- α , IL-1 β , IL-6, and IL-16 levels in mice with ulcerative colitis ($\bar{x} \pm s, n = 6$)



A-正离子模式下的主成分分析; B-负离子模式下的主成分分析。

A-principal component analysis in positive ion mode; B-principal component analysis in negative ion mode.

图 4 药根碱对溃疡性结肠炎治疗作用的主成分分析图 ($n = 6$)

Fig. 4 Principal component analysis plot of therapeutic effect of jatrorrhizine on UC ($n = 6$)

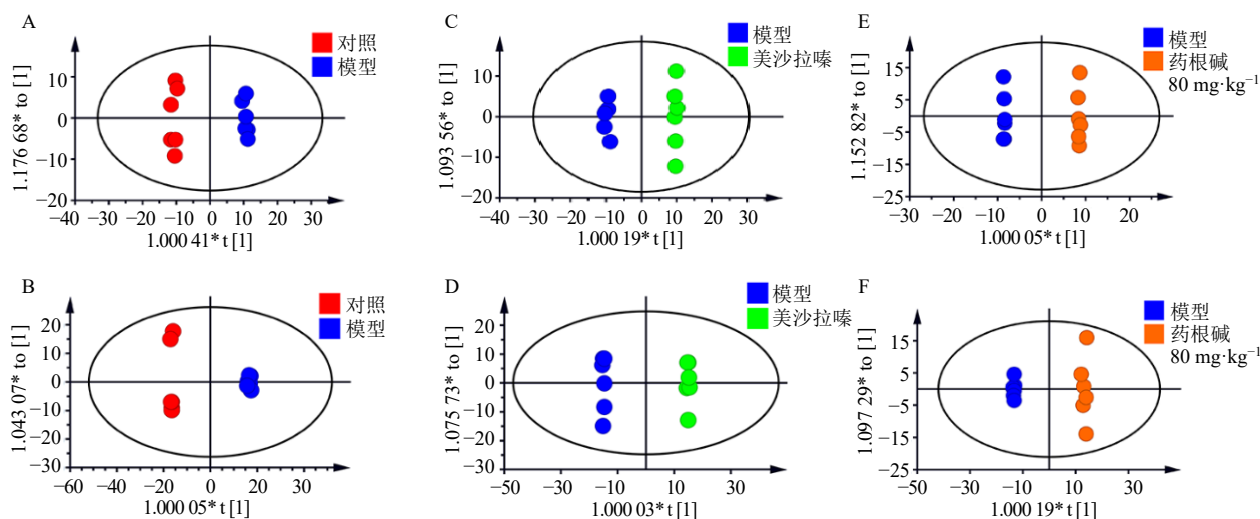
3.5.2 OPLS-DA 分析 如图 5 所示, 对照组和模型组、模型组和美沙拉嗪组、模型组和药根碱高剂量组在不同的象限中表现出显著的聚类特征, 说明代谢产物存在着差异, 有较好的分离, 且有明显的代谢特征, 表明小鼠结肠组织代谢物代谢紊乱。在正、负离子模式下, 模型组和美沙拉嗪组间所建立的模型解释能力参数 R^2_Y 和预测能力参数 Q^2 分别为 (1, 0.975)、(0.998, 0.931); 模型组和药根碱高剂量组间所建立的模型解释能力参数 R^2_Y 和预测能力参数 Q^2 分别为 (0.998, 0.941)、(1, 0.899), 表明该模型的解释能力、区分程度以及预测程度均较好, 具有良好的解释能力和预测能力。

如图 6 所示, 200 次置换检验结果表明, 左侧的 R^2 和 Q^2 的位置均低于右侧, Q^2 的回归线与纵轴相交于原点及以下, 表明 OPLS-DA 模式的拟合优度和预测性较好。利用投影变量重要性 (variable importance in projection, VIP) 和载荷权重多维统计方法, 对代谢物差异性变量进行筛选。S-plots 曲线用于研究固有聚类变量。在相应的 S-plots 图中, 离原点更远的变量被认为贡献更大。本研究筛选满足条件 $VIP \geq 1.0$ 和 $|p(\text{corr})| \geq 0.58$ 的变量作为潜在的

代谢生物标志物^[20]。如图 7 所示, 标记为红色的小分子与中心坐标轴线的距离越远, 表明这种物质的贡献越大, 可以被认为是潜在的差异代谢物。对照组和模型组、模型组和美沙拉嗪组、模型组和药根碱高剂量组均分布于得分图两侧, 表明经药根碱高剂量干预后机体代谢存在一定变化。为了更全面地表征差异代谢物, 将在正、负离子模式下分别获得潜在差异代谢物, 将其合并用于后续分析。

3.5.3 特征代谢标志物的鉴定 在 S-plots 曲线中, 根据 $VIP \geq 1.0$ 和 $|p(\text{corr})| \geq 0.58$, 确定了对聚类和判别起重要作用的变量。从对照组、模型组、美沙拉嗪组和药根碱高剂量组中筛选得到的候选差异代谢物用于后续 ANOVA 分析。将具有显著差异 ($P < 0.05$) 的差异代谢物作为潜在生物标志物, 进而在 METLIN 和 MetaboAnalyst 6.0 数据库中进行鉴别分析。总共鉴定出 7 种潜在的生物标志物, 分别为花生四烯酸、磷脂酰胆碱、胆酸、鹅去氧胆酸、PE [14:0/20:1(11Z)]、高香草醛和松柏醇, 见表 1。

3.5.4 潜在生物标志物变化分析 如图 8 所示, 与对照组比较, 模型组花生四烯酸和松柏醇水平显著升高 ($P < 0.01$), 但磷脂酰胆碱、胆酸、鹅去氧胆

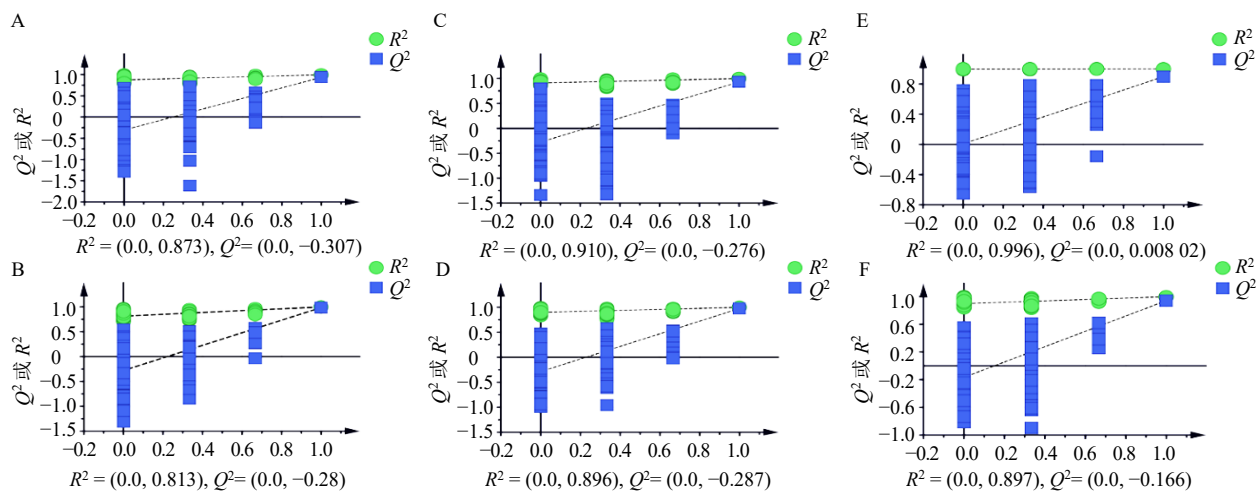


A-正离子模式下对照组与模型组 OPLS-DA 得分图; B-负离子模式下对照组与模型组 OPLS-DA 得分图; C-正离子模式下模型组与美沙拉嗪组 OPLS-DA 得分图; D-负离子模式下模型组与美沙拉嗪组 OPLS-DA 得分图; E-正离子模式下模型组与药根碱高剂量组 OPLS-DA 得分图; F-负离子模式下模型组与药根碱高剂量组 OPLS-DA 得分图。

A-OPLS-DA scores of control group and model group in positive ion mode; B-OPLS-DA scores of control group and model group in negative ion mode; C-OPLS-DA scores of model group and 5-ASA group in positive ion mode; D-OPLS-DA scores of model group and 5-ASA group in negative ion mode; E-OPLS-DA scores of model group and high dose of jatrorrhizine group in positive ion mode; F-OPLS-DA scores of model group and high dose of jatrorrhizine group in negative ion mode.

图 5 药根碱对溃疡性结肠炎治疗作用的 OPLS-DA 分析图 ($n = 6$)

Fig. 5 OPLS-DA for therapeutic effect of jatrorrhizine on UC ($n = 6$)



A-正离子模式下对照组与模型组的置换检验; B-负离子模式下对照组与模型组的置换检验; C-正离子模式下模型组与阳性药组的置换检验; D-负离子模式下模型组与阳性药组的置换检验; E-正离子模式下模型组与药根碱组的置换检验; F-负离子模式下模型组与药根碱组的置换检验。

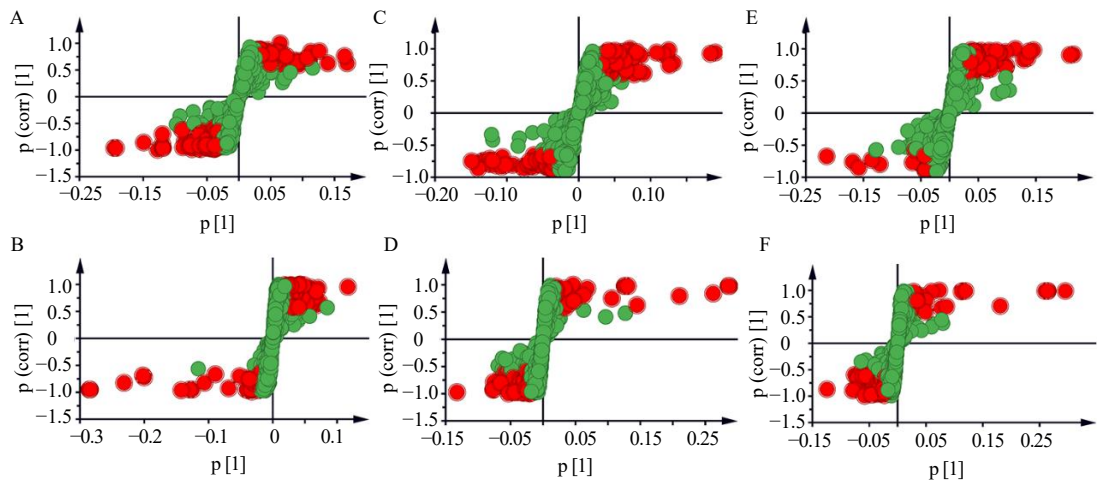
A-permutation test between control group and model group in positive ion mode; B-permutation test between control group and model group in negative ion mode; C-permutation test between model group and 5-ASA group in positive ion mode; D-permutation test between model group and 5-ASA group in negative ion mode; E-permutation test between model group and jatrorrhizine group in positive ion; F-permutation test between model group and jatrorrhizine group in negative ion mode.

图 6 药根碱对溃疡性结肠炎治疗作用的置换检验图

Fig. 6 Permutation test plot of therapeutic effect of jatrorrhizine on UC

酸、PE [14:0/20:1 (11Z)]和高香草醛水平显著降低 ($P < 0.01$)。与模型组比较,美沙拉嗪组和药根碱高剂量组花生四烯酸和松柏醇水平显著降低 ($P <$

0.01), 但磷脂酰胆碱、胆酸、鹅去氧胆酸、PE [14:0/20:1 (11Z)]和高香草醛水平显著升高 ($P < 0.05$ 、0.01), 表明药根碱可通过影响溃疡性结肠炎



A-正离子模式下对照组与模型组的 S-plots 曲线; B-负离子模式下对照组与模型组的 S-plots 曲线; C-正离子模式下模型组与阳性药组的 S-plots 曲线; D-负离子模式下模型组与阳性药组的 S-plots 曲线; E-负离子模式下模型组与药根碱组的 S-plots 曲线; F-负离子模式下模型组与药根碱组的 S-plots 曲线。
A-S-plots curves of control group and model group in positive ion mode; B-S-plots curves of control group and model group in negative ion mode; C-S-plots curves of model group and 5-ASA group in positive ion mode; D-S-plots curves of model group and 5-ASA group in negative ion mode; E-S-plots curves of model group and jatrorrhizine group in positive ion mode; F-S-plots curves of model group and jatrorrhizine group in negative ion mode.

图 7 药根碱对溃疡性结肠炎治疗作用的 S-plots 图
Fig. 7 S-plots of therapeutic effect of jatrorrhizine on UC

表 1 药根碱治疗小鼠溃疡性结肠炎的代谢标志物
Table 1 Metabolic markers of jatrorrhizine in treatment of UC in mice

序号	离子模式	代谢物	分子式	m/z	tr/min	差异倍数	
						对照组/模型组	药根碱组/模型组
1	负离子	花生四烯酸	C ₂₀ H ₃₂ O ₂	304.47	13.92	0.52**	0.68##
2	正离子	磷脂酰胆碱	C ₄₂ H ₈₀ NO ₈ P	758.06	13.60	2.19**	1.56##
3	负离子	胆酸	C ₂₄ H ₄₀ O ₅	408.57	16.41	1.76**	1.34#
4	负离子	鹅去氧胆酸	C ₂₄ H ₄₀ O ₄	392.57	10.57	4.82**	3.29##
5	正离子	PE [14:0/20:1 (11Z)]	C ₄₃ H ₇₈ NO ₈ P	767.55	13.24	1.52*	1.40#
6	正离子	高香草醛	C ₈ H ₈ O ₃	152.15	9.17	1.99**	1.29#
7	负离子	松柏醇	C ₁₀ H ₁₂ O ₃	180.20	12.22	0.52**	0.59##

与对照组比较: *P<0.05 **P<0.01; 与模型组比较: #P<0.05 ##P<0.01。
*P<0.05 **P<0.01 vs control group; #P<0.05 ##P<0.01 vs model group.

潜在生物标志物水平发挥治疗作用。

3.5.5 特征代谢组学通路分析 为明确药根碱在治疗溃疡性结肠炎中可能参与的代谢途径,将筛选得到的代谢物导入 MetaboAnalyst 6.0 平台进行代谢通路富集分析。本研究筛选得到 8 条潜在代谢通路参与药根碱治疗 DSS 诱导的溃疡性结肠炎,包括甘油磷脂代谢、花生四烯酸代谢、初级胆汁酸生物合成、亚油酸代谢、 α -亚麻酸代谢、糖基磷脂酰肌醇锚定生物合成、不饱和脂肪酸的生物合成和酪氨酸代谢(图 9)。

4 讨论

本研究通过考察药根碱对 DSS 致小鼠溃疡性

结肠炎的药理学效应,发现药根碱能显著减轻溃疡性结肠炎小鼠的体质量下降、降低 DAI 评分、缓解结肠黏膜炎症及损伤,还能明显降低溃疡性结肠炎小鼠血清中的炎症因子水平,且药根碱高剂量组效果明显优于低剂量组。进一步采用结肠组织代谢组学技术考察药根碱对 DSS 致小鼠溃疡性结肠炎的分子机制,分析得到花生四烯酸代谢、甘油磷脂代谢、初级胆汁酸生物合成、不饱和脂肪酸的生物合成等 8 条潜在靶标代谢通路和花生四烯酸、磷脂酰胆碱、胆酸和鹅去氧胆酸等 7 种潜在生物标志物,通过对这些通路和潜在生物标志物进行分析,表明溃疡性结肠炎的发生机制与脂类代谢和胆汁酸代谢

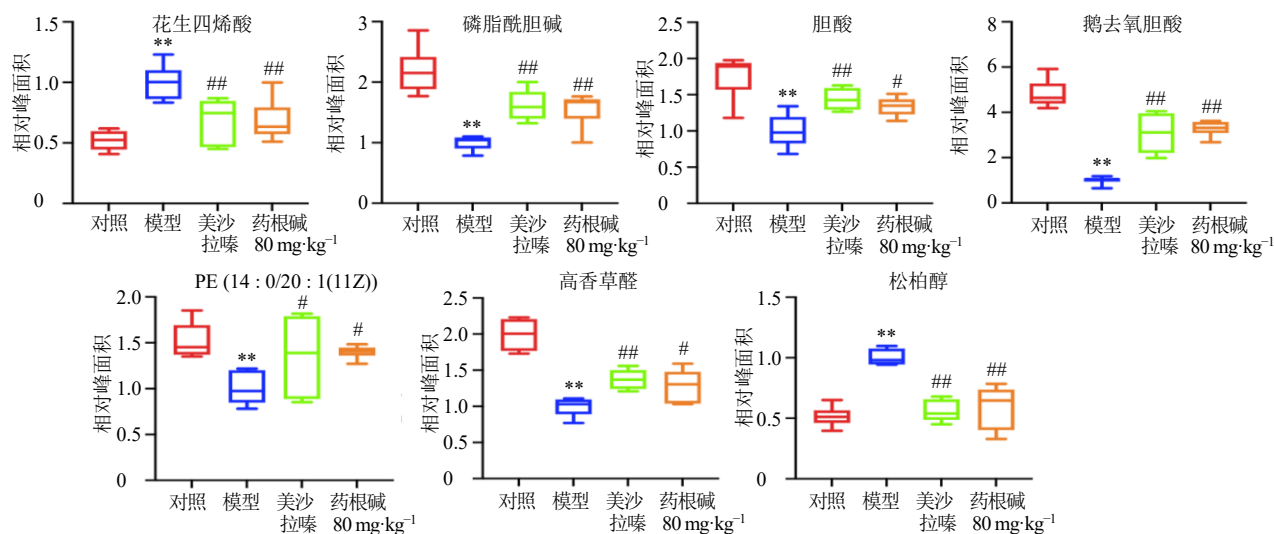


图 8 药根碱治疗溃疡性结肠炎小鼠潜在生物标志物的变化

Fig. 8 Changes in potential metabolites in mice with UC treated with jatrorrhizine

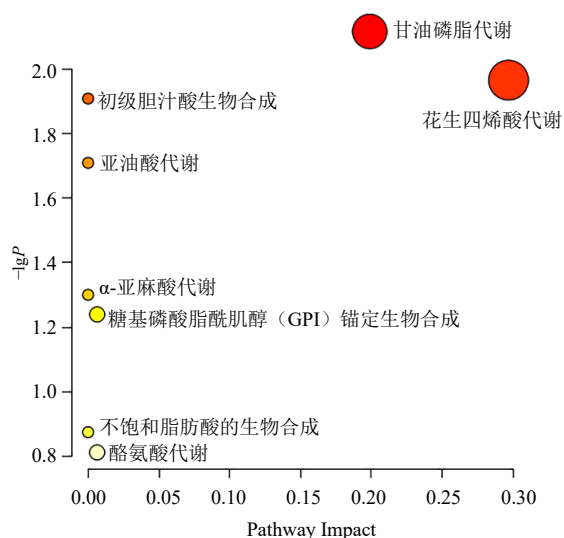


图 9 药根碱治疗溃疡性结肠炎小鼠的相关途径分析

Fig. 9 Analysis of related pathways in mice with UC treated with jatrorrhizine

紊乱有关。

溃疡性结肠炎的发病主要是由遗传基因易感性、免疫损伤以及环境因素等多种因素共同作用的结果，然而，关于其具体的发病机制，目前尚未完全明确^[21-23]。现代医学治疗大多采用激素、手术疗法，往往具有复发率高、生活质量较差的缺陷。中医药在治疗溃疡性结肠炎方面展现出显著优势，能有效减轻患者的症状，同时降低疾病的复发率^[24]。

在缓解病情、提升患者生活质量等方面，中医药具有明显的优势。目前，中药在溃疡性结肠炎治疗中显示出通过调节免疫力和肠道微生物群从而恢复肠道稳态的潜力^[25]。DAI 数值大小与溃疡性结肠炎病变程度呈正相关^[26]。本研究结果表明，小鼠造模后出现体质量下降、腹泻、便溏、大便隐血阳性等典型的溃疡性结肠炎症状，给予药根碱后，溃疡性结肠炎小鼠 DAI 值显著降低，明显缓解腹泻和便血症状，说明药根碱能缓解溃疡性结肠炎小鼠模型症状。已有研究发现药根碱可通过调控肠道屏障功能，恢复溃疡性结肠炎小鼠肠道损伤抑制肠道黏膜细胞凋亡并增强机体抗氧化能力，从而减轻溃疡性结肠炎小鼠结肠黏膜损伤，但其作用机制有待进一步阐明^[18]。

花生四烯酸是人体必需的游离脂肪酸之一，属于多不饱和脂肪酸，对于维持身体的正常生理功能，如促进肌肉生长、保护大脑和参与神经的早期发育至关重要。同时，花生四烯酸代谢产生的前列腺素 E2 能使小动脉扩张，增加组胺，增加血管壁的通透性，从而促进炎性渗出，介导局部炎症反应^[27]。肠道中花生四烯酸的代谢产物活性过高则反而会引起结肠组织的损伤^[28]。正常情况下花生四烯酸存在于细胞膜中，当细胞受到 DSS 所致的炎症反应刺激时，花生四烯酸氧化导致炎症因子的大量产生，从而引起结肠组织炎症反应。此外，甘油磷脂代谢水平能反映出机体脂质代谢水平，是溃疡性结肠炎

发生发展中一个重要的生物学指标^[29]。甘油磷脂是组成细胞膜的主要成分之一，磷脂酰胆碱则是细胞膜中主要的甘油磷脂。在维持膜结构、保证膜蛋白的正常运作中发挥着重要作用，在肠炎过程中常导致甘油磷脂代谢异常^[30]。脂质代谢和炎症关系紧密，脂质代谢的紊乱会导致炎症介质的异常升高，另一方面，炎症介质又会加重脂质氧化，导致脂质结构改变再次诱导产生炎症介质，从而导致炎症^[31]。小鼠的甘油磷脂代谢途径紊乱，主要表现为花生四烯酸的过度积累，导致甘油磷脂分解为花生四烯酸的代谢和不饱和脂肪酸水平的增加，进而导致花生四烯酸代谢和不饱和脂肪酸的生物合成途径紊乱^[2, 32]。溃疡性结肠炎早期特征为黏膜白细胞跨膜侵袭炎症因子的过剩分泌过剩，从而导致黏膜破裂、形成溃疡。本研究发现 DSS 可引起小鼠肠道花生四烯酸水平的显著升高，甘油磷脂代谢途径的代谢产物磷脂酰胆碱水平的降低。然而，药根碱则可通过降低溃疡性结肠炎小鼠花生四烯酸水平，增加小鼠结肠组织磷脂酰胆碱水平，抑制炎症细胞因子 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 和 IL-16 的产生，调控花生四烯酸代谢和甘油磷脂代谢从而减轻结肠炎症反应引起的损伤，进而发挥治疗溃疡性结肠炎的作用。

胆汁酸属于类固醇家族，是肠肝循环的物质基础，在脂质代谢中发挥着重要作用。肝脏将胆固醇转化为初级胆汁酸，进入肠道后被肠内细菌群解离为游离胆汁酸，之后水解为次级胆汁酸，从而对宿主的代谢和免疫功能发挥调控作用^[33]。然而，肠道微生态失调和胆汁酸紊乱会损害肠道屏障和免疫力，引起溃疡性结肠炎的发生发展。研究表明，胆汁酸稳态的破坏与溃疡性结肠炎疾病严重程度相关^[34]。有证据表明，促炎细胞因子 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 和一氧化氮（nitric oxide, NO）在溃疡性结肠炎发病机制中是不可或缺的^[35]。临床上用于胆汁代谢异常的治疗的鹅去氧胆酸，可以减少全身的 NO 含量，抑制毛细血管扩张，降低渗透性增加从而减轻炎症。本研究发现结肠炎模型组胆酸和鹅去氧胆酸水平显著降低，而药根碱可通过升高胆酸和鹅去氧胆酸水平调控结肠组织初级胆汁酸生物合成发挥抗溃疡性结肠炎的作用。此外，药根碱对亚油酸代谢和 α -亚麻酸代谢等脂质代谢也具有调控作用。

综上，本研究通过动物实验和结肠组织代谢组学分析证实药根碱可以治疗 DSS 诱导所致的小鼠溃疡性结肠炎，且高剂量的药根碱治疗溃疡性结肠

炎的效果与美沙拉嗪相近。药根碱治疗溃疡性结肠炎的作用机制可能是通过干预花生四烯酸代谢通路、甘油磷脂代谢通路、初级胆汁酸生物合成等通路，调控花生四烯酸代谢和甘油磷脂代谢，进而抑制炎症因子的表达发挥治疗溃疡性结肠炎的作用。该研究利用代谢组学技术分析药根碱治疗溃疡性结肠炎的作用机制，为药根碱的利用与开发提供了实验依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Ordás I, Eckmann L, Talamini M, *et al.* Ulcerative colitis [J]. *Lancet*, 2012, 380(9853): 1606-1619.
- [2] 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.
- [3] Gros B, Kaplan G G. Ulcerative colitis in adults: A review [J]. *JAMA*, 2023, 330(10): 951-965.
- [4] 中华医学会消化病学分会炎症性肠病学组, 中国炎症性肠病诊疗质量控制评估中心. 中国溃疡性结肠炎诊治指南 (2023 年·西安) [J]. 中华消化杂志, 2024, 44(2): 73-99.
- [5] 李军祥, 唐旭东, 王化虹, 等. 溃疡性结肠炎中医诊疗指南 (2023) [J]. 中医杂志, 2024, 65(7): 763-768.
- [6] 吴开春, 梁洁, 冉志华, 等. 炎症性肠病诊断与治疗的共识意见 (2018 年·北京) [J]. 中国实用内科杂志, 2018, 38(9): 796-813.
- [7] 张玉洁, 刘兴山. 溃疡性结肠炎的发病机制及中医药干预进展 [J]. 实用中医内科杂志, 2024, 38(6): 136-138.
- [8] Wen J X, Yang Y, Li L, *et al.* Magnoflorine alleviates dextran sulfate sodium-induced ulcerative colitis via inhibiting JAK2/STAT3 signaling pathway [J]. *Phytother Res*, 2024, 38(9): 4592-4613.
- [9] Zheng S H, Xue T Y, Wang B, *et al.* Chinese medicine in the treatment of ulcerative colitis: The mechanisms of signaling pathway regulations [J]. *Am J Chin Med*, 2022, 50(7): 1781-1798.
- [10] 陈琴, 张志云, 朱云婴, 等. 基于国家专利的中药复方治疗溃疡性结肠炎用药规律研究 [J]. 药物评价研究, 2024, 47(1): 171-178.
- [11] 李欢, 张相安. 葛根在治疗炎症性肠病中的作用机制和应用研究进展 [J]. 中草药, 2025, 56(4): 1428-1439.
- [12] Zhong F R, Chen Y, Chen J, *et al.* Jatrorrhizine: A review of sources, pharmacology, pharmacokinetics and toxicity [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 12: 783127.
- [13] Wu G J, Mu T, Zhang L H, *et al.* Jatrorrhizine Hydrochloride alleviates tert-butyl hydroperoxide-induced endothelial cell injury through its anti-inflammatory

- activity and PPAR- γ activation [J]. *Cell Mol Biol*, 2020, 66(2): 125-129.
- [14] Fu M H, Bao T, Yu H Z, *et al.* Metabolomics investigation on antiobesity effects of *Corydalis bungeana* on high-fat high-sugar diet-induced obese rats [J]. *Chin Herb Med*, 2022, 14(3): 414-421.
- [15] Sun J, Chen X Y, Wang Y R, *et al.* Neuroprotective effects of Longxue Tongluo Capsule on ischemic stroke rats revealed by LC-MS/MS-based metabolomics approach [J]. *Chin Herb Med*, 2023, 15(3): 430-438.
- [16] Zhou R, Huang Y Y, Tian C J, *et al.* *Coptis chinensis* and berberine ameliorate chronic ulcerative colitis: An integrated microbiome-metabolomics study [J]. *Am J Chin Med*, 2023, 51(8): 2195-2220.
- [17] Berrell N, Sadeghirad H, Blick T, *et al.* Metabolomics at the tumor microenvironment interface: Decoding cellular conversations [J]. *Med Res Rev*, 2024, 44(3): 1121-1146.
- [18] 牛圣奇, 李星, 李浩田, 等. 药根碱通过调节细胞凋亡和激活 Nrf2/HO-1 信号通路减轻葡聚糖硫酸钠诱导的小鼠溃疡性结肠炎黏膜损伤 [J]. *中草药*, 2024, 55(19): 6577-6587.
- [19] Zhou W, Zhang H, Huang L H, *et al.* Disulfiram with Cu²⁺ alleviates dextran sulfate sodium-induced ulcerative colitis in mice [J]. *Theranostics*, 2023, 13(9): 2879-2895.
- [20] Wen J X, Tong Y L, Ma X, *et al.* Therapeutic effects and potential mechanism of dehydroevodiamine on *N*-methyl-*N'*-nitro-*N*-nitrosoguanidine-induced chronic atrophic gastritis [J]. *Phytomedicine*, 2021, 91: 153619.
- [21] Rodríguez C, Romero E, Garrido-Sanchez L, *et al.* Microbiota insights in *Clostridium difficile* infection and inflammatory bowel disease [J]. *Gut Microbes*, 2020, 12(1): 1725220.
- [22] McGovern D P B, Gardet A, Törkvist L, *et al.* Genome-wide association identifies multiple ulcerative colitis susceptibility loci [J]. *Nat Genet*, 2010, 42(4): 332-337.
- [23] Thompson A I, Lees C W. Genetics of ulcerative colitis [J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2011, 17(3): 831-848.
- [24] 陈琴, 张志云, 朱云婴, 等. 基于网络药理学、分子对接及分子动力学模拟探讨黄连治疗溃疡性结肠炎的作用机制 [J]. *现代药物与临床*, 2023, 38(10): 2444-2450.
- [25] Yang Y F, Wang Y, Zhao L, *et al.* Chinese herbal medicines for treating ulcerative colitis via regulating gut microbiota-intestinal immunity axis [J]. *Chin Herb Med*, 2023, 15(2): 181-200.
- [26] 杜丽东, 马清林, 吴国泰, 等. 基于 IKK α /NF- κ B/COX-2 信号通路探讨乌梅丸治疗溃疡性结肠炎的机制 [J]. *中药药理与临床*, 2021, 37(2): 3-7.
- [27] Gao X, Wang J J, Chen X L, *et al.* Reduning Injection prevents carrageenan-induced inflammation in rats by serum and urine metabolomics analysis [J]. *Chin Herb Med*, 2022, 14(4): 583-591.
- [28] 浦贤, 袁梦, 谭书明, 等. 基于网络药理学、分子对接及实验验证探讨刺梨黄酮干预溃疡性结肠炎的作用机制 [J]. *食品科学*, 2024, 45(10): 147-157.
- [29] 王佳林, 马秀兰, 韩金荣, 等. 基于代谢组学分析溃疡性结肠炎模型大鼠结肠组织代谢特征及疾病机制 [J]. *中国老年学杂志*, 2024, 44(2): 372-376.
- [30] Martin F J, Rezzi S, Philippe D, *et al.* Metabolic assessment of gradual development of moderate experimental colitis in IL-10 deficient mice [J]. *J Proteome Res*, 2009, 8(5): 2376-2387.
- [31] 米宁, 季之欣, 武彩娥. 脂质对炎症的影响 [J]. *国际病理科学与临床杂志*, 2012(5): 421-426.
- [32] Yuan Z W, Yang L H, Zhang X S, *et al.* Mechanism of Huang-Lian-Jie-du decoction and its effective fraction in alleviating acute ulcerative colitis in mice: Regulating arachidonic acid metabolism and glycerophospholipid metabolism [J]. *J Ethnopharmacol*, 2020, 259: 112872.
- [33] 卢宇畅, 王振宜, 杨豪杰, 等. 祛瘀生新方对轻中度溃疡性结肠炎小鼠胆汁酸代谢的影响 [J]. *现代中西医结合杂志*, 2024, 33(4): 475-479.
- [34] Yang Z H, Liu F, Zhu X R, *et al.* Altered profiles of fecal bile acids correlate with gut microbiota and inflammatory responses in patients with ulcerative colitis [J]. *World J Gastroenterol*, 2021, 27(24): 3609-3629.
- [35] Kan H, Zhang D X, Chen W J, *et al.* Identification of anti-inflammatory components in *Panax ginseng* of Sijunzi Decoction based on spectrum-effect relationship [J]. *Chin Herb Med*, 2022, 15(1): 123-131.

[责任编辑 罗 曦]