

肠炎宁颗粒的化学成分及改善肠黏膜损伤的药效和代谢组学分析

王家¹, 符蕊², 赵海誉², 荣妍², 李亮², 陈韵心², 陈丽华², 王慧君², 侯红平^{2*}, 魏晓露^{2*}

1. 海南葫芦娃药业集团股份有限公司, 海南 海口 570200

2. 中国中医科学院中药研究所, 道地药材品质保障与资源持续利用全国重点实验室, 北京 100800

摘要: **目的** 探讨肠炎宁颗粒的成分及其对阿司匹林致肠黏膜损伤大鼠的药效和代谢组学分子协同机制。**方法** 通过 UPLC-LTQ-Orbitrap-MS 法鉴定肠炎宁颗粒的化学成分。36 只 SD 大鼠随机分为对照组、模型组、阳性对照组(奥美拉唑 2.08 mg/kg+瑞巴派特 31.25 mg/kg)和肠炎宁颗粒高、中、低剂量(0.96、0.48、0.24 g/kg)组, 采用阿司匹林诱导大鼠肠黏膜损伤模型, 给予药物干预后, 检测各组大鼠血清中二胺氧化酶(diamine oxidase, DAO)和溶菌酶(lysozyme, LZM)活性; 检测血清、胃、小肠组织中炎症因子水平; 采用苏木素-伊红(HE)染色观察胃、小肠组织病理学变化。基于代谢组学筛选差异代谢物并进行代谢通路分析。**结果** 肠炎宁颗粒共鉴定出 52 个化合物, 以黄酮类和有机酸类成分为主。与对照组比较, 模型组大鼠血清中 DAO 活性显著升高($P<0.001$), LZM 活性显著降低($P<0.001$), 血清、胃、小肠组织中促炎因子白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、IL-6、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)水平显著升高($P<0.05$ 、0.01、0.001), 抑炎因子 IL-4、IL-10 水平显著降低($P<0.05$ 、0.01、0.001), 胃和小肠组织出现损伤。与模型组比较, 肠炎宁颗粒组血清中 DAO 活性显著降低($P<0.05$ 、0.01), LZM 活性显著升高($P<0.05$ 、0.01), 血清、胃、小肠组织中 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平显著降低($P<0.05$ 、0.01、0.001), IL-4、IL-10 水平显著升高($P<0.05$ 、0.01、0.001), 胃和小肠组织损伤有所缓解。代谢组学结果显示, 肠炎宁颗粒干预后共有 33 个差异代谢物, 涉及多条代谢途径。**结论** 肠炎宁颗粒以黄酮类和有机酸类成分为主, 通过调节 DAO、LZM 及炎症因子, 显著改善阿司匹林致大鼠肠黏膜损伤。代谢组学证实其通过多通路(苯丙氨酸等氨基酸代谢、磷酸酶代谢)协同作用, 为肠道黏膜损伤的治疗提供依据。

关键词: 肠炎宁颗粒; 肠黏膜损伤; 炎症因子; 代谢组学; 苯丙氨酸、酪氨酸与色氨酸生物合成; 缬氨酸、亮氨酸与酮生物合成; 磷酸酶代谢

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2025)15-5508-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.15.016

Chemical composition of Changyanning Granules and analysis of its pharmacological effects and metabolomics in improving intestinal mucosal injury

WANG Jia¹, FU Rui², ZHAO Haiyu², RONG Yan², LI Liang², CHEN Yunxin², CHEN Lihua², WANG Huijun², HOU Hongping², WEI Xiaolu²

1. Hainan Huluwa Pharmaceutical Group Co., Ltd., Haikou 570200, China

2. State Key Laboratory for Quality Ensurance and Sustainable Use of Dao-di Herbs, Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China

Abstract: Objective To explore the components of Changyanning Granules (肠炎宁颗粒) and their pharmacological effects on aspirin-induced intestinal mucosal injury in rats, as well as the molecular synergistic mechanism of metabolomics. **Methods** The chemical components of Changyanning Granules were identified using UPLC-LTQ-Orbitrap-MS method. Thirty-six SD rats were randomly divided into control group, model group, positive group (omeprazole 2.08 mg/kg + rebamipide 31.25 mg/kg), high-, medium-, and low-dose (0.96, 0.48, 0.24 g/kg) of Changyanning Granules. Aspirin was used to induce intestinal mucosal injury in rats. After drug intervention, the activities of diamine oxidase (DAO) and lysozyme (LZM) in serum of rats in each group were detected; The

收稿日期: 2025-04-17

基金项目: 北京市自然科学基金资助项目(7254509)

作者简介: 王家, 工程师, 研究方向为中药药品研发。E-mail: 879913741@qq.com

*通信作者: 魏晓露, 博士, 副研究员, 硕士生导师, 研究方向为中药抗炎免疫药理及药效物质基础研究。E-mail: xlwei@icmm.ac.cn

侯红平, 博士, 副研究员, 硕士生导师, 研究方向为慢性疾病的治疗与研究。E-mail: hphou@icmm.ac.cn

levels of inflammatory factors in serum, stomach and small intestine tissues were detected; Hematoxylin eosin (HE) staining was used to observe the pathological changes in stomach and small intestine tissues. Differential metabolites were screened based on metabolomics for metabolic pathway analysis. **Results** A total of 52 compounds were identified in Changyanning Granules, mainly composed of flavonoids and organic acids. Compared with control group, DAO activity in serum of rats in model group was significantly increased ($P < 0.001$), and LZM activity was significantly decreased ($P < 0.001$). The levels of pro-inflammatory cytokines interleukin-1 β (IL-1 β), IL-6 and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in serum, stomach and small intestine tissues were significantly increased ($P < 0.05, 0.01, 0.001$), levels of anti-inflammatory factors IL-4 and IL-10 were significantly decreased ($P < 0.05, 0.01, 0.001$). Damages were observed in stomach and small intestine tissues. Compared with model group, DAO activity in serum of rats in Changyanning Granules groups was significantly reduced ($P < 0.05, 0.01$), and LZM activity was significantly increased ($P < 0.05, 0.01$). The levels of IL-1 β , IL-6 and TNF- α in serum, stomach and small intestine tissues were significantly reduced ($P < 0.05, 0.01, 0.001$), and levels of IL-4 and IL-10 were significantly increased ($P < 0.05, 0.01, 0.001$). The damage to the stomach and small intestine tissues was alleviated. Metabolomics results showed that there were a total of 33 differential metabolites involved in multiple metabolic pathways after intervention with Changyanning Granules. **Conclusion** Changyanning Granules are mainly composed of flavonoids and organic acids. Changyanning Granules significantly improve aspirin-induced intestinal mucosal injury in rats by regulating DAO, LZM and inflammatory factors. Metabolomics confirms that it works synergistically through multiple pathways (amino acid metabolism such as phenylalanine, phosphatase metabolism), providing a basis for the treatment of intestinal mucosal injury.

Key words: Changyanning Granules; intestinal mucosal damage; inflammatory factors; metabonomics; phenylalanine, tyrosine and tryptophan biosynthesis; lysine, leucine and testosterone biosynthesis; phosphatase metabolism

阿司匹林是常用的非甾体类解热镇痛抗炎药, 可通过抑制前列腺素 (prostaglandin, PGs) 环氧合酶 (cyclooxygenase, COX), 阻止花生四烯酸转化为 PGs, 进而发挥镇痛、消炎和解热作用^[1]。近年来, 临床发现服用阿司匹林后有 50%~70% 的概率引起小肠黏膜损伤^[2-3]。而肠道在人体内不仅发挥着消化作用, 在免疫调节方面也具有非常重要的作用。肠黏膜可以抵御内毒素、外源性病菌等的侵袭, 通过体液免疫实现防御作用^[4]。因此探索治疗阿司匹林致肠黏膜损伤的药物尤为重要。

中医理论将急性肠黏膜损伤辨证为湿热泻痢, 其表现为腹痛、便血、腹泻等症状, 多用清热止泻药治疗^[5]。肠炎宁颗粒是由江西民间验方肠炎宁片改剂型而来的中药复方制剂, 其组方为金毛耳草、地锦草、枫香树叶、香薷及樟树根。方中金毛耳草性平味苦, 有清热祛湿止泻之功, 为君药; 地锦草、枫树叶清热解毒、利湿止泻, 以加强君药清热祛湿止泻之功, 为臣药; 樟树根祛风止痛, 香薷祛湿和中, 为佐药; 全方配伍, 共收清热利湿, 行气之功^[6]。肠炎宁颗粒是治疗溃疡性结肠炎的常用药物, 主要功效为清热利湿, 行气。现代医学研究表明, 其具有明显抗炎作用, 能够调节免疫功能, 促进溃疡愈合^[7-8]。樟树根水提物及乙醇提取物对革兰阴性菌及革兰阳性菌均具有显著的抑制效果; 地锦草中的活性成分对多种病原微生物、内毒素有明显的抑制作用, 可使内毒素超微结构改变并失去毒

性; 香薷挥发油对金黄色葡萄球菌及大肠杆菌有一定抑制效果。

本研究以阿司匹林致肠黏膜损伤为切入点, 采用代谢组学技术系统解析肠炎宁颗粒通过多组分协同调控多条代谢通路, 改善炎症因子网络, 修复肠黏膜屏障的作用机制, 突破传统单一靶点研究局限, 同时结合中医理论验证“湿热泻痢”病机及清热利湿治法科学内涵。鉴于阿司匹林临床应用广泛且易致小肠黏膜损伤, 现有治疗手段有限, 而肠炎宁颗粒作为清热利湿类复方制剂, 临床用于溃疡性结肠炎疗效确切但机制不明, 本研究不仅为拓展其适应证提供科学依据, 更推动中药复方现代化与国际化应用, 具有重要临床价值和理论创新意义。

1 材料

1.1 动物

SPF 级雄性 SD 大鼠 40 只, 体质量 220~250 g, 购自北京维通利华动物技术有限公司, 动物生产许可证号 SCXK (京) 2021-0006。动物于温度 (23 $\pm$ 2) $^{\circ}\text{C}$ 、相对湿度 (60 $\pm$ 5) %、24 h 明暗交替条件下适应性饲养 1 周后进行实验。本研究通过中国科学院中药研究所伦理委员会批准 (批准号 2024B197)。

1.2 药品与试剂

阿司匹林肠溶片 (国药准字 H20160684, 批号 BJ78489) 购自拜耳医药保健有限公司; 肠炎宁颗粒 (国药准字 Z20060104, 批号 240602G) 购自海南萌

芦娃药业集团股份有限公司；奥美拉唑肠溶胶囊（国药准字 H43021416，批号 12310102）购自湖南迪诺制药公司；瑞巴派特片（国药准字 H20020541，批号 231104R）购自浙江大冢制药公司；二胺氧化酶（diamine oxidase, DAO）检测试剂盒（批号 A088-3-1）购自南京建成生物科技有限公司；溶菌酶（lysozyme, LZM）检测试剂盒（批号 ml1059315），白细胞介素-1 β （interleukin-1 β , IL-1 β ）检测试剂盒（批号 ml037361A）、IL-4 检测试剂盒（批号 ml102825A）、IL-6 检测试剂盒（批号 ml102828A）、IL-10 检测试剂盒（批号 ml1002813A）、肿瘤坏死因子- α （tumor necrosis factor- α , TNF- α ）检测试剂盒（批号 ml002859A）均购自上海酶联生物科技有限公司；质谱级乙腈（批号 F24OAV204）购自赛默飞世尔科技有限公司；质谱级甲醇（批号 0234240505D）购自上海星可高纯溶剂有限公司。

1.3 仪器

Eclipse Ci-L 型正置白光拍照显微镜（日本 Nikon 公司）；Spectramax i3x 型多功能酶标仪（美国 Molecular Devices 公司）；BSA3202S-CW 型电子天平（德国 Sartorius 公司）；3-18 KS 型高速冷冻离心机（美国 Sigma 公司）；JXFSTPRP-96L 型全自动样品快速研磨仪（上海净信公司）；IKAMS3 型涡旋仪（德国 IKA 公司）；Forma 88000 型超低温冰箱、Ultimate 300 型超高液相色谱仪、LTQ Orbitrap Velos Pro 质谱仪（美国 Thermo Fisher Scientific 公司）；SCIENTZ-48L 型低温高通量组织研磨仪（新芝生物科技股份有限公司）。

2 方法

2.1 肠炎宁颗粒化学成分分析

2.1.1 供试品溶液的制备 精密称取 1.0 g 肠炎宁颗粒样品置于 50 mL 离心管中，加入 25 mL 70% 甲醇水溶液溶解，室温下超声 30 min，冷却，称定质量，补足减失质量。重复操作 2 次，合并滤液。13 000 r/min 离心 10 min，取上清液，过 0.22 μ m 滤膜，转移至液相小瓶，待 LC-MS 检测。

2.1.2 色谱条件 Waters Acquity UPLC[®] BEH C₁₈ 色谱柱（100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.7 μ m）；流动相为 0.1% 甲酸水溶液（A）-乙腈（B），洗脱条件：0~3 min, 5% B；3~40 min, 5%~95% B；40~45 min, 95% B；45~45.5 min, 95%~5% B；45.5~50 min, 5% B。体积流量 0.3 mL/min；进样量 2 μ L；柱温 35 $^{\circ}$ C。

2.1.3 质谱条件 ESI 源，正、负离子扫描模式，

正离子模式下毛细管温度 350 $^{\circ}$ C，毛细管电压 35 V，喷雾电压 3.5 kV，鞘气（N₂）体积流量 40 arb，辅助气（N₂）体积流量 10 arb；负离子模式下毛细管电压-35 V，喷雾电压-3.5 kV，鞘气（N₂）体积流量 35 arb，辅助气（N₂）体积流量 10 arb。样品一级质谱在傅里叶变换轨道阱模式下进行全扫描（分辨率为 30 000，扫描范围 m/z 50~1 500），二级质谱采用数据依赖性扫描。

2.2 药效评价

2.2.1 造模、分组及给药 动物适应性饲养 1 周后，剔除体质量不合格动物 4 只，按体质量将剩余动物 36 只随机分为对照组、模型组、阳性对照[奥美拉唑（2.08 mg/kg）+瑞巴派特（31.25 mg/kg）]组和肠炎宁颗粒高、中、低剂量（0.96、0.48、0.24 g/kg，分别相当于临床等效剂量的 2、1、1/2 倍）^[10]组，每组 6 只。除对照组外，其余各组按照文献方法^[9]于早上 ig 阿司匹林（300 mg/kg）造模，连续造模 14 d。各给药组于每日造模下午 ig 相应药物，对照组和模型组 ig 等体积的生理盐水，连续给药 14 d。给药期间，密切观察大鼠精神、活动、粪便状态及摄食情况，隔天称定质量。

2.2.2 药效评价指标 所有动物在末次给药后，禁食 12~16 h，称定体质量，进行后续的处理和检测。

（1）DAO 与 LZM 活性检测：大鼠 ip 1%戊巴比妥钠（40 mg/kg）麻醉，腹主动脉采血，3 000 r/min 离心 10 min，制备血清。按 ELISA 试剂盒说明书检测血清中 DAO 和 LZM 活性。

（2）血清和组织炎症因子检测：采集大鼠部分胃和小肠，组织匀浆后，12 000 r/min 离心 15 min，吸取上清。按照 ELISA 试剂盒说明书检测血清、胃和小肠组织中促炎因子 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 以及抑炎因子 IL-4、IL-10 的水平。

（3）组织病理学染色观察：采集大鼠部分胃和小肠，置于 4%多聚甲醛中，进行常规苏木素-伊红（HE）染色，光学显微镜下观察组织病理学变化。

2.3 小肠代谢组学分析

2.3.1 样品制备 将大鼠的小肠组织在干冰上充分研磨混合均匀，称取 50 mg 组织，加入 3 倍体积的生理盐水，加入中号钢珠 2 颗、小号钢珠 3 颗，匀浆 2 min，向匀浆液中加入 3 倍体积的乙腈，匀浆 2 min，重复上述步骤，将匀浆液超声 10 min，并于 4 $^{\circ}$ C、12 000 r/min 离心 15 min，取上清液，将上清液按照上述条件再次离心，取 120 μ L 于液相

小瓶的内衬管中，剩余上清液分装保留备用。

2.3.2 质量控制 (quality control) 样本的制备 取 8 μ L 同一组织不同样本的上清液为 QC 样本。

2.3.3 色谱条件 Acquity UHPLC HSS T3 色谱柱 (100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.8 μ m)，流动相为乙腈 (A) - 0.1% 甲酸水溶液 (B)，梯度洗脱：0~2 min, 5%~55% A；2~10 min, 55%~95% A；10~15 min, 95% A；15~15.5 min, 95%~5% A；15.5~20 min, 5% A。体积流量 0.3 mL/min；进样体积 8 μ L；柱温 35 $^{\circ}$ C。

2.3.4 质谱条件 ESI 源，正、负离子扫描模式，正离子模式下毛细管温度 350 $^{\circ}$ C，毛细管电压 35 V，喷雾电压 3.5 KV，鞘气 (N_2) 体积流量 40 psi (1 psi=6.895 kPa)，辅助气 (N_2) 体积流量 10 psi；负离子模式下毛细管电压-35 V，喷雾电压-3.5 KV，鞘气 (N_2) 体积流量 35 psi，辅助气 (N_2) 体积流量 10 psi。样品一级质谱在傅里叶变换轨道阱模式下进行全扫描 (分辨率为 30 000，扫描范围 m/z 50~2 000)，二级及三级质谱采用数据依赖性扫描。

2.3.5 代谢组学数据分析 使用 Xcalibur 3.0 软件获得全扫描数据，而后导入 Compound Discover (CD) 3.3 软件 (美国 Thermo 公司) 中根据待测物的保留时间及精确相对分子质量进行峰对齐和峰提取，预处理后的数据使用 Simca (Version 14.1)

进行代谢物鉴定，利用多元统计学分析，先采用无监督的主成分分析 (principal components analysis, PCA) 考察样本聚集度和系统稳定性，分析其代谢轮廓，再基于有监督的正交偏最小二乘-判别分析 (orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA) 验证模型是否有较高的可靠性和较强的可预测性，筛选得到差异倍数 (fold change, FC) <0.67 或 FC>1.5、 P <0.05 的代谢物为显著潜在生物标志物。通过人类代谢组数据库 HMDB (<https://hmdb.ca/>) 与京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 数据库 (<https://www.kegg.jp/kegg/pathway.html>) 对差异代谢物进行代谢通路富集分析。

2.4 统计学分析

采用 SPSS 27.0 软件对数据进行统计处理。计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示，多组间比较采用单因素方差分析，两两比较采用 LSD- t 检验。

3 结果

3.1 肠炎宁颗粒成分鉴定结果

通过分析准分子离子峰、碎片离子信息，结合文献报道，鉴定出 52 个化合物，包括 22 个有机酸、16 个黄酮类、5 个氨基酸、4 个环烯醚萜、2 个鞣质、2 个苯丙素、1 个糖苷。UPLC-LTQ-Orbitrap-MS 总离子流图见图 1，鉴定结果见表 1。

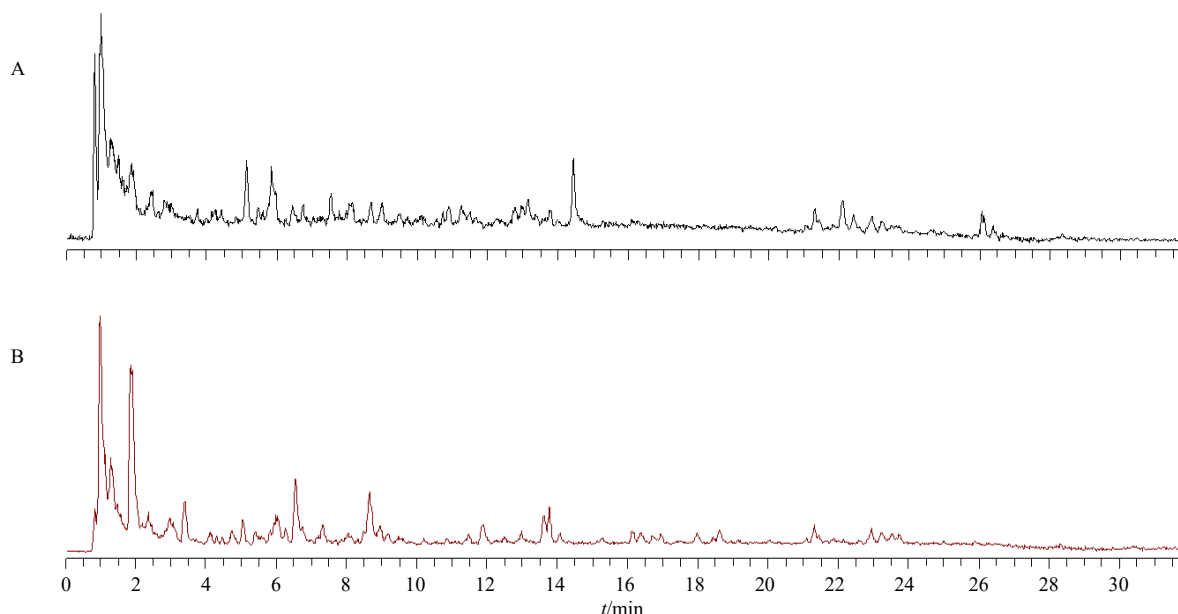


图 1 正 (A)、负 (B) 离子模式下肠炎宁颗粒 UPLC-LTQ-Orbitrap-MS 基峰色谱图

Fig. 1 UPLC-LTQ-Orbitrap-MS base peak chromatograms of Changyanning Granules in positive (A) and negative (B) ion modes

表 1 肠炎宁颗粒化学成分鉴定结果

Table 1 Identification results of chemical components of Changyanning Granules

序号	<i>t_R</i> /min	分子式	误差 ($\times 10^{-6}$)	离子 模式	相对分子质量 (<i>m/z</i>)	碎片离子 (<i>m/z</i>)	化合物	归属
1	0.78	C ₇ H ₁₂ O ₆	4.844	负离子	191.055 94	127.039 94, 85.029 51, 171.029 71, 109.029 66	奎宁酸	金毛耳草、地锦草、香薷、香樟、 枫香树叶
2	0.78	C ₆ H ₁₄ N ₄ O ₂	0.448	正离子	175.119 40	158.092 91, 130.097 49, 116.070 56	精氨酸	金毛耳草、地锦草
3	0.79	C ₇ H ₁₀ O ₅	6.069	负离子	173.045 50	111.045 16, 93.034 58, 73.029 51, 83.050 24	莽草酸	金毛耳草、地锦草、枫香树叶
4	0.86	C ₅ H ₁₁ NO ₂	-1.145	正离子	118.086 12	118.086 12	缬氨酸	金毛耳草、地锦草
5	0.88	C ₁₆ H ₂₂ O ₁₁	2.062	负离子	389.108 64	227.055 91, 209.045 41, 183.066 36, 165.055 71, 191.035 34, 147.045 15	水晶兰苷/去乙酰车叶草苷酸/ 鸡屎藤次苷	金毛耳草、枫香树叶
6	0.90	C ₁₃ H ₁₆ O ₁₀	2.770	负离子	331.066 89	271.045 93, 211.024 73, 169.014 22, 125.024 41, 193.013 82	1- <i>O</i> -galloylglucose	地锦草、枫香树叶
7	0.93	C ₁₃ H ₁₆ O ₉	3.147	负离子	315.072 05	152.011 57, 108.021 69	gentisoyl glucose	金毛耳草、地锦草、枫香树叶、 香薷
8	0.93	C ₆ H ₁₃ NO ₂	-0.191	正离子	132.101 88	86.096 36, 45.033 55	异亮氨酸	金毛耳草、地锦草、枫香树叶
9	0.96	C ₁₃ H ₁₄ O ₁₀	2.969	负离子	329.051 30	153.055 70	二羟基苯甲酸葡萄糖苷酸	香薷
10	0.99	C ₄ H ₆ O ₅	7.745	负离子	133.014 18	115.003 60, 71.013 83	苹果酸	金毛耳草、地锦草、香薷、香樟、 枫香树叶
11	1.00	C ₁₃ H ₁₂ O ₈	3.173	负离子	295.045 78	163.039 96, 119.050 19	coutaric acid	地锦草、香薷
12	1.11	C ₁₆ H ₂₂ O ₁₁	2.370	负离子	389.108 76	227.055 80, 209.045 70, 183.066 25, 165.055 76, 191.035 43, 147.045 33	水晶兰苷/去乙酰车叶草苷酸/ 鸡屎藤次苷	金毛耳草、枫香树叶
13	1.13	C ₉ H ₁₁ NO ₃	-0.548	正离子	182.081 07	96.044 32, 87.044 04	酪氨酸	金毛耳草、地锦草、枫香树叶
14	1.15	C ₁₃ H ₁₆ O ₉	2.671	负离子	315.071 90	152.011 49, 108.021 64	protocatechuic acid 3- glucoside	金毛耳草、地锦草、枫香树叶、 香薷
15	1.15	C ₁₃ H ₁₆ O ₁₀	2.891	负离子	331.066 93	271.045 23, 211.024 83, 169.014 24, 125.024 43, 193.014 40	glucogallin	地锦草、枫香树叶
16	1.21	C ₁₃ H ₁₂ O ₈	3.173	负离子	295.045 78	163.040 02, 119.050 22	cis-coutaric acid	地锦草、香薷
17	1.23	C ₆ H ₈ O ₇	5.659	负离子	191.019 71	173.009 78, 154.998 29, 147.028 76	柠檬酸	金毛耳草、地锦草、香薷、香樟、 枫香树叶
18	1.37	C ₁₀ H ₁₄ O ₅	4.928	负离子	213.076 80	169.086 96, 151.003 52, 123.081 46	巴戟酰萆	金毛耳草
19	1.37	C ₉ H ₁₀ O ₅	5.329	负离子	197.045 50	179.034 94, 151.039 93, 135.045 12	没食子酸乙酯/丁香酸	金毛耳草、香薷
20	1.57	C ₉ H ₈ O ₄	6.003	负离子	179.034 96	135.045 12	咖啡酸	金毛耳草、地锦草、香薷、香樟
21	1.65	C ₉ H ₁₁ NO ₂	-0.453	正离子	166.086 18	120.080 71, 103.054 21	苯丙氨酸	地锦草
22	1.68	C ₈ H ₈ O ₄	-0.209	正离子	169.049 50	170.080 70, 151.038 96	香草酸	金毛耳草、地锦草、香薷、香樟、 枫香树叶
23	2.01	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	-0.531	正离子	354.116 33	163.038 89, 145.028 11, 135.044 17, 117.033 69, 89.038 60	绿原酸	金毛耳草、枫香树叶
24	2.11	C ₁₆ H ₁₈ O ₈	3.163	负离子	337.092 86	191.056 05	4-对香豆酰奎宁酸	枫香树叶
25	2.21	C ₁₆ H ₂₂ O ₁₀	3.342	负离子	373.114 17	211.061 11, 167.071 47, 149.060 84, 123.045 13	獐芽菜苦苷	金毛耳草
26	2.27	C ₉ H ₈ O ₄	6.059	负离子	179.034 97	135.045 18	trans-caffeic acid	金毛耳草、地锦草、香薷、香樟
27	2.68	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	-1.555	正离子	195.063 63	177.054 34, 149.044 92	阿魏酸	地锦草、香樟
28	2.77	C ₁₃ H ₈ O ₈	2.943	负离子	291.014 40	247.024 67, 203.034 77, 191.035 06, 175.039 63, 159.044 80	短叶苏木酚酸或 phyllanthusin E	地锦草、枫香树叶
29	2.89	C ₁₅ H ₁₈ O ₉	2.760	负离子	341.087 65	179.034 90	咖啡酸葡萄糖苷	香薷
30	3.87	C ₁₈ H ₂₄ O ₁₂	1.850	负离子	431.119 20	251.056 15, 165.055 74	车叶草苷酸	金毛耳草
31	4.20	C ₁₈ H ₁₆ O ₈	-5.577	正离子	361.089 78	343.080 47, 315.083 28	迷迭香酸	香薷
32	6.17	C ₂₄ H ₂₆ O ₁₃	2.116	负离子	521.130 07	359.076 93, 323.077 21, 179.035 10, 161.024 46	异迷迭香酸苷	香薷
33	7.31	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₂	-4.626	正离子	463.084 96	287.055 54	木犀草素-3'-葡萄糖醛酸或异香薷 构体	
34	7.04	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₂	2.554	负离子	461.072 63	285.040 34, 175.024 89	野黄芩苷	香薷
35	7.67	C ₂₀ H ₂₇ NO ₁₁	2.374	负离子	456.151 12	323.099 24, 294.098 42	苦杏仁苷或其异构体	香薷
36	7.80	C ₂₇ H ₂₂ O ₁₈	-0.442	负离子	633.073 06	463.052 37, 300.999 08, 275.019 01	柯里拉京	地锦草
37	7.84	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₁	2.679	负离子	445.077 73	269.045 56, 175.024 81, 113.024 37	黄芩苷/芹菜素-7- <i>O</i> -葡萄糖 醛酸苷	香薷

表 1 (续)

序号	t_R/min	分子式	误差 ($\times 10^{-6}$)	离子 模式	相对分子质量 (m/z)	碎片离子 (m/z)	化合物	归属
38	8.01	$\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{O}_8$	4.041	负离子	300.999 11	283.062 13, 257.010 41, 245.009 26, 201.020 17	鞣花酸	金毛耳草、地锦草、香薷、香樟、 枫香树叶
39	8.07	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{15}$	0.863	正离子	595.166 26	577.154 85, 559.144 59, 433.089 94, 85.028 24	山柰酚-3- <i>O</i> -芸香糖苷	金毛耳草、地锦草、枫香树叶
40	8.08	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{15}$	2.147	负离子	593.151 37	575.140 56, 503.119 57, 473.109 01, 353.066 53, 325.071 93	新西兰牡荆苷	香薷
41	8.55	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_6$	-8.377	正离子	287.052 61	153.472 53	木犀草素	地锦草
42	9.21	$\text{C}_{26}\text{H}_{28}\text{O}_{16}$	-0.252	负离子	595.130 31	300.027 22, 271.024 66, 178.998 44	槲皮素-3-山梨糖苷	地锦草
43	9.32	$\text{C}_{10}\text{H}_8\text{O}_4$	0.076	正离子	193.049 55	178.025 99, 150.028 69, 133.028 37	东莨菪内酯	金毛耳草、地锦草、枫香树叶
44	9.78	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{16}$	0.169	正离子	611.160 83	303.049 99	芦丁	金毛耳草、地锦草、枫香树叶、 香薷
45	10.06	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$	2.370	负离子	463.088 20	301.034 61, 300.027 47, 271.024 48, 255.030 53	异槲皮苷	地锦草、枫香树叶
46	10.07	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$	1.435	正离子	465.103 42	303.050 02, 257.043 98	金丝桃苷	地锦草、枫香树叶
47	10.67	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{15}$	0.560	正离子	595.166 08	287.055 00	烟花苷	金毛耳草
48	10.89	$\text{C}_{28}\text{H}_{32}\text{O}_{16}$	0.417	负离子	623.161 50	315.050 81, 161.023 82	异鼠李素-3- <i>O</i> -葡萄糖-7- <i>O</i> -鼠李糖苷	金毛耳草、枫香树叶
49	10.98	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{11}$	1.861	负离子	447.093 02	284.032 50, 255.029 79, 227.034 88, 151.003 46	山柰酚-3- <i>O</i> -葡萄糖苷	地锦草、枫香树叶、香薷
50	13.57	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$	3.126	负离子	301.035 22	178.998 70, 151.003 68, 121.029 55	槲皮素	地锦草
51	15.41	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_6$	3.212	负离子	285.040 28	229.049 56, 151.003 66	山柰酚	地锦草
52	30.60	$\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}$	-9.085	正离子	427.389 56	427.389 56	羽扇豆醇	地锦草

3.2 药效评价结果

3.2.1 大鼠一般状态观察 造模期间, 对照组大鼠自由活动, 精神状态良好; 模型组大鼠体质量和摄食量较对照组有所降低, 精神萎靡, 部分动物出现稀便症状, 肛门及周围皮毛黏湿, 毛发脏乱。而阳性对照组和肠炎宁颗粒中、高剂量组大鼠上述症状有所好转, 精神状态有所恢复, 稀便症状有所缓解。

3.2.2 各组大鼠血清中 DAO 和 LZM 活性 如表 2 所示, 与对照组比较, 模型组大鼠血清中 DAO 活性显著升高 ($P<0.001$), LZM 活性显著降低 ($P<0.001$); 与模型组比较, 各给药组 DAO 活性显著降低 ($P<0.05$ 、 0.01 、 0.001), 阳性对照组和肠炎宁颗粒中、高剂量组 LZM 活性显著升高 ($P<0.05$ 、 0.01)。

3.2.3 各组大鼠血清、胃和小肠组织中炎症因子的水平 如图 2 所示, 与对照组比较, 模型组大鼠血

清、胃和小肠组织中促炎因子 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 水平显著升高 ($P<0.05$ 、 0.01 、 0.001), 抑炎因子 IL-4 和 IL-10 水平显著降低 ($P<0.05$ 、 0.01 、 0.001); 与模型组比较, 阳性对照组和肠炎宁颗粒中、高剂量组大鼠血清、胃和小肠组织中促炎因子 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 水平均显著降低 ($P<0.05$ 、 0.01 、 0.001), 抑炎因子 IL-4 和 IL-10 水平显著升高 ($P<0.05$ 、 0.01 、 0.001)。

3.2.4 各组大鼠胃和小肠组织病理学变化 如图 3 所示, 对照组大鼠胃组织黏膜结构基本正常, 胃腺正常, 结缔组织完整, 小肠组织黏膜结构基本正常, 肠腺正常; 模型组大鼠胃黏膜上皮细胞脱落, 上皮凹陷, 胃腺严重扩张, 小肠黏膜上皮细胞脱落, 肠腺排列疏松; 阳性对照组、肠炎宁颗粒中、高剂量大鼠胃和小肠组织黏膜脱落有所缓解, 胃腺和肠腺排列紧密。

表 2 各组大鼠血清中 DAO 和 LZM 活性比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Table 2 Comparison of DAO and LZM activities in serum of rats in each group ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

组别	剂量	DAO/($\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$)	LZM/($\text{U} \cdot \text{mL}^{-1}$)
对照	—	2.93 ± 1.01	0.092 ± 0.012
模型	—	$8.17 \pm 1.44^{***}$	$0.035 \pm 0.008^{***}$
阳性对照	奥美拉唑 $2.08 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ + 瑞巴派特 $31.25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	$3.74 \pm 0.85^{###}$	$0.083 \pm 0.042^{\#}$
肠炎宁颗粒	$0.24 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$	$5.22 \pm 1.48^{\#}$	0.041 ± 0.021
	$0.48 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$	$4.40 \pm 1.20^{\#}$	$0.064 \pm 0.011^{\#}$
	$0.96 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$	$4.02 \pm 0.21^{###}$	$0.077 \pm 0.010^{###}$

与对照组比较: $***P<0.001$; 与模型组比较: $^{\#}P<0.05$ $^{##}P<0.01$ $^{###}P<0.001$ 。

$***P<0.001$ vs control group; $^{\#}P<0.05$ $^{##}P<0.01$ $^{###}P<0.001$ vs model group.

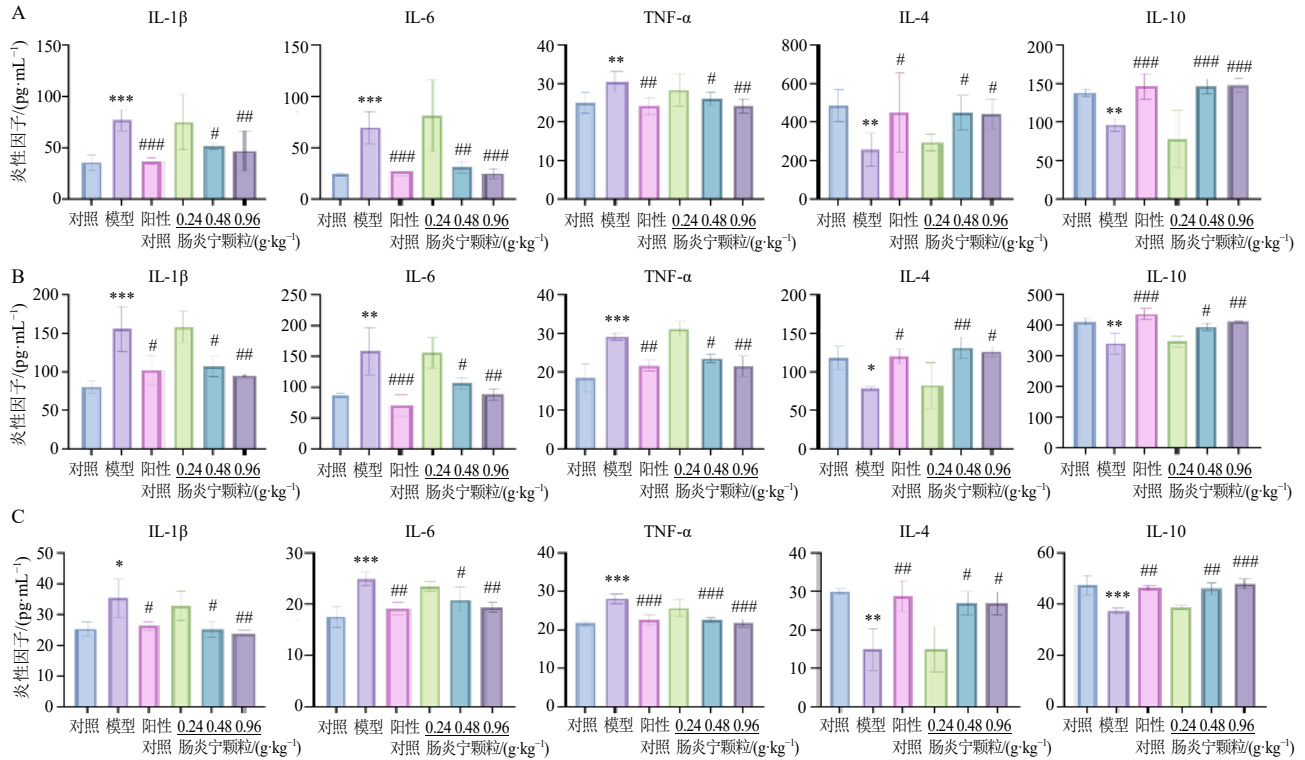


图 2 各组大鼠血清 (A)、胃 (B) 和小肠组织 (C) 中炎症因子的水平 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

Fig. 2 Levels of inflammatory factors in serum (A), stomach (B) and small intestine tissues (C) of rats in each group ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

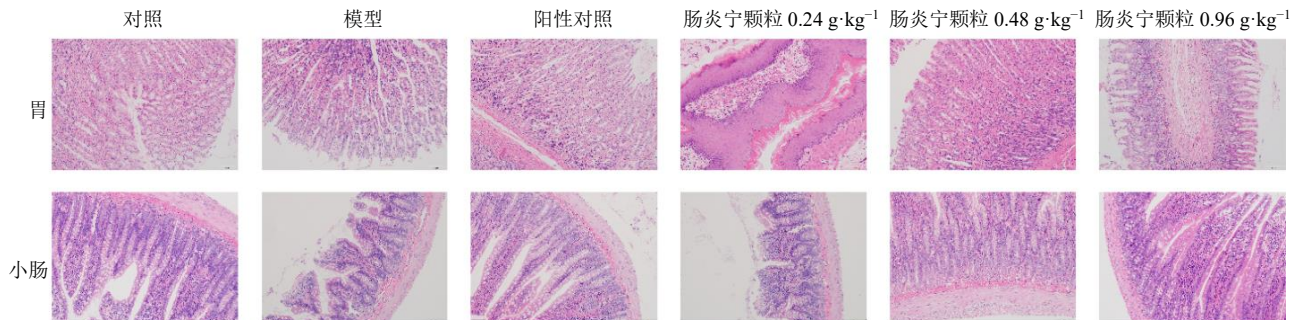


图 3 各组大鼠胃和小肠组织病理学变化 (HE, $\times 100$)

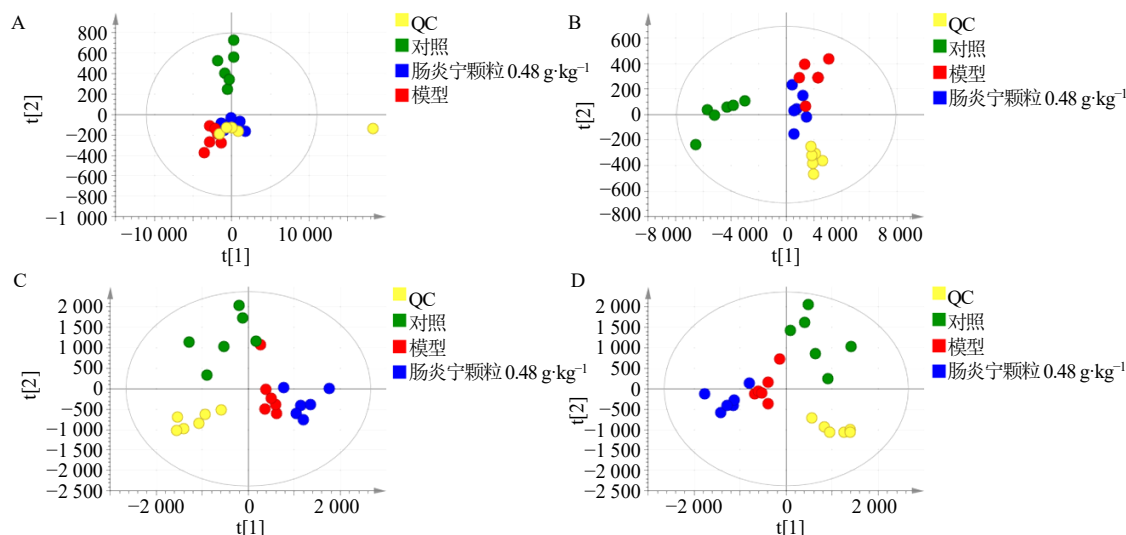
Fig. 3 Pathological changes in stomach and small intestine tissues of rats in each group (HE, $\times 100$)

3.3 小肠组织非靶向代谢组学分析结果

3.3.1 代谢轮廓分析 药效研究结果显示肠炎宁颗粒治疗大鼠肠黏膜损伤模型的有效剂量为中剂量, 故选取肠炎宁颗粒中剂量 (0.48 g/kg) 组小肠样本进行后续的非靶向代谢组学分析。正、负离子模式下分别检测得到了 453 个代谢物, 使用 SIMCA-P14.1 软件对大鼠血清代谢谱数据进行处理, 霍特林 T 平方检验线图表明所有数据均在 99% 置信区间

内。PCA 散点图中的 QC 样本点紧密聚为一类 (图 4-A、B), 表明该分析系统具有较高的稳定性和重复性。OPLS-DA 结果显示, 正、负离子模式下对照组、模型组和肠炎宁颗粒中剂量组样本点各自聚为一类且能明显区分 (图 4-C、D)。

3.3.2 差异代谢物分析 如图 5 所示, 采用 OPLS-DA 对各组模型进行 200 次随机置换检验, 模型组与对照组正、负离子模式下 R^2_Y (解释率, 表明模

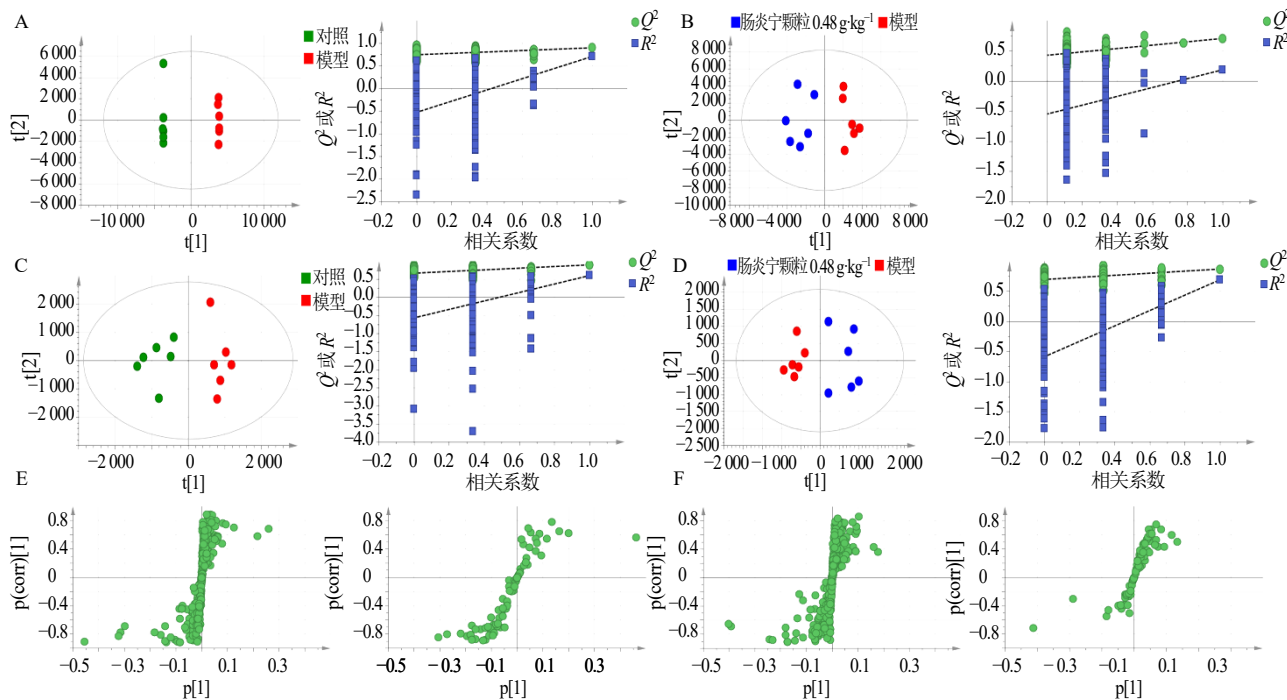


A-正离子 PCA 图; B-负离子 PCA 图; C-正离子 OPLS-DA 图; D-负离子 OPLS-DA 图。

A-PCA plot in positive ion mode; B-PCA plot in negative ion mode; C-OPLS-DA plot in positive ion mode; D-OPLS-DA plot in negative ion mode.

图 4 正、负离子模式下各组小肠样本的 PCA 和 OPLS-DA 图

Fig. 4 PCA and OPLS-DA plots of small intestine samples in each group under positive and negative ion modes



A-正离子模式下对照组与模型组小肠样本 OPLS-DA 及相应模型验证图; B-正离子模式下模型组与肠炎宁颗粒中剂量组小肠样本 OPLS-DA 图及相应模型验证图; C-负离子模式下对照组与模型组小肠样本 OPLS-DA 图及相应模型验证图; D-负离子模式下模型组与肠炎宁颗粒中剂量组小肠样本 OPLS-DA 图及相应模型验证图; E-模型组与对照组小肠样本 S-plot 图; F-肠炎宁颗粒中剂量组与模型组小肠样本 S-plot 图。

A-OPLS-DA and corresponding model validation plot of small intestine samples from control group and model group in positive ion mode; B-OPLS-DA and corresponding model validation plot of small intestine samples from model group and Changyanning Granules medium-dose group in positive ion mode; C-OPLS-DA and corresponding model validation plot of small intestine samples from control group and model group in negative ion mode; D-OPLS-DA and corresponding model validation plot of small intestine samples from model group and Changyanning Granules medium-dose group in negative ion mode; E-S-plot of small intestine samples from model group and control group; F-S-plot of small intestine samples from Changyanning Granules medium-dose group and model group.

图 5 正、负离子模式下各组小肠样本的 OPLS-DA 及相应模型验证图

Fig. 5 OPLS-DA and corresponding model validation plot of small intestine samples in each group in positive and negative ion modes

型拟合优度)和 Q^2 (预测率, 表明当前模型的预测能力) 的值分别为 0.902、0.711 和 0.898、0.602。根据单元变量和多元变量统计分析结果, 结合 $P < 0.05$ 进行排序, 在正、负离子模式下, 与对照组比较, 模型组大鼠体内代谢物水平发生了显著变化, 共筛选到 112 个差异性代谢物, 其中 48 个代谢物

上调, 64 个代谢物下调 ($P < 0.05$ 、0.01)。与模型组比较, 肠炎宁颗粒中剂量组共筛选到 64 个差异代谢物, 其中 23 个代谢物上调, 41 个代谢物下调 ($P < 0.05$ 、0.01)。结合标准数据和 HMDB 数据库对差异代谢物进行鉴定, 共鉴定出 33 个差异代谢物 (表 3)。

表 3 各组小肠样本中的差异代谢物

Table 3 Differential metabolites in small intestinal samples of each group

序号	代谢物	分子式	理论值 (m/z)	实测值 (m/z)	t_R/min	离子 模式	对照组 vs 模型组	模型组 vs 肠 炎宁颗粒中剂 量组
1	3'-hydroxypentobarbital	$\text{C}_{11}\text{H}_{18}\text{O}_4$	242.124 58	241.117 30	2.981	$[\text{M}-\text{H}]^-$	↓**	↑*
2	六氟硅酸盐	F_6Si	141.968 97	142.976 25	2.537	$[\text{M}+\text{H}]^+$	↑*	↓*
3	氢化可的松环戊丙酸酯	$\text{C}_{29}\text{H}_{42}\text{O}_6$	486.302 54	487.309 82	2.813	$[\text{M}+\text{H}]^+$	↓**	↓*
4	(2 <i>R</i> ,5 <i>Z</i>)-10-[(1 <i>S</i> ,2 <i>R</i>)-2-decylcyclopropyl]- <i>N</i> -[(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> ,7 <i>Z</i>)-12-[(1 <i>S</i> ,2 <i>R</i>)-2-decylcyclopropyl]-3-hydroxy-1-[[2- <i>O</i> -(3-methyl-2-buten-1-yl)-β- <i>D</i> -galactopyranosyl]oxy]-7-dodecen-2-yl]-2-hydroxy-5-decenamide	$\text{C}_{59}\text{H}_{107}\text{NO}_9$	973.803 03	974.810 31	0.900	$[\text{M}+\text{H}]^+$	↑*	↑*
5	2-(trimethylammonio)ethyl-phosphate	$\text{C}_{20}\text{H}_{40}\text{NO}_7\text{P}$	437.257 38	438.264 65	7.163	$[\text{M}+\text{H}]^+$	↓*	↓**
6	苳达明	$\text{C}_{19}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}$	309.186 14	310.193 42	2.671	$[\text{M}+\text{H}]^+$	↓**	↓**
7	三硝基甲烷 (羟甲基)	$\text{C}_4\text{H}_9\text{NO}_5$	151.048 96	152.056 27	1.192	$[\text{M}+\text{H}]^+$	↓*	↓*
8	地伐帕米	$\text{C}_{26}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_3$	424.274 76	425.282 04	9.987	$[\text{M}+\text{H}]^+$	↑**	↑*
9	(3 <i>R</i> ,19 <i>R</i>)-19-[(3,6-dideoxy-α- <i>L</i> -arabino-hexopyranosyl)oxy]-3-hydroxyeicosanoic acid	$\text{C}_{25}\text{H}_{48}\text{O}_7$	460.340 40	461.347 68	4.859	$[\text{M}+\text{H}]^+$	↓*	↓*
10	4-nonyl-2-oxo-2 <i>H</i> -chromen-7-yl-β- <i>D</i> -glucopyranoside	$\text{C}_{24}\text{H}_{34}\text{O}_8$	450.225 36	451.232 63	3.215	$[\text{M}+\text{H}]^+$	↓*	↓*
11	pyrrolo(2,1,5- <i>cd</i>)indolizine	$\text{C}_{10}\text{H}_7\text{N}$	141.057 72	142.065 00	2.614	$[\text{M}+\text{H}]^+$	↓**	↓**
12	1,5-萘二胺	$\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{N}_2$	158.084 25	159.091 52	2.625	$[\text{M}+\text{H}]^+$	↓**	↓**
13	黄嘌呤	$\text{C}_5\text{H}_4\text{N}_4\text{O}_2$	152.033 20	153.040 48	1.398	$[\text{M}+\text{H}]^+$	↓**	↓*
14	胸腺嘧啶脱氧核苷	$\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_5$	242.089 88	265.079 10	2.151	$[\text{M}+\text{Na}]^+$	↑*	↓**
15	<i>L</i> -异亮氨酸	$\text{C}_6\text{H}_{13}\text{NO}_2$	131.094 41	132.101 69	3.174	$[\text{M}+\text{H}]^+$	↓**	↓*
16	α-氨基对羟苯丙酸	$\text{C}_9\text{H}_{11}\text{NO}_3$	181.073 58	182.080 85	2.110	$[\text{M}+\text{H}]^+$	↓*	↓*
17	2-coumarate	$\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_3$	164.047 05	182.080 86	2.139	$[\text{M}+\text{NH}_4]^+$	↓*	↓*
18	斯皮罗胺	$\text{C}_{18}\text{H}_{35}\text{NO}_2$	297.266 16	298.273 41	4.340	$[\text{M}+\text{H}]^+$	↑**	↓**
19	methyl 6,7-dimethoxy-4-ethyl-beta-carboline-3-carboxylate	$\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_4$	314.126 00	315.133 27	4.081	$[\text{M}+\text{H}]^+$	↓**	↓*
20	9,12-hexadecadienoylcarnitine	$\text{C}_{23}\text{H}_{41}\text{NO}_4$	395.302 71	396.309 98	4.748	$[\text{M}+\text{H}]^+$	↑*	↓*
21	柴罗列克	$\text{C}_5\text{H}_4\text{N}_4\text{O}$	136.038 19	137.045 46	1.191	$[\text{M}+\text{H}]^+$	↓**	↓**
22	<i>N</i> -(2 <i>E</i> ,5 <i>Z</i> -dodecadienyl)-homoserine lactone	$\text{C}_{16}\text{H}_{25}\text{NO}_3$	279.182 73	280.189 97	3.460	$[\text{M}+\text{H}]^+$	↓*	↓**
23	1-(2-methoxy-17 <i>Z</i> -tetracosenyl)-sn-glycero-3-phosphoethanolamine	$\text{C}_{30}\text{H}_{62}\text{NO}_7\text{P}$	579.424 85	580.432 13	9.423	$[\text{M}+\text{H}]^+$	↑**	↑**
24	甘氨酸- <i>DL</i> -苯丙氨酸	$\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_3$	222.099 83	223.107 16	1.205	$[\text{M}+\text{H}]^+$	↓*	↓*
25	3-ureidoisobutyrate	$\text{C}_5\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_3$	146.068 72	147.076 00	1.218	$[\text{M}+\text{H}]^+$	↓**	↓*
26	2-phosphinoaniline	$\text{C}_6\text{H}_8\text{NP}$	125.039 00	126.046 30	2.615	$[\text{M}+\text{H}]^+$	↓*	↓**
27	哌啶	$\text{C}_5\text{H}_{11}\text{N}$	85.088 84	86.096 12	2.788	$[\text{M}+\text{H}]^+$	↓*	↓**
28	3-benzoyloxyergosta-8(14),22-dien-15-one	$\text{C}_{35}\text{H}_{48}\text{O}_3$	516.358 24	517.365 52	11.476	$[\text{M}+\text{H}]^+$	↑*	↑**
29	symphytine	$\text{C}_{20}\text{H}_{31}\text{NO}_6$	381.212 63	382.219 90	2.710	$[\text{M}+\text{H}]^+$	↓*	↓**
30	<i>S</i> -(1,2,3,4,4-pentachloro-1,3-butadien-1-yl)- <i>L</i> -cysteine	$\text{C}_7\text{H}_6\text{Cl}_5\text{NO}_2\text{S}$	342.853 78	343.861 06	0.973	$[\text{M}+\text{H}]^+$	↑**	↑**
31	6-methyl- <i>N</i> -phenyl-1,3,5-triazine-2,4-diamine	$\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{N}_5$	201.099 91	219.133 73	2.294	$[\text{M}+\text{NH}_4]^+$	↓**	↓**
32	(2 <i>E</i> ,4 <i>E</i>)- <i>N</i> -{2-[4-(diphenylmethoxy)piperidin-1-yl]ethyl}-5-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)penta-2,4-dienamide	$\text{C}_{32}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_4$	512.262 70	513.269 96	4.072	$[\text{M}+\text{H}]^+$	↑**	↓*
33	三唑环锡	$\text{C}_{20}\text{H}_{35}\text{N}_3\text{Sn}$	437.181 10	438.188 37	7.153	$[\text{M}+\text{H}]^+$	↓**	↑*

↑表示上调, ↓表示下调; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ 。

↑ indicates up-regulation, ↓ indicates down-regulation; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ 。

3.3.3 代谢通路分析 为进一步探究代谢物间的相互关系,将鉴定得到的 33 个差异代谢物导入 Metabo Analyst 6.0 数据库进行代谢通路富集,获得代谢通路条形图。如图 6 所示,共富集到 8 条代谢通路,包括苯丙氨酸、酪氨酸与色氨酸生物合成,缬氨酸、亮氨酸与异亮氨酸生物合成,苯丙氨酸代

谢,泛醌及其他关键分子生物合成,嘧啶代谢,缬氨酸、亮氨酸与异亮氨酸降解,酪氨酸代谢,嘌呤代谢。其中苯丙氨酸、酪氨酸与色氨酸生物合成,缬氨酸、亮氨酸与异亮氨酸生物合成,磷酸酶代谢 3 条通路最为显著,表明上述代谢通路参与了肠炎宁颗粒对急性肠黏膜损伤的修复作用。

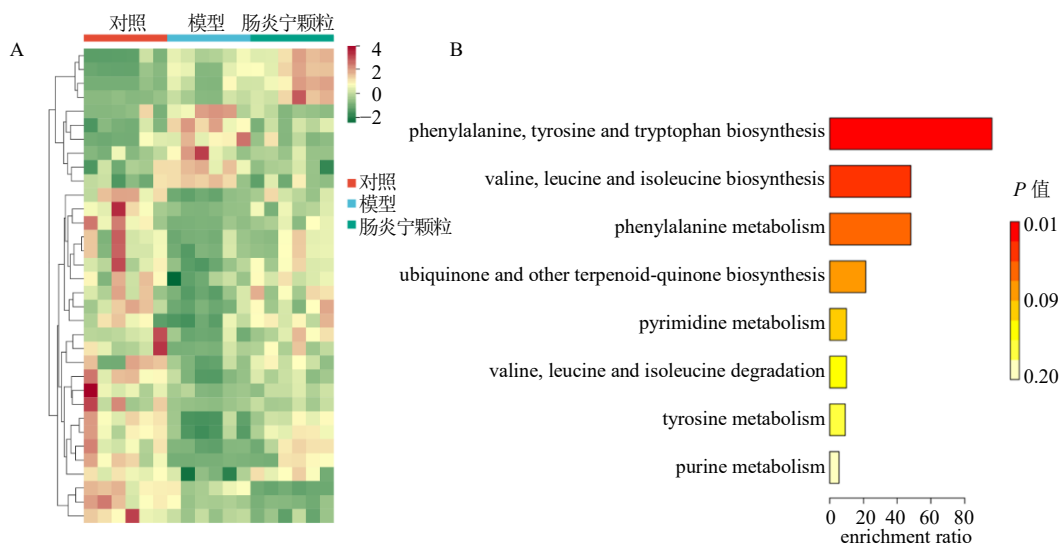


图 6 差异代谢物热图 (A) 和通路图 (B)

Fig. 6 Heat map (A) and pathway diagram (B) of differential metabolites

4 讨论

UPLC-LTQ-Orbitrap-MS 可快速、准确地对药物中化学成分进行定性分析,从而全面阐明其成分组成。肠炎宁颗粒共鉴定出 52 个化合物,以黄酮类和有机酸类成分为主,主要包括奎宁酸、野黄芩苷、木犀草素、东莨菪内酯、异槲皮苷和金丝桃苷等,这些化学组分共同构成了其药效物质基础。肠炎宁颗粒虽然在临床应用中证明有效,但其药效物质研究刚刚起步,需大量基础研究进一步阐明其主要活性成分,以及活性成分在机体内的吸收、分布、代谢、排泄等。在此基础上,针对活性物质建立相应的质量评价体系,也将极大促进其临床合理化使用。

阿司匹林作为临床常用非甾体类解热镇痛药,对肠道黏膜造成的损伤不可忽视,主要表现为小肠黏膜的完整性破坏和黏膜黏液的分泌受到影响^[11]。上述症状在中医理论中辨证为湿热泻痢。现代药理学研究表明,肠炎宁颗粒通过降低腹腔毛细血管通透性、抑制表皮葡萄球菌和大肠埃希菌的生长来发挥止泻作用^[12-13]。DAO 是肠道中重要的代谢酶,主要存在于肠黏膜上皮细胞的刷状缘,尤其在空肠和回肠中活性最高,能够催化组胺、尸胺、腐胺等生

物胺的氧化脱氨反应,生成相应的醛类、氨和过氧化氢,防止胺类物质在肠道内蓄积,同时降解外源性(如发酵食品)和内源性(肥大细胞释放)组胺,避免组胺过量引发过敏反应或炎症,减少其对肠黏膜的直接损伤(如黏膜水肿、通透性增加)^[14]。作为肠道黏膜完整性的重要标志物,肠道受损时,DAO 从肠上皮细胞释放入血,其活性可以反映肠道屏障功能的强弱^[15]。研究发现,肠炎宁颗粒能够显著降低阿司匹林引起的大鼠肠黏膜损伤中血清中 DAO 活性的升高,提示肠炎宁颗粒通过抑制 DAO 的活性起到肠黏膜损伤的保护作用。LZM 是一种广泛存在于生物体内的天然抗菌酶,在肠道中通过分解细菌细胞壁发挥重要生理功能,与肠道分泌型免疫球蛋白 A、防御素等共同构成“化学屏障”,抑制病原体定植,可通过靶向杀菌、免疫激活、菌群调控三重机制维持肠道稳态。研究表明,肠炎宁颗粒可改善模型动物 LZM 活性,发挥肠道稳态作用^[16-17]。血清、胃、小肠组织中炎症因子水平的检测结果显示,肠炎宁颗粒组促炎因子水平下降,抑炎因子水平升高。表明肠炎宁颗粒改善肠黏膜损伤与调控 DAO 和 LZM 活性,进一步抑制炎症

反应密切相关。

非靶向代谢组学研究结果显示,急性肠黏膜损伤诱发产生的差异代谢物中,肠炎宁颗粒对其中 33 个代谢物有调节作用,主要涉及氨基酸代谢,包括酪氨酸、色氨酸、缬氨酸与亮氨酸生物合成。而最为主要的苯丙氨酸、酪氨酸与色氨酸生物合成途径,即莽草酸途径,在动物体内并不存在^[18],本研究富集到此通路可能是由于该过程在肠道菌群内发生,而肠道菌群的莽草酸代谢失调可能与肠炎宁颗粒治疗急性肠黏膜损伤有关。研究表明,色氨酸代谢途径参与体内免疫调节与屏障修复的平衡,吲哚胺 2,3-双加氧酶催化色氨酸生成犬尿氨酸,激活芳烃受体,促进调节性 T 细胞分化,抑制过度炎症^[19]。当肠道黏膜损伤时,吲哚胺 2,3-双加氧酶活性上调,色氨酸耗竭导致肠道菌群紊乱(如乳杆菌减少),加剧屏障破坏。肠道菌群将色氨酸转化为吲哚衍生物(如吲哚-3-丙酸),激活芳烃受体维持上皮紧密连接,调节微生物的代谢途径^[20]。另外,肠道黏膜损伤时,苯丙氨酸代谢网络的重编程可通过影响氧化应激、菌群互作及免疫调控等机制加剧或缓解损伤进程。炎症状态下,苯丙氨酸羧化酶表达下调,导致苯丙氨酸蓄积,竞争性抑制其他氨基酸转运(如色氨酸),加剧肠上皮细胞营养缺乏。在炎症性肠病模型中,苯丙氨酸的表达量与疾病的进展程度密切相关^[21]。

综上,肠炎宁颗粒有效成分主要为黄酮类和有机酸类成分,能够通过改善 DAO 和 LZM 活性抑制阿司匹林引起的肠道黏膜损伤的炎症反应,代谢组学研究显示,苯丙氨酸、酪氨酸与色氨酸生物合成,缬氨酸、亮氨酸与酮酮生物合成,磷酸酶代谢 3 条通路参与其中。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 范春, 张苗海, 王丛笑. 非甾体类镇痛消炎药作用机制的新探索 [J]. 中国临床医生, 2002, 30(8): 53-54.
- [2] 陈雪, 高峰, 张杰. 服用阿司匹林患者血浆 D-乳酸浓度与小肠黏膜损伤程度的关系 [J]. 首都医科大学学报, 2021, 42(5): 810-815.
- [3] 高若瑜, 华国栋, 朱宝琛, 等. 基于转录组分析三七总皂苷缓解阿司匹林所致小肠损伤的机制 [J]. 四川中医, 2024, 42(10): 57-64.
- [4] 商海波, 王江. 全身炎症反应综合征致肠粘膜屏障功能障碍分子机制研究进展 [J]. 中国急救复苏与灾害医学杂志, 2021, 16(1): 101-104.
- [5] 金杰, 蔡娇娇, 钱晶晶, 等. 清肠化热祛瘀方对急性期溃疡性结肠炎患者肠黏膜镜像及机体免疫功能的影响 [J]. 中国中医急诊, 2023, 32(7): 1185-1188.
- [6] 陈瑶, 林日梅, 樊慧苏, 等. 肠炎宁颗粒联合蒙脱石散治疗小儿急性胃肠炎湿热证临床研究 [J]. 新中医, 2023, 55(8): 130-133.
- [7] 汤文玲. 肠炎宁对炎症性肠病肠道菌群的影响及治疗机制 [D]. 杭州: 浙江大学, 2020.
- [8] 田文国, 陈金鹏, 王春芳, 等. 基于网络药理学和分子对接探究肠炎宁颗粒治疗功能性腹泻和腹泻型肠易激综合作用机制 [J]. 中草药, 2022, 53(22): 7135-7147.
- [9] 路美娟, 杨培丽, 刘毅. 补阳还五汤通过干预肠道菌群改善阿司匹林致消化道损伤作用及机制研究 [J]. 天津中医药, 2023, 40(8): 1043-1051.
- [10] 张永祥, 周文霞. 中药药理与临床研究进展 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2023: 946.
- [11] 王守芳, 孙亚均. 肠溶阿司匹林长期小剂量服用对胃十二指肠黏膜损害的探讨 [J]. 人人健康: 医学导刊, 2007(8): 61-62.
- [12] 王海荣, 朱振娜, 付合明, 等. 肠炎宁颗粒对幼龄小鼠的抗炎止泻作用及体外抗菌作用研究 [J]. 药物评价研究, 2017, 40(12): 1701-1705.
- [13] 龚琴, 陈兰英, 罗颖颖, 等. 肠炎宁糖浆抗炎止泻作用的实验研究 [J]. 江西中医药, 2012, 43(4): 63-65.
- [14] Daschner A, González-Fernández J, Valls A, et al. Diamine oxidase levels in different chronic urticaria phenotypes [J]. *Allergol Immunopathol*, 2015, 43(6): 593-600.
- [15] Wolvekamp M C, de Bruin R W. Diamine oxidase: An overview of historical, biochemical and functional aspects [J]. *Dig Dis*, 1994, 12(1): 2-14.
- [16] Ferraboschi P, Ciceri S, Grisenti P. Applications of lysozyme, an innate immune defense factor, as an alternative antibiotic [J]. *Antibiotics*, 2021, 10(12): 1534.
- [17] Wang H F, Shen X Y, Zheng X J, et al. Intestinal lysozyme releases Nod2 ligand(s) to promote the intestinal mucosal adjuvant activity of cholera toxin [J]. *Sci China Life Sci*, 2021, 64(10): 1720-1731.
- [18] Richards T A, Dacks J B, Campbell S A, et al. Evolutionary origins of the eukaryotic shikimate pathway: Gene fusions, horizontal gene transfer, and endosymbiotic replacements [J]. *Eukaryot Cell*, 2006, 5(9): 1517-1531.
- [19] 王汝都, 霍磊, 郑永军. 肠道微生物代谢产物介导芳香烃受体信号通路的研究进展 [J]. 饲料工业, 2025, 46(2): 154-160.
- [20] 王诗琪. 色氨酸代谢物 IAA 抑制呼吸道过敏的作用及机制研究 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2024.
- [21] 杨洁, 米焱, 王彩丽. 基于靶向代谢组学分析糖尿病肾脏疾病血清中苯丙氨酸代谢途径代谢物的变化 [J]. 包头医学院学报, 2024, 40(3): 21-28.

[责任编辑 李亚楠]