卓越医见：中药药理学与疾病 DOI：10.13406/j.cnki.cyxb.003869

基于代谢组学的延胡索对DSS诱导溃疡性结肠炎的治疗作用及机制解析

谢宸韬，刘佳玲，高阳阳，徐浩然，王 辉，赵元静，樊如意，陈思敏
（成都中医药大学药学院/现代中药产业学院，成都 611137）

【摘 要】**目的**：探讨延胡索（Corydalis Rhizoma，CR）对葡聚糖硫酸钠（dextran sulfate，DSS）诱导的小鼠溃疡性结肠炎（ulcerative colitis，UC）模型的干预效果，通过代谢组学及炎症相关生物标志物检测，系统解析CR治疗UC的潜在机制。**方法**：构建小鼠UC模型，分为5组，模型组、高剂量组（1.517 g/kg生药）、中剂量组（0.986 g/kg生药）、低剂量组（0.455 g/kg生药）和阳性药物组（718.8 mg/kg，5-氨基水杨酸）。另设未造模小鼠作为空白组（灌胃0.9% NaCl）。各组小鼠连续给药7 d，动态监测实验动物体质量变化、疾病活动指数（disease activity index，DAI）、日均摄食量及饮水量等表型参数，7 d后处死动物，获取血清和结肠组织；ELISA法定量分析血清促炎因子白细胞介素-6（interleukin-6，IL-6）、白细胞介素-17A（interleukin-17A，IL-17A）、C-反应蛋白（C-reactive protein，CRP）及肿瘤坏死因子-α（tumor necrosis factor-α，TNF-α）水平；通过超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱联用（ultra-performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry，UPLC-Q-TOF/MS）进行非靶向代谢组学分析，比对各组血清代谢物谱差异；小鼠相同方法造模并进行验证，阳性药物选择谷胱甘肽（glutathione，GSH），随后评估结肠长度和黏膜损伤，实时荧光定量PCR（quantitative real-time polymerase chain reaction，qPCR）检测结肠组织中GSH合成通路关键基因，即γ-谷氨酰半胱氨酸合成酶（γ-glutamylcysteine synthetase，γ-GCS）、氧化应激调控因子（yap1p、skn7）及线粒体GSH转运蛋白（Slc25a39）的mRNA相对表达量。**结果**：CR可明显改善模型动物质量减轻，DAI增加和结肠长度缩短等相关评测指标，且呈剂量依赖性；血清中IL-6、CRP和TNF-α水平降低，而IL-17A无明显影响；代谢组学分析显示，有21种潜在的与氨基酸和脂质代谢相关的生物标志物，在CR作用下明显调节；验证实验证实CR和GSH治疗对结肠黏膜损伤表现出明显保护作用，但不影响结肠长度；CR上调了GSH合成相关基因的表达，特别是γ-GCS，表明其可增强肠的抗氧化防御作用。**结论**：CR在DSS诱导的UC小鼠模型中具有治疗潜力，可缓解症状、降低血清炎症标志物和调节代谢途径；GSH合成相关基因的上调，提示药物可增强肠抗氧化防御。

【关键词】延胡索；溃疡性结肠炎；代谢组学；谷胱甘肽代谢；炎症标志物
【中图分类号】R285.5 【文献标志码】A 【收稿日期】2025-04-28

Therapeutic effect of Rhizoma Corydalis on ulcerative colitis induced by dextran sodium sulfate and its mechanism: a study based on metabolomics

Xie Chentao, Liu Jialing, Gao Yangyang, Xu Haoran, Wang Hui, Zhao Yuanjing, Fan Ruyi, Chen Simin
(*School of Pharmacy/School of Modern Chinese Medicine Industry, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine*)

【**Abstract**】***Objective***: To investigate the interventional effect of Rhizoma Corydalis on mice with ulcerative colitis (UC) induced by dextran sulfate sodium (DSS), as well as the potential mechanism of Rhizoma Corydalis in the treatment of UC based on metabolomics and inflammation biomarkers. ***Methods***: A mouse model of UC was established, and then the mice were divided into model group, high-dose group (1.517 g/kg crude drug), middle-dose group (0.986 g/kg crude drug), low-dose group (0.455 g/kg crude drug), and positive drug group (5-aminosalicylic acid at a dose of 718.8 mg/kg), while the mice without modeling were selected as normal group (0.9% NaCl by gavage). The mice in each group were administered for 7 consecutive days, and phenotypic parameters were dynamically monitored, such as body weight change, disease activity index (DAI), mean daily food intake, and daily water intake. The mice were sacrificed after 7 days to collect serum and colon tissue samples; ELISA was used to measure the serum levels of the proinflammatory factors interleukin-6 (IL-6), interleukin-17A (IL-17A), C-reactive protein (CRP), and tumor necrosis factor-α (TNF-α), and ultra-performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry (UPLC-Q-TOF/MS) was used to perform the non-targeted metabolomics analysis and compare the differences in serum metabolite profiles between groups. The mice were selected for modeling and validation with the same method, and glutathione (GSH) was selected as the positive drug. Colon length and mucosal

作者介绍：谢宸韬，Email：xct13906568519@163.com，研究方向：中药药理学。
通信作者：陈思敏，Email：chensimin@cdutcm.edu.cn。
基金项目：成都中医药大学青基人才专项资助项目（编号：QJRC2020012）。
优先出版：https://link.cnki.net/urlid/50.1046.R.20250527.1650.004（2025-05-28）

damage were assessed, and quantitative real-time PCR was used to measure the relative mRNA expression levels of the key genes in the glutathione synthesis pathway (γ-glutamylcysteine synthetase [γ-GCS] and oxidative stress regulators yap1p and skn7) and mitochondrial GSH transporter protein (Slc25a39) in colonic tissue. ***Results***: Rhizoma Corydalis significantly improved weight loss, DAI, and colon length in a dose-dependent manner in the model animals, and there were reductions in the serum levels of IL-6, CRP, and TNF-α, while it had no significant effect on IL-17A. The metabolomics analysis revealed 21 potential biomarkers associated with amino acid and lipid metabolism, which were significantly regulated by Rhizoma Corydalis. In the verification experiment, both Rhizoma Corydalis and GSH exerted a significant protective effect against colonic mucosal damage without affecting colon length. Rhizoma Corydalis upregulated the expression of genes associated with glutathione synthesis, especially γ-GCS, suggesting that Rhizoma Corydalis could enhance intestinal antioxidant defenses. ***Conclusion***: Rhizoma Corydalis has a therapeutic potential in a mouse model of DSS-induced UC and can alleviate symptoms, reduce the serum levels of inflammatory markers, and regulate metabolic pathways, and upregulation of the genes associated with glutathione synthesis suggests that the drug can enhance intestinal antioxidant defenses.

【Key words】Rhizoma Corydalis; ulcerative colitis; metabolomics; glutathione metabolism; inflammatory markers

溃疡性结肠炎（ulcerative colitis，UC）是一种以直肠和结肠黏膜慢性炎症为特征的炎症性肠炎[1]。UC的常见症状是血性腹泻，通常伴随剧烈腹痛[2]。该疾病临床病程难以预测，主要表现为病情渐进性加重与缓解交替出现，反复发作，病理生理机制复杂且尚未完全阐明。现有研究表明，肠上皮细胞和抗原呈递细胞（如肠道固有层中的巨噬细胞和树突状细胞）中Toll样受体（toll like receptors，TLRs）的激活，会触发核因子-κB（nuclear factor kappa-B，NF-κB）等转录因子及其他炎症级联反应的激活，在UC的发展过程中起着重要作用[3-5]。当前用于UC治疗的激素、抗生素和免疫抑制剂等药物，仅能使约50%~60%的患者症状得到缓解[6-7]。外科手术干预虽可作为选择，但往往伴随高复发率和潜在不良反应[8]。UC患者10年后发生结肠癌的风险明显增加，这使得该疾病的管理极具挑战性[9]。针对UC患者的有效治疗方案，不仅需要实现疾病缓解，还应通过减轻肠道炎症、改善腹泻出血和腹痛症状、预防复发来维持缓解状态。鉴于常规西药治疗存在的固有局限性及传统临床方案在UC长期管理中显现疗效不足的现状，具有多成分协同作用和整体调节优势的中药，正逐渐成为优化该病治疗的重要研究对象[10-11]。

中医理论认为UC归属于“痢疾”“肠澼”“肠风”“肠痈”“脏毒”等范畴，其病机主要可用虚实夹杂、寒热错杂、气血失调概括[12-13]。UC患者无论出于哪个阶段均表现为腹痛、腹泻、黏液脓血便，“久病必瘀，久病气虚血瘀，寒凝血瘀，气滞血瘀，阴虚血涩致瘀”，因此学者认为UC的主要特征为病位多累积于脾，气滞和血瘀为主要病机[14-15]。延胡索（Corydalis Rhizoma，CR），始载于《雷公炮炙论》，为罂粟科植物延胡索Corydalis yanhusuo W.T.Wang的干燥块茎，性味辛、苦、温，归肝、脾经[16]。《本草纲目》中记载“（延胡索）能行血中气滞，气中血滞，故专治一身上下诸痛，用之妙也”。CR具有强效镇痛作用，常被用于缓解UC引发的剧烈腹痛[17]。CR所含生物碱成分，如原小檗碱类、阿片类生物碱以及卟啉类生物碱，是其发挥镇痛功效的关键物质基础[18-19]。该药材常作为复方补剂用于控制UC相关腹痛，并通过促进胃蠕动、减轻胃痉挛，改善消化功能[20]。此外，CR还具有抗癌、抗病毒、抗菌及抗炎特性[21]。结合UC的病理特征与临床应用，使CR有望成为UC治疗中颇具潜力的替代或辅助治疗药物。

本研究采用常见的UC小鼠模型，通过小鼠自由饮用含4%葡聚糖硫酸钠（dextran sulfate sodium，DSS）水溶液1周后，观察给予CR水提取物对其的治疗效果。此外，采用超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱（ultra-performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry，UPLC-Q-TOF/MS）联用技术分析CR给药前后血液代谢物的变化，旨在阐明其潜在药理作用机制。

1 材料与方法

1.1 受试药物与试剂

黄连碱（CAS编号：3486-66-6）、小檗碱（CAS编号：2086-83-1）、氯化巴马汀（CAS编号：10605-02-4）以及四氢帕马丁（CAS编号：10097-84-4）。其中小檗碱与氯化巴马汀购自成都埃法生物科技有限公司，黄连碱由成都曼思特生物科技有限公司提供，四氢帕马丁则采购自成都德斯特生物技术有限公司。所有化合物均用甲醇溶解至100 μg/mL浓度。DSS（希伯奥公司，中国，CAS编号：OR1801A），用超纯水配制成4%终浓度溶液。CR购自成都中医药大学附属医院，并在实验室采用标准流程进行提取。具体操作如下：将100 g延胡索干燥全根置于500 mL水中煎煮2次，每次1 h。所得滤液经蒸发、浓缩、干燥后，最终获得1克提取物，相当于7.9 g生药。选用5-氨基水杨酸（美沙拉嗪，5-ASA，麦克林公司，中国，CAS编号：C10825168）作为治疗单纯性轻中度UC缓解

期及维持治疗的阳性药物。谷胱甘肽（glutathione，GSH，麦克林公司，中国，CAS编号：70-18-8）。

1.2 实验动物

实验选用SPF级昆明种小鼠（体质量22~25 g），雄性，购自重庆医科大学实验动物中心[许可证号：SCXK（渝）2018-0003]。小鼠饲养于成都中医药大学独立通风笼具（individually ventilated cages，IVC）系统动物实验室，在无菌环境下采用12 h明暗交替光照周期，恒温恒湿条件（温度20 ℃~25 ℃，湿度55%~60%）进行标准化管理。本研究开展的所有动物实验经成都中医药大学实验动物伦理委员会批准（编号：2024080），严格遵循《实验动物管理条例》和《实验动物福利伦理审查指南》，最大限度减少实验动物的不适与痛苦。

1.3 CR提取物化学成分的鉴定与分析

采用液相色谱-质谱联用技术（liquid chromatograph mass spectrometer，LC-MS）对CR提取物的化学成分进行鉴定与分析。主成分检测使用赛默科学万世系列液相色谱-Q-Exactive轨道阱质谱联用仪（Thermo，USA）。分别配制1 mg黄连碱、1 mg小檗碱、1 mg氯化巴马汀和1 mg四氢帕马丁的甲醇标准溶液，在10 mL容量瓶中稀释至100 μg/mL浓度。CR提取物用超纯水调整至132.3 mg/mL浓度。超声处理1 min后，取0.5 mL样品溶液加入3 mL甲醇，于4 ℃、17 500 r/min离心15 min，取上清液进行超高效液相色谱-串联质谱（UPLC-MS/MS）分析。CR主要成分在以下色谱条件下分离：ACQUITY UPLC HSS T3色谱柱（2.1 mm×150 mm，1.8 μm，Waters，美国）；流动相为乙腈（A）-水（B）梯度洗脱（0~5 min，5%A→10%A；5~10 min，10%A→20%A；10~15 min，20%A→30%A；15~40 min，30%A→90%A；40~45 min，90%A）；总运行时间45 min；流速0.4 mL/min；检测范围50~1 100 MZ；柱温35 ℃；进样量1 μL。

1.4 CRD对DSS诱导的UC小鼠模型中的药效学研究

1.4.1 代谢组学分组、模型建立与给药方案 基于实验室前期的实验方法学研究[22]，小鼠自由摄取4% DSS溶液持续7 d，以肉眼可见血便为造模成功指标构建UC模型。将造模成功小鼠分为5组，每组6只受试动物：模型组、CR高剂量组（灌胃1.517 g/kg生药）、CR中剂量组（灌胃0.986 g/kg生药）、CR低剂量组（灌胃0.455 g/kg生药）和阳性药物组（灌胃5-氨基水杨酸，718.8 mg/kg，5-ASA）。另设未诱导小鼠作为空白组（n=6，灌胃0.9%NaCl）。各组小鼠连续给药7 d。

1.4.2 样本采集与检测 研究过程中，每日监测小鼠的体质量、饮食及饮水量。根据文献[23]中的既定标准评估疾病活动指数（disease activity index，DAI）评分，并分析小鼠存活率及记录死亡情况。实验第8天对小鼠实施安乐死，采集血清与肠道样本——肠道样本从肛门至回盲部截取。检查结肠是否存在溃疡或出血，并采用苏木精-伊红（hematoxylin-eosin，HE）染色法检测肠道损伤。

从各实验动物组采集的血清样本中，检测了包括白细胞介素-6（interleukin-6，IL-6）、白细胞介素-17A（interleukin-17A，IL-17A）、C反应蛋白（C-reactive protein，CRP）和肿瘤坏死因子-α（tumor necrosis factor-α，TNF-α）在内的炎症标志物浓度。使用中国上海碧云天生物技术有限公司提供的检测试剂盒，严格遵循试剂盒操作指南执行。

1.5 血液代谢物组学研究

1.5.1 超高效液相色谱-高分辨质谱分析 100 μL乙腈与50 μL血清混合，涡旋震荡60 s，4 ℃，13 500 r/min离心15 min。随后将上清液转移至自动进样瓶待测。代谢组学分析采用超高效液相色谱-高分辨质谱联用系统（赛默飞世尔：Q Exactive；美国）。色谱分离使用ACQUITY UPLC HSS T3色谱柱（2.1 mm×150.0 mm，1.8 μm，沃特世，美国），以含0.1%甲酸的水溶液（流动相A）和乙腈（流动相B）作为流动相。超高效液相系统在40 ℃下以0.25 mL/min流速运行，采用线性梯度洗脱程序：2%A（0~1 min）；2%~50%A（1~9 min）；50%~98%A（9~12 min）；98%A（12~13.5 min）；98%~2%A（13.5~14 min）；2%A（14~20 min）。电喷雾电离质谱（ESI-MSn）分别在正负离子模式下运行，喷雾电压分别为3.8 kV和-2.5 kV。离子源温度保持325 ℃，鞘气流量30 arb，辅助气流量10 arb。质谱数据采用中心离子采集模式，质量扫描范围m/z 81~1 000，进样量3 μL。

1.5.2 潜在生物标志物的鉴定 采用Proteowizard软件（v3.0.8789）处理原始质谱数据并转换为mzXML格式，生成包含各样本离子及其对应强度的完整矩阵。后续研究使用R环境（v3.1.3）中的XCMS软件包进行峰检测、过滤与对齐等操作，由此获得峰面积、强度、保留时间及质荷比（m/z）等特征数据。对归一化数据进一步开展主成分分析（PCA）和偏最小二乘判别分析（PLS-DA），其结果通过得分图呈现。随后将数据导入R（v3.1.3）绘制火山图，从中筛选具有统计学差异的峰进行后续表征分析。

通过“质量误差≤30 ppm”的标准确保代谢物鉴定的准确性。查询了多个数据库以寻找潜在生物标志物，包括KEGG（http://www.genome.jp/kegg/）、人类代谢组数据库（HMDB）（http://www.hmdb.ca）、METLIN（http://metlin.scripps.edu）、Massbank（http://www.massbank.jp/）、LipidMaps（http://www.lipidmaps.org）以及mzCloud（https://www.mzcloud.org）。使用Metaboanalyzer 3.0软件对发现的代谢物进行进一步分析和富集。

1.6 验证实验

1.6.1 分组与样本采集 验证实验共设置6个实验组，每组4只小鼠。空白组、模型组、高、中、低剂量组的造模及给药操作流程与代谢组学实验中对应组别保持一致。阳性药物为GSH组（腹腔注射115 mg/kg GSH，记为GSH-P）。给药结束后，采用3%戊巴比妥钠处死动物，获取结肠，测量结肠长度，进行黏膜病理评分。

1.6.2 RT-PCR检测结肠组织中GSH合成通路关键基因表达量 结合代谢组学实验结果，考察结肠上皮细胞中富集通路的包括γ-谷氨酰半胱氨酸合成酶（γ-glutamylcysteine synthetase，γ-GCS）、转录因子yap1p31、skn7应答调节因子以及slc25A39蛋白的4种关键酶的基因表达水平。全RNA提取试剂盒（天根生化科技有限公司，中国北京）从结肠上皮细胞中提取总RNA。随后使用RT EasyTM Ⅱ试剂盒（福际生物技术有限公司，中国成都）在T100型PCR仪（Bio-Rod，美国）上将提取的总RNA反转录为cDNA。定量实时PCR采用Real Time PCR EasyTM-SYBR Green Ⅰ试剂盒（福际生物技术有限公司，中国成都）在CFXConnetTM荧光定量PCR仪

（Bio-Rod，美国）上完成。扩增所用引物序列见表 1，以 β-actin 作为内参。引物由生工生物工程（上海）股份有限公司定制合成，所有反应均设置复孔，$2^{-(\Delta\Delta Ct)}$法计算相对 mRNA 表达水平。

表 1　用于逆转录聚合酶链式反应的引物序列

基因		引物序列（5'~3'）
γ-gcs	上游	ATCTACCACGCAGTCAAG
	下游	CCGCCATTCAGTAACAAC
yap1p	上游	TAGACCTGCAGGATGAGTGACGTGGTAAACAAG
	下游	AATAGGCCGAGGCGGCCCTATTTAAAACATGGAAAATCG
skn7	上游	CCGCTCGAGATGAGCTTTTCCACCATAAA
	下游	CGGGATCCTTATGATAGCTGGTTTTCTTGAA
slc25A39	上游	TGCCCTTCTCAGCCCTGTA
	下游	GGTTCACTCTCACAGCCTCC
β-actin	上游	TCCTCCTGAGCGCAAGTACTCT
	下游	GCTCAGTAACAGTCCGCCTAGAA

1.7　统计学方法

采用 SPSS 28.0 进行统计学分析，计量资料采用均数 ± 标准差（$\bar{x} \pm s$）表示。数据采用单因素方差分析来评估统计学差异。检验水准 α=0.05。

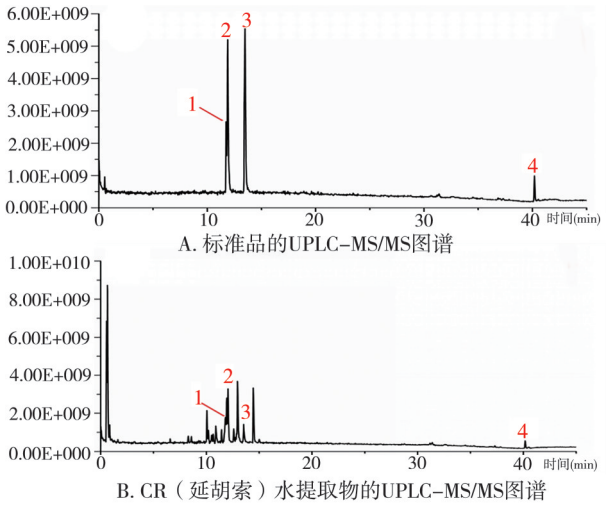
2　结　果

2.1　CR 提取物中黄连碱、四氢帕马丁、小檗碱、氯化巴马汀的含量分析

采用 LC-MS 技术分析了 CR 提取物中的主要成分。如图 1 所示，4 种标准物质——黄连碱、四氢帕马丁、小檗碱和盐酸巴马汀的保留时间分别为 11.76 min、11.88 min、13.43 min 和 40.19 min（图 1B）。CR 提取物中的主要成分与标准物质在保留时间一致。CR 提取物中黄连碱、四氢帕马丁、小檗碱和盐酸巴马汀的含量分别为 88.23 μg/mL、36.36 μg/mL、5.0 μg/mL 和 30.02 μg/mL。相当于高剂量组实验动物分别摄入了 1.32 mg/kg 黄连碱、0.54 mg/kg 四氢帕马丁、0.08 mg/kg 小檗碱和 0.45 mg/kg 盐酸巴马汀。

2.2　CR 提取物可明显缓解 DSS 诱导的 UC 症状

如图 2A 所示，在为期 7 d 的给药过程中，模型组小鼠的体质量明显低于空白组，尤其是在 2 d 时，模型组小鼠的平均体质量明显下降了 8.4%，而其他组动物的体质量没有明显变化。如图 2B 和 2C 所示，各组动物对水和食物的消耗量保持相对稳定。图 2D 显示，模型组动物 7 d 生存率为 50%。经过治疗后，小鼠的生存率明显提高，在高剂量和中等剂量组没有死亡记录。与空白组（0.04 ± 0.13）相比，模型小鼠的 DAI 得分（2.03 ± 1.32）明显更高（P<0.001）。如图 2F 所示，治疗后，各组小鼠的 DAI 评分均有所下降（0.1 ± 0.24 至 0.42 ± 0.7），与模型组相比差异有统计学意义（P<0.05）。与正常小鼠[（9.58 ± 0.77）cm]相比，UC 小鼠的结肠长度减少[（8.15 ± 1.04）cm]（P<0.05）。与模型组相比，接受 CR（高、中、低剂量组）和 5-ASA 治疗的小鼠结肠长度缩减症状得到明显改善，已与空白组结肠长度接近（图 2E）。病理分析（图 2G 和 2H）突出了 CR 对 DSS 诱导的 UC 小鼠的影响。镜下检查显示，模型组结肠组织的黏膜上皮细胞坏死，黏膜下有大量炎症细胞浸润。然而，用药之后，症状均得到明显改善。根据已建立的参考标准[24]对结肠样本进行的显微镜评估显示，模型组（4.00 ± 0.00）和空白组（0.00 ± 0.00）之间的病理损伤差异有统计学意义（P<0.001）。在所有给药组中，溃疡和炎症细胞浸润呈剂量依赖性减少（1.00 ± 1.00 至 2.33 ± 0.58）。



注：1，黄连碱；2，四氢帕马丁；3，小檗碱；4，氯化巴马汀

图 1　CR 提取物中黄连碱、四氢帕马丁、小檗碱、氯化巴马汀的含量

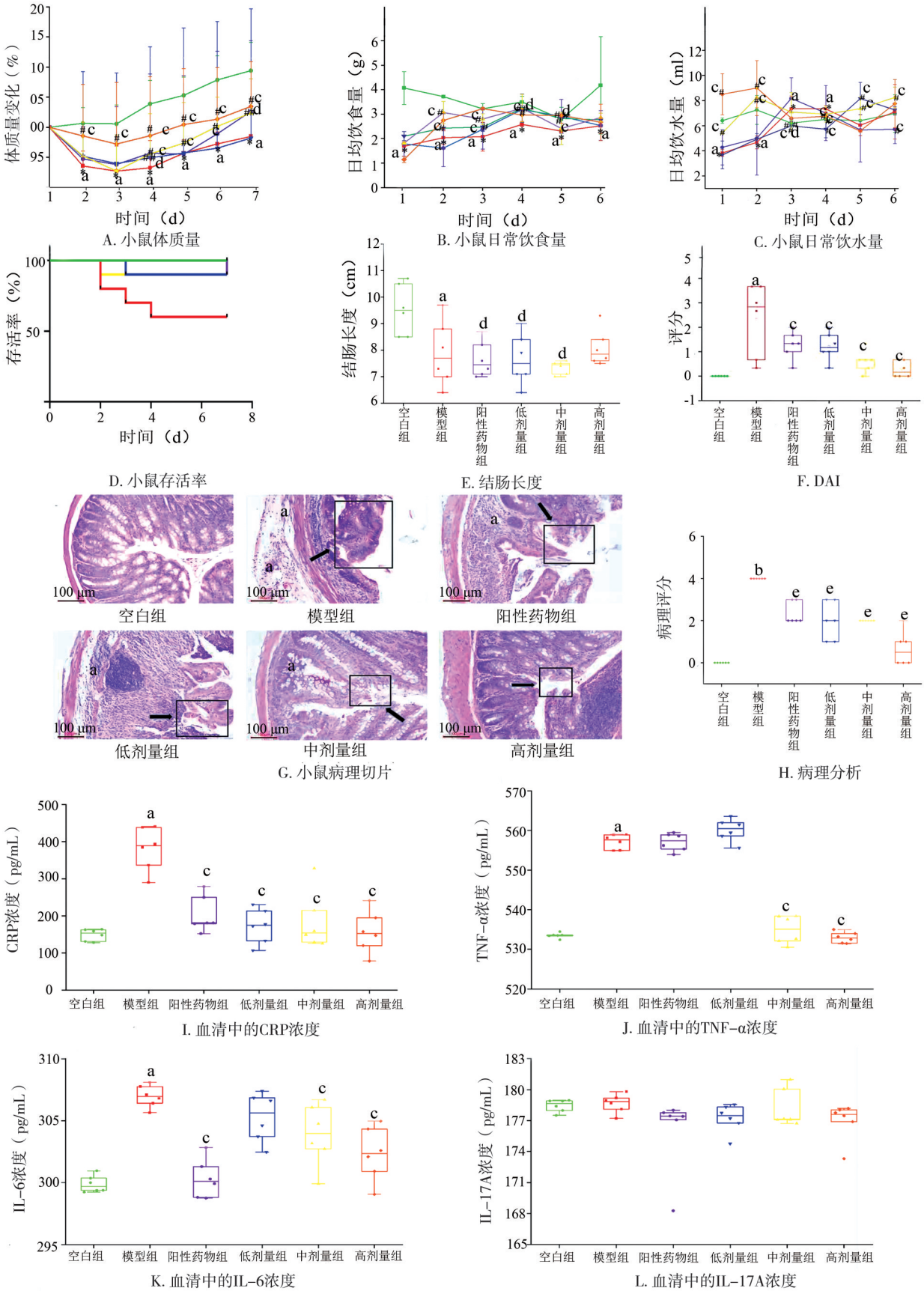
2.3　CR 可降低 DSS 诱导的 UC 小鼠血清中 TNF-α、IL-6 和 IL-17A 的浓度

图 2I~L 中的数据表明，与对照组相比，服用 DSS 后小鼠血液中的 CRP、TNF-α 和 IL-6 水平明显升高（P<0.05）。使用 CR 治疗后，这些炎症细胞因子的水平降至与对照组相当。但是，与对照组相比，IL-17 的血清浓度在各组中均未出现明显变化。

2.4　模式识别和潜在生物标志物的鉴定

血清代谢组学的预处理数据使用 Simca14.1 进行多变量统计分析。图 3A~D 中的 PCA 和 PLS-DA 散点图说明了数据点在正离子和负离子模式下的分布，不同颜色的点代表不同的分组。结果表明，各组内的数据点有明显的聚类。模式识别图显示，正常小鼠和 UC 模型小鼠之间成功地进行了区分，这表明 UC 诱导了血清代谢谱的改变。此外，不同剂量的 CR 组与模型组明显区分开来，并表现出与空白组的相似性。这些结果表明，CR 在改善 DSS 诱导的 UC 小鼠代谢异常方面具有明显疗效。

此外，本研究共鉴定出 21 个潜在代谢因子（图 4），并基于质谱和保留时间数据在数据库中确定了它们的分子结构。图 4 是表示小鼠血清中这些生物标志物强度的方框图。在 UC 小鼠模型中，某些氨基酸和脂质明显增加，这表明在 DSS 诱导的 UC 小鼠中，氨基酸和甘油磷脂的生物合成失调。与正常组相比，模型组的生物标志物水平明显更高（P<0.01）。使用 CR 后，所有 21 个生物标志物都明显下调，与模型组相比，差异有统计学意义（P<0.01 或 0.05），且呈剂量依赖性。这些研究结果表明，CR 在缓解与 UC 相关的代谢紊乱方面具有有益的作用。



注：a，与空白组比较，$P<0.05$；b，与空白组比较，$P<0.001$；c，与模型组比较，$P<0.05$；d，与模型组比较，$P<0.01$；e，与模型组比较，$P<0.001$

图2　延胡索提取物对DSS诱导UC小鼠体质量和DAI的影响

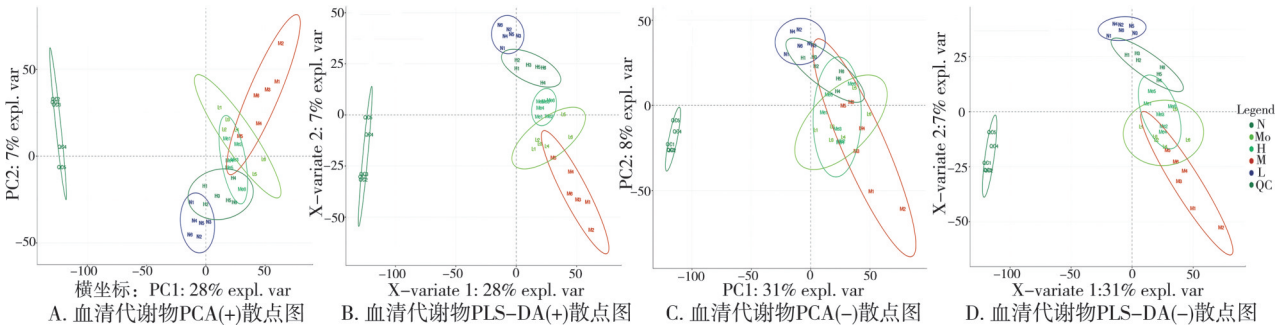
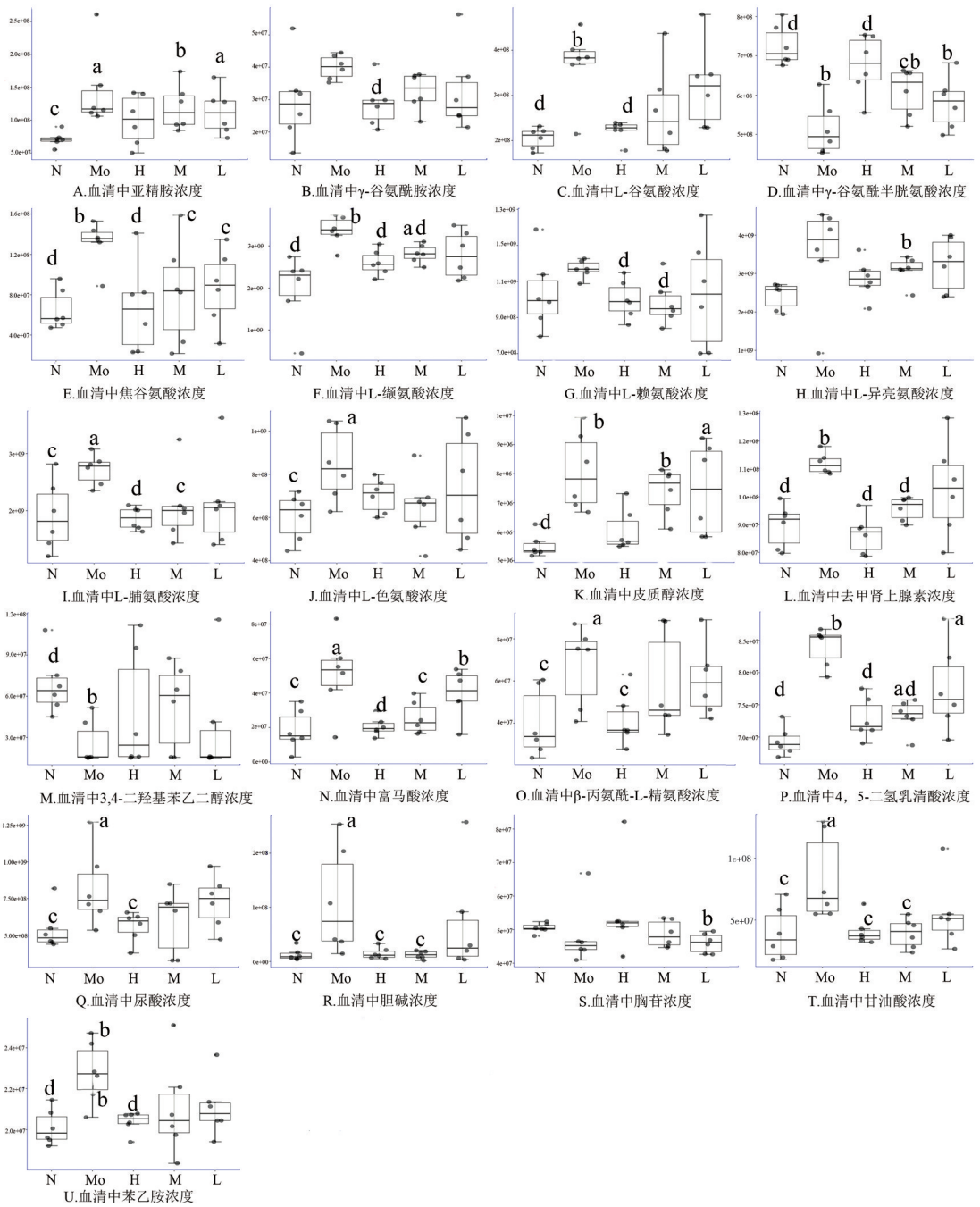


图3　血清代谢物 PCA 和 PLS−DA 散点图



注：N，空白组；Mo，模型组；H，高剂量组；M，中剂量组；L，低剂量组；a，与空白组比较，$P<0.05$；b，与空白组比较，$P<0.01$；c，与模型组相比，$P<0.05$；d，与模型组相比，$P<0.01$

图4　延胡索提取物对DSS诱导UC小鼠代谢组学的各组代谢因子浓度影响

2.5 代谢通路分析

通过MetaboAnalyst5.0对潜在生物标志物网络进行了分析，以阐明它们在疾病发病机制中的作用。结果如图5所示，经通路富集分析验证，在CR提取物治疗后受明显影响的通路包括GSH代谢、氨酰-tRNA生物合成、酪氨酸代谢、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、精氨酸生物合成，以及苯丙氨酸代谢、精氨酸和脯氨酸代谢、β-丙氨酸代谢。

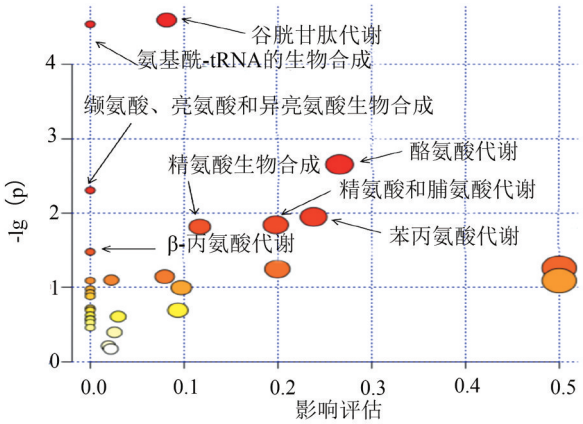


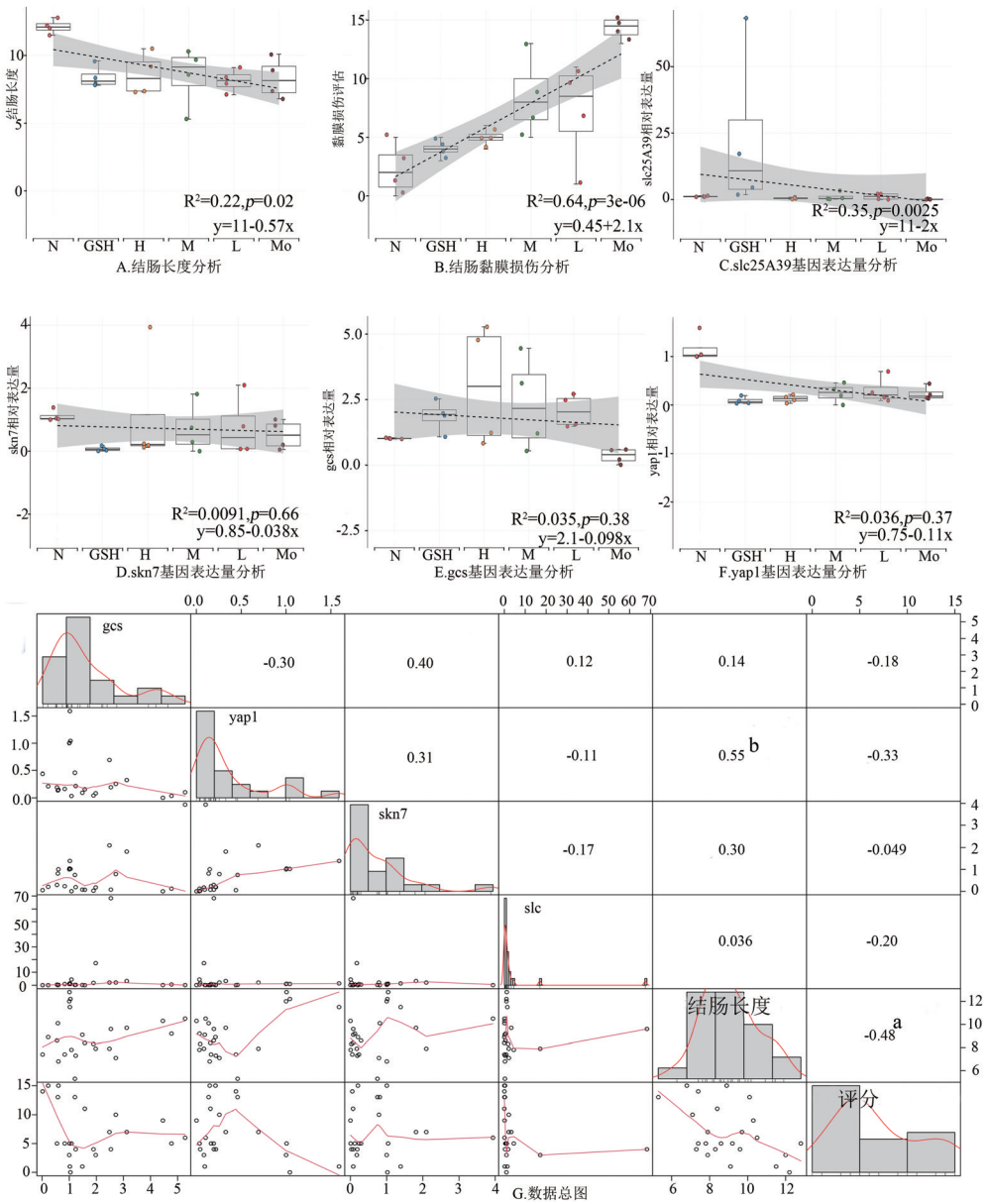
图5 延胡索提取物对DSS诱导UC小鼠代谢组学代谢途径富集图

2.6 CR通过GSH途径发挥UC的治疗作用

如图6A所示的分析揭示，与对照组相比所有实验组的结肠长度减少约30%，差异有统计学意义（$P<0.01$）。采用药物干预后，与模型组相比，特别是GSH和高剂量组，结肠黏膜损伤明显减少，差异有统计学意义（图6B，$P<0.001$）。

2.7 涉及GSH合成途径的关键酶的Rt-PCR分析

在图6C~F中，通过灌胃给予DSS后，观察到结肠上皮细



注：N，空白组；GSH，谷胱甘肽组；Mo，模型组；H，高剂量组；M，中剂量组；L，低剂量组；a，与对照组相比，$P<0.05$；b，与对照组相比，$P<0.01$

图6 CR和GSHUC对UC模型的GSH合成途径影响

胞中参与GSH合成的关键酶γ-GCS的表达明显下降。相反，与模型组相比，接受CR治疗的组中γ-GCS的基因表达明显上调。此外，数据表明，通过腹腔注射等摩尔剂量的GSH后，γ-GCS的表达明显增加，这一反应与模型组差异明显（图6G）。

3 讨 论

实验研究表明，口服CR水提取物能有效缓解UC小鼠症状。观察发现，剂量与疗效之间存在相关性（P<0.05或0.01）。血清代谢组学分析表明，实验组之间有21种代谢物存在明显差异（P<0.05或0.01），包括L-酪氨酸、亚精胺、γ-谷氨酰丙氨酸、L-赖氨酸、L-异亮氨酸、L-谷氨酸、L-脯氨酸、L-缬氨酸、γ-谷氨酰半胱氨酸、苯乙胺或其衍生物，与已有相关报道UC患者的氨基酸代谢存在紊乱的结果一致[25-26]。

富集分析显示，这些代谢标志物主要富集在GSH代谢、氨基酰-tRNA生物合成、酪氨酸代谢、缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸生物合成、苯丙氨酸代谢以及精氨酸和脯氨酸代谢等通路中。值得注意的是，DSS诱导的UC会明显影响GSH的代谢（P<0.001）。在此之前，有研究利用高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱对77份血清样本（31例患者，46例健康对照）进行了分析，结果就显示GSH代谢是UC患者受影响最大的途径[27]。

GSH是一种重要的抗氧化剂，在结肠黏膜的防御系统中发挥着至关重要的作用[28-29]。包括结肠在内的肠道拥有大量生成活性氧代谢物（reactive oxygen metabolites，ROMs）所需的酶系统。肠上皮内如黄嘌呤、胺和醛氧化酶，以及免疫细胞的NADPH氧化酶，都是胃肠道中活性氧代谢物的潜在来源[30]。当活性氧代谢产物（如H_2O_2和O_2-1）的生成超过细胞的抗氧化能力时，ROM水平的升高会导致保护性黏蛋白层降解。黏膜屏障的破坏会使FMLP（N-Formyl-MLF）和内毒素等扩散到固有层，并在那里激活和吸引免疫细胞。肠黏膜固有层中含有大量吞噬细胞，常住中性粒细胞和炎性中性粒细胞可通过激活NADPH氧化酶和髓过氧化物酶（myeloperoxidase，MPO）进一步促进ROM的积累[31]。ROM水平过高会导致脂质过氧化、透明质酸和胶原降解，以及吞噬性白细胞释放非氧化性毒素，最终导致黏膜溃疡[32]。因此，UC是结肠黏膜炎症和氧化损伤之间复杂相互作用的最终结果。

GSH在抗氧化防御机制和抵御活性氧（reactive oxygen species，ROS）方面发挥着至关重要的作用[33-34]。细胞代谢活动会产生ROS，包括超氧化物（O_2-1）和过氧化氢（H_2O_2），通过细胞内还原型GSH和过氧化还原酶（peroxyreductase，Prx）组成的氧化还原缓冲系统进行中和[35]。在此过程中，GSH转化为其氧化形式GSSG，然后通过GSSG还原酶将其还原为GSH，建立起消耗NADPH的氧化还原循环。随着ROS被中和，这一循环有助于重置细胞内的氧化还原环境[36]。

肠道中GSH的水平主要受GSH合成的影响，GSH的合成包括γ-GCS将L-谷氨酸和半胱氨酸转化为γ-谷氨酰半胱氨酸[37]。随后，GSH合成酶将甘氨酸加入γ-谷氨酰半胱氨酸，生成GSH。影响GSH生成的关键因素包括半胱氨酸（含硫氨基酸的前体）的可用性和限速酶γ-GCS37的活性[38]。对动物模型血清样本的分析表明，与正常小鼠相比，UC小鼠体内与GSH代谢有关的亚精胺、γ-谷氨酰丙氨酸、L-谷氨酸和焦谷氨酸水平升高。相反，γ-谷氨酰半胱氨酸的水平在UC模型小鼠中较低。值得注意的是，γ-谷氨酰半胱氨酸既是合成GSH的中间体，又具有抗炎特性。正如通过血清代谢组学在UC患者中观察到的那样，γ-谷氨酰半胱氨酸水平的降低可能直接导致GSH合成不足和肠道防御机制受损[38]。使用CR治疗后，上述氨基酸水平呈剂量依赖性明显逆转，L-谷氨酸浓度降低，γ-谷氨酰半胱氨酸含量增加。特别是在高剂量CR（1.517 g/kg）时，血清生物标志物水平与空白组相当，这表明CR抵抗UC作用与GSH合成调节之间存在潜在联系。

CR对GSH代谢的影响可能受2个关键因素的影响。一个因素涉及在GSH合成过程中对γ-GCS表达的调控，而另一个因素则与CR条件下线粒体GSH输入和丰度的调控有关。本研究重点是评估CR对4个特定基因表达的影响：*γ-GCS*、*yap1p*、*skn7*和*SLC25A39*。Yap1p和Skn7是细胞应对氧化应激的关键转录因子，在上调γ-GCS表达中发挥作用[39]。正常情况下，Yap1p同时分布在细胞质和细胞核中，但在氧化应激过程中，它会迁移到细胞核中，激活包括γ-GCS在内的靶基因的转录[40]。编码γ-GCS的基因启动子区域含有1个DNA元件，该元件在大多数位置与Yap1反应元件（Yap1 reaction element，YRE）密切匹配，使Yap1能直接结合以调控γ-GCS的表达[38]。Skn7是另一种转录因子，它是真核生物中独一无二的双组分信号蛋白，对于增强细胞对抗氧化剂的抵抗力至关重要。通过直接与TRX2启动子结合，Skn7与Yap1合作刺激基因表达[40]。此外，线粒体膜载体SLC25A39正在成为GSH向线粒体转运的关键调节因子[41-42]。鉴于GSH

合成完全发生在细胞质中，SLC25A39 水平的改变会直接影响线粒体 GSH 的转运和丰度[43]。延胡索对 GSH 合成途径的影响见图 7。

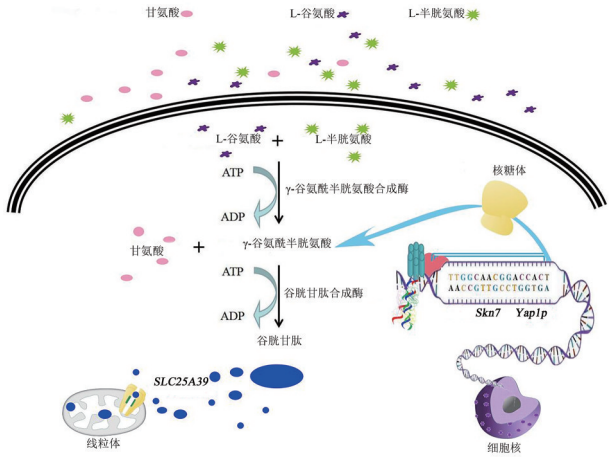


图 7　延胡索对 GSH 合成途径的影响

研究利用 q-PCR 评估了 4 个基因（γ-*gcs*、*yap1p*、*skn7*、*slc25A39*）的表达水平。研究结果表明，CR 能明显上调 γ-gcs 的表达，且呈剂量依赖关系（$P<0.05$）。此外，还对结肠长度、黏膜损伤评分与结肠上皮细胞中参与 GSH 合成和抗氧化损伤的基因（γ-*gcs*、*yap1p*、*skn7*、*slc25A39*）表达之间的关系进行了相关性分析。结果显示，γ-GCS 与 skn7 呈正相关，yap1p 与结肠长度呈正相关（图 4G）。

在 CR 压力下，SLC25A39 基因的表达保持不变，但当直接给予 GSH 时，该基因的表达则明显增加。血液中 GSH 水平的升高可能会通过上调 SLC25A39 通道蛋白的表达、促进 GSH 向线粒体的转运以及增强抗氧化能力来诱导抗 UC 效应。在 UC 模型动物中观察到的 GSH 药效学效应证实了这一假设，该效应明显减少了结肠黏膜的损伤（$P<0.01$）。相反，CR 可通过上调 γ-GCS 的表达来促进 GSH 的合成，从而减轻 UC 引起的黏膜细胞损伤。

代谢组分析的结果表明，CR 在调节 UC 动物的氨基酰-tRNA 生物合成方面发挥了作用。氨基酰-tRNA 生物合成失调与恶性肿瘤的发生有关[27]。此外，UC 模型动物血清代谢物中焦谷氨酸的异常升高，以及 CR 治疗组焦谷氨酸的明显降低，都表明 CR 有可能预测其抑制与 UC 相关的炎性癌症转化的能力[44-46]。要验证这一假设，还需要进一步地研究。

参　考　文　献

[1] Ordás I, Eckmann L, Talamini M, et al. Ulcerative colitis[J]. Lancet, 2012, 380(9853): 1606-1619.

[2] Honap S, Jairath V, Sands BE, et al. Acute severe ulcerative colitis trials: the past, the present and the future[J]. Gut, 2024, 73(10): 1763-1773.

[3] Vijay-Kumar M, Sanders CJ, Taylor RT, et al. Deletion of TLR5 results in spontaneous colitis in mice[J]. J Clin Invest, 2007, 117(12): 3909-3921.

[4] Ekstedt N, Jamioł-Milc D, Pieczyńska J. Importance of gut microbiota in patients with inflammatory bowel disease[J]. Nutrients, 2024, 16(13): 2092.

[5] Long D, Mao CH, Xu Y, et al. The emerging role of neutrophil extracellular traps in ulcerative colitis[J]. Front Immunol, 2024, 15: 1425251.

[6] Raine T, Bonovas S, Burisch J, et al. ECCO guidelines on therapeutics in ulcerative colitis: medical treatment[J]. J Crohns Colitis, 2022, 16(1): 2-17.

[7] Singh S, Murad MH, Fumery M, et al. First- and second-line pharmacotherapies for patients with moderate to severely active ulcerative colitis: an updated network meta-analysis[J]. Clin Gastroenterol Hepatol, 2020, 18(10): 2179-2191.

[8] Dai N, Haidar O, Askari A, et al. Colectomy rates in ulcerative colitis: a systematic review and meta-analysis[J]. Dig Liver Dis, 2023, 55(1): 13-20.

[9] Murthy SK, Feuerstein JD, Nguyen GC, et al. AGA clinical practice update on endoscopic surveillance and management of colorectal dysplasia in inflammatory bowel diseases: expert review[J]. Gastroenterology, 2021, 161(3): 1043-1051.

[10] Chen J, Shen BX, Jiang ZL. Traditional Chinese medicine prescription Shenling BaiZhu powder to treat ulcerative colitis: Clinical evidence and potential mechanisms[J]. Front Pharmacol, 2022, 13: 978558.

[11] Hao WR, Cheng CY, Cheng TH. Enhancing ulcerative colitis treatment with traditional Chinese medicine[J]. World J Clin Cases, 2024, 12(30): 6358-6360.

[12] 宋杰林，冀建斌，周正华. 溃疡性结肠炎中医证素分布及其与炎症指标和疾病严重程度的相关性研究[J]. 中国中西医结合消化杂志，2025，33(1)：24-29.

Song JL, Ji JB, Zhou ZH. Study on the distribution of syndrome elements of traditional Chinese medicine in ulcerative colitis and its correlation with inflammation indicators and severity[J]. Chin J Integr Trad West Med Dig, 2025, 33(1): 24-29..

[13] 史　瑞，李军祥，沈　洪，等. 溃疡性结肠炎中医诊疗专家共识（2023 年）[J]. 中华中医药杂志，2024，39(1)：288-296.

Shi R, Li JX, Shen H, et al. Experts consensus on traditional Chinese medicine diagnosis and treatment of ulcerative colitis (2023) [J]. Chin J Tradit Chin Med Pharm, 2024, 39(1): 288-296.

[14] 齐相芬，张仁诚，胡文平，等. 王长洪教授诊治缓解期溃疡性结肠炎经验总结[J]. 辽宁中医药大学学报，2016，18(3)：193-195.

Qi XF, Zhang RC, Hu WP, et al. Experience of Treating Ulcerative Colitis in Remission Stage by Professor WANG Changhong[J]. Journal of Liaoning University of TCM, 2016, 18(3): 193-195.

[15] 黄永俨. 活血祛瘀法治疗慢性溃疡性结肠炎 66 例[J]. 黑龙江中医药，2001，30(5)：14-15.

Huang YY. 66 cases of chronic ulcerative colitis treated by promoting blood circulation and removing blood stasis[J]. Heilongjiang J Tradit Chin Medine, 2001, 30(5): 14-15.

[16] 郑　娜，张　红，李佰成，等. 延胡索化学成分与药理作用研究

进展[J]. 中成药，2025，47(3)：872-883.
Zheng N，Zhang H，Li BC，et al. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of *Corydalis yanhusuo*[J]. Chin Tradit Pat Med，2025，47(3)：872-883.
[17] Alhassen L，Dabbous T，Ha A，et al. The analgesic properties of *Corydalis yanhusuo*[J]. Molecules，2021，26(24)：7498.
[18] Luo JZ，Li MS，Song XX，et al. New alkaloids and their *in vitro* antitumor activity of *Corydalis balansae*[J]. Fitoterapia，2022，162：105289.
[19] Feng JH，Chen K，Shen SY，et al. The composition，pharmacological effects，related mechanisms and drug delivery of alkaloids from *Corydalis yanhusuo*[J]. Biomed Pharmacother，2023，167：115511.
[20] 陈思懿，谷雨薇，魏永孝，等. 延胡索总生物碱的提取及镇痛抗炎作用研究[J]. 世界中医药，2024，19(22)：3431-3436.
Chen SY，Gu YW，Wei YX，et al. Extraction and analgesic and anti-inflammatory effects of the total alkaloids of *Corydalis yanhusuo*[J]. World Chin Med，2024，19(22)：3431-3436.
[21] 唐铭泽，申 圳，高天乐，等. 中药天然产物在疼痛管理中应用的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志，2023，29(24)：260-272.
Tang MZ，Shen Z，Gao TL，et al. Application of natural ingredients of Traditional Chinese Medicine in pain management：a review[J]. Chin J Exp Tradit Med Form，2023，29(24)：260-272.
[22] Liu JL，Gao YY，Zhou J，et al. Changes in serum inflammatory cytokine levels and intestinal flora in a self-healing dextran sodium sulfate-induced ulcerative colitis murine model[J]. Life Sci，2020，263：118587.
[23] Yu YR，Rodriguez JR. Clinical presentation of Crohn's，ulcerative colitis，and indeterminate colitis：Symptoms，extraintestinal manifestations，and disease phenotypes[J]. Semin Pediatr Surg，2017，26(6)：349-355.
[24] Dieleman LA，Palmen MJ，Akol H，et al. Chronic experimental colitis induced by dextran sulphate sodium（DSS）is characterized by Th1 and Th2 cytokines[J]. Clin Exp Immunol，1998，114(3)：385-391.
[25] Yuan XM，Chen BQ，Duan ZL，et al. Depression and anxiety in patients with active ulcerative colitis：crosstalk of gut microbiota，metabolomics and proteomics[J]. Gut Microbes，2021，13(1)：1987779.
[26] Nikolaus S，Schulte B，Al-Massad N，et al. Increased tryptophan metabolism is associated with activity of inflammatory bowel diseases[J]. Gastroenterology，2017，153(6)：1504-1516.
[27] Li MX，Zhang R，Xin MJ，et al. Discovery and validation of potential serum biomarkers with pro-inflammatory and DNA damage activities in ulcerative colitis：a comprehensive untargeted metabolomic study[J]. Metabolites，2022，12(10)：997.
[28] Wang LL，Han RY，Zang KH，et al. Deficiency in glutathione synthesis and reduction contributes to the pathogenesis of colitis-related liver injury[J]. Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban，2022，47(3)：271-279.
[29] Bonetti L，Horkova V，Grusdat M，et al. A Th17 cell-intrinsic glutathione/mitochondrial-IL-22 axis protects against intestinal inflammation[J]. Cell Metab，2024，36(8)：1726-1744. e10.
[30] Aviello G，Knaus UG. NADPH oxidases and ROS signaling in the gastrointestinal tract[J]. Mucosal Immunol，2018，11(4)：1011-1023.
[31] Muro P，Zhang L，Li SX，et al. The emerging role of oxidative stress in inflammatory bowel disease[J]. Front Endocrinol（Lausanne），2024，15：1390351.
[32] Berdiaki A，Neagu M，Spyridaki I，et al. Hyaluronan and reactive oxygen species signaling-novel cues from the matrix?[J]. Antioxidants（Basel），2023，12(4)：824.
[33] Afzal S，Abdul Manap AS，Attiq A，et al. From imbalance to impairment：the central role of reactive oxygen species in oxidative stress-induced disorders and therapeutic exploration[J]. Front Pharmacol，2023，14：1269581.
[34] Mailloux RJ，Treberg JR. Protein S-glutathionlyation links energy metabolism to redox signaling in mitochondria[J]. Redox Biol，2016，8：110-118.
[35] Sies H，Jones DP. Reactive oxygen species（ROS）as pleiotropic physiological signalling agents[J]. Nat Rev Mol Cell Biol，2020，21(7)：363-383.
[36] Yang Y，Li L，Hang QY，et al. γ-glutamylcysteine exhibits anti-inflammatory effects by increasing cellular glutathione level[J]. Redox Biol，2019，20：157-166.
[37] Wu GY，Fang YZ，Yang S，et al. Glutathione metabolism and its implications for health[J]. J Nutr，2004，134(3)：489-492.
[38] Kuge S，Jones N，Nomoto A. Regulation of YAP-1 nuclear localization in response to oxidative stress[J]. EMBO J，1997，16(7)：1710-1720.
[39] Wu AL，Moye-Rowley WS. *GSH1* which encodes gamma-glutamylcysteine synthetase，is a target gene for YAP-1 transcriptional regulation[J]. Mol Cell Biol，1994，14(9)：5832-5839.
[40] Kuge S，Jones N. YAP1 dependent activation of TRX2 is essential for the response of *Saccharomyces cerevisiae* to oxidative stress by hydroperoxides[J]. EMBO J，1994，13(3)：655-664.
[41] Wang Y，Yen FS，Zhu XG，et al. SLC25A39 is necessary for mitochondrial glutathione import in mammalian cells[J]. Nature，2021，599(7883)：136-140.
[42] Morgan BA，Banks GR，Toone WM，et al. The Skn7 response regulator controls gene expression in the oxidative stress response of the budding yeast *Saccharomyces cerevisiae*[J]. EMBO J，1997，16(5)：1035-1044.
[43] Gao XL，Guo R，Li YH，et al. Contribution of upregulated aminoacyl-tRNA biosynthesis to metabolic dysregulation in gastric cancer[J]. J Gastroenterol Hepatol，2021，36(11)：3113-3126.
[44] Chou YJ，Kober KM，Kuo CH，et al. A pilot study of metabolomic pathways associated with fatigue in survivors of colorectal cancer[J]. Biol Res Nurs，2021，23(1)：42-49.
[45] Park J，Shin Y，Kim TH，et al. Urinary metabolites as biomarkers for diagnosis of breast cancer：a preliminary study[J]. J Breast Dis，2019，7(2)：44-51.
[46] Yu LZ，Aa JY，Xu J，et al. Metabolomic phenotype of gastric cancer and precancerous stages based on gas chromatography time-of-flight mass spectrometry[J]. J Gastroenterol Hepatol，2011，26(8)：1290-1297.

（责任编辑：曾 玲）

本文引用格式：
谢宸韬，刘佳玲，高阳阳，等. 基于代谢组学的延胡索对DSS诱导溃疡性结肠炎的治疗作用及机制解析[J]. 重庆医科大学学报，2025，50(7)：879-888.