

[3]

中国科学院《中国植物志》编辑委员会. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社, 1997: 167-168.

[4]

蔡逸平, 陈有根, 范崔生. 中药枳壳、枳实类原植物调查及商品药材的鉴定[J]. 中国中药杂志, 1999, 24(5): 259-262.

[5]

裴莉昕, 纪宝玉, 陈随清, 等. 枸橘药材的本草考证及质量分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(21): 39-44.

[6]

宋玉鹏, 陈海芳, 谭舒舒, 等. 不同采收期江枳壳中柚皮素和橙皮素 HPLC 含量测定[J]. 井冈山大学学报 (自然科学版), 2017, 38(1): 83-87.

[7]

李 煌, 张梦云. 不同采收期绿衣枳壳中柚皮苷的含量测定[J]. 中国中医药信息杂志, 2008, 15(7): 43-44.

[8]

付小梅, 吴志瑰, 褚小兰, 等. 枳壳中黄酮类成分的研究[J]. 中药材, 2006, 29(11): 1187-1188.

[9]

孙 静, 李 俊, 黄 艳, 等. 橙皮苷对酒精性脂肪肝大鼠脂质过氧化及 TNF- α 生成的影响[J]. 安徽医科大学学报, 2011, 46(9): 913-917.

[10]

易徐航, 夏放高, 陈海芳, 等. 枳壳中黄酮苷类成分对正常小鼠小肠推进的影响[J]. 时珍国医国药, 2015, 26(2): 278-280.

[11]

滕建业. 枳壳促进胃动力化学物质组的筛选及作用机理研究[D]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2011.

[12]

刘学仁. 柚皮苷、橙皮苷和新橙皮苷的提取与分析研究[D]. 黄石: 湖北师范学院, 2011.

[13]

皮 达, 谭舒舒, 罗小泉, 等. 陈皮、枳壳和化橘红中黄酮苷类成分的薄层鉴别[J]. 时珍国医国药, 2018, 29(9): 2184-2187.

[14]

国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2015 年版四部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015.

基于偏最小二乘回归法分析诃子对溃疡性结肠炎“肺肠同治”的谱效关系

王 巍, 张 强, 杜春洁, 鞠成国*
(辽宁中医药大学药学院, 辽宁 大连 116600)

摘要: **目的** 基于偏最小二乘回归法研究诃子对溃疡性结肠炎“肺肠同治”的谱效关系。**方法** 采用 DSS 诱导小鼠溃疡性结肠炎模型, ELISA 法检测肺、肠组织 IL-10、IL-1 β 、TNF- α 、MPO 水平。采用 HPLC 法建立诃子色谱指纹图谱, 以偏最小二乘回归分析法研究谱效相关性。**结果** 10 批样品特征指纹图谱中有 32 个共有峰, 其中峰 1、8、9、10、19、20、27、32 与结肠和肺均呈正相关, 峰 2 与结肠呈较大正相关, 峰 7、14、30 与肺呈较大正相关, 峰 3、12、13、15、26 与结肠和肺均呈较大负相关。**结论** 12 种与药效指标呈正相关的成分为诃子对溃疡性结肠炎“肺肠同治”的主要有效成分, 为诃子治疗溃疡性结肠炎的药效物质及作用机制研究提供基础。
关键词: 诃子; 溃疡性结肠炎; 肺肠同治; 偏最小二乘回归法; 谱效关系
中图分类号: R285.5 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2021)09-2590-06
doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2021.09.061

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 是一种慢性肠道炎症性疾病, 临床主要表现为黏液脓血便、腹泻、腹痛及里急后重等, 与中医“肠澼”相对应。其病因至今尚不完全清楚, 目前认为主要与饮食和生活方式不规律以致肠道菌群失调、黏液和上皮屏障功能缺陷有关^[1]。现代临床治疗多以水杨酸类、糖皮质激素以及免疫抑制剂等药物联用, 但存在疗效不稳定、肝肾毒性、药物依赖性问题^[2], 因此寻找安全有效的中医药疗法成为当务之急。中医理论认为本病病位在大肠, 病在血分, 气血凝滞, 病久及肺^[3],

因此目前从肺肠合法论治溃疡性结肠炎研究较多^[4]。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. 及绒毛诃子 *Terminalia 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、降火利咽的功效^[5]。由于诃子主归肺与大肠经, 传统医学常用其治疗“肠澼”, 本课题组前期对其治疗溃疡性结肠炎的药效学进行研究, 结果表明诃子水提物可显著改善溃疡性结肠炎模型动物症状。本实验在前期研究基础上, 建

收稿日期: 2020-07-09
基金项目: 辽宁省自然基金项目 (2019-ZD-0951); 辽宁省教育厅项目 (L201725)
作者简介: 王 巍 (1979—), 女, 博士, 副教授, 研究方向为中药质量评价及新药开发。Tel: 15940997065, E-mail: ww_101737@126.com
* 通信作者: 鞠成国 (1979—), 男, 博士, 副教授, 研究方向为中药炮制工艺与原理。Tel: (0411)85890146, E-mail: jcg7092357@163.com

立诃子水提物 HPLC 指纹图谱,以偏最小二乘 (partial least squares, PLS) 回归法分析其“肺肠同治”的谱效关系,为诃子对溃疡性结肠炎“肺肠同治”药效物质研究奠定基础。

1 材料

1.1 药材 10 批诃子经辽宁中医药大学翟延君教授鉴定,均为使君子科植物诃子 *Terminalia chebula* Retz. 的干燥成熟果实,具体信息见表 1。

表 1 样品信息

编号	产地	购买地	编号	产地	购买地
S1	广东	亳州药材市场	S6	广西	大连阳光大药房
S2	广东	安国药材市场	S7	新疆	亳州药材市场
S3	广西	亳州药材市场	S8	新疆	安国药材市场
S4	广西	安国药材市场	S9	云南	亳州药材市场
S5	广西	中国药材公司	S10	云南	安国药材市场

1.2 动物 SPF 级昆明小鼠,雄性,购自辽宁长生生物技术股份有限公司,动物生产许可证号 SCXK (辽) 2015-0001,体质量 (20±2) g。

1.3 试剂与药物 小鼠白细胞介素 10 (IL-10) (批号 20171014GP)、白细胞介素 1β (IL-1β) (批号 20171014HS)、肿瘤坏死因子 α (TNF-α) (批号 20171014JA)、髓过氧化物酶 (MPO) (批号 20170328CT) 试剂盒均购自上海朗顿生物科技有限公司;葡聚糖硫酸钠 (DSS) (批号 9011-18-1),购自大连美仑生物技术有限公司;没食子酸 (批号 MUST-13040103,纯度 ≥98%)、鞣花酸 (批号 MUST-14031010,纯度 ≥98%) 对照品均购自成都曼思特生物科技有限公司;诃黎勒酸 (批号 PRF8112302,纯度 ≥98%)、诃子酸 (批号 PRF8071201,纯度 ≥98%) 对照品均购自成都普瑞法科技开发有限公司。甲醇为色谱纯,磷酸为分析纯,购自天津科密欧化学试剂有限公司;水为超纯水。

1.4 仪器 安捷伦 1100 高效液相色谱系统 (美国 Agilent 公司);FSH-2A 可调高速匀浆机 (常州市国旺仪器制造有限公司);Multiskan Mk 3 酶标仪 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司);Fresco 台式高速冷冻离心机 (德国 Heraeus 公司);FA1004B 分析天平 (上海精密科学仪器有限公司)。

2 方法

2.1 药效实验

2.1.1 诃子水提液制备 取各批药材,砸取果肉,粉碎,称取适量,加 10 倍量水浸泡 0.5 h,加热回流提取 3 次,每次 1 h,滤过,合并滤液,预留适量滤液,供 HPLC 指纹图谱用;剩余滤液分别浓缩成质量浓度为 0.13 g/mL 的溶液,作为给药溶液 (以 2020 年版《中国药典》所载诃子最大服用量按小鼠体表系数换算方法折算) 备用^[6]。

2.1.2 动物分组、造模及给药 按随机对照原则将小鼠分为空白组、模型组及诃子给药组 (2.6 g/kg, S1~S10),每组 10 只。除空白组外,其余各组小鼠每日自由饮用 2.5% DSS 水溶液,空白组自由饮用纯净水,连续 4 d,以小鼠毛

色晦暗、腹泻及聚堆现象明显、粪便隐血测试阳性为造模成功^[7]。实验第 5 天,各组小鼠均自由饮用纯净水,然后诃子组每天按 0.4 mL/20 g 剂量灌胃给药溶液,空白组、模型组小鼠灌胃同等剂量纯净水,连续 7 d。

2.1.3 指标检测 末次给药后,各组小鼠禁食不禁水 24 h,脱颈处死,剖开腹腔及胸腔,剥离结肠和肺,生理盐水冲洗血污,吸水纸上吸掉生理盐水,称定质量,加 10 倍量生理盐水充分匀浆,3 000 r/min 离心 10 min,吸取上清液,采用 ELISA 法对组织匀浆中 IL-10、IL-1β、TNF-α、MPO 水平进行测定^[6-7]。

2.2 HPLC 指纹图谱建立

2.2.1 供试品溶液制备 取“2.1.1”项下预留诃子水提液 30 mL 回收溶剂,70% 甲醇复溶,转移至 25 mL 量瓶,定容,再精密吸取 1 mL,置于 10 mL 量瓶中,甲醇定容,吸取适量,过 0.45 μm 微孔滤膜,即得。

2.2.2 对照品溶液制备 精密称取没食子酸、诃黎勒酸、诃子酸、鞣花酸对照品适量,甲醇制成分别含四者 0.022 4、0.157 0、0.119 0、0.035 1 mg/mL 的溶液,即得。

2.2.3 色谱条件 Diamonsil Plus C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相 甲醇 (A) -0.1% 磷酸水 (B),梯度洗脱 (0~8 min, 95.0%~90.0% B; 8~15 min, 90.0%~75.0% B; 15~25 min, 75.0% B; 25~30 min, 75.0%~70.0% B; 30~50 min, 70.0%~55.0% B; 50~55 min, 55.0% B);体积流量 1.0 mL/min;检测波长 270 nm;柱温 30 ℃;进样量 10 μL。

2.3 统计学分析 通过 SPSS 17.0 软件进行处理,结果以 ($\bar{x} \pm s$) 表示,组间比较采用 *t* 检验, *P*<0.05 表示差异具有统计学意义。试剂盒标准曲线建立以及数据处理采用 mELISA 1.0.1.2 软件,拟合模型均选用三次多项式;偏最小二乘回归分析采用 MINITAB 19 软件。

3 结果

3.1 小鼠一般体征 造模后,小鼠毛色晦暗,伴有炸毛、聚堆现象,腹泻明显,体质量下降,粪便隐血检测呈阳性,诃子干预后上述现象均好转。

3.2 诃子对小鼠肺肠组织中细胞因子的影响 模型组小鼠肺与结肠 IL-10 水平低于空白组,IL-1β、TNF-α、MPO 水平均高于空白组;与模型组比较,诃子组 IL-10 水平升高,IL-1β、TNF-α、MPO 水平降低,见表 2。

3.3 HPLC 指纹图谱建立

3.3.1 图谱生成 取“2.2.1”项下供试品溶液,在“2.2.3”项色谱条件下测定,采用中药色谱指纹图谱相似度评价软件 (2004A 版) 进行共有峰匹配,得到指纹图谱 (图 1),对各色谱峰进行平滑、去噪、峰对齐后,生成对照指纹图谱 (图 2),共标记 32 个共有峰。取“2.2.2”项下对照品溶液,在“2.2.3”项色谱条件下测定,与指纹图谱对比,确定 3 号峰为没食子酸,27 号峰为诃黎勒酸,31 号峰为诃子酸,32 号峰为鞣花酸 (图 3),相似度见表 3,共有峰峰面积见表 4。

表 2 诃子对小鼠结肠与肺 IL-10、IL-1β、TNF-α、MPO 水平的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别		IL-10/(pg·mL ⁻¹)	IL-1β/(pg·mL ⁻¹)	TNF-α/(pg·mL ⁻¹)	MPO/(ng·mL ⁻¹)
结肠	空白组	169.94±6.29**	39.59±3.48**	250.55±15.59**	0.85±0.04**
	模型组	112.34±16.30##	56.37±5.41##	332.54±4.52##	1.26±0.08##
	S1 组	164.69±8.52*	46.66±2.06*	266.30±8.63**	0.84±0.06**
	S2 组	169.27±5.26**	49.17±4.43#*	270.95±10.42**	0.86±0.06**
	S3 组	169.62±9.06**	46.66±3.19#*	272.85±5.57**	0.95±0.09#**
	S4 组	175.62±15.48**	44.35±6.63*	291.90±13.32#*	0.90±0.04**
	S5 组	158.70±11.07*	45.50±5.36*	287.78±11.10#**	0.86±0.07**
	S6 组	147.46±12.34#*	48.12±7.07#*	258.47±6.80**	0.90±0.03**
	S7 组	155.54±9.06*	40.15±5.19*	244.07±9.96**	0.90±0.05**
	S8 组	158.35±6.95*	42.30±2.29*	235.91±4.09**	0.91±0.02**
肺	S9 组	173.86±5.53**	39.37±1.72**	267.03±5.37**	0.92±0.06#**
	S10 组	143.25±14.38#*	40.09±3.90**	280.74±7.04#**	0.97±0.07#**
	空白组	196.08±18.79**	44.39±4.05**	255.63±15.20**	0.91±0.04**
	模型组	129.56±14.10##	68.88±3.96##	338.46±12.69##	1.32±0.10##
	S1 组	186.22±13.20**	52.03±2.67**	282.20±11.16**	0.94±0.05**
	S2 组	176.68±8.95#**	49.31±5.29**	241.63±14.48**	0.87±0.09#**
	S3 组	172.80±12.18#**	44.30±2.20**	276.35±9.05**	0.83±0.13##**
	S4 组	193.31±16.69**	55.87±4.21#*	227.36±21.14#**	0.95±0.06**
	S5 组	200.76±11.04**	53.51±3.39#**	268.19±13.09**	0.97±0.04#**
	S6 组	174.92±9.96#**	63.19±8.57##*	244.21±7.78**	0.99±0.04#**
	S7 组	170.33±14.46#**	56.61±5.51#*	207.84±18.75##**	0.98±0.06#**
	S8 组	206.09±7.92**	58.55±7.24##*	305.07±16.64##**	1.00±0.07#**
	S9 组	218.55±20.15#**	54.09±6.30#*	274.02±11.19**	1.02±0.09#**
	S10 组	202.18±13.37**	52.57±5.91#**	295.00±13.02#*	1.01±0.11#**

注:与空白组比较,# $P<0.05$;与模型组比较,* $P<0.05$;与空白组比较,## $P<0.01$;与模型组比较,** $P<0.01$ 。

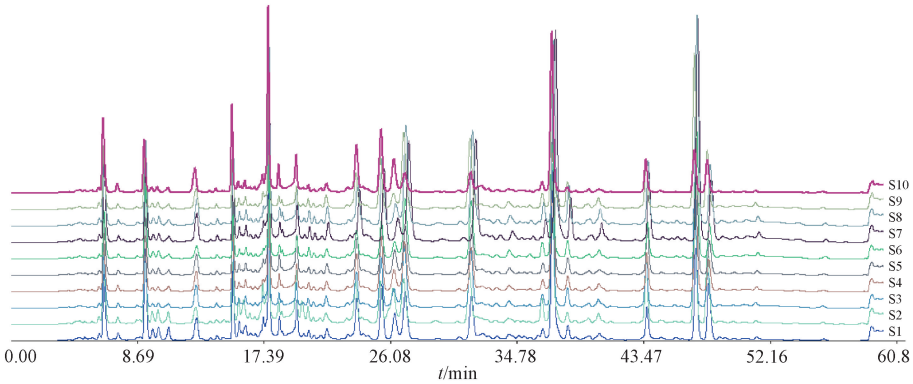


图 1 10 批样品 HPLC 指纹图谱

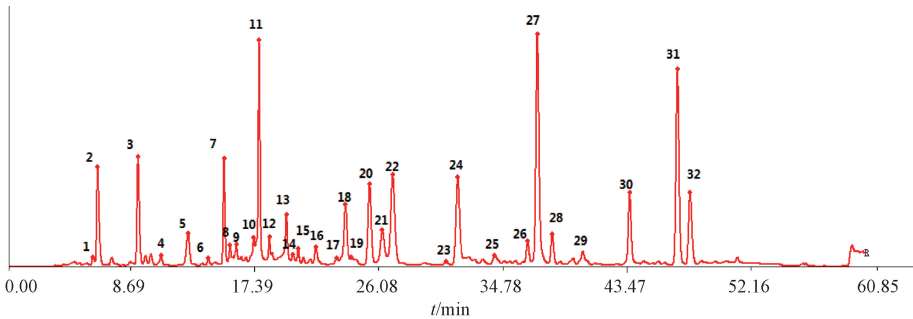


图 2 10 批样品对照图谱

3.3.2 方法学考察 取供试品溶液 (S1), 在“2.2.3”项色谱条件下进样 6 次, 测得各共有峰相对保留时间 RSD<0.8%, 共有峰面积 RSD<1.2%, 色谱图相似度>0.99, 表明仪器精密度高; 取供试品溶液 (S1), 于 0、2、4、8、12、16 h 在“2.2.3”项色谱条件下进样, 测得各共有峰相对保留时间 RSD<0.8%, 共有峰面积 RSD<1.2%, 色谱图相似度>0.99, 表明溶液在 16 h 内稳定性良好; 取药材粉末 (S1) 6 份, 每份 0.1 g, 按“2.1.1”及“2.2.1”

2592

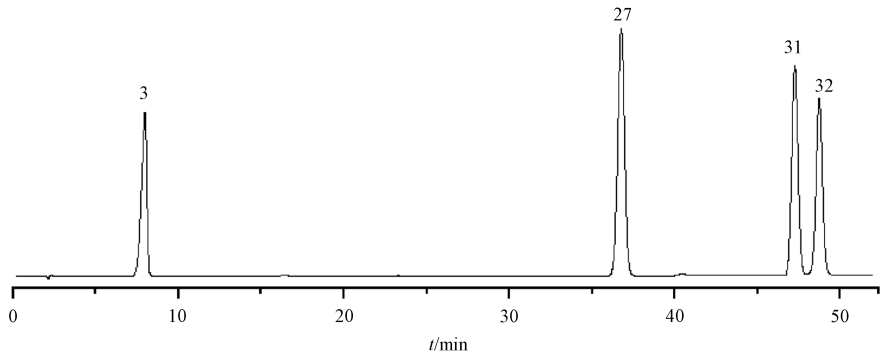


图 3 对照品色谱图

表 3 10 批样品指纹图谱相似度

样品	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	对照指纹图谱
S1	1.000	0.974	0.968	0.987	0.983	0.947	0.952	0.950	0.947	0.954	0.977
S2	0.974	1.000	0.943	0.956	0.961	0.947	0.939	0.938	0.938	0.904	0.957
S3	0.968	0.943	1.000	0.991	0.993	0.981	0.990	0.991	0.986	0.899	0.998
S4	0.987	0.956	0.991	1.000	0.996	0.966	0.974	0.973	0.967	0.942	0.995
S5	0.983	0.961	0.993	0.996	1.000	0.970	0.978	0.977	0.969	0.933	0.997
S6	0.947	0.947	0.981	0.966	0.970	1.000	0.992	0.994	0.991	0.833	0.982
S7	0.952	0.939	0.990	0.974	0.978	0.992	1.000	0.999	0.997	0.851	0.989
S8	0.950	0.938	0.991	0.973	0.977	0.994	0.999	1.000	0.997	0.846	0.988
S9	0.947	0.938	0.986	0.967	0.969	0.991	0.997	0.997	1.000	0.837	0.983
S10	0.954	0.904	0.899	0.942	0.933	0.833	0.851	0.846	0.837	1.000	0.913
对照指纹图谱	0.977	0.957	0.998	0.995	0.997	0.982	0.989	0.988	0.983	0.913	1.000

表 4 10 批样品共有峰峰面积

峰号	t_R /min	共有峰峰面积									
		S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10
1	6.063	60.43	69.37	46.33	46.72	44.66	40.10	81.16	77.02	61.46	47.93
2	6.387	795.67	1 059.16	655.56	710.16	708.76	587.95	998.32	931.65	774.89	921.30
3	9.225	1 065.00	1 457.51	621.02	678.93	699.91	919.10	997.52	1 043.90	680.36	654.69
4	10.825	169.69	167.32	69.25	79.34	72.83	71.32	97.09	103.75	78.36	78.64
5	12.735	413.62	327.74	371.66	331.69	354.43	214.28	484.83	462.77	359.66	421.41
6	14.141	43.22	41.94	46.99	41.21	41.39	39.04	64.92	61.30	47.00	39.09
7	15.242	619.21	558.87	688.88	611.31	655.18	387.81	772.80	743.69	547.03	778.63
8	15.670	142.91	215.42	77.36	75.72	68.31	64.40	103.41	95.60	73.70	72.06
9	16.112	132.85	311.12	111.50	104.15	77.24	101.54	151.76	144.35	100.79	85.77
10	17.330	233.21	422.69	108.27	121.19	161.94	87.71	213.59	191.89	162.50	197.76
11	17.712	1 471.49	1 279.84	1 523.69	1 376.57	1 526.68	960.53	1 825.49	1 759.05	1 184.91	1 785.64
12	18.430	158.56	156.24	99.37	122.72	133.48	97.43	133.93	119.98	87.43	213.83
13	19.628	515.13	655.74	312.21	341.64	523.28	269.69	468.67	435.45	247.25	499.80
14	20.094	41.19	262.35	44.62	24.69	30.31	30.21	43.43	43.61	25.49	40.41
15	20.448	74.99	137.72	80.98	71.70	60.33	90.16	121.25	122.92	81.98	65.69
16	21.689	145.06	150.51	148.15	131.65	138.77	139.83	262.72	243.34	201.64	134.24
17	23.146	75.14	61.45	61.91	66.61	68.65	49.38	40.03	70.57	53.69	62.47
18	23.761	776.95	718.28	646.58	667.03	665.42	534.06	813.03	868.02	641.08	756.85
19	24.193	101.83	90.85	74.76	82.26	84.11	66.42	89.93	105.38	79.80	43.81
20	25.455	928.80	711.99	868.17	935.99	860.15	643.43	1 242.42	1 162.09	864.30	1 080.15
21	26.352	533.20	999.73	428.81	476.65	525.95	387.53	503.96	496.60	354.06	714.31
22	27.073	1 024.87	941.00	1 345.57	1 086.58	1 065.77	1 330.27	2 199.53	2 169.81	1 657.82	444.57
23	30.801	43.93	32.05	47.72	40.52	36.52	33.48	67.29	66.49	43.08	30.18
24	31.631	876.08	1 018.23	1 143.11	856.81	925.99	1 059.81	1 975.70	1 890.68	1 402.79	389.54
25	34.226	115.68	127.25	124.44	112.93	124.80	151.08	210.98	186.74	156.48	48.82
26	36.532	161.06	387.10	188.14	163.51	169.07	236.06	328.22	333.97	217.42	158.19
27	37.210	2 720.67	2 783.48	2 248.26	2 322.53	2 368.09	1 900.28	3 580.08	3 174.57	2 321.28	2 575.92
28	38.254	194.62	144.36	276.12	196.53	243.43	253.01	621.61	566.92	390.57	67.80
29	39.714	84.75	102.41	80.48	71.02	74.62	81.86	150.49	143.08	106.57	53.35
30	43.686	554.42	1 004.09	759.94	592.32	778.02	588.57	1 113.98	1 051.30	743.04	528.94
31	47.029	1 463.99	1 957.24	1 962.42	1 529.71	1 777.94	2 080.57	3 536.29	3 299.48	2 431.90	726.56
32	47.928	996.51	1 392.34	583.07	544.48	578.08	589.12	1 086.44	1 031.87	987.15	554.66

项下方法制备供试品溶液，在“2.2.3”项下色谱条件进样，计算各共有峰相对保留时间 $RSD < 0.8\%$ ，共有峰面积 $RSD < 1.2\%$ ，色谱图相似度 > 0.98 ，表明该方法重复性良好。

3.3.3 谱效关系分析 以 HPLC 指纹图谱中 32 个共有峰的峰面积为自变量（ X ），编号为 $X_1 \sim X_{32}$ ，IL-10、IL-1 β 、TNF- α 、MPO 水平为因变量（ Y ），将相关数据代入 MINITAB 19 软件，建立偏最小二乘回归方程，得到肺与结

肠组织中 4 种细胞因子与共有峰之间的回归系数值，见表 5。由于药效的产生是对 IL-10、IL-1 β 、TNF- α 、MPO 水平综合调节作用的结果^[8-10]，故进一步以四者回归系数的平均值来评价各色谱峰与溃疡性结肠炎治疗效果的相关度，结果见表 5、图 4，可知与肺和结肠均呈正相关的色谱峰有 8 个，为峰 1、8、9、10、19、20、27、32；均呈较大负相关的峰有 5 个，为峰 3、12、13、15、26。

表 5 各指标回归系数值

峰号	结肠					肺				
	IL-10	IL-1 β	TNF- α	MPO	平均回归系数	IL-10	IL-1 β	TNF- α	MPO	平均回归系数
X1	0.296 13	-0.344 51	0.094 82	0.002 32	0.135 88	0.398 09	0.112 73	-0.083 1	0.300 84	0.013 52
X2	0.358 02	-0.528 8	0.313 06	-0.002 17	0.143 98	0.659 35	0.398 82	-0.326 51	0.589 63	-0.000 52
X3	-0.790 66	0.396 42	-0.556 31	-0.070 62	-0.140 04	-0.412 09	0.346 59	0.330 54	0.024 05	-0.222 65
X4	-0.241 65	0.307 49	-0.371 67	-0.057 44	-0.030 01	-0.497 05	-0.314 96	0.302 45	-0.362 97	-0.024 31
X5	-0.104 87	-0.047 3	-0.244 6	0.275 4	-0.022 09	-0.028 84	-0.674 46	0.658 24	-0.306 51	0.058 78
X6	-0.121 16	0.129 98	-0.204 68	0.152 85	-0.049 83	-0.311 5	-0.212 6	0.125 75	-0.281 51	0.011 37
X7	0.132 44	0.090 6	0.043 32	0.262 35	-0.065 96	-0.272 54	-0.654 91	0.169 14	-0.547 76	0.152 20
X8	0.314 44	0.242 34	0.063 44	-0.042 46	0.012 78	-0.524 52	-0.482 54	-0.247 26	-0.578 07	0.156 67
X9	0.601 83	0.123 97	0.288 48	0.059 17	0.032 55	-0.366 73	-0.219 57	-0.607 59	-0.468 02	0.185 69
X10	0.170 89	-0.207 53	0.145 98	-0.109 11	0.085 39	0.362 64	-0.168 32	0.095 38	0.151 75	0.056 77
X11	-0.349 91	0.252 5	-0.209 45	0.168 86	-0.140 46	-0.424 66	-0.396 53	0.317 71	-0.426 31	0.016 09
X12	-0.700 64	-0.016 82	-0.274 46	-0.030 87	-0.094 62	-0.023 77	0.452 67	0.167 45	0.402 98	-0.209 37
X13	-0.537 44	0.242 03	0.015 63	-0.582 53	-0.053 14	-0.119 92	0.123 02	-0.011 3	0.138 14	-0.073 96
X14	0.323 4	0.105 97	0.150 58	0.150 76	-0.020 98	-0.126 91	-0.417 58	-0.055 35	-0.414 57	0.152 12
X15	-0.240 19	0.212 7	-0.337 67	0.365 74	-0.120 24	-0.302 97	0.129 43	0.152 16	-0.199 41	-0.077 03
X16	-0.244 93	-0.301 49	-0.247 78	0.154 06	0.037 57	0.480 36	0.105 17	0.502 94	0.408 23	-0.107 20
X17	-0.047 15	0.019 66	-0.185 17	0.132 51	-0.003 54	0.785 52	0.096 09	1.040 1	0.214 16	-0.112 97
X18	-0.195 51	-0.105 46	-0.209 06	0.126 81	-0.001 95	0.259 75	0.274 82	0.334 23	0.266 75	-0.123 21
X19	0.919 98	-0.003 02	0.678 57	-0.770 09	0.253 63	0.107 75	0.306 33	-1.057 04	0.070 26	0.157 64
X20	0.585 61	-0.362 83	0.490 25	-0.151 28	0.152 37	0.148 24	0.566 61	-1.019 1	0.359 87	0.048 17
X21	0.141 93	-0.046 03	0.240 49	-0.043 17	-0.002 34	0.101 68	0.145 11	-0.295 03	0.076 1	0.035 10
X22	-0.066 21	0.005 51	-0.151 32	0.040 01	0.009 90	0.030 86	0.057 72	0.132 29	0.029 95	-0.037 82
X23	0.101 65	0.258 34	-0.116 75	0.112 16	-0.038 03	-0.563 7	-0.216 32	-0.161 54	-0.494 71	0.061 77
X24	-0.110 85	0.033 43	-0.176 26	0.052 68	-0.005 18	0.006 28	-0.090 89	0.240 15	-0.048 81	-0.018 83
X25	-0.022 52	0.074 35	0.075 74	-0.391 56	0.054 74	-0.147 77	0.268 53	-0.438 58	0.117 56	-0.019 06
X26	-0.379 23	0.057 08	-0.292 5	0.222 58	-0.091 60	0.111 56	0.293 87	0.324 14	0.160 25	-0.133 34
X27	0.258 46	-0.077 34	0.307 99	-0.344 01	0.092 96	-0.213 29	0.319 15	-0.867 7	0.116 15	0.043 82
X28	-0.197 49	-0.055 58	-0.148 8	-0.051 22	0.014 53	0.128 36	0.098 43	0.181 13	0.172 38	-0.064 72
X29	-0.146 55	-0.084 2	-0.163 59	-0.006 5	0.026 94	0.166 77	0.139 51	0.176 69	0.199 52	-0.069 79
X30	0.059 67	0.071 11	0.131 34	-0.097 24	-0.011 39	0.063 47	-0.281 43	0.058 02	-0.171 81	0.091 74
X31	-0.202 58	0.046 87	-0.143 09	-0.065 48	-0.010 22	0.015 39	0.087 87	0.118 04	0.072 5	-0.052 60
X32	0.013 79	-0.251 67	-0.194 36	0.115 89	0.085 98	0.437 74	-0.340 74	0.623 99	0.136 43	0.003 61
R ²	0.872	0.992	0.936	0.997	—	0.998	0.925	0.751	0.992	—

注:平均回归系数=(相关系数_{IL-10}-相关系数_{IL-1 β} -相关系数_{TNF- α} -相关系数_{MPO})/4。

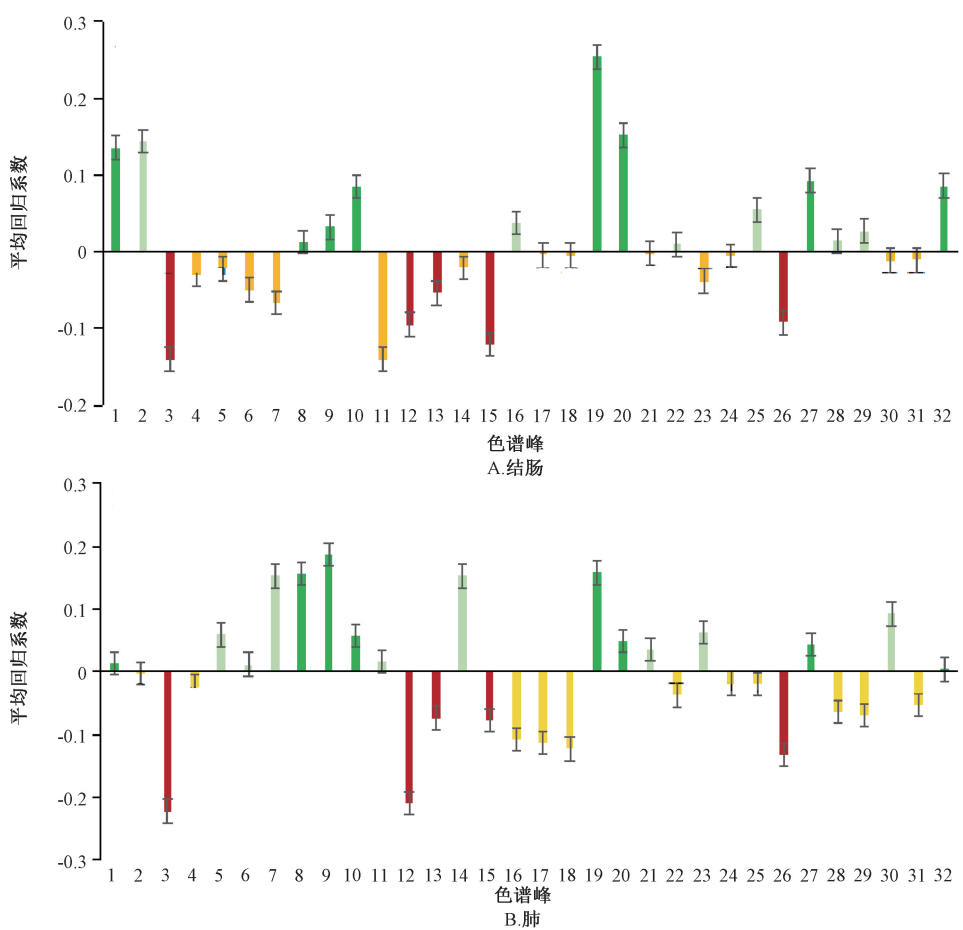


图 4 结肠与肺的平均回归系数

4 讨论

将供试品溶液在 200~400 nm 进行全波长扫描,结果显示在 220、270 nm 处呈现最大吸收,其中 270 nm 处诃黎勒酸、鞣花酸、诃子酸均呈较大吸收,并且为酚酸类成分测定所常用,因此本实验采用 270 nm 作为检测波长。

中药具有多成分、多靶点的特点,其药效的发挥是多种成分相互之间共同作用的结果。实践证明,某些化学成分在中药中含量较低,但其生物学活性却很强,因此本实验在建立指纹图谱的过程中,将检测到的所有色谱峰进行共有峰匹配,共得到 32 个共有峰。进一步地,将 32 个共有峰与药效结果进行关联,以确保最大程度地反应成分与药效之间的关系。

溃疡性结肠炎的临床症状主要为腹泻、便血,本实验采用 DSS 诱导制备小鼠溃疡性结肠炎模型,动物体质量下降、聚堆明显且便血严重,与临床症状相符。溃疡性结肠炎模型小鼠肺与结肠组织中促炎因子和抑炎因子失调,肠道内环境紊乱,炎症加重^[11]; IL-1 β 、TNF- α 为常见的促炎因子, IL-10 为抑炎因子, MPO 为评价炎症程度的重要指标^[12]。经诃子治疗后,所选取的 4 项指标治疗组与模型组均具有显著性差异,表明诃子改善溃疡性结肠炎症状的作用与下调 IL-1 β 、TNF- α , 促进 IL-10 产生及抑制 MPO 活性有关。

中医理论认为“肺与大肠相表里”,肺与肠相互络属,病理上相互影响,肠病日久,必会累及于肺^[13]。“肺气虚,大肠亦虚,而不能禁固,时时欲去,后重不已……”其指出肺气虚弱,会累及大肠固摄作用,导致里急后重^[14],因此治疗当以升肺固肠共进。本实验所造溃疡性结肠炎模型小鼠肺组织的各项炎症因子水平测定结果表明结肠病变确实影响了肺,经过诃子的治疗,既减轻了肠道炎症及腹泻症状,又修复了肺部的损伤,达到了“肺肠同治”的作用。本实验共得到 4 组炎症有关的药效指标数值,每组数值与共有峰面积计算回归系数,发现同一个色谱峰与不同指标具有不同的回归系数,说明某一成分对不同指标调控作用是不同的^[15],而药效的产生是化学成分对 4 种细胞因子综合调控的结果,因此应综合考虑某一成分对 4 种因子的整体调控作用,故最终选择四组回归系数的平均值来确定关联度。结果表明,色谱峰 1、8、9、10、19、20、27、32 与结肠和肺均呈正相关,色谱峰 2 与结肠呈较大正相关,色谱峰 7、14、30 与肺呈较大正相关,提示这 12 种成分应为“肺肠同治”的主要药效成分,其中 27 为诃黎勒酸, 32 为鞣花酸;色谱峰 3、12、13、15、26 与结肠和肺均呈较大的负相关,说明此 5 种成分不利于诃子对溃疡性结肠炎治疗作用的发挥。

综上所述,本实验通过偏最小二乘回归分析法建立诃

子水提物指纹图谱与溃疡性结肠炎模型动物肺与结肠组织中 4 种细胞因子之间的谱效关系，初步得到 12 种化学成分可能为诃子对溃疡性结肠炎起治疗作用的主要成分，为后续诃子治疗溃疡性结肠炎的药效物质及作用机制研究提供理论基础。

参考文献：

[1] Xu M, Duan X Y, Chen Q Y, *et al.* Effect of compound sophorae decoction on dextran sodium sulfate (DSS) -induced colitis in mice by regulating Th17/Treg cell balance [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 109: 2396-2408.

[2] 陈 锋, 严常开. 治疗溃疡性结肠炎药物的最新进展[J]. 世界华人消化杂志, 2016, 24(12): 1840-1845.

[3] 王新月, 孙慧怡. 基于肺与大肠相表里理论探讨从肺论治溃疡性结肠炎[J]. 北京中医药大学学报, 2011, 34(3): 153-155.

[4] 党 琳, 秦松林. 从肺肠合治法论治溃疡性结肠炎[J]. 吉林中医药, 2019, 39(7): 841-844.

[5] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2020 年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.

[6] 温聪聪, 鞠成国, 张 强, 等. 麸煨诃子不同部位抗溃疡性结肠炎的谱效关系 [J]. 中 成 药, 2019, 41 (8): 1910-1914.

[7] Shen P, Zhang Z C, Zhu K P, *et al.* Evodiamine prevents dextran sulfate sodium-induced murine experimental colitis *via*

the regulation of NF- κ B and NLRP3 inflammasome [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 110: 786-795.

[8] 卞振华, 胡敏敏, 袁晓航, 等. 基于偏最小二乘回归法分析五味子抑菌活性部位谱效关系[J]. 中 成 药, 2019, 41 (11): 2788-2791.

[9] 刘洁丽, 马 霞, 张 瑛, 等. 当归地上部分补血作用的谱效关系研究 [J]. 中 国 中 药 杂 志, 2019, 44 (7): 1416-1424.

[10] 白仲杰. 山银花谱效关系的研究[D]. 贵阳: 贵州大学, 2015.

[11] 王 燕, 朱向东, 段永强, 等. 四神丸对溃疡性结肠炎大鼠结肠组织病理形态及血清抗炎、促炎因子平衡的影响[J]. 中医研究, 2014, 27(1): 53-56.

[12] 梁晗业, 徐志立, 陶小军, 等. 五味子甲素对小鼠溃疡性结肠炎的治疗作用[J]. 中药药理与临床, 2017, 33(3): 38-42.

[13] 孙慧怡, 王新月, 吴 健, 等. 溃疡性结肠炎肺功能损害和肺与大肠的表里关联性[J]. 中国中西医结合杂志, 2011, 31(5): 591-594.

[14] 吴仪洛. 本草从新[M]. 朱建平, 吴文清, 点校. 北京: 中医古籍出版社, 2001: 115.

[15] 邹纯才, 宗倩妮, 鄢海燕. 瓜蒌与瓜蒌条抗大鼠心肌缺血-再灌注损伤的谱效关系研究[J]. 中国中药杂志, 2018, 43(1): 92-99.