



DOI:10.13364/j.issn.1672-6510.20240097

网络首发日期: 2024-11-06; 网络首发地址: <http://link.cnki.net/urlid/12.1355.N.20241105.1721.011>

紫锥菊糖酚复合物对小鼠溃疡性结肠炎的预保护作用

穆文倩¹, 巩蕊琪², 王雨欣², 许盟盟², 闫晶晶², 郭庆彬¹

(1. 天津科技大学食品科学与工程学院, 天津 300457; 2. 陕西理工大学生物科学与工程学院, 汉中 723001)

摘要: 溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 的治疗药物费用昂贵, 且存在不同程度的副作用。以药用植物紫锥菊为原料, 提取分离出紫锥菊糖酚复合物 (WEPC), 通过紫外可见吸收光谱、分子量分布、单糖组成、甲基化分析等多种方法对其结构进行表征, 并利用预保护的方式研究了 WEPC 对葡聚糖硫酸钠 (DSS) 诱导 UC 小鼠的体内抗炎活性。结果表明: WEPC 的分子量为 1.103×10^4 , 主链主要由 4-Glcp 组成; WEPC 能有效抑制 UC 小鼠结肠长度缩短, 减轻氧化应激, 缓解 UC 炎症反应。研究结果可为 WEPC 在 UC 中的防治以及相关药物的研发提供理论依据。

关键词: 天然糖酚复合物; 溃疡性结肠炎; 抗炎活性

中图分类号: TS201.2 文献标志码: A 文章编号: 1672-6510(2025)06-0009-09

Preprotective Effect of Polysaccharide-Polyphenolic Conjugate from *Echinacea purpurea* on Ulcerative Colitis in Mice

MU Wenqian¹, GONG Ruiqi², WANG Yuxin², XU Mengmeng², YAN Jingjing², GUO Qingbin¹

(1. College of Food Science and Engineering, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China;
2. College of Biological Science and Engineering, Shaanxi University of Technology, Hanzhong 723001, China)

Abstract: Ulcerative colitis (UC) treatment drugs are expensive and often associated with varying degrees of side effects. Therefore, we extracted and isolated the polysaccharide-polyphenolic conjugate (WEPC) from the medicinal plant *Echinacea purpurea*, and characterized its structure using UV-vis spectroscopy, molecular weight distribution analysis, monosaccharide composition analysis and methylation analysis. We further investigated the *in vivo* anti-inflammatory activity of WEPC against dextran sulfate sodium (DSS)-induced UC in mice through a pre-treatment approach. The results showed that the molecular weight of WEPC was 1.103×10^4 , and its main chain mainly composed of 4-Glcp. Moreover, WEPC could effectively inhibit colon length shortening of UC mice, reduce oxidative stress, and alleviate inflammatory responses associated with UC. The results of this study can provide a theoretical basis for the prevention and treatment of UC with WEPC as well as the development of related drugs.

Key words: natural polysaccharide-polyphenolic conjugates; ulcerative colitis; anti-inflammatory activity

引文格式:

穆文倩, 巩蕊琪, 王雨欣, 等. 紫锥菊糖酚复合物对小鼠溃疡性结肠炎的预保护作用[J]. 天津科技大学学报, 2025, 40(6): 9-17.

MU W Q, GONG R Q, WANG Y X, et al. Preprotective effect of polysaccharide-polyphenolic conjugate from *Echinacea purpurea* on ulcerative colitis in mice[J]. Journal of Tianjin university of science and technology, 2025, 40(6): 9-17.

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 是炎症性肠病的一种主要类型, 与先天缺陷和适应性免疫反应有关。UC 主要发生于结肠黏膜层, 通常表现为腹泻带

血、脓液或黏液, 以及排便时腹部痉挛。美沙拉嗪是治疗 UC 的主要制剂, 严重 UC 患者需要住院接受静脉注射糖皮质激素治疗^[1]。然而, 这些治疗方法存在

收稿日期: 2024-05-06; 修回日期: 2024-07-30

基金项目: 陕西省重点研发计划项目 (2024SF-YBXM-158)

作者简介: 穆文倩 (1999—), 女 (回族), 甘肃甘南人, 硕士研究生; 通信作者: 郭庆彬, 教授, guoqingbin008322@tust.edu.cn

毒副作用大、治疗效果不理想等问题,因此从天然产物中探寻安全、高效的活性成分显得尤为重要。

紫锥菊(*Echinacea purpurea*)是原产于北美的耐寒多年生植物,属于菊科松果菊属^[2]。紫锥菊作为一种天然药用植物,含有多种活性成分,如多糖、咖啡酸衍生物、类黄酮、烷基酰胺等^[3-6],具有抗菌、抗炎、免疫调节活性等多种生物活性。因此,紫锥菊日益受到医药行业的关注^[7-10]。

多糖被认为是紫锥菊中的主要生物活性物质之一,紫锥菊多糖能降低氧化应激,参与线粒体凋亡和 Keap1-Nrf2-ARE 信号通路^[8];还能刺激淋巴细胞增殖和细胞因子分泌,增强机体免疫功能^[11];还可以抑制 Toll 样受体 4(TLR4)信号通路,缓解 UC^[12]。此外,紫锥菊含有多种酚酸类物质,如咖啡酸、菊苣酸、绿原酸、阿魏酸、对羟基苯甲酸、对香豆酸等^[13-15],具有抗氧化、抗病毒等活性^[15]。菊苣酸和绿原酸在食物模型中均保持良好的稳定性和抗氧化活性^[13]。

为了提高多糖和多酚的生物利用度,研究人员通过化学法和酶法将多酚偶联到多糖上,然而其安全性还未知^[16]。天然来源的糖酚复合物具有抗氧化、免疫调节、抗炎、抗凝血、降血糖等多种生物活性^[17-21]。由于酚酸的存在,天然糖酚复合物均具有较为明显的抗氧化活性。此外,多糖可以作为多酚的载体,降低其在消化过程中的降解,从而促使多酚在肠道中的释放,提高了多酚的生物利用度^[22]。

天然糖酚复合物的提取通常选择药用植物的叶子或开花部分作为原料,使用热水或者碱溶液(冷碱提取、热碱提取)进行溶剂萃取法提取。除此之外,一些蔷薇科的糖酚复合物也会使用超声波辅助和微波辅助进行溶剂萃取,但是存在提取过程复杂、萃取时间长、需要昂贵和高纯度的有机试剂等不足^[23]。

为了充分挖掘利用紫锥菊糖酚复合物(water-soluble polysaccharide-polyphenolic conjugates from *E. purpurea*, WEPC)资源,以紫锥菊为原料,利用溶剂萃取法提取分离 WEPC,对其分子结构进行表征,并研究其体内抗炎活性。

1 材料与方法

1.1 材料

紫锥菊购自河北省安国市祁州药材店。年龄 6~7 周的雄性 C57BL/6 小鼠购自北京维通利华实验动物技术有限公司(NO. 11001123111112423)。

葡聚糖硫酸钠(DDS),美国MP Biomedicals 公司;细胞因子 ELISA 试剂盒,北京索莱宝科技有限公司。

RID-20A 型高效液相色谱仪和 UV-2550PC 型紫外-可见分光光度计,日本岛津公司;ICS-5000+型离子交换色谱仪,美国戴安公司;7000C 型气质联用仪,安捷伦科技有限公司;Nikon Eclipse CI 正置光学显微镜,日本尼康公司。

1.2 WEPC的提取

依据 Zhang 等^[24]的方法并进行改良优化。紫锥菊开花部分经过烘干脱去水分,然后打粉过筛。用石油醚(PE)脱脂 24 h,料液比为 1:10,重复 2 次。粉末挥干后,用 80%乙醇溶液超声提取游离酚(料液比 1:10,功率 600 W,温度 40 °C),4 000 r/min 离心 15 min,收集沉淀,沉淀挥干后即脱脂脱游离酚的紫锥菊粉末。在粉末中加入 3%木瓜蛋白酶,60 °C 水浴 30 min(料液比 1:10),4 000 r/min 离心 15 min。上清液旋转蒸发浓缩后加入 3 倍体积 80%乙醇溶液,离心后收集沉淀并用蒸馏水充分溶解,在流水中透析 2 d(透析袋截留分子量为 3 500)。收集保留液,真空冷冻干燥后即 WEPC。

1.3 WEPC的结构分析

1.3.1 化学组分的测定

以葡萄糖(Glc)为标准品,采用苯酚-硫酸法测定 WEPC 的总糖含量^[20]。以没食子酸为标准品,采用福林-酚法测定 WEPC 的总酚含量^[25]。以半乳糖醛酸(GalA)为标准品,采用间羟基联苯法测定 WEPC 的糖醛酸含量^[26]。以牛血清白蛋白为标准品,采用考马斯亮蓝法测定 WEPC 的蛋白质含量^[27]。

1.3.2 紫外可见吸收光谱分析

用提取液(等体积的 30%盐酸与 95%乙醇溶液)超声提取 WEPC 30 min,用紫外-可见分光光度计在 200~600 nm 波长范围内测定吸光度。

1.3.3 分子量的测定

采用排阻色谱法,以不同分子量(1×10^4 、 4×10^4 、 7×10^4 、 5×10^5 、 2×10^6)的葡聚糖为标准品,测定 WEPC 的分子量。采用 Waters Ultrahydrogel Column 色谱柱($10 \mu\text{m}$, $7.8 \text{ mm} \times 300 \text{ mm}$),流动相为 0.1 mol/L NaNO_3 溶液,检测温度 40 °C,流量 0.6 mL/min,运行时间 25 min,进样量 20 μL 。

1.3.4 单糖组成分析

称取 1.5 mg 样品置于安瓿瓶中,加入 2 mL 2 mol/L 三氟乙酸(TFA),于 100 °C 水解 2 h 后用氮气吹干;加入 0.5 mL 甲醇(MeOH)溶解后再吹干,重

复 5 次;用超纯水溶解并稀释过膜后,采用离子色谱法检测 WEPC 的单糖组成。各取 500 μL 1 mg/mL 鼠李糖(Rha)、阿拉伯糖(Ara)、半乳糖(Gal)、葡萄糖(Glc)、木糖(Xyl)、甘露糖(Man)、半乳糖醛酸(GalA)、葡萄糖醛酸(GlcA)标准品水溶液,混合加水至 5 mL。将混合液分别稀释至 50、100、200、300、400、500 mg/L,以质量浓度为横坐标,各单糖标准品的峰面积为纵坐标,建立标准曲线。使用 Carbo PACTM PA10 (4.0 mm \times 250 mm)阴离子交换柱检测,进样量为 10 μL 。

1.3.5 甲基化分析

将 3 mg WEPC 溶于 500 μL 二甲基亚砜(DMSO),氮气封瓶,完全溶解后加入 20 mg 氢氧化钠搅拌 2 h,加入 300 μL 碘甲烷搅拌 2.5 h。用 1.5 mL 二氯甲烷(DCM)洗 3 次后加入 4 mL 水萃取并去掉水层,重复 3 次。保留的液体过无水硫酸钠柱后氮气吹干,加入 500 μL 4 mol/L TFA 充分水解后氮气吹干,加入 300 μL 水、5 μL 5%氨水和 3~5 mg 硼氰化钠,在室温搅拌溶解后加入乙酸,氮气吹干;加入 500 μL 含 5%乙酸的 MeOH,用氮气吹干,重复 3 次;加入 500 μL 乙酸酐,100 $^{\circ}\text{C}$ 加热 2 h,冷却后加几滴乙醇,氮气吹干。保留物用 500 μL DCM 溶解,过无水硫酸钠柱和 0.25 μm 有机滤膜后,利用气质联用仪进行检测。检测条件:使用 sp-2330 柱(30 mL \times 0.25 mm, 0.22 mm),进样量 2 μL 。

1.4 WEPC 的体内抗炎活性

1.4.1 实验分组

在特定的无病原体条件下饲养小鼠,适应环境一周后开始实验。将所有小鼠随机分为 4 组,每组 10 只,分为正常组(Control 组)、DSS 组(Model 组)、DSS+低剂量糖酚(150 mg/kg)组(WEPC-L)、DSS+高剂量糖酚(300 mg/kg)组(WEPC-H)。按照表 1 实验方案进行给药,实验期结束时,脱颈部处死小鼠,收集所有动物的血清、结肠内容物和结肠组织,测量结肠长度,并在-80 $^{\circ}\text{C}$ 保存,将部分结肠组织固定在 4%中性福尔马林中,用于后续研究。

表 1 动物实验分组

Tab. 1 Animal experiment protocol and design

组别	1~7 d	8~14 d	15~21 d
Control	适应 1 周	灌胃生理盐水	灌胃生理盐水
Model	适应 1 周	灌胃生理盐水	灌胃生理盐水+2.5% DSS
WEPC-L	适应 1 周	灌胃样品	2.5% DSS+灌胃样品
WEPC-H	适应 1 周	灌胃样品	2.5% DSS+灌胃样品

1.4.2 体重与疾病活动分析

在实验期间,每天称量小鼠体重并记录。在最后 7 天,通过疾病活动指数(DAI)评分评估 UC 的临床进展情况,分数定义如下:(a)体重下降情况评分为 0(0~1%)、1(>1%~5%)、2(>5%~10%)、3(>10%~20%)、4(>20%);(b)粪便性状评分为 0(正常)、2(软便)、4(稀便);(c)便血情况评分为 0(无便血)、2(轻微便血)、4(大量便血)。

1.4.3 结肠组织中 MDA、MPO 水平和 T-SOD 酶活性

根据丙二醛(MDA)含量检测试剂盒说明书、髓过氧化物酶(MPO)检测试剂盒说明书、总超氧化物歧化酶(T-SOD)检测试剂盒说明书对小鼠结肠组织进行 MDA、MPO 水平和 T-SOD 活性的测定。

1.4.4 结肠组织中炎症因子含量的测定

采用 ELISA 试剂盒测定 WEPC 对促炎细胞因子 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 和抗炎细胞因子 IL-10 分泌的影响。称取 0.1 g 结肠组织后,加入预冷的 PBS 缓冲液(pH = 7.4)并匀浆成 10%的组织匀浆。利用超声波细胞破碎仪进行组织破碎,8 000 r/min 离心 10 min,取上清液待测。根据 ELISA 试剂盒说明书对炎症因子含量进行测定。

1.4.5 组织学分析

结肠组织在 10% 中性福尔马林固定液中固定 24 h 以上,对其进行脱水、包埋和切片。石蜡切片脱蜡至水后,加入苏木素染液(Harris)染 3~8 min,然后经过洗涤、分化、反蓝、冲洗等步骤染细胞核。利用伊红染液染细胞质。切片脱水封片后,利用显微镜观察。

1.5 数据分析

使用标准谱库对糖苷键类型进行分析。使用 Origin 软件对数据进行记录、处理并作图。用 SPSS 软件进行显著性分析。#表示与 Control 组相比,*表示与 Model 组相比;* $P < 0.05$,** $P < 0.01$,# $P < 0.05$,## $P < 0.01$ 。

2 结果与分析

2.1 WEPC 的提取与化学组成分析

WEPC 的得率为(3.70 \pm 0.75)%,WEPC 的总糖含量为(25.57 \pm 0.72)%,总酚含量为(18.15 \pm 0.10)%,糖醛酸含量为(6.44 \pm 0.77)%,蛋白质含量为(11.94 \pm 0.43)%。结果表明,纯化后的 WEPC 具有较高的总

糖含量和总酚含量。

2.2 WEPC的结构分析

2.2.1 紫外全波长扫描

利用紫外分光光度计对 WEPC 进行了紫外全波长扫描,以咖啡酸(CA)和葡萄糖(Glc)作为标准品进行比对,结果如图 1 所示,其中咖啡酸紫外吸收波长为 243 nm 和 326 nm。由图 1 可知,葡萄糖在 200~600 nm 波长范围内几乎没有紫外吸收波长,而 WEPC 在 200~600 nm 波长范围内具有较高的紫外吸收,且其在 326 nm 具有较大的吸收,说明 WEPC 中多酚的存在。

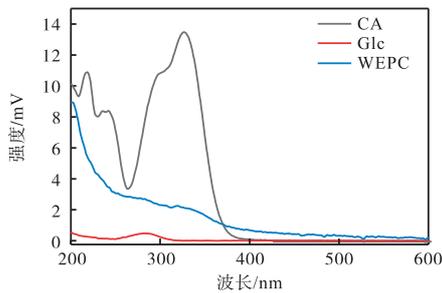


图 1 WEPC的紫外全波长扫描
Fig. 1 UV-vis spectra of WEPC

2.2.2 分子量测定

根据标准品的分子量大小和保留时间,采用高效液相色谱法测定 WEPC 及其组分的平均分子量,其中示差检测器(RI)用于检测样品平均分子量的大小,紫外检测器(UV)用于检测样品中蛋白质与多酚物质的存在。如图 2 所示,WEPC 的峰形单一且对称,呈现出良好的均一性。经过计算得出,WEPC 的分子量为 1.103×10^4 ,其出峰时间与 UV 检测器的出峰时间一致,表明多酚化合物与多糖部分以共价连接的方式存在。

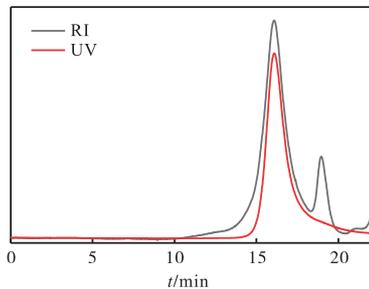


图 2 WEPC的高效液相色谱图
Fig. 2 HPLC chromatogram of WEPC

2.2.3 单糖组成分析

离子色谱法通常用来分析单糖组成,多糖水解后,可与离子柱表面的带电荷基团发生可逆性交换,

实现各单糖的分离。TFA 水解 WEPC 后,利用离子色谱法对 WEPC 进行单糖组成的定性和定量分析。分析结果如图 3 和表 1 所示,WEPC 由 Rha、Ara、Gal、Glc、Xyl 和 Man 组成,物质的量比为 1.00 : 0.58 : 8.08 : 44.12 : 0.16 : 2.55,其中葡萄糖和半乳糖是 WEPC 中主要的单糖成分。

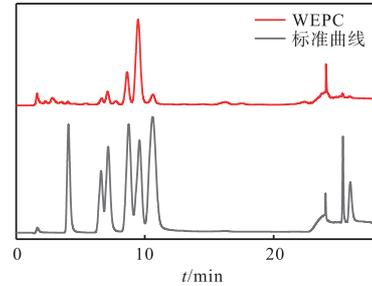


图 3 WEPC的单糖组成离子色谱图
Fig. 3 Chromatogram of WEPC

表 1 WEPC的单糖组成

Tab. 1 Monosaccharide composition of WEPC

单糖组成	在 WEPC 中的物质的量占比/%
Rha	1.77
Ara	1.03
Gal	14.31
Glc	78.09
Xyl	0.29
Man	4.51

2.2.4 甲基化分析

由单糖及糖醛酸含量结果可知,WEPC 是中性糖。结合单糖组成的结果,通过甲基化分析进一步研究 WEPC 的详细结构信息,结果见表 2。WEPC 中的主要成分 Glc 以 T-Glcp、3-Glcp、4-Glcp、6-Glcp、3,4-Glcp、3,6-Glcp、3,4,6-Glcp 这 7 种连接方式存在, Gal 以 T-Galp、3-Galp、4,6-Galp 连接方式存在,其中 4-Glcp 的物质的量比例最高,其他单糖组分含量较低,初步判断 4-Glcp 为多糖分子结构上的主链骨架,支链结构复杂。

2.3 WEPC的体内抗炎活性

2.3.1 体重及 DAI 评分

WEPC 对 DSS 致 UC 小鼠的体重、摄食量和 DAI 评分的影响如图 4 所示。由图 4(a)可知,各组小鼠的体重均呈现先上升后下降的趋势,与 Model 组相比,WEPC 组和 WEPC 组小鼠的体重下降趋势较小。到第 7 天时,Model 组小鼠的体重显著降低 ($P < 0.01$),回到最初体重的 84.68%,WEPC 组和 WEPC 组小鼠的体重分别下降到第 1 天体重的 95.83% 和 90.94%。对比咖啡酸对 UC 小鼠的研究结

果,发现 WEPC 更有利于其在肠道中的释放与吸收,可以显著增加小鼠的体重^[28]。

由图 4(b)可知,Control 组小鼠的摄食量随着体重的增加逐渐上升,而 Model 组小鼠从第 3 天开始摄食量急剧下降。这可能是由于 DSS 溶液破坏了其消化吸收功能,到第 7 天摄食量回到了第 1 天的 64.29%。WEPCH 组和 WEPCL 组小鼠的摄食量呈现先上升后下降的趋势,说明 WEPC 有助于增加肠道消化,促进摄食量的增加。由于 DSS 水溶液的毒性作用,在一定程度上破坏了小鼠的肠道屏障。与 Model 组相比,WEPCL 组和 WEPCH 组小鼠的摄食量下降幅度较小,说明 WEPC 有助于缓解 DSS 诱导的肠道组织损伤,改善消化能力。

表 2 WEPC 的甲基化分析

Tab. 2 Methylation analysis of WEPC

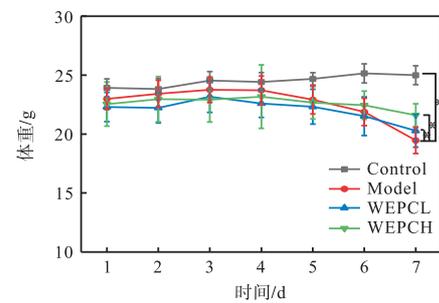
单糖种类	连接方式	物质的量比例
Glc	T-Glcp	13.44
	3-Glcp	3.45
	4-Glcp	48.47
	6-Glcp	4.57
	3,4-Glcp	6.41
	3,6-Glcp	2.74
	3,4,6-Glcp	1.09
Gal	T-Galp	4.68
	3-Galp	1.48
	4,6-Galp	8.19
Rha	T-Rhap	0.42
	4-Rhap	1.19
Ara	3-Araf	0.56
Man	T-Manp	1.11
	4,6-Manp	1.13
Xyl	2,4-Xylp	1.07

由图 4(c)可知,Control 组小鼠的体重稳定上升,粪便性状正常,没有便血的情况。从第 4 天开始,除了 Control 组,其余各组的 DAI 评分都有不同程度的上升,说明饮用 DSS 水溶液开始造成不同程度的结肠损伤。在第 7 天时,Model 组的小鼠毛色变差,多排泄稀便,有大量的便血情况,DAI 评分最高,为 3.67,说明 DSS 成功诱导小鼠结肠炎。WEPCL 组的 DAI 评分高于 WEPCH 组,说明高浓度(300 mg/mL)的 WEPC 可以改善小鼠体重减轻、便血、粪便性状的情况,减轻小鼠结肠损伤,具有更好的保护作用。

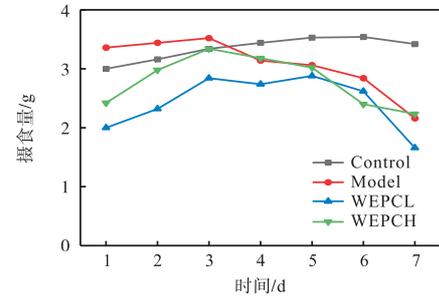
2.3.2 结肠长度与脾脏指数

结肠长度通常作为 UC 中炎症程度的参考依据,Feng 等^[29]研究表明,白术多糖可以恢复结肠长度,缓解结肠水肿和炎症的情况。WEPC 对 DSS 致 UC 小

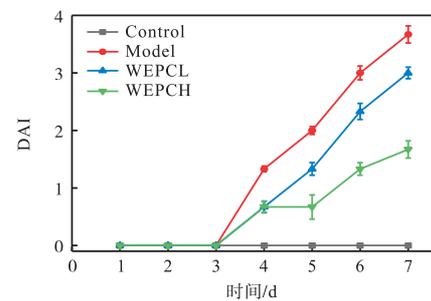
鼠的结肠长度和脾脏指数的影响如图 5 所示。Control 组小鼠的结肠长度为(8.43 ± 0.38)cm,Model 组小鼠的粪便变稀软,结肠长度比 Control 组显著缩短($P < 0.01$),为(5.17 ± 0.50)cm。WEPCL 组和 WEPCH 组小鼠的结肠长度显著大于 Model 组($P < 0.05$),WEPCL 组的粪便更加成形,说明 WEPC 可以有效缓解小鼠的结肠损伤,保持其粪便性状。DSS 会诱导脾脏淋巴细胞凋亡,脾脏指数可以评估小鼠体内炎症情况^[30]。由图 5(c)可知,与 Control 组相比,Model 组小鼠的脾脏指数显著升高($P < 0.01$)。与 Model 组相比,WEPC 可以有效降低脾脏指数($P < 0.01$)。



(a) 体重变化



(b) 每日摄食量变化



(c) DAI 评分

注:#表示与 Control 组相比,*表示与 Model 组相比;* $P < 0.05$,** $P < 0.01$,# $P < 0.05$,## $P < 0.01$ 。

图 4 WEPC 对 DSS 致 UC 小鼠的体重、摄食量和 DAI 评分的影响

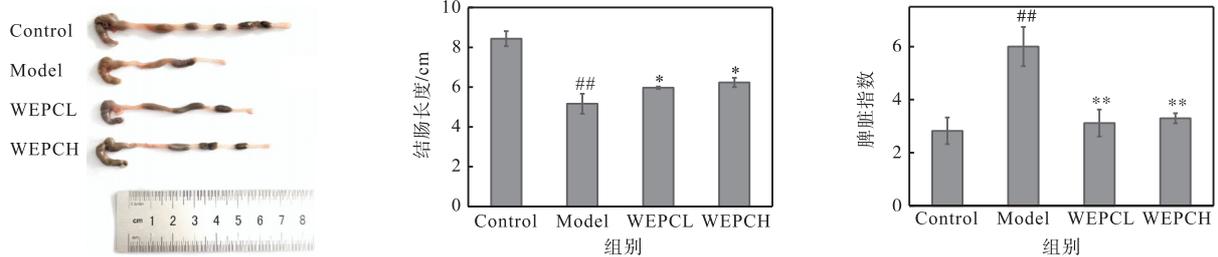
Fig. 4 Effects of WEPC on body weight, daily feeding amount, and DAI score in DSS-induced UC mice

2.3.3 结肠组织中 MDA、MPO 含量和 T-SOD 活性

MDA 是脂质过氧化的最终产物,反映组织过氧化损伤程度。MPO 是与组织中性粒细胞数量成正比的酶,是炎症、组织损伤和中性粒细胞浸润的标志物。SOD 是一种重要的氧自由基清除剂,能催化超氧化物阴离子发生歧化作用。在 DSS 诱导的 UC 中,活性中性粒细胞迁移到结肠黏膜上皮,结肠黏膜中的 ROS 水平显著升高,从而引起结肠组织的氧化损伤和脂质过氧化,结肠组织的 MPO 和 MDA 水平会显著升高,T-SOD 的活性降低,导致结肠炎症反应^[31-33]。

WEPC 对 DSS 致 UC 小鼠结肠中 MDA、MPO

和 T-SOD 的影响如图 6 所示。与 Control 组相比,Model 组 MDA 含量显著增加($P<0.01$),MPO 的活性显著上升($P<0.01$),T-SOD 的活性显著降低($P<0.01$),结肠组织氧化损伤严重,脂质过氧化作用增加,炎症细胞活化。与 Model 组相比,WEPC 能显著抑制小鼠结肠中 MDA 和 MPO 水平的上升($P<0.05$),缓解中性粒细胞浸润程度,降低氧化应激的水平。另外,高浓度(300 mg/mL)的 WEPC 有助于维持 T-SOD 活性,保护结肠黏膜组织结构。因此,WEPC 对 DSS 诱导的 UC 小鼠可以增加抗氧化反应,抑制氧化应激和结肠组织损伤,减轻结肠炎症的程度。

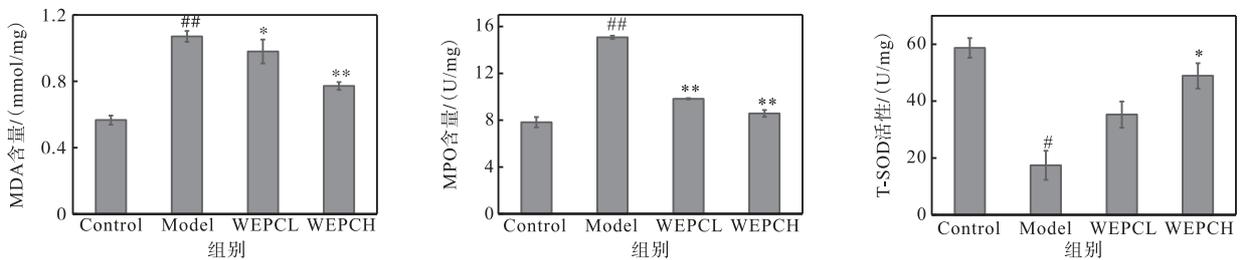


(a) 各组小鼠的结肠图片 (b) 各组小鼠的结肠长度 (c) 各组小鼠的脾脏指数

注: #表示与 Control 组相比, *表示与 Model 组相比; $P<0.05$, $**P<0.01$, $#P<0.05$, $##P<0.01$ 。

图 5 WEPC 对 DSS 致 UC 小鼠的结肠长度和脾脏指数的影响

Fig. 5 Effects of WEPC on colon length and spleen index in DSS-induced UC mice



(a) 各组小鼠结肠中 MDA 含量 (b) 各组小鼠结肠中 MPO 含量 (c) 各组小鼠结肠中 T-SOD 活性

注: #表示与 Control 组相比, *表示与 Model 组相比; $P<0.05$, $**P<0.01$, $#P<0.05$, $##P<0.01$ 。

图 6 WEPC 对 DSS 致 UC 小鼠结肠中 MDA、MPO 和 T-SOD 的影响

Fig. 6 Effects of WEPC on MDA, MPO and T-SOD in the colon of DSS-induced UC mice

2.3.4 结肠组织炎症因子的含量

在炎症肠道中,细胞免疫反应的变化是一个重要的病理生理差异,促炎细胞因子水平的增加是比较明显的反应^[34]。WEPC 对 DSS 致 UC 小鼠结肠中 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 和 IL-10 的影响如图 7 所示。与 Control 组相比,Model 组的促炎细胞因子 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 细胞因子表达水平显著升高($P<0.01$),导致中性粒细胞聚集,抑制 NO 分解,增加结肠炎症反应。IL-1 β 细胞因子表达水平的升高,会导致淋巴细胞发生免疫反应,引起肠道病变。与 Model 组相比,高浓度(300 mg/mL) WEPC 能显著抑制 TNF- α 、

IL-6 和 IL-1 β 的分泌($P<0.01$),有效抑制结肠炎症的发生。

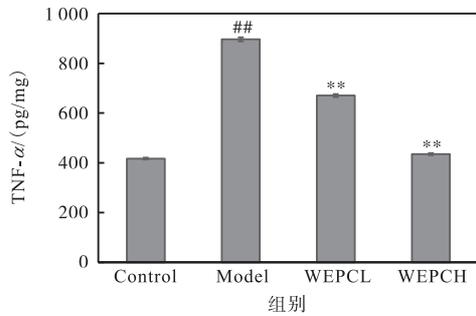
IL-10 在肠道黏膜免疫调节中发挥重要的作用,它可以抑制抗体和促炎细胞的产生,与肠道的病变程度有很大关联^[35]。由图 7(d)可知,Model 组 IL-10 细胞因子表达水平比 Control 组显著降低($P<0.01$),表明肠道炎症反应增强。WEPC 能显著抑制 IL-10 的降低程度($P<0.05$)。

2.3.5 结肠组织病理学检查

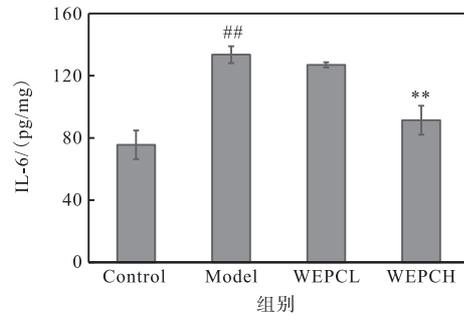
组织病理学检查能够直接反映结肠组织的损伤情况^[36]。小鼠结肠组织病理学检查结果如图 8 所示。

Control 组小鼠结肠有大量的杯状细胞,且肠上皮细胞排列整齐且紧密,大小形态正常,没有出现炎症细胞浸润和细胞凋亡。Model 组隐窝结构破坏,杯状细胞减少,炎症细胞发生严重的浸润,并且还有细胞形态大小不一致的情况,说明有炎症发生。WEPC 有助

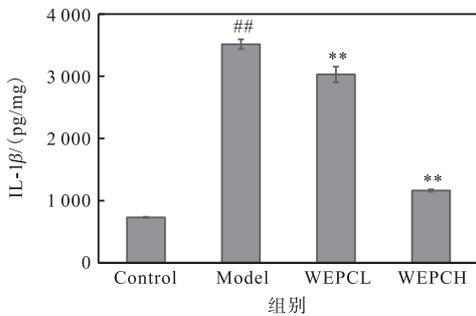
于保护结肠的结构,且随着浓度的增加,结肠完整度更高。此外,WEPC 可以缓解炎症细胞的浸润,降低杯状细胞数量的减少,防止隐窝结构大量破坏。这表明 WEPC 可以保护 UC 小鼠的小肠黏膜结构,降低炎症损伤。



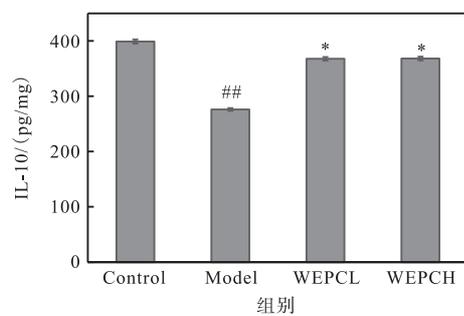
(a) 各组小鼠结肠中 TNF- α 的表达水平



(b) 各组小鼠结肠中 IL-6 的表达水平



(c) 各组小鼠结肠中 IL-1 β 的表达水平

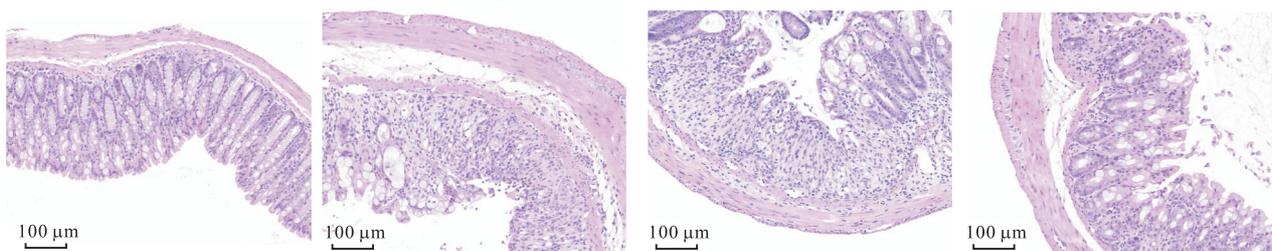


(d) 各组小鼠结肠中 IL-10 的表达水平

注: #表示与 Control 组相比, *表示与 Model 组相比; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ 。

图 7 WEPC 对 DSS 致 UC 小鼠结肠中 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 和 IL-10 的影响

Fig. 7 Effects of WEPC on TNF- α , IL-6, IL-1 β and IL-10 in the colon of DSS-induced UC mice



(a) Control 组

(b) Model 组

(c) WEPCL 组

(d) WEPCH 组

图 8 小鼠结肠组织病理学检查结果

Fig. 8 Histopathological examination results of mice colon

3 讨论

紫锥菊糖酐复合物(WEPC)中蛋白质、糖醛酸含量较少,总糖和总酚含量较高,多酚与多糖部分以共价连接的形式存在,其多糖部分由 4-Glcp 连接的吡喃型中性糖为主。通过预给药地方式,发现 WEPC 对

DSS 诱导的 UC 小鼠能剂量依赖性地降低氧化应激,减少 TNF- α 、IL-10 和 IL-1 β 的分泌并增加 IL-6 的分泌,有效防止 DSS 对结肠组织的损伤,减少炎症反应。高剂量的 WEPC 具有更明显的保护作用,可以抑制 UC 的发展。本研究为植物中天然糖酐复合物在食品和制药领域的应用提供了一定理论基础。

紫锥菊中的多糖主要通过下调 TLR4/NF- κ B 信

号通路改善小鼠 UC^[37]。紫锥菊多糖可以减轻大鼠结肠缩短,下调血清炎症细胞因子的水平,下调结肠组织中 TLR4、MyD88 和 NF- κ B 的表达,从而抑制 TLR4 信号通路,缓解溃疡性结肠炎。而紫锥菊中的主要酚酸咖啡酸^[28]可以显著增加小鼠体内 Nrf-2、HO-1 和 NQO1 的 mRNA 表达,通过激活 Nrf-2/HO-1 通路抑制氧化应激和炎症反应。另一种主要酚酸菊苣酸可以下调大鼠磷酸化核因子- κ B (p-NF- κ B) 的表达水平,调控过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPAR- γ)的表达水平,抑制 PI3K/AKT 和 NF- κ B 信号通路的激活,从而抑制炎症反应^[38]。

本研究初步探索了紫锥菊糖酚复合物对 UC 的保护作用,为糖酚复合物对 UC 的保护作用机理研究以及天然抗 UC 保健食品和药物的研发提供了新思路。课题组接下来将系统开展紫锥菊糖酚复合物与临床药物的对比实验、精细结构的解析与抗炎机理研究。此外,可以探究更多浓度的 WEPC 组织病理学研究,为临床应用提供更直接的证据。

参考文献:

- [1] 黄洪涛,赵莉,赵红红,等. 美沙拉嗪联合中药保留灌肠治疗溃疡性结肠炎疗效观察[J]. 中国肛肠病杂志, 2024, 44(3): 43-45.
- [2] 张莹,刘珂,吴立军. 紫锥菊属药用植物研究进展[J]. 中草药, 2001, 32(9): 87-90.
- [3] 周美伶,牛小飞,范春艳,等. 紫锥菊多糖对非酒精性脂肪肝病小鼠的影响[J]. 现代畜牧兽医, 2024, 4: 6-11.
- [4] MIRJALILI M H, SALEHI P, BADI H N, et al. Volatile constituents of the flower heads of three *Echinacea* species cultivated in Iran[J]. Flavour and fragrance journal, 2006, 21(2): 355-358.
- [5] BALCIUNAITE G, JUODSNUKYTE J, SAVICKAS A, et al. Fractionation and evaluation of proteins in roots of *Echinacea purpurea* (L.) Moench[J]. Acta pharmaceutica, 2015, 65(4): 473-479.
- [6] LI Q, YANG F, HOU R, et al. Post-screening characterization of an acidic polysaccharide from *Echinacea purpurea* with potent anti-inflammatory properties *in vivo*[J]. Food & function, 2020, 17(9): 7576-7583.
- [7] XU W, ZHU H, HU B, et al. *Echinacea* in hepatopathy: a review of its phytochemistry, pharmacology, and safety[J]. Phytomedicine, 2021, 87: 153572.
- [8] HOU R, XU T, LI Q, et al. Polysaccharide from *Echinacea purpurea* reduce the oxidant stress *in vitro* and *in vivo*[J]. International journal of biological macromolecules, 2020, 149: 41-50.
- [9] RIZZELLO C G, CODA R, MACÍAS D S, et al. Lactic acid fermentation as a tool to enhance the functional features of *Echinacea* spp.[J]. Microbial cell factories, 2013, 12: 1-5.
- [10] ZHAI Z, SOLCO A, WU L, et al. *Echinacea* increases arginase activity and has anti-inflammatory properties in RAW 264.7 macrophage cells, indicative of alternative macrophage activation[J]. Journal of ethnopharmacology, 2008, 122(1): 76-85.
- [11] JIANG W, ZHU H, XU W, et al. *Echinacea purpurea* polysaccharide prepared by fractional precipitation prevents alcoholic liver injury in mice by protecting the intestinal barrier and regulating liver-related pathways[J]. International journal of biological macromolecules, 2021, 187: 143-156.
- [12] YAO L, BAI L, TAN Y, et al. The immunoregulatory effect of sulfated *Echinacea purpurea* polysaccharide on chicken bone marrow-derived dendritic cells[J]. International journal of biological macromolecules, 2019, 139: 1123-1132.
- [13] MOLAVEISI M, NOGHABI M S, PARASTOUEI K, et al. Fate of nano-phytosomes containing bioactive compounds of *Echinacea* extract in an acidic food beverage[J]. Food structure, 2021, 27: 100177.
- [14] 行情文,吴华,刘嘉华,等. 低氧环境紫锥菊提取物-菊苣酸通过 PPAR 信号通路对 SD 大鼠肝脏组织脂肪合成的影响[J]. 中国兽医学报, 2024, 44(1): 135-140.
- [15] ONISZCZUK T, ONISZCZUK A, GONDEK E, et al. Active polyphenolic compounds, nutrient contents and antioxidant capacity of extruded fish feed containing purple coneflower *Echinacea purpurea* (L.) Moench[J]. Saudi journal of biological sciences, 2016, 26(1): 24-30.
- [16] GUO Q, XIAO X, LU L, et al. Polyphenol-polysaccharide complex: preparation, characterization, and potential utilization in food and health[J]. Annual review of food science and technology, 2022, 13: 59-87.
- [17] PENG K, LI Y, SUN Y, et al. Lotus root polysaccharide-phenol complexes: interaction, structure, antioxidant, and anti-inflammatory activities[J]. Foods, 2023, 12(3): 577-594.
- [18] DONG R, LIU S, ZHENG Y, et al. Release and metabolism of bound polyphenols from carrot dietary fiber and their potential activity in *in vitro* digestion and colonic fermentation[J]. Food function, 2020, 11(7): 6652-

- 6665.
- [19] WU N, LI H, TAN B, et al. Free and bound phenolic profiles of the bran from different rice varieties and their antioxidant activity and inhibitory effects on α -amylase and α -glucosidase[J]. *Journal of cereal science*, 2018, 82: 206–212.
- [20] TSIRIGOTIS-MANIECKA M, PAWLACZYK-GRAJA I, ZIEWIECKI R, et al. The polyphenolic-polysaccharide complex of *Agrimonia eupatoria* L. as an indirect thrombin inhibitor-isolation and chemical characterization[J]. *International journal of biological macromolecules*, 2019, 125: 124–132.
- [21] LIU J, BAI R, LIU Y, et al. Isolation, structural characterization and bioactivities of naturally occurring polysaccharide-polyphenolic conjugates from medicinal plants: a review[J]. *International journal of biological macromolecules*, 2017, 107: 2242–2250.
- [22] ZHOU P, FENG R, LUO Z, et al. Synthesis, identification and bioavailability of *Juglans regia* L. polyphenols-*Hohenbuehelia serotina* polysaccharides nanoparticles[J]. *Food chemistry*, 2020, 329: 127158.
- [23] PAWLACZYK I, CZERCHAWSKI L, PILECKI W, et al. Polyphenolic-polysaccharide compounds from selected medicinal plants of *Asteraceae* and *Rosaceae* families: chemical characterization and blood anticoagulant activity[J]. *Carbohydrate polymers*, 2009, 77(3): 568–575.
- [24] ZHANG X, ZHANG M, DONG L, et al. Phytochemical profile, bioactivity, and prebiotic potential of bound phenolics released from rice bran dietary fiber during *in vitro* gastrointestinal digestion and colonic fermentation[J]. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2019, 67(46): 12796–12805.
- [25] SINGLETON V L, ORTHOFER R, LAMUELA-RAVENTÓS R M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent[J]. *Methods in enzymology*, 1999, 299: 152–178.
- [26] BLUMENKRANTZ N, ASBOE-HANSEN G. New method for quantitative determination of uronic acids[J]. *Analytical biochemistry*, 1973, 54(2): 484–489.
- [27] 沈育伊, 覃香香, 滕秋梅, 等. 葶苈多糖中蛋白含量的测定[J]. *微量元素与健康研究*, 2019, 36(6): 50–52.
- [28] WAN F, ZHONG R, WANG M, et al. Caffeic acid supplement alleviates colonic inflammation and oxidative stress potentially through improved gut microbiota community in mice[J]. *Frontiers in microbiology*, 2021, 12: 784211.
- [29] FENG W, LIU J, TAN Y, et al. Polysaccharides from *Actractylodes macrocephala* Koidz. ameliorate ulcerative colitis via extensive modification of gut microbiota and host metabolism[J]. *Food research international*, 2020, 138: 109777.
- [30] 张宸豪, 李瑶, 孙艳美, 等. 姜黄素对 DSS 诱导的结肠炎小鼠脾脏淋巴细胞活力的影响[J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2015(23): 185–187.
- [31] NAITO Y, TAKAGI T, YOSHIKAWA T. Neutrophil-dependent oxidative stress in ulcerative colitis[J]. *Journal of clinical biochemistry and nutrition*, 2007, 41(1): 18–26.
- [32] SONG J, QIAN Y, LI G, et al. Anti-inflammatory effects of kudingcha methanol extract (*Ilex kudingcha* C. J. Tseng) in dextran sulfate sodium-induced ulcerative colitis[J]. *Molecular medicine reports*, 2013, 8(4): 1256–1262.
- [33] ZHAO J, HONG T, DONG M, et al. Protective effect of myricetin in dextran sulphate sodium-induced murine ulcerative colitis[J]. *Molecular medicine reports*, 2013, 7(2): 565–570.
- [34] GAN H, CHEN Y, OUYANG Q. Sulfasalazine inhibits activation of nuclear factor-kappa B in patients with ulcerative colitis[J]. *Journal of gastroenterology and hepatology*, 2005, 20(7): 1016–1024.
- [35] 冯时茵, 曲新艳, 饶秋红, 等. 四神丸加减方对溃疡性结肠炎模型小鼠结肠组织白细胞介素-6、白细胞介素-10 及 TLR4/NF- κ B 信号通路的影响[J]. *新中医*, 2023, 55(24): 1–6.
- [36] DUTRA N L S, DE BRITO T V, DE AGUIAR M D I, et al. Sulfated polysaccharide extracted from seaweed *Gracilaria caudata* attenuates acetic acid-induced ulcerative colitis[J]. *Food hydrocoll*, 2021, 111: 106221.
- [37] LI Y, LIN Y, ZHENG X, et al. *Echinacea purpurea* (L.) Moench polysaccharide alleviates DSS-induced colitis in rats by restoring Th17/Treg balance and regulating intestinal flora[J]. *Foods*, 2023, 12(23): 4265.
- [38] DI Y, SONG Y, XU K, et al. Chicoric acid alleviates colitis via targeting the gut microbiota accompanied by maintaining intestinal barrier integrity and inhibiting inflammatory responses[J]. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2024, 72(12): 6276–6288.