

冬瓜皮醇提物的物质基础及其对小鼠溃疡性结肠炎的干预作用

江黎^{1,2}, 任刚^{2*}, 毕欣^{3*}

(1. 江西中医药大学护理学院, 江西南昌 330004) (2. 江西中医药大学药学院, 江西南昌 330004)

(3. 南昌大学食品科学与资源挖掘全国重点实验室, 江西南昌 330047)

摘要: 为了探讨食品加工副产物冬瓜皮的潜在生理功能, 该研究对冬瓜皮醇提物化学成分进行表征, 并以葡聚糖硫酸钠诱导的结肠炎小鼠为对象, 持续干预 14 d, 研究冬瓜皮醇提物的抗炎活性。结果显示, 醇提物中总酚、总黄酮和总皂苷含量分别为 28.34 mg Gallic acid/g DW、47.42 Catechinic acid/g DW 和 43.62 Oleanolic acid/g DW。此外, 醇提物处理后缓解了结肠炎小鼠体重减轻情况, 低、高剂量组结肠长度分别增加至 4.90 cm 和 4.98 cm, 疾病活动指数分别降低了 31.93% 和 44.70%。血清中 TNF- α 、IL-6 及甘露醇表达水平显著降低 ($P < 0.05$)。肠道菌群结果显示, 高剂量醇提物处理后, *Enterobacteriaceae*、*Proteobacteria* 及 *Escherichia-Shigella* 等有害菌丰度降低, 而 *Bacteroidota*、*Muribaculaceae*、*norank_f_Muribaculaceae* 等有益菌丰度上升, 且有害菌与炎症因子及肠道屏障损伤指标呈正相关。因此, 冬瓜皮醇提物含有的活性物质可有效改善小鼠结肠炎, 其减轻机体炎症水平及修复肠道屏障的机制可能与调控肠道微生物组成有关, 该研究结果为冬瓜皮的生物活性研究提供理论依据, 为后续冬瓜皮的高值化利用提供参考。

关键词: 冬瓜皮醇提物; 溃疡性结肠炎; 炎症因子; 肠道菌群

文章编号: 1673-9078(2025)10-164-174

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2025.10.0137

Material Basis of *Benincasae* Exocarpium Alcohol Extract and Its Intervention Effect on Ulcerative Colitis in Mice

JIANG Li^{1,2}, REN Gang^{2*}, BI Xin^{3*}

(1. School of Nursing, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

(2. School of Pharmacy, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

(3. State Key Laboratory of Food Science and Resources, Nanchang University, Nanchang 330047, China)

Abstract: To investigate the potential physiological functions of *Benincasae* exocarpium (BE) as a by-product of food processing, the chemical composition of BE alcohol extract was characterized. Mice with dextran sodium sulfate-induced colitis were treated with continuous intervention for 14 days to determine the anti-inflammatory activity of BE alcohol extract. The results showed that the contents of total phenols, total flavonoids, and total saponins in the alcohol extract were 28.34 mg gallic acid/g dry weight (DW), 47.42 catechinic acid/g DW, and 43.62 oleanolic acid/g DW, respectively. In addition, the weight loss of colitis mice

引文格式:

江黎,任刚,毕欣.冬瓜皮醇提物的物质基础及其对小鼠溃疡性结肠炎的干预作用[J].现代食品科技,2025,41(10):164-174.

JIANG Li, REN Gang, BI Xin. Material basis of *Benincasae* exocarpium alcohol extract and its intervention effect on ulcerative colitis in mice [J]. Modern Food Science and Technology, 2025, 41(10): 164-174.

收稿日期: 2025-02-07; 修回日期: 2025-03-24; 接受日期: 2025-03-28

基金项目: 中国轻工业酿酒生物技术与智能制造重点实验室开放基金 (202302)

作者简介: 江黎 (1989-), 女, 硕士, 讲师, 研究方向: 食品活性成分的高效利用, E-mail: 717045538@qq.com

通讯作者: 毕欣 (1999-), 女, 硕士, 研究方向: 食品载体体系的构建, E-mail: bixin@email.ncu.edu.cn; 共同通讯作者: 任刚 (1976-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 中药/民族药药效物质基础与质量评价方面研究, E-mail: 20091005@jxutcm.edu.cn

was alleviated upon treatment with BE alcohol extract. The colonic length increased to 4.90 and 4.98 cm in the low- and high-dose groups, and the disease activity index decreased by 31.93% and 44.70%, respectively. Serum expression levels of TNF- α , IL-6, and mannitol were significantly decreased ($P<0.05$). Analysis of the gut microbiota showed that after treatment with a high dose of BE alcohol extract, the abundance of harmful bacteria such as *Enterobacteriaceae*, *Proteobacteria*, and *Escherichia-Shigella* decreased, whereas that of beneficial bacteria such as *Bacteroidota*, *Muribaculaceae*, and *norank_f__Muribaculaceae* increased. Furthermore, harmful bacteria were positively correlated with inflammatory factors and intestinal barrier damage indexes. The mechanisms underlying the reduction in systemic inflammation levels and restoration of the intestinal barrier may be associated with modulation of the gut microbiota composition. These findings provide a theoretical basis for studying the bioactivity of *Benincasae* exocarpium and offer valuable insights for its high-value utilization in subsequent research.

Key words: *Benincasae* exocarpium; ulcerative colitis; inflammatory factor; intestinal flora

冬瓜 (*Benincasa hispida* (Thunb) Cogn), 属葫芦科植物, 广泛分布于亚洲的热带、亚热带及温带地区, 产量较高, 种植面积在 20 万 hm^2 以上, 是我国夏秋季的常用蔬菜。日常烹饪和精深加工时, 冬瓜皮 (*Benincasae* Exocarpium, BE) 和冬瓜籽等副产物常被当作废弃物丢弃, 不仅对环境造成污染, 还导致了资源的巨大浪费。而据报道冬瓜皮中含有多种黄酮、生物碱、单宁、微量元素和维生素, 其中黄酮和生物碱是影响 BE 生物活性和药理特性的主要化学成分^[1,2]。据报道 BE 具有降脂、降糖、抗氧化、抗菌、利尿等多种生物学功能^[3,4]。Paride 等^[5]研究发现 BE 甲醇提取物可显著改善卵白蛋白诱导的大鼠炎症。此外, 冬瓜果实石油醚和甲醇提取物对大鼠棉球引起的肉芽肿模型具有剂量依赖性的抗炎作用^[6], 这些研究表明 BE 对于治疗炎症性疾病具有巨大的潜力。

溃疡性结肠炎 (Ulcerative Colitis, UC) 是一种慢性非特异性的炎症性肠道疾病, 属于炎症性肠病 (Inflammatory Bowel Disease, IBD) 的一种, 主要临床症状表现为腹痛、腹泻、直肠出血、体重减轻等^[7]。目前, IBD 发病率逐年上升, 已发展成一种全球性疾病并愈发趋于年轻化^[8]。然而, 针对 UC 的治疗药物如 5-氨基水杨酸、糖皮质激素和柳氮磺胺等具有价格高昂、复发率高和副作用强等缺陷。越来越多研究聚焦于寻找疗效高、副作用少的治疗方法^[9]。许多研究表明天然植物提取物因富含多种功能活性成分, 是一种安全且有效的肠道炎症调节剂^[10]。

冬瓜在中国冬瓜的亩产量可达 3 000~4 000 kg, 消耗量巨大, 但只有极少部分冬瓜皮作为中药和茶, 多数作为废物被丢弃, 如果将果皮其中富含的多糖、黄酮等活性成分有效提取, 并明确其理化特征和生物活性, 使之开发成天然无害的医药保健等产品, 可有效提高冬瓜的经济附加值, 使冬瓜资源得到更加合理的开发与利用。目前, 针对冬瓜资源对肠道炎症的干预研究鲜有报道, 本文对冬瓜皮醇提取物对肠道炎症的

抗炎活性进行研究, 将为冬瓜皮的合理利用提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 原料

葡聚糖硫酸钠 (Dextran Sodium Sulfate, DSS), 美国 MP Biomedical 公司; 甘露醇, 大连美仑生物技术有限公司; 肿瘤坏死因子 (TNF- α)、白介素 6 (IL-6), 武汉博士德生物工程有限公司。

冬瓜皮由江西中医药大学提供; 6~8 周龄雄性 C57BL/6J 小鼠 (18 ± 2 g), 江苏集萃要康生物科技股份有限公司, 动物实验经江西中医药实验动物伦理委员会批准 (伦理批号: No. JZLLSC20220492, 实验动物生产许可证号: SYXK (赣) 2022-0002)。

1.2 仪器与设备

Synergy H1 酶标仪, 赛默飞世尔科技有限公司; ME204 电子天平, 梅特勒-托利多仪器有限公司; RV10 旋转蒸发仪, 德国 IKA 公司; LGJ-18 冷冻干燥机, 北京松源华兴科技发展有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 冬瓜皮醇提物的制备

冬瓜醇提物的制备参考 Sun 等^[11]的方法并稍作修改。将烘干的冬瓜皮粉末按 1:15 (m/V) 的比例加入体积分数为 70% 的乙醇, 混合均匀后超声 30 min。随后离心 (4 800 g, 15 min) 收集上清液, 残渣重复上述操作并合并两次所得上清液, 采用旋转蒸发仪去除有机试剂, 冻干得冬瓜皮醇提物。

1.3.2 冬瓜皮醇提物总酚、总黄酮和总皂苷含量的测定

采用 Folin-Ciocalteu 比色法对冬瓜皮醇提物中总酚含量进行测定。配置一定浓度的没食子酸 (Gallic

Acid, GA) 溶液后, 分别稀释至 0.25、0.125、0.062 5、0.031 25、0.015 625 mg/mL。将 25 μ L 没食子酸标准品或样品加入孔板中, 加入 125 μ L 福林酚试剂, 混匀后静置 10 min, 随后加入 125 μ L 质量分数为 7.5% Na_2CO_3 溶液, 反应 30 min 后, 用酶标仪检测出 734 nm 处吸光度, 根据标准曲线计算样品中总酚含量。

采用亚硝酸钠-三氯化铝法对冬瓜皮醇提取物中总黄酮含量进行测定。配置一定浓度的儿茶素 (Catechinic Acid, CA) 标准品溶液后, 分别稀释至 0.5、0.25、0.125、0.062 5、0.031 25、0.015 625 mg/mL。将 25 μ L 样品或儿茶素标准品溶液加入孔板中, 加入 110 μ L NaNO_2 (0.066 mol/L) 溶液, 室温下混合 5 min, 随后加入 15 μ L AlCl_3 (0.75 mol/L) 溶液, 混匀后静置反应 6 min, 最终加入 100 μ L NaOH (0.5 mol/L) 溶液, 用酶标仪测定 510 nm 处吸光度, 依据标准曲线计算样品中总黄酮含量。

采用香草醛-冰醋酸比色法对冬瓜皮醇提取物中总皂苷含量进行测定。配置一定浓度的齐墩果酸 (Oleanolic Acid, OA) 标准品后, 依次将标准品稀释为 0.5、0.25、0.125、0.062 5、0.031 25、0.015 625 mg/mL。分别加入 2 mL 质量分数为 5% 的香草醛-冰乙酸溶液, 随后加入高氯酸 8 mL, 充分混匀, 将混合物置于 60 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中加热 15 min, 取出后立即冰浴 5 min, 加入 5 mL 冰乙酸以终止反应, 于 560 nm 下测定吸光度, 并根据标准曲线计算样品中总皂苷含量。

1.3.3 冬瓜皮醇提取物化学成分分析

将冻干的冬瓜皮醇提取物溶解于 80% (φ) 甲醇中, 过 0.22 μm 滤膜后用于 UHPLC-Q-TOF-MS² 分析。

液相条件: 采用 UPLC 色谱分离系统 (Agilent1290 infinity series), 分离采用 C18 色谱柱 (2.1 $\times$ 150 mm, 2.8 μm), 流动相 A 为含有体积分数为 0.1% 的甲酸水, 流动相 B 为含有体积分数为 0.1% 甲酸的乙腈。洗脱梯度 0~10 min, 14%~18% B ; 0~30 min, 18%~20% B ; 30~35 min, 20%~18% B ; 35~40 min, 18%~14% B, 进样量 10 μL , 流量为 0.3 mL/min。

质谱条件: 采用四级杆飞行时间精密质谱仪, 配备加热电喷雾电离探针, 在负离子模式下收集 m/z 50~1 000 之间的质谱数据。毛细管电压 4 kV, 进样锥电压 35 V, 去溶剂化气流 (N_2) 量为 900 $\text{L}\cdot\text{h}^{-1}$, 进样锥气流 (N_2) 量为 50 $\text{L}\cdot\text{h}^{-1}$, 去溶剂温度为 300 $^{\circ}\text{C}$, 离子源温度为 150 $^{\circ}\text{C}$, 碰撞气体采用高纯度的氦气, 进气压力设置为 10 psi。

1.3.4 动物分组及处理

C57BL/6J 小鼠饲养于 23 $\pm$ 2 $^{\circ}\text{C}$, 光照明暗交替 12/12 h 的动物房内, 适应性饲养 1 周, 将 48 只小鼠

随机分为四组, 具体分组如下:

第一组 (Negative Control, NC, $n=12$): 空白对照组;

第二组 (Positive Control, PC, $n=12$): 模型组;

第三组 (Low Dose of *Benincasae* exocarpium, BEL, $n=12$): 低剂量给药组, 灌胃 80 mg/kg BW 的冬瓜皮醇提取物;

第四组 (High Dose of *Benincasae* exocarpium, BEH, $n=12$): 高剂量给药组, 灌胃 160 mg/kg BW 的冬瓜皮醇提取物。

实验期间, 所有小鼠正常饮食。自实验第 7 天起, 除 NC 组外, 其余 3 组在第 8 天将饮用水更换为质量分数为 2.5% DSS 溶液。BEL 和 BEH 组从第 1 天直至实验结束, 每日按相应剂量灌胃提取物, NC 组和 DSS 组每日灌胃蒸馏水, 造模过程中, 每日记录小鼠体重。实验结束后, 所有小鼠均灌胃甘露醇并禁食 6 h, 处死小鼠, 收集小鼠血清、脏器、结肠及盲肠内容物, 置于 -80 $^{\circ}\text{C}$ 环境下保存, 以备后续实验使用。

1.3.5 病理指数评估

表 1 病理指数评分标准
Table 1 Pathological index scoring criteria

体质量 损失/%	粪便硬度	直肠出血	活力、皮毛、 姿势行为	得分
无体 质量损失	正常	无肉眼 可见血迹	正常	0
0.1~5	粪便松弛 (形状规则, 潮湿)	大便 少量血	一些状况 不佳的迹象	1
5~10	轻度腹泻 (形状不规则, 糊状)	经常见 大便带血	中度状态不佳	2
≥ 10	严重腹泻 (无形状, 非常湿)	所有粪便 均带血	状态非常差	3

造模期间, 根据小鼠的粪便硬度、直肠出血情况和皮毛活力状态对各组小鼠进行疾病指数评分 (Disease Active Index, DAI)^[12], 具体评分标准如表 1。

1.3.6 结肠组织病理及免疫荧光分析

小鼠结肠组织用生理盐水冲洗后, 用质量分数为 4% 多聚甲醛固定。随后用乙醇脱水处理, 石蜡包埋, 切片后选用苏木精和伊红 (H&E) 和 PAS 染色。最后采用光学显微镜观察结肠组织炎症损伤情况。

结肠组织经上述步骤切片后, 使用 Triton X-100 进行通透处理, 以质量分数为 5% BSA 对切片进行封闭处理, 持续 60 min, 并分别用 ZO-1、MUC2 抗体进行孵育过夜, 孵育完成后用 PBS 洗涤 3 次, 再加入二抗避光孵育 1 h, 用 PBS 洗涤 3 次。最后, 使用 DAPI 对细胞核进行染色。处理后的切片置于尼康倒置荧光显微镜下观察并拍照^[13]。

表 2 冬瓜皮醇提取物中总酚、总黄酮和总皂苷含量

Table 2 Contents of total phenols, total flavonoids and total saponins in alcohol extract of *Benincasae exocarpium*

样品	总酚 /(mg GA/g DW)	总黄酮 /(mg CA/g DW)	总皂苷 /(mg OA/g DW)
冬瓜皮醇提取物	28.34 ± 9.45	47.42 ± 0.62	43.62 ± 1.11

表 3 冬瓜皮醇提取物中化学成分的定性分析

Table 3 Qualitative analysis of chemical constituents in alcohol extract of *Benincasae exocarpium*

No.	t _R /min	Formula	[M-H] ⁻ ions(<i>m/z</i>)	Fragment ions(<i>m/z</i>)	Identification ^A
1	2.189	C ₉ H ₈ O ₄	178.978 8	134.988 0	Caffeic acid
2	2.312	C ₁₂ H ₈ O ₄	215.034 3	122.895 1	Unidentified
3	2.534	C ₁₉ H ₁₈ O ₁₀	404.042 6	314.010 9, 284.046 4	Lancerin
4	2.768	C ₁₁ H ₁₇ NO ₈	290.090 2	128.035 8	Glutimic acid hexose
5	3.125	C ₅ H ₇ NO ₃	128.035 9	119.594 2	Pyroglutamic acid
6	4.640	C ₄ H ₆ O ₅	133.014 3	115.004 0	Malic acid
7	9.026	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₄	577.158 8	413.089 2, 293.045 9	Isovitexin-2''-O-rhamnoside
8	24.487	C ₂₀ H ₁₈ O ₁₀	417.074 7	—	Kaempferol-3-O-L-arabinoside
9	24.820	C ₂₀ H ₃₆ O ₄	339.235 5	163.113 9, 254.047 3	Unidentified

1.3.7 结肠炎症因子测定

取各组小鼠血清，根据 TNF-α 和 IL-6 的 ELISA 试剂盒说明书测定两种炎症因子含量。

1.3.8 肠道通透性分析

小鼠肠道通透性采用 D-甘露醇法测定，实验结束前一天，小鼠禁食 6 h，每只小鼠灌胃 0.6 g/kg D-甘露醇，使用小鼠 D-甘露醇试剂盒测定血清中甘露醇含量^[14]。

1.3.9 小鼠盲肠内容物 16S rDNA 基因测序

依据 DNA 抽提试剂盒完成基因组 DNA 抽提后，利用琼脂糖凝胶电泳检测抽提的基因组 DNA 的浓度及纯度，随后按制定测序区域，设计合成特异引物，进行 PCR 扩增和产物的纯化。进而参照电泳初步定量结果，将 PCR 产物用 QuantiFluor™-ST 蓝色荧光定量系统进行检测定量，之后按照每个样本的测序量要求，进行相应比例的混合^[15]。随后构建文库并上机测序，16S rDNA 的测序工作由上海美吉生物医药科技有限公司完成。

1.3.10 数据分析

所有数据以平均值 ± 标准差 (SD) 表示，并用 SPSS 进行显著性分析 ($P < 0.05$)，使用 GraphPad Prism 8 作图，采用单因素方差分析 (ANOVA) 和 Duncan's 多极差检验，显著水平小于 0.05 时认为差异具有显著性 (不同字母表明具备显著性差异)。

2 结果与讨论

2.1 冬瓜皮醇提取物中总酚、总黄酮和总皂苷含量

近年来，对冬瓜全果化学成分鉴定的研究较多，

主要含有酚类化合物、黄酮、生物碱和多糖等。然而对冬瓜皮的化学成分研究较少，研究表明天然植物中富含的多酚、黄酮、皂苷和生物碱等物质是发挥生物活性和药理作用的主要化学成分^[16]。因此对冬瓜皮醇提取物中总酚、总黄酮和总皂苷含量进行测定，由表 2 可知，提取物中总酚、总黄酮和总皂苷含量分别为 28.34 mg GA/g DW、47.42 mg CA/g DW 和 43.62 mg OA/g DW。

2.2 冬瓜皮醇提取物化学成分表征

进一步采用 UPLC-Q-TOF MS² 技术对冬瓜皮醇提取物中化学成分进行鉴定，其负离子模式下 LC-MS 总离子流如图 1 所示。通过对比质荷比和二级碎片离子等信息，并结合文献报道，共鉴定 7 种活性成分，结果如表 3 所示。

化合物 1 *m/z* 为 178.978 8，通过失去一分子 CO₂ 而得到碎片离子 *m/z* 为 134.988 0，据文献报道鉴定为 caffeic acid^[17]。化合物 3 为一种氧杂蒽酮糖苷，被鉴定为 Lancerin，其二级碎片离子 *m/z* 315.079 0 (⁰³X⁻)、285.069 3 (⁰²X⁻)^[18]。化合物 4，丢失一个糖结构的集团，而产生了碎片离子 128.035 8，鉴定为 Glutimic acid hexose。化合物 6 失去一分子 H₂O 裂解成碎片离子 115.004 0，鉴定为 Malic acid。化合物 7，*m/z* 为 577.158 8，其碎片离子 413.089 2 ([M-H-rhamnose-H₂O]⁻) 是失去一个鼠李糖基团而得到，并且进一步失去一分子 H₂O 和黄酮化合物的开环反应得到 293.049 3 ([M-H-284])。因此，化合物 7 鉴定为 Isovitexin-2''-O-rhamnoside。化合物 8 基于其精确分子质量提供的信息，初步鉴定为 Kaempferol-3-O-L-arabinoside^[19]。

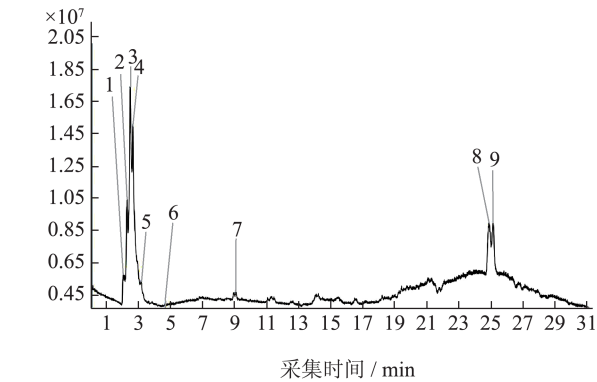


图 1 冬瓜皮醇提物在负离子模式下的 LC-MS 总离子流图

Fig.1 Total ion chromatogram of alcohol extract of *Benincasae exocarpium*

2.3 冬瓜皮醇提物对小鼠体质量变化和疾病指数的影响

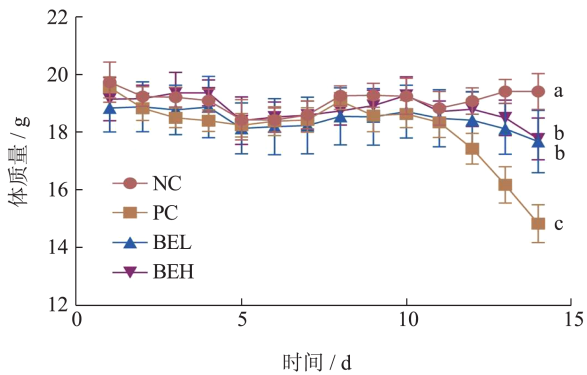


图 2 各组小鼠体质量变化情况

Fig.2 Changes of body weight of mice in different groups

注：不同小写字母表示差异显著， $P<0.05$ 。图 3、7、10、11 同。

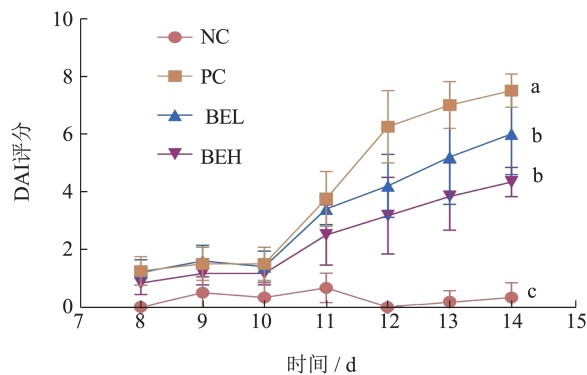


图 3 不同组小鼠 DAI 评分情况

Fig.3 The DAI scores of different groups of mice

基于醇提物中丰富的黄酮和酚酸等物质，进一步将冬瓜皮醇提物用于干预小鼠结肠炎。结肠炎患者通常会出现机体体质量减轻、腹泻、便血、精神欠佳等情况^[20]。实验从第 8 天开始，向 PC 组、BEL 组和 BEH 组小鼠饮水水中添加质量分数为 2.5% DSS 水溶

液，以建立小鼠急性结肠炎模型。如图 2 可以看出，从第 11 天开始，DSS 处理组小鼠体质量呈现下降趋势，对第 14 天小鼠的体质量进行显著性分析，结果显示与 PC 组小鼠体质量（14.83 g）相比，灌胃 BEL（17.70 g）和 BEH（17.78 g）均能显著缓解 DSS 造成的小鼠体质量损失（ $P<0.05$ ）。同时，在造模期间每天根据小鼠的粪便硬度、直肠出血情况、活力、皮毛和姿势行为进行 DAI 评分，得分越高表明小鼠结肠炎症越严重。结果如图 3 所示，最后一天评分由低到高依次为 BEH 组（4.33）<BEL 组（5.33）<PC 组（7.83），结果显示高低剂量冬瓜皮醇提物 DAI 评分显著低于 PC 组（ $P<0.05$ ），冬瓜皮醇提物干预后显著缓解了小鼠便血和腹泻等情况，并且 BEH 组干预效果更好。

2.4 冬瓜皮提取物对小鼠结肠长度和结肠病理切片的影响

结肠长度是衡量结肠炎严重程度的关键指标，对不同组别小鼠的结肠长度进行测量，结果如图 4 所示，与 NC 组（5.3 cm）相比，PC 组（3.55 cm）结肠长度显著缩短（ $P<0.05$ ），而 BEL 和 BEH 干预后，结肠长度分别恢复至 4.90 cm 和 4.98 cm，并且高剂量效果更佳。

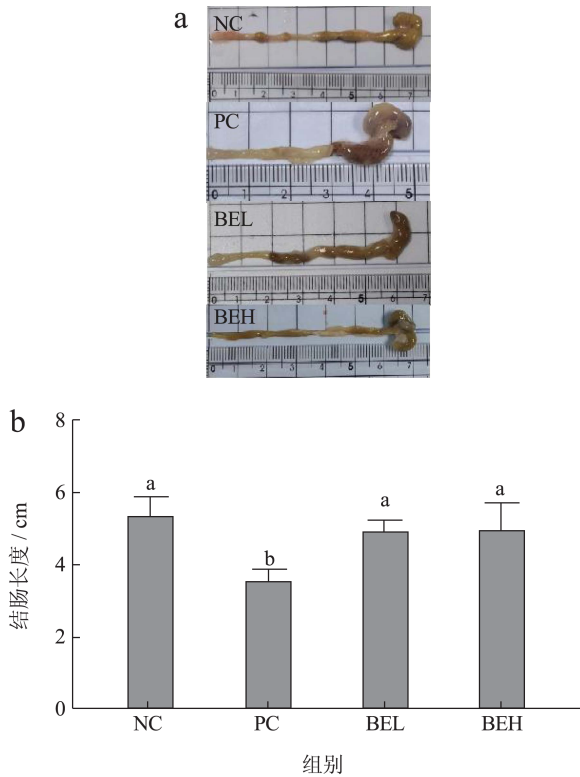


图 4 不同组小鼠结肠图片及结肠长度

Fig.4 Pictures of colon and length of colon in different groups of mice

注：不同小写字母表示差异显著， $P<0.05$ 。

为了进一步观察小鼠肠道损伤情况,对结肠组织进行 H&E 和 PAS 染色,观察小鼠结肠结构变化。图 5 显示,PC 组结肠上皮细胞和肠腺排列紊乱,隐窝结构发生改变,同时出现大量炎性细胞浸润于黏膜及黏膜下层,而灌胃冬瓜皮提取物后,明显缓解了 DSS 造成的小鼠结肠结构改变的情况,且高剂量组给药组最为明显。图 6 中 PAS 染色结果显示,模型组杯状细胞数量明显减少,相比与 BEL 组,BEH 能够更加有效阻止 DSS 对杯状细胞的破坏。许多研究显示,杯状细胞分泌的粘蛋白可以防止有害物质粘附于黏膜层,并且能够有效抑制病原体对机体的危害^[21]。以上结果表明高剂量冬瓜皮醇提取物对小鼠结肠结构有更好的保护作用。

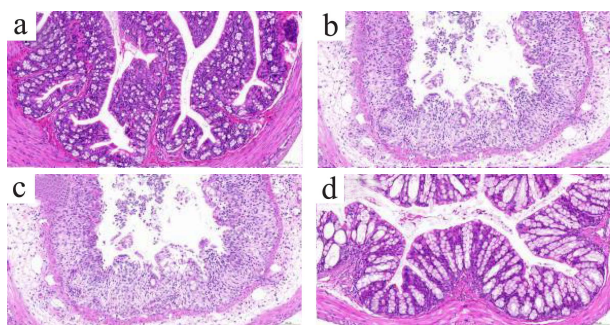


图 5 不同组小鼠结肠 H&E 染色 (×15 倍)

Fig.5 H&E staining of the colon in different groups of mice

注: a 为 NC, b 为 PC, c 为 BEL, d 为 BEH。图 6 同。

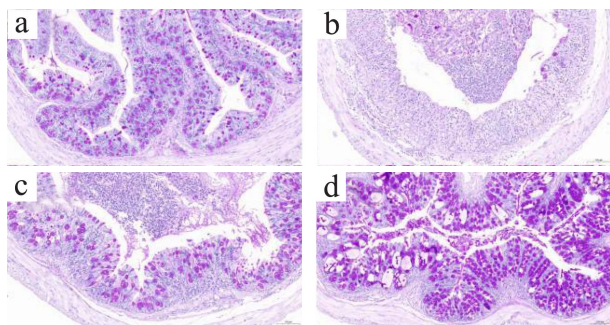


图 6 不同组小鼠结肠 PAS 染色 (×15 倍)

Fig.6 PAS staining of the colon in different groups of mice

2.5 冬瓜皮醇提取物对结肠炎小鼠血清炎症因子的影响

TNF- α 和 IL-6 是两种常见的促炎因子,促炎因子大量分泌与溃疡性结肠炎的发生密切相关^[22],选用 ELISA 试剂盒对两种促炎因子的表达量进行检测,结果如图 7 所示,PC 组小鼠 TNF- α 和 IL-6 两种炎症因子含量 (27.93 和 25.76 pg/mL) 显著高于 NC 组 (24.19 和 7.78 pg/mL) ($P<0.05$),表明结肠炎模型造模成功,而 BEL 和 BEH 处理后均能显著降低 TNF- α 和 IL-6 的表达 ($P<0.05$),上述结果提示冬瓜皮醇提

物能有效抑制促炎因子的表达,减轻小鼠机体炎症反应。

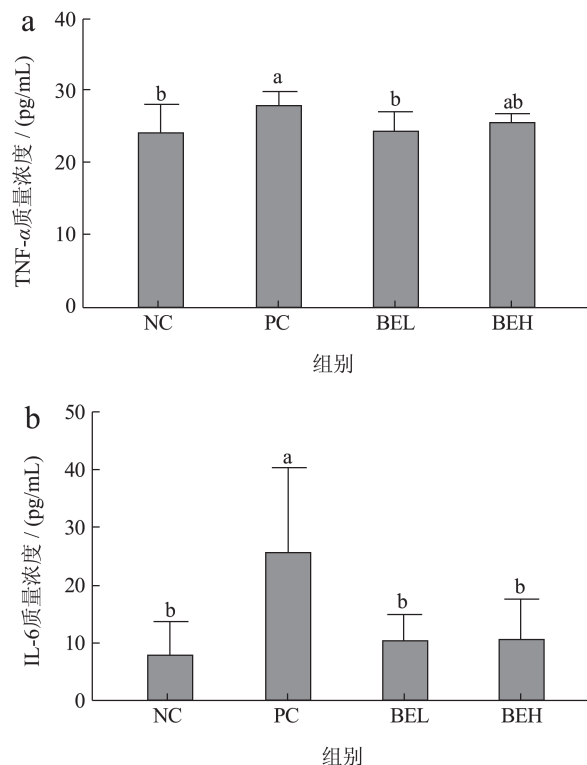


图 7 BE 对小鼠血清炎症因子水平的影响

Fig.7 Effect of BE on serum inflammatory factors in mice

2.6 冬瓜皮醇提取物对结肠炎小鼠肠道屏障损伤的影响

肠道是维持机体内环境稳定和阻止致病菌及毒素的先天性屏障,多种疾病与肠道屏障损伤有关,如结肠炎、肠易激综合症和结肠癌等肠道疾病,还会导致非酒精性脂肪肝、抑郁症等多种肠道外疾病的发生^[23,24]。Mucin2 (MUC2) 是一种由杯状细胞分泌的黏蛋白,是肠道化学屏障的重要组成部分,具有维持肠道屏障完整性、抵御外源病原体等多种生理功能,然而 IBD 患者结肠组织的 MUC2 的表达水平降低,进而导致黏液层变薄^[25]。采用免疫荧光对不同组小鼠结肠组织中 MUC2 表达量进行评估,结果如图 8 所示,可以看出 NC 组小鼠结肠组织 MUC2 含量较高,并且分布均匀,而 PC 组 MUC2 表达量显著降低,而冬瓜皮提取物处理后,荧光强度明显增强,且 BEH 组效果更明显。因此,冬瓜皮醇提取物可以通过增加 MUC2 的表达量,维持肠道黏液层的完整性,保护肠上皮细胞。

由肠上皮细胞及细胞间紧密连接蛋白、黏附连接蛋白和桥粒组成的机械屏障也能有效阻挡细菌及毒素侵入机体^[26]。进一步通过免疫荧光,对结肠组织紧密粘连蛋白 1 (ZO-1) 表达量进行分析,结果如图 9 所

示,可以发现 PC 组 ZO-1 荧光强度较弱,而 BEH 处理后对 ZO-1 表达有明显改善效果。上述结果均显示冬瓜皮醇提取物能够有效修复 DSS 导致的肠道粘液屏障和机械屏障的损伤,进而有效阻止有害物质透过肠道屏障进入机体。

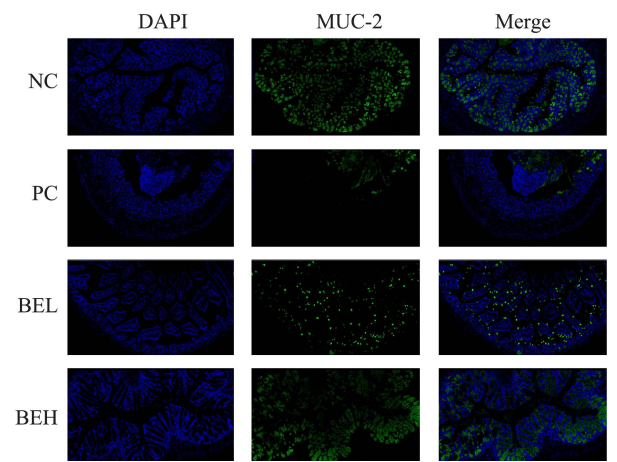


图 8 结肠组织的 MUC2 的免疫荧光分析 (× 20 倍)
Fig.8 Immunofluorescence analysis of MUC2 in colon tissue

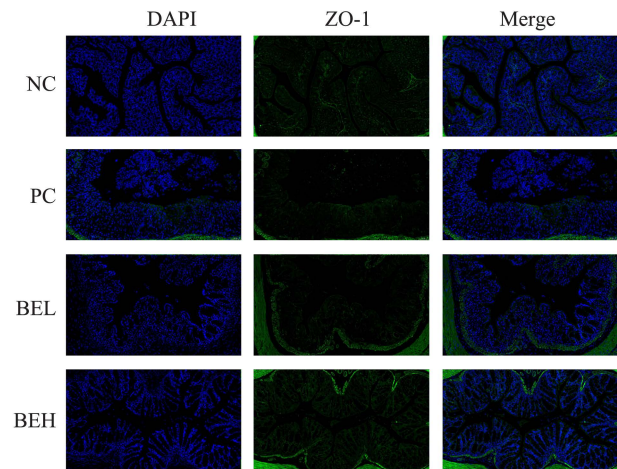


图 9 结肠组织的 ZO-1 的免疫荧光分析 (× 20 倍)
Fig.9 Immunofluorescence analysis of ZO-1 in colon tissue

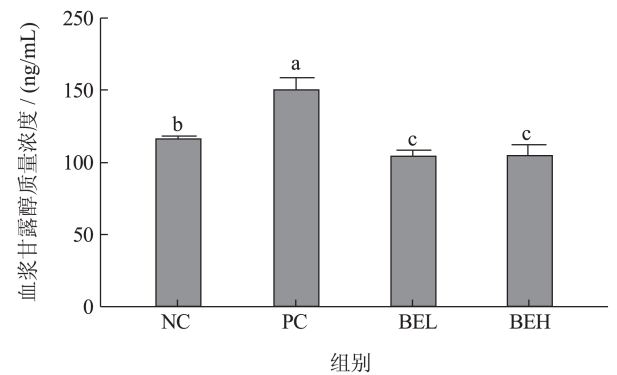


图 10 BE 对小鼠血清甘露醇水平的影响
Fig.10 Effect of BE on serum mannitol level in mice

据报道 DSS 会破坏小鼠肠道屏障,导致肠道通透性增大^[27],进一步采用 D-甘露醇法评估不同组小鼠的肠道屏障通透性。结果如图 10 所示,PC 组小鼠血清中甘露醇含量 (150.71 ng/mL) 显著高于 NC 组 (116.99 ng/mL),该结果与上述 DSS 导致肠道屏障受损的结果一致,而 BEL 和 BEH 干预后,血清中甘露醇含量显著降低,含量分别为 104.90 ng/mL 和 104.89 ng/mL,这表明冬瓜皮提取物能有效修复 DSS 导致的小鼠肠道通透性改变的情况。

2.7 冬瓜皮醇提取物对结肠炎小鼠肠道微生态的影响

目前 IBD 的确切病因尚不清楚,许多研究认为 IBD 的发生与肠道菌群失调密切相关,主要表现为细菌的多样性和丰富度减少以及组成发生改变^[28,29]。因此,根据上述小鼠表观指标、炎症因子表达及肠道屏障修复等结果,选择 BEH 进行肠道微生物分析。采用 16S rDNA 测序技术对各组小鼠肠道微生物组成进行分析,图 11 中 Chao 指数反应群落的丰富度,结果显示 BEH 处理后,显著增加小鼠肠道微生物的丰富度。同时根据不同组 OUT 数目韦恩图,可以得到不同组别的特有种,结果显示,NC、PC 及 BEH 组特有种数分别为 9、1 和 18,表明冬瓜皮醇提取物干预后,能够有效增加肠道微生物的丰富度。

进一步采用 Beta 多样性分析不同组别群落结构的相似性和差异关系。其中主坐标分析 (PCoA) 和非度量多维尺度分析 (NMDS) 结果如图 12 所示,样本在两图中距离越远表明物种丰度和构成差距越大。NC 组和 PC 组样本之间距离较远,表明 DSS 对小鼠肠道菌群造成了巨大影响,而 BEH 干预后与 NC 的距离较近,表明两组样本在 OUT 水平上较为接近。

进一步对 BEH 干预后对小鼠肠道微生物群落组成进行分析,结果如图 13 所示,可以明显看出 DSS 处理后,PC 组门、科、属水平优势物种分别为变形菌门 (Proteobacteria)、肠杆菌科 (Enterobacteriaceae) 和埃希氏菌属 (*Escherichia shigella*)。据报道,多数 *Proteobacteria* 的微生物都有一层脂多糖 (LPS) 组成的外膜,可诱导局部和全身的免疫反应,其丰度异常上升是肠道微生态失调和疾病发生的潜在标志^[30],而 *Enterobacteriaceae* 在健康机体中占比不到 1%,*Enterobacteriaceae* 的异常繁殖同样会导致微生态的失衡,同时 *Escherichia shigella* 是一种潜在的致病菌,与结肠炎的严重程度呈现正相关^[31],这说明 DSS 处理

对小鼠群落组成产生了极大的影响。而 BEH 处理后，改善了 DSS 处理后厚壁菌门（Firmicutes）的丰度显著降低的情况，从科水平上看，优势物种主要为丹毒菌科（Erysipelotrichaceae）、Muribaculaceae 和毛螺菌科（Lachnospiraceae）。研究表明，Erysipelotrichaceae 和 Muribaculaceae 科的微生物可以利用黏蛋白多糖产生肠道粘液，与肠道化学屏障的形成密切相关^[32,33]。Lachnospiraceae 是肠道微生物的核心组成，其成员是肠道微生物有益发酵产物短链脂肪酸的主要生产者之一^[34]。进一步从属水平上看，BEH 组小鼠有益菌 *norank_f_Muribaculaceae*、粪杆菌属（*Faecalibaculum*）丰度明显上升，据报道 *norank_f_Muribaculaceae* 可减轻炎症并抑制有害菌的增殖^[35]，同时 *Faecalibaculum* 可增加短链脂肪酸的产生，尤其是丁酸的产生，促进肠粘膜的修复^[36]。

为了进一步明确 BEH 给药组与 PC 组之间的差异物种，进行 LEfSe 多级物种判别分析。结果如图 14 所示，BEH 组具有显著性差异的物种有 77 个，而 PC 组 10 个。与上述结果一致，PC 组具有显著性差异的物种主要为 *Enterobacteriaceae*、*Proteobacteria* 及 *Escherichia-Shigella* 等有害菌，而 BEH 组具有显著性差异的物种主要是 *Bacteroidota*、*Muribaculaceae*、*norank_f_Muribaculaceae* 等有益菌。

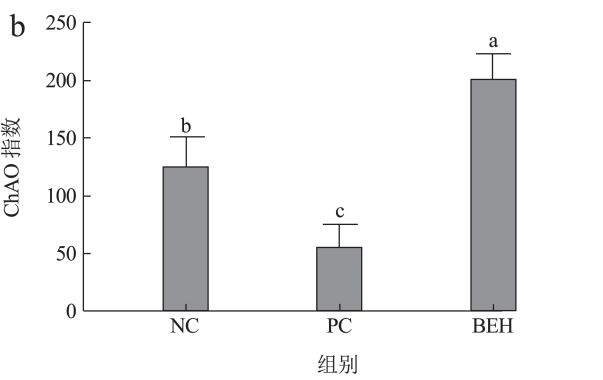
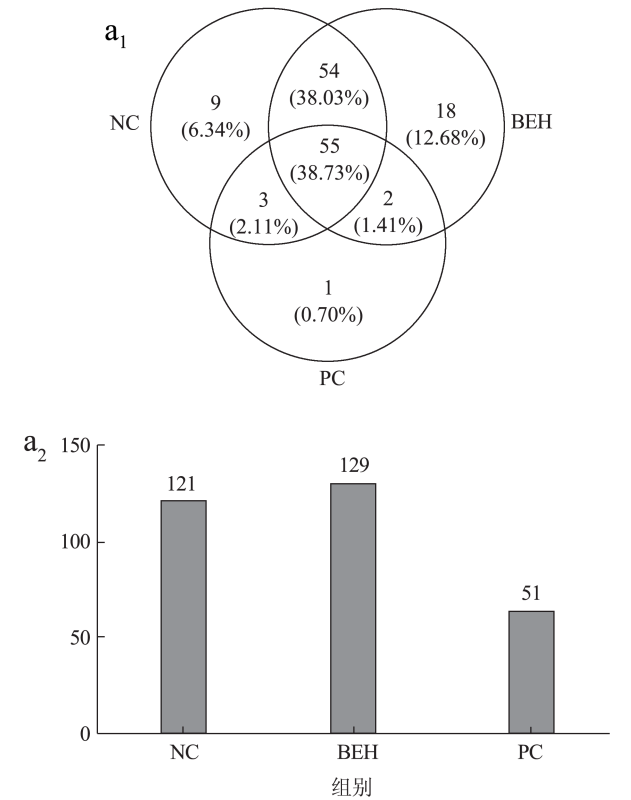


图 11 BEH 对小鼠肠道微生物丰富度的影响

Fig.11 Effects of BEH on intestinal microbial richness in mice

注: a 为不同组 OUT 数目的韦恩图; b 为不同组别 Chao 指数。

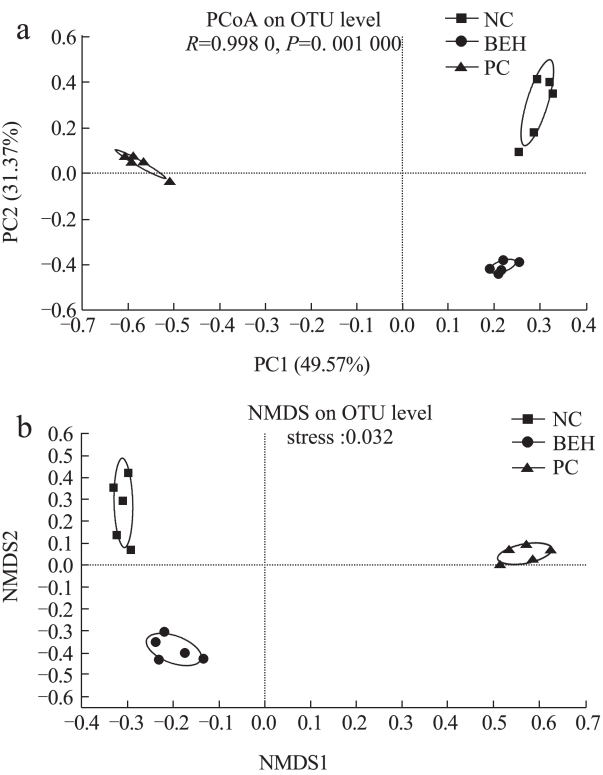


图 12 BEH 对小鼠肠道微生物丰富度的影响

Fig.12 Effects of BEH on intestinal microbial richness in mice

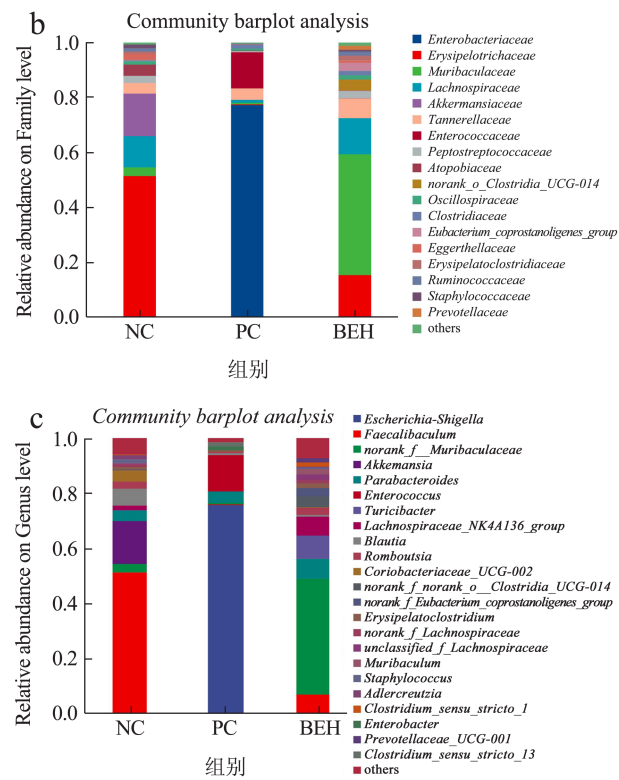


图 13 BEH 对小鼠群落组成的影响

Fig.13 Effects of BEH on community composition in mice

注: a、b、c 分别为门、科及属水平群落组成柱状图。

上述结果均显示 BEH 能够有效增加肠道微生态中有益菌的丰度, 进一步采用 Spearman 相关性分析探讨不同物种与结肠长度、炎症因子及甘露醇含量之间的关系。结果如图 15 所示, 从属水平上看, *Escherichia shigella* 和 *Enterococcus* 与结肠长度呈负相关, 与炎症因子和血清甘露醇含量呈正相关, *norank_f_Muribaculaceae*、*Romboutsia*、*Erysipelotrichaceae* 及 *Lachnospiraceae_NK4A136_group* 等有益菌的丰度均与血清甘露醇含量呈较强的负相关。综上所述, BEH 对 DSS 引起的肠道菌群变化有一定抑制作用, 可通过降低有害菌的丰度, 减轻小鼠的机体炎症反应, 同时通过产生多种有益菌, 维护肠道屏障完整性, 进而起到缓解结肠炎的效果。BE 中含有的多种黄酮和生物碱是其发挥调节菌群结构和抗炎作用的关键物质, 提取物中功能活性成分值得进一步鉴定和研究。

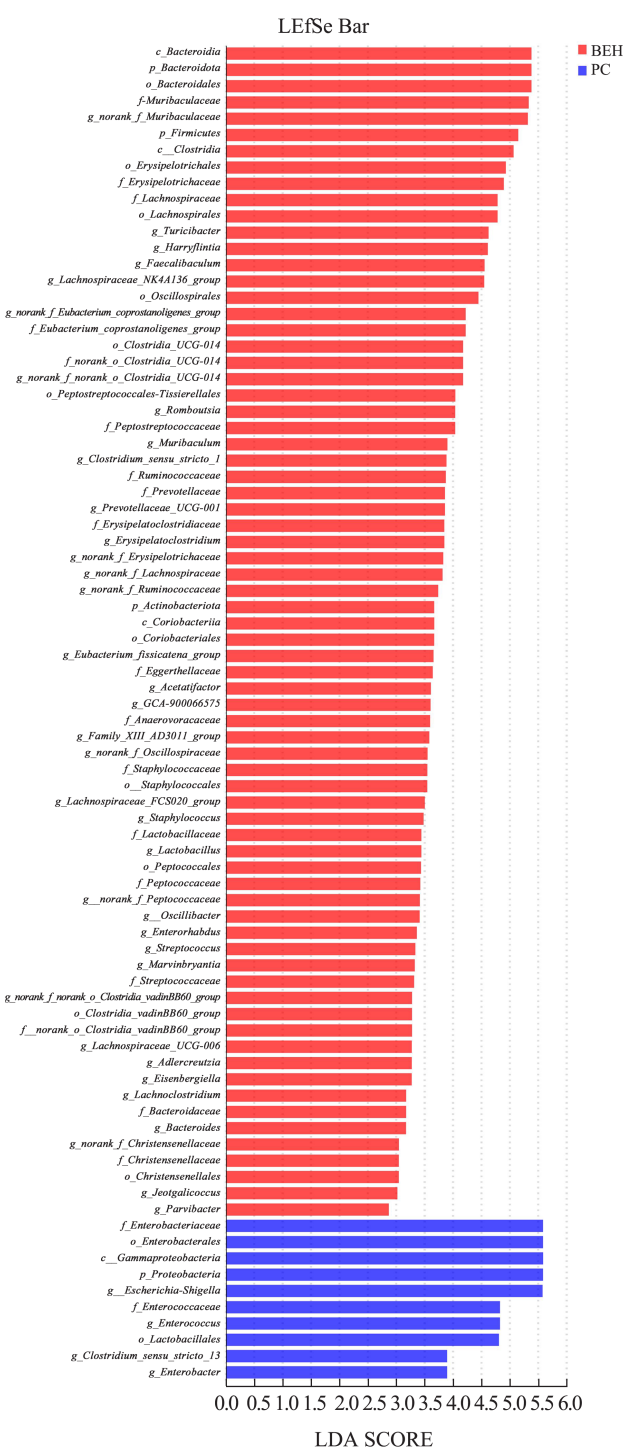


图 14 PC 组与 BEH 组 LefSe 多级物种判别分析

Fig.14 LefSe multilevel species discriminant analysis of PC group and BEH group

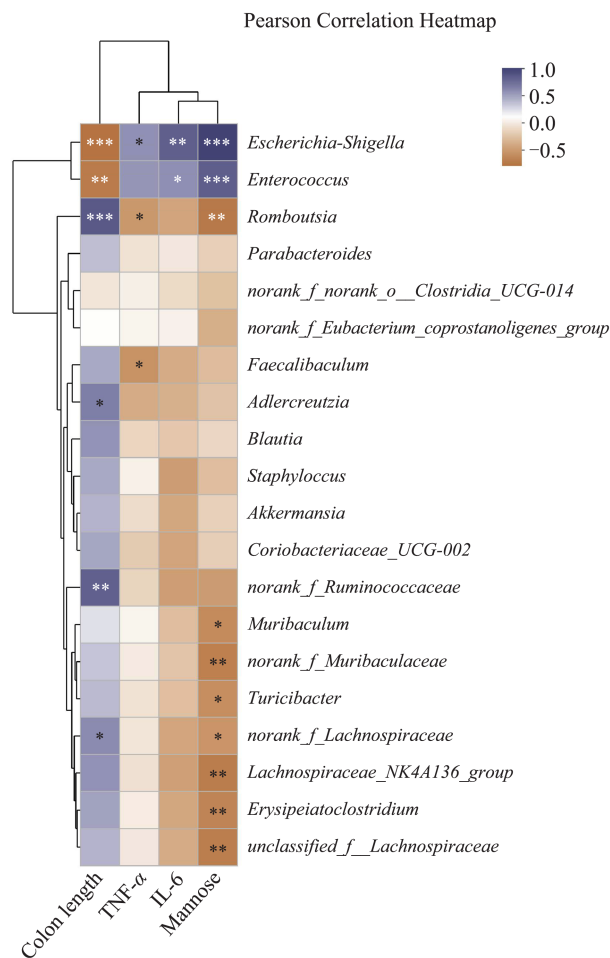


图 15 肠道微生物与结肠炎指标的相关性

Fig.15 Correlation between intestinal microbes and colitis indicators

3 结论

本研究通过对冬瓜皮醇提物的物质基础进行分析,并进一步采用 DSS 诱导小鼠结肠炎症模型评估冬瓜皮醇提物的抗炎活性。结果显示冬瓜皮醇提物含有丰富的黄酮、多酚和皂苷,可以有效缓解 DSS 造成的小鼠体重损伤,结肠缩短及直肠出血情况,减轻机体炎症反应,降低肠道通透性。同时,冬瓜皮醇提物通过调控肠道微生物组成,降低有害菌丰度,增加多种有益菌丰度。通过 Spearman 相关性分析推测,冬瓜皮醇提物可能是通过调控小鼠菌群结构,进而减轻机体炎症反应,维护肠道屏障完整性,从而达到治疗结肠炎的效果。因此,冬瓜皮在缓解结肠炎方面具有一定的应用前景,可作为一种功能性食品原料进行深度开发并实现资源的充分利用。

参考文献

[1] RANA S, SUTTEE A. Phytochemical investigation and evaluation of free radical scavenging potential of *Benincasa hispida* peel

extracts [J]. International Journal of Current Pharmaceutical Review and Research, 2012, 3(3): 43-46.

[2] RYU H S, LEE S J, WHANG W K. Isolation of anti-diabetic active compounds from *benincasae* exocarpium and development of simultaneous analysis by HPLC-PDA [J]. Molecules, 2022, 27(1): 9.

[3] DE SOUZA P, MARIANO L N B, CECHINEL-ZANCHETT C C, et al. Promising medicinal plants with diuretic potential used in brazil: state of the art, challenges, and prospects [J]. Planta Medica, 2021, 87(01/02): 24-37.

[4] JULSRIGIVAL J, SIRISA-ARD P, JULSRIGIVAL S, et al. Antiviral medicinal plants found in Lanna traditional medicine [J]. Chinese Herbal Medicines, 2021, 13(4): 494-501.

[5] PARIDA N, SAHU M, DEBATA P, et al. Antinociceptive and antiinflammatory effects of methanolic extract of *Benincasa hispida* fruit peel in rodents [J]. Asian Journal of Chemistry, 2010, 22(10):7573-7579.

[6] RACHCHH M A, JAIN S M. Gastroprotective effect of *Benincasa hispida* fruit extract [J]. Indian Journal of Pharmacology, 2008, 40(6): 271-275.

[7] HE Y Z, TIAN Y, XIONG H, et al. Rice Protein Peptides ameliorate DSS-induced cognitive impairment and depressive behavior in mice by modulating phenylalanine metabolism and the BDNF/TRKB/CREB pathway [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2024, 72(36): 19812-19825.

[8] JUSSILA A, VIRTALA L J, SALOMAA V, et al. High and increasing prevalence of inflammatory bowel disease in Finland with a clear North-South difference [J]. Journal of Crohn's and Colitis, 2013, 7(7): e256-e262.

[9] CUI L, GUAN X, DING W, et al. Scutellaria baicalensis Georgi polysaccharide ameliorates DSS-induced ulcerative colitis by improving intestinal barrier function and modulating gut microbiota [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 166: 1035-1045.

[10] XIAO L, SUN Y, TSAO R. Paradigm shift in phytochemicals research: Evolution from antioxidant capacity to anti-inflammatory effect and to roles in gut health and metabolic syndrome [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2022, 70(28): 8551-8568.

[11] SUN Y, DENG Z, LIU R, et al. A comprehensive profiling of free, conjugated and bound phenolics and lipophilic antioxidants in red and green lentil processing by-products [J]. Food Chemistry, 2020, 325: 126925.

[12] 董晶,王帅珂,吴苹,等.鱼腥草多酚对葡聚糖硫酸钠(DSS)诱导小鼠溃疡性结肠炎的改善作用[J].现代食品科技,2021,37(12):7-13,229.

[13] BI X, PENG H, XIONG H, et al. Fabrication of the rapid self-assembly hydrogels loaded with luteolin: their structural characteristics and protection effect on ulcerative colitis [J]. Foods, 2024, 13(7): 1105.

[14] LI T, YU F, ZHANG T, et al. Modulatory effects of fermented *Polygonatum cyrtoneura* Hua on immune homeostasis and gut integrity in a dextran-sulfate-sodium-induced colitis model [J]. Food & Function, 2024, 15(6): 3158-3173.

[15] XIAO L H, XIONG H, DENG Z Y, et al. *Tetrastigma hemsleyanum*

- leaf extracts ameliorate NAFLD in mice with low-grade colitis *via* the gut-liver axis [J]. Food & Function, 2023, 14(1): 500-515.
- [16] ZHANG M, LEI J, WANG Y, et al. Ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology of *Benincasae* exocarpium: A review [J]. Chinese Herbal Medicines, 2023, 15(1): 15-26.
- [17] WANG X, LI W, MA X, et al. Simultaneous determination of caffeic acid and its major pharmacologically active metabolites in rat plasma by LC-MS/MS and its application in pharmacokinetic study [J]. Biomedical Chromatography, 2015, 29(4): 552-559.
- [18] SUN Y, LI H, HU J, et al. Qualitative and quantitative analysis of phenolics in *Tetragium hemsleyanum* and their antioxidant and antiproliferative activities [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, 61(44): 10507-10515.
- [19] MENG W, ZHAO Z, CHEN L, et al. Total Flavonoids from *Chimonanthus nitens* Oliv. leaves ameliorate HFD-induced NAFLD by regulating the gut-liver axis in mice [J]. Foods, 2022, 11(14): 2169.
- [20] ZHAO Y N, CHEN H, LI W T, et al. Selenium-containing tea polysaccharides ameliorate DSS-induced ulcerative colitis *via* enhancing the intestinal barrier and regulating the gut microbiota [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2022, 209: 356-366.
- [21] ZHAO J, ZHAO R, CHENG L, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma activation promotes intestinal barrier function by improving mucus and tight junctions in a mouse colitis model [J]. Digestive and Liver Disease, 2018, 50(11): 1195-1204.
- [22] FRANCESCONI R, HOU V, GRIVENNIKOV S I. Cytokines, IBD, and colitis-associated cancer [J]. Inflammatory Bowel Diseases, 2015, 21(2): 409-418.
- [23] VANCAMELBEKE M, VERMEIRE S. The intestinal barrier: a fundamental role in health and disease [J]. Expert Review of Gastroenterology & Hepatology, 2017, 11(9): 821-34.
- [24] 牛鹏飞,王延召,曾庆敏,等.肠黏膜屏障功能及损伤机制研究进展[J].中华临床医师杂志(电子版),2020,14(9):735-739.
- [25] BERGSTROM K, SHAN X, CASERO D, et al. Proximal colon-derived O-glycosylated mucus encapsulates and modulates the microbiota [J]. Science, 2020, 370(6515): 467-472.
- [26] BAGGIO C H, SHANG J, GORDON M H, et al. The dietary fibre rhamnogalacturonan improves intestinal epithelial barrier function in a microbiota - independent manner [J]. British Journal of Pharmacology, 2022, 179(2): 337-352.
- [27] MEI Z W, HUANG X X, ZHANG H, et al. Chitin derivatives ameliorate DSS-induced ulcerative colitis by changing gut microbiota and restoring intestinal barrier function [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2022, 202: 375-387.
- [28] NISHIDA A, INOUE R, INATOMI O, et al. Gut microbiota in the pathogenesis of inflammatory bowel disease [J]. Clinical Journal of Gastroenterology, 2018, 11: 1-10.
- [29] YANG W T, HUANG Z H, XIONG H, et al. Rice protein peptides alleviate dextran sulfate sodium-induced colitis via the Keap1-Nrf2 signaling pathway and regulating gut microbiota [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2022, 70(39): 12469-12483.
- [30] RODRIGUEZ-PALACIOS A, HARDING A, MENGHINI P, et al. The artificial sweetener splenda promotes gut proteobacteria, dysbiosis, and myeloperoxidase reactivity in Crohn's disease-like ileitis [J]. Inflammatory Bowel Diseases, 2018, 24(5): 1005-1020.
- [31] 彭衡英,刘吉华.肠道菌群在炎症性肠病发病机制与治疗中的作用研究进展[J].药学进展,2021,45(8):627-636.
- [32] LAGKOUVARDOS I, LESKER T R, HITCH T C, et al. Sequence and cultivation study of Muribaculaceae reveals novel species, host preference, and functional potential of this yet undescribed family [J]. Microbiome, 2019, 7: 1-15.
- [33] LIN L, LAI Z, YANG H, et al. Genome-centric investigation of bile acid metabolizing microbiota of dairy cows and associated diet-induced functional implications [J]. The ISME Journal, 2023, 17(1): 172-184.
- [34] VACCA M, CELANO G, CALABRESE F M, et al. The controversial role of human gut lachnospiraceae [J]. Microorganisms, 2020, 8(4): 573.
- [35] WU X, HUANG H, LI M, et al. Excessive consumption of the sugar rich longan fruit promoted the development of nonalcoholic fatty liver disease *via* mediating gut dysbiosis [J]. Food Frontiers, 2023, 4(1): 491-510.
- [36] LU Y T, YUAN X L, WANG M, et al. Gut microbiota influence immunotherapy responses: mechanisms and therapeutic strategies [J]. Journal of Hematology & Oncology, 2022, 15(1): 47.