

# 白刺叶提取物缓解溃疡性结肠炎及抗氧化作用评估

濮兴娜<sup>1</sup>,冯健<sup>2</sup>,郭晶<sup>1</sup>,刘明秀<sup>1</sup>,王煜丹<sup>2</sup>,李艳平<sup>1</sup>

(1. 云南中医药大学 中药学院,云南 昆明 650500;2. 云南民族大学  
生物基材料绿色制备技术国家地方联合工程研究中心 云南 昆明 650500)

**摘要:**研究唐古特白刺叶对3%葡聚糖硫酸钠(DSS)诱导的溃疡性结肠炎小鼠的缓解作用及可能的作用机制。采用DSS诱导小鼠溃疡性结肠炎,用唐古特白刺叶提取物给予治疗,通过HE染色法、疾病活动指数(DAI)、结肠组织病理学评分、酶联免疫吸附测定法(ELISA)检测血清中炎症因子IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 的水平,并采用HPLC-ESI-HRMS/MS对白刺叶提取物进行化学成分指认和鉴定,在化学成分的基础上,基于HepG-2细胞对活性氧(ROS)、谷胱甘肽转移酶(GSH)、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)等抗氧化酶水平进行检测。与正常组比较,模型组结肠显著缩短,DAI评分显著增加,血清中IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 水平( $P < 0.01$ )升高,在HepG-2细胞中,模型组活性氧(ROS)水平升高,GSH、SOD、CAT降低( $P < 0.05$ );与模型组比较,白刺叶提取物组小鼠DAI评分和血清中IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 水平降低( $P < 0.01$ ),溃疡性结肠炎症状减轻,且在HepG-2细胞中,白刺叶提取物组ROS水平降低,GSH、SOD、CAT水平升高( $P < 0.05$ )。唐古特白刺叶对DSS诱导的溃疡性结肠炎具有治疗作用,其作用机制可能与降低炎症因子和活性氧水平,同时升高抗氧化酶密切相关。

**关键词:**唐古特白刺叶;抗溃疡性结肠炎;抗炎;抗氧化;UHPLC-ESI-HRMS/MS

**中图分类号:**R966 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-8513(2024)03-0275-11

溃疡性结肠炎(UC)是一种慢性免疫介导的结肠炎症性疾病,在全球发病率一直在上升,据推测它与暴露于环境风险因素有关,导致遗传易感性个体对肠道共生微生物产生不适当的免疫反应<sup>[1]</sup>。UC的特征是复发和缓解的粘膜炎症,通常始于直肠,并以连续的方式向近端延伸穿过结肠。现有临床研究显示,UC的治疗主要通过氨基水杨酸制剂、糖皮质激素和免疫抑制剂等药物,但以其具有副作用较大、疗效差局限性等缺点仍无法满足UC治疗需求<sup>[2]</sup>。若治疗不当,可能会导致持续的肠道损伤,并增加患者痛苦和诱发结直肠癌的风险。有研究发现,炎症表达和氧化应激是UC重要的致病因素。在UC发生过程中,组织炎症反应将中性粒细胞等炎症细胞迁移到结肠,刺激ROS、氧化应激和脂质过氧化物的产生,影响细胞大分子,导致膜完整性失衡,导致粘膜疾病、加重有慢性炎症和溃疡的发生,产生大量炎症细胞因子进入机体,引发多组织器官免疫反应,甚至加重机体炎症进而损伤组织、器官<sup>[3]</sup>。一方面,肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )是由巨噬细胞及单核细胞所分泌的炎症因子,可刺激炎症细胞表达,加剧炎症反应,白细胞介素IL-6参与炎症反应、免疫反应的表达和调节及T细胞和B细胞的活化、增殖与分化<sup>[4]</sup>;另一方面,氧化应激是机体内氧化产物与抗氧化系统不平衡的一种应激状态,丙二醛(MDA)、活性氧(ROS)等氧化产物的过表达或者超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽(GSH)抗氧化酶的不足都会导致氧化应激的发生,GSH、SOD和MDA已被用作炎症和氧化应激的生物标志物,并在评估UC肠黏膜受损程度及氧化应激水平发挥着重要的作用。此外,也可以通过动态下调MDA、ROS过表达,提高GSH、SOD活性,抑制氧化应激反应,有效拮抗UC的发生<sup>[5]</sup>,2个重要因素同时影响着UC的发生、发展,所以抑制炎症和维持氧化应激平衡成为溃疡性结肠炎的主要治疗方向。

收稿日期:2023-11-29.

基金项目:云南省应用基础研究计划面上项目(202201AT070228);云南省应用基础研究计划中医联合专项重点项目(202101AZ070001-326).

作者简介:濮兴娜(1999-),女,硕士研究生.主要从事天然产物的研究及其生物活性探索等研究.

通信作者:王煜丹(1986-),女,博士,副研究员,硕士生导师.主要从事天然药物化学成分生物活性研究.

李艳平(1986-),女,博士,教授,硕士生导师.主要从事中药、天然药物化学成分及生物活性研究.

近年来越来越多的天然提取物表现出显著的抗炎和抗氧化应激活性, 蒺藜科(Zygophyllaceae)白刺属植物唐古特白刺(*Nitraria tangutorum* Bobr.), 是一种药食同源的植物. 它含丰富的活性成分, 在民间, 白刺的果实和种子常被用于治疗脾胃虚亏, 消化不良等疾病<sup>[6]</sup>, 前期对白刺的果实进行研究, 发现其对抑制溃疡性结肠炎的发展具有显著疗效<sup>[7]</sup>; 而白刺叶具有滋补强身、调经活血的作用<sup>[8]</sup>, 常被用来治疗心率失常、抽搐、神经痛等心脑血管疾病和神经科疾病. 此外, 唐古特白刺叶是一种理想的天然抗氧化剂或防腐剂的提取来源<sup>[9]</sup>, 并且其抗溃疡性结肠炎及抗氧化的作用鲜有研究, 其生物活性的化学成分尚不清楚. 因此, 本研究对白刺叶抗溃疡性结肠炎作用进行研究, 采用(UHPLC - ESI - HRMS/MS)技术对唐古特白刺叶不同溶剂提取物中的酚类化合物进行鉴定, 在化学成分的基础上, 基于 HepG - 2 细胞探索其可能的作用机制, 以期为唐古特白刺叶片的综合资源开发利用提供新的理论依据及方向.

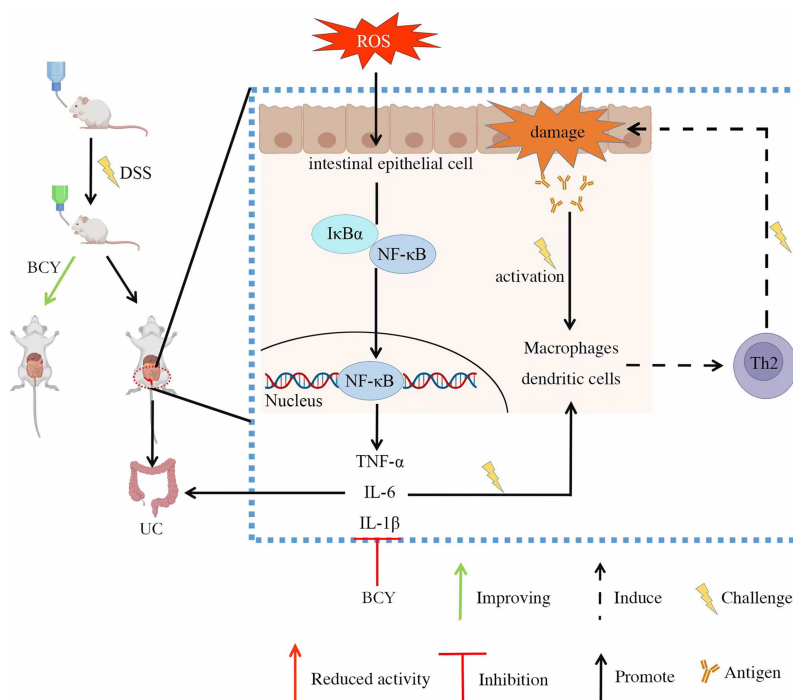


图 1 唐古特白刺叶抗溃疡性结肠炎机制图

## 1 材料与方法

### 1.1 试验药物

白刺, 采于甘肃省民勤县, 经云南中医药大学李宝晶副教授鉴定为蒺藜科白刺属植物唐古特白刺(*Nitraria tangutorum* Bobr.), 保存于云南中医药大学中药化学实验室. 样品制备: 将干燥的唐古特白刺叶(0.5 kg)粉碎, 80 °C 下用 95% 乙醇(2.5 L)回流提取 3 次, 每次 2 h, 合并提取液, 减压浓缩成浸膏即为乙醇提取物(EE). 将 EE 分散于纯水中, 用等体积的石油醚、氯仿、乙酸乙酯和正丁醇分别萃取 3 次, 回收溶剂后, 将石油醚萃取物(PEE)、氯仿萃取物(CE)、乙酸乙酯萃取物(EAE)、正丁醇萃取物(NBE)和水萃取物(WE)储存于 -20 °C 以供使用.

### 1.2 动物

雄性 C57BL/6 小鼠, 体重(20 ± 2) g, 购自昆明楚商科技有限公司(中国昆明), 许可证号 SCXK(湘)2019 - 0004. 所有小鼠被安置在无病原体条件下的实验动物中心, 免费获得标准实验室自来水, 并在(22 ± 2) °C 的控制温度下, 12 h 的明暗循环中饲养. 实验过程按照云南中医药大学(中国昆明)的实验动物健康与护理指南进行, 所有动物实验均经云南中医药大学动物实验伦理委员会审查通过(IACUC - 06202006).

### 1.3 试剂

LC/MS 级乙腈(德国达姆施塔特市 Merck KGaA); 1,1 - 二苯基 - 2 - 三硝基苯肼(DPPH)、2,4,6 - 三吡啶 - S - 三嗪(TPTZ)、2,2 - 联氮 - 二(3 - 乙基 - 苯并噻唑 - 6 - 磺酸)二铵盐(ABTS<sup>+</sup>)、二甲基噻唑 - 2 -

2,5-二苯基四氮唑溴盐(MTT)、抗坏血酸(VC)、没食子酸标准品、芦丁标准品购买于Sigma-Aldrich公司;福林酚试剂购买于默克公司.超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和还原型谷胱甘肽(GSH)购自南京建成生物工程研究所(中国南京).胎牛血清(FBS)、青霉素、链霉素和DMEM培养基均来自纽约州格兰德岛的Gibco.使用的其他试剂,如无水乙醇、过硫酸钾、乙酸钠、NaCl、NaCO<sub>3</sub>、NaNO<sub>2</sub>、NaOH、AlCl<sub>3</sub>,均为来自天津丰川化学试剂技术有限公司的分析级试剂有限公司(中国天津),葡聚糖硫酸钠(DSS)(分子量36,000~50,000 Da)购自MP Biomedicals,LLC(中国,北京),苏木精-伊红(HE)染色(武汉塞维尔生物科技有限公司,批号CR2102138)、过碘酸雪夫(PAS)染色(武汉塞维尔生物科技有限公司,批号CR2101084).

#### 1.4 仪器

多功能酶标仪(倍捷科技有限公司,型号AR224CN);流式细胞仪(Guava easy Cyte6-2L,Millipore,美国Billerica);高速台式离心机(上海安亭科学仪器有限公司,型号TGL-20B);脱水机(DIAPATH,型号Donatello);包埋机(武汉俊杰电子有限公司,型号JB-P5);病理切片机(上海徠卡仪器有限公司,型号RM2016);成像系统(日本尼康公司,型号NIKON DS-U3).

#### 1.5 方法

##### 1.5.1 白刺叶提取物对小鼠溃疡性结肠炎的改善作用

###### 1) 小鼠DSS结肠炎的诱导及药物治疗

适应性饲养1周后,将小鼠随机分为4组(每组10只):正常对照组、UC模型组、柳氮磺吡啶(5-ASA)阳性药组和白刺叶总提取物组(BCY)(150 mg/kg).对照组小鼠给予正常饮水,模型、阳性药组和白刺叶组给予含有3% DSS的饮用水,持续7 d,此后继续提供饮用水3 d.治疗组于第1~10天灌胃唐古特白刺叶乙醇提取物.在给药后,禁食24 h,处死小鼠.

###### 2) 组织学分析

通过每日监测体重、大便稠度、直肠出血等临床观察评估结肠炎的严重程度.简而言之,疾病活动指数(DAI)通过以下参数进行分析.(A)体重减轻(0、无减轻;1、减轻1~5%;2、减轻6~10%;3、减轻10~20%;4、减轻超过20%);(B)腹泻(0、正常;2、大便疏松;4、水样腹泻)(C)便血(0、无出血;2、轻微出血;4、严重出血).采集结肠组织,用4%的多聚甲醛固定.石蜡包埋结肠组织切片成5 μm厚切片,苏木精和伊红染色(H&E).炎症程度基于以下组织学结肠炎评分系统确定.(0)固有层中罕见的炎症细胞;(1)固有层内粒细胞增多;(2)炎性细胞汇合延伸至粘膜下层;(3)炎性浸润透壁扩张.隐窝损伤评分如下.(0)隐窝完好;(1)损失基础的1/3;(2)基底损失2/3;(3)整个隐窝缺失.

###### 3) ELISA法测定炎症因子水平

结肠组织样本保存在-80℃.结肠段加入生理盐水(结肠组织:生理盐水为1:9),研磨2次,每次1 min.在4℃下,离心10 min收集上清.根据制造商说明,使用ELISA试剂盒测定小鼠结肠组织上清液中TNF-α、IL-1β和IL-6等炎症因子的水平.

##### 1.5.2 总多酚(TPC)、总黄酮(TFC)、总花色苷的含量测定

分别采用福林-酚(Folin Ciocalteu)比色法、NaNO<sub>2</sub>-Al(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>-NaOH比色法和pH示差分光光度法测定5种不同溶剂萃取物的总多酚含量(total phenolic content, TPC)<sup>[10]</sup>、总黄酮(total flavonoid content, TFC)含量<sup>[11]</sup>和总花色苷含量<sup>[12]</sup>,参照文献并稍加修改.没食子酸标准曲线方程为: $y = 47.667x - 0.0029$  ( $r^2 = 0.9987$ ).芦丁标准曲线方程为: $y = 13.586x + 0.0168$  ( $r^2 = 0.9996$ ).pH示差分光光度法测定花色苷(花青素-3-葡萄糖)含量,计算方法如公式(1)所示.

$$A = (A_{510} - A_{700})pH_{1.0} - (A_{510} - A_{700})pH_{4.5} \quad (1)$$

##### 1.5.3 白刺叶酚类化学成分的鉴定

使用配有安捷伦C<sub>18</sub>柱(2.1 mm × 100 mm, 1.9 μm, 安捷伦,美国)的UHPLC(德国赛默飞世尔科技公司)分离唐古特白刺叶不同溶剂萃取物中的主要酚类化合物.色谱条件为:酸水(0.1%乙酸,溶剂A)和乙腈(溶剂B)混合溶液为流动相;进样量1 μL,流速0.2 mL/min,柱温35℃,进行梯度洗脱:0~2 min,10% B;2~5 min,10%~20% B;5~10 min,20%~40% B;10~20 min,40%~60% B.数据通过Q-Exactive Orbitrap质谱仪(德国不来梅赛默飞世尔科技公司)进行分析.具体参数如下:分辨率70 000;辅助气体流量8 L/min;

鞘层气体流速 32 L/min;扫气 4 L/min;S 透镜射频水平 50%;电压 3.3 kV;毛细管温度 320 °C;加热器温度 350 °C. 在相同条件下,根据相应的标准曲线(或至少具有相同的苷元)对 5 种不同溶剂提取物中鉴定的酚类化合物进行半定量或定量.

#### 1.5.4 抗氧化活性的测定

采用 DPPH 自由基清除法、ABTS<sup>+</sup> 自由基清除法以及铁离子还原法分别评价各样品的抗氧化活性,并进行比较分析. 以抗坏血酸(VC)为阳性对照.

##### 1) DPPH 自由基和 ABTS<sup>+</sup> 自由基清除能力的测定

关于白刺叶各溶剂萃取物 DPPH 自由基清除能力的测定参照之前报道的方法并作稍加修改<sup>[13]</sup>,使用多功能酶标仪于 517 nm 下测定其吸光值. DPPH 自由基清除率(%) =  $[1 - (A_2 - A_1)/A_0] \times 100\%$ ; ABTS<sup>+</sup> 自由基清除活性参照之前报道的方法测定<sup>[14]</sup>,使用多功能酶标仪于 734 nm 条件下测其吸光值. ABTS<sup>+</sup> 自由基清除率(%) =  $[1 - (A_2 - A_1)/A_0] \times 100\%$ , 2 个自由基清除结果均以 IC<sub>50</sub> 值表示.

##### 2) 铁离子还原能力的测定

铁离子还原能力的测定采用吡啶三吡啶法测定,参照之前报道的方法稍加修改<sup>[15]</sup>. 预先配制 FRAP 工作液,具体方法为:将乙酸钠缓冲液(0.30 mol/L, pH 3.6)、TPTZ(10 mmol/L)和 FeCl<sub>3</sub>(20 mmol/L)按照体积比为 10:1:1 的比例混合均匀,于 37 °C 下水浴备用. 测定时,取 0.5 mL 样品溶液,加入 4.5 mL 预热的 FRAP 工作液,混合均匀后于 37 °C 水浴加热 10 min,之后于 593 nm 下测其吸光值. 以 FeSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 代替样品溶液绘制标准曲线: $y = 0.995x + 0.1003$  ( $r^2 = 0.9994$ ),最终白刺叶各溶剂萃取物对铁离子的还原能力以 EC<sub>50</sub> 值表示.

#### 1.5.5 白刺叶提取物对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导的 HepG-2 细胞氧化损伤的保护作用

##### 1) 细胞培养及细胞活力测定

HepG-2 细胞(人肝癌细胞)购于中国科学院昆明细胞库(中国昆明). 采用 MTT 法<sup>[16]</sup>检测白刺叶不同溶剂萃取物对 HepG-2 细胞的细胞毒性(样品浓度为 50 ~ 150 μg/mL).

##### 2) 细胞内活性氧(ROS)的测定

测定 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导 HepG-2 细胞内活性氧(ROS)按先前报道的方法稍作修改<sup>[17]</sup>. 按照密度为  $1 \times 10^5$ /孔的 HepG-2 细胞接种于 6 孔板,培养 24 h,然后暴露于不同质量浓度(50、100、150 μg/mL)的各溶剂萃取物或 VC 20 μg/mL 中,再培养 24 h. 对照组(空白组和模型组)加入含有相应溶媒的培养基,然后收集的细胞用 PBS 清洗,除空白对照组外的其他各组均用 1.0 mmol/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 干预 6 h,形成氧化状态. 收集细胞并用 10 μmol/L 2,7-二氯荧光素二乙酸酯在 37 °C 避光孵育 20 min,然后用流式细胞仪记录吸光度.

##### 3) 细胞内抗氧化酶活性测定

$1 \times 10^5$  细胞/孔将 HepG-2 细胞接种于 6 孔板中,培养 24 h 后,分别用 100 μg/mL 的白刺叶提取物再处理 24 h. 然后每孔补充 1.0 mmol/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,培养 6 h. 收集细胞,裂解细胞并以 3 000 r/min 的速度离心 10 min. 在 -20 °C 下收集上清液并储存以备用. 检测上清液中 SOD、CAT 和 GSH 活性,并且将蛋白质浓度用二喹啉甲酸(BCA)蛋白酶试剂盒进行归一化.

#### 1.6 统计学方法

所有数据使用 Graphpad Prism6.0 软件进行分析,以  $x \pm s$  表示,多组数据比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA),2 组数据比较采用独立样本 *t* 检验, $P < 0.05$  表示差异有明显统计学意义.

## 2 结果

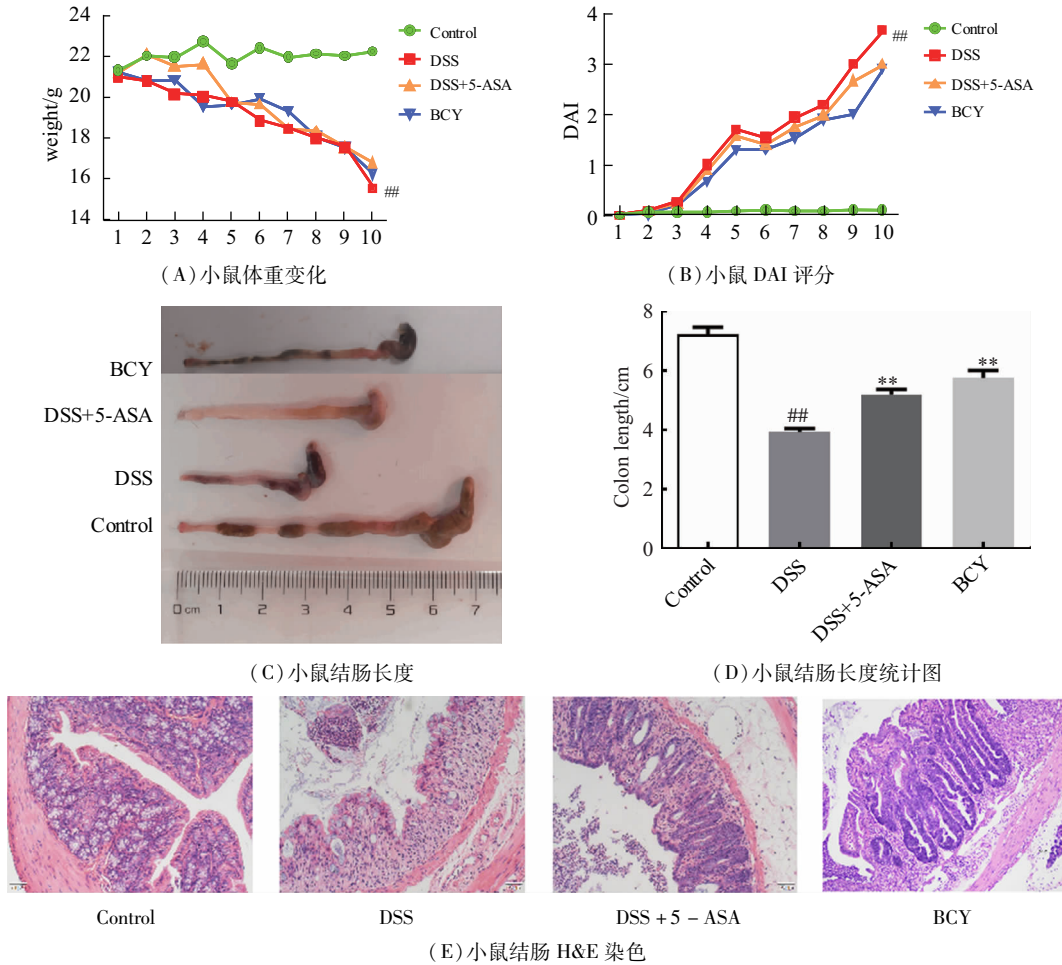
### 2.1 白刺叶对小鼠溃疡性结肠炎的改善作用

#### 2.1.1 小鼠体重变化、DAI 评分及白刺叶对小鼠结肠组织的影响

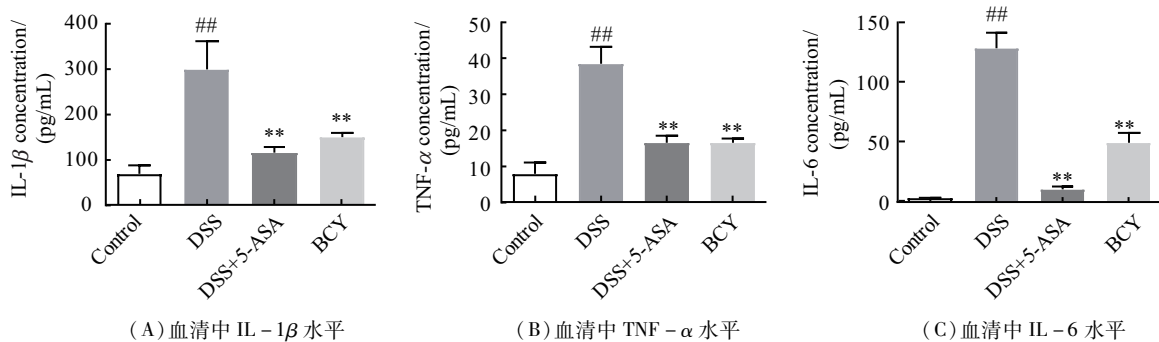
在本研究中,DSS 诱导的 UC 小鼠模型在 DSS 给药后出现腹泻、体重减轻、进食和运动减少,甚至出现呕血. 白刺叶治疗显著减轻了结肠炎的这些症状. 如图 2 所示,呈现了小鼠体重变化情况,在 10 d 内 DAI 的变化,BCY 和 5-ASA 处理显著抑制 DAI 评分( $P < 0.01$ ). 此外,BCY 治疗阻止了 DSS 诱导的 UC 小鼠模型结肠长度的缩短( $P < 0.01$ ). 与对照组相比,DSS 诱导小鼠结肠组织出现明显的炎症、溃疡,黏膜及黏膜下层有明显的白细胞浸润( $P < 0.01$ )而 BCY 结肠组织溃烂情况得到改善.

2.1.2 白刺叶对 UC 小鼠炎症因子水平的影响

为了评价白刺叶抗溃疡性结肠炎的作用,采用 ELISA 法检测了细胞因子 IL-1 $\beta$ 、IL-6、和 TNF- $\alpha$  的水平.图3显示,DSS 可显著提高结肠 IL-6、IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  水平( $P < 0.01$ ).结果证实,唐古特白刺叶能有效预防结肠炎的发展.



与空白组相比,## $P < 0.01$ ,与模型组相比,\*\* $P < 0.01$   
 图2 小鼠 DAI 评分及 BCY 对小鼠结肠组织的影响



与空白组相比,## $P < 0.01$ ,与模型组相比,\*\* $P < 0.01$   
 图3 白刺叶对 UC 小鼠炎症因子水平的影响

2.2 不同溶剂提取物的总多酚、总黄酮和总花色苷含量

表1显示唐古特白刺叶中不同溶剂提取物中的总多酚、总黄酮和总花色苷含量.这5种不同的溶剂提取物中,NBE、EAE 分别含有最多的总多酚( $158.92 \pm 3.50$ )mg GAE/g 和总黄酮( $92.78 \pm 0.64$ )mg RE/g;此外,WE 总多酚和总黄酮含量均最低,分别为( $2.631 \pm 0.53$ )mg GAE/g 和( $0.93 \pm 0.24$ )mg RE/g.然而,对于总花

色苷含量,CE含量最高,为 $(0.86 \pm 0.09)$  mg CGE/L,EAE最低,为 $(0.14 \pm 0.03)$  mg CGE/L.

表1 白刺叶各样品中总多酚、总黄酮和总花色苷含量分析

样品	多酚/(mg GAE/g)	黄酮/(mg RE/g)	总花色苷/(mg CGE/L)
EE	$50.55 \pm 0.81^c$	$5.68 \pm 0.11^b$	$0.12 \pm 0.01^e$
CE	$87.51 \pm 1.81^d$	$29.34 \pm 1.23^e$	$0.86 \pm 0.09^c$
EAE	$32.80 \pm 2.52^b$	$92.78 \pm 0.64^h$	$0.14 \pm 0.03^b$
NBE	$158.92 \pm 3.50^e$	$11.91 \pm 1.17^c$	$0.42 \pm 0.07^e$
WE	$26.31 \pm 0.53^a$	$0.93 \pm 0.24^a$	$0.58 \pm 0.04^d$

注:同列肩标小写字母不同表示差异显著( $P < 0.05$ ).

### 2.3 酚类化合物的鉴定与定量

在此次实验中,用UHPLC-ESI-HRMS/MS在负电离模式下将各萃取物中不同的酚类成分进行定性分析.图4展示了总电流色谱图,表2总结了相关的数据,包括保留时间、误差、分子式、 $m/z$ 和MS/MS的离子碎片.在此次研究中,根据酚类物质标准品、参考文献或数据库(Massbank, <http://www.massbank.jp/Quick-Search.html>)对16种化学成分进行鉴定.CE、NBE和EE中分别检测到9个、6个和3个化合物,而EAE和WE仅检测到2种化合物.其中,NBE中发现了类黄酮化合物7、9和10,CE仅检测到类黄酮化合物6.

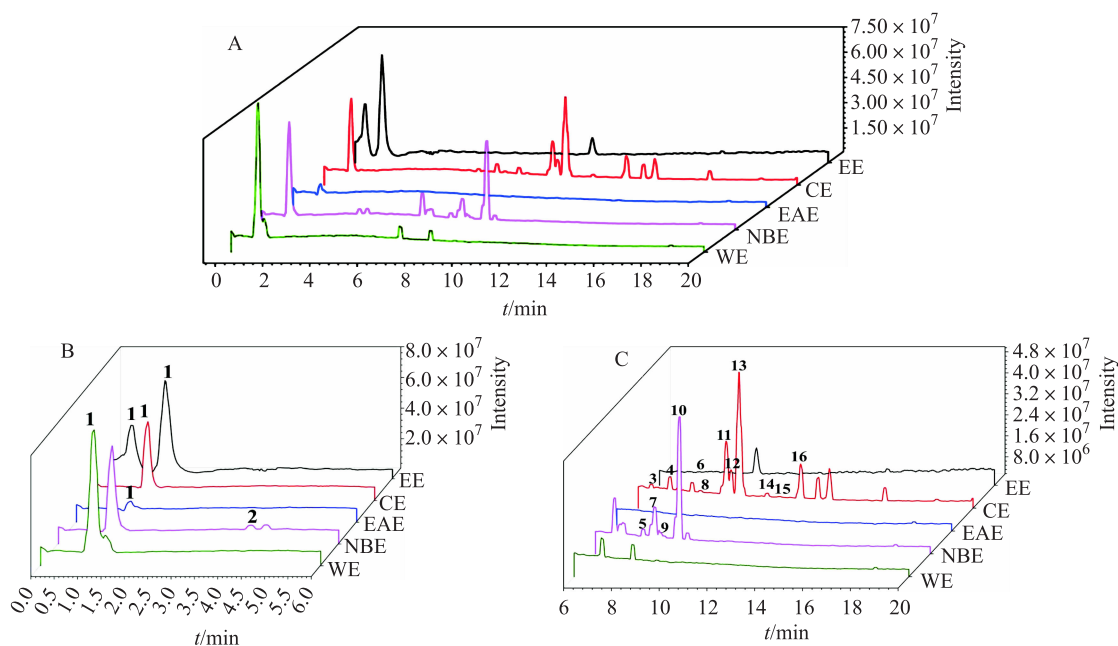


图4 唐古特白刺叶各溶剂提取物总离子色谱图(负离子模式)

表2 唐古特白刺叶各极性部位的酚类化合物

编号	$t_R$ / min	$[M-H]^-$ / ( $m/z$ )	离子碎片	误差/ppm	分子式	化合物	样品	来源
1	1.18	149.0444	59.0123, 71.0124, 89.0232	0.568	$C_5H_{10}O_5$	D-Ribose	EE, CE, NBE, WE	Mass bank
2	4.06	337.0929	119.0489, 163.0390	3.281	$C_{16}H_{18}O_8$	3-p-Coumaroyl quinic acid	NBE	Mass bank
3	6.47	131.0701	56.3734, 76.3345	-1.226	$C_6H_{12}O_3$	6-Hydroxyhexanoic acid	CE	Mass bank
4	8.17	165.0547	61.9868, 72.9916, 87.0919	1.045	$C_9H_{10}O_3$	3-(2-Hydroxyphenyl) propionic acid	CE	Mass bank
5	8.53	163.0390	93.0331, 119.0489	0.119	$C_9H_8O_3$	$\rho$ -hydroxy-trans- cinnamic acid	NBE	Mass bank
6	8.58	433.1138	161.0234, 179.0341	2.147	$C_{21}H_{22}O_{10}$	Flavanone base-3-O-C-Hex	EE	Mass bank
7	8.8	593.1511	285.0381, 593.1511	1.726	$C_{27}H_{30}O_{15}$	Kaempferol-3-O-rutinoside	NBE	Standard
8	9.56	579.2082	181.0496, 417.1552	1.783	$C_{28}H_{36}O_{13}$	S-(8-8)-S hexoside	CE	Mass bank

续表 2

编号	$t_R$ /min	$[M-H]^-$ ( $m/z$ )	离子碎片	误差/ppm	分子式	化合物	样品	来源
9	9.62	447.0931	285.0381, 327.0511	2.063	$C_{21}H_{20}O_{11}$	Luteolin-7-O-glucoside	NBE	Standard
10	9.77	607.1670	284.0322, 285.0354, 299.0559	2.048	$C_{28}H_{32}O_{15}$	Diosmin	NBE	Mass bank
11	10.03	187.0967	80.0252, 97.0644, 123.0800	1.04	$C_9H_{16}O_4$	Azelaic acid	EE, CE	Mass bank
12	10.6	137.0232	65.0382, 67.0175, 75.0225	-1.026	$C_7H_6O_3$	Salicylic acid	CE	Mass bank
13	11.34	263.1288	135.0801, 139.0750, 151.0753	3.665	$C_{15}H_{20}O_4$	Abseic acid	CE	Mass bank
14	12.66	329.2332	57.0331, 139.1116, 211.1332	2.944	$C_{18}H_{34}O_5$	Vanillic acid glycoside	CE	Mass bank
15	12.8	327.2176	85.0280, 171.1018	2.932	$C_{18}H_{32}O_5$	Unknow	CE	Standard
16	13.56	163.0389	57.0331, 139.1116, 211.1332	-0.249	$C_{18}H_{34}O_5$	Vanillic acid glycoside	CE	Standard

化合物 2 质荷比  $m/z$  为 337.0929, 分子式为  $C_{16}H_{18}O_8$ , 鉴定为 3-*p*-Coumaroyl quinic acid. 化合物 5 质荷比  $m/z$  为 63.0390, 分子式为  $C_9H_8O_3$ , 鉴定为 *p*-Hydroxy-*trans*-cinnamic acid. 通过把碎片化模式和保留时间与相应的标准品比较, 化合物 7、9 和 14 分别被指认为 Kaempferol-3-O-rutinoside、Luteolin-7-O-glucoside 和 Vanillic acid glycoside.

在这项研究中, 通过 UHPLC-ESI-HRMS/MS 分析技术使唐古特白刺叶中 16 种植物化学成分被重新鉴定和确认. 在这 16 种化合物中, 化合物 6、7、9 和 10 为黄酮类化合物.

## 2.4 不同溶剂提取物的抗氧化活性

### 2.4.1 清除 DPPH 和 ABTS<sup>+</sup> 自由基和还原 Fe<sup>3+</sup> 的能力

表 3 为唐古特白刺叶不同溶剂提取物对 DPPH、ABTS<sup>+</sup> 自由基的清除作用以及对 Fe<sup>3+</sup> 的还原能力. 结果表明, 所有的溶剂提取物都具有良好抗氧化作用能力. 其中, 正丁醇提取物抗氧化能力最好 ( $P < 0.05$ ).

表 3 唐古特白刺叶各极性部位抗氧化活性

样品	DPPH(IC <sub>50</sub> )	ABTS <sup>+</sup> (IC <sub>50</sub> )	Fe <sup>3+</sup> (EC <sub>50</sub> )
EE	1.05 ± 0.01 <sup>c</sup>	0.63 ± 0.04 <sup>e</sup>	1.58 ± 0.07 <sup>c</sup>
CE	0.74 ± 0.02 <sup>b</sup>	0.23 ± 0.01 <sup>b</sup>	0.93 ± 0.06 <sup>b</sup>
EAE	0.98 ± 0.03 <sup>c</sup>	0.78 ± 0.05 <sup>f</sup>	2.22 ± 0.08 <sup>d</sup>
NBE	0.31 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.14 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.46 ± 0.01 <sup>a</sup>
WE	1.35 ± 0.07 <sup>b</sup>	0.89 ± 0.08 <sup>b</sup>	2.74 ± 0.11 <sup>c</sup>

注: 同列肩标小写字母不同表示差异显著 ( $P < 0.05$ ).

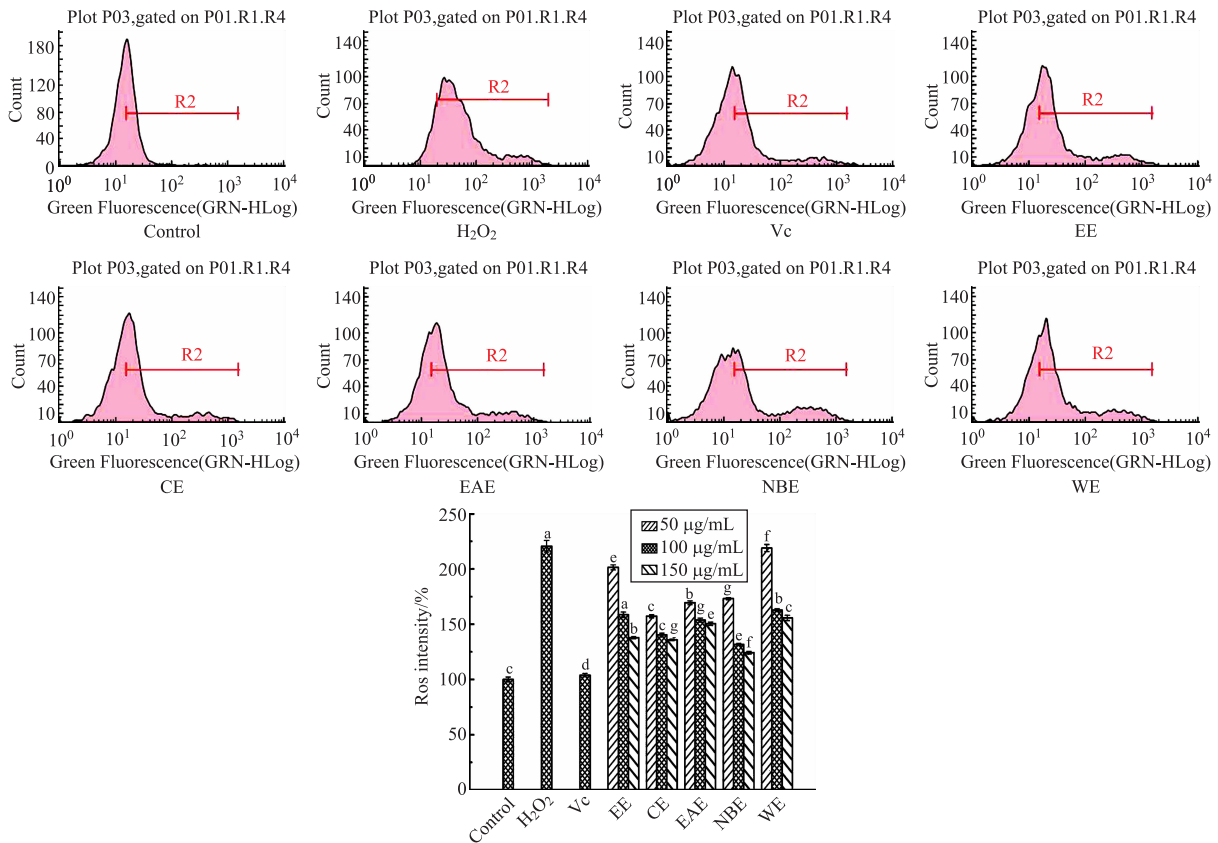
## 2.5 对细胞内 ROS 生成的抑制作用

不同提取物对 HepG-2 细胞的 MTT 测定结果表明样品在 150 μg/mL 浓度下无细胞毒作用. 因此, 每个样品选择 50、100 和 150 μg/mL 作为检测浓度. 图 5 表明, 与对照组相比, 用 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理 HepG-2 细胞后, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理组细胞内的 ROS 的相对含量增加到 (220.6 ± 5.22)%, 不同溶剂提取物预处理后, 细胞内活性氧水平显著降低 ( $P < 0.05$ ). 其中, NBE 组清除细胞内活性氧的能力最强, 而 WE 组则表现出对细胞内 ROS 抑制作用最低.

## 2.6 不同溶剂提取物对过氧化氢处理的 HepG-2 细胞中抗氧化酶活性的影响

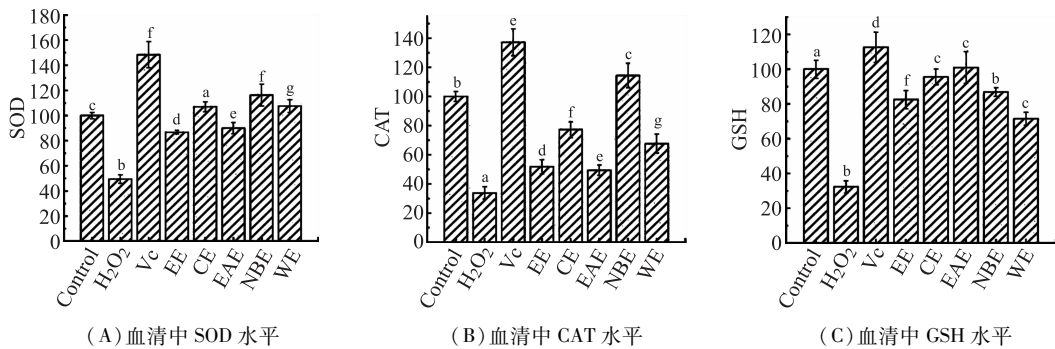
通过测量 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导 HepG-2 细胞中 SOD、CAT 和 GSH 水平来评估唐古特白刺叶中不同的溶剂提取物的抗氧化能力. 结果表明 (图 6), 1 mmol/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理后细胞内 SOD、CAT、GSH 水平显著降低 ( $P < 0.05$ ), 而唐古特白刺叶不同溶剂提取样品组能够显著升高 SOD、CAT、GSH 活性. 对于 SOD 和 CAT 水平, NBE 活性最高, 达到 66.79%, CAT 水平与模型组比较, 上升到 80.59%, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ). 此外, EAE 表现

出最高的 GSH 水平,上调至 68.62%,其次是 CE,NBE、EE,并且 WE 表现出最低的 GSH 水平.



同列肩标小写字母不同表示差异显著 ( $P < 0.05$ )

图 5 唐古特白刺叶不同溶剂提取物对  $H_2O_2$  诱导 HepG-2 细胞活性氧的影响



同列肩标小写字母不同表示差异显著 ( $P < 0.05$ )

图 6 唐古特白刺叶不同极性部位对  $H_2O_2$  诱导 HepG-2 细胞抗氧化酶活性的影响

### 3 讨论

溃疡性结肠炎(UC)是一种影响结肠组织的慢性炎症性疾病,在工业化国家发病率较高.该疾病发生过程中结肠粘膜层(包括直肠)反复出现炎症,并可能以近端和连续的方式延伸到结肠的其他部位.典型的临床症状包括带血腹泻、紧急撤离和里急后重,主要通过药物控制来诱导和维持缓解期,有助于减少并发症,提高患者的生活质量.然而,目前可用的治疗方法有很多缺点,比如使用氨基水杨酸盐时缓解率低,使用类固醇抗炎药的有害副作用大,以及与生物治疗相关的疗法成本费用高昂等问题.因此,有必要寻找新的治疗方法,唐古特白刺叶提取物可能是 UC 的辅助或补充疗法.

唐古特白刺俗称酸胖.在亚非洲国家,这种植物通常被用于防风固沙,保护生态环境.在我国,唐古特白刺叶已被用于治疗心肝肾疾病、糖尿病等<sup>[18]</sup>,具有抗菌、抗氧化、抗炎的作用.在 UC 中,一方面,紧密连接和

覆盖上皮层的粘液膜的破坏导致肠上皮的通透性增加,进一步增加管腔抗原的摄取.此时,巨噬细胞和树突状细胞(先天免疫细胞)通过分子模式识别受体(TLR)识别非致病细菌或共生微生物群后,将其功能状态从耐受性变为活化表型.在此过程中,结肠上皮细胞NF- $\kappa$ B途径的激活刺激促炎基因的转录,导致促炎细胞因子(TNF- $\alpha$ 、IL-6和IL-1 $\beta$ )的产生增加<sup>[19]</sup>.抗原处理后,巨噬细胞和树突状细胞将其呈递给初始CD<sub>4</sub>T细胞,促进分化为Th2效应细胞.然而,结肠损伤的炎症反应导致并发的肝脏的损伤,从而释放破坏性酶或自由基,进一步加剧促炎和抗炎细胞因子的失衡.因此,在炎症反应的发生和发展中,细胞因子起着至关重要的作用.我们的结果显示,唐古特白刺叶提取物能够显著抑制DSS诱导的UC小鼠TNF- $\alpha$ 、IL-6和IL-1 $\beta$ 水平,减少炎症因子释放,改善肠道损伤,稳定结肠屏障完整,缓解结肠炎症.

另一方面,氧化应激被定义为较高细胞水平的活性氧(ROS)(如超氧化物和羟基自由基)与细胞抗氧化防御之间的平衡破坏.当ROS不受酶和非酶抗氧化剂的控制,会导致氧化损伤,即细胞膜磷脂、蛋白质(受体和酶)和DNA的过氧化.肝脏极易受到ROS诱导的氧化损伤,该过程总产生极高水平的ROS,这是因为有氧代谢和血液灌注非常高,酶抗氧化防御相对较差.在正常生理条件下,活性氧的产生和消除通常处于动态平衡状态.然而,当细胞活性氧生成的速度大于消除速度,就会发生氧化应激反应.其中,H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>是细胞内最常见的反应性氧,是导致细胞氧化损伤的一个主要因素<sup>[20]</sup>.此次研究用H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>诱导HepG-2细胞氧化应激模型研究唐古特白刺叶乙醇粗提物(EE)和它的不同溶剂萃取物对HepG-2细胞ROS的影响,因为肝脏极易受到ROS诱导的氧化损伤,该过程总产生极高水平的ROS,这是因为它的有氧代谢和血液灌注非常高,酶抗氧化防御相对较差.GSH是一种丰富的非蛋白硫醇,是结肠防御氧化应激的基础.在本研究中唐古特白刺叶提取物处理使GSH的水平显著上升,这表明唐古特白刺叶有益于HepG-2细胞内源性还原剂的保存,并可能反映ROS的产生或螯合的减少.与ROS的产生相反,酶促抗氧化系统在链式反应后将这些有害物质催化成反应性较低的产物.SOD是一种在氧代谢中发挥重要作用的酶,人体中存在3种类型的SOD;线粒体中的锰SOD(MnSOD)、细胞质中的铜和锌SOD(Cu/Zn SOD)以及细胞外SOD,SOD也广泛存在于肠道表皮细胞和肝脏上皮细胞中,其催化超氧化物还原为H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>是一种相对稳定的活性氧,由于它不是自由基,不像其他活性氧那样具有反应性.然而,在过渡金属(如铁或铜)或损伤存在的情况下,H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>通过Fenton反应产生OH-(一种高度反应性的自由基).在大多数细胞和组织炎症中,H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>需要尽快被过氧化氢酶、谷胱甘肽(GSH)和谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)分解为水.CAT酶促进过氧化氢浓度和其他自由基的控制,是炎症的重要因素.本研究结果显示唐古特白刺叶提取物给药使SOD活性正常化,达到接近基线的水平甚至显著上升,同时显著增加CAT活性,其中正丁醇部位较之其它部位,抗氧化活性更为显著.有趣的是,CAT表达的调节是在转录、转录后和翻译后水平上进行的,由过氧化物酶体增殖物激活受体 $\gamma$ (PPAR $\gamma$ )受体调节,PPAR $\gamma$ 受体通过与远端PPAR $\gamma$ 反应元件结合来控制CAT基因表达.因此,唐古特白刺叶中存在的酚酸类成分对PPAR受体的激活可能通过过氧化物酶体的激活来证明本研究中描述的CAT活性的显著增加是合理的.然而,需要进一步的实验来证实这一假设.

本研究中使用的提取物经乙醇加热回流提取获得,并且通过福林-酚(Folin Ciocalteu)比色法、NaNO<sub>2</sub>-Al(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>-NaOH比色法和pH示差分光光度法测定了总多酚、总黄酮、总花色苷的含量.酚类、黄酮类和花青素在自然界分布广泛,具有较强的抗氧化活性.这三类化合物的极性范围很宽,可以从不同的极性溶剂中提取.因此,从不同极性部位提取的酚类、黄酮类和花青素的类型和含量也不同.酚类化合物中由于酚羟基的存在,多酚和类黄酮表现出良好的抗氧化和抗炎活性,可有效清除体内过量的活性氧,缓解氧化应激,也能通过抑制炎症因子的表达,发挥抗炎作用.以往研究报道了唐古特白刺叶中含有丰富的多酚和黄酮类成分,段金殿等<sup>[21]</sup>从唐古特白刺叶中分离鉴定出8个酚酸和黄酮类化合物,分别为:3-甲氧基-4-羟基-反式桂皮酸、对-羟基-反式肉桂酸、3-羟基-4-甲氧基-苯甲酸、邻-羟基苯甲酸、3,5-二甲醚-山柰黄素-7-O- $\beta$ -D-葡萄糖甙、3-甲醚-山柰黄素-7-O- $\beta$ -D-葡萄糖甙、异鼠李素-7-O- $\beta$ -D-葡萄糖甙、异鼠李素-3-O- $\beta$ -D-芸香糖甙.李海涛、赵建强、敖亮等<sup>[22-24]</sup>分离鉴定出16个酚酸和黄酮类化合物,包括常见的苜蓿素、苜蓿素-7-O- $\beta$ -D-葡萄糖苷、阿福豆苷、鼠李素等,并发现从中分离到的部分化合物具有显著的降低炎症因子的作用.本研究利用UHPLC-ESI-HRMS/MS技术,高效、快速地从唐古特白刺叶中鉴定出16种化合物,其中,正丁醇部位有3种黄酮类化合物被鉴定出,分别为化合物7(Kaempferol-3-O-rutinoside)、9(Luteolin-7-O-glucoside)、10(Diosmin).前人发现化合物9(Luteolin-

7-O-glucoside)和化合物 10(Diosmin)具有良好的抗炎和抗氧化活性<sup>[25-26]</sup>,Crespo 等<sup>[27]</sup>表明了化合物 10(Diosmin)对三硝基苯磺酸(TNBS)诱导的小鼠结肠炎具有抑制作用,其机制可能与其能够防止氧化损伤有关。Benavente-García O 等<sup>[28]</sup>发现化合物 10(Diosmin)可抑制不同促炎介质的合成和生物活性,主要是花生四烯酸衍生物、前列腺素 E2、F2 和血栓素 A2。实验结果显示,唐古特白刺叶提取物有效降低了促炎细胞因子(TNF- $\alpha$ 、IL-6 和 IL-1 $\beta$ )和抗氧化酶(GSH、CAT 和 SOD)的产生,缓解了小鼠的溃疡性结肠炎。另外,不同溶剂提取物中总多酚与自由基清除活性之间存在很强的正相关,呈现剂量依赖性。

#### 4 结语

在这项研究中,验证了唐古特白刺叶对 DSS 诱导的小鼠溃疡性结肠炎的缓解作用,并通过 UHPLC-ESI-HRMS/MS 分析技术确定了唐古特白刺叶醇提物不同极性部位的 16 种酚类化学成分,在化学成分的基础上,发现了白刺叶对 DPPH、ABTS<sup>+</sup> 自由基有较好的清除作用和较好的还原铁离子能力以及升高细胞内抗氧化酶的作用。由此可得,白刺叶缓解溃疡性结肠炎的作用机制可能与降低炎症因子表达和维持氧化应激平衡有关,且发挥抗炎和抗氧化作用与其含有丰富的黄酮和多酚类成分有重要联系。因此,唐古特白刺叶有望成为抗氧化和抗炎成分的来源,为其在 UC 治疗中的适用性提供了可用的临床前证据。

#### 参考文献:

- [1] 闫琨,李培红,刘琼英,等. 还涎方治疗溃疡性结肠炎的疗效及对血清 IL-6、TNF- $\alpha$  水平的影响[J]. 现代肿瘤医学, 2019, 27(22): 4023-4025.
- [2] 李婷,邹秋萍,何红平,等. 中药有效成分干预溃疡性结肠炎的机制研究[J]. 云南民族大学学报(自然科学版), 2020, 29(6): 541-548.
- [3] JEON Y D, LEE J H, LEE Y M, et al. Puerarin inhibits inflammation and oxidative stress in dextran sulfate sodium-induced colitis mice model[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2020, 124: 109847.
- [4] 黄楚泉,蔡奕,林揆斌,等. 慢性痛风急性发作患者 TNF- $\alpha$ 、IL-2、IL-6 变化水平及与肾功能相关性研究[J]. 实用医院临床杂志, 2019, 16(2): 169-172.
- [5] 陈博,孙夕童,董新茜,等. 氧化应激在溃疡性结肠炎中的作用及中医药防治研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2023, 29(16): 264-273.
- [6] 中国科学院甘肃省冰川冻土沙漠研究所沙漠研究室. 中国沙漠地区药用植物[M]. 兰州: 甘肃人民出版社, 1981: 538-539.
- [7] ZOU Q P, FENG J, LI T, et al. Antioxidation and anti-inflammatory actions of the extract of *Nitraria Tangutorum* Bobr. fruits reduce the severity of ulcerative colitis in a dextran sulphate sodium-induced mice model[J]. Journal of Functional Foods, 2022, 91: 105005.
- [8] 索有瑞,李玉林,王洪伦,等. 柴达木盆地唐古特白刺果实调节免疫、抗疲劳和耐寒冷作用研究[J]. 天然产物研究与开发, 2005, 17(6): 717-721.
- [9] 任旭,陈贵林. 唐古特白刺果实提取物抗氧化活性评价[J]. 食品科学, 2011, 32(3): 95-97.
- [10] 刘明秀,邹秋萍,刘绍科,等. 锦鸡儿花及根中酚性物质的含量及其抗氧化作用的比较研究[J]. 陕西农业科学, 2022, 68(7): 10-16.
- [11] RETA C, ATLABCHEW M, ASMELLASH T, et al. Polyphenol and flavonoid content in major Teff [*Eragrostis tef* (*Zuccagni*) Trotter] varieties in Amhara Region, Ethiopia[J]. PLoS One. 2022, 17(8): e0272010.
- [12] DEINEKA L A, SIDOROV A N, DEINEKA V I, et al. Specific features of the spectrophotometric determination of monomeric anthocyanins[J]. Journal of Analytical Chemistry. 2020, 75(6): 754-758.
- [13] 杨美莲,樊志峰,蔡圣宝,等. 桑葚花色苷提取工艺优化及抗氧化活性研究[J]. 云南民族大学学报(自然科学版), 2019, 28(1): 9-15.
- [14] 孙丹,黄土洪,蔡圣宝. 不同加工方式对苦荞中总酚、总黄酮及抗氧化性的影响[J]. 食品与发酵工业, 2016, 42(1): 141-147.
- [15] ATAY BALKAN İ, DOĞAN H T, ZENGİN G, et al. Enzyme inhibitory and antioxidant activities of *Nerium oleander* L. flower extracts and activity guided isolation of the active components[J]. Industrial Crops and Products, 2018, 112: 24-31.
- [16] FAN Z F, WANHG Y D, YANG M L, et al. UHPLC-ESI-HRMS/MS analysis on phenolic compositions of different E Se tea extracts and their antioxidant and cytoprotective activities[J]. Food Chemistry, 2020, 318: 126512.
- [17] TAKEHIKO Y K, HASHIMOTO T C, OHKUMA S T, et al. Alteration of acetaldehyde metabolism in carbon tetrachloride-intoxicated rat liver: analysis using liver perfusion system[J]. Alcohol Alcohol, 1984, 19(2): 101-107.
- [18] 常琼,丘熠童,马晓雨,等. 藏药唐古特白刺果提取物改善 2 型糖尿病大鼠认知功能的作用及可能机制[J]. 中国高原医

- 学与生物学杂志,2021,42(3):175-180.
- [19] HEYDARPOUR P, RAHIMIAN R, FAKHFOURI G, et al. Behavioral despair associated with a mouse model of Crohn's disease: role of nitric oxide pathway[J]. Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry, 2016, 64: 131-141.
- [20] ROBERTS-THOMSON I C, FON J, UYLAKI W, et al. Cells, cytokines and inflammatory bowel disease: a clinical perspective [J]. Expert Review of Gastroenterology & Hepatology, 2011, 5(6): 703-716.
- [21] 段金厥,周荣汉,赵守训,等. 唐古特白刺叶黄酮类及酚酸类成分的分离鉴定[J]. 植物资源与环境, 1999(1): 7-10.
- [22] 李海涛,曹芳,张东梅. 唐古特白刺叶化学成分的研究[J]. 中成药, 2018, 40(7): 1532-1535.
- [23] 赵建强,辛海量,蒋益萍,等. 唐古特白刺叶的化学成分研究[J]. 中草药, 2016, 47(7): 1090-1093.
- [24] 敖亮,李静,刘宇宏. 唐古特白刺叶化学成分及其抗炎活性研究[J]. 中国现代中药, 2018, 20(2): 169-172.
- [25] PARK C M, SONG Y S. Luteolin and luteolin-7-O-glucoside protect against acute liver injury through regulation of inflammatory mediators and antioxidative enzymes in GalN/LPS-induced hepatic ICR mice[J]. Nutrition Research and Practice, 2019, 13(6): 473-479.
- [26] 耿栋栋,苏淑红,杜慧清,等. 香叶木苷对异丙肾上腺素诱导的大鼠心脏功能紊乱和氧化应激的影响及其分子机制[J]. 河南大学学报(医学版), 2022, 41(2): 103-109.
- [27] CRESPO M, GALVEZ J, CRUZ T, et al. Anti-inflammatory activity of diosmin and hesperidin in rat colitis induced by TNBS [J]. Planta Medica, 1999, 65(7): 651-653.
- [28] BENEAVENTE GARCIA O, CASTILLO J. Update on uses and properties of citrus flavonoids: new findings in anticancer, cardiovascular, and anti-inflammatory activity[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2008, 56(15): 6185-6205.

## Evaluation of the alleviating effect of *Nitraria Tangutorum* Bobr. leaves extract on ulcerative colitis induced by DSS in mice and its antioxidant stress effect based on HepG-2 cells

PU Xing-na<sup>1</sup>, FENG Jian<sup>2</sup>, GUO Jing<sup>1</sup>, LIU Ming-xiu<sup>1</sup>, WANG Yu-dan<sup>2</sup>, LI Yan-ping<sup>1</sup>

(1. School of Traditional Chinese Medicine, Yunnan University of Chinese Medicine, Kunming 650500, China;

2. National and Local Joint Engineering Research Center for Green Preparation Technology of Biobased Materials, Yunnan Minzu University, Kunming 650500, China)

**Abstract:** The study aims to explore the alleviating effect of *Nitraria Tangutorum* Bobr. leaves on mice with DSS induced ulcerative colitis and its possible mechanism. Mice with ulcerative colitis induced by DSS were treated with the extract of *Nitraria Tangutorum* Bobr. leaves, the histopathological changes of colon were observed by HE staining and disease activity index (DAI), and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect the content of inflammatory factors IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ . In addition, HPLC-ESI-HRMS/MS was used to identify the chemical components of *Nitraria Tangutorum* Bobr. Leaves. On the basis of the chemical components, the levels of antioxidant enzymes such as reactive oxygen species (ROS), glutathione transferase (GSH), superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) were detected based on HepG-2 cells. Compared with normal group, colon DAI score and serum levels of IL-6, IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  were increased in the model group ( $P < 0.01$ ). ROS levels were increased in the model group, while GSH, SOD and CAT were decreased in the HepG-2 cells ( $P < 0.05$ ). Compared with the model group, DAI, IL-6, IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  levels in serum were decreased ( $P < 0.01$ ), symptoms of ulcerative colitis were alleviated, ROS levels in HepG-2 cells were decreased, and GSH, SOD and CAT levels were increased in *Nitraria Tangutorum* Bobr. leaves group ( $P < 0.05$ ). Conclusion *Nitraria Tangutorum* Bobr. leaves have therapeutic effects on DSS induced ulcerative colitis, and the mechanism of action may be closely related to reducing the levels of inflammatory factors and active oxygen, increasing the levels of antioxidant enzymes at the same time.

**Key words:** *Nitraria Tangutorum* Bobr.; anti-ulcerative colitis; anti-inflammatory; antioxidant; UHPLC-ESI-HRMS/MS