

北苍术米泔水炮制前后化学成分变化及其对脾虚泄泻大鼠肠道真菌菌群的影响

方晶, 翁丽丽, 王美怡, 肖春萍*, 杨雪晴, 孙金, 冯禹壮

长春中医药大学药学院, 吉林 长春 130117

摘要: **目的** 探究北苍术 *Atractylodes chinensis* 米泔水炮制前后成分变化及其对大黄所致脾虚泄泻模型大鼠肠道真菌菌群的影响。**方法** 采用气相色谱串联四极杆质谱仪联用技术 (GC-MS) 和 HPLC 法对北苍术生品及其米泔水炮制品化学成分进行对比分析, 利用 ITS 高通量测序技术, 探究其对大黄所致脾虚泄泻模型大鼠肠道真菌群落变化的影响。**结果** GC-MS 和 HPLC 结果显示, 炮制前后化学成分类型没有改变, 而成分含量多有变化, 其中挥发油类 (茅术醇、 β -桉叶醇、 α -红药没醇、苍术酮) 炮制后含量显著降低 ($P < 0.05$), 多数酯类成分炮制后含量增加, 可能与北苍术“炮制减燥”有关。高通量测序结果显示, 属水平上, 生北苍术组真菌群落结构与模型组相似, 而米泔水制北苍术组更接近于空白组, 说明米泔水制北苍术能够调节大黄所致的脾虚型腹泻, 对于肠道真菌菌群的调控能力优于生北苍术。Pearson 相关性分析表明, 部分真菌菌群与活性成分含量相关, 如线黑粉酵母属 *Filobasidium* sp.、链格孢属 *Alternaria* sp. 真菌与米泔水制北苍术中白术内酯 II 含量显著正相关 ($P < 0.05$), 与苍术酮含量呈显著负相关 ($P < 0.05$)。**结论** 北苍术米泔水炮制前后化学成分含量存在差异, 其中茅术醇、 β -桉叶醇、苍术酮与北苍术炮制减燥及治疗脾虚泄泻疾病有密切关系, 米泔水制北苍术对模型大鼠肠道真菌调控能力优于生北苍术, 该研究结果可为扩大米泔水制苍术临床应用提供理论参考。

关键词: 北苍术; 米泔水制; 肠道菌群; GC-MS; HPLC; 脾虚泄泻; ITS 高通量测序技术; 茅术醇; β -桉叶醇; α -红药没醇; 苍术酮; 炮制减燥; 真菌; 线黑粉酵母属; 链格孢属; 白术内酯 II

中图分类号: R283.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2022)23-7372-12

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.23.007

Analysis of chemical compositions in *Atractylodes chinensis* with rice water before and after processing and its effects on intestinal fungal flora of spleen deficiency diarrhea rats

FANG Jing, WENG Li-li, WANG Mei-yi, XIAO Chun-ping, YANG Xue-qing, SUN Jin, FENG Yu-zhuang

School of Pharmaceutical Science, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China

Abstract: Objective To explore the changes of composition in *Atractylodes chinensis* (AC) with rice water before and after processing and its effect on intestinal fungal flora of rats with spleen deficiency and diarrhea caused by Dahuang (*Rhei Radix et Rhizoma*, RRR). **Methods** The chemical components of the raw products and processed products of AC were analyzed by GC-MS and HPLC technologies. ITS high-throughput sequencing technology was used to explore the effects of them on intestinal fungal community changes in rats with spleen deficiency diarrhea induced by RRR. **Results** The results of GC-MS and HPLC showed that there was no change in the type of chemical components before and after processing, but the content of chemical components changed. The volatile contents of hinesol, β -eudesmol, α -bisabolol and atractylone decreased significantly ($P < 0.05$) and the content of most esters increased after processing. Maybe it related to “processing reduced the dryness”. At the genus level, high-throughput sequencing results showed that the fungal community structure of AC group was similar to the model group, and the AC prepared by rice water was closer to the blank group, indicating that AC processed by rice water could regulate spleen deficiency diarrhea caused by RRR, and the regulation ability of intestinal fungal flora was better than the raw products. Pearson correlation analysis showed that some

收稿日期: 2022-06-24

基金项目: 吉林省科技厅科技项目 (20220204062YY); 吉林省国家级大学生创新创业训练计划项目 (202210199046)

作者简介: 方晶, 女, 硕士研究生, 研究方向为中药品质鉴定、质量标准及其开发利用。Tel: (0431)81672193 E-mail: 835506940@qq.com

*通信作者: 肖春萍, 女, 副教授, 博士, 研究方向为中药资源、栽培理论和技术。Tel: (0431)81672193 E-mail: btwnw@163.com

fungal groups were correlated with the content of active ingredients. There was a significantly positive correlation between *Filobasidium* sp., *Alternaria* sp. and atractylenolide II content, the correlation with atractylone content was significantly negative.

Conclusion There were differences in chemical composition content of AC with rice water before and after processing. Among them, hinesol, β -eudesmol and atractylone were closely related to AC desiccation and treating spleen deficiency and diarrhea diseases. And the regulation ability of intestinal fungi in the model rats with AC processed by rice water was better than that raw products of AC. The results can provide theoretical reference for expanding the clinical application of rice water processed AC.

Key words: *Atractylodes chinensis* (DC.) Koidz.; rice water processing; intestinal flora; GC-MS; HPLC; spleen deficiency diarrhea; high-throughput sequencing technology on ITS; hinesol; β -eudesmol; α -bisabolol; atractylone; processing reduced dryness; fungus; *Filobasidium* sp.; *Alternaria* sp.; atractylenolide II

北苍术 *Atractylodes chinensis* (DC.) Koidz. 为菊科苍术属多年生草本植物, 入药部位为根茎, 有燥湿健脾、祛风散寒等功效, 是《中国药典》2020 年版苍术药材正品来源之一^[1]。苍术的主要活性成分为苍术素、苍术酮和 β -桉叶醇等挥发性成分, 分为倍半萜类和聚乙炔炔类, 具有抗溃疡和抗菌、抗炎等药理作用^[2-3]。古代记载苍术的炮制方法有麸炒、醋炒、酒炒、米泔浸等, 苍术经过米泔水炮制能缓和燥烈之性、增强健脾作用^[4]。脾虚泄泻是脾阳虚而致运化失常, 多表现为腹泻、久泻不愈等。研究发现, 腹泻与肠道菌群密切相关, 肠道菌群可参与人体多种生理活动, 良好的肠道菌群环境能够保证机体各项功能正常发挥^[5-6]。近年来, 利用中药恢复肠道内微生态环境来治疗腹泻的方法得到推崇。目前已有研究表明, 苍术经米泔水炮制后, 可提高其健脾和胃、利尿、调节胃肠功能与分泌的治疗作用^[7-8]。课题组前期已优选出米泔水制北苍术最佳炮制工艺(米水比例为 1:60, 米泔水用量 25 mL, 闷润 2 h, 炒制温度 160 °C, 炒制时间 30 min), 并建立了脾虚泄泻症大鼠模型(20 mL/kg ig 200% 大黄水煎液, 早晚各 1 次, 造模 10 d)^[9]。尚未发现国内研究米泔水制苍术对大鼠肠道内真菌物种组成结构及丰度的影响, 因此, 本研究在此基础上采用气相色谱串联四极杆质谱仪联用技术(GC-MS)和 HPLC 法对北苍术米泔水炮制前后的化学成分进行对比分析, 利用 ITS 高通量测序技术探究北苍术生品及其米泔水制品对大黄所致脾虚泄泻模型大鼠肠道内真菌物种组成及丰度变化的影响, 并对差异菌属与化学成分进行 Pearson 相关性分析, 建立肠道真菌-活性成分相互作用关系, 为扩大米泔水制苍术的临床应用提供理论参考。

1 仪器与材料

1.1 仪器

TRACE 1310 型气相色谱仪、TSQ 8000 Evo 型

三重四极杆气质联用仪, 赛默飞世尔科技公司; LC-1260 型高效液相色谱仪, 美国 Agilent 公司; AL104 型电子分析天平, 瑞士梅特勒-托利多集团。

1.2 材料与试剂

北苍术药材(批号 20200206) 购买自河北省安国市荣华本草中药材有限公司, 经长春中医药大学翁丽丽教授鉴定为菊科植物北苍术 *A. chinensis* (DC.) Koidz. 的干燥根茎。米泔水制北苍术参考 2020 版《吉林省中药饮片炮制规范》米泔水制苍术项下炮制方法及课题组前期研究成果制备^[9-10]; 对照品苍术酮(批号 P11M10F73437, 质量分数 97.3%)、白术内酯 II(批号 M22A10S95762, 质量分数 99.9%)、苍术素(批号 P29N9F76159, 质量分数 98%)、 β -桉叶醇(批号 P24O8F46474, 质量分数 99.4%) 均购自上海源叶生物科技有限公司; 甲醇、乙腈为色谱纯, 醋酸乙酯为分析纯, 水为超纯水。

1.3 动物

实验动物为 SPF 级雄性 Wistar 大鼠, 共 24 只, 购于辽宁长生生物技术股份有限公司, 许可证号 SCXK(辽)2020-0001, 质量合格证号 210726210100 208713, 动物实验经长春中医药大学实验动物伦理委员会批准, 批准文号 2020317。

2 方法与结果

2.1 炮制前后挥发油及醇提物得率变化

取生北苍术、米泔水制北苍术粉碎过二号筛, 各称定粉末约 40 g, 置于 500 mL 圆底烧瓶中, 按固液比 1:8 加入蒸馏水, 浸泡 1 h 后, 按《中国药典》2020 年版四部 2204 通则附录(甲法)进行水蒸气蒸馏 5 h, 提取至无挥发油滴出, 静止冷却 1 h, 氯化钠脱水后称定质量并计算挥发油得率。

取生北苍术、米泔水制北苍术粉碎过三号筛, 各称取 75.6 g, 分别用 10 倍量体积 80% 乙醇浸泡 12 h 后超声提取, 共提取 3 次, 每次 2 h, 滤过, 分别合并滤液, 经 40 °C 减压蒸干, 称定质量并计算醇

提物得率。

水蒸气蒸馏法提取的生北苍术挥发油呈棕黄色，黏稠，透明，且具有一定香味，得率为 1.25%；米泔水制北苍术挥发油呈深棕黄色，黏稠，不透明，且具有一定香味，得率为 0.80%；经米泔水炮制后挥发油得率比生北苍术挥发油得率降低了 36%。醇提法提取的生北苍术醇提物得率为 34.8%，米泔水制北苍术醇提物得率为 29.3%，经米泔水炮制后醇提物得率比生北苍术醇提物得率降低了 15.80%。

2.2 基于 GC-MS 分析炮制前后挥发油及醇提物成分变化

采用 GC-MS 联用方法得到挥发油及醇提物总离子流图，对 2 种提取方法下的炮制前后北苍术成分进行比较分析，同时对炮制前后化学成分进行鉴定，所得数据结果通过 NIST11 谱库匹配检索，在结合相关文献进行人工质谱图解析确定化合物，应用峰面积归一化法确定其相对含量。

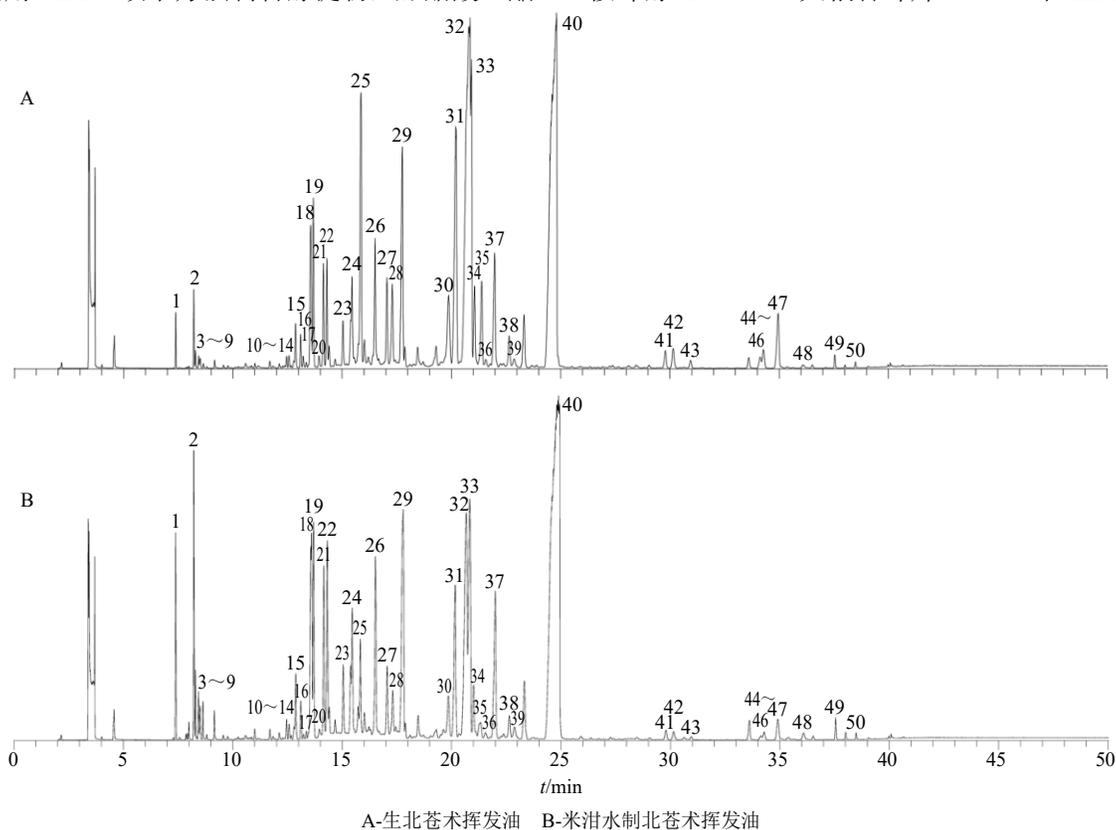
2.2.1 GC-MS 分析样品的制备 利用“2.1”项下方法制备挥发油，取 100 μL 挥发油，加入 900 μL 醋酸乙酯溶解，用 0.22 μm 滤头滤过后即得挥发油样品。利用“2.1”项下方法制备醇提物，加醋酸乙酯

溶解定容至 10 mL，用 0.22 μm 滤头滤过后即得醇提物样品。

2.2.2 挥发油样品气相色谱条件 色谱柱为 Rtx-5 毛细管柱 (30 m \times 0.32 mm, 0.25 μm)；载气为高纯 He (99.999%)；体积流量为 1 mL/min；进样口温度 250 $^{\circ}\text{C}$ ；自动分流进样；初始柱温为 30 $^{\circ}\text{C}$ ，维持 1 min，以 15 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 150 $^{\circ}\text{C}$ ，再以 2 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至 200 $^{\circ}\text{C}$ ，维持 2 min，最后以 20 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至 280 $^{\circ}\text{C}$ ，维持 10 min。

质谱使用 EI 离子源轰击，电离能量 70 eV，离子源温度 230 $^{\circ}\text{C}$ ，接口温度 280 $^{\circ}\text{C}$ ，扫描质量范围 m/z 20~500。溶剂切除时间 5 min，开始时间 5.0 min，结束时间 50.0 min。

2.2.3 挥发油成分变化 挥发油总离子流图如图 1 所示。北苍术米泔水炮制前后挥发油中共发现有 50 种化学成分，多为醇类、芳香烃类、烯烃类、酯类和酮类等，结果见表 1。可知生北苍术挥发油中相对含量较高的成分为 2,3-二氢-1*H*-苯丙氨酸-1-酮 (24.49%)、 β -桉叶醇 (21.61%) 和茅术醇 (7.37%)；米泔水制北苍术挥发油中相对含量较高的成分为 β -桉叶醇 (13.95%)、大根香叶烯 (8.93%) 和 modephene



A-挥发油 A. chinensis B-米泔水制北苍术挥发油

图 1 北苍术米泔水制前后挥发油总离子流量图

Fig. 1 Total ion chromatograms of volatile oil from *A. chinensis* with rice water before and after processing

表1 GC-MS法测定北苍术米泔水制前后挥发油中化学成分对比

Table 1 Composition changes of volatile oils before and after rice water processing of *A. chinensis* by GC-MS

峰号	<i>t_R</i> /min	分子式	名称	相对含量/%	
				生北苍术	米泔水制北苍术
1	7.39	C ₁₀ H ₁₆	α-蒎烯	0.49	2.84
2	8.21	C ₁₀ H ₁₆	双环[3,1,0]己-2-烯,2-甲基-5-(1-甲基乙基)	0.64	4.30
3	8.29	C ₁₀ H ₁₆	3-蒎烯	0.15	0.84
4	8.44	C ₁₀ H ₁₄	邻异丙基甲苯	0.11	0.60
5	8.51	C ₁₀ H ₁₆	双环[3,1,0]己烷,4-亚甲基-1-(1-甲基乙基)	0.12	0.65
6	8.64	C ₁₀ H ₁₆	α-罗勒烯	0.05	0.52
7	9.16	C ₁₀ H ₁₆	环己烯, 1-甲基-4-(1-甲基亚乙基)	0.10	0.44
8	9.57	C ₁₀ H ₁₈ O	1-甲基-4-(1-甲基乙基)-2-环己烯-1-醇	0.04	0.09
9	9.77	C ₁₀ H ₁₈ O	4-甲基-1-(1-甲基乙基)-3-环己烯-1-醇	0.03	0.07
10	11.00	C ₁₁ H ₁₆ O	苯,1-甲氧基-4-甲基-2-(1-甲基乙基)	0.06	0.19
11	11.16	C ₁₆ H ₃₂ O	9-十六烯醇	0.05	0.04
12	11.84	C ₁₀ H ₁₄ O	香芹酚	0.03	0.08
13	12.12	C ₁₁ H ₂₀ O ₂	十一碳烯酸	0.07	0.16
14	12.46	C ₁₅ H ₂₂ O	1,2,3,4,5,6-六氢-1,1,5,5-四甲基-2,4a-甲基萘 7(4aH)	0.14	0.40
15	12.87	C ₁₅ H ₂₄	长叶松萜烯-(V4)	0.68	1.53
16	13.10	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	乙酸香叶酯	0.43	0.75
17	13.22	C ₁₄ H ₂₆ O ₃	(Z)-1-癸烯-4-烯-1-甲基碳酸丙酯	0.16	0.10
18	13.56	C ₁₅ H ₂₄	modephene	2.79	7.57
19	13.68	C ₁₅ H ₂₄	berkheyaradulene	2.23	4.34
20	13.95	C ₁₅ H ₂₄	cyperene	0.18	0.21
21	14.15	C ₁₅ H ₂₄	β-异烯	1.48	3.74
22	14.30	C ₁₅ H ₂₄	β-石竹烯	1.52	4.49
23	15.04	C ₁₀ H ₁₆	α-石竹烯	0.72	1.60
24	15.46	C ₁₅ H ₂₅	4a,8-二甲基-2-(1-甲基乙基)-1,2,3,4,4a,5,6,7-八氢萘	1.82	2.78
25	15.86	C ₁₅ H ₂₄	β-桉叶烯	5.66	2.28
26	16.50	C ₁₅ H ₂₄	β-倍半萜烯	2.17	4.53
27	17.05	C ₁₅ H ₂₄	(4aR,8aS)-4a-甲基-1-亚甲基-7-(丙烷-2-亚烷基)十氢萘	1.53	1.95
28	17.29	C ₁₅ H ₂₆ O	hedycaryol	1.48	1.26
29	17.75	C ₁₅ H ₂₅	大根香叶烯	4.58	8.93
30	19.87	C ₁₅ H ₂₆ O	epi-γ-桉叶油醇	1.71	1.41
31	20.20	C ₁₅ H ₂₆ O	茅术醇	7.37	5.08
32	20.85	C ₁₅ H ₂₄ O	β-桉叶醇	21.61	13.95
33	20.92	C ₁₅ H ₂₀ O	苍术酮	4.29	2.02
34	21.06	C ₁₅ H ₂₆ O	丁香酚	1.37	1.55
35	21.39	C ₁₅ H ₂₆ O	α-红药没醇	1.77	0.76
36	21.58	C ₁₅ H ₂₄ O	1,4-甲烷七氮烯-7(1H)-一,八氢-1,5,5,8a-四甲基	0.14	0.22
37	21.98	C ₁₂ H ₁₀ N ₂	4-苯乙烯基吡嗪	2.35	4.84
38	22.65	C ₁₅ H ₂₄ O	异芦丁烯醇	0.65	0.73
39	23.33	C ₁₅ H ₂₂ O	(4aR,5S)-4a,5-二甲基-3-(1-甲基亚乙基)-4,5,6,7,8-六氢-2(3H)萘酮	1.14	1.88
40	24.81	C ₁₃ H ₁₀ O	2,3-二氢-1H-苯丙氨酸-1-酮	24.49	6.97

续表 1

峰号	t_R /min	分子式	名称	相对含量/%	
				生北苍术	米泔水制北苍术
41	29.79	$C_{17}H_{26}O_2$	(<i>E</i>)-2-[(8 <i>R</i> ,8 <i>aS</i>)-8,8 <i>a</i> -二甲基-3,4,6,7,8,8 <i>a</i> -六氢萘-2(<i>1H</i>)-亚烷基]乙酸丙酯	0.40	0.34
42	30.15	$C_{17}H_{26}O_2$	(<i>E,Z</i>)-缬草萜烯醇异戊酸酯	0.48	0.30
43	30.95	$C_{15}H_{20}O$	4,5,9,10-脱氢异氟萘酚	0.18	0.11
44	33.60	$C_{16}H_{18}O$	(<i>R</i>)-4,4 <i>a</i> ,5,6,7,8-六氢-4 <i>a</i> β -苯基萘-2(<i>3H</i>)-酮	0.23	0.63
45	34.13	$C_{15}H_{18}O_2$	2,4,6-环庚三烯-1-酮,2-羟基-5-(3-甲基-2-丁烯基)-4-(1-甲基乙基)	0.28	0.07
46	34.28	$C_{16}H_{22}$	4,4-二甲基-2,2-二甲基双环己基-3,3-二烯	0.34	0.23
47	34.95	$C_{15}H_{18}O$	3,5,8 <i>a</i> -三甲基-4,4 <i>a</i> ,8 <i>a</i> ,9-四氢萘并[2,3- <i>b</i>]呋喃	1.34	0.77
48	36.09	$C_{13}H_{12}$	1-(2-丙烯基)萘	0.09	0.24
49	37.55	$C_{12}H_{12}O_2$	2-乙酰基-1-四氢萘酮	0.20	0.48
50	38.49	$C_{18}H_{26}O_2$	2-(3,7-二甲基-2,6-辛二烯-1-基)-1,4-二甲氧基苯	0.08	0.15

(7.57%)。与生北苍术比较,炮制前后所含挥发油的化学成分种类无变化,但其相对含量有所改变。其中米泔水炮制后成分相对含量下降幅度较大的有 2,3-二氢-1*H*-苯丙氨酸-1-酮(17.52%)、 β -桉叶醇(7.66%)、 β -桉叶烯(3.37%)、茅术醇(2.29%)和苍术酮(2.26%);米泔水炮制后成分相对含量上升幅度较大的有 modephene(4.77%)、大根香叶烯(4.35%)、双环[3,1,0]己-2-烯,2-甲基-5-(1-甲基乙基)(3.66%)、 β -石竹烯(2.96%)和 4-苯乙炔基吡嗪(2.49%)。

2.2.4 醇提物样品气相色谱条件 色谱柱为 Rtx-5 毛细管柱(30 m \times 0.32 mm, 0.25 μ m);载气为高纯 He(99.999%);体积流量为 1 mL/min;进样口温度 250 $^{\circ}$ C;自动分流进样;初始柱温为 60 $^{\circ}$ C,以 15 $^{\circ}$ C/min 升温至 280 $^{\circ}$ C,维持 5 min。

质谱使用 EI 离子源轰击,电离能量 70 eV,离子源温度 250 $^{\circ}$ C,接口温度 250 $^{\circ}$ C,扫描质量范围 m/z 30~500。溶剂切除时间 4 min,开始时间 4.0 min,结束时间 20.0 min。

2.2.5 醇提物成分变化 醇提物总离子流图如图 2 所示。北苍术米泔水炮制前后醇提物中共发现有 30 种化学成分,多为酯类、醇类和酚类等,结果见表 2。可知生北苍术醇提物中相对含量较高的成分为 4-苯乙炔基吡嗪(17.18%)、 β -桉叶醇(11.49%)和 3-甲基-4-异丙基苯酚(10.86%);米泔水制北苍术醇提物中相对含量较高的成分为 5,8,11,14-花生四烯酸(19.73%)、2-硝基联苯(18.70%)和 4-苯乙炔基吡嗪(11.94%)。

与生北苍术醇提物比较,炮制后醇提物中所含化学成分种类基本没有变化,但其相对含量有所改

变。其中米泔水制后成分相对含量下降幅度较大的有 3-甲基-4-异丙基苯酚(10.72%)、 β -桉叶醇(10.66%)、4-(2,4,4-三甲基环己-1,5-二烯基)-3-丁烯-2-酮(5.66%)和 4-苯乙炔基吡嗪(5.24%);米泔水制后成分相对含量上升幅度较大的有 5,8,11,14-花生四烯酸(19.65%)、2-硝基联苯(16.16%)、*N*-[24-氧代-3 α ,7 α ,12 α -三(三甲基硅氧基)-5 β -胆聚糖-24-基]甘氨酸甲酯(8.13%)。

2.3 基于 HPLC 测定挥发油及醇提物成分变化

利用“2.1”项下方法制备挥发油。取 60 mg 挥发油样品加 10 mL 甲醇溶解,即得挥发油 HPLC 样品;利用“2.1”项下方法制备醇提物,经 40 $^{\circ}$ C 减压浓缩至 100 mL,取适量浓缩液滤过即得醇提物 HPLC 样品;精密称取白术内酯 II、 β -桉叶醇、苍术素、苍术酮对照品适量,置于同一量瓶中,加甲醇溶解制成质量浓度分别为 10.1、33.0、44.0、53.4 μ g/mL 的混合对照品溶液,备用。色谱条件参考本课题组前期一测多评方法^[1],使用安捷伦 Eclipse XDB-C₁₈(250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m) 色谱柱,以乙腈-0.2%磷酸水溶液为流动相,梯度洗脱:0~3 min, 55%乙腈;3~20 min, 55%~60%乙腈;20~35 min, 60%~65%乙腈;35~55 min, 65%~85%乙腈;55~60 min, 85%~95%乙腈,检测波长分别为 208 nm(白术内酯 II、 β -桉叶醇, 0~28 min)、340 nm(苍术素, 28~45 min)、220 nm(苍术酮, 45~60 min);体积流量 1 mL/min,柱温 32 $^{\circ}$ C;进样量 15 μ L。色谱图见图 3。根据 HPLC 图谱,显示有 4 个含量较高的峰且分离度较好,即白术内酯 II(峰 1)、 β -桉叶醇(峰 2)、苍术素(峰 3)、苍术酮(峰 4)。由表 3 可知,经米泔水炮制后,4 种成分均有不同程度降

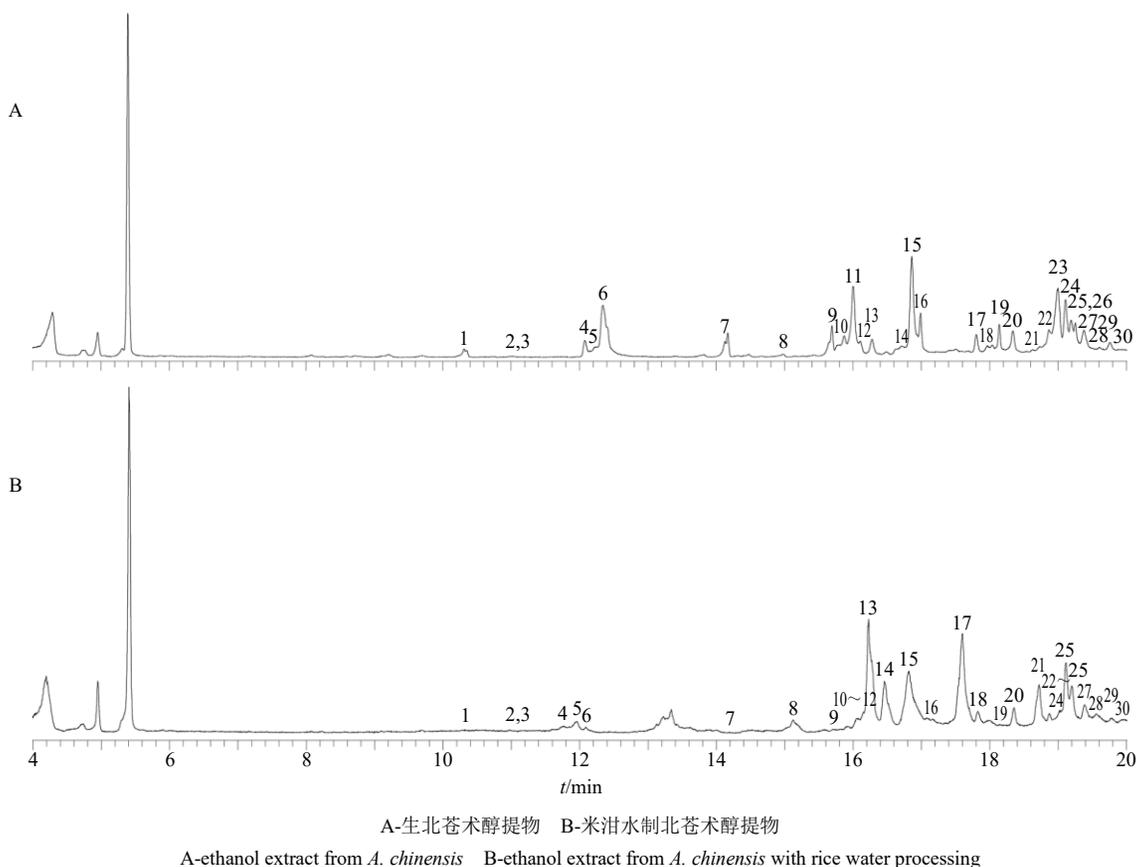


图 2 北苍术米泔水制前后醇提取物总离子流图

Fig. 2 Total ion chromatograms of ethanol extract from *A. chinensis* with rice water before and after processing

低，与生北苍术挥发油对比，米泔水制北苍术醇提取物中白术内酯 II、苍术素和苍术酮成分含量较高。

2.4 对脾虚泄泻大鼠肠道真菌菌群的影响

2.4.1 样品采集 课题组前期已建立大鼠脾虚泄泻模型^[9]，随机分为 4 组，每组 6 只，分别为空白组 (KB)、模型组 (MX)、生北苍术组 (SC)、米泔水制北苍术组 (MC)，除空白组，其余各组均需造模，共 10 d。造模结束后，生北苍术组和米泔水制北苍术组分别按生药量 756 mg/mL 制备醇提取物，ig 给予对应药液 (10 mL/kg)，1 次/d，连续 7 d。空白组 ig 给予等量生理盐水。试验共 17 d。

大鼠粪便收集：试验第 17 天早 8:00 正常 ig (提前 12 h 将各组大鼠置于代谢笼中)，末次给药后 12 h 禁食不禁水，用无菌 EP 管收集大鼠新鲜粪便，迅速置于液氮中冷却，结束后将样品置于 -80 °C 冰箱中保存。

2.4.2 数据处理与分析 Mass Hunter 工作系统，NIST11 谱库均由美国 Agilent 公司提供。采用 Microsoft Office 2016 进行数据处理，采用 SPSS 21.0 软件进行单因素方差分析和 Pearson 相关性分析，

单因素方差用最小显著差 (least significance difference, LSD) 检验，Pearson 相关性分析用 Pearson 检验，以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义；利用 Origin 2021 软件对成分-菌群作相关性图。

2.4.3 不同组别肠道真菌分类操作单元 (operational taxonomic units, OTU) 水平分析 每个组别随机选取 3 个粪便样品进行 DNA 的抽取，微生物多样性检验及引物设计由北京百迈客生物科技有限公司完成。由表 4 可知，经高通量测序从 4 组样品 (空白组、模型组、生北苍术组、米泔水制北苍术组) 的 12 份肠道粪便样品中共检测到真菌 ITS 的有效序列 41 354 个，平均长度为 588.0 bp。在 97.0% 的相似度水平下进行 OTUs 聚类，获得 1034 个 OTU。从不同处理组的真菌稀释曲线可知，OTU 曲线斜率随测序次数增加均呈现先上升后平缓的趋势，从样品中获得的序列覆盖率高于 90%，说明本研究测序数据量合理。结果见图 4。

2.4.4 不同组别肠道真菌群落结构特征 经高通量测序，4 个不同处理组 12 份样品中肠道真菌属于 8 门 29 纲 69 目 135 科 243 属 386 种。由图 5-A 可

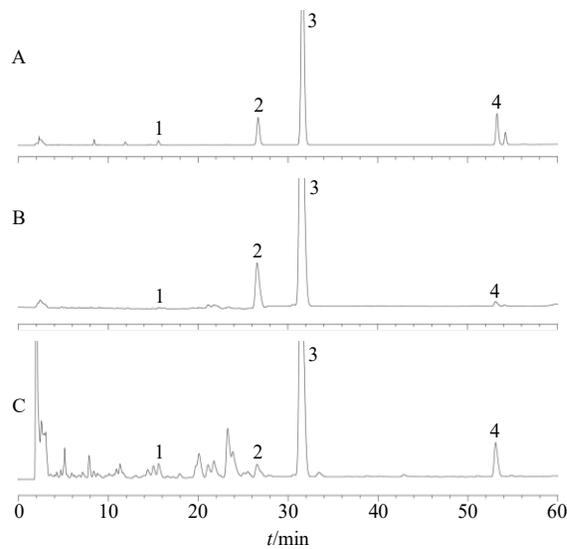
表 2 GC-MS 法测定北苍术米泔水制前后醇提取物中化学成分对比

Table 2 Composition changes of ethanol extract before and after rice water rocessing of *A. chinensis* by GC-MS

峰号	t_R/min	分子式	名称	相对含量/%	
				生北苍术	米泔水制北苍术
1	10.31	C ₁₀ H ₃₀ O ₅ Si ₅	环五聚二甲基硅氧烷	1.68	0.13
2	11.74	C ₂₇ H ₄₂ O ₄	2-[3-乙酰氧基-4,4,14-三甲基雄甾-8-烯-17-基]丙酸	0.12	0.82
3	11.95	C ₁₆ H ₅₀ O ₇ Si ₈	十六甲基八硅氧烷	0.06	1.96
4	12.09	C ₁₀ H ₁₄ O	香芹酚	2.27	0.49
5	12.34	C ₁₀ H ₁₄ O	3-甲基-4-异丙基苯酚	10.86	0.14
6	13.22	C ₁₈ H ₂₄ O ₂	5,8,11-七碳三炔酸甲酯	0.04	1.37
7	14.17	C ₁₈ H ₅₂ O ₇ Si ₇	异丙基五(三甲基硅基)二酰化	4.44	0.10
8	15.13	C ₃₃ H ₅₄ O ₃	胆甾-22-烯-21-醇,3,5-脱氢-6-甲氧基新戊酸	0.20	3.34
9	15.69	C ₁₆ H ₄₈ O ₈ Si ₈	十六烷基环八硅氧烷	3.95	0.30
10	15.87	C ₁₅ H ₂₆ O	茅术醇	1.32	0.44
11	16.00	C ₁₅ H ₂₆ O	β -桉叶醇	11.49	0.83
12	16.11	C ₁₅ H ₂₆ O	α -红药没醇	1.12	0.17
13	16.28	C ₁₂ H ₉ NO ₂	2-硝基联苯	2.54	18.70
14	16.46	C ₃₆ H ₆₉ NO ₆ Si ₃	<i>N</i> -[24-氧代-3 α ,7 α ,12 α -三(三甲基硅氧基)-5 β -胆聚糖-24-基]甘氨酸甲酯	0.51	8.63
15	16.86	C ₁₂ H ₁₀ N ₂	4-苯乙烯基吡嗪	17.18	11.94
16	16.99	C ₁₄ H ₄₂ O ₆ Si ₇	1,1,3,3,5,5,7,7,9,9,11,11,13,13-十四甲基七硅氧烷	3.81	0.04
17	17.60	C ₂₀ H ₂₄ O ₂	5,8,11,14-花生四烯酸	0.09	19.73
18	17.80	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	棕榈酸甲酯	2.52	1.73
19	18.14	C ₁₂ H ₃₈ O ₅ Si ₆	十二甲基七硅氧烷	3.31	0.13
20	18.35	C ₂₀ H ₂₈ O ₆	佛波酯	3.47	3.09
21	18.72	C ₂₀ H ₄₈ O ₆ Si ₇	七硅氧烷-1,1,3,3,5,5,7,9,9,11,11,13,13-十四甲基-1-苯基	0.24	7.60
22	18.84	C ₁₇ H ₁₈ O ₅	2-乙酰-8-甲基-4-氧代双环[9.3.1]十五碳-1(14),8,11-三烯-3,13,15-二酮	2.13	0.76
23	18.92	C ₁₃ H ₁₈ O	4-(2,4,4-三甲基环己-1,5-二烯基)-3-丁烯-2-酮	5.97	0.31
24	19.00	C ₁₅ H ₁₈ O ₂	2-羟基-5-(3-甲基-2-丁烯基)-4-(1-甲基乙炔基)-2,4,6-环庚烯-1-酮	5.37	0.31
25	19.11	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	7,10-十八二烯酸甲酯	5.69	7.41
26	19.20	C ₁₇ H ₂₄ O	2-[4-甲基-6-(2,6,6-三甲基环己-1-烯基)六-1,3,5-三烯基]环己-1-烯-1-甲醛	3.01	4.20
27	19.26	C ₁₆ H ₄₈ O ₆ Si ₇	十六烷基七硅氧烷	2.04	0.06
28	19.39	C ₁₂ H ₁₂ O ₂	16-羟基巨大戟醇	2.83	2.68
29	19.61	C ₂₆ H ₃₆ O ₈	(1 α R)-1 α ,1 β ,4,4 α ,5,7 α ,7 β ,8,9,9 α -十氢-3-羟甲基-1,1,6,8 α -四甲基-1 <i>H</i> -环丙烷[3,4]苯并[1,2- <i>c</i>]azulene-5 β ,7 β ,9 β ,9 α -四氢呋喃-5,9,9 α -三乙酸酯	0.35	1.54
30	19.78	C ₁₈ H ₂₆ O ₂	2-(3,7-二甲基-2,6-辛二烯-1-基)-1,4-二甲氧基苯	1.39	1.06

知,不同处理组中肠道真菌菌群有明显差异,主要包括 10 个优势菌群,分别为曲霉属 *Aspergillus* sp.、镰刀菌属 *Fusarium* sp.、枝孢属 *Cladosporium* sp.、枝顶孢属 *Acremonium* sp.、德巴利氏酵母属 *Debaryomyces* sp.、被孢霉属 *Mortierella* sp.、线黑粉酵母属 *Filobasidium* sp.、链格孢属 *Alternaria* sp.、节担菌属 *Wallemia* sp.、毛壳菌属 *Chaetomium* sp.。由图 5-B 可知,与空白组相比,模型组中菌群变化

明显, *Aspergillus* sp.和 *Wallemia* sp.真菌相对丰度显著降低 ($P < 0.05$), *Fusarium* sp.真菌是空白组的 12 倍 ($P < 0.05$); 生北苍术组中 *Acremonium* sp.真菌最高 (8.88%), 是模型组的 1.92 倍, *Mortierella* sp.真菌显著降低 38.18% ($P < 0.05$); 与模型组相比,米泔水制北苍术组未见 *Debaryomyces* sp.真菌,其中 *Acremonium* sp.和 *Alternaria* sp.真菌分别较模型组显著降低 20.20%、12.39% ($P < 0.05$), *Aspergillus*



1-白术内酯 II 2-β-桉叶醇 3-苍术素 4-苍术酮
1-atractylodes II 2-β-cineole 3-atractylodes 4-atractone

图3 混合对照品溶液 (A)、生北苍术挥发油 (B) 和生北苍术醇提取物 (C) 的 HPLC 图

Fig. 3 HPLC of mixed reference substances solution (A), volatile oil from *A. chinensis* (B), and ethanol extract from *A. chinensis* (C)

表3 HPLC 法测定北苍术米泔制前后挥发油和醇提取物中成分分析 (n = 4)

Table 3 Analysis on components of volatile oil and ethanol extract from *A. chinensis* with rice water before and after processing by HPLC (n = 4)

样品	白术内酯 II/%	β-桉叶醇/%	苍术素/%	苍术酮/%
生北苍术挥发油	0.004 3 ^{##}	0.357 8 ^{##}	0.418 6 ^{##}	0.020 0 ^{##}
米泔水制北苍术挥发油	0.003 8 ^{##}	0.176 0 ^{***#}	0.371 2 ^{***#}	0.003 7 ^{***#}
生北苍术醇提取物	0.131 5 ^{**}	0.254 8 ^{**}	0.808 6 ^{**}	0.288 6 ^{**}
米泔水制北苍术醇提取物	0.086 6 ^{***#}	0.141 1 ^{***#}	0.504 9 ^{***#}	0.074 7 ^{***#}

与生北苍术挥发油比较: **P<0.01; 与生北苍术醇提取物比较: ^{##}P<0.01

^{**}P<0.01 vs volatile oil from *A. chinensis*; ^{##}P<0.01 vs ethanol extract from *A. chinensis*

表4 不同组别样品测序数据及 OTU 统计分析 (x̄ ± s, n = 3)
Table 4 Sequencing data and OTU statistical analysis of different groups (x̄ ± s, n = 3)

组别	序列数	有效序列数	平均序列长度	有效序列占比/%	OUT 数量/个
空白	12 567	12 508	607	99.54	237
模型	9938	9813	577	98.39	418
生北苍术	9191	9143	585	99.17	426
米泔水制北苍术	9989	9889	583	99.00	301

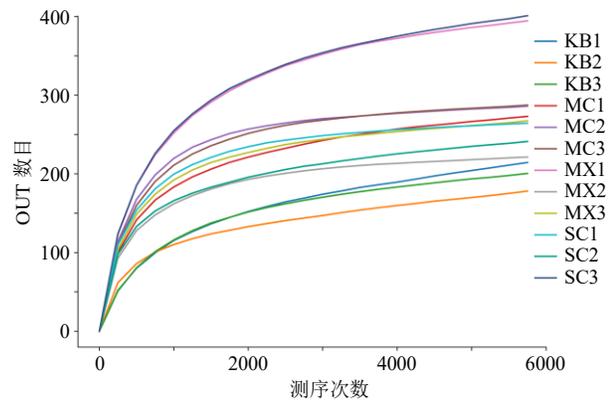


图4 稀释曲线

Fig. 4 Dilution curve

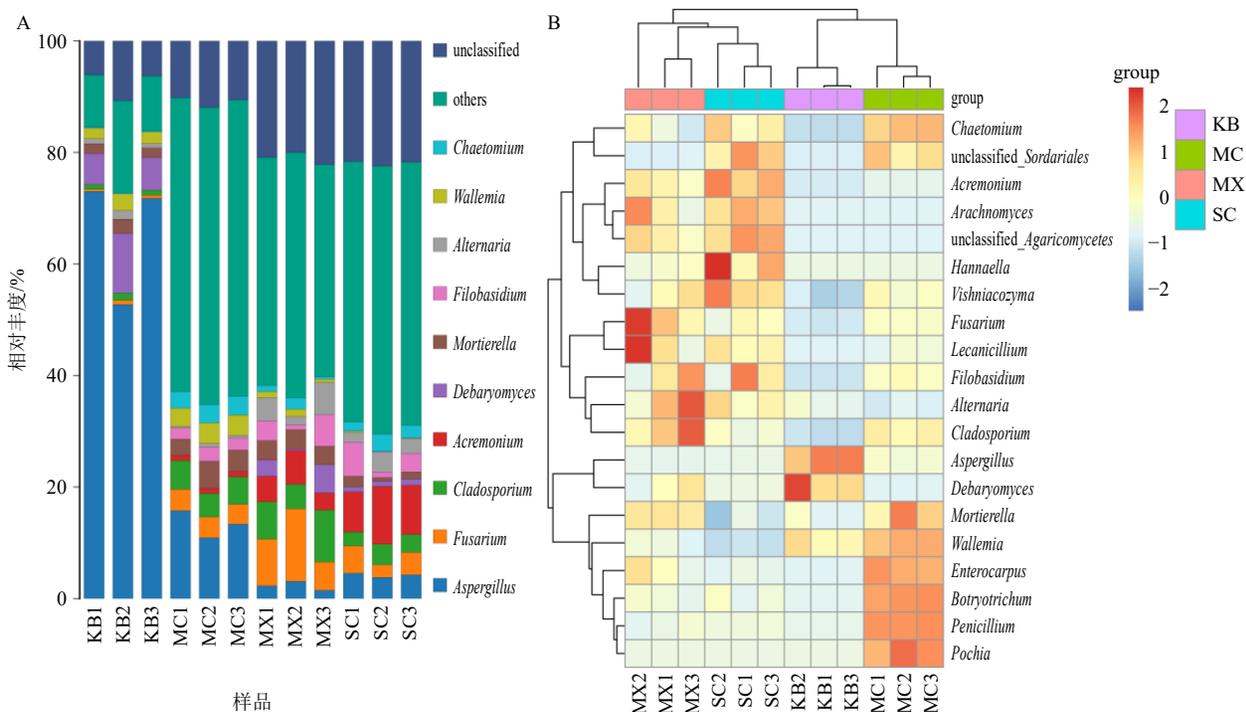
sp. 和 *Wallemia* sp. 真菌相对丰度显著升高 (P<0.05)。

2.4.5 不同组别肠道真菌多样性分析

(1) α多样性分析: 与空白组相比, 模型组 ACE 指数升高了 22.0%, Shannon 指数和 Simpson 指数均显著升高 (P<0.01), 分别是空白组的 1.24 倍和 1.6 倍, 说明造模后物种丰富度增大, 多样性变化明显。与模型组相比, 生北苍术组 ACE 指数和 Simpson 指数最大, 说明生北苍术组真菌群落多样性与丰富度较高, 米泔水制北苍术组 Shannon 指数最大, 2 组与模型组相比均无显著性差异, 见表 5。

(2) β多样性分析: 基于 Abund_Jaccard 距离算法, 得到基于属水平的 12 份肠道真菌样品非加权配对平均法 (UPGMA) 聚类树状图。由图 6 可知, 空白组中的优势菌种为曲霉属 *Aspergillus* sp., 该真菌属在模型组中丰度明显降低 (P<0.05), 生北苍术和米泔水制北苍术均能够回调其丰度, 且米泔水制北苍术组作用优于生北苍术组。枝顶孢属 *Acremonium* sp. 真菌丰度在造模后丰度显著升高 (P<0.05), 与模型组相比, 生北苍术组丰度基本不变, 经米泔水制北苍术治疗后, 该属真菌丰度明显降低 (P<0.05), 与空白组在属水平真菌群落结构相似, 说明米泔水制北苍术对枝顶孢属真菌的抑制作用强于生北苍术。在属水平上整体分析, 生北苍术组真菌群落结构与模型组相似, 而米泔水制北苍术组更接近于空白组, 说明米泔水制北苍术能够调节大黄所致的脾虚型腹泻, 对于肠道真菌菌群的调控能力优于生北苍术。

2.4.6 4 种化学成分与真菌群落的相关性分析 利用 SPSS 21.0 软件处理数据, 建立肠道真菌群落中相对丰度前 10 的优势菌属与 HPLC 测量的 4 种成



A 为属水平上物种分布图，B 为属水平上物种丰度聚类热图

A was species distribution at genus level, B was heat map of species abundance clustering at genus level

图 5 属水平上不同组肠道真菌群落的物种组成及丰度

Fig. 5 Species composition and abundance of intestinal fungal communities in different groups at genus level

表 5 α 多样性指数统计表 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 5 Statistical table of α diversity index ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	ACE 指数	Chao 1 指数	Shannon 指数	Simpson 指数
空白	251.611 ± 18.843	250.168 ± 22.259	0.795 ± 0.069	4.401 ± 0.467
模型	306.866 ± 78.950	306.132 ± 77.189	0.983 ± 0.005**	7.043 ± 0.366**
生北苍术	320.408 ± 77.297	320.545 ± 74.759	0.986 ± 0.002	7.198 ± 0.290
米泔水制北苍术	293.490 ± 0.273	302.778 ± 6.185	0.988 ± 0.002	7.119 ± 0.138

与空白组比较: ** $P < 0.01$

** $P < 0.01$ vs blank group

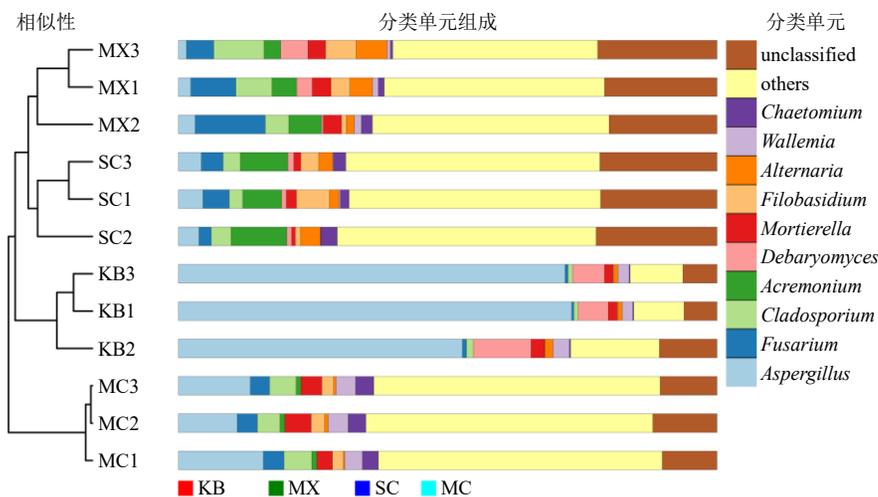
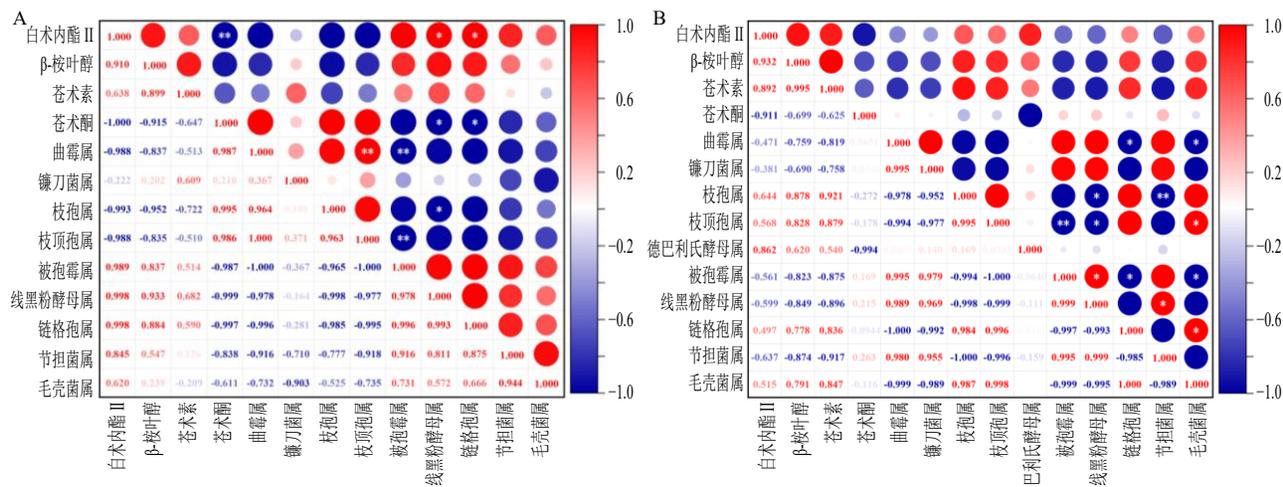


图 6 基于属水平的肠道真菌群落的 UPGMA 树状关系

Fig. 6 UPGMA tree relationship of intestinal fungal community based on genus level

分含量的 Pearson 相关性分析，得出相关性系数 ($P < 0.05$)，经筛选后构建出相关系数矩阵图，分析与脾虚泄泻模型有相关性的肠道真菌。如图 7-A，属水平上，部分真菌与米泔水制北苍术中 4 种成分含量存在相关性，其中，*Filobasidium* sp. 和 *Alternaria* sp. 真菌与白术内酯 II 含量显著正相关 ($P < 0.05$)，

与苍术酮含量显著负相关 ($P < 0.05$)。同时，*Filobasidium* sp. 真菌与 β -桉叶醇及苍术素含量也存在正相关。如图 7-B，相对丰度前 10 的优势菌属与生北苍术中 4 种成分含量同样存在相关性，*Debaryomyces* sp. 真菌与生北苍术中白术内酯 II 成分含量正相关，与苍术酮成分含量负相关。



A 为米泔水制北苍术 B 为生北苍术 * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$
A was *A. chinensis* with rice water processing B was *A. chinensis* * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

图 7 相关系数矩阵图

Fig. 7 Correlation coefficient matrix diagram

3 讨论

中医认为腹泻由脾失健运、内伤饮食等多种因素引起，因此，常用化湿健脾类中药治疗腹泻^[12]。中药因其不良反应小、价格低廉等优点，在腹泻治疗中彰显出不可替代的优势^[13-15]。苍术是治疗脾虚久泻常用中药，前期已发现高剂量米泔水制北苍术醇提物可有效缓解脾虚泄泻模型大鼠便溏等症状，但作用机制尚不明确^[9]。现代研究表明中药活性成分、中药复方可与肠道微生物相互作用以达到治疗效果，如黄连中生物碱类活性成分能抑制大肠埃希菌和霍乱弧菌增殖^[16]；参苓白术散^[17]能通过抑制肠道内致病菌增殖，促进有益菌生长，调节胃肠运动的方式来治疗腹泻。目前，肠道微生态相关研究多集中于肠道细菌，对真菌研究较少，而肠道真菌对维持肠道微生态平衡也具有重要作用。因此，研究肠道真菌与中药活性成分和疾病间的关系对人类健康有重要意义。

根据中药炮制理论，米泔水炮制可去除生品部分油脂，以降低药材辛燥之性，增强其补脾和中作用^[18]。GC-MS 结果显示，米泔水炮制后挥发油和醇提物化学成分类型未改变，仅改变相应百分含量，

炮制后茅术醇、 β -桉叶醇、 α -红药没醇、苍术酮及多数酮类成分含量减少，大根香叶烯及多数酯类成分含量增加，其中，挥发油中苍术酮含量降低至炮制前 47.1%，说明苍术酮是北苍术燥性成分之一，这与同属药材白术“减酮减燥，增酯增效”的观点一致^[19]。此外，北苍术根茎中主要成分包括聚乙炔类苍术素和倍半萜类白术内酯 II、 β -桉叶醇、苍术酮等。但 GC-MS 法测定中未见《中国药典》2020 年版规定的含量测定指标苍术素及白术内酯 II 等成分，推测与北苍术的提取方法密切相关。

为验证这一猜想，采用 HPLC 测定相同提取方法制备的样品，结果苍术素等 4 种成分均被检出。其中，生品化学成分含量大于米泔水制品，醇提物成分含量大于挥发油成分含量，这说明炮制过程中，热不稳定成分易发生降解和化学转化，导致很多沸点较低成分（燥性成分）流失，而水蒸气蒸馏法温度较超声提取法温度更高，因此醇提物成分含量高于挥发油成分含量。同时，虽然炮制后挥发油含量显著下降，但 HPLC 可测定活性成分苍术素的含量，进一步证明“以制其燥去其油”的观点正确，既达到降燥目的，又保证活性成分含量无过度流失，进

而为发挥临床疗效提供保障。

相对于肠道细菌,真菌数量非常少,目前唯一被证实有益生作用且有临床应用的真菌是布拉酵母菌 *Sac-charomyce boulardii*^[20]。ITS 高通量测序结果显示,不同组别肠道真菌菌群差异显著,10个优势菌群中曲霉属、镰刀菌属为常见肠道真菌^[21-23],曲霉属真菌在空白组及米泔水制北苍术组丰度最高,造模后镰刀菌属真菌丰度显著增加,生北苍术和米泔水制北苍术均能抑制镰刀菌属真菌活性。北苍术挥发油体外拮抗实验证实苍术酮和苍术素可抑制内生镰刀菌 *Fusarium* sp.生长,并且对尖孢镰刀菌 *F. oxysporum*、腐皮镰刀菌 *F. solani* 等病原菌抑制作用更强^[24],说明苍术酮和苍术素可能在拮抗病原真菌方面有重要作用。

α 和 β 多样性结果表明,造模后真菌物种丰富度增大,多样性变化明显,这与在炎症性肠病患者结肠黏膜中可检测到真菌菌群多样性显著升高的情况类似^[25-26],而米泔水制北苍术组真菌群落结构更接近于空白组,说明米泔水制北苍术对菌群调节作用优于生北苍术。

通过肠道真菌与活性成分相关性分析,发现线黑粉酵母属和链格孢属真菌与白术内酯 II 和苍术酮含量的积累显著相关,且白术内酯 II 与苍术酮含量极显著负相关,进一步证明白术内酯 II 与苍术酮可相互转化。 β -桉叶醇被证实对胃肠运动机能有双向调节作用^[27],线黑粉酵母属与 β -桉叶醇也存在正相关,进一步说明米泔水制北苍术减燥健脾利湿作用与白术内酯 II、苍术酮、 β -桉叶醇等成分相关。

综上,本实验对北苍术米泔水炮制前后化学成分变化进行探究,并利用脾虚泄泻模型大鼠的粪便样品作肠道真菌相关性分析,研究发现北苍术米泔水炮制后减燥与白术内酯 II、苍术酮等成分相关,健脾利湿作用的增强与 β -桉叶醇和大根香叶烯等成分相关,线黑粉酵母属和链格孢属真菌可能与活性成分有相互作用,但仍需进一步验证。近年随着肠道微生物与各种疾病间相互关系研究的不断深入,肠道有益真菌将可能成为下一个研究热点,本研究将为肠道样本菌群中潜在有益真菌的研究及临床应用开发提供参考依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 168-169.

[2] 于艳,袁媛,贾天柱,等. 苍术炮制前后化学成分及药

理作用研究近况 [J]. 时珍国医国药, 2016, 27(1): 189-191.

[3] 王艺萌,王知斌,孙延平,等. 苍术属植物中倍半萜类化合物化学结构和生物活性研究进展 [J]. 中草药, 2021, 52(1): 299-309.

[4] 杜玉然,郭建生,贺福元,等. 稻米类中药的应用 [J]. 中草药, 2013, 44(7): 923-928.

[5] 张美玉,吴泳锡,王一竹,等. 补气中药通过调节肠道菌群治疗脾虚证的研究进展 [J]. 中草药, 2021, 52(17): 5430-5436.

[6] Bäumler A J, Sperandio V. Interactions between the microbiota and pathogenic bacteria in the gut [J]. *Nature*, 2016, 535(7610): 85-93.

[7] 龚鹏飞,于欢,翟莹莹,等. 多指标评价米泔水漂苍术对湿盛困脾脾虚大鼠的药效作用 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(24): 36-40.

[8] 王蝉,向茜,赵文燕,等. 米泔水漂苍术炮制前后化学成分的 UPLC-Q-TOF-MS 分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(23): 164-173.

[9] 杨雪晴,徐伟,肖春萍,等. 米泔水制北苍术炮制工艺及其抗腹泻药效作用研究 [J]. 中草药, 2022, 53(1): 78-86.

[10] 吉林省卫生厅. 吉林省中药炮制标准-1986 [M]. 长春: 吉林科学技术出版社, 1987: 23-24.

[11] 孙金,翁丽丽,肖春萍,等. HPLC-一测多评法结合色差原理分析不同生长年限北苍术药材的质量 [J]. 中国药房, 2020, 31(11): 1314-1319.

[12] 郭思嘉,姜东京,李振岚,等. 肠道菌群与常见胃肠道疾病关系及中药与微生态制剂治疗方法的研究进展 [J]. 中草药, 2018, 49(18): 4424-4431.

[13] Binder H J. Role of colonic short-chain fatty acid transport in diarrhea [J]. *Annu Rev Physiol*, 2010, 72: 297-313.

[14] 杨志华,邓柳颐,李冬梅,等. 中药复方对肠道微生态调节作用的研究 [J]. 西部中医药, 2020, 33(9): 166-168.

[15] 张桥,乐世俊,陈艳琰,等. 中药调节肠道菌群治疗慢性腹泻的研究进展 [J]. 中草药, 2022, 53(8): 2539-2549.

[16] 王鑫喆,沈梦婷,闫鹏举,等. 黄连生物碱类活性成分与肠道菌群相互作用的研究进展 [J]. 中国药房, 2021, 32(1): 109-115.

[17] 董开忠,高永盛,秦宁恩加,等. 参苓白术散对抗生素引起肠道菌群失调小鼠的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(1): 154-157.

[18] 龚千锋. 中药炮制学 [M]. 第 3 版. 北京: 中国中医药出版社, 2012: 45.

[19] 赵文龙,吴慧,单国顺,等. 麸炒白术“减燥增酯增效”炮制理论的再印证 [J]. 中国中药杂志, 2013,

- 38(20): 3493-3497.
- [20] 唐圆, 贺璐, 谢果珍, 等. 肠道真菌研究进展 [J]. 中国微生态学杂志, 2019, 31(11): 1341-1346.
- [21] Richard M L, Lamas B, Liguori G, *et al.* Gut fungal microbiota: The *Yin* and *Yang* of inflammatory bowel disease [J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2015, 21(3): 656-665.
- [22] 潘佳雯, 王楠, 佟晶晶, 等. 真菌毒素对肠道屏障的影响 [J]. 动物医学进展, 2018, 39(11): 114-117.
- [23] 肖亮, 唐彤宇, 徐红. 肠道真菌与炎症性肠病的关系 [J]. 实用医学杂志, 2017, 33(18): 3151-3153.
- [24] 陈飞, 李蕾, 周佳宇, 等. 茅苍术挥发油及主要组分对3种病原菌和2种内生菌的抑菌活性 [J]. 江苏农业学报, 2015, 31(6): 1270-1277.
- [25] Ott S J, Kühbacher T, Musfeldt M, *et al.* Fungi and inflammatory bowel diseases: Alterations of composition and diversity [J]. *Scand J Gastroenterol*, 2008, 43(7): 831-841.
- [26] Li Q R, Wang C Y, Tang C, *et al.* Dysbiosis of gut fungal microbiota is associated with mucosal inflammation in Crohn's disease [J]. *J Clin Gastroenterol*, 2014, 48(6): 513-523.
- [27] 王金华, 薛宝云, 梁爱华, 等. 苍术有效成分 β -桉叶醇对小鼠小肠推进功能的影响 [J]. 中国药理学杂志, 2002, 37(4): 266-268.

[责任编辑 郑礼胜]