

生白术与炒白术对功能性便秘大鼠肠道微生物群落结构的影响及作用机制

陈文东¹, 王孝婷², 黄琪², 李珍¹, 管家齐^{2*}

1. 浙江中医药大学附属杭州第三医院(杭州市第三人民医院)药学部, 浙江 杭州 310009

2. 浙江中医药大学药学院, 浙江 杭州 310053

摘要: **目的** 探究生白术 *Atractylodes Macrocephala* 与炒白术对功能性便秘 (functional constipation, FC) 大鼠肠道菌群的影响及作用机制。 **方法** 雄性 SD 大鼠随机分为对照组、模型组、莫沙比利 (1.5 mg/kg) 组及生白术高、中、低剂量 (9、3、1 g/kg) 组和炒白术高、中、低剂量 (9、3、1 g/kg) 组, 每组 8 只。采用复方地芬诺酯诱导大鼠 FC 模型, 给予药物干预 14 d 后, 测定大鼠首粒黑便排出时间和粪便含水量; 采用苏木素-伊红 (HE) 染色考察结肠组织病理变化; ELISA 检测结肠组织中 5-羟色胺 (5-hydroxytryptamine, 5-HT)、P 物质 (substance P, SP) 和血管活性肠肽 (vasoactive intestinal peptide, VIP) 水平; 通过 16S rRNA 基因测序对大鼠肠道菌群进行分析。 **结果** 与生白术水煎液相比, 炒白术水煎液中白术内酯 I、白术内酯 II 含量升高, 白术内酯 III、苍术酮含量降低。与模型组比较, 生白术和炒白术能显著恢复大鼠首粒黑便排出时间、粪便含水量和小肠推进率等关键排泄参数 ($P < 0.05$ 、 0.01), 提高结肠组织中 SP、VIP 和 5-HT 水平 ($P < 0.01$), 改善结肠组织黏膜损伤, 且生白术治疗效果略优于炒白术。16S rRNA 基因测序结果显示, 生白术和炒白术能够改变肠道微生物群落结构, 升高拟杆菌门 (Bacteroidota) 相对丰度 ($P < 0.05$ 、 0.01), 降低厚壁菌门 (Firmicutes) 相对丰度 ($P < 0.01$)。 **结论** 生白术和炒白术可能通过促进 SP、VIP、和 5-HT 分泌并调节拟杆菌门、厚壁菌门丰度, 改善肠道炎症, 从而治疗 FC。

关键词: 白术; 炒制; 功能性便秘; 肠道菌群; 5-羟色胺; P 物质; 血管活性肠肽; 白术内酯 I; 白术内酯 II; 白术内酯 III; 苍术酮

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2025)14-5098-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.14.015

Effect and mechanism of raw *Atractylodes macrocephala* and fried *Atractylodes macrocephala* on intestinal microbial community structure in rats with functional constipation

CHEN Wendong¹, WANG Xiaoting², HUANG Qi², LI Zhen¹, GUAN Jiaqi²

1. Department of Pharmacy, Hangzhou Third Hospital Affiliated to Zhejiang Chinese Medical University (Hangzhou Third People's Hospital), Hangzhou 310009, China

2. College of Pharmacy, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China

Abstract: Objective To explore the effect and mechanism of raw *Atractylodes macrocephala* (RAM) and fried *A. macrocephala* (FAM) on gut microbiota in functional constipation (FC) rats. **Methods** Male SD rats were randomly divided into control group, model group, mosapride (1.5 mg/kg) group, high-, medium-, low-dose (9, 3, 1 g/kg) groups of RAM and FAM, with eight rats in each group. FC model was induced in rats using compound diphenoxylate, and after 14 d of drug intervention, first black stool excretion time and fecal water content were measured. Hematoxylin-eosin (HE) staining was used to investigate pathological changes in colon tissue. ELISA was used to detect the levels of 5-hydroxytryptamine (5-HT), substance P (SP) and vasoactive intestinal peptide (VIP) in colon tissue. Gut microbiota of rats was analyzed through 16S rRNA gene sequencing. **Results** Compared with decoction of RAM, the contents of atractylenolide I and atractylenolide II in decoction of FAM were increased, while the contents of atractylenolide III and atractylon were decreased. Compared with model group, RAM and FAM could significantly restore key excretion parameters such as first black stool excretion time, fecal water content and small intestine propulsion rate in rats ($P < 0.05$, 0.01), increase the levels of

收稿日期: 2025-04-08

基金项目: 浙江省基础公益研究计划项目 (LY19H280004)

作者简介: 陈文东 (1975—), 女, 硕士, 副主任药师, 研究方向为中药药理学, Tel: 18158149630 E-mail: 18158149630@163.com

*通信作者: 管家齐 (1971—), 男, 博士, 副教授, 研究方向为中药药性研究。Tel: 18957130595 E-mail: guanjq99@163.com

SP, VIP and 5-HT in colon tissue ($P < 0.01$), improve colonic mucosal damage, and the therapeutic effect of RAM was slightly better than that of FAM. 16S rRNA gene sequencing results showed that RAM and FAM could alter the structure of gut microbiota, increase the relative abundance of Bacteroidota ($P < 0.05, 0.01$), and decrease the relative abundance of Firmicutes ($P < 0.01$). **Conclusion** RAM and FAM may improve intestinal inflammation by promoting the secretion of SP, VIP, 5-HT and regulating the abundance of Bacteroidetes and Firmicutes, thereby treating FC.

Key words: *Atractylodes macrocephala* Koidz.; stir fried; functional constipation; intestinal flora; 5-hydroxytryptamine; substance P; vasoactive intestinal peptide; atractylenolide I; atractylenolide II; atractylenolide III; atractylon

功能性便秘 (functional constipation, FC) 是慢性便秘的一种, 慢性便秘影响全球约 14% 的人口^[1]。FC 不仅会给患者造成一定心理和身体负担, 还会导致患者生活质量变差、焦虑、烦闷、抑郁等问题^[2-5]。目前, 西医治疗多以泻药促进排便, 胃肠动力药物促进胃肠蠕动, 微生态制剂改善肠道微环境, 并辅以饮食干预等方式^[6]。然而这些治疗方式仍存在许多问题, 如治疗周期长、难以完全治愈、停药后易复发等, 且长期便秘可能增加结直肠肿瘤发生率^[7]。此外, 泻药还可能存在大便失禁、胀气、腹痛和恶心等不良反应^[8]。甚者, 便秘患者滥用泻药导致泻药性便秘和结肠黑变病, 也使得 FC 的治疗愈加受到重视。

中医药在治疗 FC 上具有一定优势^[7,9-10], 中医学理论认为便秘的病因病机包括胃肠积热、气机郁滞、胃肠积热、阴亏血少、阴寒凝滞, 针对不同病因病机采用加味白术枳实汤、加味白术汤、黄芪白术汤等经典名方进行治疗, 可显著缓解便秘症状并降低复发率^[11-13]。白术为各经典名方的核心药物之一。研究发现在治疗 FC 方面, 白术单用即有效, 且在临床治疗 FC 时, 生白术与炒白术均有使用^[14-16], 然而生白术与炒白术治疗 FC 的机制以及疗效是否有差异, 目前尚未有明确论证。因此, 本研究以 FC 为模型, 对其疗效进行评价, 以此来研究白术治疗 FC 的机制, 系统地评价生白术与炒白术治疗 FC 的疗效差异, 为白术的临床合理使用提供实验依据。

1 材料

1.1 动物

SPF 级雄性 SD 大鼠 72 只, 6 周龄, 体质量 (200 ± 20) g, 由上海斯莱克实验动物有限责任公司提供, 动物许可证号 SYXK (浙) 2021-0012。所有大鼠饲养于浙江中医药大学动物实验中心 SPF 级动物房内, 室温 (23 ± 1) °C, 相对湿度 65%~75%, 12 h 光暗循环。本研究经浙江中医药大学大学实验动物管理与伦理委员会批准 (批准号 IACUC-20230717-09)。

1.2 药材

生白术 (批号 20220524) 购自杭州华东中药饮片有限公司, 经浙江中医药大学药学院管家齐副教授鉴定为菊科植物白术 *Atractylodes macrocephala* Koidz. 的干燥根茎, 系正品。

1.3 药品与试剂

对照品白术内酯 I (批号 PS010510, 质量分数为 98.5%)、白术内酯 II (批号 PS010511, 质量分数为 99.0%)、白术内酯 III (批号 PS010512, 质量分数为 98.5%)、苍术酮 (批号 PS013171, 质量分数为 98.0%) 购自成都普思生物科技有限公司; 复方地芬诺酯片 (批号 2012004) 购自常州康普药业有限公司; 枸橼酸莫沙比利片 (批号 26210306) 购自鲁南贝特制药有限公司; 血管活性肠肽 (vasoactive intestinal peptide, VIP)、P 物质 (substance P, SP)、5-羟色胺 (5-hydroxytryptamine, 5-HT) ELISA 检测试剂盒 (批号分别为 221017LO1、221017630、22101736) 购自南通飞宇生物科技有限公司; 粪便基因组 DNA 提取试剂盒 (货号 T10-100)、DNA 凝胶回收纯化试剂盒 (货号 C01-10000) 购自上海美吉愈华生物医药科技有限公司; NEXTFLEX Rapid DNA-Seq Kit (货号 NOVA-5144) 购自美国 Bioo Scientific 公司。

1.4 仪器

AL104 型电子天平 (精度 0.1 mg)、XS105DU 型精密分析天平 (精度 0.01 mg, 瑞士 Mettler Toledo 公司); CX-200 型高速多功能粉碎机 (烟台制药机械有限公司); 纯水仪 (美国 Merck-Millipore 公司); RV8 型旋转蒸发装置、R104 型手持匀浆机 (德国 IKA 公司); KQ-500B 型超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司); HC-3018 型高速离心机 (安徽中科中佳科学仪器有限公司); Waters 高效液相色谱 (含四元梯度泵, PDA 检测器, 美国 Waters 公司); Hypersil BDS C₁₈ 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)、NanoDrop2000 型分光光度计 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司); SHZ-III B 型循环水式多用真空泵

(临海市谭氏真空设备有限公司); 电热恒温培养箱 (武汉一恒苏净科学仪器有限公司); RT-6100 型酶标仪 (美国 Rayto 公司); Nano ABI GeneAmp® 9700 型 PCR 仪 (美国 Applied Biosystems 公司); Quantus™ 荧光计 (美国 Promega 公司)。

2 方法

2.1 生白术、炒白术水煎液的制备

取生白术饮片适量, 按《中国药典》2020 年版一部白术项下麸炒白术方法依法炮制, 制得炒白术饮片。取生白术、炒白术饮片各适量, 粉碎, 过 3 号筛, 分别加 8 倍量水, 浸泡 1 h, 回流提取 2 次, 每次 0.5 h, 合并 2 次水煎液, 滤过, 减压浓缩至质量浓度为 0.9 g/mL。

2.2 生白术、炒白术水煎液的质量控制

2.2.1 混合对照品溶液的制备 分别精密称取对照品白术内酯 I、白术内酯 II、白术内酯 III、苍术酮各适量, 用甲醇制备成质量浓度分别为 0.51、1.22、1.20、1.00 mg/mL 的混合对照品溶液。

2.2.2 生白术、炒白术供试品溶液的制备 精密量取生白术、炒白术水煎液各 1.0 mL, 分别置于 10 mL 量瓶中, 用甲醇定容, 作为生白术、炒白术供试品溶液。

2.2.3 色谱条件 采用 Hypersil BDS C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈 (A) - 0.1% 甲醇水溶液 (B), 梯度洗脱: 0~5 min, 10.0% A; 5~6 min, 10.0%~50.0% A; 6~20 min, 50% A; 20~21 min, 50.0%~62.0% A; 21~31 min, 62.0% A; 31~39 min, 62.0%~90.0% A; 39~48 min, 90.0%~10.0% A。检测波长 245 nm; 进样量 10 μL; 体积流量 1 mL/min; 柱温 35 °C。

2.2.4 含量测定 精密吸取生白术、炒白术供试品溶液及混合对照品溶液各适量, 进样检测白术内酯 I、白术内酯 II、白术内酯 III、苍术酮含量, 比较生白术、炒白术水煎液中主要成分的含量变化。

2.3 造模、分组及给药

按照文献方法^[17]使用复方地芬诺酯造模, 除对照组外, 其余各组大鼠 ig 复方地芬诺酯混悬液 (10 mg/kg), 1 次/d, 连续 14 d。另取 8 只大鼠作为对照组, ig 等体积的生理盐水。末次造模后 1 h, 大鼠 ig 墨汁 (10 mL/kg), 记录大鼠首粒黑便的排出时间、24 h 内的排便粒数和粪便含水量, 确立大鼠 FC 模型成功复制。将造模成功的大鼠随机分为模型组、莫沙比利 (1.5 mg/kg) 组及生白术高、中、低

剂量 (9、3、1 g/kg, 分别相当于临床等效剂量的 1、1/3、1/9 倍) 组和炒白术高、中、低剂量 (9、3、1 g/kg, 分别相当于临床等效剂量的 1、1/3、1/9 倍) 组, 每组 8 只。各给药组 ig 相应药物 (10 mL/kg), 对照组和模型组 ig 等体积的生理盐水, 1 次/d, 连续给药 14 d。

2.4 排便实验

分别于实验第 14、21、28 天给药 1 h 后, ig 墨汁 (10 mL/kg), 收集 24 h 内大鼠粪便, 记录各组大鼠的首粒黑便的排出时间、粪便粒数及大便性状, 称定粪便湿质量, 将粪便置于 60 °C 恒温干燥箱干燥 12 h, 称定粪便干质量, 计算粪便含水率。

粪便含水率 = (粪便湿质量 - 粪便干质量) / 粪便湿质量

2.5 小肠推进率的测定

末次给药后, 大鼠禁食不禁水 12 h, ig 墨汁 (10 mL/kg), 0.5 h 后大鼠麻醉处死, 打开腹腔, 取出上至幽门、下至回盲部的肠管, 计算小肠推进率。

小肠推进率 = 墨汁推进长度 / 小肠总长度

2.6 结肠组织苏木素-伊红 (HE) 染色

取各组大鼠结肠组织, 生理盐水清洗后置于多聚甲醛中固定 24 h, 经脱水和浸蜡后, 制成石蜡切片。石蜡切片经脱蜡和水化后, 进行 HE 染色, 脱色透明, 封片, 于光学显微镜下观察并拍照。

2.7 ELISA 法检测大鼠结肠组织中 5-HT、SP、VIP 水平

取各组大鼠结肠组织, 按照试剂盒说明书检测结肠组织中 5-HT、SP 和 VIP 水平。

2.8 16S rRNA 基因测序

末次给药后, 采集各组大鼠粪便样品, 立即置于无菌 EP 管中, -80 °C 冷冻, 并送至上海美吉生物医药科技有限公司进行测序和分析。根据粪便基因组 DNA 提取试剂盒说明书进行微生物群落总基因组 DNA 抽提, 使用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测抽提的基因组 DNA 的质量, 使用 NanoDrop2000 型分光光度计测定 DNA 浓度和纯度。以提取的 DNA 为模板 (上游引物序列为 341F: 5'-CCTAYGGGRBG-CASCAG-3', 下游引物序列为 806R: 5'-GGACTA-CNNGGGTATCTAAT-3') 对 16S rRNA 基因 V3~V4 可变区进行 PCR 扩增。PCR 反应体系: 5× FastPfu Buffer 缓冲液 4 μL, 2.5 mmol/L dNTPs 2 μL, 上游引物 (5 μmol/L) 0.8 μL, 下游引物 (5 μmol/L) 0.8 μL, DNA 聚合酶 0.4 μL, BSA 0.2 μL, 模板 DNA 10 ng, 补足至 20 μL。PCR 扩增程序: 95 °C 预变性

3 min, 25 个循环 (95 °C 变性 30 s, 55 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 45 s), 然后 72 °C 稳定延伸 10 min, 最后在 10 °C 进行保存。每个样本设置 3 个重复。将同一样本的 PCR 产物混合后使用 2% 琼脂糖凝胶回收 PCR 产物, 利用 DNA 凝胶回收纯化试剂盒进行回收产物纯化, 2% 琼脂糖凝胶电泳检测, 并用 Quantus™ 荧光计对回收产物进行定量。使用 NEXTFLEX Rapid DNA-Seq Kit 对纯化后的 PCR 产物进行建库: ①接头链接; ②使用磁珠筛选去除接头自连片段; ③利用 PCR 扩增进行文库模板的富集; ④磁珠回收 PCR 产物得到最终的文库。利用

Illumina 公司的 NovaSeq PE250 平台进行测序。

2.9 统计学分析

采用 Graphpad Pism 9.5、Excel、SPSS 22.0 软件对数据进行处理, 计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用单因素方差分析, 两两比较方差齐采用 LSD 分析, 方差不齐采用 Dunnett T3 分析。

3 结果

3.1 生白术、炒白术水煎液中主要成分的含量变化

如表 1 所示, 与生白术水煎液相比, 炒白术水煎液中白术内酯 I、白术内酯 II 的质量分数升高, 白术内酯 III、苍术酮的质量分数降低。

表 1 生白术、炒白术水煎液中主要成分的含量变化 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 1 Changes in contents of main components in decoction of raw *A. macrocephala* and fried *A. macrocephala* ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	白术内酯 I/($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	白术内酯 II/($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	白术内酯 III/($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	苍术酮/($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)
生白术	0.003 8 $\pm$ 0.000 7	0.133 6 $\pm$ 0.004 4	0.007 8 $\pm$ 0.000 1	0.006 7 $\pm$ 0.000 1
炒白术	0.004 9 $\pm$ 0.000 1	0.144 9 $\pm$ 0.003 4	0.003 0 $\pm$ 0.000 1	0.006 1 $\pm$ 0.000 1

3.2 生白术、炒白术对 FC 大鼠首粒黑便排出时间和粪便含水量的影响

如表 2 所示, 造模第 14 天, 与对照组比较, 造模大鼠首粒黑便排出时间显著增加 ($P < 0.01$), 粪便含水量显著降低 ($P < 0.05, 0.01$), 提示造模成功。给药治疗 1 周后 (第 21 天), 与对照组比较, 模型组大鼠首粒黑便排出时间显著增加 ($P < 0.01$), 粪便含水量显著降低 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 除炒白术高剂量组外, 其余各给药组大鼠首粒黑便排出时间均显著降低 ($P < 0.01$), 粪便含水量显著升高 ($P < 0.05, 0.01$); 与生白术高剂量组比较, 炒白术高剂量组大鼠首粒黑便排出时间显著提高 ($P < 0.01$), 粪便含水量有所降低但无显著差异; 与生白

术中剂量组比较, 炒白术高剂量组大鼠首粒黑便排出时间有所提高但无显著差异, 粪便含水量有所降低但无显著差异; 与生白术低剂量组比较, 炒白术低剂量组大鼠首粒黑便排出时间显著提高 ($P < 0.01$), 粪便含水量略有升高但无显著差异。给药治疗 2 周后 (第 28 天), 与对照组比较, 模型组大鼠首粒黑便排出时间显著提高 ($P < 0.01$), 粪便含水量显著降低 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 各给药组大鼠首粒黑便排出时间均显著降低 ($P < 0.01$), 除炒白术高剂量组外, 其余各给药组大鼠粪便含水量均显著升高 ($P < 0.05, 0.01$); 与相同剂量的生白术组比较, 炒白术组大鼠首粒黑便排出时间均显著提高 ($P < 0.01$), 粪便含水量有所降低但无显著差异。

表 2 生白术、炒白术对 FC 大鼠首粒黑便排出时间和粪便含水量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 2 Effects of raw *A. macrocephala* and fried *A. macrocephala* on first black stool excretion time and fecal water content in FC rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	首粒黑便排出时间/min			粪便含水量/%		
		第 14 天	第 21 天	第 28 天	第 14 天	第 21 天	第 28 天
对照	—	432.00 $\pm$ 14.59	457.63 $\pm$ 14.71	457.13 $\pm$ 14.48	40.48 $\pm$ 7.25	40.41 $\pm$ 6.39	42.02 $\pm$ 9.72
模型	—	734.25 $\pm$ 17.33**	696.00 $\pm$ 29.50**	699.50 $\pm$ 24.52**	23.19 $\pm$ 5.72**	22.84 $\pm$ 8.47**	24.61 $\pm$ 3.09**
莫沙比利	1.5 $\times$ 10 ⁻³	717.25 $\pm$ 22.44**	612.25 $\pm$ 15.25##	469.25 $\pm$ 20.95##	24.22 $\pm$ 11.73**	33.57 $\pm$ 6.25##	40.70 $\pm$ 6.43##
生白术	9	719.38 $\pm$ 27.99**	604.38 $\pm$ 20.01##	480.88 $\pm$ 29.08##	26.47 $\pm$ 8.52*	32.68 $\pm$ 4.29#	34.19 $\pm$ 3.30#
	3	708.63 $\pm$ 29.38**	619.25 $\pm$ 20.22##	483.88 $\pm$ 18.22##	26.96 $\pm$ 10.24*	35.88 $\pm$ 6.36##	36.96 $\pm$ 4.67##
	1	729.00 $\pm$ 29.00**	570.38 $\pm$ 15.60##	415.75 $\pm$ 7.96##	24.54 $\pm$ 6.67**	36.07 $\pm$ 7.61##	48.00 $\pm$ 6.24##
炒白术	9	721.38 $\pm$ 26.29**	671.63 $\pm$ 16.14▲▲	562.25 $\pm$ 14.18##▲▲	27.59 $\pm$ 4.82*	28.48 $\pm$ 6.40	30.65 $\pm$ 4.66
	3	722.88 $\pm$ 19.36**	645.88 $\pm$ 17.41##	530.50 $\pm$ 24.78##▲▲	23.61 $\pm$ 10.55**	33.83 $\pm$ 4.37##	36.58 $\pm$ 5.49##
	1	713.25 $\pm$ 23.01**	632.88 $\pm$ 17.56##▲▲	484.38 $\pm$ 24.91##▲▲	22.14 $\pm$ 8.07**	37.21 $\pm$ 6.23##	37.26 $\pm$ 5.83##

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$; 与相同剂量的生白术组比较: ▲▲ $P < 0.01$ 。

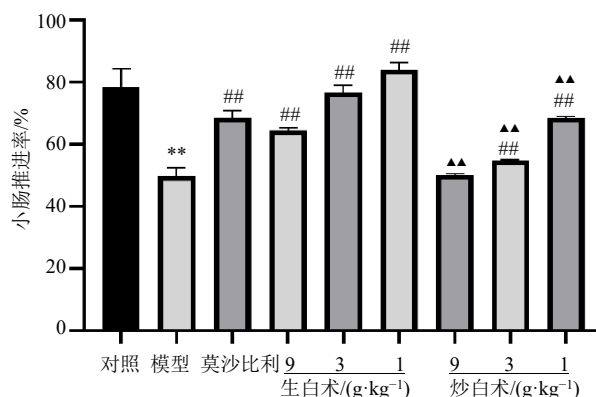
* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs model group; ▲▲ $P < 0.01$ vs same dose of raw *A. macrocephala* group.

3.3 生白术、炒白术对 FC 大鼠小肠推进率的影响

如图 1 所示,与对照组比较,模型组大鼠小肠推进率明显降低 ($P<0.01$);与模型组比较,除炒白术高剂量组外,其余各给药组小肠推进率均明显升高 ($P<0.01$);此外,在相同剂量下,生白术组小肠推进率显著高于炒白术组 ($P<0.01$)。

3.4 生白术、炒白术对 FC 大鼠结肠组织病理变化的影响

如图 2 所示,对照组大鼠结肠组织结构清晰,黏膜上皮结构较好,肠绒毛、肠腺排列整齐,杯状细胞丰富。模型组大鼠结肠组织黏膜层变薄,杯状细胞断裂、数量减少、排列不规整,肠绒毛排列紊乱。莫沙比利组大鼠结肠组织黏膜层恢复,肠绒毛、肠腺排列整齐,杯状细胞丰富,黏膜下层偶见少量的淋巴细胞聚集形成淋巴小灶。生白术与炒白术各剂量组大鼠结肠组织黏膜上皮完整,黏膜层较模型组增厚,肠绒毛、肠腺排列整齐,杯状细胞数量增多。

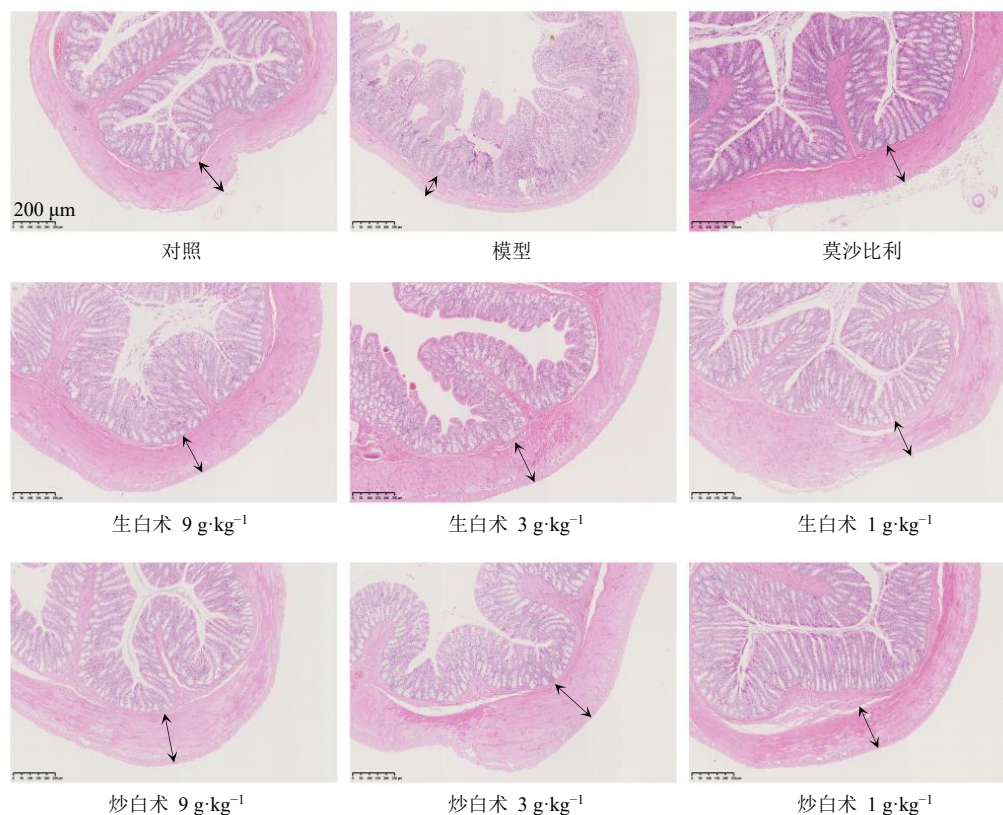


与对照组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$;与模型组比较: ## $P<0.01$;与相同剂量的生白术组比较: ▲▲ $P<0.01$, 图 3、6 同。

* $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs control group; ## $P<0.01$ vs model group; ▲▲ $P<0.01$ vs same dose of raw *A. macrocephala* group, same as below Figs 3, 6.

图 1 生白术、炒白术对 FC 大鼠小肠推进率的影响
($\bar{x} \pm s, n=8$)

Fig. 1 Effects of raw *A. macrocephala* and fried *A. macrocephala* on intestinal propulsion rate in FC rats
($\bar{x} \pm s, n=8$)



箭头表示结肠平滑肌层厚度。

Arrow represents thickness of colonic mucosa.

图 2 生白术、炒白术对 FC 大鼠结肠组织病理变化的影响 (HE, $\times 100$)

Fig. 2 Effects of raw *A. macrocephala* and fried *A. macrocephala* on pathological changes in colon tissue of FC rats
(HE, $\times 100$)

3.5 生白术、炒白术对 FC 大鼠结肠组织中 SP、5-HT 和 VIP 水平的影响

如图 3 所示,与对照组比较,模型组大鼠结肠组织中 SP、5-HT 和 VIP 水平显著降低 ($P<0.05$);与模型组比较,莫沙比利组和生白术各剂量组大鼠结肠组织中 SP、5-HT 和 VIP 水平均显著升高 ($P<0.01$),炒白术中、低剂量组结肠组织中 SP 水平显著升高 ($P<0.01$),炒白术中剂量组结肠组织中 5-

HT 水平显著升高 ($P<0.01$),炒白术低剂量组结肠组织中 VIP 水平显著升高 ($P<0.01$),表明白术可以促进 FC 大鼠结肠组织中 SP、VIP 和 5-HT 的分泌,且生白术作用优于炒白术。

3.6 生白术、炒白术对 FC 大鼠肠道菌群的影响

3.6.1 操作分类单元 (operational taxonomic unit, OTU) 分析 如图 4-A 所示,各样本 Rank-Abundance 曲线的宽度较大且形状较平缓,说明所

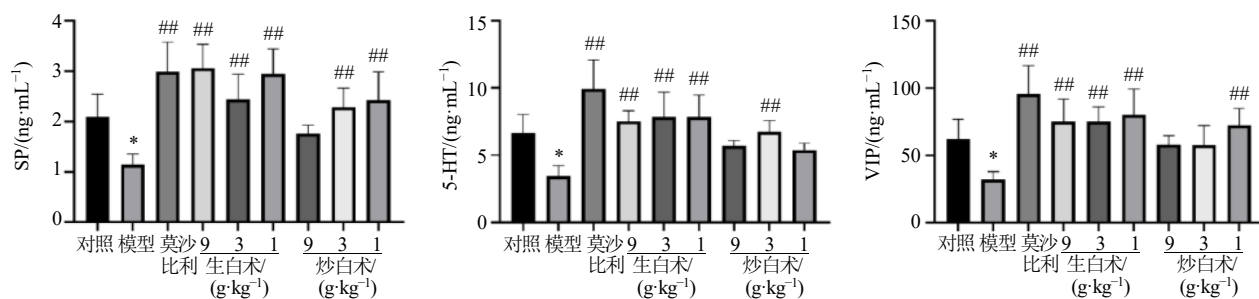
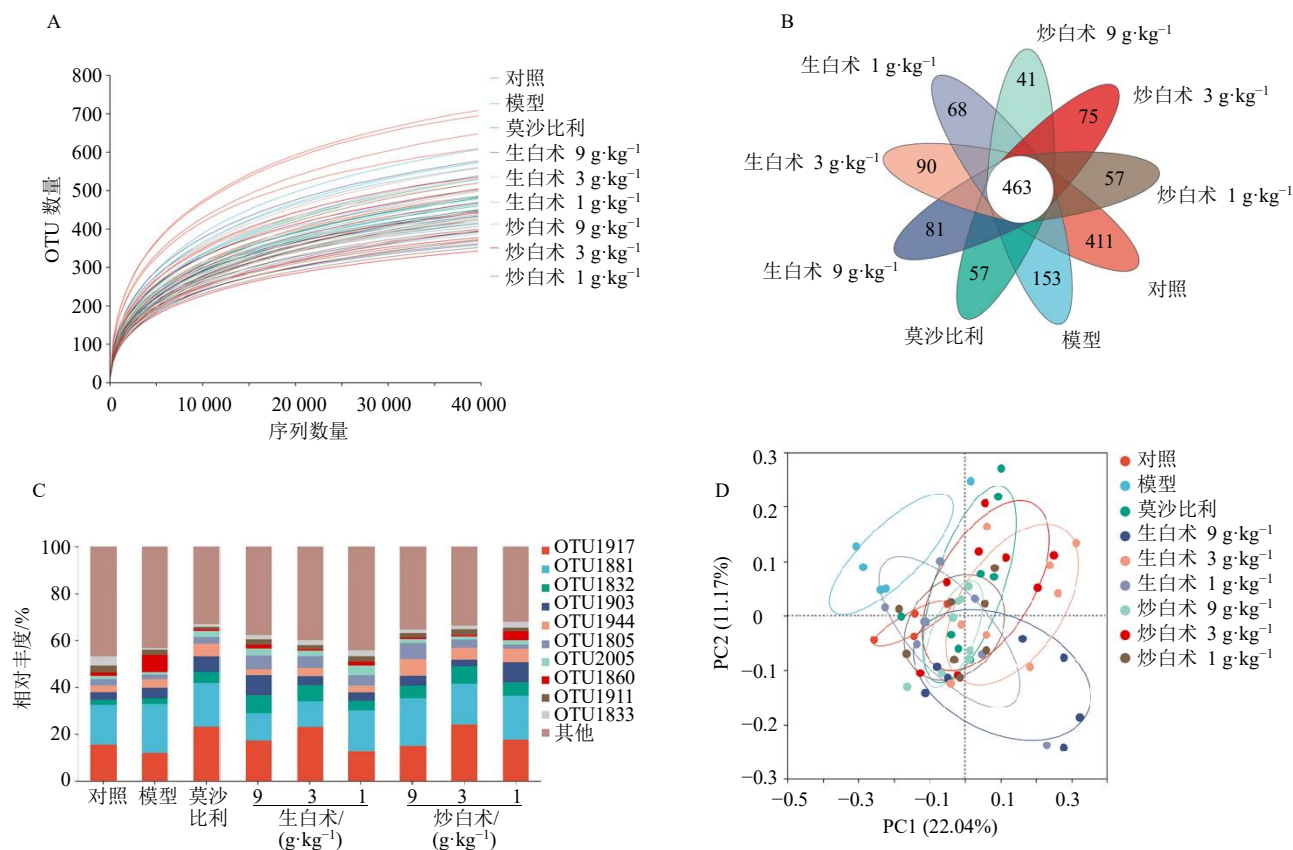


图 3 生白术、炒白术对 FC 大鼠结肠组织中 SP、5-HT 和 VIP 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 4$)

Fig. 3 Effects of raw *A. macrocephala* and fried *A. macrocephala* on levels of SP, 5-HT and VIP in colon tissue of FC rats ($\bar{x} \pm s, n = 4$)



A-稀释曲线; B-韦恩图; C-群落柱形图; D-PCoA 图。

A-dilution curve; B-Venn diagram; C-community histogram; D-PCoA plot.

图 4 OTU 分析

Fig. 4 OTU analysis

测样本的物种丰度较高,物种分布均匀。韦恩图可以直观反映各组菌群共有和独有的 OTU 数目,如图 4-B 所示,9 组比较后发现共有 463 个 OTU,对照组独有 411 个 OTU,模型组独有 153 个 OTU,莫沙比利组独有 57 个 OTU,生白术低剂量组独有 68 个 OTU,生白术中剂量组独有 90 个 OTU,生白术高剂量组独有 81 个 OTU,炒白术低剂量组独有 57 个 OTU,炒白术中剂量组独有 75 个 OTU,炒白术高剂量组独有 41 个 OTU。从图 4-C 可以观察到 OTU1917、OTU1881 和 OTU1860 在不同组大鼠菌群中差异较大。模型组大鼠 OTU1917 数目明显低于其他各组,药物干预后 OTU1917 数目升高。模型组大鼠 OTU1860 数目明显高于其他各组,药物干预后 OTU 数目减少。模型组 OTU1881 数量较对照组明显升高,经中、高剂量生白术干预后数量明显降低。PCoA 是一种非约束性的数据降维分析方法,与 PCA 类似。主要区别在于 PCA 基于欧氏距离,PCoA 则不受限于距离算法。如图 4-D 所示,模型组肠道菌群结构与对照组存在差异,各给药组与模

型组均存在较大差异,各给药组菌群结构相似。

3.6.2 β 多样性分析 如图 5-A 所示,在门水平上,优势菌群主要为厚壁菌门 (Firmicutes)、拟杆菌门 (Bacteroidota)、放线菌门 (Actinobacteriota)、变形菌门 (Proteobacteria) 等。如图 5-B 所示,在目水平上,优势菌群主要为拟杆菌目 (Bacteroidales)、毛螺菌目 (Lachnospirales)、颤螺菌目 (Oscillospirales)、乳杆菌目 (Lactobacillales)、Acidaminococcales、红蝈菌目 (Coriobacteriales)、产芽胞菌目 (Erysipelotrichales)、Clostridia-UCG-014、伯克氏菌目 (Burkholderiales)、Peptostreptococcales-Tissierellales。如图 5-C 所示,在属水平上,优势菌群为 norank-f-Muribaculaceae、布劳特氏菌属 *Blautia*、普雷沃氏菌属 *Prevotella*、乳杆菌属 *Lactobacillus*、考拉杆菌属 *Phascolarctobacterium*、*Faecalibacterium*、unclassified-f-Lachnospiraceae、*Fusicatenibacter*、柯林斯氏菌属 *Collinsella*、Prevotellaceae-NK3B31-group。非度量多维尺度分析 (non-metric multidimensional

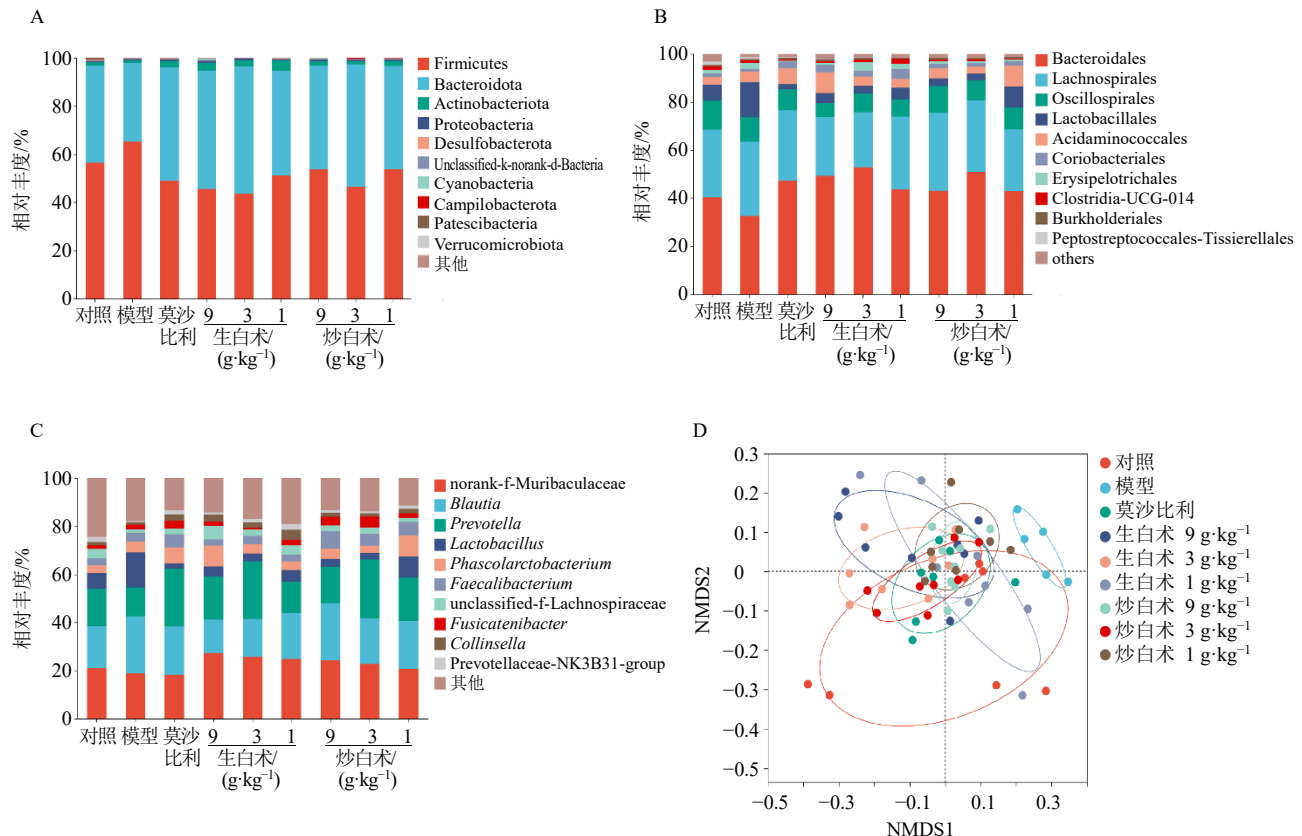


图 5 各组大鼠门 (A)、目 (B)、属 (C) 水平菌群相对丰度柱状图和属水平 NMDS 图 (D)

Fig. 5 Histogram of relative abundance of microbiota at phylum (A), order (B), genus (C) levels of rats in each group and NMDS chart at genus level (D)

scaling, NMDS) 可以直观地反映样本间菌群结构的相似性和差异性。如图 5-D 所示, 各给药组之间菌群在属水平上的差异较小, 与对照组差异不大, 而模型组与其他组菌群差异较大。说明生白术与炒白术在属水平上对 FC 大鼠的菌群改变较大。

3.6.3 生白术、炒白术对 FC 大鼠厚壁菌门和拟杆菌门相对丰度的影响 如图 6 所示, 与模型组比较,

生白术高、中剂量组和炒白术中剂量组厚壁菌门相对丰度显著降低 ($P < 0.01$), 拟杆菌门相对丰度显著升高 ($P < 0.05, 0.01$); 相同剂量下, 生白术组厚壁菌门相对丰度均低于炒白术组, 拟杆菌门的相对丰度均高于炒白术组。表明生白术与炒白术在一定程度上可以升高拟杆菌门的相对丰度, 降低厚壁菌门的相对丰度。

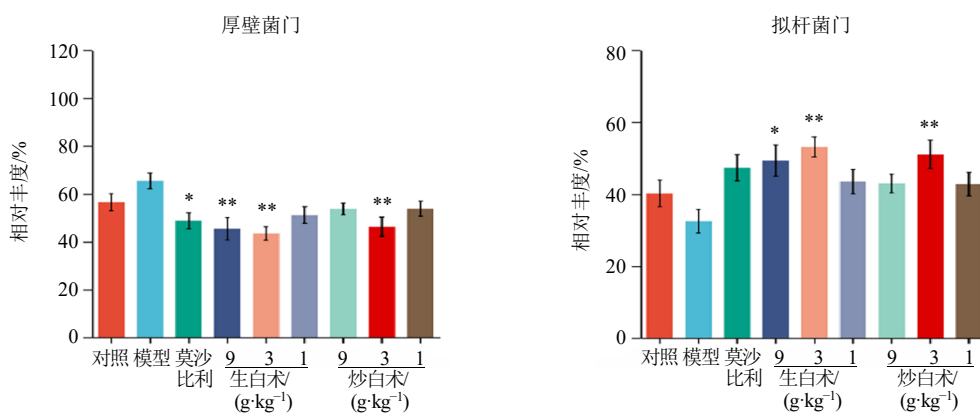


图 6 生白术、炒白术对 FC 大鼠厚壁菌门和拟杆菌门相对丰度的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Fig. 6 Effects of raw *A. macrocephala* and fried *A. macrocephala* on relative abundance of Firmicutes and Bacteroidota in FC rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

4 讨论

SP、VIP、5-HT 是胃肠道重要的肠神经递质, 对胃肠道有着重要的调节作用。5-HT、VIP、SP 作为“脑肠轴”中重要的神经递质, 在便秘中的作用已经被大量研究证实^[18-19]。HT 信号通路在胃肠道疾病的发生发展过程中占据重要地位, 通过位于肠细胞和神经元上的多种 5-HT 受体发挥作用, 参与旁分泌、内分泌和神经内分泌信号, 可以增强胃肠道动力、舒张血管及胰液分泌和肠黏膜生长, 导致腹泻和排便次数增加, 维持肠道稳态^[20-21]。体内超过 90% 的 5-HT 位于胃肠道中, 主要由肠道嗜铬细胞合成, 可改善小鼠慢性不可预测应激诱发的抑郁样行为和胃肠功能障碍^[22-23]。本研究发现模型组大鼠结肠组织中 5-HT 含量减少, 一方面导致肠感觉向脑的传递受到影响, 使便意减少; 另一方面胃肠道动力减弱, 减慢了胃肠道的传输速度, 减少了肠液的分泌, 从而诱导便秘产生^[24]。莫沙比利能够激动消化道黏膜下神经丛的 5-HT₄ 受体, 促进乙酰胆碱的释放, 增强肠道动力, 但其长期使用可能导致耐药性、腹泻等不良反应。相较于阳性对照药莫沙比利, 中药具有多组分、多靶点、协同作用等特点, 白术具有增加双歧杆菌、乳酸菌并抑制梭菌属等有害菌

从而调节肠道菌群, 激活 TCA 循环、丙酮酸代谢, 促进能量供应来改善代谢以及抗炎与神经保护等多重作用, 不仅能促进肠动力, 还可修复肠道屏障、调节水电解质平衡, 综合改善便秘症状, 同时通过恢复菌群稳态和宿主代谢平衡, 疗效更持久, 且安全性更高, 无显著不良反应。本研究结果表明, 采用复方地芬诺酯造模后, 大鼠首粒黑便排出时间延长, 粪便含水量降低, 结肠组织 5-HT、VIP、SP 水平降低。生白术与炒白术干预后, FC 大鼠便秘情况有所改善, 首粒黑便排出时间缩短, 粪便含水率升高, 小肠推进率升高, 5-HT、VIP、SP 水平升高, 且生白术治疗效果略高于炒白术组, 这可能是因为白术经炒后其收涩之性增加, 导致其治疗便秘的效果略逊于生白术。

越来越多的证据表明 FC 与异常肠道微生物群之间存在关联^[25]。FC 是胃肠道功能障碍性疾病的常见疾病, 肠道菌群失衡是 FC 发生的重要病因, 但尚不清楚是否有特定的细菌种类与便秘的发生和/或持续有关^[26], 肠道菌群影响肠道和全身免疫系统之间的发育和功能调节, 可能通过增强肠黏膜通透性和损害黏膜上皮屏障功能, 从而影响肠神经元结构和神经递质的释放以及感觉运动和分泌功能。

研究表明,正常的人类肠道微生物群由 2 大门组成,即拟杆菌门和厚壁菌门^[27],这与本研究中门水平上厚壁菌门、拟杆菌门的优势菌群相符。

厚壁菌门和拟杆菌门的异常组成可能会破坏肠道屏障进而导致炎症^[28]。研究发现 FC 患者肠道中拟杆菌门相对丰度明显降低,而厚壁菌门相对丰度明显升高。拟杆菌门由革兰阴性菌组成,主要是碳水化合物的降解菌,它们通过与肠道免疫系统相互作用,抑制潜在病原体的定植,在胃肠道中发挥重要作用,肠道拟杆菌属产生酸如乙酸、丙酸和琥珀酸,作为其代谢的最终产物,有助于杀死病原体^[29]。厚壁菌门拥有的基因可以与肠黏膜相互作用,从而有助于体内平衡^[30]。厚壁菌门/拟杆菌门(F/B)值对维持正常的肠道稳态有重要影响。F/B 值升高或降低被视为生态失调^[31]。本研究发现,生白术与炒白术在一定程度上可以升高拟杆菌门的相对丰度,降低厚壁菌门的相对丰度,使 F/B 值更接近正常,表明改善肠道菌群可能是白术治疗 FC 的可能作用机制之一。

综上,白术治疗 FC 可能与其改善肠内 5-HT、VIP、SP 分泌,调节肠道菌群,从而恢复肠动力、改善肠内水分吸收,恢复肠道菌群平衡有关。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Cho Y S, Lee Y J, Shin J E, *et al.* 2022 Seoul consensus on clinical practice guidelines for functional constipation [J]. *J Neurogastroenterol Motil*, 2023, 29(3): 271-305.
- [2] Black C J, Drossman D A, Talley N J, *et al.* Functional gastrointestinal disorders: Advances in understanding and management [J]. *Lancet*, 2020, 396(10263): 1664-1674.
- [3] Bokova E, Svetanoff W J, Rosen J M, *et al.* State of the art bowel management for pediatric colorectal problems: Functional constipation [J]. *Children*, 2023, 10(6): 1078.
- [4] Kessoku T, Misawa N, Ohkubo H, *et al.* Current treatment practices for adult patients with constipation in Japan [J]. *Digestion*, 2024, 105(1): 40-48.
- [5] Sperber A D, Bangdiwala S I, Drossman D A, *et al.* Worldwide prevalence and burden of functional gastrointestinal disorders, results of Rome foundation global study [J]. *Gastroenterology*, 2021, 160(1): 99-114.e3.
- [6] Cassettari V M G, Machado N C, Lourenção P L T A, *et al.* Combinations of laxatives and green banana biomass on the treatment of functional constipation in children and adolescents: A randomized study [J]. *J Pediatr*, 2019,

95(1): 27-33.

- [7] 张亚薇,董洋,潘丽红,等. 中药治疗功能性便秘潜在机制研究进展 [J]. 天津中医药, 2024, 41(9): 1206-1213.
- [8] Koppen I J N, Lammers L A, Benninga M A, *et al.* Management of functional constipation in children: Therapy in practice [J]. *Paediatr Drugs*, 2015, 17(5): 349-360.
- [9] 曹巍巍,李鹏,朱煜璋,等. 近 20 年中医药治疗功能性便秘研究现状可视化分析 [J]. 世界中西医结合杂志, 2024, 19(1): 60-67.
- [10] 丁晓洁,董正平,孙喜灵. 《中药成方制剂》治疗便秘方剂的组方规律与优势病证分析 [J]. 时珍国医国药, 2018, 29(2): 476-479.
- [11] 王芳增,杨会举,杨新玉,等. 加味枳实白术汤治疗功能性便秘气阴两虚证临床研究 [J]. 新中医, 2023, 55(13): 81-84.
- [12] 王国健,凌春环. 加味白术汤对气虚型功能性便秘患者的影响 [J]. 中外医学研究, 2022, 20(19): 125-128.
- [13] 刘文娟,刘圆圆. 黄芪白术汤治疗脾虚型便秘患儿的效果及对水通道蛋白-8 的影响 [J]. 中国医学创新, 2022, 19(13): 74-77.
- [14] 赛亚辉,吴欢云,付望,等. 平胃散合四逆散加味治疗湿秘 [J]. 中医药临床杂志, 2024, 36(3): 484-487.
- [15] 彭安琪,罗敏. 加味六磨汤联合生物反馈治疗功能性便秘临床观察 [J]. 山西中医, 2021, 37(12): 11-13.
- [16] 贾梦鑫,于猛,秦玲玲,等. 生白术多糖对洛哌丁胺诱导大鼠便秘的改善作用研究 [J]. 中草药, 2022, 53(24): 7808-7815.
- [17] Meng Y X, Li X J, Wang X T, *et al.* Network pharmacological prediction and molecular docking analysis of the combination of *Atractylodes macrocephala* Koidz. and *Paeonia lactiflora* Pall. in the treatment of functional constipation and its verification [J]. *Animal Model Exp Med*, 2022, 5(2): 120-132.
- [18] Gross E R, Gershon M D, Margolis K G, *et al.* Neuronal serotonin regulates growth of the intestinal mucosa in mice [J]. *Gastroenterology*, 2012, 143(2): 408-417.
- [19] 石宇,张洋,侯福红,等. 基于“以补开塞”法探讨养荣润肠舒合剂对慢传输型便秘 SD 大鼠结肠 5-HT 及 VIP 的影响 [J]. 湖北中医杂志, 2022, 44(9): 3-6.
- [20] Margolis K G, Li Z S, Stevanovic K, *et al.* Serotonin transporter variant drives preventable gastrointestinal abnormalities in development and function [J]. *J Clin Invest*, 2016, 126(6): 2221-2235.
- [21] Lund M L, Egerod K L, Engelstoft M S, *et al.* Enterochromaffin 5-HT cells—A major target for GLP-1 and gut microbial metabolites [J]. *Mol Metab*, 2018, 11:

- 70-83.
- [22] Wang Y, Huang Y Z, Zhao M, *et al.* Zuojin Pill improves chronic unpredictable stress-induced depression-like behavior and gastrointestinal dysfunction in mice via the theTPH2/5-HT pathway [J]. *Phytomedicine*, 2023, 120: 155067.
- [23] Najjar S A, Hung L Y, Margolis K G. Serotonergic control of gastrointestinal development, motility, and inflammation [J]. *Compr Physiol*, 2023, 13(3): 4851-4868.
- [24] 索静宇. 慢传输型便秘大鼠胃肠黏膜 5-羟色胺 3 受体的表达 [D]. 合肥: 安徽医科大学, 2014.
- [25] Zhang S S, Wang R X, Li D Y, *et al.* Role of gut microbiota in functional constipation [J]. *Gastroenterol Rep*, 2021, 9(5): 392-401.
- [26] da Silva Ferreira M V, Barbosa J L Jr, Kamruzzaman M, *et al.* Low-cost electronic-nose (LC-e-nose) systems for the evaluation of plantation and fruit crops: Recent advances and future trends [J]. *Anal Methods*, 2023, 15(45): 6120-6138.
- [27] Jandhyala S M, Talukdar R, Subramanyam C, *et al.* Role of the normal gut microbiota [J]. *World J Gastroenterol*, 2015, 21(29): 8787-8803.
- [28] Khan R, Sharma A, Ravikumar R, *et al.* Association between gut microbial abundance and sight-threatening diabetic retinopathy [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2021, 62(7): 19.
- [29] Khan I, Bai Y R, Zha L J, *et al.* Mechanism of the gut microbiota colonization resistance and enteric pathogen infection [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2021, 11: 716299.
- [30] Sun Y G, Zhang S S, Nie Q X, *et al.* Gut firmicutes: Relationship with dietary fiber and role in host homeostasis [J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2023, 63(33): 12073-12088.
- [31] Stojanov S, Berlec A, Štrukelj B. The influence of probiotics on the firmicutes/bacteroidetes ratio in the treatment of obesity and inflammatory bowel disease [J]. *Microorganisms*, 2020, 8(11): 1715.

[责任编辑 李亚楠]