

- [J]. 神经药理学报, 2016, 6(1): 41-48.
- [20] Matsuda J, Namba T, Takabatake Y, *et al.* Antioxidant role of autophagy in maintaining the integrity of glomerular capillaries [J]. *Autophagy*, 2018, 14(1): 53-65.
- [21] 杨海龙, 刘春萍, 刘建滔, 等. 基于自噬探讨丹菱片减轻心肌缺血再灌注损伤的机制研究[J]. 中国中西医结合杂志, 2020, 40(3): 318-323.
- [22] Hu B L, Zhang Y N, Jia L, *et al.* Binding of the pathogen receptor HSP90AA1 to avibirnavirus VP2 induces autophagy by inactivating the AKT-MTOR pathway[J]. *Autophagy*, 2015, 11(3): 503-515.
- [23] 王 飘, 郑 晴, 胡 婷, 等. 基于 PI3K/Akt/mTOR 信号通路的三七总皂苷调控自噬抗 H9c2 细胞缺氧/复氧损伤机制研究[J]. 中国中医药信息杂志, 2021, 28(8): 87-92.
- [24] Li X F, Hu X R, Wang J C, *et al.* Inhibition of autophagy via activation of PI3K/Akt/mTOR pathway contributes to the protection of hesperidin against myocardial ischemia/reperfusion injury[J]. *Int J Mol Med*, 2018, 42(4): 1917-1924.
- [25] Klionsky D J, Abdelmohsen K, Abe A, *et al.* Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy (3rd edition) [J]. *Autophagy*, 2016, 12(1): 1-222.
- [26] Chen Y M, Li H C, Zhang W N, *et al.* Sesamin suppresses NSCLC cell proliferation and induces apoptosis via Akt/p53 pathway[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2020, 387: 114848.
- [27] Kong P Y, Chen G H, Jiang A L, *et al.* Sesamin inhibits IL-1 β -stimulated inflammatory response in human osteoarthritis chondrocytes by activating Nrf2 signaling pathway [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(50): 83720-83726.

囊荷不同提取物对慢传输型便秘小鼠作用比较

谷仿丽, 黄仁术, 何晓梅, 姜雪萍, 陈乃富, 韩邦兴, 邓 辉

(皖西学院生物与制药工程学院, 安徽省中药资源保护与持续利用工程实验室, 安徽 六安 237012)

摘要:目的 比较囊荷不同提取物对慢传输型便秘小鼠的作用, 筛选其最佳有效部位。方法 分别提取囊荷水提物、醇溶物、醇沉物, 灌胃给予小鼠 14 d, 观察囊荷不同提取物对慢传输型便秘小鼠首次排便时间、排便粒数及重量、小肠推进率、水通道蛋白 3 (AQP3) 表达及肠道菌群的影响。结果 各给药组能缩短模型小鼠首次排便时间、提高排便粒数及重量、小肠推进率; 囊荷水提物组小鼠结肠 AQP3 表达降低、肠道菌群的丰富度及多样性升高; 囊荷醇溶物组肠道菌群的丰富度及多样性无差异; 醇沉物组能提高 AQP3 表达, 肠道菌群的丰富度及多样性低于水提物组。结论 囊荷水提物是抗慢传输型便秘的最佳有效部位。

关键词:囊荷; 水提物; 醇溶物; 醇沉物; 慢传输型便秘; 肠道菌群

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2022)07-2329-05

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2022.07.049

慢性传输型便秘是功能性便秘中的一种类型, 以结肠运行缓慢, 水分吸收增加致大便干硬, 排便次数减少, 无便意并伴有腹胀腹痛的一种疾病^[1], 临床上药物治疗远期效果不佳, 停药后容易复发^[2]。目前慢性传输型便秘发病机制尚不明确, 近年来的研究认为其与肠道菌群失调及肠道水通道蛋白 (aquaporin, AQP) 表达异常有关^[3]。

囊荷 *Zingiber mioga* (Thunb.) Rosc. 又名阳荷、野姜、观音花等, 具有祛痰止咳、解毒消肿、活血调经等功效, 临床用于治疗咳嗽、腹痛腹胀、月经不调等病症。囊荷含有蛋白质、脂肪、膳食纤维、微量元素及人体必需氨基酸等多种营养素及黄酮、多糖等成分^[4]。前期进行囊荷黄酮、多糖、色素的提取工艺及生物活性研究^[5-9], 并进行囊

荷水提物对慢性传输型便秘小鼠肠运动的影响研究, 发现囊荷水提物可增加便秘小鼠首次排便时间、排便量, 促进肠蠕动, 但其作用机制及有效部位尚不明确。本实验基于肠道菌群及 AQP3 表达, 初步筛选囊荷治疗慢传输型便秘的有效部位。

1 材料

1.1 动物 昆明种小鼠, 体质量 18~22 g, 购于安徽医科大学实验动物中心, 动物生产许可证号 SCXK (皖) 2017-001。

1.2 试剂与药物 囊荷, 采于皖西大别山区, 经黄仁术教授鉴定为囊荷 *Zingiber mioga* (Thunb.) Rosc.。盐酸洛哌丁胺胶囊 (西安杨森制药有限公司, 批号 191025433); 大黄通便颗粒 (甘肃扶正药业科技股份有限公司, 批号

收稿日期: 2021-09-09

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2017YFC1700701); 安徽省自然科学基金项目 (1808085MH307); 安徽省高校自然科学基金重点项目 (KJ2018A0413, KJ2019A0627); 安徽省林业科技攻关团队项目 (2017062)

作者简介: 谷仿丽 (1980—), 女, 硕士, 副教授, 从事中药新药研究与开发工作。Tel: (0564) 3305033, E-mail: gfl0127@163.com

19052703)。RIPA 裂解液(批号 2002041)、磷酸化蛋白酶抑制剂(批号 2007082)、5×蛋白还原型上样缓冲液(批号 2003023)、HRP 山羊抗兔抗体(批号 2003304)(武汉赛维尔生物科技有限公司);D3141 粪便 DNA 试剂盒(广州美基生物科技有限公司,批号 20092708)。

1.3 仪器 灰度分析软件(美国 Alpha Innotech 公司);琼脂糖凝胶电泳仪(北京六一仪器厂);凝胶成像系统(上海天能科技有限公司);PCR 仪(苏州东胜兴业科学仪器有限公司);Qubit 3.0 荧光定量仪(美国 Thermo Fischer 公司)。

2 方法

2.1 藜荷提取物的制备 取 1 kg 新鲜藜荷,干燥,粉碎,过 40 目筛,继续干燥至恒重。取适量藜荷粉末,以料液比 1:25、温度 90℃提取 2 次,每次 1.5 h,合并滤液,减压浓缩至提取物相对密度 1.13,取出部分提取物,即得藜荷水提物,继续浓缩至膏状,冷冻干燥;剩余藜荷水提物缓慢加入 4 倍量 95%乙醇,边加边搅拌至均匀,保鲜膜封口,4℃冰箱保存 24 h,4 000 r/min 离心 10 min,取沉淀物冷冻干燥,即得藜荷醇沉部位;醇溶部位减压浓缩至膏状,冷冻干燥,即得藜荷醇溶部位;将干燥物粉碎,过 100 目筛,即得藜荷水提物、醇沉部位、醇溶部位干粉。

2.2 藜荷不同提取物对慢性传输型便秘小鼠排便的影响 选取健康小鼠 60 只,随机分为正常组、模型组、大黄通便颗粒组和藜荷水提物、醇溶物、醇沉物组,每组 10 只。正常组及模型组灌胃 0.5% CMC-Na 溶液,给药组分别灌胃给予藜荷水提物、醇溶物、醇沉物 0.5 g/kg 和大黄通便颗粒 3 g/kg,连续 14 d。末次给药前各组小鼠禁食不禁水 16 h,末次给药后 1 h,给药组及模型组灌胃盐酸洛哌丁胺 4 mg/kg 复制便秘模型,正常组灌胃等容量蒸馏水,30 min 后,每只小鼠灌胃 5% 活性炭溶液 0.1 mL。记录每只小鼠首次排出黑便时间以及 8 h 内排出黑便的总粒数及总重量。

表 1 藜荷不同提取物对慢性传输型便秘小鼠排便的影响($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	首次排便时间/min	排便粒数/粒	排便重量/mg
正常组	—	21.6±2.6	9.4±1.37	106.1±18.2
模型组	—	103.4±23.5**	5.11±1.03**	32.8±7.5**
藜荷水提物组	0.5	55.1±8.3 ^{ΔΔ}	7.4±1.44 ^{ΔΔ}	80.5±11.9 ^{ΔΔ}
藜荷醇溶物组	0.5	68.3±9.6 ^{ΔΔ}	6.6±1.16 ^Δ	72.4±10.3 ^{ΔΔ}
藜荷醇沉物组	0.5	53.8±4.6 ^{ΔΔ}	7.3±1.77 ^{ΔΔ}	78.9±13.3 ^{ΔΔ}
大黄通便颗粒组	3	45.4±4.2 ^{ΔΔ}	7.7±1.81 ^{ΔΔ}	91.6±15.6 ^{ΔΔ}

注:与正常组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,^Δ $P<0.05$,^{ΔΔ} $P<0.01$ 。

3.2 藜荷不同提取物对慢性传输型便秘小鼠小肠推进率的影响 与正常组比较,模型组小鼠小肠推进率降低($P<0.01$);与模型组比较,藜荷各提取物组小肠推进率升高($P<0.05$, $P<0.01$),表明藜荷各提取物均具有推动便秘小鼠小肠运动的作用,各提取物组间比较无统计学差异($P>0.05$)。结果见图 1。

3.3 藜荷不同提取物对慢性传输型便秘小鼠结肠 AQP3 表达的影响 与正常组比较,模型组小鼠 AQP3 表达提高

2.3 藜荷不同提取物对慢性传输型便秘小鼠小肠推进率及 AQP3 表达的影响 选取健康小鼠 60 只,按“2.2”项下方法进行分组、给药及造模,15 min 后脱颈椎处死,取小肠,测量小肠全长及碳末推进距离,计算各组小肠推进率。取升结肠并剖开,用预冷的磷酸缓冲盐溶液洗涤以去除血污,剪成小块置于匀浆管中进行匀浆;取出匀浆液,4℃、12 000 r/min 离心 10 min,取上清,即为总蛋白溶液,Western blot 法检测结肠 AQP3 表达^[10]。

2.4 藜荷不同提取物对慢性传输型便秘小鼠肠道菌群的影响 选取健康小鼠 60 只,按“2.2”项下方法进行分组、给药及造模,30 min 后,取小鼠粪便,立即液氮保存备用。取小鼠粪便解冻,根据试剂盒说明书,提取粪便 DNA, NanoDrop 微量分光光度计检测 DNA 浓度,琼脂糖凝胶电泳检验核酸样本的完整性。以稀释后的 DNA 为模板,选用细菌 16S rRNA (V3-V4) 区域引物,进行 PCR 纯化和扩增,341 bp 正向序列 5'-CCTACGGGNGGCWGCAG-3', 806 bp 反向序列 5'-GGACTACHVGGGTATCTAAT-3'。使用 AMPure XP Beads 对第 2 轮扩增产物进行纯化,用 ABI StepOnePlus Real Time PCR 系统进行定量,根据 Novaseq 6000 的 PE250 模式 pooling 上机测序。

2.5 统计学分析 采用 SPSS 23.0 软件进行处理,结果以($\bar{x}\pm s$)表示,多样本比较采用单因素方差分析。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

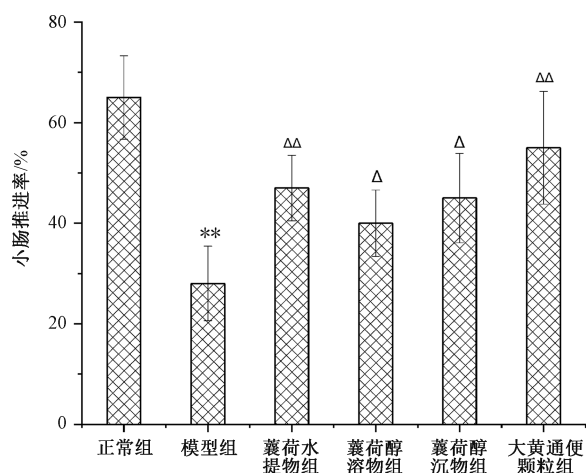
3 结果

3.1 藜荷不同提取物对慢性传输型便秘小鼠排便的影响 与正常组比较,模型组小鼠首次排便时间延长($P<0.01$),排便粒数及重量减少($P<0.01$);与模型组比较,藜荷各提取物组首次排便时间均缩短($P<0.01$),排便粒数及重量均增加($P<0.05$, $P<0.01$),表明相同剂量的藜荷不同提取物均有促进便秘小鼠胃肠运动的作用,以水提物作用最佳。结果见表 1。

($P<0.05$),表明模型小鼠结肠水分吸收增加;与模型组比较,藜荷水提物、醇沉物组和大黄通便颗粒组 AQP3 表达均降低($P<0.05$),表明藜荷水提物、醇沉物均有降低模型小鼠升结肠水分吸收,改善大便干燥症状。结果见图 2。

3.4 藜荷不同提取物对慢性传输型便秘小鼠肠道菌群的影响

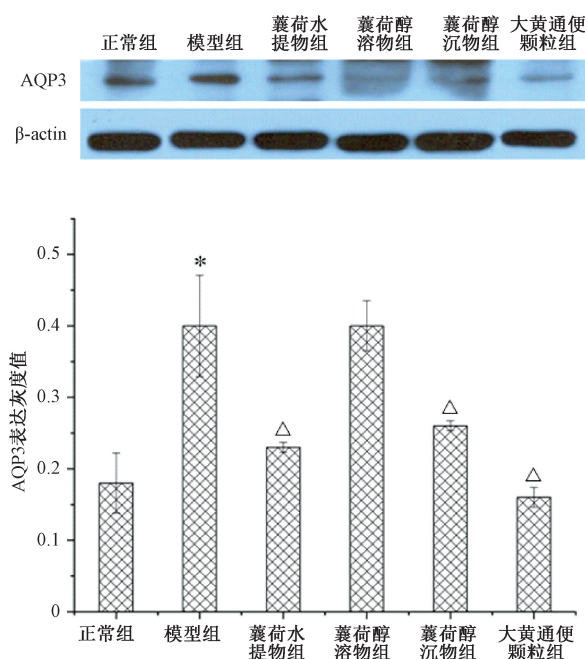
3.4.1 对肠道菌群物种组成的影响 各组均选取在门、纲、目、科、属、种水平上 OTU 排名前 10 的物种进行比



注：与正常组比较，** $P < 0.01$ ；与模型组比较， $\Delta P < 0.05$ ， $\Delta\Delta P < 0.01$ 。

图 1 囊荷不同提取物对慢性传输型便秘小鼠小肠推进率的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

较，绘制以门水平的物种为例的相对丰度堆积柱形图（图 3）。在门水平上，各组均以拟杆菌门、厚壁菌门、变形菌门为优势菌群，各组所占比例不同，模型组小鼠变形菌门>厚壁菌门>拟杆菌门，囊荷水提物小鼠拟杆菌门>厚壁菌门>变形菌门，囊荷醇溶物组小鼠厚壁菌门>拟杆菌门>变形菌门，醇沉物组变形菌门>拟杆菌门>厚壁菌门。与模型组比较，囊荷水提物、醇溶物组小鼠拟杆菌门、厚壁菌门



注：与正常组比较，* $P < 0.05$ ；与模型组比较， $\Delta P < 0.05$ 。

图 2 囊荷不同提取物对慢性传输型便秘小鼠结肠 AQP3 表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

的相对丰度升高，变形菌门降低；囊荷醇沉物组变形菌门、拟杆菌门的相对丰度升高，厚壁菌门降低。

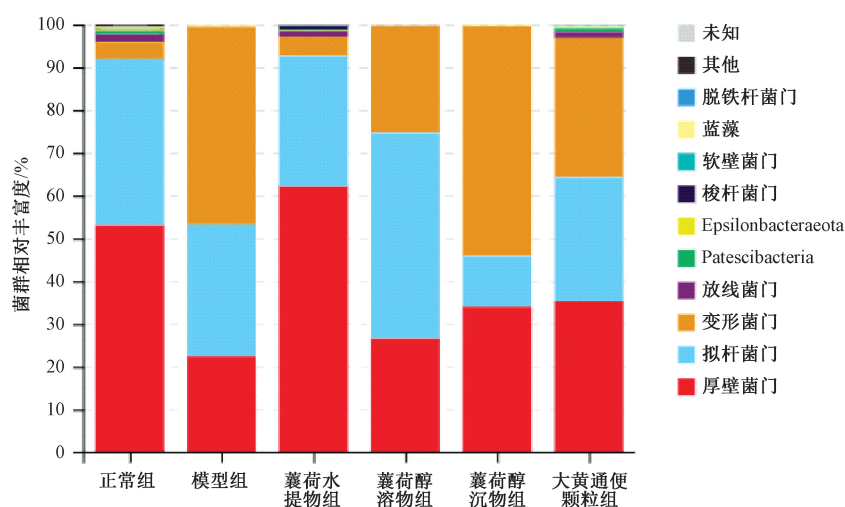


图 3 囊荷不同提取物对慢性传输型便秘小鼠肠道菌群物种组成的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

3.4.2 对慢性传输型便秘小鼠肠道菌群 α 多样性指数的影响 α 多样性指数是评价单个体内微生物群落丰富度和多样性的统计学分析指标，Sobs、Chao 1 指数是评价小鼠肠道菌群的物种丰富度指标，数值越大丰富度越高；Shannon、Simpson 指数评价物种多样性指标，数值越大多样性越高^[11]。由表 2 可知，与正常组比较，模型组 Sobs、Chao 1、Shannon、Simpson 指数均降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)，表明模型组小鼠菌群丰富度及多样性均降低；与模型组比较，囊荷水提物组、大黄通便颗粒组各指数均升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)，囊荷醇溶物组 Chao 1、Simpson 指数

升高 ($P < 0.05$)；与囊荷水提物组比较，醇沉物组各指数均降低 ($P < 0.05$)，醇溶物组 Sobs、Shannon 指数降低 ($P < 0.05$)。表明囊荷水提物、醇溶物能调节便秘小鼠肠道菌群的丰富度及多样性，以水提物调节作用最佳，醇沉物无调节作用。

3.4.3 对慢性传输型便秘小鼠肠道菌群 β 多样性的影响 非度量多维尺度法统计 (non-metric multidimensional scaling, NMDS) 主要通过样本点与点之间的距离评价样本间微生物群落组成的相似性，即样本点距离越近则物种组成越相似，越远则物种组成差异越大^[12]；以 stress 值评估

表 2 藜荷不同提取物对慢性传输型便秘小鼠肠道菌群 α 多样性指数的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	Sobs	Chao1	Simpson	Shannon
正常组	561.3 $\pm$ 79.1	633.5 $\pm$ 68.2	0.96 $\pm$ 0.007	5.9 $\pm$ 0.03
模型组	355.8 $\pm$ 38.4 [*]	493.2 $\pm$ 13.5 [*]	0.73 $\pm$ 0.060 [*]	2.7 $\pm$ 0.28 ^{**}
藜荷水提物组	490.2 $\pm$ 12.7 ^{Δ}	559.3 $\pm$ 23.5 ^{Δ}	0.95 $\pm$ 0.023 ^{Δ}	5.6 $\pm$ 0.27 ^{$\Delta\Delta$}
藜荷醇溶物组	364.5 $\pm$ 44.4 [#]	501.7 $\pm$ 83.9 ^{Δ}	0.77 $\pm$ 0.048	3.0 $\pm$ 0.36 [#]
藜荷醇沉物组	339.4 $\pm$ 6.0 [#]	445.3 $\pm$ 20.0 [#]	0.72 $\pm$ 0.082 [#]	2.9 $\pm$ 0.83 [#]
大黄通便颗粒组	507.3 $\pm$ 68.1 ^{Δ}	590.6 $\pm$ 93.7 ^{Δ}	0.94 $\pm$ 0.018 ^{Δ}	5.3 $\pm$ 0.24 ^{$\Delta\Delta$}

注:与正常组比较,^{*} $P<0.05$,^{**} $P<0.01$;与模型组比较, ^{Δ} $P<0.05$, ^{$\Delta\Delta$} $P<0.01$;与水提物组比较,[#] $P<0.05$ 。

模型的可靠性,值越小评估样本间的差异性就越准确,一般 stress 值小于 0.1 表示模型较可靠。各组样本间均具有一定的距离,其中藜荷水提物组与正常组、大黄通便颗粒组距离较近,与模型组和藜荷醇溶物、醇沉物组距离较远;

与藜荷醇沉物组比较,藜荷醇溶物组样本距离模型组距离较远。由图 4 可知, stress 小于 0.1,表明 NMDS 法能准确评价藜荷各提取物对慢性传输型便秘小鼠肠道菌群引起的差异性,提示各组间肠道菌群物种组成存在差异。

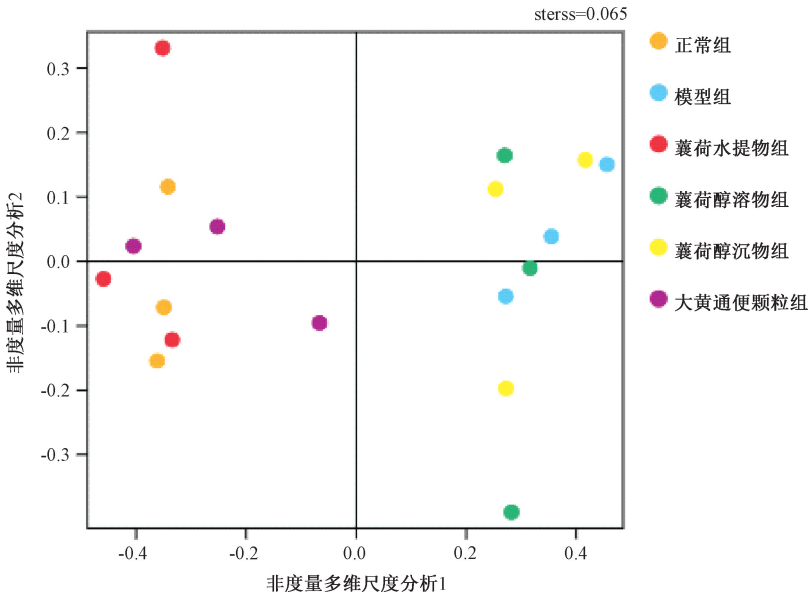


图 4 藜荷各提取物对慢性传输型便秘小鼠肠道菌群 β 多样性的影响

4 讨论

人体结肠有 AQP1~AQP4、AQP8~AQP9 表达,分别参与结肠水分吸收与分泌,其表达异常可引起如便秘、腹泻等肠道疾病^[13-15]。慢性传输型便秘患者切除的结肠中 AQP3 表达增加,表明 AQP3 在该病发生发展中起到重要作用^[16]。在多种因素影响下,肠道菌群失调,导致肠蠕动减慢,水分吸收增加,引发慢性传输型便秘,故改善肠道菌群失调已成为治疗该病的新靶点^[17]。

目前治疗慢性传输型便秘常用药物有促动力药、刺激性及渗透性泻药等,临床疗效欠佳,且副作用明显^[17]。膳食纤维被推荐用于慢性便秘的基础治疗^[18],增加膳食纤维摄入可降低便秘发病率^[19],但也有研究得出相反观点^[20]。中药多组分、多途径、多靶点治疗疾病且副作用小的特点决定其临床治疗的优势^[21],研究发现大黄、霍山石斛、增液汤等可通过调节肠道 AQP 表达及肠道菌群缓解便秘小鼠症状^[22-23];复方益气养阴通便汤、黄芪润肠丸能有效提高便秘患者有益菌比例,改善患者症状,且远期疗效明显^[24-25],表明中药可通过调节肠道菌群、改善结肠 AQP 表

达治疗便秘。

藜荷中粗纤维含量达 28%^[4],是其促消化的物质基础。藜荷水提物能促进肠蠕动,从而促排便,改善便秘小鼠症状。植物中膳食纤维分为水溶性和水不溶性(醇溶)膳食纤维^[26],因此,将藜荷水提物溶液中加入乙醇,将其分离为醇沉物和醇溶物,与水提物比较对慢性传输型便秘小鼠的作用,以筛选最佳有效部位。结果发现,藜荷水提物可促进慢性传输型便秘小鼠排便,降低 AQP3 表达,提高肠道有益菌的比例及菌群丰富度、多样性,且作用优于醇溶物、醇沉物组;藜荷醇溶物组促排便、调节肠道菌群的作用优于醇沉物;藜荷醇沉物组降低 AQP3 表达的作用优于醇溶物组。

药效物质基础研究是中药研究的根本问题^[27],随着中药化学分离及活性追踪技术的发展,从中药中获得有效部位或单体物质用于药效学研究成为可能,但只能分离出少数活性较强的成分,大部分中药成分纯度越高疗效越差,甚至无效,而单味中药或与其他中药组成复方多组分,协同发挥了较好的药理效应,体现了中药治疗的整体观^[28]。

综上所述, 囊荷水提物是抗慢性传输型便秘小鼠最有效的部位。

参考文献:

- [1] Black C J, Ford A C. Chronic idiopathic constipation in adults: epidemiology, pathophysiology, diagnosis and clinical management[J]. *Med J Aust*, 2018, 209(2): 86-91.
- [2] 杨颖, 余清华, 王宇, 等. 济川煎对慢传输型便秘大鼠的水通道蛋白影响[J]. *中药药理与临床*, 2019, 35(6): 15-19.
- [3] 钱梦烨, 戴高中. 中药治疗慢传输型便秘临床及实验研究进展[J]. *实用中医药杂志*, 2021, 37(3): 518-520.
- [4] 吴金平, 丁自立, 郭凤领, 等. 我国囊荷资源开发利用现状[J]. *长江蔬菜*, 2013(22): 10-12.
- [5] 黄仁术, 钱艳琳, 刘仁妮, 等. 囊荷总黄酮的超声辅助提取工艺及其抗氧化活性研究[J]. *中国药学杂志*, 2016, 51(19): 1652-1656.
- [6] 蒋平, 李雅茹, 孙桃桃, 等. 囊荷与抗生素配伍前后对金黄色葡萄球菌抑菌效果的比较[J]. *井冈山大学学报(自然科学版)*, 2021, 42(2): 94-97.
- [7] 黄仁术, 汪莹, 陈坤, 等. 囊荷多糖的提取工艺及其体外抑菌活性研究[J]. *吉林农业*, 2018(14): 53-55.
- [8] 黄仁术, 刘仁妮, 钱艳琳, 等. 囊荷总黄酮的提取工艺及其体外抑菌活性研究[J]. *食品与生物技术学报*, 2017, 36(5): 524-530.
- [9] 黄仁术, 董诚, 邓扬扬. 溶剂萃取法提取囊荷红色素的工艺条件研究[J]. *江苏农业科学*, 2013, 41(8): 287-289.
- [10] 朱波, 杨艳, 苏仁意, 等. 右归丸治疗功能性便秘大鼠胃肠动力学和神经递质、水通道蛋白3的影响[J]. *世界中医药*, 2019, 14(7): 1677-1680; 1685.
- [11] 钟婧, 张俊杰, 李珂, 等. 高通量测序研究中药复方对流感病毒感染小鼠肠道菌群的影响[J]. *中国中医药信息杂志*, 2020, 27(7): 54-64.
- [12] 王敏. 微生态环境对变应性鼻炎发病及机制的研究[D]. 西安: 第四军医大学, 2015.
- [13] Laforenza U. Water channel proteins in the gastrointestinal tract[J]. *Mol Aspects Med*, 2012, 33(5-6): 642-650.
- [14] Wang K S, Ma T, Filiz F, et al. Colon water transport in transgenic mice lacking aquaporin-4 water channels[J]. *Am J Physiol Gastrointest Live Physiol*, 2000, 279(2): G463-G470.
- [15] 赵凯科, 郑立, 毛智斌, 等. 水通道蛋白与胃肠道疾病关系研究进展[J]. *动物医学进展*, 2016, 37(1): 77-80.
- [16] 袁维堂, 杨会锋, 张志永, 等. 功能性便秘患者结肠黏膜水通道蛋白3和水通道蛋白9的表达及意义[J]. *中华胃肠外科杂志*, 2008, 11(1): 57-60.
- [17] 卞瑞祺. 结肠慢传输型便秘与肠道菌群相关性研究进展[J]. *中国肛肠病杂志*, 2020, 40(10): 77-79.
- [18] 中华医学会消化病学分会胃肠动力学组, 中华医学会外科学分会结直肠肛门外科学组. 中国慢性便秘诊治指南(2013, 武汉)[J]. *胃肠病学*, 2013, 18(10): 605-612.
- [19] Schmier J K, Miller P E, Levine J A, et al. Cost savings of reduced constipation rates attributed to increased dietary fiber intakes: a decision - analytic model[J]. *BMC Public Health*, 2014, 14: 374.
- [20] Markland A D, Palsson O, Goode P S, et al. Association of low dietary intake of fiber and liquids with constipation: evidence from the National Health and Nutrition Examination Survey[J]. *Am J Gastroenterol*, 2013, 108(5): 796-803.
- [21] 孙婷婷, 马晓慧, 李欣欣, 等. 中药生物效价研究现状及开发思路探讨[J]. *中草药*, 2017, 48(9): 1906-1911.
- [22] 张丽娅, 李刚, 王永兵. 中药干预慢传输型便秘肠道水通道蛋白表达及其作用机制的研究进展[J]. *中成药*, 2021, 43(1): 163-167.
- [23] Gao C C, Li G W, Wang T T, et al. Rhubarb extract relieves constipation by stimulating mucus production in the colon and altering the intestinal flora[J]. *Biomed Pharmacother*, 2021, 138: 111479.
- [24] 田均, 李传艳, 张坚明, 等. 益气养阴通便汤对气阴两虚型便秘患者肠道菌群的影响[J]. *中国肛肠病杂志*, 2021, 41(3): 47-49.
- [25] 喻少雷, 苗永新, 杨爱龙, 等. 黄芪润肠丸对便秘患者肠道菌群比例调整作用的研究[J]. *中国中医药科技*, 2015, 22(2): 190.
- [26] Beane K E, Redding M C, Wang X, et al. Effects of dietary fibers, micronutrients, and phytonutrients on gut microbiome: a review[J]. *Appl Biol Chem*, 2021, 64(1): 36.
- [27] 乔宏志, 狄留庆, 平其能, 等. 结构中药学: 中药药效物质基础研究的新领域[J]. *中国中药杂志*, 2021, 46(10): 2443-2448.
- [28] 王毅, 张晗, 张伯礼, 等. 中药药效物质多模态辨识方法学及其应用研究[J]. *中国中药杂志*, 2020, 45(1): 1-6.