

麻杏纤畅酥对便秘小鼠的通便作用及调控短链脂肪酸的保护作用研究

黄 华, 丁旭枫, 卫 军, 蒋 捷, 季利江

[摘要] 目的 研究麻杏纤畅酥对便秘小鼠润肠通便与肠道短链脂肪酸的作用。方法 采用复方地芬诺酯构建小鼠便秘模型,将小鼠随机分为5组:正常组、便秘模型组、阳性对照组、麻杏纤畅酥高剂量实验组和低剂量实验组,检测小鼠排便情况、肠道蠕动及粪便中短链脂肪酸含量等指标。结果 与对照组比较,便秘模型组小鼠的首粒黑便时间明显延长($P<0.05$),4 h内粪便粒数、质量、含水量和小肠墨汁推进率均明显降低($P<0.05$),说明成功构建小鼠便秘模型。与便秘模型组比较,麻杏纤畅酥可以有效减少小鼠首粒黑便时间($P<0.05$),并且能增加粪便粒数($P<0.05$)、质量($P<0.05$)和粪便含水量($P<0.05$),促进便秘小鼠小肠墨汁推进($P<0.05$),提高结肠肌层厚度($P<0.05$),促进小鼠肠道代谢产生异丁酸、丁酸、异戊酸和戊酸。结论 麻杏纤畅酥有效促进便秘小鼠肠道蠕动并缓解了便秘,具有润肠通便的作用,本研究为麻杏纤畅酥的保健功效提供了依据。

[关键词] 麻杏纤畅酥;便秘小鼠;通便作用;短链脂肪酸

[中图分类号] R285

[文献标志码] A

[文章编号] 2095-3097(2022)05-0278-04

doi: 10.3969/j.issn.2095-3097.2022.05.004

Study on laxative effect of Mxing Xianchang Su on constipation mice and its protective effect on regulating short chain fatty acids

HUANG Hua, DING Xufeng, WEI Jun, JIANG Jie, JI Lijiang

(Coloproctological Dept, Changshu Municipal Hospital of TCM, Affiliated to Nanjing University of TCM, Changshu Jiansu 215500, China)

[Abstract] **Objective** To study the effect of Mxing Xianchang Su on intestinal peristalsis and defecation function of constipated mice. **Methods** A total of 75 mice were randomly divided into 5 groups including constipation model control group, blank control group, positive control group, Mxing Xianchang Su high-dose experimental group, and low-dose experimental group. **Results** Compared with the control group, the time of the first black stool in the model group was significantly delayed, and the fecal number, fecal quality, fecal water content and ink propulsion rate were significantly reduced within 4 hours ($P<0.05$), which indicated that the constipation model was successfully established. Compared with the model group, Mxing Xianchang Su could significantly shorten the time of the first black stool ($P<0.05$), and it could increase the number of feces ($P<0.05$), the quality of feces ($P<0.05$), and the water content of feces ($P<0.05$). It enhanced the advance rate of ink in small intestine ($P<0.05$), and increased the thickness of colonic muscle layer ($P<0.05$). Besides, Mxing Xianchang Su could promote the intestinal metabolism of mice to produce isobutyric acid, butyric acid, butyric acid and vitamin C, acid Isovaleric acid. **Conclusion** Mxing Xianchang Su can effectively promote the intestinal peristalsis of constipated mice, relieve constipation, and have the function of moistening intestines and defecating. This study provides the basis for the health care effect of Mxing Xianchang Su.

[Key words] Mxing Xianchang Su; Constipation mice; Laxative effect; Short chain fatty acids

便秘是一种好发老年人的常见病^[1],长期便秘会导致大便干燥,直接损伤肠粘膜,引起肛裂和血便,而且便秘能显著增加有毒物质的积累,使得患直肠癌、结肠癌等相关癌症的风险有所增加^[2-3]。便秘可以根据日常饮食、作息习惯逐步调节,但起效慢,且严重便秘患者的效果并不显著^[4]。如今有一些药物能改善便秘,如番泻叶、芦荟、大黄、开塞露

等,这些药剂主要刺激肠蠕动、润滑肠壁,从而达到排便目的。最近研究表明,频繁使用这些药物可以降低肠壁神经感觉细胞的灵敏度,减缓排便反射,进而导致难治性便秘^[5]。寻找具有通便润肠功效的天然提取物、药食两用中药或者补充膳食纤维,可能会获得一种更安全、有效、经济的改善便秘的保健食品。

[基金项目] 中国民族医药学会科研立项(2019KYXM-Z1116-75)

[作者单位] 215500 江苏 常熟,南京中医药大学常熟附属医院肛肠科(黄 华,丁旭枫,卫 军,蒋 捷,季利江)

[通讯作者] 季利江, E-mail:2395633826@qq.com

麻杏纤畅酥是南京中医药大学常熟附属医院自主研发的具有通便作用的功能性食品,服用方便,口感香甜。前期临床研究发现,每日服用麻杏纤畅酥(25g/次,食用后喝水300 mL,3次/天,连续服用1周)可显著改善痔病术后患者排便不畅的情况、促进恢复正常的肠道运动^[6-7]。在本研究中,首先研究麻杏纤畅酥对便秘小鼠通便润肠功效,并进一步从短链脂肪酸调控角度评价其发挥通便润肠的潜在机制,以期为麻杏纤畅酥的进一步推广提供坚实的基础。

1 材料与方 法

1.1 材料 复方地芬诺酯购自北京中新制药厂(批号:981315);墨汁购自北京一得阁墨业有限责任公司(批号:190508);乙酸标准品、丙酸标准品、异丁酸标准品、丁酸标准品、异戊酸标准品、戊酸标准品(批号:20021101),均购自德国 Dr. Ehrenstorfer 公司;乳果糖口服溶液(杜密克)购自 Abbott Biologicals B.V.(荷兰)。75只SPF级健康雌性KM小鼠体重质量20~22 g,购自扬州大学,动物生产许可证号:SCXK(苏)2018-0001,实验动物合格证号:NO.201911910;小鼠进行1周适应性饲养,自由饮水采食,饲养温度22±2℃,相对湿度45%~55%。电子天平购自德国赛多利斯集团(型号:BSA124S-CW);柱温箱(型号:1260-G13116A)、色谱泵(型号:1260-G1311C四元泵)、气相色谱仪(型号:7890B),均购自Aglient公司(美国)。

1.2 方 法

1.2.1 麻杏纤畅酥制备及小鼠分组 麻杏纤畅酥由南京中医药大学常熟附属医院肛肠科制备^[7]:取聚葡萄糖34 g,膨化小麦粉93 g,小麦纤维颗粒37 g,猪油150 g,糖125 g,低聚木糖13 g,杏仁50 g,陈皮30 g,鸡蛋150 g,膨松剂4 g(小苏打2 g+碳酸氢铵2 g),烘烤温度为面火150℃,烘烤30 min至饼坯塌成扁圆形,晾至常温;进一步将麻杏纤畅酥粉碎机打粉、过筛,加水研磨制成0.2 g/mL的麻杏纤畅酥混悬液待用。75只小鼠随机分为5组:正常组、便秘模型组、阳性对照组、低剂量实验组与高剂量实验组,以10 mg/kg剂量给予小鼠灌胃复方地芬诺酯,1/d,持续8 d,建立慢性功能性便秘大鼠模型,正常组给予等体积生理盐水。造模4 d后,开始给予药物干预,低剂量组给予麻杏纤畅酥混悬液2 g/kg(采用人与动物体表面积换算公式换算),高剂量组给予麻杏纤畅酥混悬液4 g/kg,1/d,持续4 d。正常组、模型组、阳性对照组灌胃同期给予等量生理盐水,阳性对照组于小鼠排便实验开始前30 min使用5.2 g/kg的乳果糖溶液灌喂(浓度0.15 g/mL)。

1.2.2 小鼠排便实验 第8天灌胃给药结束2 h后,采用0.5 mL墨水灌喂各组小鼠,观察、收集粪便,从

灌胃墨水开始计时,记录小鼠首粒黑便时间、4 h内黑便粒数及粪便的总重量(湿重、干重),并计算粪便含水量:粪便含水量(%)=(粪便湿重-粪便干重)/粪便湿重×100%。

1.2.3 肠道蠕动实验及测量肠肌层厚度 排便实验结束后,所有小鼠禁食24 h。在第9天每只小鼠灌喂3 mL碳墨水溶液,30 min后脱颈椎处死小鼠,剖开小鼠腹腔,取幽门至回盲部的整个小肠,轻柔拉直后测量小肠的总长度和墨汁在小肠的推进距离,计算出墨汁推进率:墨汁推进率(%)=墨汁推进长度/小肠总长度×100%^[8]。此外,取出小鼠结肠组织并用10%福尔马林固定,进行组织病理学考察,测量小鼠结肠肌层厚度。

1.2.4 测定粪便短链脂肪酸含量 称取排便实验中各组小鼠的粪便约100 mg,加入1 mL乙腈(70%),振荡至混匀,10℃进行10000 r/min离心15 min(离心半径8 cm),取40 uL上清液,加入20 μL 200 mM的3-nitrophenylhydrazine溶液,20 uL 120 mM N-(3-dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimide (EDC)·HCl-6%吡啶溶液。40℃下反应30 min,离心取等量上清进样。色谱、质谱条件:色谱柱BDS Hypersil C18(100 mm×2.1 mm, 2.4 μm),流动相乙腈,柱温40℃,进样量2 μL。洗脱程序(流速0.35 mL/min)为:0.0~1.4 min,10%甲醇;1.4~8.2 min,10%~80%甲醇;8.2~9.0 min,80%~10%甲醇;9.0~10.0 min,10%甲醇。离子源:ESI源;采用MRM模式进行检测。

1.2.5 统计学处理 应用SPSS 21.0统计学软件进行数据分析,计量资料用($\bar{x}\pm s$)表示,两组间比较进行t检验,多组间比较进行方差分析, $P<0.05$ 认为差异具有统计学意义。

2 结 果

2.1 麻杏纤畅酥对小鼠排便时间、粪便数量、质量和含水量的影响 与正常组比较,便秘模型组的首粒黑便时间显著变长($P<0.05$),4 h内的粪便数量($P<0.05$)、湿质量($P<0.05$)和含水量($P<0.05$)也明显下降,与粪便干燥、排便困难的便秘特征相一致,表明复方地芬诺酯构造便秘小鼠模型成功。采用麻杏纤畅酥灌喂小鼠后,与便秘模型组比较,麻杏纤畅酥高、低剂量组的首粒黑便时间明显缩短(高剂量组: $P<0.01$;低剂量组: $P<0.05$),高剂量组排便时间减少了约40 min,显示麻杏纤畅酥可以有效改善小鼠的便秘情况;此外,麻杏纤畅酥高、低剂量组中4 h内粪便粒数、粪便湿质量和粪便含水量明显增加(高剂量组: $P<0.01$;低剂量组: $P<0.05$),高剂量组有明显上升,表明麻杏纤畅酥可以显著改善小鼠的排便情况。见表1。

2.2 麻杏纤畅酥对小鼠小肠推进的影响 与正常组比较,便秘模型组小鼠的小肠推进率明显减弱

($P<0.05$),也显示复方地芬诺酯建模成功。与便秘模型组比较,麻杏纤畅酥高剂量、低剂量组小鼠的墨汁推进率显著增加(均 $P<0.05$);高剂量组中墨汁

推进率增高约10%,甚至略高于阳性对照组,显示麻杏纤畅酥高剂量组明显提高了便秘鼠的小肠蠕动功能。见表2。

表1 麻杏纤畅酥的促排便作用

组别	首粒黑便时间(min)	4h内黑便粒数(粒数)	4h内粪便湿质量(g)	粪便含水量
正常组	86.21±15.75	5.20±1.32	0.67±0.014	53.07±5.02
便秘模型组	181.20±23.00 [#]	1.60±0.69 [#]	0.18±0.007 [#]	40.87±5.28 [#]
阳性对照组	130.15±25.11	3.30±0.81	0.31±0.002	50.15±3.44
麻杏纤畅酥低剂量组	171.20±28.68*	1.90±0.57*	0.21±0.006*	48.58±4.59*
麻杏纤畅酥高剂量组	143.60±33.51**	3.30±1.16**	0.37±0.012**	51.98±3.99**

与正常组比较, $P^* < 0.05$; 与便秘模型组比较, $P^* < 0.05$; 与便秘模型组比较, $P^{**} < 0.01$

表2 麻杏纤畅酥对小鼠小肠推进的影响

组别	碳墨汁推进距离(cm)	小肠长度(cm)	墨汁推进率(%)
正常组	24.86±1.60	43.69±2.16	56.91±2.62
便秘模型组	18.20±2.11 [#]	43.45±1.39	41.90±4.93 [#]
阳性对照组	21.05±1.01	43.42±1.25	49.52±1.29
麻杏纤畅酥低剂量组	19.31±1.46*	43.62±1.73	44.30±3.45*
麻杏纤畅酥高剂量组	22.06±1.28**	43.92±1.54	50.30±3.38*

与正常组比较, $P^* < 0.05$; 与便秘模型组比较, $P^* < 0.05$; 与便秘模型组比较, $P^{**} < 0.01$

2.3 麻杏纤畅酥对小鼠结肠肌层厚度的影响 连续使用复方地芬诺酯后,可见小鼠结肠肌层厚度降低($P<0.05$),肠粘膜有一定程度的损伤;而给予麻杏纤畅酥后,与便秘模型组比较,高剂量组肠肌层厚度提高($P<0.05$),低剂量组无明显变化($P>0.05$)。如图1。

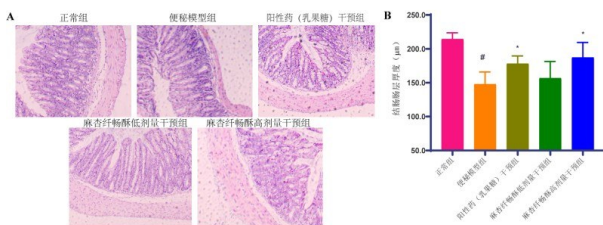


图1 麻杏纤畅酥对便秘小鼠结肠肌层厚度的影响

A,各药物处理组小鼠结肠组织HE染色(200×);B,各药物处理组小鼠结肠肌层厚度(与正常组比较, $P^* < 0.05$; 与便秘模型组比较, $P^* < 0.05$)

2.4 麻杏纤畅酥对小鼠粪便中短链脂肪酸含量的影响 链脂肪酸包含乙酸、异丁酸、丁酸、戊酸和异戊酸等,主要来源于肠道细菌对短链低聚果糖的有效转化,可以起到缓解便秘、促进排便的功效。与正常组比较,各组乙酸、丙酸含量无明显变化($P>0.05$);与便秘模型组比较,麻杏纤畅酥高剂量组中的异丁酸含量明显增加($P<0.05$);丁酸含量方面,阳性对照组、麻杏纤畅酥高剂量组相比便秘模型组明显增加($P<0.05$);异戊酸和戊酸含量方面,阳性对照组、低剂量、高剂量组均升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。见图2。给便秘小鼠灌胃适量麻杏纤畅酥,可以有效促进小鼠肠道代谢产生异丁酸、丁酸、异戊酸和戊

酸,提示麻杏纤畅酥可能通过改善肠道菌群来促进短链脂肪的吸收,效果略优于乳果糖。见图2。

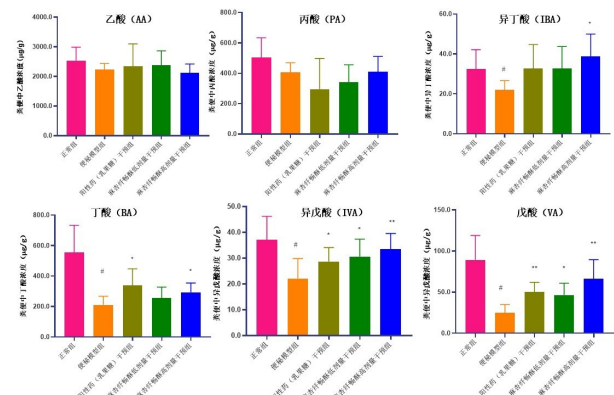


图2 小鼠粪便中短链脂肪酸含量

与正常组比较, $P^* < 0.05$; 与便秘模型组比较, $P^* < 0.05$; 与便秘模型组比较, $P^{**} < 0.01$

3 讨论

便秘的发病率呈上升趋势,中医层面认为津不润肠、大肠传导发生异常,使得大便排出异常^[9]。近年研究表明,通过添加膳食纤维可以显著增加肠道内的益生菌数量,增加肠道中短链脂肪酸的含量、粪便中的含水量,从而改善便秘的症状^[10-11]。

麻杏纤畅酥包含小麦纤维颗粒、膨化的小麦粉、陈皮、低聚木糖、杏仁等,其中陈皮和杏仁具有通便润肠功效,低聚木糖这类膳食纤维可以调节肠道菌群^[6-7]。前期临床研究中,痔疮术后的患者每日服用总量75g麻杏纤畅酥,未见不良反应,未发生腹痛、腹泻及药物依赖性等。且因麻杏纤畅酥的口

感、甜度较好,患者依从性良好^[6]。

复方地芬诺酯是一种长效止泻药,它可以直接阻断肠壁阿片受体,降低乙酰胆碱、前列腺素的分泌,并有效抑制肠蠕动,进而延长肠内容物的通过造成便秘^[12]。我们利用复方地芬诺酯诱导慢传输型便秘模型,并评价了麻杏纤畅酥的润肠功效。慢传输型便秘模型与结肠肌层厚度息息相关,肌层厚度薄提示结肠收缩无力造成传输缓慢、功能障碍,进而导致排便周期延长、排便困难^[13-14]。本研究发现麻杏纤畅酥能显著改善因复方地芬诺酯引起的肌层变薄,表明麻杏纤畅酥能起到增厚、改善结肠肌层的作用。此外,便秘小鼠的粪便含水量在给予麻杏纤畅酥灌胃后明显增多,同时粪便中丁酸、异戊酸和戊酸的含量在麻杏纤畅酥给药组中均显著增加。研究表明,便秘患者粪便中短链脂肪酸的含量显著减少,丁酸、异戊酸和戊酸能保护肠黏膜与增强胃肠功能^[15-16],上述结果表明提高此类短链脂肪酸含量是麻杏纤畅酥改善便秘症状的途径之一。综上所述,麻杏纤畅酥可以有效促进便秘小鼠的肠道蠕动、加速排便,促进便秘小鼠肠道代谢产生丁酸、戊酸等短链脂肪酸,进而改善小鼠肠道环境,达到通便润肠的作用。

【参考文献】

- [1] Keilman LJ, Dontje K. Assessment and management of constipation in older adults[J]. *Advances in Family Practice Nursing*, 2021, 3(7):57-70.
- [2] Sarangi A, Armin S, Vargas A, et al. Management of constipation in patients with schizophrenia—a case study and review of literature[J]. *Middle East Current Psychiatry*, 2021, 28(1):115.
- [3] 胡嘉怡,陈蕾. 肠道菌群失调与结直肠癌的相关研究进展[J]. *转化医学杂志*, 2021, 10(1):57-60.
- [4] Włodarczyk J, Waśniewska A, Fichna J, et al. Current overview on clinical management of chronic constipation[J]. *J Clin Med*, 2021, 10(8):1738.
- [5] Engle AL, Winans ARM. Rethinking docusate's role in opioid-induced constipation: a critical analysis of the evidence[J]. *J Pain Palliat Care Pharmacother*, 2021, 35(1):63-72.
- [6] 蒋捷,季利江,卫军,等. 麻杏纤畅酥对痔病吻合器术后排便情况的影响[J]. *大医生*, 2020, 5(15):10-12.
- [7] 张若屏,季利江. 麻杏纤畅酥的配方及工艺优化[J]. *医学食疗与健康*, 2019(13):55-56.
- [8] 付满玲,庞艳,杨树娟,等. 肠通对小鼠便秘的有效性研究[J]. *医学信息*, 2019, 32(09):74-77.
- [9] 罗明英,樊志明. 穴位敷贴联合生物反馈治疗功能性便秘30例[J]. *中国中医药科技*, 2021, 28(3):503-505.
- [10] Zhuang M, Shang W, Ma Q, et al. Abundance of probiotics and butyrate-production microbiome manages constipation via short-chain fatty acids production and hormones secretion[J]. *Mol Nutr Food Res*, 2019, 63(23): e1801187.
- [11] 张智,李晴,化洪苓,等. 橡子粉低聚异麦芽糖功能性实验分析[J]. *食品研究与开发*, 2017, 38(22):30-34.
- [12] 顾志坚,张建伟,蔡淦,等. 复方地芬诺酯大鼠便秘模型的改进方法研究[J]. *吉林中医药*, 2019, 39(7):930-933.
- [13] 李冰冰,谭玉军,姚景春,等. 首荟通便胶囊对慢传输型便秘模型大鼠肠道推进率和结肠黏液分泌的影响[J]. *世界中医药*, 2018, 13(9):2268-2271.
- [14] 李雪玉,柯敏辉. 慢传输型便秘动物模型的研究进展[J]. *中华实验外科杂志*, 2021, 38(10):2065-2068.
- [15] Gargari G, Taverniti V, Gardana C, et al. Fecal clostridiales distribution and short-chain fatty acids reflect bowel habits in irritable bowel syndrome[J]. *Environ Microbiol*, 2018, 20(9):3201-3213.
- [16] Wang L, Hu L, Yan S, et al. Effects of different oligosaccharides at various dosages on the composition of gut microbiota and short-chain fatty acids in mice with constipation[J]. *Food Funct*, 2017, 8(5):1966-1978.
- [17] 林在龙,傅雄伟,余朝伟,等. Flexbot下肢康复机器人结合虚拟现实训练对帕金森病患者平衡功能和步行能力的影响[J]. *浙江医学*, 2021, 43(4):405-408+413.
- [18] 卢泽惠,郭旭,满喜. 单侧负重对人体足底压力特征的影响研究[J]. *内蒙古师范大学学报(自然科学汉文版)*, 2022, 51(2):207-212.
- [19] 林强,郑煜欣,廖婉晨,等. 脑卒中患者静态平衡的足底压力分析[J]. *中国康复理论与实践*, 2021, 27(3):290-296.
- [20] 栾烁,高宏宇,朱晓霞,等. 综合视听觉训练改善帕金森病患者足底压力分布[J]. *中山大学学报(医学科学版)*, 2014, 35(6):950-955.
- [21] 沈斌,祁祥,沈艳,等. 前庭康复训练结合步态训练对老年帕金森病患者 Webster 评分、BBS 评分及跌倒发生率的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2022, 42(3):614-617.

(收稿日期:2021-11-25 本文编辑:李记文)

(上接第313页)

- (5): 1551-1565.
- [12] Yilmaz R, Suenkel U, Team T, et al. Comparing the two prodromal parkinson's disease research criteria—lessons for future studies[J]. *Mov Disord*, 2021, 36(7): 1731-1732.
- [13] 刘永芳,马开利. 帕金森病不同疾病阶段的药物治疗进展[J]. *医药导报*, 2021, 40(6):758-764.
- [14] 张敏,白睿,李沛珊,等. 平衡功能康复训练改善帕金森病患者步态障碍的疗效观察[J]. *中国实用神经疾病杂志*, 2021, 24(9): 781-786.
- [15] 周文静. 体感交互技术对卒中偏瘫患者运动及平衡功能的影响[J]. *护理实践与研究*, 2021, 18(13):1944-1947.
- [16] 华玲,宋达,孙俏仪,等. Valpar 训练对帕金森病患者认知功能及平衡功能的疗效分析[J]. *中国康复医学杂志*, 2021, 36(12): 1535-1538.

(收稿日期:2022-08-17 本文编辑:李记文)