

白豆蔻水提物对功能性便秘小鼠的通便作用

黄泽琳^{1,2,3}, 赵艳⁴, 段纯芬³, 李亚南^{1,2,3}, 盛军¹, 田洋^{1,2}, 高晓余^{1,2,3*}

(1. 食药同源资源开发与利用教育部工程研究中心, 云南昆明 650201)(2. 云南省精准营养与个性化食品制造重点实验室, 云南昆明 650201)(3. 云南农业大学食品科学技术学院, 云南昆明 650201)
(4. 云南农业大学科技处, 云南昆明 650201)

摘要: 为了探讨白豆蔻水提物对便秘小鼠的通便作用及其机制, 采用洛哌丁胺灌胃法建立便秘模型, 设置空白组、模型组、剂量组(300、600、900 mg/kg), 开展排便试验和小肠运动试验, 并采用荧光定量 PCR 法分析白豆蔻水提物对肠道水分、胃肠动力、神经递质、结肠炎症和肠道屏障等调控基因的影响。结果显示, 与模型组比较, 白豆蔻水提物各剂量组均能缓解小鼠便秘, 其中高剂量组[900 mg/(kg·d)]改善效果更好, 能显著减少便秘小鼠的首粒黑便时间至 211.54 min ($P<0.01$), 提高胃肠转运率至 63.95% ($P<0.01$), 粪便含水率至 58.23%, 粒数增加至 21.09 粒; 同时, 白豆蔻水提物能够显著上调小鼠结肠胃肠动力因子 *c-Kit*、*SCF*、*MLCK*、*smMLCK* 以及 5-HT 神经递质受体 *5-Htr4* 的 mRNA 表达 ($P<0.05$), 并显著下调 *AchE*、*iNOS*、*VIP* 的 mRNA 表达 ($P<0.01$); 还发现, 白豆蔻水提物可抑制洛哌丁胺诱导的结肠炎症相关因子 *MCP-1*、*TNF- α* 、*IL-6* mRNA 表达的上调, 以及逆转肠道屏障因子 *Muc-2*、*ZO-1*、*Occludin* mRNA 表达的下调。该研究可为白豆蔻通便的物质基础和作用机制研究提供科学依据。

关键词: 白豆蔻; 便秘; 胃肠动力; 神经递质; 肠道屏障

文章编号: 1673-9078(2025)02-19-30

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2025.2.0025

Laxative Effects of Aqueous Extracts of *Amomum kravanh* on Functional Constipation in Mice

HUANG Zelin^{1,2,3}, ZHAO Yan⁴, DUAN Chunfen³, LI Ya'nan^{1,2,3}, SHENG Jun¹, TIAN Yang^{1,2}, GAO Xiaoyu^{1,2,3*}

(1. Development and Utilization of Food and Drug Homology Resources Engineering Center Ministry of Education, Kunming 650201, China)(2. Yunnan Key Laboratory of Precision Nutrition and Personalized Food Manufacturing, Kunming 650201, China)(3. College of Food Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)(4. Department of Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

Abstract: To explore the laxative effects of aqueous extracts of *Amomum kravanh* (AKAE) and the associated mechanism on mice with constipation, constipation models were established by intragastric administration of loperamide. A control group, a model group, and three treatment groups (300, 600, and 900 mg/kg) were established. Defecation tests and small intestinal motility tests were carried out, and the effects of AKAE on the regulatory genes associated with intestinal

引文格式:

黄泽琳,赵艳,段纯芬,等.白豆蔻水提物对功能性便秘小鼠的通便作用[J].现代食品科技,2025,41(2):19-30.

HUANG Zelin, ZHAO Yan, DUAN Chunfen, et al. Laxative effects of aqueous extracts of *Amomum kravanh* on functional constipation in mice [J]. Modern Food Science and Technology, 2025, 41(2): 19-30.

收稿日期: 2024-01-06

基金项目: 云南省“兴滇英才支持计划”青年人才项目(2022-0255); 云南省农业基础研究联合专项(202301BD070001-026); 云南省省市一体化专项(202302AN360002)

作者简介: 黄泽琳(1999-), 女, 硕士, 研究方向: 食药同源资源开发与利用研究, E-mail: huangzelin1999@163.com

通讯作者: 高晓余(1985-), 男, 博士, 副研究员, 研究方向: 食药资源开发与利用研究, E-mail: 2018014@ynau.edu.cn

water secretion, gastrointestinal motility, neurotransmitters, colonic inflammation, and intestinal barrier were analyzed using fluorescence quantitative PCR. The results showed that regardless of the dose, AKAE relieved constipation in mice. In particular, a more significant improvement was observed in the high-dose group [900 mg/(kg·d)] than in the other groups. AKAE at 900 mg/kg/d significantly shortened the time to the first defecation (black stool) in mice with constipation to 211.54 min ($P<0.01$). Additionally, the gastrointestinal transit rate increased to 63.95% ($P<0.01$), and the stool water content was increased to 58.23%. The number of fecal pellets increased to 21.09 grains. Furthermore, AKAE significantly upregulated the mRNA expression levels of mouse colonic motility factors, including *c-Kit*, *SCF*, *MLCK*, *smMLCK*, and 5-HT neurotransmitter receptor *5-Htr4* ($P<0.05$). AKAE significantly downregulated the mRNA expression of *AchE*, *iNOS*, and *VIP* ($P<0.01$). AKAE inhibited the loperamide-induced mRNA upregulation of the colonic inflammatory factors *MCP-1*, *TNF- α* , and *IL-6* and reversed the downregulation of the mRNA expression of the intestinal barrier factors *Muc-2*, *ZO-1*, and *occludin*. The findings of this study serve as a foundation for the application of AKAE and for future studies of the laxative mechanism of *A. kravanh*.

Key words: *Amomum kravanh*; constipation; gastrointestinal motility; neurotransmitter; intestinal barrier

随着饮食不均衡、生活节奏加快和心理问题加剧,便秘已成为世界范围内常见的胃肠疾病之一^[1,2]。当便秘发生时,粪便在肠道中堆积,不断产生各种毒素,导致胃肠道多种因素改变,使得肠道炎症发生,肠道蠕动能力下降、肠道屏障损伤、水分子转运失调、代谢紊乱^[3,4]。目前,国内外治疗便秘的药物主要有刺激型或渗透型泻药、粪便软化剂、五羟色胺受体激动剂、阿片受体拮抗剂等,可以通过不同机制达到通便作用^[5]。这些药物治疗效力强、作用快,但存在腹痛、痉挛、电解质失调等副作用,对肠道具有刺激性,易引起不可逆的肠神经损伤和药物依赖性,限制了便秘患者的使用^[6]。长期以来,中医药以成本低廉、安全有效的独特优势,在预防疾病和健康保健方面发挥着重要作用^[7]。在临床实践中,三仁汤^[8]、首荟通便胶囊^[9]和麻仁润肠丸^[10]等中医药复方已被广泛用于便秘的治疗。然而,中医药成分复杂,便秘治疗机制尚不明确,这给其临床应用带来诸多不确定性。尽管如此,中医药仍是一种治疗便秘的重要策略。

白豆蔻 (*Amomum kravanh* Pierre ex Gagnep) 是姜科豆蔻属多年生草本植物,栽培于我国云南、广东、广西等热带地区,其成熟干果可作为天然香料用于食品调味,也可作为一种治疗脾胃不适的传统中药,起到化湿行气、温中止呕的作用^[11,12]。据报道,白豆蔻在体内有抗炎作用,其挥发油能够下调 *TNF- α* 、*IL-6* 和 *COX-2* 的表达水平^[13],并且分离得到的二芳基庚烷对鼠 RAW264.7 巨噬细胞中脂多糖诱导的 NO 产生具有显著抑制作用^[14],提示白豆

蔻具有控制炎症性相关疾病的潜力。此外,在对同属植物的研究中发现,草果提取物具有良好润肠通便作用^[15],而白豆蔻的通便功效仅作为三仁汤处方中的一味重要方剂^[16],单剂白豆蔻对缓解便秘功效尚未见报道。因此,探究白豆蔻改善便秘的作用及其机制具有重要意义。

本研究通过排便试验和小肠运动试验探究了白豆蔻水提物对洛哌丁胺诱导的功能性便秘小鼠的通便作用,并利用荧光定量 PCR 技术进一步评价了白豆蔻水提物对肠道水分、胃肠动力、神经递质、结肠炎症和肠道屏障等调控基因的影响,旨在初步阐明白豆蔻水提物调节胃肠道功能的作用机制,为白豆蔻通便功效的深入研究提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

白豆蔻 (*Amomum kravanh* Pierre ex Gagnep), 云南中药材金草园有限公司;洛哌丁胺(货号: BCCF0872), 默克生命科学(上海)有限公司;阿拉伯树胶(货号: I2009113)、活性炭粉(货号: C13863408), 上海阿拉丁生化科技股份有限公司;总 RNA 提取、反转录和实时定量 PCR 试剂盒(货号分别为 RC101-01、R323-01、Q711-02), 南京诺唯赞生物科技股份有限公司。

1.2 仪器与设备

HC-800Y 多功能粉碎机, 武汉海纳电器有限公司; YRE-301 旋转蒸发仪, 巩义市予华仪器有限责任公司; HH-W3S 多功能油水浴锅, 上海锦赋实

验仪器设备有限公司; FD-1A-50 冷冻干燥机, 上海比朗仪器制造有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 白豆蔻水提物的制备

将白豆蔻破碎过 40 目筛, 取 300 g 粉末经料液比 1:10 (m/V) 沸水浸提 5 min, 过滤, 保留滤渣继续浸提。将 3 次浸提得的提取液浓缩、冷冻干燥, 得到 38.7 g 白豆蔻水提物粉末, 得率为 12.9%, 于 4 °C 保存备用。

1.3.2 动物分组及给药

5 周龄昆明小鼠雄性 60 只, 体质量 18~20 g, 购自北京斯贝福动物实验有限公司 (SPF 级), 动物许可证号 SCXK (京) 2019-0010。饲养在云南省精准营养与个性化食品制造重点实验室动物实验室中, 并经云南农业大学动物伦理委员会批准, 伦理审批编号 202207016。动物饲养在恒温环境中 [$(24 \pm 1) ^\circ\text{C}$, 12 h 光暗交替], 自由饮食 (基础饲料), 小鼠适应一周后分组进行实验, 各组小鼠平均体重无显著差异。

设置 5 个试验组: (a) 空白组 (超纯灭菌水, $n=12$); (b) 模型组 [10 mg/(kg·d) 洛哌丁胺, $n=12$] (c) 白豆蔻水提物低剂量组 [300 mg/(kg·d) 白豆蔻水提物 +10 mg/(kg·d) 洛哌丁胺, $n=12$]; (d) 白豆蔻水提物中剂量组 [600 mg/(kg·d) 白豆蔻水提物 +10 mg/(kg·d) 洛哌丁胺, $n=12$]; (e) 白豆蔻水提物高剂量组 [900 mg/(kg·d) 白豆蔻水提物 +10 mg/(kg·d) 洛哌丁胺, $n=12$]。灌胃体积为 0.1 mL/10 g 体质量, 连续经口灌胃 15 d。

1.3.3 排便试验

排便前将墨汁配制好, 准确称量 10 g 阿拉伯树胶加入 80 mL 无菌水置于水浴锅中煮至透明, 随后加入 5 g 活性炭, 搅拌混匀, 灭菌后放入 4 °C 冰箱保存备用。

排便试验方法主要依据参考文献报道^[17], 稍作调整。具体来说, 排便试验前对小鼠禁食处理, 12 h 后分别给不同组别小鼠正常灌胃。30 min 后, 将配制好的墨汁按 0.1 mL/10 g 体质量的剂量灌胃。每只小鼠单独置于笼内, 自由饮水, 即时收集粪便保存在已灭菌的 EP 管中, 记录每粒粪便时间, 并统计首粒黑便时间和 6 h 内小鼠排出的粪便数量和质量。

观察结束后, 将收集的粪便样品烘干至恒重, 计算各组小鼠粪便含水率。

1.3.4 小肠运动试验

小鼠牺牲前禁食 12 h, 再分别给不同组别小鼠正常灌胃。30 min 后, 将配制好的墨汁按 0.1 mL/10 g 体质量的剂量灌胃。20 min 后, 采用 CO₂ 吸入法处死小鼠。随即取出肠道, 记录幽门至盲肠的肠段长度, 以幽门到墨汁前沿距离作为墨汁的推进距离, 计算各组小鼠的墨汁推进率。

1.3.5 荧光定量PCR检测

总 RNA 的提取: 取每只小鼠结肠组织 10~20 mg 加入裂解液, 采用珠打研磨法将组织彻底研磨均匀, 根据 FastPure Cell/Tissue DNA Isolation Mini Kit 试剂盒 (RC101-01) 说明书进行提取, 采用分光光度计测定浓度和纯度。

反转录: 采用 HiScript III RT SuperMix for qPCR (+gDNA wiper) 试剂盒 (R323-01) 将总 RNA 反转录为 cDNA, 根据组织提取的总 RNA 浓度计算反应物剂量。反转录成功后, 将得到的 cDNA 置于 -30 °C 冰箱贮存备用。

荧光定量 PCR 实验: 根据 ChamQ Universal SYBR qPCR Master Mix 试剂盒 (Q711-02) 制备反应体系, 并应用 LightCycler® 480 System (Roche Diagnostics) PCR 仪进行功能基因表达的测定, 反应程序见表 1。所有 PCR 反应均设置 2 个重复。PCR 反应结束后, 绘制熔解曲线, 以 *RPL-19* 用作内参基因来标定目标 mRNA 的相对表达。根据样品 CT 值, 采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算结果。引物序列见表 2。

表 1 荧光定量PCR反应程序

Table 1 Quantitative Real-time PCR reaction program

循环步骤	温度/°C	时间/s	循环数
预变性	95	30	1
变性	95	10	40
退火和延伸	60	30	
融解曲线	仪器默认值	仪器默认值	1

1.3.6 数据分析

采用 GraphPad prism 8.0 软件对试验数据进行统计分析和图片绘制。数据统计结果以 means±SEM 形式表示。采用独立 *t* 检验法分析模型组与空白组、模型组与给药组间的差异显著性 ($P < 0.05$)。

表 2 荧光定量PCR法测定功能基因表达所用引物序列

Table 2 Primer sequences for quantitative real-time fluorescence quantitative PCR to determine functional gene expression

基因名称	引物序列 (5' to 3')
<i>RPL-19</i>	上游: GAAGGTCAAAGGGAATGTGTTCA 下游: CCTGTCTGCCTTCAGCTTGT
干细胞生长因子受体 (<i>c-Kit</i>)	上游: CAGAAACCCATGTATGAAGT 下游: CTTTCCAAAACCTCAGCCTGT
干细胞因子 (<i>SCF</i>)	上游: CTCAGTTTTGTGGCTTCGTTTA 下游: CTACCATGTCCGATACTACGAC
肌球蛋白轻链激酶 (<i>MLCK</i>)	上游: GGACTTTCAGCCTTGTGAT 下游: CGCAAAACTTCCTTCTACTGTC
平滑肌肌球蛋白轻链激酶 (<i>smMLCK</i>)	上游: AGAAGTCAAGGAGGTAAAGAATGATGT 下游: CGGGTCGCTTTTCATTGC
5-羟色胺受体 2a (<i>5-Htr2a</i>)	上游: CATTGCGGAAACATACTGGT 下游: CCAGCAGCATATCAGCTATGG
5-羟色胺受体 3b (<i>5-Htr3b</i>)	上游: CTGTCTACCTGGACCTTTGCG 下游: AACTCATCGTTCCAAACCTCTC
5-羟色胺受体 4 (<i>5-Htr4</i>)	上游: AGTTCCAACGAGGGTTTCAGG 下游: CAGCAGGTTGCCCAAGATG
乙酰胆碱酯酶 (<i>AchE</i>)	上游: CTCCCTGGTATCCCCTGCATA 下游: GGATGCCAGAAAAGCTGAGA
诱导型一氧化氮合酶 (<i>iNOS</i>)	上游: GACATTACGACCCCTCCCAC 下游: ACTCTGAGGGCTGACACAAG
血管活性肠肽 (<i>VIP</i>)	上游: AGTGTGCTGTTCTCTCAGTCG 下游: GCCATTTTCTGCTAAGGGATTCT
单核细胞趋化蛋白 -1 (<i>MCP-1</i>)	上游: TTA AAAACCTGGATCGGAACCAA 下游: GCATTAGCTTCAGATTTACGGGT
肿瘤坏死因子 - α (<i>TNF-α</i>)	上游: AGACCCTCACACTCAGATCA 下游: TCTTTGAGATCCATGCCGTTG
白介素 -6 (<i>IL-6</i>)	上游: GTTCTCTGGGAAATCGTGGA 下游: TGTACTCCAGGTAGCTA
粘蛋白 2 (<i>Muc-2</i>)	上游: ACGTGTCAATTTGCACCTCT 下游: TCAACATTGAGAGTGCCAACCT
闭锁小带蛋白 -1 (<i>ZO-1</i>)	上游: TTTTGGACAGGGGGAGTGG 下游: TGCTGCAGAGGTCAAAGTTCAAG
咬合蛋白 (<i>Occludin</i>)	上游: ATGTCCGGCCGATGCTCTC 下游: TTTGGCTGCTCTTGGGTCTGTAT
水通道蛋白 2 (<i>Aqp2</i>)	上游: ATGTGGAACTCCGGTCCATA 下游: ACGGCAATCTGGAGCACAG
水通道蛋白 3 (<i>Aqp3</i>)	上游: GTCAACCCTGCCCCGTGACTTTG 下游: CGAAGACACCAGCGATGGAACC
水通道蛋白 4 (<i>Aqp4</i>)	上游: GCAGACAAGGTGCAACGTGGTT 下游: GGCGGAAGGCAAAGCAGTATGG
水通道蛋白 5 (<i>Aqp5</i>)	上游: AGAAGGAGGTGTGTTTCAGTTGC 下游: GCCAGAGTAATGGCCGGAT

2 结果与讨论

2.1 白豆蔻水提物对便秘小鼠饮食及机体指标的影响

结果如图 1 所示。试验期间各组小鼠体重在正常范围内浮动(图 1a), 摄食量、饮水量以及各脏器系数各组间亦无显著性差异 ($P>0.05$, 图 1b~1f), 说明各受试物未对小鼠的摄食、饮水等基础机体指标造成较大影响。

2.2 白豆蔻水提物可改变便秘小鼠的排便行为

如图 2a 所示, 与空白组 (211.08 min) 相比, 模型组的首粒黑便时间显著增加至 281.43 min ($P<0.001$), 表明便秘小鼠模型建立成功。同时, 与模型组相比, 低 (220.33 min)、中 (193.75 min)、高 (211.53 min) 剂量组首粒黑便时间均显著降低 ($P<0.05$), 恢复到空白水平, 表明白豆蔻水提物能够较好的改善小鼠排便行为。此外, 尽管白豆蔻剂量组未能显著改善便秘小鼠粪便含水率、粪便数量以及每粒粪便重量 ($P>0.05$), 但高剂量组粪便含水率为 58.23%, 粒数为 21.09 粒, 且粪便形态饱满, 优于低、中剂量处理组 (图 2b 至 2e)。

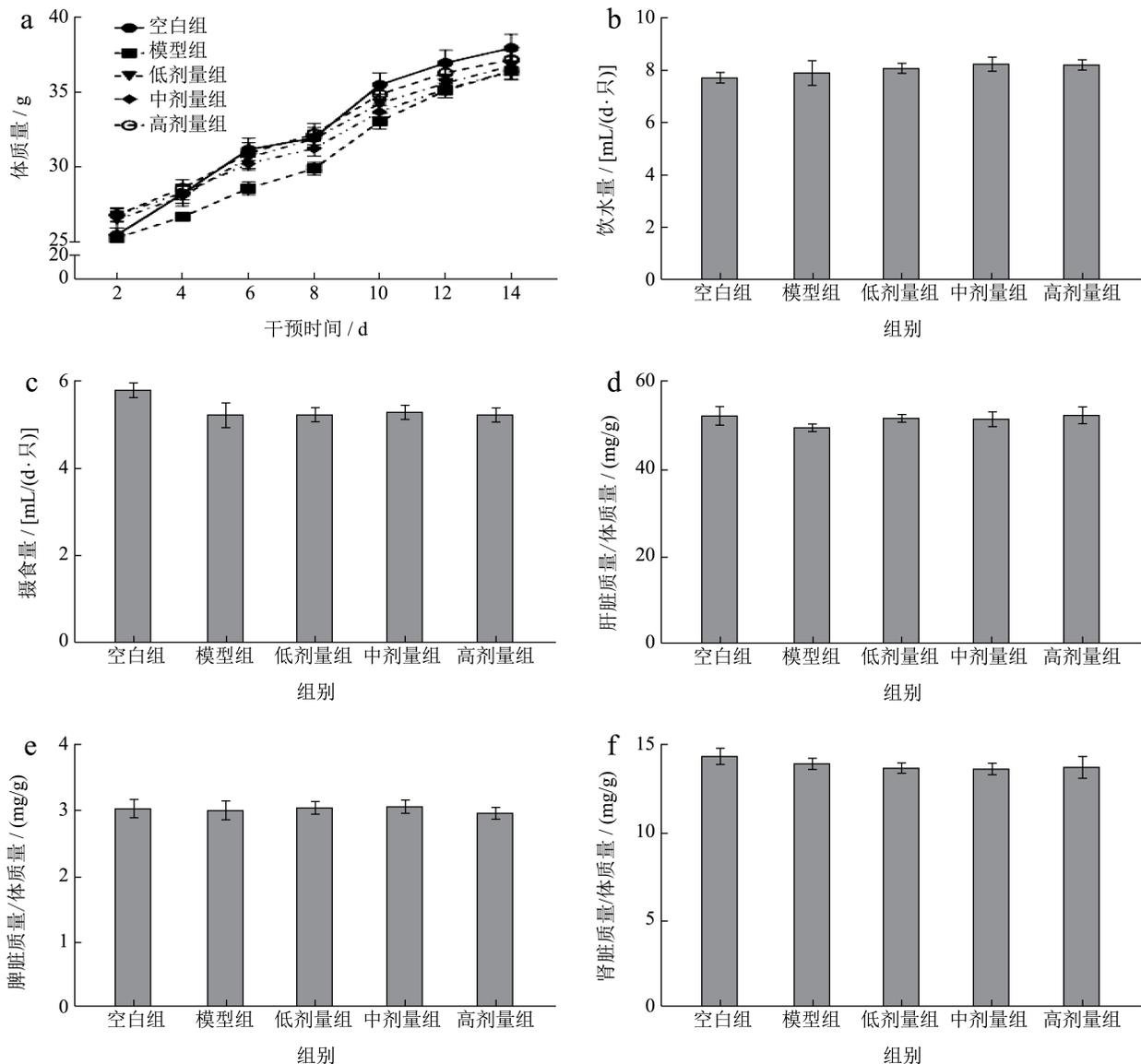


图 1 小鼠饮食及机体指标变化情况

Fig.1 Changes in diet and body indexes in mice

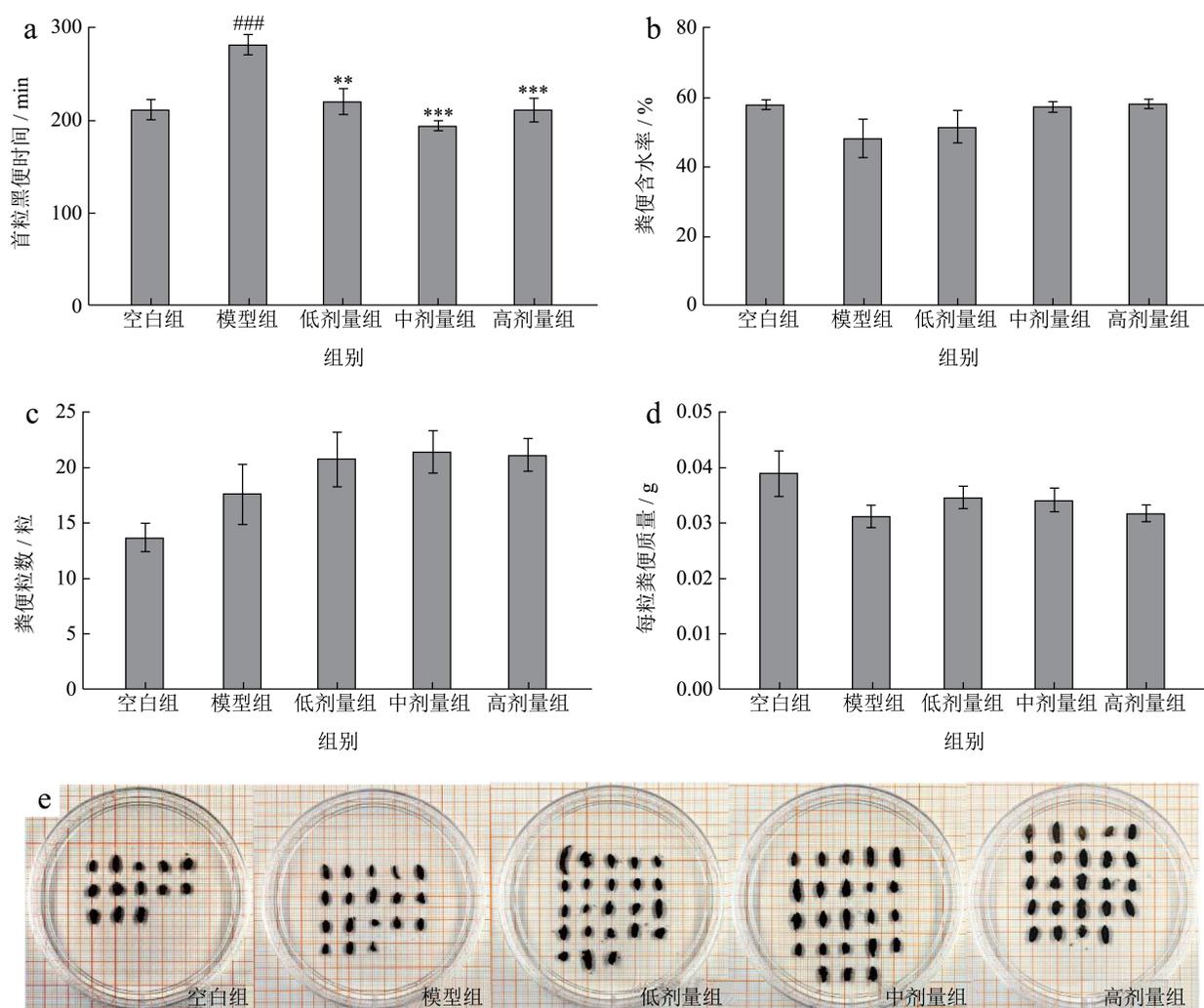


图2 白豆蔻水提取物对便秘小鼠排便参数的影响

Fig.2 Effect of AKAE on defecation parameters in constipated mice

注: 与空白组比较, $###P < 0.001$; 与模型组比较, $**P < 0.01$, $***P < 0.001$ 。

2.3 白豆蔻水提取物可显著提高便秘小鼠胃肠转运率

胃肠道转运率是便秘评价体系中的一个重要指标^[18]。为更好的评估白豆蔻水提取物对便秘小鼠肠道蠕动的情况, 观察记录了每只小鼠的小肠长度以及肠道中墨汁推进的距离。根据图3结果所示, 试验期间各组小鼠的小肠长度无显著差异 ($P > 0.05$, 图3a), 可排除小肠长度对小肠蠕动结果的影响。此外, 与空白组 (73.62%) 相比, 模型组的墨汁推进率显著下降至 44.50% ($P < 0.001$), 经白豆蔻水提取物处理后墨汁推进率显著上升并呈剂量依赖性, 分别为 53.58%、62.25% 和 63.95% ($P < 0.01$, 图3b 和 3c), 接近于空白组。杨伟倩等^[15]发现草果水提取物可以显著提高便秘小鼠胃肠道转运率, 推测豆蔻类

水提取物具有一定的胃肠蠕动能力。表明白豆蔻水提取物可以促进便秘小鼠胃肠转运能力从而达到通便作用。

2.4 白豆蔻水提取物对便秘小鼠结肠水通道蛋白基因表达的调控作用

水通道蛋白 (AQPs) 是特异性跨膜转运水的蛋白的一个家族, 由于其在水液平衡的渗透调节中起着关键作用, 与胃肠道运输密切相关^[19]。如图4结果所示, 便秘模型组小鼠结肠中 *Aqp2*、*Aqp4*、*Aqp3*、*Aqp5* 的 mRNA 表达异常, 白豆蔻水提取物处理后有改善趋势, 但无显著性差异 ($P > 0.05$)。这与上述粪便含水率结果一致, 表明白豆蔻水提取物对便秘小鼠结肠内水分分泌有一定作用, 但可能不是改善小鼠便秘的主要原因。

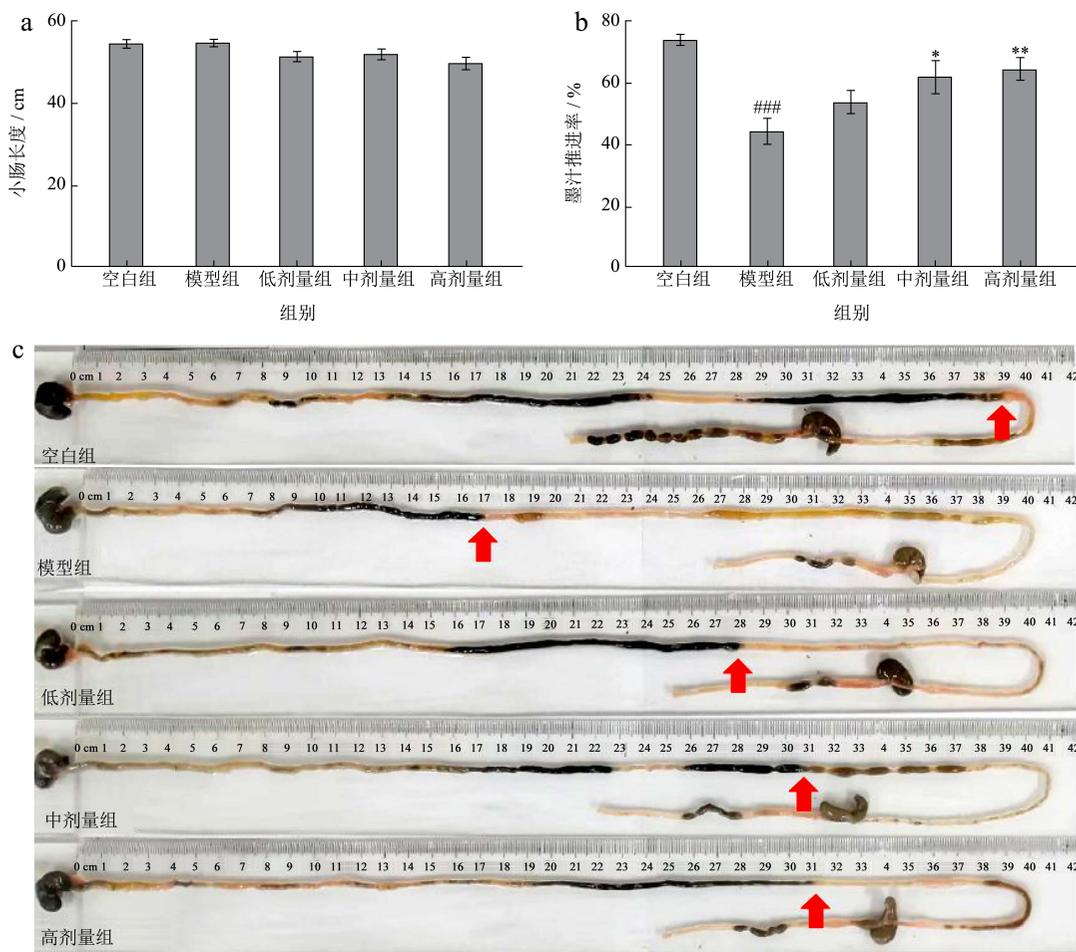


图3 白豆蔻水提取物对便秘小鼠小肠蠕动的的影响

Fig.3 Effect of AKAE on small bowel peristalsis in constipated mice

注:(a) 小肠长度;(b) 墨汁推进率;(c) 墨汁推进距离。与空白组比较,### $P < 0.001$; 与模型组比较, $*P < 0.05$, $**P < 0.01$ 。

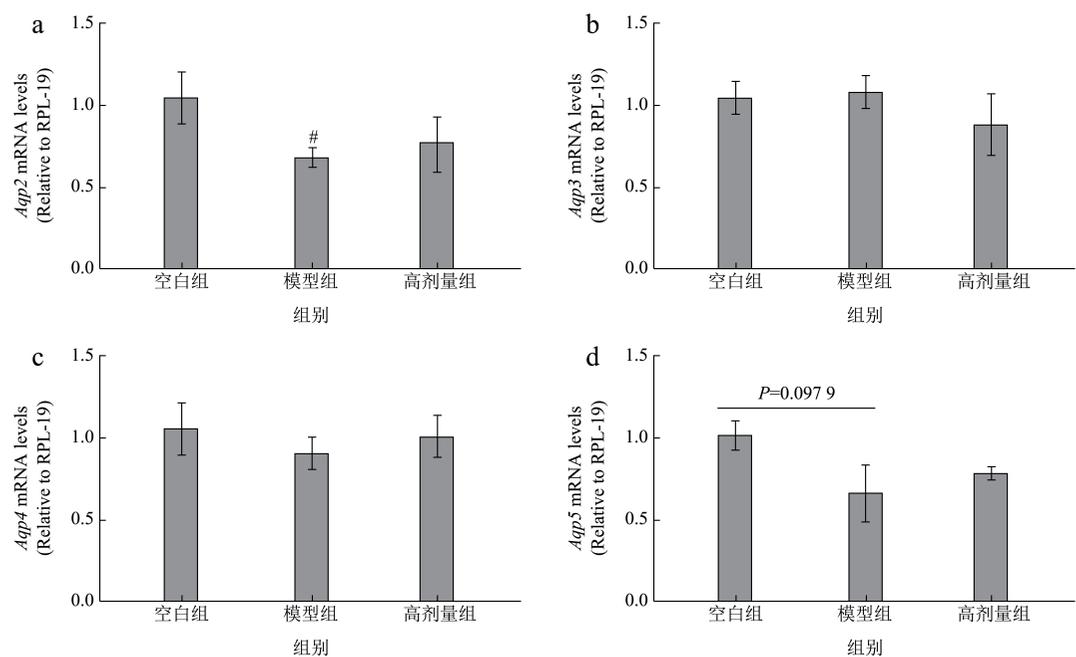


图4 白豆蔻水提取物对便秘小鼠水通道蛋白 mRNA 表达的影响

Fig.4 Effect of AKAE on mRNA expression of AQPs in constipated mice

注: 与空白组比较, # $P < 0.05$ 。

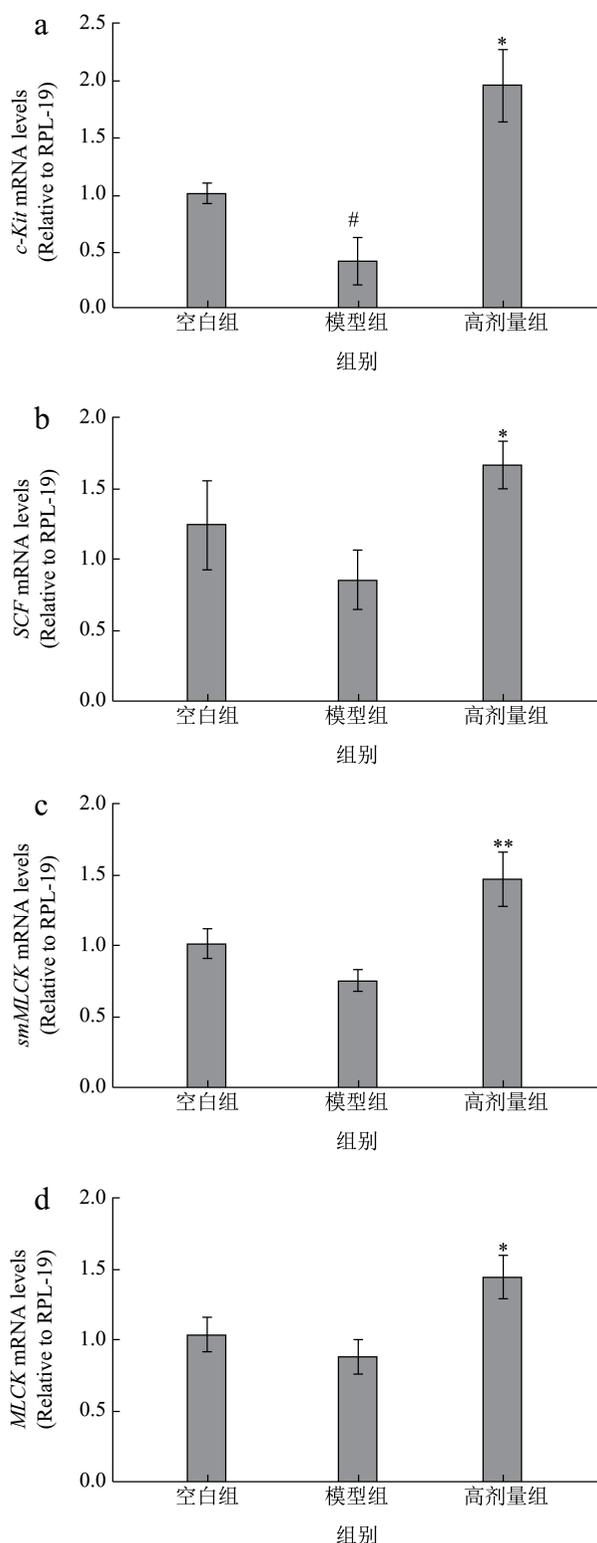


图5 白豆蔻水提取物对便秘小鼠胃肠动力因子 mRNA 表达的影响

Fig.5 Effect of AKAE on mRNA expression of gastrointestinal motility factor in constipated mice

注:与空白组比较,# $P < 0.05$;与模型组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。

2.5 白豆蔻水提取物对便秘小鼠胃肠动力因子基因表达的调控作用

肠道蠕动能力下降通常与胃肠动力相关因子失衡有关^[20]。据报道,Cajal 间质细胞是胃肠运动的关键桥梁^[21]。当胃肠动力障碍发生时,Cajal 间质细胞的数量减少,其网络的完整性也会遭到破坏^[22]。由图 5 可知,洛哌丁胺诱导的便秘小鼠结肠 Cajal 间质细胞标志物 *c-Kit* 及其配体干细胞 *SCF* 的表达显著降低(图 5a 和 5b)。而失去平衡的 Cajal 间质细胞会导致胃肠慢波传递减慢,从而抑制平滑肌细胞的收缩和舒张,降低胃肠道蠕动^[23,24]。乐音子等^[25]采用洛哌丁胺建立的慢传输型便秘模型发现,便秘大鼠结肠中 *c-Kit* 阳性细胞显著减少,同时与肌肉收缩相关的 *MLCK* 的蛋白表达也显著降低。同样地,在本研究中,洛哌丁胺会抑制小鼠结肠平滑肌收缩的关键调控因子 *smMLCK* 和 *MLCK* 的 mRNA 表达(图 5c 和 5d)。白豆蔻水提取物干预后,便秘小鼠结肠 *c-Kit*、*SCF*、*smMLCK* 和 *MLCK* 表达显著逆转。在肠道功能障碍性疾病相关的研究中,发现可通过调节 *SCF/c-kit* 通路以及 *MLCK* 相关因子的表达来改善肠道蠕动和肠道炎症^[26,27]。因此,表明白豆蔻水提取物能够抑制 Cajal 间质细胞数量减少及破坏,提高结肠收缩性,使胃肠运动恢复正常。

2.6 白豆蔻水提取物对便秘小鼠神经递质相关因子基因表达的调控

神经递质可直接或间接调节肠道蠕动,在胃肠道系统功能中起着至关重要的作用^[28]。有研究显示,胃肠蠕动能力降低与 5-HT 缺乏有关^[29]。5-HT 主要来源于胃肠道内的 EC 细胞,可直接作用于平滑肌,促进组织收缩^[29]。5-HT 可通过激活多种 5-HT 受体来调节肠道分泌、蠕动和血管扩张^[30]。5-HTR3 和 5-HTR4 是重要的 5-HT 兴奋受体,广泛存在于消化道中。5-HTR3 已被证实与胃肠传导和控制摄入的食物内容物在消化道的通过率有关^[31]。5-HTR4 是一种 G 蛋白偶联受体,可刺激肠道蠕动和液体分泌,治疗便秘相关症状^[32]。5-HTR3 和 5-HTR4 激动剂都能增强胃肠道排空。王栋良等^[33]在慢传输型便秘大鼠中发现腹部推拿可以调节大鼠结肠组织 5-HTR3、5-HTR4 表达,从而改善 STC 大鼠疾病状态。兴奋性递质增多,抑制性递质减少,均可促进胃肠动力。由图 6 可知,与空白组相比,模型组中 5-Htr2a、5-Htr3b、5-Htr4 的 mRNA 表达量显著降低 ($P < 0.05$),经白豆蔻水提取物干预后能显著上调

Htr4r 的 mRNA 表达量 ($P < 0.01$) (图 6a 至 6c), 提示可能与豆蔻属中富含的黄酮类化合物能调节 5-HT 通路有关^[34]。此外, 乙酰胆碱 (ACh)、一氧化氮 (NO)、血管活性肠肽 (VIP) 也是调节肠道功能重要的神经递质。ACh 是一种兴奋性神经递质, 能作为细胞内信使, 通过调节控制肠道黏膜上皮离子通道实现肠管运动^[35]。乙酰胆碱酯酶 (AChE) 是促使 ACh 进行水解的关键指标, 它能降解 ACh 并终止神经递质对突触后膜的兴奋作用^[35]。因此, AChE 的表达量越高, ACh 的水解量就越大, 从而减缓肠蠕动。NO 和 VIP 属于抑制性神经递质, 其含量升高可抑制平滑肌收缩, 使得胃肠运动障碍发生^[36]。诱导型一氧化氮合酶 (iNOS) 参与 NO 的合成, 是 NO 的一个标志性指标^[37]。本研究中, 白豆蔻水提物能显著逆转洛哌丁胺诱导的便秘小鼠结肠 *AchE*、*iNOS*、*VIP* 的异常表达 ($P < 0.01$, 图 6d 至 6f), 说明白豆蔻水提物可能通过刺激相关神经递质进而改善便秘小鼠胃肠蠕动。

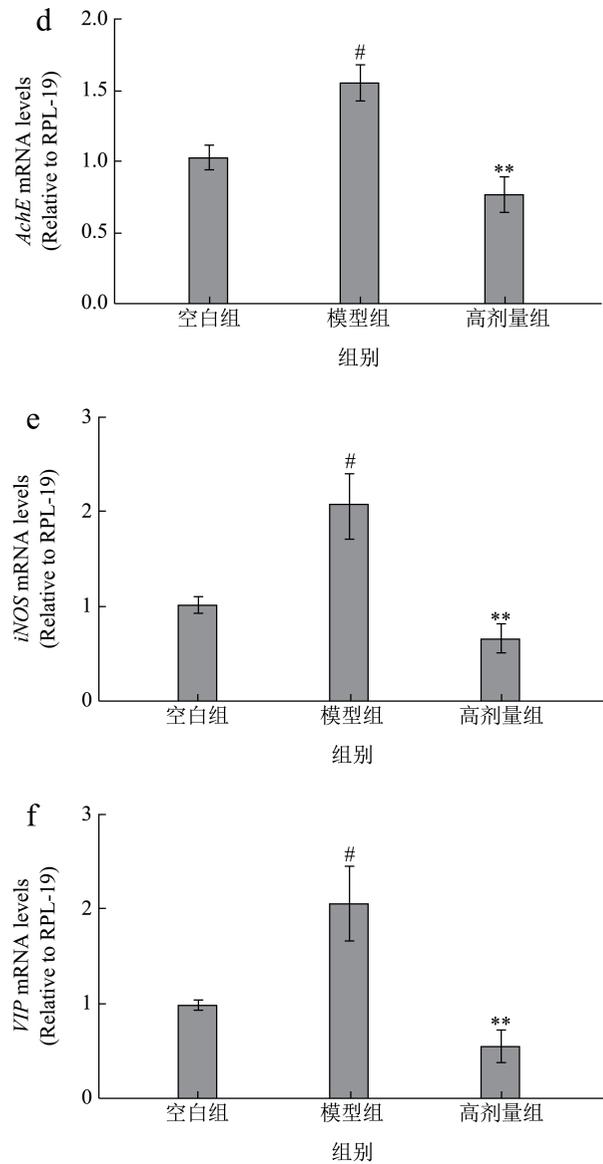
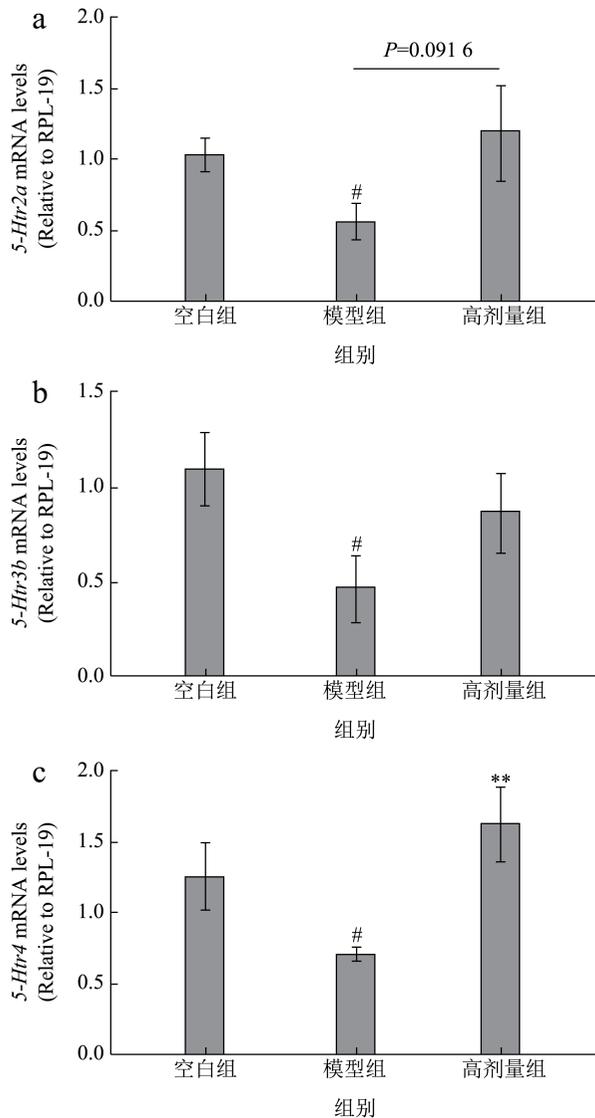


图 6 白豆蔻水提物对便秘小鼠神经递质 mRNA 表达的影响

Fig.6 Effect of AKAE on mRNA expression of neurotransmitters in constipated mice

注: 与空白组比较, $\#P < 0.05$; 与模型组比较, $**P < 0.01$ 。

2.7 白豆蔻水提物可显著消退便秘小鼠结肠炎症进而改善肠道屏障的损伤

肠道屏障完整性对于维持肠道功能和健康起着重要作用^[38]。肠道屏障的改变可能会导致肠道通透性和炎症反应进一步增加。在黏膜损伤严重的情况下, 一方面肠道通透性增加, 另一方面炎症还会引起肠上皮细胞凋亡, 进而诱发黏膜损伤和肠道屏障功能破坏^[39]。Sun 等^[40]在首荟通便胶囊改善便秘的研究中, 发现首荟通便胶囊能够抑制便秘小鼠结肠中 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 水平升高, 改善结肠组织紧

密连接蛋白 Occludin、ZO-1 的表达, 达到炎症消退和肠道屏障改善的目的。紧密连接蛋白和粘蛋白是肠道屏障的主要决定因素, 当受到损伤或其他信号时, 它们会通过一系列调整不断向各个组件传输信号, 以增强或调整肠道屏障的完整性^[41]。本研究中, 与空白组相比, 模型组中 *MCP-1*、*TNF- α* 、*IL-6* 的 mRNA 表达上调 ($P < 0.05$, 图 7a~7c), 同时抑制小鼠结肠中 *Muc-2*、*ZO-1*、*Occludin* 的 mRNA 表达 ($P < 0.05$, 图 7d~7f)。提示小鼠结肠中存在炎症反应, 炎症因子的刺激改变了紧密连接蛋白的表达, 破坏了肠上皮分泌的黏液, 促使肠道屏障受损。经白豆蔻水提物处理后, 可显著抑制肠道炎症的发生以及肠道屏障的损伤。表明白豆蔻水提物可以改善洛哌丁胺对结肠造成的损伤, 并有助于维持胃肠道健康。

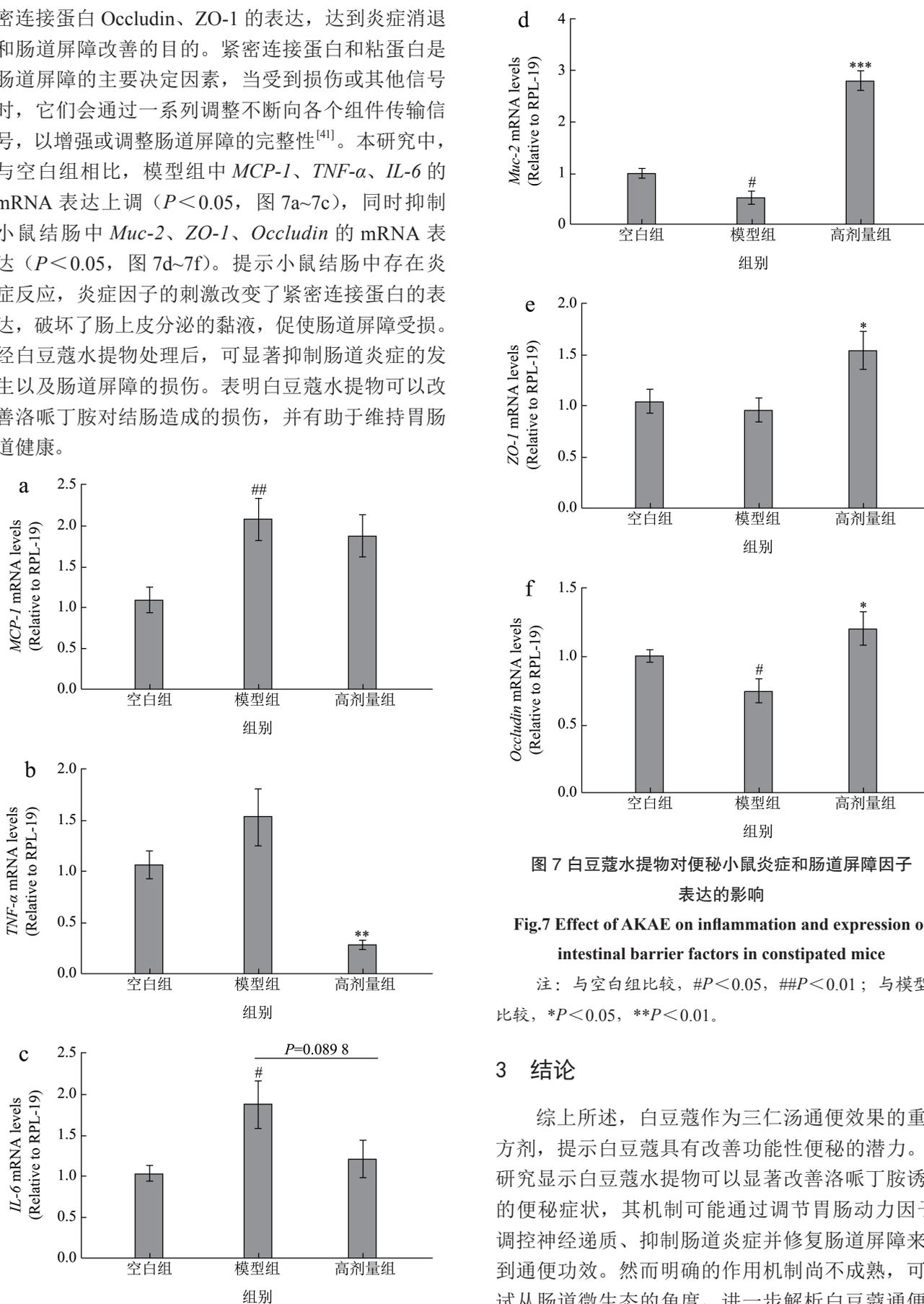


图7 白豆蔻水提物对便秘小鼠炎症和肠道屏障因子表达的影响

Fig.7 Effect of AKAE on inflammation and expression of intestinal barrier factors in constipated mice

注: 与空白组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$; 与模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

3 结论

综上所述, 白豆蔻作为三仁汤通便效果的重要方剂, 提示白豆蔻具有改善功能性便秘的潜力。本研究显示白豆蔻水提物可以显著改善洛哌丁胺诱导的便秘症状, 其机制可能通过调节胃肠动力因子、调控神经递质、抑制肠道炎症并修复肠道屏障来达到通便功效。然而明确的作用机制尚不成熟, 可尝试从肠道微生态的角度, 进一步解析白豆蔻通便作

用的关键靶点,为白豆蔻的药理发展奠定基础。

参考文献

- [1] VRIESMAN M H, KOPPEN I J N, CAMILLERI M, et al. Management of functional constipation in children and adults [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2020, 17(1): 21-39.
- [2] RAO S S, RATTANAKOVIT K, PATCHARATRAKUL T. Diagnosis and management of chronic constipation in adults [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2016, 13(5): 295-305.
- [3] LI J, CHA R, ZHAO X, et al. Gold nanoparticles cure bacterial infection with benefit to intestinal microflora [J]. *ACS Nano*, 2019, 13(5): 5002-5014.
- [4] HAO W, CHA R, WANG M, et al. Impact of nanomaterials on the intestinal mucosal barrier and its application in treating intestinal diseases [J]. *Nanoscale Horiz*, 2021, 7(1): 6-30.
- [5] WALD A. Treating constipation with medications [J]. *Journal of the American Medical Association*, 2016, 315(12): 1299.
- [6] FORD A C, SUARES N C. Effect of laxatives and pharmacological therapies in chronic idiopathic constipation: systematic review and meta-analysis [J]. *Gut*, 2011, 60(2): 209-218.
- [7] ZHANG H Y, TIAN J X, LIAN F M, et al. Therapeutic mechanisms of traditional Chinese medicine to improve metabolic diseases via the gut microbiota [J]. *Biomed Pharmacother*, 2021, 133: 110857.
- [8] 曹文斌,周晗,刘洋,等.三仁汤对慢传输型便秘大鼠治疗作用及对MAPK/NF- κ B信号通路影响[J].*辽宁中医药大学学报*,2023,25(9):24-28,221.
- [9] 龚立平,郭欣,黄娜娜,等.首荟通便胶囊治疗功能性便秘的研究进展[J].*中草药*,2022,53(18):5899-5907.
- [10] 李苗苗,赵晖,戴泽琦,等.4种口服中成药治疗便秘的快速卫生技术评估[J].*中国中药杂志*,2022,47(12):3144-3154.
- [11] 邸胜达,姜子涛,李荣.天然调味香料白豆蔻精油的研究进展[J].*中国调味品*,2015,40(1):123-127.
- [12] 王勤超,苏伟,马世兴,等.白豆蔻对大鼠阿霉素肾病的作用机制及与STAT1-P53-P21信号通路表达的关系[J].*西部医学*,2020,32(10):1432-1437.
- [13] ZHANG L, LIANG X, OU Z, et al. Screening of chemical composition, anti-arthritis, antitumor and antioxidant capacities of essential oils from four Zingiberaceae herbs [J]. *Industrial Crops & Products*, 2020, 149: 112342-112342
- [14] ZHANG J S, CAO X X, YU J H, et al. Diarylheptanoids with NO production inhibitory activity from *Amomum kravanh* [J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2020, 30(8): 127026.
- [15] 杨伟倩,田洋,张爱静,等.草果水提物对洛哌丁胺诱导的小鼠便秘症状的影响[J].*西南农业学报*,2020,33(10):2209-2214.
- [16] 杨贤慧,闫永彬.三仁汤加减治疗小儿湿热便秘临证经验[J].*中国民族民间医药*,2021,30(14):92-94.
- [17] 李思锦,高晓余,李桂兰,等.滇橄榄水提物对洛哌丁胺诱导便秘小鼠症状的改善作用[J].*食品研究与开发*,2022,43(12):16-21.
- [18] QIU B, ZHU L, ZHANG S, et al. Prevention of loperamide-Induced constipation in mice and alteration of 5-Hydroxytryptamine Signaling by *Ligilactobacillus salivarius* Li01 [J]. *Nutrients*, 2022, 14(19): 4083.
- [19] SISTO M, RIBATTI D, LISI S. Aquaporin water channels: New perspectives on the potential role in inflammation [J]. *Advances in Protein Chemistry and Structural Biology*, 2019, 116: 311-345.
- [20] ZHAO Q, CHEN Y Y, XU D Q, et al. Action mode of gut motility, fluid and electrolyte transport in chronic constipation [J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2021, 12: 630249.
- [21] 朱佳慧,钱阳阳,廖专.肠道Cajal间质细胞与慢性便秘发生和治疗的关系[J].*中国病理生理杂志*,2021,37(8):1531-1536.
- [22] LIU B, DONG J, WANG S, et al. Helicobacter pylori causes delayed gastric emptying by decreasing interstitial cells of Cajal [J]. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 2021, 22(1): 663.
- [23] 张陆昕,易顺,曾植唯,等.中医药调节Cajal间质细胞治疗慢性传输型便秘的研究进展[J].*世界科学技术-中医药现代化*,2022,24(6):2230-2235.
- [24] SU Y, ZHU R, PANG C, et al. Laxative effect of Wenyang Yiqi Decoction on loperamide-induced astriction model mice [J]. *Annals of Translational Medicine*, 2023, 11(4): 170.
- [25] 乐音子,王晓鹏,甄曙光,等.通便汤对慢传输型便秘大鼠结肠c-kit和MLCK表达的影响[J].*安徽医科大学学报*, 2019,54(8):1215-1220.
- [26] YAO Y, LUO R, XIONG S, et al. Protective effects of curcumin against rat intestinal inflammation-related motility disorders [J]. *Molecular Medicine Reports*, 2021, 23(5): 391.
- [27] XIE Y, ZHAN X, TU J, et al. Atractylodes oil alleviates diarrhea-predominant irritable bowel syndrome by regulating intestinal inflammation and intestinal barrier via SCF/c-kit and MLCK/MLC2 pathways [J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2021, 272: 113925.
- [28] MA T, XUE X, TIAN H, et al. Effect of the gut microbiota and their metabolites on postoperative intestinal motility

- and its underlying mechanisms [J]. *Journal of Translational Medicine*, 2023, 21(1): 349.
- [29] WEI L, SINGH R, HA S E, et al. Serotonin deficiency is associated with delayed gastric emptying [J]. *Gastroenterology*, 2021, 160(7): 2451-2466.
- [30] CHEN Z, LUO J, LI J, et al. Interleukin-33 promotes serotonin release from enterochromaffin cells for intestinal homeostasis [J]. *Immunity*, 2021, 54(1): 151-163.
- [31] CAO P Q, LI X P, OU-YANG J, et al. The protective effects of yellow tea extract against loperamide-induced constipation in mice [J]. *Food & Function*, 2021, 12(12): 5621-5636.
- [32] BHATTARAI Y, WILLIAMS B B, BATTAGLIOLI E J, et al. Gut microbiota-produced tryptamine activates an epithelial g-protein-coupled receptor to increase colonic secretion [J]. *Cell Host Microbe*, 2018, 23(6): 775-785.
- [33] 王栋良,马鑫文.腹部推拿对慢传输型便秘大鼠神经递质及5-HT受体表达的调节作用[J].*西部中医药*,2021, 34(7):29-33.
- [34] HU Y, GAO X, ZHAO Y, et al. Flavonoids in *Amomum tsaoko* Crevost et Lemarie ameliorate loperamide-induced constipation in mice by regulating gut microbiota and related metabolites [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(8): 7191.
- [35] WU H, CHEN Y, HUANG B, et al. *Aster tataricus* alleviates constipation by antagonizing the binding of acetylcholine to muscarinic receptor and inhibiting Ca^{2+} influx [J]. *Biomed Pharmacother*, 2021, 133: 111005.
- [36] 黄礼,韦祎,刘英莲.川陈皮素对慢传输型便秘小鼠的治疗作用及机制研究[J].*世界科学技术-中医药现代化*, 2023,25(5):1736-1742.
- [37] 胡钰,候淑婷.消积通便方对便秘小鼠VIP-cAMP-PKA信号通路的影响[J].*现代中西医结合杂志*,2022,31(4):485-490.
- [38] KIM J E, SONG H J, CHOI Y J, et al. Improvement of the intestinal epithelial barrier during laxative effects of phlorotannin in loperamide-induced constipation of SD rats [J]. *Laboratory Animal Research*, 2023, 39(1): 1.
- [39] DI T N, GASBARRINI A, PONZIANI FR. Intestinal barrier in human health and disease [J]. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2021, 18(23): 12836.
- [40] SUN C, ZHANG Y, LIU M, et al. Shouhui Tongbian Capsules induce regression of inflammation to improve intestinal barrier in mice with constipation by targeted binding to Prkaa1: With no obvious toxicity [J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 161: 114495.
- [41] PAN M, BARUA N, IP M. Mucin-degrading gut commensals isolated from healthy faecal donor suppress intestinal epithelial inflammation and regulate tight junction barrier function [J]. *Frontiers in Immunology*, 2022, 3: 1021094.