复方赤石脂禹余粮散对小鼠止泻作用机制研究

李娟,王晓飞
(湖北中医药大学 药学院,湖北 武汉 430065)

摘 要 探究复方赤石脂禹余粮散对小鼠止泻的作用机制.用ICP-OES检测主要元素含量,吸湿率法测定吸湿度.将70只ICR小鼠随机分为正常、模型、赤石脂禹余粮汤、赤石脂散、禹余粮散、赤石脂禹余粮散和阳性对照组.灌胃蓖麻油制备腹泻模型,测量肠道伊文思蓝推进率,观察小肠和盲肠肠壁组织病理改变,检测尿素氮、锌离子、肿瘤坏死因子-α(TNF-α)含量和Na^+-K^+ ATP酶活力,免疫组化检测白细胞介素-6(IL-6)和白细胞介素-1β(IL-1β)蛋白表达,16S rRNA测序检测盲肠内容物.结果显示,赤石脂禹余粮散的主要元素为Fe和Al,其次包括Ca、Mn、Mg、Zn等,可显著抑制腹泻小鼠的肠道伊文思蓝推进率,降低肠壁细胞损伤及血清TNF-α含量,提高肠壁细胞Na^+-K^+ ATP酶活力和血液中锌离子浓度,降低肠壁组织中IL-6和IL-1β的蛋白表达,降低葡萄球菌属(*Staphylococcus*)和幽门螺旋杆菌属(*Helicobacter*)等相对丰度而增加乳杆菌属(*Lactobacillus*)、毛螺菌属(*Faecalibacterium*)和双歧杆菌属(*Bifidobacterium*)等有益菌丰度.因此,赤石脂禹余粮散通过补充微量元素,吸附炎症渗出及调节肠道菌群平衡等机制发挥止泻作用.

关键词 赤石脂禹余粮散;止泻;肠道菌群;炎症;元素含量
中图分类号 R285.5;R283.6 **文献标志码** A **文章编号** 1672-4321(2026)05-0630-10
doi:10.20056/j.cnki.ZNMDZK.20260733

Mechanism of anti-diarrheal effect of compound Halloysitum Rubrum and Limonitum Powder in mice

Li Juan, Wang Xiaofei
(School of Pharmacy, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, Hubei China)

Abstract The study explores the mechanism of anti-diarrheal effect of Compound Halloysitum Rubrum and Limonitum Powder in mice. The main element content was detected by ICP-OES, and the hygroscopicity was determined by the hygroscopic rate method. A total of 70 ICR mice were randomly divided into normal, model, Halloysitum Rubrum and Limonitum Decoction, Halloysitum Rubrum Powder, Limonitum Powder, Halloysitum Rubrum and Limonitum Powder, and positive control groups. Diarrhea models were prepared by gavage with castor oil, and the intestinal Evan's blue propulsion rate was measured. The pathological changes in the small and cecal intestinal wall tissues were observed, and the urea nitrogen, zinc ions, tumor necrosis factor-α (TNF-α) content, and Na^+-K^+ ATPase activity were detected. Immunohistochemistry was used to detect the protein expression of interleukin-6 (IL-6) and interleukin-1β (IL-1β), and 16S rRNA sequencing was performed on cecal contents. The results showed that the main elements of Halloysitum Rubrum and Limonitum Powder are Fe and Al, followed by Ca, Mn, Mg, Zn, etc. It significantly inhibited the intestinal Evan's blue propulsion rate in diarrheal mice, reduced intestinal wall cell damage and serum TNF-α content, increased intestinal wall cell Na^+-K^+ ATPase activity and blood zinc ion concentration, and decreased the protein expression of IL-6 and IL-1β in intestinal wall tissues. It also reduced the relative abundance of *Staphylococcus* and *Helicobacter* while increasing the abundance of beneficial bacteria such as *Lactobacillus*, *Faecalibacterium*, and *Bifidobacterium*. Therefore, Halloysitum Rubrum and Limonitum Powder exerts its anti-diarrheal effect by supplementing trace elements, adsorbing inflammatory

收稿日期 2025-05-19
***通信作者** 李娟(1982-),女,教授,博士,研究方向:中药资源及其品质评价,E-mail:lz198207@126.com
基金项目 湖北省自然科学基金资助项目(2024AFD224,2024AFD273)

exudates, and regulating the balance of intestinal flora.

Keywords　Compound Halloysitum Rubrum and Limonitum Powder; anti-diarrheal; intestinal microbiota; inflammation; element content

腹泻是一种常见的消化系统疾病,世界卫生组织定义腹泻为每日排便次数超过三次,且排出的大便为稀便或水样,或者排便频率超出个人正常水平[1].腹泻通常由肠道感染引起,这些感染可能由多种细菌、病毒和寄生虫等病原体导致.高岭土、蒙脱石等矿物药在治疗腹泻方面有着广泛的应用[2],其机制可能与矿物本身的吸附作用相关,赤石脂为高岭石族多水高岭石[3],始载于《神农本草经》,甘温质重色赤,故能重坠下降而直入下焦血分.现代研究发现,主要成分为含水硅酸铝,能够吸附消化道有害物质,并有抑菌和保护消化道黏膜等作用.禹余粮味甘、涩,性平.入胃、大肠、肝经.质体重坠,重可以固镇,功专涩下固脱、涩肠止泻以及收敛止血.主含碱式氧化铁和氢氧化铝,具有杀毒抑菌和保护胃肠道粘膜的作用[4].由赤石脂和禹余粮组成的赤石脂禹余粮汤,具有温脾肾之阳,收敛固脱的作用,在临床中广泛用于治疗顽固性腹泻、慢性肠炎、慢性结肠炎等病症[5-7],《伤寒论》[8]记载其利在下焦,"上二味,以水六升,煮取二升,去滓",可用于下利不止.

蒙脱石散作为一种常用的止泻药,与其以散剂入药发挥吸附作用有关[5].目前临床上虽有赤石脂禹余粮加味汤的相关组方,但尚未见赤石脂禹余粮散剂治疗腹泻的报道.蓖麻油在十二指肠中生成蓖麻油酸钠和甘油,其中蓖麻油酸钠能够刺激小肠,引起炎症反应,导致肠腔内液体积聚,进而加速肠道蠕动,引发腹泻[9].临床观察发现,各类型的腹泻患者都伴随着肠道菌群的失调,尤其是急性腹泻患者[10].因此,本研究采用蓖麻油诱导的小鼠急性腹泻模型,旨在对比赤石脂禹余粮汤剂、散剂及其单味药散剂对小鼠腹泻的影响,并从肠道菌群、炎症反应、酶活力、无机元素含量等多角度探讨其可能的作用机制和组方规律.

1　材料与方法

1.1　试剂与仪器

赤石脂购自亳州中药材市场,禹余粮采自山西省阳泉市郊区黄水沟村.经湖北中医药大学陈科力教授鉴定,分别为多水高岭石族多水高岭石和氢氧化物类矿物褐铁矿.

混合标准储备液 100 μg/mL(Fe、Al、Ca、Mg、Cu、Zn、Mn、Na、K、Hg)购自国家有色金属及电子材料分析测试中心;思密达蒙脱石散(博福-益普生);蓖麻油、伊文思蓝(上海麦克林);血尿素氮(BUN)、ATP酶、锌测定试剂盒(锌汞比色法)(南京建成,批号分别为C013-1-1、A016-2、E011-1-1);小鼠肿瘤坏死因子α(TNF-α)ELISA科研试剂盒(江苏酶免,MM-0132M1);苏木素伊红(HE)染色试剂盒(武汉Siwega);DAB显色剂(丹麦Dako);IL-6抗体(美国Abclonal);IL-1 bate抗体(北京Bioss);二抗Goat Anti-Rabbit IgG H&L (HRP)(英国abcam);AxyPrepDNA凝胶回收试剂盒(美国AXYGEN);无水乙醇、二甲苯等为国产分析纯试剂.

Optima 8000电感耦合等离子体发射光谱仪(ICP-OES,东莞景瀚);微波消解仪(Master 40,上海微波化学科技);紫外分析仪(ZF1-Ⅱ,上海嘉鹏);酶标仪(Synorgy2型,美国Biotek);数显恒温水浴锅(HH-6型,常州国华);数显气浴恒温振荡器(SHZ-82A,常州恩培).包埋机(JB-P5型,武汉俊杰电子);病理切片机(HistoCore BIOCUT型,上海徕卡);染色机(Giotto型,意大利DIAPATH);PCR仪(LC480型,美国罗氏);成像系统(LEICA DM750型,上海徕卡);扫描仪(Pannoramic MIDI型,匈牙利3DHISTECH);蓝色荧光定量系统(QuantiFluor™-ST,美国Promega).

1.2　实验动物

70只SPF级ICR小鼠,4~6周龄,17~19 g,购自湖南斯莱克景达公司,实验动物质量合格许可证号SYXK(湘)2021-0002.动物实验许可证SYXK(鄂)2023-0067,动物实验伦理号为HUCMS24835874.

1.3　赤石脂、禹余粮的质量控制

1.3.1　ICP-OES测定无机元素含量

使用电感耦合等离子体发射光谱仪(ICP-OES)测量Fe、Al、Ca、Mg、Cu、Zn、Mn、Pb及Hg等9种元素.

1.3.2　标准溶液

分别精密量取Rh标准溶液0.5 mL于50 mL容量瓶中,用硝酸定容到50 mL,得到质量浓度为10 mg/L的混合内标储备液;将内标储备溶液用硝酸稀释10倍,得到混合内标使用液.

1.3.3 供试品溶液的制备

精密称取药材粉末0.2 g,置于消解罐中,加入硝酸,将消解罐放入微波消解仪中,按照如下程序消解:以10 L/min,0~120 ℃(800 W)维持10 min,120~150 ℃维持15 min,150~190 ℃维持25 min.待消解完成后取出赶酸,然后冷却转移至50 mL量瓶中,加水混匀,稀释10倍后得到供试品溶液.

1.3.4 ICP-OES测定条件

功率1300 W,等离子气体流量10 L/min,进样速率1.0 mL/min,分析泵稳定时间30 s,助气体流量0.2 L/min;雾化器气体流量0.7 L/min.

1.3.5 吸湿率(*H*)

称取适量烘干至恒重的样品粉末于具塞玻璃称量瓶,置于恒温恒湿培养箱,设定温度(26±1) ℃内24 h,精密称定质量(M1).取各样品2.0 g于称量瓶,平铺为2 mm厚度,精密称定质量(M2).称量瓶敞口并与瓶盖同置于上述恒温恒湿条件下24 h.盖好称量瓶盖,精密称定质量(M3),吸湿度=(M3-M2)/(M2-M1)×100%计算吸湿增重率.

1.4 样品制备

赤石脂,禹余粮打粉,过200目筛备用.取制备好的禹余粮18 g,赤石脂14.44 g,混合,加入3 L水,煎煮4 h后过滤,静置,取上清液浓缩至40 mL,配制成811 g/L的赤石脂禹余粮汤.取制备好的赤石脂、禹余粮、蒙脱石粉末,分别加入助溶剂(玉米淀粉:水=1:100),混匀,分别配制成720.8 g/L赤石脂、901 g/L禹余粮混悬液、811 g/L赤石脂禹余粮混悬液和400 g/L阳性药.

1.5 动物造模、分组与给药

将70只小鼠随机分为7组:正常组(Control)、模型组(Model)、赤石脂禹余粮汤组(CYT)、赤石脂散组(CSZ)、禹余粮散组(YYL)、赤石脂禹余粮散组(CYS)、阳性对照组(PC),每组10只.在第8天灌胃结束1 h后,除正常组外其余组小鼠分别灌胃0.25 mL蓖麻油,30 min后小鼠出现明显湿尾、稀便或水样便类明显腹泻可判断模型成功[11],小鼠禁食水.

赤石脂粉、禹余粮粉、赤石脂禹余粮粉和赤石脂禹余粮汤给药剂量分别为7.2、9.0、8.1、8.1 g/kg(约为2020年版《中国药典》规定最高剂量4倍),给药容积10 mL/kg;阳性药蒙脱石散组给药剂量为5.4 g/kg,给药容积为13.5 mL/kg.给药组每天上午9点给药,正常组和模型组给予等容量生理盐水,连续8 d.

1.6 肠道伊文思蓝推进率检测

除正常组外其余组小鼠末次给药1 h后,灌胃蓖麻油0.25 mL,30 min后灌胃0.4%伊文思蓝染液0.2 mL,25 min后处死.打开腹腔分离小肠,轻轻拉直,测量自幽门起到伊文思蓝运行最远端的长度(A),幽门到回盲端的的长度(B),A/B即为胃肠推进率(%).

1.7 HE染色观察

第8天实验结束后,分别剪取小肠上段两段,盲肠整体,生理盐水冲洗.部分小肠和盲肠组织保存于4%多聚甲醛中固定,然后依次脱水、透明、浸蜡、包埋、切片、脱蜡、HE染色、脱水封片,显微镜镜检.

1.8 血清和肠壁组织检测指标

血清中尿素氮含量、锌离子浓度及肠壁细胞中Na^+-K^+ ATP酶活力采用南京建成试剂盒,TNF-α含量采用ELISA试剂盒,均严格按照试剂盒说明书进行.

1.9 免疫组织化学染色

取小肠肠壁组织、脱水、包埋,切片、贴片、烤片、脱蜡、复水、滴加一抗(1∶100)过夜,敷二抗(1∶1000)、显色、脱水封片,显微镜拍照,使用ImagJ软件对切片图进行分析.

1.10 小鼠肠道菌群微生物群落研究

1.10.1 盲肠内容物DNA抽提和PCR扩增

完成基因组DNA抽提后,利用1%琼脂糖凝胶电泳检测抽提的基因组DNA.按指定测序区域,合成带有barcode的特异引物.每个样本3个重复,将同一样本的PCR产物混合后用2%琼脂糖凝胶电泳检测,使用凝胶回收试剂盒切胶回收PCR产物,Tris-HCl洗脱;2%琼脂糖电泳检测.参照电泳初步定量结果,将PCR产物用蓝色荧光定量系统进行检测定量,之后按照每个样本的测序量要求,进行相应比例的混合.

1.10.2 肠道菌群Illumina文库构建及测序

通过PCR将Illumina官方接头序列添加至目标区域外端;使用凝胶回收试剂盒切胶回收PCR产物;Tris-HCl缓冲液洗脱,2%琼脂糖电泳检测;氢氧化钠变性,产生单链DNA片段.从每组中随机选出6个样本,委托上海美吉公司进行微生物多样性的检测.在该公司生信云平台进行物种数量分析、Alpha多样性分析、Beta多样性分析、物种组成分析以及物种差异分析等并绘图.

1.11 统计学处理

数据处理使用分析软件GraphPad Prism 9.5.0,

以$\bar{x}\pm s$表示.数据以均数±标准差($\bar{x}\pm$s)表示.采用未配对t检验,检验两组间的差异,多组间分析使用单因素方差分析,One-Way ANOVA $P<0.05$为具有统计学差异.

2　结果与分析

2.1　赤石脂、禹余粮的微量元素检测分析及吸湿度测定

按照标准规定的测定方法,对赤石脂、禹余粮中的10种元素进行定量分析,线性方程见表1,含量结果见表2.从元素的检测结果可以看出,赤石脂、禹余粮和赤石脂禹余粮散的元素均主要为Fe和Al,赤石脂中Al的含量相对更高;禹余粮中Fe含量相对更高,同时还含有丰富的Ca、Mn、Mg和Cu等;赤石脂禹余粮散中的元素含量相对于赤石脂和禹余粮而言,分别提高了Fe和Al的含量,同时也具有丰富Ca、Mn和Mg等成分.

吸湿度测定结果显示,赤石脂和禹余粮的吸湿度分别为2.40%和3.12%.

表1　10种元素的线性回归方程

Tab. 1　Linear regression equations of 10 elements

元素	回归方程	r	线性范围/(mg/L)
Fe	Y=313500X+11553.9	0.9998	0~5
Al	Y=286200X+5340.7	0.9998	0~5
Ca	Y=83000X+0.1315	0.9958	0~5
Mg	Y=5683000X-0.1331	0.9992	0~5
Cu	Y=352300X-3185.5	0.9998	0~5
Zn	Y=130300X+6403.0	0.9996	0~5
Mn	Y=2114000X-22236.6	0.9999	0~5
Hg	Y=6865X-17.4	0.9999	0~5
Pb	Y=10590X-155.0	0.9999	0~5

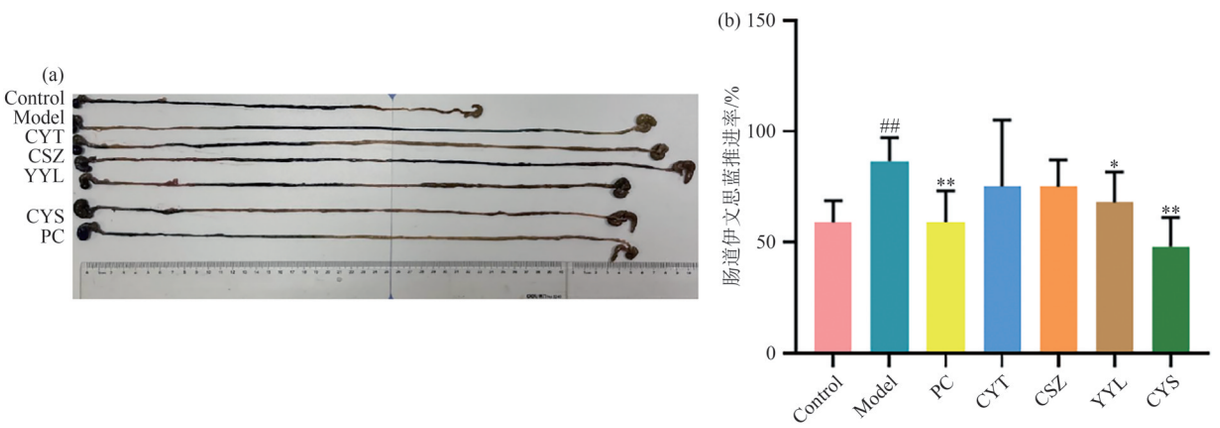
表2　赤石脂、禹余粮样品中10种元素的含量/(μg/g)

Tab. 2　Contents of 10 elements in Halloysitum Rubrum and Limonitum samples/(μg/g)

样品	元素含量/(μg·g^{-1})								
禹余粮	Fe	Al	Mg	Ca	Cu	Zn	Mn	Hg	Pb
	280743.2	24831.1	2702.7	19621.6	1398.7	988.2	3503.4	0.2	77.7
赤石脂	Fe	Al	Cu	Zn	Mn	Hg	Pb	As	
	45201.3	127630.0	59.5	91.0	-	-	11.2	23.8	
赤石脂禹余粮散	Fe	Al	Mg	Ca	Cu	Zn	Mn	Hg	Pb
	217006.8	92346.9	2380.9	25680.3	265.3	214.3	4285.7	-	27.2

2.2　赤石脂禹余粮散对小鼠肠道伊文思蓝推进率的影响

如图1和表3所示,与正常组比较,肠道伊文思蓝推进率显著升高($P<0.01$),造模成功.与模型组比较,禹余粮散组、赤石脂禹余粮散和阳性对照组推进率明显降低($P<0.05$,$P<0.01$),其余组均无显著性差异,无统计学意义.结果表明,赤石脂禹余粮散对蓖麻油诱导的小鼠急性腹泻具有明显改善作用.



与正常组比较,$^{\#\#}P<0.01$,与模型组比较,$^{*}P<0.05$,$^{**}P<0.01$.

(a)肠道伊文思蓝推进长度直观图;(b)肠道伊文思蓝推进率

图1　赤石脂禹余粮散对肠道伊文思蓝推进率的影响(n=10,$\bar{x}\pm s$)

Fig. 1　Effect of Halloysitum Rubrum and Limonitum powder on the intestinal Evans blue propulsion rate (n=10,$\bar{x}\pm s$)

2.3　赤石脂禹余粮散对小肠和盲肠组织病理的影响

如图2所示,正常组小鼠小肠肠壁绒毛形态规则,结构清晰完整,呈指突样,无坏死及炎症细胞浸润;与正常组比较,模型组组织被广泛破坏,结构缺

表3 赤石脂禹余粮散对小鼠肠道伊文思蓝推进率的影响(n=10,$\bar{x}$±s)

Tab. 3 Effect of Halloysitum Rubrum and Limonitum powder on the intestinal Evans blue advancement rate of mice (n=10,$\bar{x}$±s)

组别	剂量/(g/kg)	肠道伊文思蓝推进率/%
正常组	-	59.1±9.6
模型组	-	86.6±12.2
赤石脂禹余粮汤组	8.1	82.7±24.8
赤石脂散组	7.2	75.1±12.1
禹余粮散组	9.0	68±13.7
赤石脂禹余粮散组	8.1	48.2±13.0
思密达蒙脱石散组	5.4	59.2±13.9

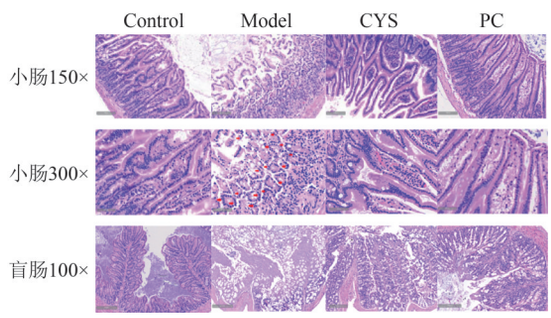


图2 赤石脂禹余粮散对小肠和盲肠肠壁组织的病理形态的影响

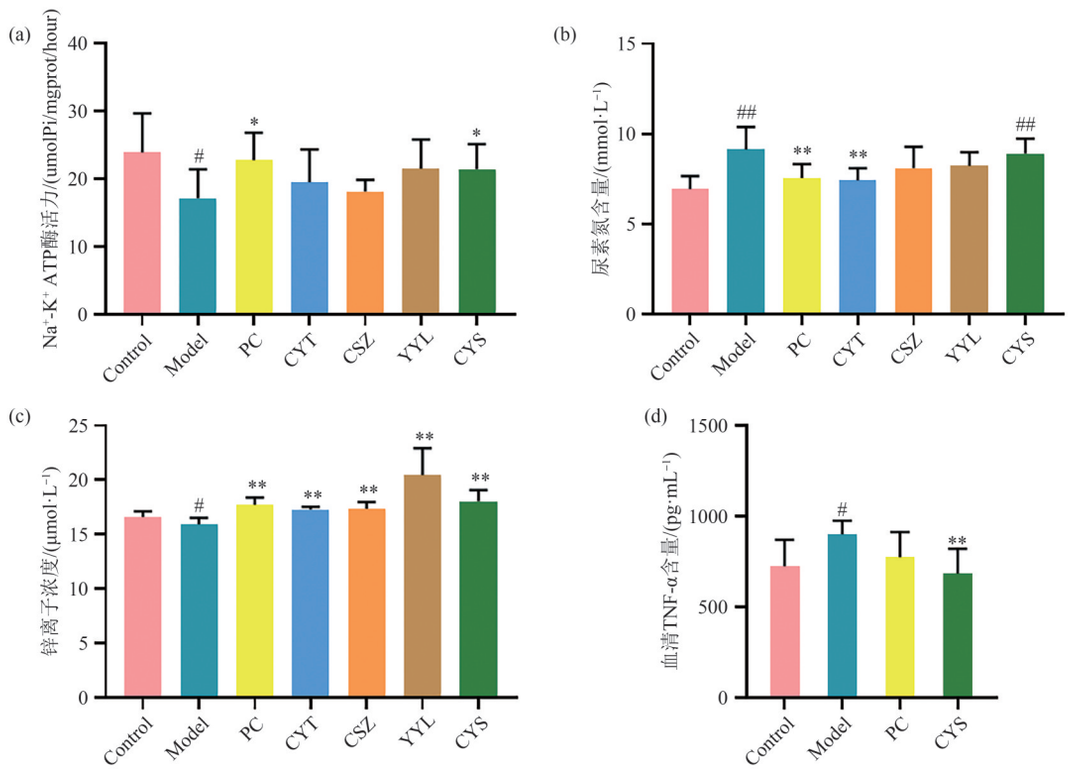
Fig. 2 Effect of Halloysitum Rubrum and Limonitum powder on the pathological morphology of intestinal wall tissues of small intestine and cecum

失,绒毛组织不规则,断裂,表面变性坏死,高倍可见细胞核变少,嗜中性粒细胞细胞显著增多,炎症细胞浸润明显;与模型组比较,赤石脂禹余粮散组小肠肠壁绒毛损伤减轻,细胞核数目增加,形态规则,嗜中性粒细胞明显减少,炎症浸润减轻.阳性组小肠绒毛形态规则,细胞几乎完整,无坏死及炎症浸润.

正常组盲肠绒毛外层规则完整,细胞核数目密集,主要以潘氏细胞分布为主,少量杯状细胞散在分布;与正常组比较,模型组盲肠绒毛表面上皮变性,坏死严重,脱落,细胞核变少;与模型组比较,赤石脂禹余粮散组盲肠绒毛表面上皮损伤程度较轻,细胞核数目增多,杯状细胞数目相对增多;阳性组盲肠绒毛上皮损伤程度明显减轻.

2.4 赤石脂禹余粮散对血清和肠壁组织相关指标的影响

如图3所示,与正常组比较,模型组小鼠血清尿素氮和TNF-α含量明显升高(P<0.01,P<0.05),锌离子浓度和小鼠肠壁细胞Na^+-K^+ ATP酶活力明显降低(P<0.05).与模型组比较,赤石脂禹余粮汤组尿素氮含量显著降低(P<0.01),赤石脂禹余粮散组小鼠肠壁细胞中Na^+-K^+ ATP酶活力明显升高(P<0.05),各组血清锌离子浓度均显著升高(P<0.01),赤石脂禹



与正常组比较,$^{\#}P$<0.05;$^{\#\#}P$<0.01;与模型组比较,$^{*}P$<0.05,$^{**}P$<0.01.

(a)小肠组织Na^+-K^+ ATP酶活力变化;(b)血清尿素氮含量变化;(c)血清锌离子浓度变化;(d)血清TNF-α含量变化

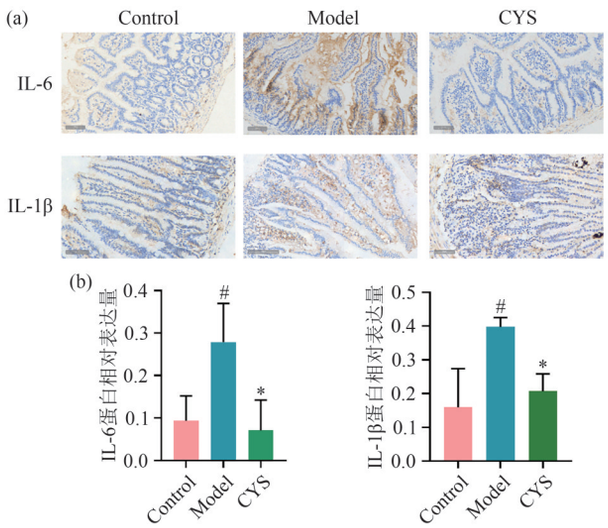
图3 赤石脂禹余粮散对血清和肠壁组织相关指标的影响(n=10,$\bar{x}$±s)

Fig. 3 Effect of Halloysitum Rubrum and Limonitum Powder on Serum and Intestinal Wall Tissue Related Indexes(n=10,$\bar{x}$±s)

余粮散组 TNF-α 含量显著下降（$P<0.01$）.

2.5　赤石脂禹余粮散对小鼠小肠肠壁组织 IL-6 和 IL-1β 蛋白相对表达量的影响

经 DAB 与苏木素处理后细胞核呈现出蓝色，阳性表达为由浅至深的棕黄色．如图 4（a）所示，正常组无着色或较弱，与正常组比较，模型组 IL-6 和 IL-1β 染色强，面积大，主要分布在小肠绒毛上皮细胞，肠黏膜上皮细胞和细胞间质，给药组染色强度和面积均有不同程度改善．模型组小鼠小肠肠壁组织中 IL-6 和 IL-1β 蛋白相对表达量明显升高（$P<0.05$）．与模型组比较，赤石脂禹余粮散能明显降低小鼠小肠肠壁组织中 IL-6 和 IL-1β 蛋白相对表达量（$P<0.05$）．使用 ImageJ 对组化切片进行定量分析计算阳性面积比值，见图 4（b）.



$n=3$，$\bar{x}\pm s$；与正常组比较，$^{\#}P<0.05$；与模型组比较，$^{*}P<0.05$.

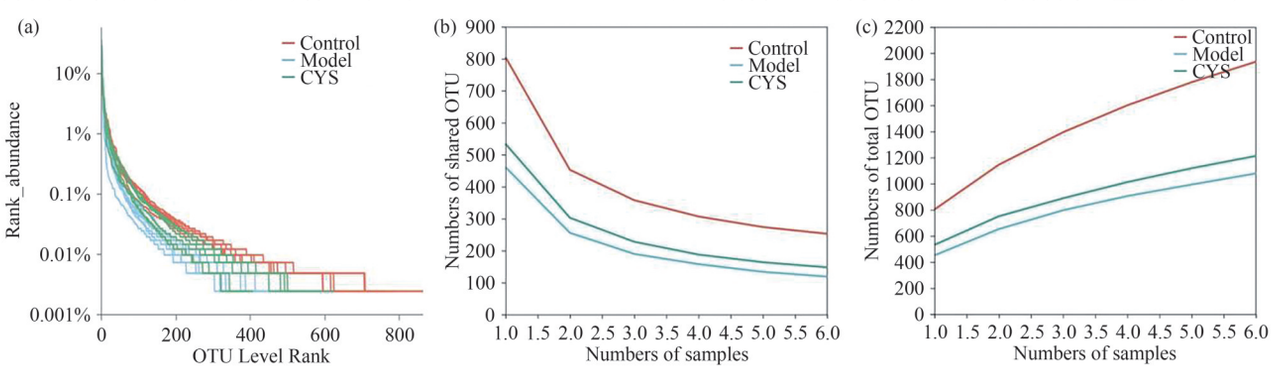
图 4　赤石脂禹余粮散对小肠肠壁组织 IL-6 和 IL-1β 蛋白相对表达量的影响

Fig. 4　Effect of Halloysitum Rubrum and Limonitum powder on the relative expression of IL-6 and IL-1β proteins in intestinal wall tissues of small intestine

2.6　赤石脂禹余粮散对小鼠肠道菌群的调节作用

2.6.1　OTU 分类学研究

由于赤石脂禹余粮散对腹泻小鼠的止泻作用显著高于其他给药组，且蒙脱石散不在本实验研究范围内，故选择赤石脂禹余粮散组代表说明肠道菌群测序结果．如图 5 所示，各组小鼠 Rank-Abundance（图 5（a））、Core（图 5（b））和 Pan（图 5（c））分析曲线趋势均较为稳定．结果表明，本研究实验样本数及肠道菌群 OUT 分类满足肠道菌群高通量测序要求.



（a）Rank-Abundance 曲线（b）Core 曲线（c）Pan 曲线

图 5　赤石脂禹余粮散对腹泻小鼠肠道菌群 OUT 分类学的影响（$\bar{x}\pm s$，$n=6$）

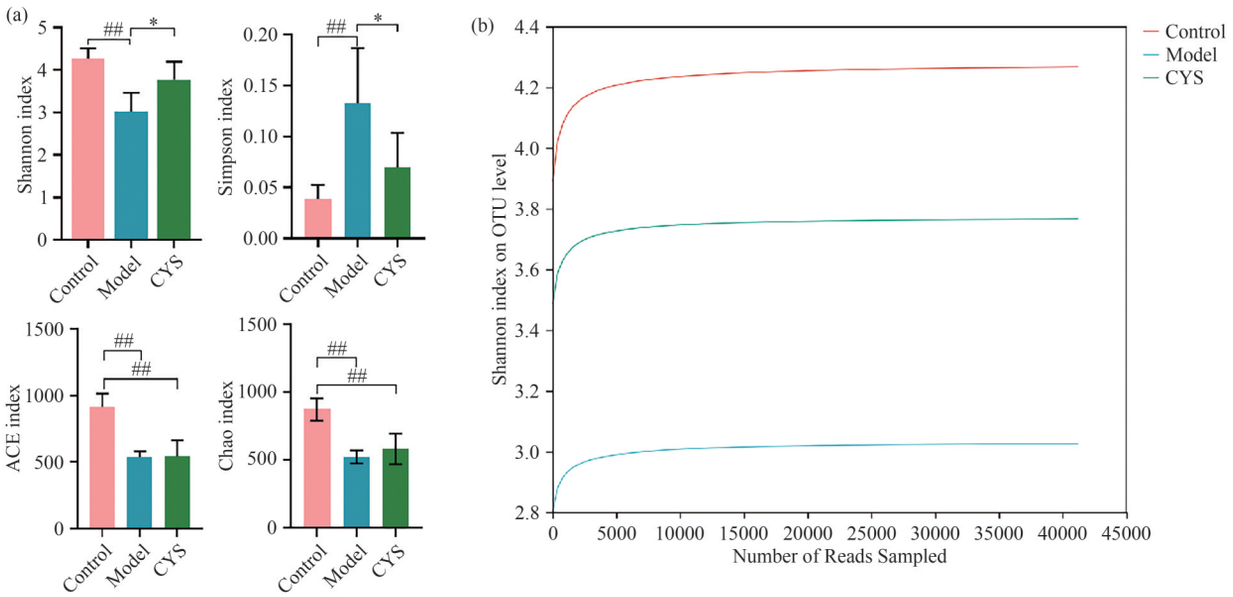
Fig. 5　Effect of Halloysitum Rubrum and Limonitum powder on the OUT taxonomy of intestinal microbiota in diarrhea mice（$\bar{x}\pm s$，$n=6$）

2.6.2　α-多样性分析

Simpson 指数、Shannon 指数能够反映肠道菌群的多样性；ACE 指数和 Chao 指数可以反应群落的丰富度．如图 6（a）所示，模型组 Simpson 和 Shannon 指数均与正常组有显著差异（$P<0.01$），而给予赤石脂禹余粮散后，Simpson 和 Shannon 指数均明显回调（$P<0.05$）．赤石脂禹余粮散组和模型组 ACE 指数和 Chao 指数均较正常组显著降低（$P<0.01$）．Shannon 指数曲线中，赤石脂禹余粮散组与对照组距离较近，而模型组与正常组距离较远（图 6（b））.

2.6.3　β-多样性分析

相似性分析（analysis of similarities，ANOSIM）可用来检验组间的差异是否显著大于组内差异（图 7（a）），从而判断分组是有意义的（$R=0.384$，$P=0.001$）．主坐标分析（principal co-ordinates analysis，PCoA）是一种非约束性的数据降维分析方法，组间的物种组成越相似，图上的距离越近．如图 7（b）显示，通过距离矩阵聚类分析小鼠肠道菌群的 Beta 多样性发现，三组小鼠的肠道菌群形成完全不同的分类簇，具有明显差异．基于 OTU 的 average-linkage 聚类法样本层级聚类分析结果显示了三组之间的差异，赤石脂禹余粮散组小鼠肠道菌群样本与模型组分开聚类（图 7（c））．属水平样品菌群分型分析（图 7（d））显示，正常组与模型组样本菌群分型多在葡萄球菌



$\bar{x}\pm s$, n=6; 与正常组比较, $^{\#\#}P$<0.01; 与模型组比较, $^{*}P$<0.05.

(a)Shannon指数、Simpson指数ACE指数和Chao指数图; (b)Shannon指数曲线图

图6 赤石脂禹余粮散对小鼠肠道菌群的α-多样性的影响

Fig. 6 Effect of Halloysitum Rubrum and Limonitum powder on the α-diversity of intestinal microbiota in mice

属,给药后菌群分型发生明显改变,多属拟杆菌属(鼠肠杆菌).

2.6.4 *物种组成分析和物种差异分析*

如图8(a)及(b)所示,与正常组相比,模型组厚壁菌门、放线菌门、变形菌门和弯曲菌门丰度呈现升高趋势;毛螺菌属丰度相对下降,葡萄球菌属丰度显著上升.而相对于模型组,赤石脂禹余粮散组厚壁菌门丰度呈降低趋势,放线菌门丰度相对升高;乳杆菌属、毛螺菌属和杜博氏菌属丰度显著升高.

如图8(c)所示,在前15个丰度不同的物种比较中,与正常组相比,模型组葡萄球菌属*Staphylococcus*和*Jetgalicoccus*丰度显著增加.给予赤石脂禹余粮散后,葡萄球菌属*Staphylococcus*和幽门螺杆菌属*Helicobacter*的丰度明显下降;乳杆菌属*Lactobacillus*、毛螺菌属*Lachnospiraceae*、念珠菌属*Saccharimonas*、梭状芽孢杆菌属*Clostridia*、颤螺菌属*Oscillospiraceae*以及双歧杆菌属*Bifidobacterium*等丰度显著增加.

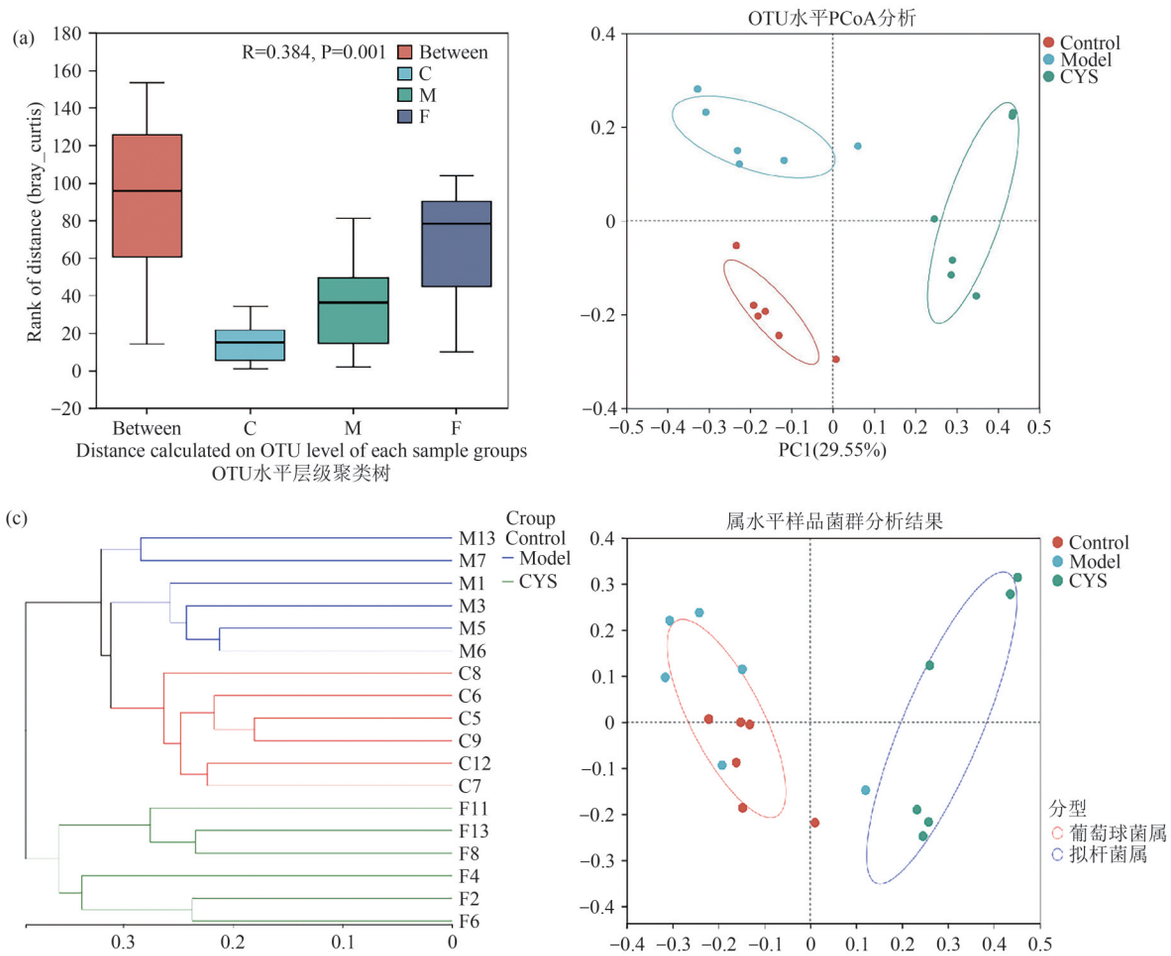
3 讨论与结论

3.1 散剂入药探讨

散剂是一种或多种药物经过粉碎,筛末后制成的粉末状制剂,可使其表面积增大,有效成分更易析出、吸收,因而起效快.《伤寒论》、《金匮要略》等经典古籍中记载散剂常用于病机为水饮内停者,慢性虚弱及急性病者[12].赤石脂现代用法多为研碎或粉末,入汤剂先煎.有研究显示[13],赤石脂调散服用,可延长药物停留时间,有利于修复肠道黏膜屏障等.又因其分子颗粒(硅酸铝)具有吸附作用,能吸附消化道内的有毒物质、细菌毒素,以及食物异常发酵的产物,并能保护消化道黏膜,以止胃肠道的出血.辨证施治,结合患者体质考虑,合理选用散剂,可增强其收敛涩肠止血之功.

3.2 物质基础探讨

ICP-OES及吸湿度测定结果显示,赤石脂和禹余粮粉末均有较高的吸附作用.赤石脂[14]中的主要矿物为10 Å多水高岭石,主要成分为$Al_4(Si_4O_{10})(OH)_8\cdot 4H_2O$,可吸附消化道内的细菌毒素和炎性渗出物,减少肠道刺激[15].生品经煅制后Al元素含有量大幅增加,重金属元素下降[16],这种变化与临床常用煅制品以增强其药效一致,铝元素可能是其固胃涩肠的主要成分之一.禹余粮中铁元素由14.5%的Fe^{2+}和85.5%的Fe^{3+}组成[17],还含有铝、镁、钾、钠、磷等元素,可以补充电解质,改善久泻导致的电解质紊乱,可以作为抗菌治疗的辅助用药[3].铁对人体能量代谢、消化和免疫功能具有重要调控作用,Fe^{3+}在小肠细胞的刷状缘上的铁离子还原酶还原为Fe^{2+},然后在十二指肠吸收,满足人体每日对铁元素的需求.赤石脂禹余粮散中的元素含量相对于赤石脂和禹余粮而言,分别提高了Fe和Al的含量,同时也具有丰富的Ca、Mn和Mg等成分,这可能为其药效更佳的主要原因.铝离子可轻度抑制肠道蠕动,



(a) OTU 水平组间距离盒状图；(b) OTU 水平 PcoA 分析图；(c) OTU 水平层级聚类分析图；(d) 属水平样品菌群分型分析图

图 7　赤石脂禹余粮散对小鼠肠道菌群的 β-多样性的影响($\bar{x}\pm s$，n=6)

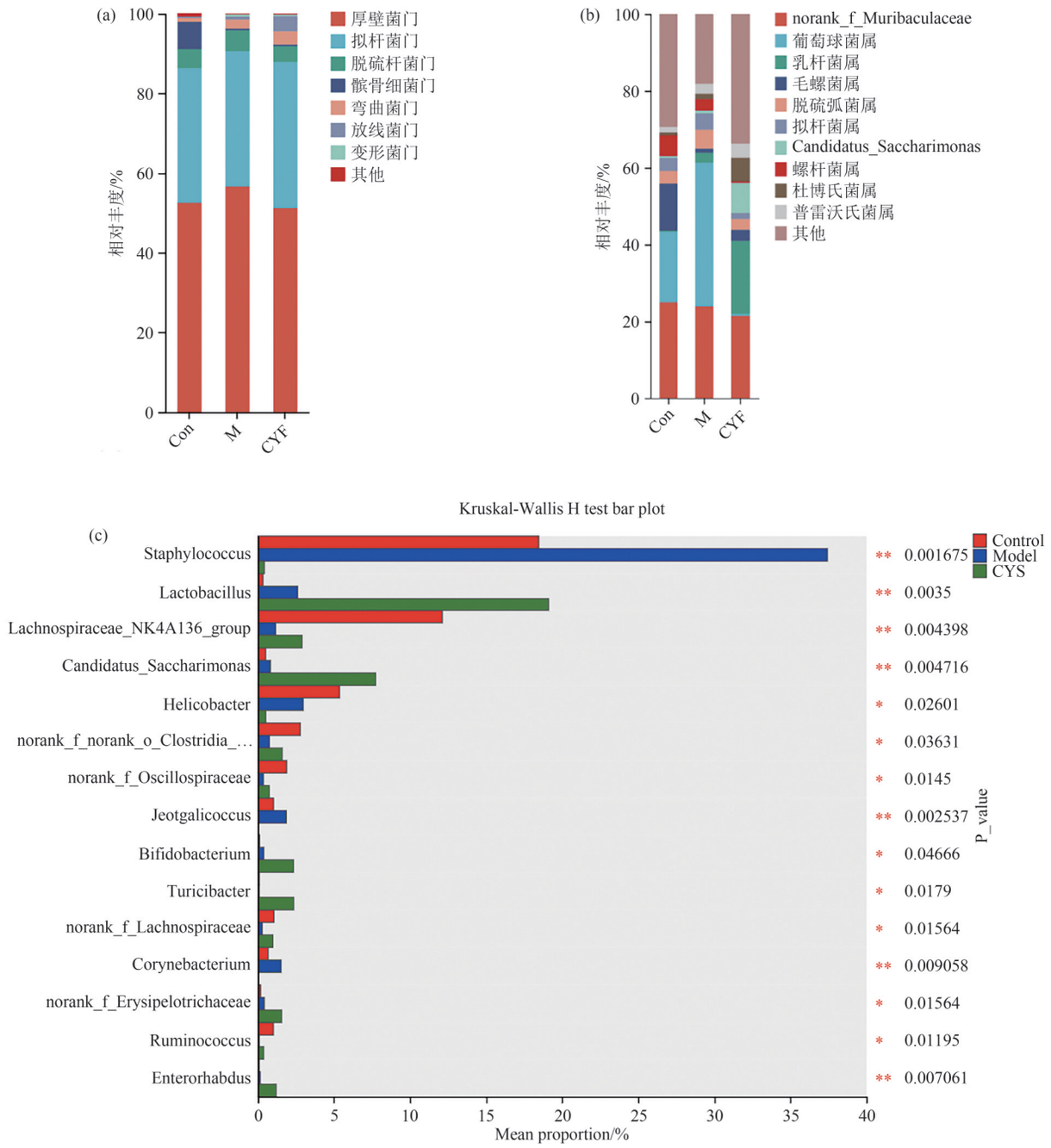
Fig. 7　Effect of Halloysitum Rubrum and Limonitum powder on the β-diversity of intestinal microbiota in mice($\bar{x}\pm s$, n=6)

铁离子可参与黏膜修复和生理调节，赤石脂的层状结构和禹余粮含有的羟基氧化物的胶状结构使其可在肠道黏膜表面形成保护膜，吸附肠道内多余水分，毒素及病原体，且因二者均具有较大的比表面积而具有较高的吸附性，散剂入药在胃肠道中不易溶解，可持续发挥作用[16]. 蓖麻油诱导的小鼠急性腹泻药效实验中，赤石脂禹余粮散对肠道伊文思蓝推进表现出明显的抑制作用，而赤石脂散和赤石脂禹余粮汤组无明显抑制效果. 因而，两药配伍以及散剂的吸附作用有利于增强其止泻效果，但长期服用存在潜在风险，需要谨慎使用并进行科学的监测和研究[18].

3.3　作用机制探讨

Na^+-K^+ ATP 酶可将 3 个 Na^+ 转运出细胞，以换取 2 个 K^+ 进入细胞，从而维持细胞膜内外 K^+ 和 Na^+ 浓度. Na^+-K^+ ATP 酶活力增加可提高肠细胞吸收能力，在营养吸收和维持肠道健康方面起着至关重要的作用[19]. 同时，急性感染性腹泻通常与肠道菌群的失衡、血清中的炎症因子异常以及免疫系统的失衡相关[20-21]. 此外，锌在炎症的急性阶段和免疫反应中发挥作用[22]，补充锌已被证实有助于改善慢性胃肠道炎症[23]. 结果显示赤石脂禹余粮散可明显提高小鼠小肠 Na^+-K^+ ATP 酶活力和血液中锌离子浓度，降低小肠和盲肠黏膜损伤，降低小肠肠壁组织 IL-6、IL-1β 蛋白相对表达量及血清 TNF-α 含量. 因而，赤石脂禹余粮散的止泻作用机制与其改善血清及组织中的炎症因子异常，提高肠细胞吸收能力，保护肠壁黏膜等有关.

小鼠盲肠内容物 16 S rRNA 高通量测序结果显示，蓖麻油造模对门水平群落丰度发生改变的主要为厚壁菌门、弯曲菌门、放线菌门和变形菌门呈升高趋势，属水平主要为葡萄球菌属和 *Jetgalicoccus* 群落丰度显著升高，毛螺菌属群落丰度明显下降. 致病性葡萄球菌是最常见的化脓性球菌，金黄色葡萄球菌是一种革兰氏阳性细菌，引起肠道感染、呕吐和腹泻[24]. 幽门螺杆菌被证明能够导致小鼠盲肠组



(a)小鼠门水平肠道菌群丰度变化;(b)小鼠属水平肠道菌群丰度变化;(c)属水平物种组成的差异性

图 8 赤石脂禹余粮散对小鼠门、属水平肠道菌群丰度和属水平物种组成的差异性影响($\bar{x}\pm s$,n=6)

Fig. 8 . Halloysitum Rubrum and Limonitum powder on the abundance of intestinal microbiota at the phylum and genuslevels and differences in species composition at the genus level in mice($\bar{x}\pm s$,n=6)

织损伤,引起炎性细胞因子 TNF-α 和 IL-17 上调[25].给予赤石脂禹余粮散后,显著下调了葡萄球菌属和幽门螺杆菌属丰度.双歧杆菌是一种有益菌,常与人类胃肠道共生,在婴幼儿肠道中较成人比例更高[26];乳杆菌能够抑制泌尿性大肠杆菌的生长,增强免疫力,还有抑制促炎介质的作用,常定植于胃肠道[27].赤石脂禹余粮散治疗后乳杆菌属、毛螺菌属、梭状芽孢杆菌属、双歧杆菌属和杜博氏菌属丰度显著增加,提示该复方能够增加以上菌群丰度,与肠道菌群健康有关.以上结果表明,降低葡萄球菌属和幽门螺杆菌属等有害菌属相对丰度,增加毛螺菌属和双歧杆菌属等潜在有益菌丰度来调节肠道菌群平衡,维持肠道健康可能是赤石脂禹余粮散抑制小鼠腹泻的机制之一.辅助抗生素用以治疗细菌感染性腹泻,可能发挥更好的药效.

综上,赤石脂禹余粮散通过补充微量元素,吸

附炎症渗出及调节肠道菌群平衡,从而达到抑制小鼠腹泻并维持肠道健康的目的.

参 考 文 献

[1] Wiesen P, Van Gossum A, Preiser J C. Diarrhoea in the critically ill[J]. Current Opinion in Critical Care, 2006, 12(2): 149-154.

[2] 杨再巧, 传秀云, 苏双青. 高岭石作为矿物药的功效及机理[J]. 时珍国医国药, 2016, 27(11): 2725-2727.

[3] 马瑜璐, 房方, 刘圣金, 等. 矿物类中药止泻药理作用及临床应用研究进展[J]. 中国现代中药, 2022, 24(11): 2260-2268.

[4] 李波, 徐红, 彭茜. 钙铝混悬液对小鼠的抗腹泻作用及拆方分析[J]. 药物分析杂志, 1999, 19(4): 219-221.

[5] 党中勤. 加味赤石脂禹余粮汤治疗艾滋病顽固性腹泻56例[J]. 中国中医基础医学杂志, 2013, 19(7): 844-845.

[6] 吴继萍. 赤石脂禹余粮汤治疗放射性肠炎证治发挥[J]. 中医研究, 2018, 31(7): 50-53.

[7] 王红霞, 党志博, 党中勤, 等. 加味赤石脂禹余粮汤联合热敏灸治疗肝硬化腹水并顽固性腹泻疗效观察[J]. 广州中医药大学学报, 2015, 32(2): 255-258.

[8] (汉)张仲景著. (晋)王叔和撰次. 张永泰, 李秋贵整理. 伤寒论[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2022: 170.

[9] 闫彦芳, 张壮, 赵可星, 等. 黄黄连赤石脂禹余粮汤对小鼠蓖麻油性腹泻及胃肠推进运动的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2007, 13(2): 58-60.

[10] 孙少丹. 七味白术散治疗脾虚证泄泻幼鼠的肠道菌群-短链脂肪酸-黏液屏障相关研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2020.

[11] 石玉存, 董小丽, 侯效英, 等. 腹泻动物模型及治疗药物研究进展[J]. 中国比较医学杂志, 2024, 34(9): 94-107.

[12] 刘野, 张参军. 张仲景使用散剂初探[J]. 中国中医药科技, 2020, 27(4): 575-576.

[13] 芦丽莎,舒胜男,王有鹏. 王有鹏应用赤石脂半全半末法思路探析[J/OL]. 中医学报,2025,40(7):1525-1529.

[14] 王晓飞, 王友邵, 陈代红, 等. 赤石脂的本草考证、品质评价及物相分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2024, 30(21): 176-184.

[15] 孙文君, 周灵君, 丁安伟. 矿物药赤石脂的研究进展[J]. 广州化工, 2010, 38(11): 39-41.

[16] 高慧慧, 杨立梅, 张超, 等. ICP-MS法测定赤石脂煅制前后21种可溶性无机元素[J]. 中成药, 2016, 38(6): 1346-1350.

[17] 卢闵, 王晓飞, 王程程, 等. 含铁矿物药赭石和禹余粮的矿物学研究[J]. 中国中药杂志, 2025, 50(5): 1179-1186.

[18] 徐姗, 徐柳, 相堂永, 等. 金属类矿物药研究进展[J]. 南京中医药大学学报, 2021, 37(5): 778-785.

[19] Nepal N, Arthur S, Sundaram U. Unique regulation of Na-K-ATPase during growth and maturation of intestinal epithelial cells[J]. Cells, 2019, 8(6): 593.

[20] 郭敏,金子爱,潘新. 四神丸对溃疡性结肠炎大鼠的调控作用[J]. 中南民族大学学报(自然科学版),2025,44(1):43-49.

[21] 张文胜, 李道平, 黄浩, 等. 门诊急性感染性腹泻病原菌及其耐药性[J]. 中华医院感染学杂志, 2021, 31(15): 2241-2245.

[22] Otheiza P I. Zinc and the modulation of redox homeostasis [J]. Free Radical Biology and Medicine, 2012, 53(9): 1748-1759.

[23] Scrimgeour A G, Condlin M L. Zinc and micronutrient combinations to combat gastrointestinal inflammation [J]. Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care, 2009, 12(6): 653-660.

[24] Teles De Andrade C, Silva R L V, MOURA I A A, et al. Antimicrobial photodynamic therapy applied to inactivation of *Salmonella enterica* and *Staphylococcus aureus*[C]//Optical Interactions with Tissue and Cells XXX. San Francisco:SPIE, 2019: 43.

[25] Shen Z, FENG Y, MUTHUPALANI S, et al. Novel *Helicobacter* species H.japonicum isolated from laboratory mice from Japan induces typhlocolitis and lower bowel carcinoma in C57BL/129 IL10-/-mice[J]. Carcinogenesis, 2016, 37(12): 1190-1198.

[26] Zhang J, Guo Z, Xue Z, et al. A *Phylo*-functional core of gut microbiota in healthy young Chinese cohorts across lifestyles, geography and ethnicities [J]. The ISME Journal, 2015, 9(9): 1979-1990.

[27] Putonti C, Shapiro J W, Ene A, et al. Comparative genomic study of *Lactobacillus jensenii* and the newly defined *Lactobacillus mulieris* species identifies species-specific functionality[J]. mSphere, 2020, 5(4): e00560-20.

(责编&校对　姚春娜)