

## 含丁香方剂的数据挖掘及其治疗腹泻的作用机制分析

陈青垚<sup>1</sup>, 王梁凤<sup>1</sup>, 李慧婷<sup>2</sup>, 王堯<sup>3</sup>, 柳小莉<sup>2</sup>, 徐杰<sup>1</sup>, 杨明<sup>1,2</sup>, 王芳<sup>1\*</sup>, 张小飞<sup>1,3\*</sup>

(1. 江西中医药大学现代中药制剂教育部重点实验室, 南昌 330004;

2. 成都中医药大学药学院, 成都 610075; 3. 陕西中医药大学药学院, 陕西 咸阳 712046)

**[摘要]** 目的:基于数据库挖掘,分析以丁香为核心治疗腹泻的高频配伍规律,并利用网络药理学阐释含丁香核心药物组治疗腹泻的作用机制。方法:应用Python 3.8.1编程对中国中医药数据库进行智能抓取,分析丁香配伍规则,以符合支持度(support)≥0.30,置信度(confidence)≥0.90且提升度(lift)≥1.00的中药设为丁香核心药物组,利用中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP)检索成分并筛选成分靶点,以“Diarrhea”为关键词在Therapeutic Target Database(TTD),GeneCards,DisGeNET数据库搜集疾病靶点,运用Cytoscape 3.7.1软件构建“中药-成分-潜在靶点”网络图,通过STRING 11.0构建蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络,利用R语言对潜在靶点进行基因本体(GO)和京都基因与基因组百科全书(KEGG)富集分析,采用Discovery Studio Client 2016对核心药物组的成分进行初步验证和评估。结果:数据库筛选获得含丁香治疗腹泻的方剂155首,涉及54味中药,关联规则分析表明在治疗腹泻的配伍中,丁香与木香、甘草、肉豆蔻、白术具有强关联性,以这5味中药组成的核心药物组共涉及119种中药成分和114个潜在靶点,其中104个潜在靶点分布在神经系统,关键靶点有肿瘤蛋白P53(TP53),JUN原癌基因(JUN),丝裂原活化蛋白激酶8(MAPK8),白细胞介素-6(IL-6),90 kDa热休克蛋白 $\alpha$ A1(HSP90AA1)等。GO富集分析主要涉及神经递质水平的调节、血液循环过程、激素介导的信号途径、化学突触传递的调节等生物学过程,KEGG通路中IL-17信号通路、辅助性T细胞17(Th17)分化、表皮生长因子受体、沙门氏菌感染等与治疗腹泻密切相关。分子对接显示关键靶蛋白与槲皮素、山柰酚以及 $\beta$ -谷甾醇具有较高亲和力。结论:含丁香核心药物组涉及的多成分、多靶点、多通路与炎症、神经系统密切相关,推测其可能通过修复肠道屏障完整性、调节神经递质水平来治疗腹泻。

**[关键词]** 数据挖掘; 网络药理学; 腹泻; 丁香; 炎症; 脑肠互动; 方剂

**[中图分类号]** R22;R28;R96;Q81;R442.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2021)05-0158-13

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20202054

**[网络出版地址]** <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20200810.1337.005.html>

**[网络出版日期]** 2020-8-10 13:42

### Data Mining of Caryophylli Fols-containing Formula and Analysis of Its Mechanism in Treatment of Diarrhea

CHEN Qing-yao<sup>1</sup>, WANG Liang-feng<sup>1</sup>, LI Hui-ting<sup>2</sup>, WANG Yao<sup>3</sup>, LIU Xiao-li<sup>2</sup>, XU Jie<sup>1</sup>,  
YANG Ming<sup>1,2</sup>, WANG Fang<sup>1\*</sup>, ZHANG Xiao-fei<sup>1,3\*</sup>

(1. Key Laboratory of Modern Preparation of Traditional Chinese Medicine (TCM), Ministry of Education, Jiangxi University of TCM, Nanchang 330004, China;

2. College of Pharmacy, Chengdu University of TCM, Chengdu 610075, China;

3. College of Pharmacy, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, China)

**[Abstract]** **Objective:** Based on database mining, the high-frequency compatibility of Caryophylli Fols as the core in formulas for treating diarrhea was analyzed, and the network pharmacology was used to

**[收稿日期]** 20200613(011)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81960714);江西省重大科技研发专项(20194ABC28009);江西中医药大学“双一流”学科建设项目(JXSYLXK-ZHYAO083,JXSYLXK-ZHYAO084);现代中药制剂教育部重点实验室2017年开放基金项目(2017003)

**[第一作者]** 陈青垚,在读硕士,从事中药新剂型研究,E-mail:1793224314@qq.com

**[通信作者]** \*王芳,博士,副教授,从事中药制剂学研究,Tel:0791-87118645,E-mail:cat689apple@163.com;

\*张小飞,博士,副教授,从事中药新技术与新剂型研究,Tel:029-38185175,E-mail:zhangxiaofei830@163.com

elucidate the mechanism of the core drug group containing Caryophylli Fols in the treatment of diarrhea. **Method:** The online database of traditional Chinese medicine (TCM) was intelligently crawled by Python 3.8.1 programming, and the compatibility rules of Caryophylli Fols were analyzed, and the TCM with support $\geq 0.30$ , confidence $\geq 0.90$  and lift $\geq 1.00$  was set as the core drug group of Caryophylli Fols. The components were searched and screened by TCM Systems Pharmacology Database and Analysis Platform (TCMSP), and the disease targets were collected in Therapeutic Target Database (TTD), GeneCards and DisGeNET database with "Diarrhea" as the key word. The network diagram of "TCM-ingredients-potential targets" was constructed by Cytoscape 3.7.1 software, and the network of protein-protein interaction (PPI) was constructed by STRING 11.0. Gene Ontology (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) enrichment analysis of potential targets was analyzed by R language, and the components of the core drug group were preliminarily verified and evaluated by Discovery Studio Client 2016 software. **Result:** A total of 155 formulas containing Caryophylli Fols for treating diarrhea were screened, involving 54 TCMs. The analysis of association rules showed that Caryophylli Fols was strongly associated with Myristicae Semen, Glycyrrhizae Radix et Rhizoma, Aucklandiae Radix and Atractylodis Macrocephalae Rhizoma in the treatment of diarrhea. The core drug group composed of these five TCMs involved 119 kinds of TCM ingredients and 114 potential targets, of which 104 potential targets were distributed in the nervous system, and the key targets were tumor protein p53 (TP53), transcription factor activator protein-1 (JUN), mitogen-activated protein kinase 8 (MAPK8), interleukin-6 (IL-6), 90 kDa heat shock protein  $\alpha$ 1 (HSP90AA1) and so on. GO enrichment analysis mainly involved biological processes such as the regulation of neurotransmitter levels, blood circulation, hormone-mediated signal pathway and regulation of chemical synaptic transmission. IL-17 signal pathway, helper T cell 17 (Th17) cell differentiation, epidermal growth factor receptor and salmonella infection in KEGG pathways were closely related to the treatment of diarrhea. Molecular docking showed that the key target protein had high affinity with quercetin, kaempferol and  $\beta$ -sitosterol. **Conclusion:** The multi-components, multi-targets and multi-pathways involved in the core drug group of Caryophylli Fols are closely related to inflammation and nervous system, so it is speculated that it may treat diarrhea by repairing intestinal shielding integrity and regulating the levels of neurotransmitters.

**[Key words]** data mining; network pharmacology; diarrhea; Caryophylli Fols; inflammation; brain-gut interaction; formulas

腹泻是由多病原、多因素引起的以排便次数异常增多、大便性状改变为特点的一种临床常见病和多发病<sup>[1]</sup>,据世界卫生组织(WHO)和联合国儿童基金会(UNICEF)数据显示,全球每年约有22亿腹泻病例<sup>[2]</sup>,全球儿童腹泻每年约有17亿例,其中5岁以下儿童中每年约有52.5万死于腹泻,是造成5岁以下儿童死亡的第二大原因<sup>[3]</sup>。腹泻可分为急性腹泻和慢性腹泻,其中急性腹泻易出现严重脱水和体液流失现象,严重可致休克甚至死亡;慢性腹泻可导致肠道菌群失调、免疫活性改变、水电解质失衡,诱发酸中毒、急性病毒性心肌炎、心肌梗塞等其他疾病<sup>[4]</sup>。腹泻的发病机制尚不清楚,现有报道主要与胃肠道感染、胃肠动力紊乱、肠神经系统递质含量异常、肠道菌群失衡、滥用抗生素等相关<sup>[3-7]</sup>。目前,临床针对急性腹泻多采用抗生素对症治疗,而对于

慢性腹泻,尚无特效药物,且长期服用抗生素易引起耐药性、便秘、恶心、结肠缺血并发症等不良反应<sup>[4-5]</sup>。中医将腹泻归属于“泄泻”范畴,《难经·五十七难》将其分为“有胃泄,有脾泄,有大肠泄,有小肠泄,有大瘕泄”,归类合称“五泄”,各责相应脏或腑,其发病因素多为脾虚湿盛、外感六邪、情志所伤、饮食不节等;中医辨证治疗以“运脾化湿,通利气机”为主,运用中药疏肝健脾、理气宽肠、温中除湿、健脾益气、温补脾肾,辅以推拿、针灸及情志调节等疗法,安全性高,疗效显著。大量研究显示,中药可通过修复肠黏膜损伤、缓解异常免疫反应、减少细胞旁通透性等达到治疗腹泻的作用<sup>[1,6-9]</sup>,因此挖掘有效治疗腹泻的新组合药物具有潜在的前景<sup>[10]</sup>。

丁香为桃金娘科植物丁香 *Eugenia caryophyllata* 的干燥花蕾,味辛,性温,归脾、胃、肺、

肾经,在治疗腹泻上具有悠久的历史,《本草纲目》<sup>[11]</sup>记载“治虚嘔,小儿吐泻,痘疮胃虚灰白不发。”《全国中草药汇编》<sup>[12]</sup>云“温脾胃,降逆气。胃寒呕逆,吐泻,脘腹作痛。”丁香作为国家相关部门批准的第一批药食同源药物,已被广泛应用于医药、香料和调味剂产业。现代研究表明,丁香含丁香酚、乙酸丁香酚、百里酚、石竹烯、没食子酸、阿魏酸等多种活性成分,具有减缓胃肠排空、抗胃溃疡、止吐、镇痛、抗炎、抑菌等作用<sup>[13]</sup>。将复方丁香开胃贴贴于人体脐部神阙穴处,可通过神经体液调节,改善脾胃功能,起治疗腹泻的功效<sup>[14]</sup>,其止泻的作用机制与抑制致泻菌的生长繁殖、调节肠道菌群、抑制囊性纤维化跨膜电导调节因子的活性等有关;然而目前关于丁香治疗腹泻的分子作用机制研究仍较薄弱,需进一步探讨。

在中医药信息化发展进程中,数据挖掘搭建了中医古籍与现代医学的桥梁,便于中医方剂的梳理与挖掘,为方剂精准配伍与诊疗方案提供了新视

角;2020年6月2日习近平总书记在专家学者座谈会上强调“要加强古典医籍精华的梳理和挖掘,建设一批科研支撑平台,改革完善中药审评审批机制,促进中药新药研发和产业发展”。但以植物为来源的中药,成分复杂,使其组成的方剂无论在药效物质的阐明还是作用机制的揭示都具有一定的挑战性<sup>[15]</sup>;而网络药理学通过以生物分子网络为基础建立方药与病证之间的关联机制,辨析中药-机体之间隐含的模式或规律,解决中药有效成分不清、作用机制不明等问题,为方剂对证治疗提供了验证<sup>[16]</sup>。

本文以腹泻为切入点,基于现代技术智能抓取丁香治疗腹泻的方剂,阐明丁香方剂配伍规律,归纳丁香高频、强相关的药物组合;协同网络药理学策略,阐述丁香核心药物组治疗腹泻的潜在作用机制,并利用分子对接实现初步验证,以期丁香方剂加减配伍研究及腹泻方剂的临床实践提供理论依据。本研究整体思路见图1。

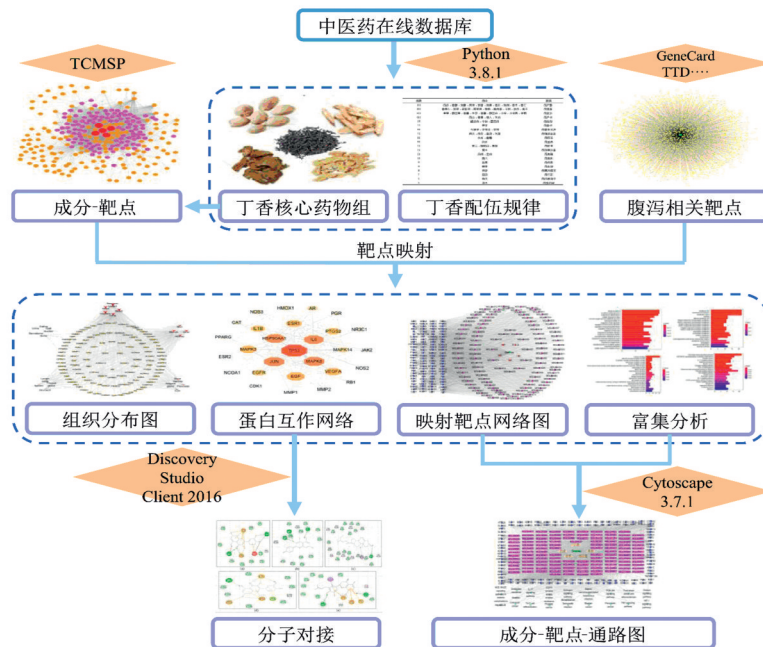


图1 含丁香核心药物组治疗腹泻的作用机制研究思路流程

Fig. 1 Flow chart of research on mechanism of core drug group containing Caryophylli Fols in treatment of diarrhea

## 1 材料与方

1.1 处方数据来源与提取 丁香治疗腹泻的方剂源于中国中医药数据库(<http://cintmed.cintcm.com/cintmed/>),该数据库时间跨度长、方剂信息完整可靠。检索框设定为主治“泄泻”或“腹泻”和药物组分“丁香”,基于Python 3.8.1编程语言网络爬虫技术将方名、组成药物、剂量等信息提取录入 Microsoft

Excel 2019工作表格中。

1.2 处方数据的标准化 上述抓取的处方,排除方剂相关资料不全;若药材入药部位、炮制手段不同但功能一致的计为同一味药;对存在中药译名概念模糊不清现象,根据2020年版《中华人民共和国药典》进行数据标准化处理。

1.3 数据关联度分析<sup>[17]</sup> 利用Python 3.8.1编程,

基于 Apriori 算法对丁香方剂实现关联规则分析。设置筛选的 3 个标准,包括支持度(support),置信度(confidence)和提升度(lift);support 表示锁定中药 A 和 B 的方剂数与全部方剂数的百分比,confidence 指含中药 A 的方剂同时含中药 B 的频率(中药 A→中药 B)。lift 为置信度与支持度的比值,数值越高则说明中药 A 和 B 配伍使用的概率较单味中药使用的概率高。筛选满足 support≥0.30, confidence≥0.90 且 lift≥1.00 的药对为丁香核心药物组<sup>[18]</sup>。

**1.4 成分与靶点的筛选** 基于中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP, <http://tcmssp.com/tcmssp.php>),以药代动力学参数生物口服利用度(OB)≥30%和类药性(DL)≥0.18 筛选核心药物组成分、挖掘成分靶点,应用 UniProt(<https://www.uniprot.org/>)数据库将靶点校正为基因名。在 Therapeutic Target Database(TTD, <http://db.idrblab.net/ttd/>), GeneCards(<https://www.genecards.org/Search/Keyword>), DisGeNET(<https://www.disgenet.org/search>)数据库输入疾病“Diarrhea”,收集腹泻相关基因;将成分靶点与腹泻靶点进行映射,获得丁香核心药物组治疗腹泻的潜在靶点。

**1.5 成分靶点网络构建与分析** 依据中药、成分、潜在靶点三者对应关系,应用 Cytoscape 3.7.1 软件建立“中药-成分-潜在靶点”网络图;并由 Cytoscape 3.7.1 软件的 CytoHubba 插件对成分属性节点进行 MCC(maximum central cluster)分析<sup>[19]</sup>,对分值排前 12 的成分进行展示。

**1.6 蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络构建** 将核心药物组治疗腹泻的潜在靶点输入 STRING 11.0<sup>[20]</sup>,设置物种为人类(Homo sapiens),以置信度(combined score)≥high confidence(0.70)为筛选标准,PPI 结果以 tsv 格式下载,导入 Cytoscape 3.7.1 软件,运用 Network Analyzer 插件对蛋白靶点进行运算分析,以拓扑参数度值(degree)大于各节点度值中位数的 2 倍为关键靶点,绘制 PPI 网络。

**1.7 潜在靶点组织分布图的构建** 通过 GeneCards 数据库来构建靶点组织分布图,归纳作用靶点分布的组织器官,即核心药物组治疗腹泻分布率较高的组织器官,揭示潜在靶点作用部位。

**1.8 通路富集分析** 利用 R 语言(clusterProfiler 包)<sup>[21]</sup>完成核心药物组潜在靶点基因本体(GO)功能富集分析和基于京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析,并在 Microsoft Excel 2019 表格中建立中药、成分、靶点与前 20 条腹泻相关通

路的对应关系,利用 Cytoscape 3.7.1 软件对其进行可视化展示。

**1.9 分子对接** 采用分子对接软件 Discovery Studio Client 2016 对 PPI 网络中 degree 前五的关键靶点进行对接验证。通过 RCSB PDB 数据库(<http://www.rcsb.org/>)获得靶蛋白结构,并根据靶点结构在 DrugBank 数据库选择阳性药,故选市场上常用于腹泻的阿莫西林(amoxicillin)合用克拉维酸(clavulanic acid)作为阳性药<sup>[22]</sup>,利用 PubChem 数据库下载中药成分、阿莫西林、克拉维酸的 2D 结构,采用 LibDock 模式对靶蛋白与相应中药成分、阳性药进行对接,对接分数值越大说明结合越稳定。

## 2 结果

**2.1 处方统计分析** 从中国中医药数据库中筛选并整理出 155 首含丁香治疗腹泻的标准方剂,涉及 54 味中药,合计使用 1 097 次,使用频数均≥5 次,频率均≥3.2%。频数为前 20 位的中药见表 1;基于关联规则得到含丁香方剂中常用药物组合 81 个,其中 2 味药组合 44 个,3 味药组合 37 个,见表 2。前 5 个高频药物组合为丁香-木香、丁香-肉豆蔻、丁香-白术、丁香-甘草、丁香-干姜。54 味中药依据高学敏主编的《中药学》<sup>[23]</sup>进行类别分类,见表 3,表明与丁香治疗腹泻的配伍常与理气药、化湿药、温里药、补气药、收敛药(频数均>90 次)等联用,这 5 种类别的中药合理搭配丁香可使后者化温行气、健脾化湿、收敛止泻之效倍增<sup>[24]</sup>。与丁香高频配伍的前 10 位中药多以味辛,性温;归脾、胃、肺经;疗效上多可健脾益气、降逆止呕、温中涩肠、散寒止痛,表明丁香治疗腹泻配伍的中药具有相似性和总体趋向性。

表 1 治疗腹泻的含丁香方剂中药物配伍频数分析

Table 1 Analysis on frequency of drug compatibility in Caryophylli Fols-containing formulas for treating diarrhea

排序	中药	频数/次	频率/%	排序	中药	频数/次	频率/%
1	丁香	155	100.0	11	厚朴	31	20.0
2	木香	64	41.3	12	茯苓	31	20.0
3	甘草	57	36.8	13	沉香	27	17.4
4	肉豆蔻	53	34.2	14	附子	24	15.5
5	白术	50	32.3	15	胡椒	24	15.5
6	干姜	47	30.3	16	高良姜	21	13.5
7	人参	46	29.7	17	藿香	21	13.5
8	陈皮	41	26.5	18	诃子	19	12.3
9	肉桂	40	25.6	19	青皮	19	12.3
10	砂仁	35	22.6	20	当归	16	10.3

表2 治疗腹泻的含丁香方剂中常用药物组合频数分析

Table 2 Frequency of drug combinations commonly used in Caryophylli Fols-containing formulas for treatment of diarrhea

药物组合	频数/次	频率/%	药物组合	频数/次	频率/%
丁香、木香	64	41.3	附子、白术	16	10.3
丁香、甘草	57	36.8	陈皮、茯苓	16	10.3
丁香、肉豆蔻	53	34.2	丁香、当归	16	10.3
丁香、白术	50	32.3	人参、丁香、白术	33	21.3
丁香、干姜	47	30.3	丁香、肉豆蔻、木香	30	19.4
人参、丁香	46	29.7	丁香、木香、白术	29	18.7
丁香、陈皮	41	26.5	人参、丁香、甘草	28	18.1
肉桂、丁香	40	18.7	丁香、甘草、木香	27	17.4
丁香、砂仁	35	22.6	人参、丁香、木香	26	16.8
人参、白术	34	21.9	丁香、肉豆蔻、白术	25	16.1
肉豆蔻、木香	31	20.0	丁香、肉豆蔻、甘草	25	16.1
厚朴、丁香	31	20.0	丁香、甘草、白术	25	16.1
人参、甘草	30	19.4	人参、甘草、白术	21	13.5
木香、白术	30	19.4	人参、丁香、干姜	21	13.5
甘草、木香	30	19.4	陈皮、丁香、木香	21	13.5
人参、木香	27	17.4	沉香、丁香、木香	20	12.9
甘草、肉豆蔻	27	17.4	人参、木香、白术	20	12.9
丁香、沉香	27	17.4	人参、甘草、木香	20	12.9
甘草、白术	26	16.8	干姜、丁香、白术	20	12.9
肉豆蔻、白术	25	16.1	陈皮、丁香、白术	19	12.3
丁香、胡椒	24	15.5	人参、甘草、肉豆蔻	18	11.6
人参、肉豆蔻	22	14.2	甘草、肉豆蔻、木香	18	11.6
人参、干姜	22	14.2	甘草、木香、白术	18	11.6
陈皮、木香	22	14.2	丁香、肉豆蔻、干姜	18	11.6
沉香、木香	21	13.5	干姜、丁香、木香	18	11.6
干姜、白术	20	12.9	丁香、甘草、干姜	17	11.0
干姜、木香	20	12.9	人参、丁香、陈皮	17	11.0
甘草、陈皮	20	12.9	人参、肉豆蔻、白术	17	11.0
陈皮、白术	20	12.9	白术、丁香、茯苓	16	10.3
丁香、茯苓	19	12.3	人参、肉豆蔻、木香	16	10.3
干姜、肉豆蔻	19	12.3	木香、肉豆蔻、白术	16	10.3
人参、茯苓	19	12.3	厚朴、丁香、肉豆蔻	16	10.3
木香、茯苓	19	12.3	丁香、甘草、陈皮	16	10.3
厚朴、肉豆蔻	19	12.3	陈皮、木香、白术	16	10.3
丁香、诃子	19	12.3	人参、丁香、茯苓	15	9.7
丁香、青皮	19	12.3	丁香、木香、茯苓	15	9.7
甘草、干姜	18	11.6	甘草、肉豆蔻、白术	15	9.7
人参、陈皮	18	11.6	丁香、附子、肉豆蔻	15	9.7
白术、茯苓	17	11.0	丁香、附子、白术	15	9.7
甘草、茯苓	16	10.3	人参、干姜、白术	15	9.7
附子、肉豆蔻	16	10.3			

表3 治疗腹泻的含丁香方剂中药物类别分析

Table 3 Analysis of drug categories in Caryophylli Fols-containing formulas for treatment of diarrhea

类别	中药	频数/次
理气药	丁香、木香、陈皮、沉香、青皮、香附、枳壳、檀香、乌药	331
温里药	干姜、肉桂、附子、高良姜、胡椒、吴茱萸、荜澄茄、荜茇、小茴香	193
化湿药	厚朴、砂仁、白豆蔻、藿香、苍术、草豆蔻、草果	124
补气药	白术、人参、黄芪、山药	110
收敛药	肉豆蔻、诃子、赤石脂	91
补虚药	甘草	57
利水渗湿药	茯苓、车前子	39
活血祛瘀药	莪术、乳香、没药、川芎	27
开窍药	麝香、天然冰片	18
养血药	当归	16
其他药	硫黄、三棱	10
温化寒痰药	半夏	15
解表药	白芷、防风	12
消食药	六曲	11
清热药	黄连	9
驱虫药	槟榔	9
发散风寒药	桂枝	8
泻下药	巴豆	7
平肝息风药	天麻	5
祛风湿药	木瓜	5

2.2 高频核心药物组 在关联规则 Apriori算法中, 筛选符合 support $\geq$ 0.30, confidence $\geq$ 0.90, lift $\geq$ 1.00 的药对为核心药对,见表4,与上述高频药物组合结果一致。《太平惠民和剂局方精要》治脾胃积聚多以肉豆蔻配木香,行温中健脾、行气止痛、涩肠止泻之效<sup>[25]</sup>。《本草求真》<sup>[26]</sup>云:“盖补脾之药不一,白术专补脾阳,生则较熟性更鲜,补不腻滞,能治风寒湿痹,及散腰脐间血,并冲脉为病,逆气里急之功,甘草止缓脾中之气,而不散于上下,俾血可生,燥证全无”。故以紧密联系的五味中药(丁香、木香、甘草、肉豆蔻、白术)重新组合,作为丁香核心药物组,探究其治疗腹泻的机制并开展后续研究。

2.3 成分靶点网络的构建 依据药代动力学参数筛选,核心药物组共涉及中药成分119个,丁香、木香、甘草、肉豆蔻、白术分别有6,6,98,9,6个成分。成分靶点与腹泻靶点取交集得到114个潜在靶点,通过 Cytoscape 3.7.1 软件建立了“腹泻-核心药物组-

表4 治疗腹泻的含丁香方剂中高频核心药对  
Table 4 High frequency core drug pairs in Caryophylli Fols-containing formulas for treatment of diarrhea

No.	关联规则	支持度	置信度
1	木香-丁香	0.39	0.94
2	甘草-丁香	0.34	0.91
3	肉豆蔻-丁香	0.33	0.96
4	白术-丁香	0.30	0.94

成分-靶点”网络图,绿色节点代表疾病(1个),红色节点代表中药(5个),紫色节点代表中药成分(119个),蓝色节点代表映射的潜在靶点(114个),

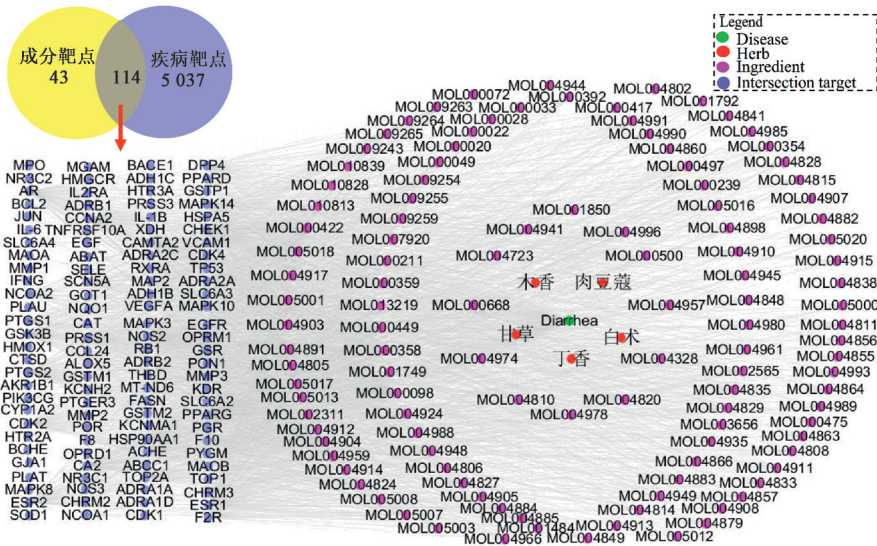


图2 含丁香核心药物组的成分靶点与腹泻靶点网络分析过程

Fig. 2 Analysis process of component target and diarrhea target network of core drug group containing Caryophylli Fols

2.4 PPI网络分析和核心靶点筛选 为进一步探讨潜在靶点在蛋白水平上的作用关系,将STRING 11.0数据库的分析结果导入 Cytoscape 3.7.1软件并利用 Network Analyzer插件对网络图进行拓扑学分析,网络的平均自由度 13.64,网络中心性 0.33,靶点度值中位数 5,大于中位数 2倍的关键靶点信息见表 6。绘制关键靶蛋白 PPI网络,网络图包含 28个关键靶点及 191条作用连线,见图 3,节点越大,靶点度值越大,即这些靶点在治疗腹泻上可能具有强调控性。

2.5 靶点组织分布图的构建与分析 利用 Cytoscape 3.7.1软件构建含丁香核心药物组潜在靶点-组织分布网络图,体现靶点与组织作用的程度,见图 4。采用 Degree Sorted Circle Layout进行排列,得 136个节点 1 093条边,其中圆形节点代表潜在靶点,箭头节点代表靶点分布的组织,箭头颜色越深,靶点在该组织的分布比例越高。结果表明 114个潜

网络共有 239个节点,2 501条边,见图 2。采用 Cytoscape 3.7.1软件中 CytoHubba插件对中药成分节点进行 MCC分析,排名较高成分有丁香与甘草共有成分槲皮素和山柰酚、丁香与肉豆蔻共有成分β-谷甾醇、丁香与木香共有成分豆甾醇,还有没食子酸、异鼠李素及甘草成分中 3'-甲氧基光甘草定等,见表 5;上述成分均涉及多靶点,有广泛的药理活性,其中槲皮素能与 70个潜在关键靶点结合,可对心、肝、脾、肺、肾、神经系统等疾病起一定疗效<sup>[27]</sup>。可预测含丁香核心药物组存在的多种中药成分,作用于生物网络特定的靶点,综合协调起止泻效果。

在靶点分别在神经系统(104个),血(93个),肠(84个),心(83个),肝(81个)中高表达。

2.6 GO和KEGG通路富集结果与分析 利用R语言对含丁香核心药物组治疗腹泻的 114个潜在靶点进行GO注释分析,将条目按P大小进行排序(阈值设定P<0.05),潜在靶点的生物过程(BP),细胞组分(CC)及分子功能(MF)分析的排名前20位分别见图 5~7。潜在靶点富集到 125条信号通路,以条形图展示前 20条通路,见图 8。结果发现核心药物组的潜在关键网络靶标显著富集于炎症、癌症、代谢、细胞周期等相关通路,其中炎症相关通路涉及最多,提示含丁香核心药物组治疗腹泻的机制与炎症反应密切相关。

2.7 网络图可视化分析 运用 Cytoscape 3.7.1软件对核心药物组治疗腹泻的 114个潜在靶点,119个中药成分及前 20条富集通路进行分析,构建网络图,见图 9,由内向外的节点依次代表疾病、中药、中药

表5 含丁香核心药物组治疗腹泻的关键活性成分节点

Table 5 Nodes of key active ingredients in core drug group containing Caryophylli Fols for treatment of diarrhea

排名	成分来源	成分编号	成分名称	分值
1	丁香、甘草	MOL000098	槲皮素 quercetin	72
2	丁香、甘草	MOL000422	山柰酚 kaempferol	44
3	丁香、肉豆蔻	MOL000358	$\beta$ -谷甾醇 $\beta$ -sitosterol	37
4	丁香、木香	MOL000449	豆甾醇 stigmasterol	36
5	肉豆蔻	MOL009255	5-[(2 <i>S</i> ,3 <i>S</i> )-7-methoxy-3-methyl-5-[( <i>E</i> )-prop-1-enyl]-2,3-dihydrobenzofuran-2-yl]-1,3-benzodioxole	35
6	甘草	MOL004996	反式二十碳烯酸 gadelaidic acid	33
7	甘草	MOL002565	美迪紫檀素 medicarpin	32
8	甘草	MOL000354	异鼠李素 isorhamnetin	30
9	甘草	MOL004978	2-[(3 <i>R</i> )-8,8-dimethyl-3,4-dihydro-2H-pyrano[6,5- <i>f</i> ]chromen-3-yl]-5-methoxyphenol	30
10	甘草	MOL004974	3'-甲氧基光甘草定 3'-methoxyglabridin	30
11	甘草	MOL004959	1-甲氧基菜豆素 1-methoxyphaseollidin	30
12	甘草	MOL004891	shinpterocarpin	30
13	甘草	MOL000392	芒柄花黄素 formononetin	29
14	甘草	MOL004966	3'-hydroxy-4'- <i>O</i> -methylglabridin	29
15	甘草	MOL005007	粗毛甘草素 M glyasperins M	29
16	甘草	MOL005003	licoaagrocarpin	28
17	肉豆蔻	MOL009263	saucernetindiol	27
18	甘草	MOL004328	柚皮素 naringenin	27
19	甘草	MOL000497	甘草查尔酮 A licochalcone A	27
20	丁香	MOL013219	strictosamide-qt	26
21	甘草	MOL009243	异愈创木素 isoguaiacin	26

成分、潜在靶点、富集通路,表明核心药物组在治疗腹泻涉及多成分、多靶点、多通路。

**2.8 分子对接** 以PPI网络中degree前五的关键靶点进行分子对接验证,在RCSB PDB数据库下载对接靶蛋白受体——TP53(PDB ID 6IU A),MAPK8(PDB ID 2XRW),JUN(PDB ID 5GJE),IL-6(PDB ID 4O9H)和HSP90AA1(PDB ID 5NJX),与对应的中药成分进行验证,结果TP53与槲皮素的对接分数123.93,MAPK8与山柰酚的对接分数109.47;JUN与 $\beta$ -sitosterol, quercetin, formononetin, 茴香脑(anethole)的对接分数分别为124.99,105.77,97.03,59.48;IL-6与槲皮素的对接分数97.76;HSP90AA1与strictosamide-qt,乙形刺酮素B(sigmoidin B),粗毛甘草素F(glyasperin F),甘草异黄酮(licoisoflavanone), glyasperin B,加尔巴新(galbacin),甘草宁B(gancaonin B),isoguaiacin,3-(3,4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-8-(3-methylbut-2-enyl)chromone,(*E*)-3-[3,4-dihydroxy-5-(3-methylbut-2-enyl)phenyl]-1-(2,4-

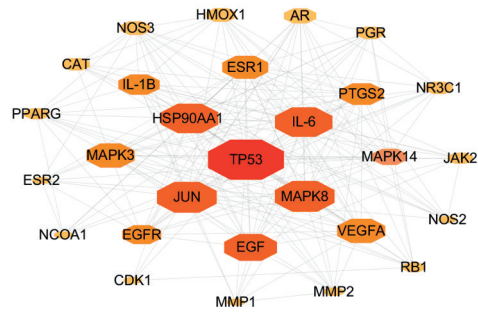
dihydroxyphenyl)prop-2-en-1-one,鳞叶甘草素B(glepidotin B),kaempferol, gancaonin H,(2*S*)-7-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-8-(3-methylbut-2-enyl)chroman-4-one, naringenin, 1,3-dihydroxy-9-methoxy-6-benzofurano[3,2-*c*]chromenone,黄甘草异黄酮A(eurycarpin A),黄羽扇豆魏特酮(lupiwighteone), $\beta$ -sitosterol, gancaonin A,光甘草宁(glabranin),半甘草异黄酮B(semilicoisoflavone B),甘草香豆酮(licocoumarone),1-甲氧基菜豆素(1-methoxyphaseollidin), glepidotin A, tetrahydrofuroguaiacin B,甘草黄酮醇A(glycyrrhiza flavonol A), gancaonin G, saucernetindiol,甘草素(liquiritigenin), (2*R*)-7-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)chroman-4-one,甘草异黄酮(licoisoflavone),甘草芳香豆素(licoaryl coumarin), quercetin, glyasperin C, 2-[(3*R*)-8,8-dimethyl-3,4-dihydro-2H-pyrano[6,5-*f*]chromen-3-yl]-5-methoxyphenol, 驴食草酚(vestitol),芳香膜菊素(odoratin),isorhamnetin,光甘草素(glabrene),毛蕊

表 6 含丁香核心药物组治疗腹泻的关键靶点及拓扑学性质

Table 6 Key targets and topological properties of core drugs containing Caryophylli Fols in treatment of diarrhea

靶点名称	基因名称	度值
肿瘤蛋白 P53(tumor protein P53)	TP53	36
JUN 原癌基因[transcription factor activator protein-1(AP-1)]	JUN	29
丝裂原活化蛋白激酶 8(mitogen-activated protein kinase 8)	MAPK8	29
白细胞介素-6(interleukin-6)	IL-6	28
90 kDa 热休克蛋白 αA1(90 kDa heat shock protein αA1)	HSP90AA1	28
表皮生长因子(epidermal growth factor)	EGF	26
mitogen-activated protein kinase 3	MAPK3	24
血管内皮生长因子 A(vascular endothelial growth factor A)	VEGFA	24
雌激素受体 1(estrogen receptor 1)	ESR1	23
前列腺素内过氧化物合成酶 2(prostaglandin G/H synthase 2)	PTGS2	22
interleukin-1β	IL-1B 或 IL-1β	21
表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor)	EGFR	20
mitogen-activated protein kinase 14	MAPK14	18
雄激素受体(androgen receptor)	AR	17
血红素加氧酶 1(heme oxygenase 1)	HMOX1	16
一氧化氮合酶 3(nitric-oxide synthase 3)	NOS3	16
孕酮受体(progesterone receptor)	PGR	15
过氧化氢酶(catalase)	CAT	15
糖皮质激素受体(glucocorticoid receptor)	NR3C1	15
Janus 蛋白酪氨酸激酶 2(Janus tyrosine-protein kinase 2)	JAK2	14
过氧化物酶体增殖激活受体 γ(peroxisome proliferator activated receptor gamma)	PPARG	14
视网膜母细胞瘤蛋白 1(retinoblastoma associated protein 1)	RB1	13
基质金属蛋白酶 2(matrix metalloproteinase 2)	MMP2	12
matrix metalloproteinase 1	MMP1	11
nitric-oxide synthase 2	NOS2	11
estrogen receptor 2	ESR2	11
核受体辅激活蛋白 1(nuclear receptor coactivator 1)	NCOA1	11
周期蛋白依赖性激酶 1(cyclin-dependent kinase 1)	CDK1	11

异黄酮(calycosin), 刺果甘草查耳酮(glypallichalcone), 光甘草轮(glyzaglabrin), 5-[(2S, 3S)-7-methoxy-3-methyl-5-[(E)-prop-1-enyl]-2, 3-



节点的大小和颜色深浅的趋势表示度值大小

图 3 含丁香核心药物组治疗腹泻关键靶蛋白的 PPI 网络

Fig. 3 PPI network of key target proteins of core drug group containing Caryophylli Fols in treatment of diarrhea

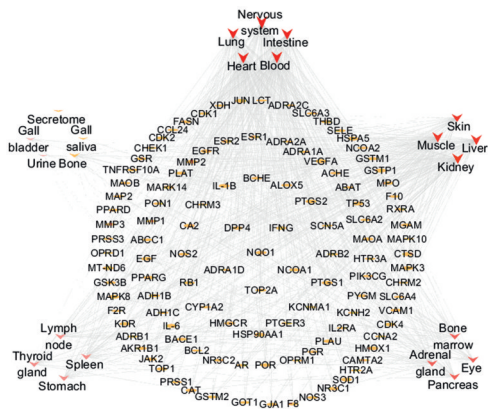


图 4 含丁香核心药物组治疗腹泻的潜在靶点组织分布

Fig. 4 Tissue distribution of potential targets of core drug group containing Caryophylli Fols in treatment of diarrhea

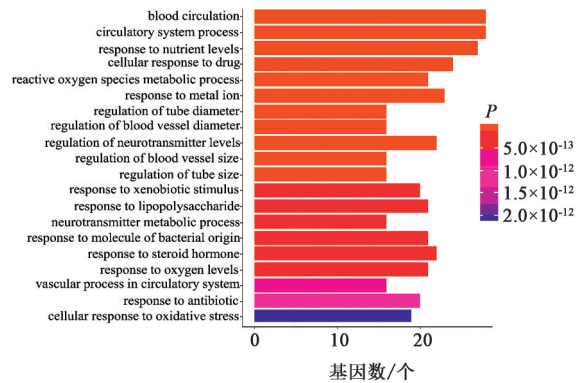


图 5 含丁香核心药物组治疗腹泻潜在靶点的生物过程分析

Fig. 5 BP analysis of potential targets of core drug group containing Caryophylli Fols in treatment of diarrhea

dihydrobenzofuran-2-yl]-1, 3-benzodioxole, dehydroglyasperins C, 马卡因(inermine), formononetin, medicarpin, 7-乙酰氧基-2-甲基异黄酮(7-acetoxy-2-methylisoflavone), 槲皮素-3,3'-二甲醚(querctin-3, 3'-dimethyl ether), 1,3-dihydroxy-8,9-dimethoxy-6-benzofurano[3,2-c]chromenone 的对接分数分别为 111.58, 105.70, 103.37, 98.54, 96.66,

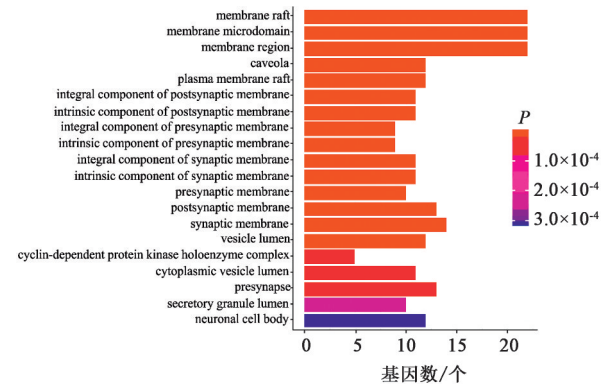


图 6 含丁香核心药物组治疗腹泻潜在靶点的细胞组分分析  
Fig. 6 CC analysis of potential targets of core drug group containing Caryophylli Fols in treatment of diarrhea

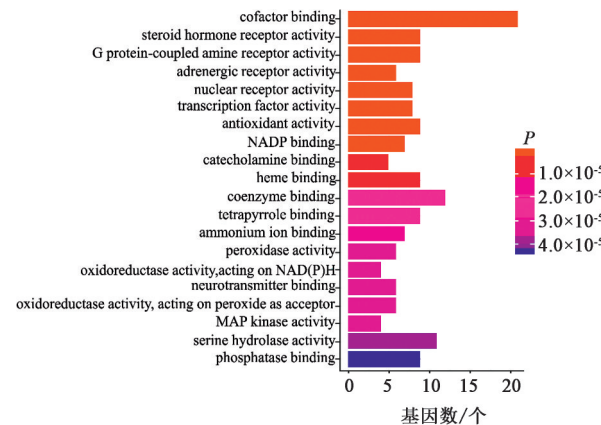


图 7 含丁香核心药物组治疗腹泻潜在靶点的分子功能分析  
Fig. 7 MF analysis of potential targets of core drug group containing Caryophylli Fols in treatment of diarrhea

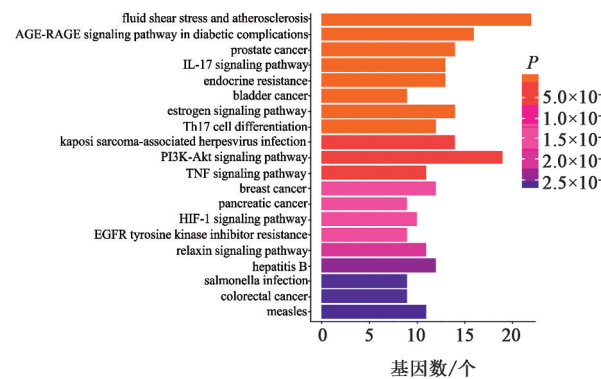


图 8 含丁香核心药物组治疗腹泻潜在靶点的前 20 条 KEGG 信号通路分析  
Fig. 8 First 20 KEGG signal pathways of potential targets of core drug group containing Caryophylli Fols in treatment of diarrhea

95.75, 95.42, 93.98, 93.70, 93.13, 93.06, 92.95, 91.23, 91.16, 90.26, 89.16, 88.04, 87.67, 87.39, 86.87, 86.54, 86.51, 86.18, 85.34, 84.86, 84.59, 84.46, 84.36, 83.55, 83.49, 83.02, 82.78, 82.16, 82.09, 81.84, 81.58, 81.53, 81.49, 81.23, 80.50,

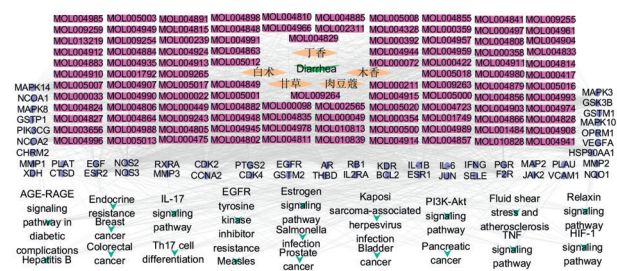


图 9 含丁香核心药物组治疗腹泻的“成分-靶点-通路”网络  
Fig. 9 Component-target-pathway network of core drug group containing Caryophylli Fols in treatment of diarrhea

80.43, 79.39, 77.79, 75.84, 75.58, 75.54, 74.62, 74.09, 74.02, 72.31, 66.04。选择上市的阿莫西林合用克拉维酸作为阳性药,与靶点进行对接,见表 7。结果表明靶蛋白-中药成分的结合活性好,且与阳性药对接值相接近,槲皮素、山柰酚和β-谷甾醇在靶点的映射均有重复且亲和力高,其中 JUN 与β-谷甾醇具有最高的对接分数,对接模型见图 10。

表 7 含丁香核心药物组治疗腹泻的靶蛋白与阳性药对接  
Table 7 Docking between target proteins of core drug group containing Caryophylli Fols in treatment of diarrhea and positive drugs

靶蛋白(受体)	阳性药(配体)	对接分数
TP53	阿莫西林	124.09
	克拉维酸	88.89
MAPK8	阿莫西林	115.48
	克拉维酸	89.76
JUN	阿莫西林	123.58
	克拉维酸	77.53
IL-6	阿莫西林	104.94
	克拉维酸	76.37
HSP90AA1	阿莫西林	90.34
	克拉维酸	73.18

### 3 讨论

腹泻是全球性的健康问题,中医认为腹泻的基本病机为脾虚湿盛;《景岳全书》<sup>[28]</sup>曰:“泄泻之本,无不由于脾胃。”《类证治裁·泄泻》<sup>[29]</sup>云:“濡泄,身重肠鸣,所下多水,脉缓,腹不痛,湿自甚也;”《医宗必读》阐述以“淡渗、升提、清凉、疏利、甘缓、酸收、燥脾、温肾、固涩”作为治疗腹泻的方法<sup>[30]</sup>。现代医学研究表明中药治疗腹泻与调节水电解质平衡、抗炎及干扰激素分泌、修复肠黏膜等相关<sup>[1]</sup>。据文献报道,丁香配伍的贴膏剂对呕吐、腹痛、腹泻、胃肠消化不良等有较好的疗效,其机制与扭转免疫系统-神经递质的失衡有关<sup>[13-14,31]</sup>。



PPI网络图中表明含丁香核心药物组通过TP53, MAPK8, JUN, IL-6和HSP90AA1治疗腹泻的可能性较大。TP53和JUN为重要抑癌基因,是基因靶向治疗癌症的新方向<sup>[8]</sup>。MAPK8可调节自噬,多应用在自身免疫性疾病治疗方面<sup>[46]</sup>。IL-6是机体炎症反应中的主要致病性细胞因子,可刺激趋化因子的产生、聚集,激活肠道黏膜局部免疫反应;其促炎基因相对量表达下调还可纠正肠道菌群失调小鼠腹泻<sup>[47]</sup>。有研究验证HSP90AA1基因上调,降低机体免疫监视和抵御外来物质的能力,涉及DNA自我修复能力<sup>[48]</sup>;当结肠炎小鼠体内自噬相关蛋白1抗体(ATG1/ULK-1), 70 kDa热休克蛋白8(HSPA8),自噬相关蛋白5(ATG5)和HSP90AA1等蛋白表达增加,而蛋白激酶R样内质网激酶(PERK),需肌醇酶-1 $\alpha$ (IRE-1 $\alpha$ ),活化转录因子-6 $\alpha$ (ATF-6 $\alpha$ )蛋白表达下降可缓解结肠炎症<sup>[49]</sup>。综上分析,作用靶点可能通过下调炎症因子活性、抑制肠上皮细胞凋亡维持肠道黏膜屏障完整性从而治疗腹泻<sup>[7-9]</sup>,也间接证明网络药理学是预测药效成分靶点的有力工具。

含丁香核心药物组潜在靶点组织分布结果表明,104个潜在靶点在神经系统中高表达,MF分析显示核心药物组主要涉及G蛋白偶联胺受体活性、类固醇激素受体活性、儿茶酚胺结合等功能;肠内G蛋白偶联胺受体与阿片类药物结合,受体激活,可调节胃肠道的蠕动和分泌<sup>[50]</sup>。近年来研究表明,脑肠互动(brain-gut interaction)<sup>[51]</sup>是腹泻发病的重要机制之一,即脑肠轴功能失衡<sup>[52]</sup>;脑肠肽则在肠道系统和中枢神经系统双向调节中发挥着重要的媒介作用<sup>[34]</sup>,当消化壁内异常分泌的脑肠肽进入周围组织及血液中与不同亚型受体结合,向中枢神经传递伤害信号,诱导肠道分泌功能紊乱以及内脏高灵敏度的发生<sup>[35,53-55]</sup>。同时,靶点多组织分布的特点,体现了机体的整体性,表明核心药物组有治疗腹泻合并其他疾病的潜能。

中药药效的复杂性、机体功能的整体性以及两者产生功效网络的多样性,使深度挖掘中药的临床价值及解释中药药效机制成为中医药走向国际化的必经之路<sup>[56]</sup>。故本文以大数据的抓取为前提,归纳丁香在治疗腹泻方面的配伍用药规律及常用药物组合,依托网络药理学研究策略,整合多种数据库信息并利用分子对接初步验证,阐明含丁香核心药物组治疗腹泻具有多成分、多靶点的机制特点,揭示该核心药物组与炎症-肠黏膜、脑肠互动之

间的联系;但鉴于中药方剂不是一群简单的化学集合体,并且数据挖掘与网络药理学还局限于理论的验证,后期还需对上述提及的潜在药效成分、作用靶点、作用机制进行实验验证。

#### [参考文献]

- [1] 陈影,李硕,苏萍,等. 中药抗腹泻的药效作用及机制研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(21): 203-211.
- [2] GBD 2016 Diarrhoeal Disease Collaborators. Estimates of the global, regional, and national morbidity, mortality, and aetiologies of diarrhoea in 195 countries: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016[J]. Lancet Infect Dis, 2018, 18(11): 1211-1228.
- [3] KEDDY K H. Old and new challenges related to global burden of diarrhoea [J]. Lancet Infect Dis, 2018, 18(11): 1163-1164.
- [4] CAMILLERI M, SELLIN J H, BARRETT K E. Pathophysiology, evaluation, and management of chronic watery diarrhea [J]. Gastroenterology, 2017, 152(3): 515-532.
- [5] THIAGARAJAH J R, DONOWITZ M, VERKMAN A S. Secretory diarrhoea: mechanisms and emerging therapies [J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2015, 12(8): 446-457.
- [6] ZHOU Q H, HUANG Y Q, ZHU Z Y, et al. Tong-Xie-Yao-Fang improves intestinal permeability in diarrhoea-predominant irritable bowel syndrome rats by inhibiting the NF- $\kappa$ B and notch signalling pathways [J]. BMC Complement Altern Med, 2019, 19(1): 337.
- [7] 袁榴翼,李小锦,尹清晟,等. 中药干预肠道菌群改善肠黏膜屏障功能的研究进展[J]. 中草药, 2018, 49(8): 1932-1938.
- [8] 刘佳星,王彦礼,李彧,等. 四神丸对腹泻型肠易激综合征大鼠肠道菌群影响的实验研究[J]. 药学报, 2019, 54(4): 670-677.
- [9] LI Q, ZHANG B P, HUANG S G, et al. Efficacy and indication optimization of Chinese medicine (Tiao-Chang Ke-Min granules) for diarrhea-predominant irritable bowel syndrome: study protocol for a randomized controlled trial [J]. Trials, 2018, 19(1): 367.
- [10] 陈畅,马兴,满国峰,等. 组合药物——现代药物研发的新趋势[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(14): 310-312.
- [11] 李时珍. 本草纲目[M]. 南昌: 二十一世纪出版社, 2014: 343.

- [12] 《全国中草药汇编》编写组. 全国中草药汇编[M]. 北京:人民卫生出版社,1976:58.
- [13] 美丽,朱懿敏,罗晶,等. 丁香化学成分、药效及临床应用研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2019,25(15):222-227.
- [14] 郭永红. 复方丁香开胃贴临床应用研究进展[J]. 世界最新医学信息文摘,2017,17(95):61-62.
- [15] 黄美雯,杨华杰,周晓春,等. 网络药理学在民族药研究中的应用与展望[J]. 中国中药杂志,2019,44(15):3187-3194.
- [16] 王梁凤,张小飞,李慧婷,等. 基于数据挖掘的芳香类中药治疗便秘高频次使用药对“陈皮-木香”网络药理学研究[J]. 中国中药杂志,2020,45(9):2103-2114.
- [17] 张艳,吴玉全. 基于Python的网络数据爬虫程序设计[J]. 电脑编程技巧与维护,2020,27(4):26-27.
- [18] 周荣荣,张萌,朱彦,等. 含党参方剂的数据挖掘及防治胃肠道疾病的分子机制[J]. 药学学报,2018,53(9):1422-1428.
- [19] 胡晓茹,郑海荣,党海霞,等. 基于网络药理学的红花注射液用红花药材质量控制方法研究[J]. 药学学报,2019,54(11):2074-2082.
- [20] 王梁凤,柳小莉,李慧婷,等. 基于网络药理学的枳实挥发油治疗慢性传输型便秘的机制研究[J]. 中国中药杂志,2020,45(8):1909-1917.
- [21] YU G C, WANG L G, HAN Y Y, et al. clusterProfiler: an R package for comparing biological themes among gene clusters[J]. OMICS,2012,16(5):284-287.
- [22] 刘皈阳,于锋英,陈超,等. 阿莫西林与阿莫西林-克拉维酸钾不良反应的对比研究[J]. 药物不良反应杂志,2010,12(6):397-400.
- [23] 高学敏. 中药学[M]. 北京:中国中医药出版社,2017:1-547.
- [24] 孙梅,闵丽,孙瑶,等. 基于数据挖掘的6种疼痛病方剂用药规律比较研究[J]. 中国中药杂志,2019,44(8):1682-1688.
- [25] 柴金苗,张东波. 太平惠民和剂局方精要[M]. 贵阳:贵州科学技术出版社,2017:73.
- [26] 黄宫绣. 本草求真[M]. 北京:中国中医药出版社,1997:6.
- [27] 马纳,李亚静,范吉平. 槲皮素药理作用研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报,2018,20(8):221-224.
- [28] 张景岳. 景岳全书[M]. 太原:山西科学技术出版社,2010:416.
- [29] 林佩琴. 类证治裁[M]. 北京:人民卫生出版社,2005:265-266.
- [30] 王帅,陈諳. 读《医宗必读》学习李中梓治泄九法[J]. 北京中医药,2011,30(1):30-31.
- [31] 朱金段,袁德俊,林新颖. 丁香的药理研究现状及临床应用[J]. 中国药物经济学,2013,8(1):32-35.
- [32] 张强,刘秀峰. 益黄散中丁香与木香应用考证[J]. 河南中医,2020,40(1):130-133.
- [33] 陈春宇,董汉玉,纪瑞锋,等. 基于中医药理论的芳香类中药防治新型冠状病毒肺炎(COVID-19)的作用探讨[J]. 中草药,2020,51(11):3051-3061.
- [34] 陈旻丹,胡京红,马捷,等. 脾虚四号方含药血清对功能性腹泻脾虚证大鼠离体结肠平滑肌细胞的影响[J]. 北京中医药大学学报,2017,40(4):297-301.
- [35] 吴皓萌,敖海清,黄绍刚,等. 疏肝健脾方干预腹泻型肠易激综合征内脏高敏感性大鼠的效应机制[J]. 中华中医药杂志,2018,33(1):317-320.
- [36] DIBAZAR S P, FATEH S, DANESHMAND S. Clove (*Syzygium aromaticum*) ingredients affect lymphocyte subtypes expansion and cytokine profile responses: an *in vitro* evaluation[J]. J Food Drug Anal,2014,22(4):448-454.
- [37] 陈光,刘超,何浩强,等. 含三七中成药用药规律研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(7):191-197.
- [38] 郭军雄,马丽,康万荣,等. 痛泻要方对肝郁脾虚型D-IBS大鼠结肠组织p38 MAPK信号通路相关蛋白及其靶基因表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2020,26(4):1-8.
- [39] 谢朝辉. IL-17A在结肠炎相关结肠癌变中的作用与机制研究[D]. 石家庄:河北医科大学,2016.
- [40] DONG Y L, DUAN X Y, LIU Y J, et al. Autotaxin-lysophosphatidic acid axis blockade improves inflammation by regulating Th17 cell differentiation in DSS-induced chronic colitis mice [J]. Inflammation,2019,42(5):1530-1541.
- [41] LIU J, NICUM S, REICHARDT P, et al. Assessment and management of diarrhea following VEGF receptor TKI treatment in patients with ovarian cancer [J]. Gynecol Oncol,2018,150(1):173-179.
- [42] YANG K M, JIANG Z Y, ZHENG C T, et al. Effect of *Lactobacillus plantarum* on diarrhea and intestinal barrier function of young piglets challenged with enterotoxigenic *Escherichia coli* K88 [J]. J Anim Sci,2014,92(4):1496-1503.
- [43] HIRUDKAR J R, PARMAR K M, PRASAD R S, et al. Quercetin a major biomarker of *Psidium guajava* L. inhibits SepA protease activity of *Shigella flexneri* in treatment of infectious diarrhoea [J]. Microb Pathog,2020,138:103807.
- [44] XIN L, CHEN H, CHENG L S, et al. Formononetin, J1 and J2 have different effects on endothelial cells via EWSAT1-TRAF6 and its downstream pathway [J]. J Cell Mol Med,2020,24(1):875-885.

- [45] MEHMOOD M H, ANILA N, BEGUM S, et al. Pharmacological basis for the medicinal use of *Carissa carandas* in constipation and diarrhea [J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 153(2):359-367.
- [46] CHOI S H, GONEN A, DIEHL J D, et al. SYK regulates macrophage MHC- II expression via activation of autophagy in response to oxidized LDL [J]. *Autophagy*, 2015, 11(5):785-795.
- [47] 孙必强,周英,刘卫东,等. 不同剂型七味白术散对肠道菌群失调小鼠肠黏膜和血清 TNF- $\alpha$ , IL-6 的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2016, 22(4):95-100.
- [48] XIANG X, YOU X M, LI L Q. Expression of HSP90AA1/HSPA8 in hepatocellular carcinoma patients with depression [J]. *Onco Targets Ther*, 2018, 11:3013-3023.
- [49] KÖKTEN T, GIBOT S, LEPAGE P, et al. TREM-1 inhibition restores impaired autophagy activity and reduces colitis in mice [J]. *J Crohns Colitis*, 2018, 12(2):230-244.
- [50] 赵丹,许娜,李鹏,等. 基于脑肠轴作用探讨针灸治疗海洛因稽延性戒断症状的思路 [J]. *针灸临床杂志*, 2019, 35(10):6-10.
- [51] LUDMILA F, TATIANA B. The realization of the brain-gut interactions with corticotropin-releasing factor and glucocorticoids [J]. *Curr Neuropharmacol*, 2016, 14(8):876-881.
- [52] CHUN E, YOON S, PARVEEN A, et al. Alleviation of irritable bowel syndrome-like symptoms and control of gut and brain responses with oral administration of *Dolichos lablab* L. in a mouse model [J]. *Nutrients*, 2018, 10(10):1475.
- [53] 何力,杨力,凌志维,等. 基于脑肠交互机制探讨肠道微生物调节 IBS-D 内脏高敏的研究进展 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2019, 25(11):224-229.
- [54] 梁瑞峰,葛文静,王慧森,等. 痛泻要方加减引经药防风对肠易激综合征大鼠内脏敏感性及脑肠轴不同靶点脑肠肽的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 24(2):152-157.
- [55] 宋亚刚,白明,方晓艳,等. 基于“神经-内分泌-免疫网络”中药外治机制探讨 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2019, 25(7):220-227.
- [56] 任建勋,郭浩,李磊,等. 以功效为基础的中药复方毒性研究思路与方法探索 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2017, 23(4):203-207.

[责任编辑 刘德文]