

【实验研究】

基于网络药理学与分子对接的化肝煎对失眠、慢性萎缩性胃炎和胃食管反流病“异病同治”作用机制探讨

邓雅凤¹, 王洋洋¹, 鱼涛^{2*}

1. 陕西中医药大学, 陕西 咸阳 712046

2. 陕西省中医医院脾胃病一科, 陕西 西安 710003

摘要: 目的 以中医“异病同治”理论为依据, 采用网络药理学与分子对接方法探讨化肝煎“异病同治”失眠、慢性萎缩性胃炎和胃食管反流病的作用靶点及可能作用机制。方法 通过中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP)等中药化合物数据库结合文献挖掘获取化肝煎的化学成分和作用靶点; 结合GeneCards、OMIM、PharmGKB、DRUGBANK、TTD数据库获取化肝煎治疗失眠、慢性萎缩性胃炎和胃食管反流病的作用靶点。采用Cytoscape软件绘制化肝煎中药-成分-靶点网络, 利用Venny软件得出相关交集基因。基于Cytoscape软件绘制化肝煎-成分-靶点可视化网络图, 借助STRING数据库及Cytoscape软件构建蛋白质相互作用(PPI)网络, 分析获得核心作用靶点。采用Metascape平台工具对其进行基因本体论(GO)注释及京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析。使用AutodockTools软件对化肝煎主要活性成分与疾病作用靶点进行分子对接。结果 筛选得到化肝煎化学成分56个, 疾病靶点: 失眠438个, 慢性萎缩性胃炎868个, 胃食管反流病4252个, 以及20个药物成分和疾病共同靶点。PPI网络中关键蛋白排名靠前的靶点为IL6、NCF1、PTGS2、CRP、MPO、PPARG、TNF等。获得GO富集分析结果排名靠前的有452种生物过程(BP)、19种分子功能(MF)、6种细胞组分(CC), KEGG信号通路主要有6条信号通路。分子对接结果显示关键成分与对应靶点具有较好的结合活性。结论 化肝煎治疗失眠、慢性萎缩性胃炎和胃食管反流病可能涉及TNF、IL6、PTGS2、PPARG、CRP等为代表的核心靶点, 其实现异病同治的作用可能与脂质信号通路调控炎症、细胞因子反应等有关。

关键词: 化肝煎; 失眠; 慢性萎缩性胃炎; 胃食管反流病; 异病同治; 网络药理学

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2022)11-2176-12

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2022.11.003

Mechanism of Hua-Gan Decoction in treating insomnia, chronic atrophic gastritis and gastroesophageal reflux disease based on network pharmacology and molecular docking

DENG Yafeng¹, WANG Yangyang¹, YU Tao²

1. Shaanxi University of Traditional Chinese Medicine, Xianyang 712046, China

2. The First Department of Gastroenterology, Shaanxi Provincial Hospital of Chinese Medicine, Xi'an 710003, China

Abstract: Objective Based on the theory of "treating the different diseases with the same therapy" in traditional Chinese medicine, network pharmacology and molecular docking method were used to explore the target and possible mechanism of Hua-Gan Decoction (HGD) "treating the different diseases with the same therapy" in insomnia, chronic atrophic gastritis and gastroesophageal reflux disease. **Methods** The chemical constituents and action targets of HGD were obtained by TCMSP and literature mining. Combined with GeneCards, OMIM, PharmGKB, DRUGBANK and TTD database, the therapeutic targets of HGD for insomnia, chronic atrophic gastritis and gastroesophageal reflux disease were obtained. Cytoscape software was used to draw the "TCM-component-target" network of gain, and the related intersection genes were obtained by Venny software. Based on Cytoscape software, a visual network map of "HGD-component-target" was drawn, and a PPI network was constructed with the help of

收稿日期: 2022-05-13

基金项目: 国家重点研发计划项目(2017YFC1700601);“十三五”国家重点研发计划中医药现代化研究专项(2017YFC1703703);陕西省特支计划科技创新领军人才项目(646)

第一作者: 邓雅凤(1995—)女,在读硕士研究生,研究方向为中医内科学。E-mail: 18900931426@163.com

*通信作者: 鱼涛(1971—)男,硕士生导师,主任医师,研究方向为中医临床研究。E-mail: yt0745@163.com

STRING database and Cytoscape software to analyze and obtain the core targets. The Metascape platform tool was used for GO enrichment analysis and KEGG pathway analysis. AutodockTools were used to conduct molecular docking between the main active ingredients of HGD and the disease targets. **Results** A total of 56 chemical components of HGD, 438 disease targets of insomnia, 868 chronic atrophic gastritis, 4 252 gastroesophageal reflux disease and 20 common targets of drug components and diseases were screened. The top targets of key proteins in PPI network were IL6, NCF1, PTGS2, CRP, MPO, PPARG, TNF, etc. GO enrichment analysis results were obtained for 452 biological processes, 19 molecular functions and six cellular components, and KEGG signaling pathways mainly included six signaling pathways. The molecular docking results showed that the key components had good binding activity with corresponding targets. **Conclusion** HGD may involve the core targets represented by TNF, IL6, PTGS2, PPARG and CRP in the treatment of insomnia, chronic atrophic gastritis and gastroesophageal reflux disease, and its effect on the simultaneous treatment of different diseases may be related to the regulation of lipid signaling pathway in inflammation and cytokine response.

Key words: Hua-Gan Decoction; insomnia; chronic atrophic gastritis; gastroesophageal reflux disease; treating the different diseases with the same therapy; network pharmacology

失眠通常指患者睡眠时间和(或)质量低下并影响正常学习、工作和生活的1种主观体验^[1],长期睡眠障碍^[2]会对人们身心健康造成严重影响。慢性萎缩性胃炎^[3]是炎症过程的结果,最终导致适当的黏膜腺体丧失。胃食管反流病^[4]是指胃内容物反流入食管而引起不适症状和(或)并发症的1组疾病,包括食管内和食管外两类综合征,其出现的典型症状主要有烧心、反流等。失眠、慢性萎缩性胃炎和胃食管反流病作为临床常见疾病严重影响人们身心健康,加重经济负担。因此找到一种更为有效的治疗或缓解方法是当下研究的重点。

“异病同治”作为中医治病的重要法则,在临床实践中具有十分重要的指导意义。虽然失眠、慢性萎缩性胃炎和胃食管反流病为3种不同疾病,但其病机却有相似之处。中医认为“肝郁化火,扰乱心神,神不安则不寐”为失眠的重要病机,如《素问·刺热论》:“肝热病者……不得安卧”。慢性萎缩性胃炎属于“痞满”“胃痞”“嘈杂”“胃痛”等范畴,以肝胃郁热证最为常见,情志不畅、饮食不节等致肝气郁结化火,肝火犯胃,胃络失于濡养而成此病^[5]。肝失疏泄,气机郁滞,横逆犯胃,肝胃不和,日久郁而化火出现反酸、烧心的胃食管反流病症状,《素问·至真要大论》曰:“诸呕吐酸,暴注下迫,皆属于热”。故治疗应以疏肝解郁、清热导滞、和胃降逆为原则^[6]。由此可见,这3种疾病均与肝郁化热的病机有关,但目前尚未见对这3种疾病的共同发病机制以及药物“异病同治”的作用机制的研究报道。

化肝煎出自《景岳全书》,由青皮、陈皮、梔子、牡丹皮、泽泻、白芍、土贝母7味中药组成,可疏肝畅达清热,为治肝郁化火之证的代表方^[7]。临床主治肝郁化火而致胃痛、反酸、恶心呕吐、烦热、胁痛、舌苔发黄者。现代药理实验和临床研究表明,化肝煎

在治疗中枢神经系统(如失眠)、消化系统(如慢性萎缩性胃炎和胃食管反流病)、内科其他疾病方面均有确切的疗效^[8-9],体现了该方“异病同治”的特点。

本研究应用网络药理学方法研究失眠、慢性萎缩性胃炎和胃食管反流病3种疾病的发病机制,以及化肝煎“异病同治”的作用机制,并对其关键活性成分与对应靶点进行分子对接验证,为进一步探索其临床应用提供新的思路和依据。

1 材料与方法

1.1 化肝煎化学成分与靶点的收集与筛选

利用中药系统药理学数据库和分析平台(TCMSP, <http://tcmspw.com/tcmsp.php>),以“陈皮”“青皮”“白芍”“泽泻”“土贝母”“梔子”“牡丹皮”为关键词检索化肝煎中药物有效化学成分,设置筛选标准口服利用度(OB)≥30%和类药性(DL)≥0.18的化学成分作为有效成分,并查阅相关文献补充有效的化学成分。将检索到的有效成分输入TCMSP平台得到有效成分的预测蛋白靶点,将整理搜集到的靶点导入UniProt数据库(<http://www.uniprot.org/>)对搜集筛选得到的靶点蛋白与基因进行筛选和校正,选择物种为“human”,剔除非人源靶点,并将所有的基因校正为其官方名称(official gene symbol)。

1.2 化肝煎治疗失眠、慢性萎缩性胃炎和胃食管反流病作用靶点的获取

分别以“insomnia”“chronic atrophic gastritis”“gastroesophageal reflux disease”为关键词,运用 Gene Cards 数据库(<https://www.genecards.org/>)、OMIM 数据库(<https://www.omim.org/>)、PharmGKB 数据库(<https://www.pharmgkb.org/>)等,对3种疾病靶点依次进行检索,与化肝煎成分靶点

映射筛选出共同靶点。最后4者取交集得到化肝煎治疗3种疾病的共同靶点,在UniProt数据库中对其靶点基因名矫正为官方名称(office gene symbol),以便进行后续分析。

1.3 中药-成分-靶点网络构建

将化肝煎7味中药、主要的有效成分以及作用靶点信息导入Cytoscape 3.9.0(<https://cytoscape.org/download.html>)构建化肝煎中药-成分-靶点可视化网络图,网络图中节点(node)代表化肝煎中活性成分和作用靶点,边(edge)表示活性成分和作用靶点的相互作用关系。根据网络图节点的拓扑性参数,以度(degree)值 ≥ 5 倍中位数为筛选药物关键成分条件,此类数值越大,成为化肝煎“异病同治”的潜在活性成分的可能性越大。再运用Venny 2.1.0获取化肝煎有效成分靶点、失眠、慢性萎缩性胃炎、胃食管反流病靶点4者的共有基因。

1.4 蛋白质相互作用(PPI)网络构建

将“1.3”项得到的4者共有靶点导入STRING(<https://www.string-db.org/>, version 11.5)数据库,构建PPI网络,筛选关键靶点。将该网络导入Cytoscape 3.9.0,利用Cytoscape 3.9.0软件的CytoHubba插件对该网络进行相关核心蛋白筛选,根据筛选结果重新构建PPI网络。

1.5 基因本体论(GO)注释及京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析

将化肝煎治疗失眠、慢性萎缩性胃炎和胃食管反流病的关键共有靶点导入Metascape(<http://metascape.org/>)数据库,限定物种为人,对化肝煎的直接作用靶点进行GO富集分析和KEGG通路富集。设定阈值 $P < 0.01$,并根据 P 值的排序,筛选排名靠前的生物过程(BP)或通路。其中,GO富集包

括BP、分子功能(MF)和细胞成分(CC)。

1.6 分子对接

将PPI网络中得到的关键活性成分与靶点进行分子对接验证。在PubChem数据库查找活性成分并保存为mol2格式,准备对接。在PDB数据库(<http://www.rcsb.org/>)中找到蛋白质受体结构,下载为靶蛋白PDB格式文件,借助AutodockTools软件对其进行去水、加氢等处理,用Autogrid计算能量,采用拉马克遗传算法(LGA)进行对接运算,用自由能评价方法评价各化合物与蛋白之间结合,若结合能 < 0 ,表明配体分子能与和受体蛋白自发地结合;结合能 $< -16.74 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$,表明其结合良好。

2 结果

2.1 化肝煎化学成分的筛选以及活性靶点预测

通过TCMSP数据库对化肝煎中7味中药以 $\text{OB} \geq 30\%$ 和 $\text{DL} \geq 0.18$ 为标准筛选活性成分,剔除重复及没有靶点的成分,最终得到56个活性成分,见表1。主要化合物有枸橼酸、诺比列汀、柚皮素、山柰酚、谷甾醇等。筛选出几个药物的共有化学成分,陈皮、青皮共有成分为诺比列汀、柚皮素;牡丹皮、栀子共有成分槲皮素;白芍、栀子、牡丹皮共有成分山柰酚;白芍、土贝母、栀子共有成分 β -谷甾醇;白芍、牡丹皮共有成分白桦脂酸、儿茶素、芍药苷;陈皮、白芍、土贝母、泽泻、牡丹皮共有成分谷甾醇。分别预测出各药物所有成分靶标,并在UniProt数据库选择物种为人类,并已验证校对基因名,排除不符合条件的靶标,删除重复值后,最终得到药物成分相关靶点319个。将化肝煎中药活性成分及对应靶点导入Cytoscape 3.9.0软件进行可视化分析,得到化肝煎中药-成分-靶点网络,该网络共包括379个节点,1590条边,见图1。

表1 化肝煎化合物基本信息

Table 1 Basic information of compounds in HGD

MOL ID	成分中文名称	成分英文名称	OB/%	DL	药材
MOL005815	枸橼酸	citromitin	86.90	0.51	陈皮
MOL005100	橙皮素	5,7-dihydroxy-2-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl)chroman-4-one	47.73	0.27	陈皮
MOL001798	新橙皮苷	neohesperidin_qt	71.16	0.25	青皮
MOL005828	诺比列汀	nobiletin	61.66	0.51	青皮、陈皮
MOL004328	柚皮素	naringenin	59.29	0.21	青皮、陈皮
MOL001925	芍药苷	paeoniflorin_qt	68.17	0.39	白芍、牡丹皮
MOL001928	芍药内酯苷	albiflorin_qt	66.64	0.32	白芍
MOL000492	儿茶素	(+)-catechin	54.82	0.77	白芍、牡丹皮

续表1

MOL ID	成分中文名称	成分英文名称	OB/%	DL	药材
MOL001921	乳氟素	lactiflorin	43.55	0.78	白芍
MOL001910	11 α , 12 α -环氧树脂-3 β -23-二羟基-30-诺罗兰-20-蒽-28, 12 β -内酯	11 α , 12 α -epoxy-3 β -23-dihydroxy-30-norolean-20-en-28, 12 β -olide	64.77	0.32	白芍
MOL001919	(3 <i>S</i> , 5 <i>R</i> , 8 <i>R</i> , 9 <i>R</i> , 10 <i>S</i> , 14 <i>S</i>)-3, 17-二羟基-4, 4, 8, 10, 14-五甲基-2, 3, 5, 6, 7, 9-六氢-1H-环戊二烯[a]菲-15, 16-二酮	(3 <i>S</i> , 5 <i>R</i> , 8 <i>R</i> , 9 <i>R</i> , 10 <i>S</i> , 14 <i>S</i>)-3, 17-dihydroxy-4, 4, 8, 10, 14-pentamethyl-2, 3, 5, 6, 7, 9-hexahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthrene-15, 16-dione	41.88	0.79	白芍
MOL001924	芍药苷	paeoniflorin	49.12	0.24	白芍
MOL000211	白桦脂酸	mairin	55.37	0.37	白芍、牡丹皮
MOL010329	7 β , 20, 26-三羟基-8-甲酰-20(<i>S</i>)-24 <i>E</i> -达马拉贡烯-3- <i>O</i> - α -L-(3'-乙酰基)-阿拉伯吡喃糖-(1-2)- β -D-吡喃葡萄糖苷	7 β , 20, 26-trihydroxy-8-formyl-20(<i>S</i>)-24 <i>E</i> -dammaragonene-3- <i>O</i> - α -L-(3'-acetyl)-arabinopyranose-(1-2)- β -D-glucopyranoside	65.05	0.18	土贝母
MOL010327	7 β , 20, 26-三羟基-20(<i>S</i>)-24 <i>E</i> -达马拉贡烯-3- <i>O</i> - α -L-(4'-乙酰基)-阿拉伯吡喃糖-(1-2)- β -D-吡喃葡萄糖苷	7 β , 20, 26-trihydroxy-20(<i>S</i>)-24 <i>E</i> -dammaragonene-3- <i>O</i> - α -L-(4'-acetyl)-arabinopyranose-(1-2)- β -D-glucopyranoside	64.71	0.18	土贝母
MOL010310	7 β , 18, 20, 26-四羟基-20(<i>S</i>)-24 <i>E</i> -达马拉贡烯-3- <i>O</i> - α -L-(3'-乙酰基)-阿拉伯吡喃糖-(1-2)- β -D-吡喃葡萄糖苷	7 β , 18, 20, 26-Tetrahydroxy-20(<i>S</i>)-24 <i>E</i> -dammaragonene-3- <i>O</i> - α -L-(3'-acetyl)-arabinopyranose-(1-2)- β -D-glucopyranoside	53.57	0.18	土贝母
MOL010321	7 β , 18, 20, 26-四羟基-20(<i>S</i>)-24 <i>E</i> -达马拉贡烯-3- α -L-(4'-乙酰基)- <i>O</i> -阿拉伯吡喃糖-(1-2)- β -D-吡喃葡萄糖苷	7 β , 18, 20, 26-Tetrahydroxy-20(<i>S</i>)-24 <i>E</i> -dammaragonene-3- <i>O</i> - α -L-(4'-acetyl)-arabinopyranose-(1-2)- β -D-glucopyranoside	53.18	0.20	土贝母
MOL010318	Δ^7 , 2, 2, 2, 5-豆甾三烯-3-醇	Δ^7 , 22, 25-triene-3-ol	46.67	0.76	土贝母
MOL010316	Δ^7 , 16, 25, 26-豆三烯酚	Δ^7 , 16, 25, 26-stigmastatrienol	46.21	0.76	土贝母
MOL010319	Δ^7 , 22, 25-豆三烯酚-3- <i>O</i> -十九酸	Δ^7 , 22, 25-stigmastatrienol-3- <i>O</i> -nonadecanoate	40.82	0.32	土贝母
MOL010326	7 β , 20, 26-三羟基-20(<i>S</i>)-24 <i>E</i> -达马拉贡烯-3- <i>O</i> - α -L-(3'-乙酰基)-阿拉伯吡喃糖-(1-2)- β -D-吡喃葡萄糖苷	7 β , 20, 26-trihydroxy-20(<i>S</i>)-24 <i>E</i> -dammaragonene-3- <i>O</i> - α -L-(3'-acetyl)-arabinopyranose-(1-2)- β -D-glucopyranoside	40.71	0.19	土贝母
MOL010325	7 β , 20, 26-三羟基-20(<i>S</i>)-24 <i>E</i> -达马拉贡烯-3- <i>O</i> - α -L-阿拉伯吡喃糖-(1-2)- β -D-(6'-乙酰基)-吡喃葡萄糖苷	7 β , 20, 26-trihydroxy-20(<i>S</i>)-24 <i>E</i> -dammaragonene-3- <i>O</i> - α -L-arabinopyranose-(1-2)- β -D-(6'-acetyl)-glucopyranoside	39.48	0.19	土贝母
MOL000358	β -谷甾醇	beta-sitosterol	36.91	0.75	土贝母、白芍、栀子
MOL000359	谷甾醇	sitosterol	36.91	0.75	土贝母、陈皮、白芍、泽泻、牡丹皮
MOL010334	土贝母皂苷IV	tubeimoside IV	31.70	0.23	土贝母
MOL010315	β -谷甾醇棕榈酸酯	beta-sitosterol palmitate	30.91	0.41	土贝母
MOL002464	1-单油醇	1-monolinolein	37.18	0.30	泽泻
MOL000359	谷甾醇	sitosterol	36.91	0.75	泽泻
MOL000853	泽泻醇B	alisol B	36.76	0.82	泽泻
MOL000831	泽泻醇B乙酸酯	alisol B monoacetate	35.58	0.81	泽泻

续表1

MOL ID	成分中文名称	成分英文名称	OB/%	DL	药材
MOL000862	[(1S,3R)-1-[(2R)-3,3-二甲基环氧乙烷-2基]-3-[(5R,8S,9S,10S,11S,14R)-11-羟基-4,4,8,10,14-五甲基-3-氧代-1,2,5,6,7,9,11,12,15,16-十氢环戊烷[a]菲-17-伊[丁基]乙酸酯	[(1S,3R)-1-[(2R)-3,3-dimethyloxiran-2-yl]-3-[(5R,8S,9S,10S,11S,14R)-11-hydroxy-4,4,8,10,14-pentamethyl-3-oxo-1,2,5,6,7,9,11,12,15,16-decahydrocyclopenta[a]phenanthren-17-yl]butyl] acetate	35.57	0.80	泽泻
MOL000830	泽泻醇B	alisol B	34.47	0.81	泽泻
MOL000856	泽泻醇C乙酸酯	alisol C monoacetate	33.06	0.82	泽泻
MOL000854	泽泻醇C	alisol C	32.70	0.81	泽泻
MOL000832	23-乙酰泽泻醇B	alisol, b, 23-acetate	32.51	0.81	泽泻
MOL000849	16β-甲氧基泽泻醇B单乙酸酯	16β-methoxyalisol B monoacetate	32.42	0.76	泽泻
MOL004561	苏丹III	sudan III	84.06	0.59	栀子
MOL007245	异山柰素	3-methylkempferol	60.16	0.26	栀子
MOL003095	5-羟基-7-甲氧基-2-(3,4,5-三甲氧基苯基)色酮	5-hydroxy-7-methoxy-2-(3,4,5-trimethoxyphenyl)chromone	51.95	0.40	栀子
MOL000098	槲皮素	quercetin	46.43	0.27	栀子、牡丹皮、白芍
MOL009038	京尼平龙胆双糖苷	GBGB	45.57	0.82	栀子
MOL001942	异欧前胡素	isoimperatorin	45.46	0.22	栀子
MOL000449	豆甾醇	stigmasterol	43.82	0.75	栀子
MOL001494	甘露醇	mandenol	41.99	0.19	栀子
MOL000422	山柰酚	kaempferol	41.88	0.24	栀子、牡丹皮、白芍
MOL000358	β-谷甾醇	beta-sitosterol	36.91	0.75	栀子
MOL001406	藏红花素	crocin	35.29	0.25	栀子
MOL001941	氨酰胺	ammidin	34.54	0.22	栀子
MOL001506	角鲨烯	supraene	33.54	0.42	栀子
MOL002883	油酸乙酯(NF)	ethyl oleate (NF)	32.39	0.19	栀子
MOL001663	(4aS,6aR,6aS,6bR,8aR,10R,12aR,14bS)-10-羟基-2,2,6a,6b,9,9,12a-七甲基-1,3,4,5,6,6a,7,8,8a,10,11,12,13,14b-十四氢蒎烯-4a-羧酸	(4aS,6aR,6aS,6bR,8aR,10R,12aR,14bS)-10-hydroxy-2,2,6a,6b,9,9,12a-heptamethyl-1,3,4,5,6,6a,7,8,8a,10,11,12,13,14b-tetradecahydronicene-4a-carboxylic acid	32.02	0.75	栀子
MOL007369	4-O-甲基芍药苷	4-O-methylpaeoniflorin_qt	67.23	0.42	牡丹皮
MOL007384	芍药素	paeonidanin_qt	65.31	0.34	牡丹皮
MOL007374	5-[[5-(4-甲氧基苯基)-2-呋喃基]亚甲基]巴比妥酸	5-[[5-(4-methoxyphenyl)-2-furyl]methylene]barbituric acid	43.44	0.30	牡丹皮
MOL007382	牡丹皮苷	mudanpioside-h_qt 2	42.35	0.37	牡丹皮
MOL007003	苯甲酰芍药苷	benzoyl paeoniflorin	31.13	0.54	牡丹皮

2.2 药物与疾病靶点的预测与筛选结果

分别在 GeneCards、OMIM、PharmGKB 等数据库输入“insomnia”“chronic atrophic gastritis”“gastroesophageal reflux disease”等关键词获得失眠、慢性萎缩性胃炎以及胃食管反流病相关的靶点。将各数据库得到的靶点导入 Excel 表进行

合并整理,删除重复值,最后分别得到失眠、慢性萎缩性胃炎和胃食管反流病的基本靶点信息,失眠靶点 438 个,慢性萎缩性胃炎靶点 868 个,胃食管反流病靶点 4 252 个;最后通过 Venny 2.1.0 软件将获得的 3 种疾病靶点信息与化肝煎中药有效成分靶点信息取交集,得到共同的交集靶点蛋白 20 个,作为化

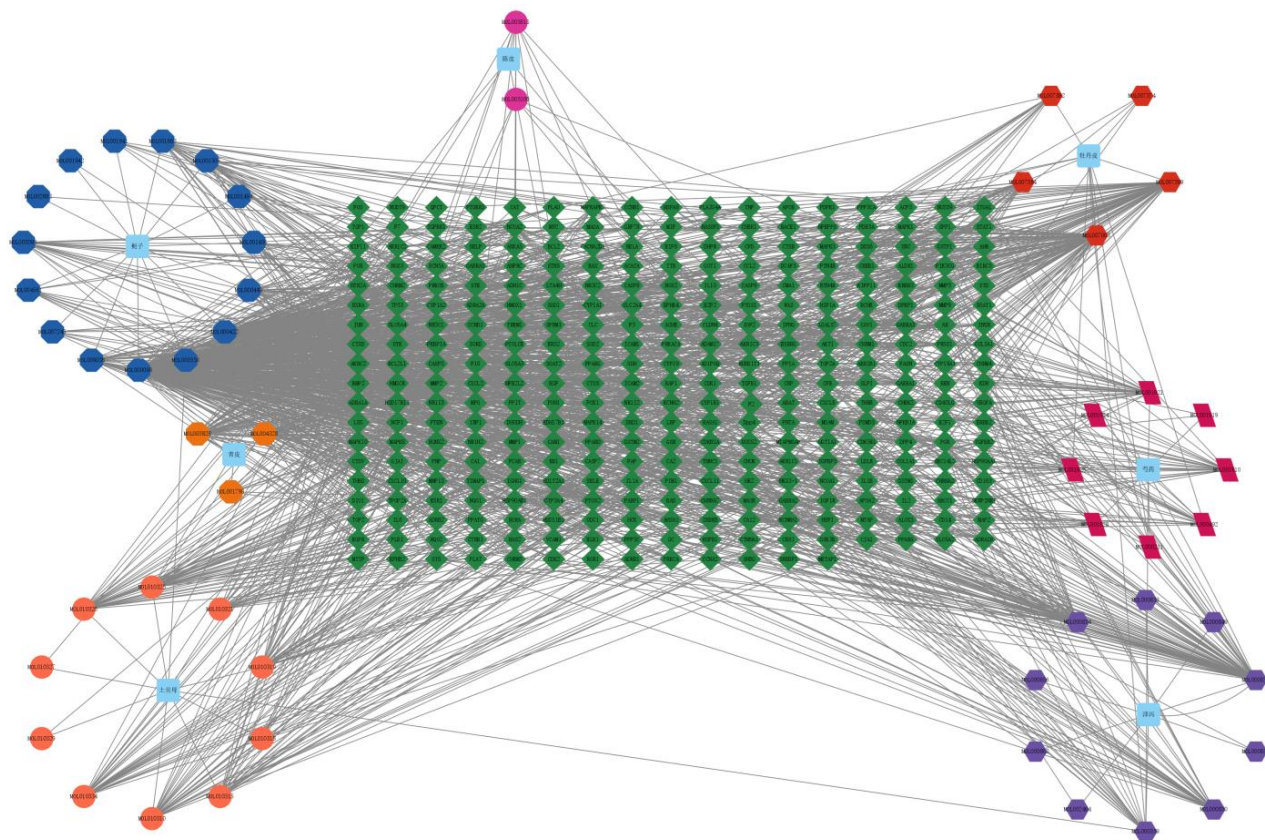


图1 化肝煎中药-成分-靶点网络

Fig. 1 Network of medicinal materials-component-target of HGD

肝煎治疗失眠、慢性萎缩性胃炎和胃食管反流病的潜在作用靶点(图2)。

2.3 关键靶点及关键活性成分的确定

将上述化肝煎治疗失眠、慢性萎缩性胃炎和胃食管反流病 20 个交集基因导入 String (<https://cn.string-db.org/>) 数据库, 并设置 interaction score >

0.4, 剔除孤立的靶点蛋白, 构建 PPI 网络。PPI 网络包含 18 个靶点以及 83 条边(图 3)。利用 Cytoscape3.9.0 软件的 CytoHubba 插件对该网络进行相关核心蛋白筛选, 设置 Calculate 为 Top10, 筛选出前 10 个相关度最高的核心靶点, 根据结果创建核心靶点网络图(图 4)。核心靶标网络前 10 的节点有 IL6、NCF1、PTGS2、CRP、MPO、PPARG、TNF、CXCL8、IL1B 和 IL10。

2.4 GO 功能富集分析和 KEGG 通路分析

将筛选的 20 个共同靶基因经 Matescape 平台分析可以得到 GO 分析过程($P < 0.01$), 共得到 2 454 个 BP, 161 个 CC 和 232 个 MF; 根据 Benjamini 校正法、 $P < 0.01$ 进行筛选, 得到相关度较高的 BP 452 个, CC 6 个, MF 19 个, 依据“Count”值从大到小取排名前 20 绘制 GO 分析柱状图, 见图 5。KEGG 富集通路过程($P < 0.01$) 共富集 158 条信号通路, KEGG 主要信号通路 6 个, 见图 6。说明这些信号通路可能在此异病同治过程中发挥着显著作用。

2.5 分子对接结果

根据度值 ≥ 5 , 并结合相关文献报道^[10], 选取 5 个主要药物活性成分包括槲皮素、山柰酚、芍药苷、

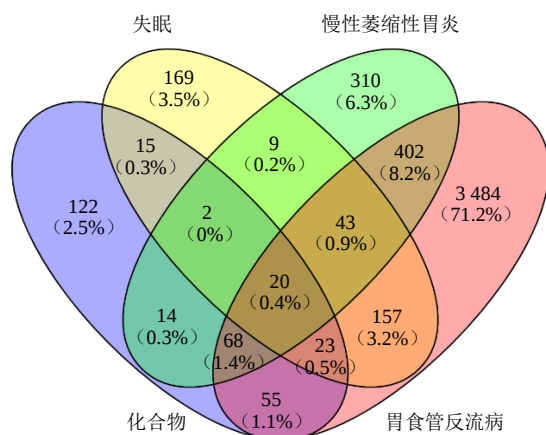


图2 化肝煎治疗失眠、慢性萎缩性胃炎和胃食管反流病靶点的韦恩图

Fig. 2 Venn diagram of targets of HGD in treating insomnia, CAG, and GERD

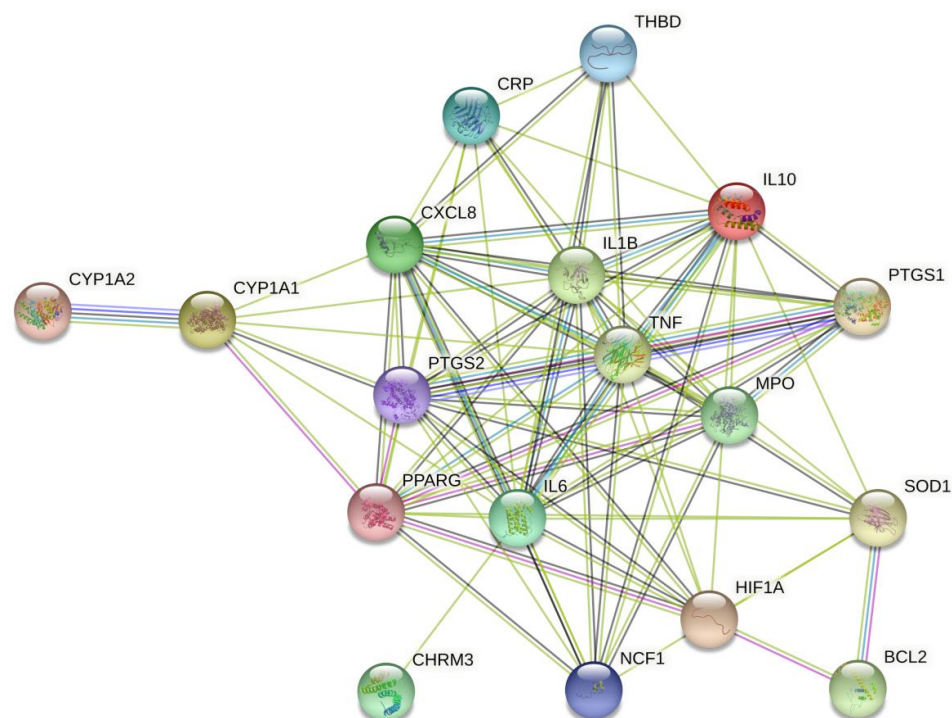


图3 化肝煎治疗失眠、慢性萎缩性胃炎和胃食管反流病共同靶点PPI网络

Fig. 3 PPI network of common targets of HGD in treating insomnia, CAG, and GERD

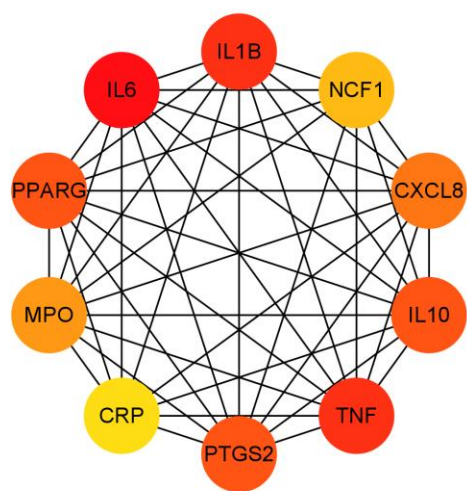


图4 核心靶点PPI网络

Fig. 4 PPI network of core targets

诺比列汀、 β -谷甾醇,分别与对应度值排名靠前的靶点蛋白PPARG、PTGS2、TNF、IL6进行分子对接验证。结合能结果见表2。其中化合物与对应靶点最佳的分子对接模式见图7,结果表明这5种成分与主要靶点蛋白结合性能较好。

3 讨论

本研究通过TCMSP平台、GeneCards、OMIM、PharmGKB等数据库,分别获取化肝煎有效成分、失眠、慢性萎缩性胃炎及胃食管反流病靶点,基于韦恩图获得20个共有靶点。通过CytoHubba筛选最

终得到化肝煎治疗失眠、慢性萎缩性胃炎及胃食管反流病的前10个核心靶点:IL6、NCF1、PTGS2、CRP、MPO、PPARG、TNF、CXCL8、IL1B和IL10。其中,白细胞介素-6(IL-6)是具有多种生物学功能的细胞因子,作用于中枢神经系统的B细胞、T细胞、肝细胞、造血祖细胞。肿瘤坏死因子(TNF)指一组可以引起细胞凋亡的细胞因子,最先确定的两个类型是TNF- α 和TNF- β ,而TNF- α 也称为恶病质素和TNFSF1A,是一种脂肪因子,参与全身的炎症,同时也是刺激急性期反应的细胞因子之一^[11]。研究表明^[12],IL-6与睡眠障碍关系密切,睡眠不足会导致白天IL-6分泌过多,而一夜完全睡眠不足后的白天小睡又有利于抑制IL-6分泌。Ren等^[13]通过调查慢性失眠症(CID)患者是否与某些细胞因子水平有关时发现,在CID组中,患者细胞因子水平(IL-1 β 、IL-2、IL-6、IL-10和TNF- α)升高与失眠严重程度相关。另有研究^[14-15]表明炎症因子如TNF- α 、IL-6、IL-1B、IL-8和IL-10等的表达与慢性萎缩性胃炎和胃食管反流病联系密切,降低其炎症反应可起到有效治疗作用。通过回顾性研究发现睡眠异常已被证实会加重胃肠道疾病的症状,反之胃肠疾病又会加重睡眠障碍^[16]。此类研究证实了TNF、IL-6、IL-10等与失眠、慢性萎缩性胃炎及胃食管反流病发病有密切联系,与本研究预测结果一致;另外其他靶点如前列

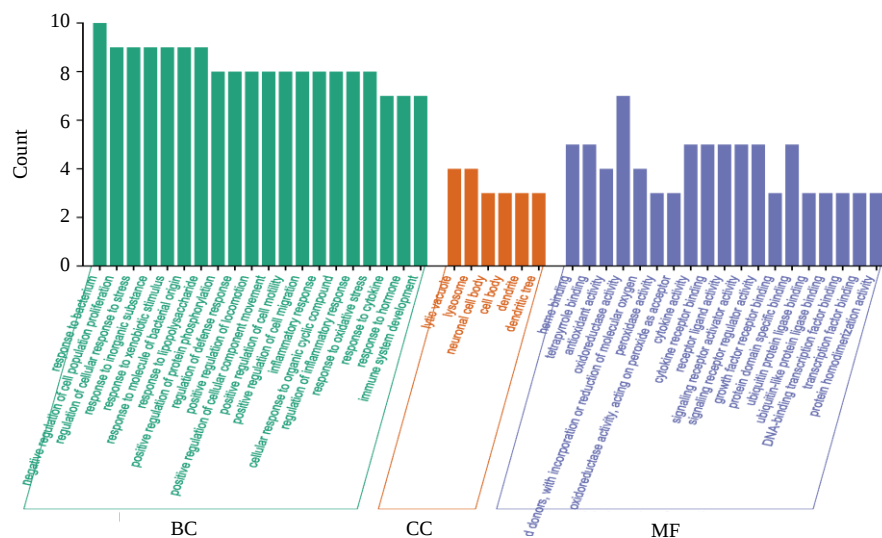


图5 化肝煎治疗失眠、慢性萎缩性胃炎和胃食管反流病作用靶点的GO分析
Fig. 5 GO analysis of targets of HGD in treatment of insomnia, CAG and GERD

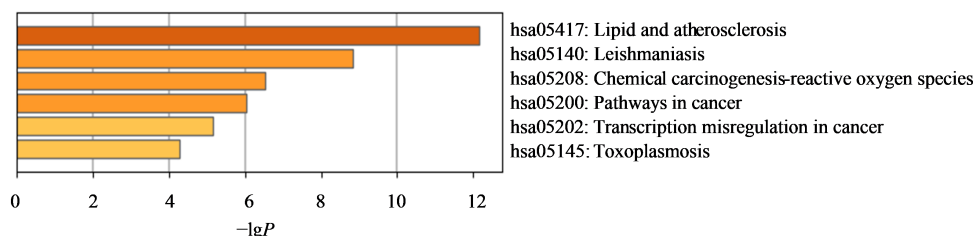


图6 化肝煎治疗失眠、慢性萎缩性胃炎和胃食管反流病作用靶点的KEGG分析
Fig. 6 KEGG analysis of targets of HGD in treatment of insomnia, CAG and GERD

表2 主要活性成分与核心靶点的分子对接结果
Table 2 Docking results of active ingredients and core targets

化合物	结合能/(kJ·mol ⁻¹)			
	PPARG	PTGS2	TNF	IL6
槲皮素(quercetin)	-36.00	-40.18	-35.16	-29.30
山柰酚(kaempferol)	-38.93	-38.93	-34.32	—
诺比列汀(nobiletin)	-36.00	-36.42	—	—
β-谷甾醇(beta-sitosterol)	—	-36.42	—	—
芍药苷(paeoniflorin)	—	—	-32.23	—

腺素内过氧化物合成酶2(PTGS2又名COX-2)由炎症部位的促炎细胞因子诱导,增强的COX-2诱导的前列腺素合成可刺激癌细胞增殖、促进血管生成、抑制细胞凋亡并增加转移潜能。研究表明从灵芝中提取的赤芝酮D和从淫羊藿中提取的淫羊藿苷均可通过下调炎症细胞因子如诱导性一氧化氮合酶(iNOS)和抑制COX-2蛋白的表达,起到抗炎、镇痛和镇静/改善睡眠的作用^[17-18]。与正常食管-胃-结肠黏膜中表达的COX-1不同,研究发现COX-2主要在黏膜的癌前变化中表达,在Barrett食管中,来自

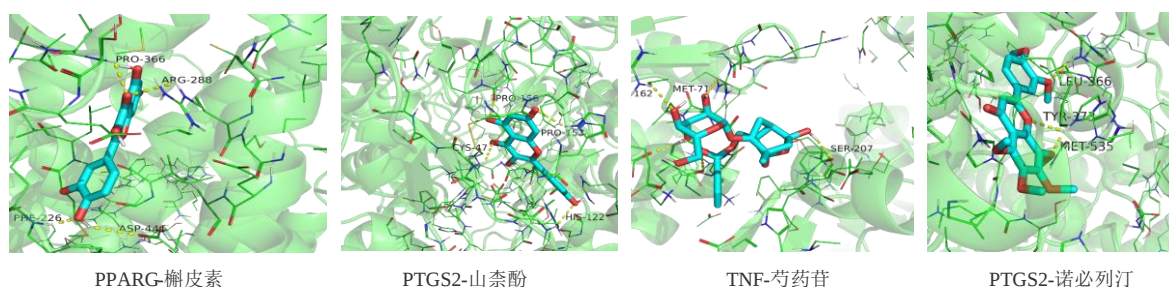


图7 主要活性成分与核心靶点的分子对接部分结果
Fig. 7 Molecular docking of active components with core targets

上调的COX-2的前列腺素(PG)有助于从低度到高度不典型增生并最终发展为癌症;在幽门螺杆菌感染引起的慢性胃炎中,COX-2的过度表达可能与炎性细胞因子、生长因子有关从而导致突变和随后的化生、发育异常和癌症形成^[19]。结合上述研究结果证明了预测靶点PGTS2与失眠、慢性萎缩性胃炎及胃食管反流病密切相关。C反应蛋白(CRP)是急性感染时相关反应蛋白之一,主要由肝脏生成,一方面参与机体的防御功能,另一方面对补体激活后的炎症反应所带来的潜在破坏性具有限制作用。过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPAR γ /PPARG)是重要的细胞分化转录因子,在哺乳动物的脂肪组织、血管平滑肌组织、心肌组织中均有表达。刘鑫^[20]通过研究酸枣仁汤对老年慢性快动眼睡眠剥夺模型大鼠中枢视交叉上核昼夜节律及能量代谢的并联调控机制中证明酸枣仁汤可使大鼠下丘脑核受体PPAR γ 表达增加来改善失眠。由于核转录因子- κ B(NF- κ B)激活,促炎细胞因子和活性氧的参与,增加细胞增殖并抑制细胞凋亡以及上调PPAR γ 和iNOS可能是慢性萎缩性胃炎发病机制中的主要分子生物学改变^[21]。Lee等^[22]在对黄芩和陈皮混合物的研究中表明该混合物的抗炎作用主要通过激活PPAR γ 通路,抑制NF- κ B通路,从而降低炎症相关细胞因子的表达起到改善胃食管反流病中食管黏膜损伤的作用。Irwin等^[23]对总共72项研究($n>50\,000$)进行了分析,结果表明睡眠障碍与较高水平的CRP相关。Kutluana等^[24]通过研究得出观察组中胃肠化生组及胃萎缩组的CRP和新蝶呤水平显著高于对照组中非胃肠化生组及非胃萎缩组的CRP和新蝶呤水平的值,差异具有统计学意义($P<0.05$)。蔡翠珠等^[25]用降逆益胃汤治疗胃食管反流病,治疗后观察组与对照组两组血清IL-6、hs-CRP、IL-18以及失眠积分均较治疗前降低且观察组更低($P<0.05$)。这些研究进一步证实TNF、IL6、PTGS2、CRP等与失眠、慢性萎缩性胃炎及胃食管反流病有密切相关性,且在治疗3种疾病中发挥了重要作用。因此本研究表明,化肝煎主要通过减少炎症反应发挥其“异病同治”作用。

由GO富集分析结果可知,化肝煎治疗失眠、慢性萎缩性胃炎及胃食管反流病涉及多种MF、多种BP和多种CC。包括参与了对细菌的反应(response to bacterium)、细胞应激反应调节(regulation of cellular response to stress)、炎症反应调节(regulation of inflammatory response)、氧化

应激反应(response to oxidative stress)、细胞因子反应(response to cytokine)、脂多糖反应(response to lipopolysaccharide)等。KEGG通路分析主要包括脂质和动脉粥样硬化通路(lipid and atherosclerosis)、化学致癌-活性氧通路(chemical carcinogenesis-reactive oxygen species)、癌症途径(pathways in cancer)、癌症中的转录失调通路(transcriptional misregulation in cancer)等信号通路。这些通路可能在化肝煎治疗失眠、慢性萎缩性胃炎及胃食管反流病过程中发挥着显著作用,其中尤以脂质代谢信号通路为主。研究表明睡眠不足或减少会导致外周代谢发生变化,通过液相色谱分析(LC-MS)失眠代谢组学多与氨基酸代谢、脂质代谢通路有关^[26]。同时通过对载脂蛋白 $\epsilon 4$ (Apo $\epsilon 4$)在失眠中作用得出在脂质代谢中起重要作用的Apo $\epsilon 4$ 也与失眠存在密切关系^[27]。Pan等^[28]在对失眠与动脉粥样硬化的研究中报告失眠与动脉僵硬度增加和颈动脉粥样硬化相关,且随着失眠时间的延长,两者之间的相关性越发明显。祖国秀等^[29]利用LC-MS的代谢组学方法对慢性萎缩性胃炎的发病机制进行研究,预测出12条代谢扰动通路,而鞘脂代谢通路最具统计学意义,这可能与鞘脂代谢通路中二氢鞘氨醇、神经鞘氨醇等鞘脂类成分可直接参与能量代谢、机体免疫及炎症介质的调控有关。而在探究慢性萎缩性胃炎与动脉粥样硬化的关联性中,发现萎缩性胃炎组的高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)水平和脂联素水平低于非萎缩性胃炎组,以及萎缩性胃炎组动脉粥样硬化的独立危险因素同型半胱氨酸水平显著升高($P=0.01$);同时包括14 570名参与者的Meta分析直接表明慢性萎缩性胃炎重要危险因素之一的幽门螺杆菌感染与亚临床动脉粥样硬化之间的显著关联,目前尚需更多研究证实慢性萎缩性胃炎与动脉粥样硬化的直接联系^[30-32]。Asekritova等^[33]通过对胃食管反流病患者进行调查,采用逻辑回归分析法证实了临床症状与脂质代谢指标之间的相互关系,如腰围、动脉压水平和血脂(三酰甘油、低密度脂蛋白胆固醇和HDL-C)。在对欧洲5个国家7 700名胃食管反流病患者进行观察性访问研究中,多项逻辑回归显示脂代谢异常,三酰甘油升高影响胃食管反流病症状的频率和严重程度^[34]。通过LC-MS代谢组学方法,研究发现甘油磷脂代谢、鞘脂代谢为胃食管反流病主要代谢途径^[35]。但目前尚无具体文献表明胃食管反流病与动脉粥样硬化之间的明确联系。而现有研究表

明^[36-40]中药防治失眠、慢性萎缩性胃炎及胃食管反流病作用机制主要涉及细胞因子、炎症反应、氧化应激能力、免疫功能等。这些信号通路或途径与本研究预测的化肝煎“异病同治”潜在作用机制部分相符。综上,本研究表明,化肝煎可能是通过脂质信号通路调控炎症、细胞因子反应等发挥对失眠、慢性萎缩性胃炎及胃食管反流病的“异病同治”作用。但是,化肝煎异病同治失眠、慢性萎缩性胃炎及胃食管反流病作用机制是否涉及化学致癌-活性氧通路、癌症途径通路、癌症中的转录失调通路等信号通路仍需要进一步的实验验证。

化肝煎中重要成分槲皮素、山柰酚、芍药苷以及诺必列汀等在其“异病同治”中发挥重要作用^[41]。如槲皮素和山柰酚均属于黄酮类,已有研究表明黄酮类化合物具有抗炎护胃的功效,在改善睡眠质量、治疗慢性萎缩性胃炎及胃食管反流病等方面发挥重要作用^[42-44]。芍药苷、诺必列汀可抑制炎症因子如IL-6和PTGS2的产生,从而发挥较强的抗炎活性^[45-46],能有效缓解胃肠道症状,进而提高睡眠水平。

综上所述,化肝煎治疗失眠、慢性萎缩性胃炎及胃食管反流病是1个涉及多成分、多靶点、多通路的复杂过程。本研究应用网络药理学、分子对接等方法,揭示了化肝煎异病同治慢性萎缩性胃炎及胃食管反流病可能涉及TNF、IL6、PTGS2、PPARG、CRP等为代表的核心靶点,可能与脂质信号通路调控炎症、细胞因子反应等有关。研究结果为进一步探讨“异病同治”提供了研究方法,为化肝煎临床应用和研发奠定了理论依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 失眠定义、诊断及药物治疗共识专家组. 失眠定义、诊断及药物治疗专家共识(草案) [J]. 中华神经科杂志, 2006, 39(2): 141-143.
Consensus Expert Group on Definition, Diagnosis and Medication of Insomnia. Expert consensus on definition, diagnosis and drug therapy of insomnia (draft) [J]. Chin J Neurol, 2006, 39(2): 141-143.
- [2] 程国良, 钱彦方, 李 静, 等. 失眠机制研究进展 [J]. 世界睡眠医学杂志, 2016, 3(3): 174-179.
Cheng G L, Qian Y F, Li J, et al. Review about the mechanism of insomnia [J]. World J Sleep Med, 2016, 3 (3): 174-179.
- [3] Rodriguez-Castro K I, Franceschi M, Noto A, et al. Clinical manifestations of chronic atrophic gastritis [J]. Acta Biomed, 2018, 89(8-S): 88-92.
- [4] 中国中西医结合学会消化系统疾病专业委员会. 胃食管反流病中西医结合诊疗共识意见 (2010) [J]. 中国中西医结合杂志, 2011, 31(11): 1550-1553.
Digestive System Diseases Professional Committee of Chinese Association of Integrated Traditional and Western Medicine. Consensus on the diagnosis and treatment of gastroesophageal reflux disease by integrated Chinese and Western medicine (2010) [J]. Chin J Integr Tradit West Med, 2011, 31(11): 1550-1553.
- [5] 朱剑峰. 化肝煎加减联合叶酸对HP阳性慢性萎缩性胃炎患者胃蛋白酶原、白介素族及MDA水平影响研究 [J]. 中华中医药学刊, 2017, 35(6): 1580-1582.
Zhu J F. Effect of modified Huanganjian combined with folic acid on serum levels of pepsinogen, interleukin family and MDA in patients with HP positive chronic atrophic gastritis [J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2017, 35(6): 1580-1582.
- [6] 朱 燕, 刘大铭, 贾 玉. 化肝煎合左金丸联合雷贝拉唑钠肠溶胶囊治疗肝胃郁热型反流性食管炎临床观察 [J]. 河北中医, 2021, 43(1): 100-102, 106.
Zhu Y, Liu D M, Jia Y. Clinical observation of Huanganjian and Zuojin Pills combined with rabeprazole sodium enteric capsule in the treatment of reflux esophagitis with heat stasis in liver and stomach [J]. Hebei J Tradit Chin Med, 2021, 43(1): 100-102, 106.
- [7] 李 点. 基于“木郁达之”探讨化肝煎之临证运用 [J]. 广州中医药大学学报, 2021, 38(4): 842-845.
Li D. Discussion on clinical application of Huagan Jian based on "treatment of wood (liver) depression by relief therapy" [J]. J Guangzhou Univ Tradit Chin Med, 2021, 38(4): 842-845.
- [8] 刘繁荣, 张友杰, 兰 亚. 化肝煎加味方治疗胃食管反流病的临床疗效及对临床症状、生活质量及睡眠质量的影响 [J]. 现代中西医结合杂志, 2020, 29(14): 1550-1553.
Liu F R, Zhang Y J, Lan Y. Clinical effect of Huanganjian Jiawei prescription on gastroesophageal reflux disease and its influence on clinical symptoms, quality of life and sleep quality [J]. Mod J Integr Tradit Chin West Med, 2020, 29(14): 1550-1553.
- [9] 虞芬兰, 唐跃华. 化肝煎加减治疗慢性萎缩性胃炎肝胃郁热型63例观察 [J]. 浙江中医杂志, 2015, 50(5): 326-327.
Yu F L, Tang Y H. Observation on 63 cases of chronic atrophic gastritis treated with Huagan decoction [J]. Zhejiang J Tradit Chin Med, 2015, 50(5): 326-327.
- [10] 聂 欣, 庞 兰, 鲜 静, 等. 整合文献计量学、血清药物化学及网络药理学辨识经典名方化肝煎关键质量属性

- 研究[J]. 中草药, 2022, 53(2): 382-394.
- Nie X, Pang L, Xian J, et al. Integrated bibliometrics, serum pharmacochimistry and network pharmacological analysis used to preliminarily identify critical quality attributes of classic prescription Huaganjian [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2022, 53(2): 382-394.
- [11] Wang T T, He C Q. Pro-inflammatory cytokines: The link between obesity and osteoarthritis [J]. Cytokine Growth Factor Rev, 2018, 44: 38-50.
- [12] Pejovic S, Basta M, Vgontzas A N, et al. Effects of recovery sleep after one work week of mild sleep restriction on interleukin-6 and cortisol secretion and daytime sleepiness and performance [J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2013, 305(7): E890-E896.
- [13] Ren C Y, Rao J X, Zhang X X, et al. Changed signals of blood adenosine and cytokines are associated with parameters of sleep and/or cognition in the patients with chronic insomnia disorder [J]. Sleep Med, 2021, 81: 42-51.
- [14] Tong Y L, Liu L P, Wang R L, et al. Berberine attenuates chronic atrophic gastritis induced by MNNG and its potential mechanism [J]. Front Pharmacol, 2021, 12: 644638.
- [15] Zavala-Solares M R, Fonseca-Camarillo G, Valdovinos M, et al. Gene expression profiling of inflammatory cytokines in esophageal biopsies of different phenotypes of gastroesophageal reflux disease: A cross-sectional study [J]. BMC Gastroenterol, 2021, 21(1): 201.
- [16] Ali T, Choe J, Awab A, et al. Sleep, immunity and inflammation in gastrointestinal disorders [J]. World J Gastroenterol, 2013, 19(48): 9231-9239.
- [17] Feng X, Wang Y. Anti-inflammatory, anti-nociceptive and sedative-hypnotic activities of lucidone D extracted from *Ganoderma lucidum* [J]. Cell Mol Biol, 2019, 65(4): 37-42.
- [18] Huang F Y, Zhang Y D, Xu Y F, et al. Analgesic, anti-inflammatory and sedative/hypnotic effects of Icaritin, and its effect on chloride influx in mouse brain cortical cells [J]. Cell Mol Biol, 2019, 65(7): 99-104.
- [19] Konturek P C, Kania J, Burnat G, et al. Prostaglandins as mediators of COX-2 derived carcinogenesis in gastrointestinal tract [J]. J Physiol Pharmacol, 2005, 56 (Suppl 5): 57-73.
- [20] 刘 鑫. 基于核受体 PPAR γ 及其共激活因子 PGC-1 α 研究酸枣仁汤对老年慢性快动眼睡眠剥夺模型大鼠中枢 SCN 昼夜节律及能量代谢的并联调控机制 [D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2021.
- Liu X. Study on the parallel regulation mechanism of Suanzaoren Decoction on central SCN circadian rhythm and energy metabolism based on PPAR γ and PGC-1 α [D]. Wuhan: Hubei University of Chinese Medicine, 2021.
- [21] Konturek P C, Kania J, Konturek J W, et al. *H. pylori* infection, atrophic gastritis, cytokines, gastrin, COX-2, PPAR gamma and impaired apoptosis in gastric carcinogenesis [J]. Med Sci Monit, 2003, 9(7): SR53-SR66.
- [22] Lee J A, Shin M R, Park H J, et al. *Scutellariae Radix* and citri reticulatae pericarpium mixture regulate PPAR γ /RXR signaling in reflux esophagitis [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2022, 2022: 6969241.
- [23] Irwin M R, Olmstead R, Carroll J E. Sleep disturbance, sleep duration, and inflammation: A systematic review and meta-analysis of cohort studies and experimental sleep deprivation [J]. Biol Psychiatry, 2016, 80(1): 40-52.
- [24] Kutluana U, Kilciler A G, Mizrak S, et al. Can neopterin be a useful immune biomarker for differentiating gastric intestinal metaplasia and gastric atrophy from non-atrophic non-metaplastic chronic gastritis? [J]. Gastroenterol Hepatol, 2019, 42(5): 289-295.
- [25] 蔡翠珠, 黄少君, 曾露慧, 等. 降逆益中汤治疗胃食管反流病疗效及对患者血清炎症因子的影响 [J]. 陕西中医, 2020, 41(11): 1569-1572.
- Cai C Z, Huang S J, Zeng L H, et al. Curative effect of Jiangni Yizhong Decoction on gastroesophageal reflux disease and its effect on serum inflammatory factors [J]. Shaanxi J Tradit Chin Med, 2020, 41(11): 1569-1572.
- [26] Humer E, Pieh C, Brandmayr G. Metabolomics in sleep, insomnia and sleep apnea [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(19): 7244.
- [27] Wang C C, Lung F W. The role of PGC-1 and Apo ϵ 4 in insomnia [J]. Psychiatr Genet, 2012, 22(2): 82-87.
- [28] Pan X L, Nie L, Zhao S Y, et al. The association between insomnia and atherosclerosis: A brief report [J]. Nat Sci Sleep, 2022, 14: 443-448.
- [29] 祖国秀, 孙倩倩, 李 灵, 等. 基于 LC-MS 技术的慢性萎缩性胃炎大鼠血清标志物研究 [J]. 中华中医药杂志, 2021, 36(6): 3151-3156.
- Zu G X, Sun Q Q, Li L, et al. Study on serum markers of chronic atrophic gastritis rats based on LC-MS technique [J]. China J Tradit Chin Med Pharm, 2021, 36(6): 3151-3156.
- [30] Kutluana U, Simsek I, Akarsu M, et al. Is there a possible relation between atrophic gastritis and premature atherosclerosis? [J]. Helicobacter, 2005, 10(6): 623-629.
- [31] Torisu T, Takata Y, Ansai T, et al. Possible association of atrophic gastritis and arterial stiffness in healthy middle-aged Japanese [J]. J Atheroscler Thromb, 2009, 16(5): 443-448.

- 691-697.
- [32] Wang X H, He Q, Jin D H, et al. Association between *Helicobacter pylori* infection and subclinical atherosclerosis: A systematic review and meta-analysis [J]. *Medicine*, 2021, 100(46): e27840.
- [33] Asekritova A S, Kylbanova E S, Emelyanova E A, et al. Gastroesophageal reflux disease in association with lipid-metabolic indicators at the Yakutsk [J]. *Wiad Lek*, 2015, 68(4): 449-453.
- [34] des Varannes S B, Cestari R, Usova L, et al. Classification of adults suffering from typical gastroesophageal reflux disease symptoms: Contribution of latent class analysis in a European observational study [J]. *BMC Gastroenterol*, 2014, 14: 112.
- [35] Ye X X, Wang X Q, Wang Y F, et al. A urine and serum metabolomics study of gastroesophageal reflux disease in TCM syndrome differentiation using UPLC-Q-TOF/MS [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2021, 206: 114369.
- [36] 蒋境兴, 李 宁, 赵琳儒, 等. 中药防治失眠作用机制研究进展 [J]. *辽宁中医药大学学报*, 2022, 24(1): 178-181.
- Jiang J X, Li N, Zhao L R, et al. Advances in research on mechanism of Chinese medicine for preventing and treating insomnia [J]. *J Liaoning Univ Tradit Chin Med*, 2022, 24(1): 178-181.
- [37] 于小刚, 辛二旦, 杨文媛, 等. 原发性失眠的机制研究进展及临床用药 [J]. *中华中医药学刊*, 2022, 40(5): 138-141.
- Yu X G, Xin E D, Yang W Y, et al. Research progress on mechanism of primary insomnia and clinical medication [J]. *Chin Arch Tradit Chin Med*, 2022, 40(5): 138-141.
- [38] 吉跃进, 沈 洪, 朱 磊. 中药治疗慢性萎缩性胃炎研究进展 [J]. *中华中医药学刊*, 2021, 39(5): 166-170, 289.
- Ji Y J, Shen H, Zhu L. Research progress on traditional Chinese medicine in treatment of chronic atrophic gastritis [J]. *Chin Arch Tradit Chin Med*, 2021, 39(5): 166-170, 289.
- [39] Yoshida N. Cytokine expression in GERD [J]. *Nihon Rinsho*, 2007, 65(5): 813-821.
- [40] Altomare A, Guarino M P L, Cocca S, et al. Gastroesophageal reflux disease: Update on inflammation and symptom perception [J]. *World J Gastroenterol*, 2013, 19(39): 6523-6528.
- [41] 聂 欣, 庞 兰, 江华娟, 等. 经典名方化肝煎物质基准特征图谱及多指标成分含量测定研究 [J]. *中草药*, 2020, 51(20): 5177-5186.
- Nie X, Pang L, Jiang H J, et al. Study on specific chromatogram and content determination of multi-index components about material reference of classic prescription of Huaganjian [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2020, 51(20): 5177-5186.
- [42] Kim S, Hong K B, Jo K, et al. Quercetin-3- O-glucuronide in the ethanol extract of *Lotus* leaf (*Nelumbo nucifera*) enhances sleep quantity and quality in a rodent model via a GABAergic mechanism [J]. *Molecules*, 2021, 26(10): 3023.
- [43] Skiba M A, Szendzielorz K, Mazur B, et al. The inhibitory effect of flavonoids on interleukin-8 release by human gastric adenocarcinoma (AGS) cells infected with cag PAI (+) *Helicobacter pylori* [J]. *Cent Eur J Immunol*, 2016, 41(3): 229-235.
- [44] Gupta S S, Azmi L, Mohapatra P K, et al. Flavonoids from whole Plant of *Euphorbia hirta* and their Evaluation against Experimentally induced Gastroesophageal Reflux Disease in Rats [J]. *Pharmacogn Mag*, 2017, 13(Suppl 1): S127-S134.
- [45] 徐佳新, 许 浚, 曹 勇, 等. 中药白芍现代研究进展及其质量标志物的预测分析 [J]. *中国中药杂志*, 2021, 46(21): 5486-5495.
- Xu J X, Xu J, Cao Y, et al. Modern research progress of traditional Chinese medicine *Paeoniae Radix Alba* and prediction of its Q-markers [J]. *China J Chin Mater Med*, 2021, 46(21): 5486-5495.
- [46] Ouyang Y M, Li L H, Ling P. Nobiletin inhibits *helicobacterium pylori* infection-induced gastric carcinogenic signaling by blocking inflammation, apoptosis, and mitogen-activated protein kinase events in gastric epithelial-1 cells [J]. *J Environ Pathol Toxicol Oncol*, 2020, 39(1): 77-88.

[责任编辑 刘东博]