

# 基于网络药理学模式的柴胡加芒硝汤治疗便秘的系统功效研究与机制预测

吴恺悻<sup>1,2</sup>, 郭欣<sup>3</sup>, 黄娜娜<sup>1</sup>, 刘静<sup>2</sup>, 孙蓉<sup>1,4\*</sup>

1. 山东大学第二医院, 山东 济南 250033

2. 山东中医药大学, 山东 济南 250355

3. 天津中医药大学, 天津 301617

4. 山东大学 高等医学研究院, 山东 济南 250012

**摘要:** **目的** 运用网络药理学方法预测柴胡加芒硝汤治疗功能性便秘的功效作用网络和潜在机制。**方法** 通过 TCMSP、TCMID 及 Swiss Target Prediction 在线预测数据库, 以口服利用度 (OB) 和类药性 (DL) 作为限定条件对柴胡加芒硝汤的成分及其靶点进行收集和筛选; 从 PubMed、CTD、TTD、DrugBank 等数据库对功能性便秘相关的靶点进行检索; 利用 STRING 和 Cytoscape 分析软件对所得靶点进行网络可视化处理, 并筛选节点度较高的关键成分和核心靶点; 借助 Cytoscape 及其插件对其核心靶点进行富集分析, 预测作用机制。**结果** 筛选出柴胡加芒硝汤总成分共 206 个, 其对应靶标有 998 个; 功能性便秘的疾病靶点有 295 个; 经分析获知涉及柴胡加芒硝汤治疗功能性便秘作用的有 64 个关键成分和 30 个核心靶点, 对核心靶点进行 GO 富集分析及 KEGG 途径分析, SCN9A、CFTR、HTR2A、OPRD1、PTGS1、FGFR1 等 30 个核心靶标主要通过阿片受体活性、机体的水平衡、萜类物质的代谢和生物胺配基结合受体的活性等多个生物过程和分子功能, 以调节 5-羟色胺受体、花生四烯酸代谢、MECP2 的转录调控、细胞色素 P450、生物胺配基结合受体、PI3K 的异常表达、络氨酸蛋白激酶信号通路、外源性异物刺激等作用通路发挥对便秘的治疗作用。**结论** 柴胡加芒硝汤治疗功能性便秘的作用机制呈现多靶点、多通路的特点, 其皂苷类、黄酮类、甾醇类物质可能是其发挥核心功效的物质基础, 5-羟色胺类受体、阿片类受体、氯离子通道调控受体可能是其关键作用靶点。

**关键词:** 柴胡加芒硝汤; 功能性便秘; 网络药理学; 功效网络; 机制预测

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2019)21-5170-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.21.006

## Systematic efficacy study and mechanism prediction of Chaihu Plus Mangxiao Decoction in treatment of constipation based on network pharmacology model

WU Kai-yi<sup>1,2</sup>, GUO Xin<sup>3</sup>, HUANG Na-na<sup>1</sup>, LIU Jing<sup>2</sup>, SUN Rong<sup>1,4</sup>

1. The second hospital of Shandong University, Jinan 250033, China

2. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China

3. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China

4. Institute of Advanced Medical Sciences, Shandong University, Jinan 250012, China

**Abstract: Objective** To investigate the function network and potential mechanisms of effects of Chaihu Plus Mangxiao Decoction in the treatment of functional constipation by using network pharmacology methods. **Methods** TCMSP, TCMID, and Swiss Target Prediction online prediction databases were used to screen the components and their potential targets of Chaihu Plus Mangxiao Decoction using oral availability (OB) and drug-like (DL) as the qualification conditions. PubMed, CTD, TTD, and DrugBank were used to search functional constipation-related targets. STRING and Cytoscape were used to make targets network visualization, screen the key components and core targets with high a degree of the node; Finally, relevant software was applied to analyze core targets and predict the mechanism. **Results** A number of 206 total components of Chaihu Plus Mangxiao Decoction were screened, and there were 998 corresponding targets, which were contained 295 targets associated with functional constipation. According to the

收稿日期: 2019-07-02

基金项目: 山东省重点研发计划 (重大关键技术) 项目 (2016ZDJS07A21); 山东省重点研发计划项目 (2017CXGC1301); 国家自然科学基金面上项目 (81773997); 泰山学者工程专项经费项目 (ts201511107)

作者简介: 吴恺悻, 男, 硕士研究生, 研究方向为中药药理与毒理。Tel: 13553168069 E-mail: 13553168069@163.com

\*通信作者 孙蓉, 女, 博士, 教授, 博士生导师, 从事中药药理与毒理研究。Tel: 13605311799 E-mail: sunrong107@163.com

analysis, there were 64 key components and 30 core targets involving the Chaihu Plus Mangxiao Decoction-induced treatment of functional constipation. After enrichment analysis and KEGG pathway analysis of 30 core targets, it was found that SCN9A, CFTR, HTR2A, OPRD1, PTGS1, and FGFR1 were involved in regulating biological processes including opioid receptor activity, water balance of the organism, terpenoids and biological receptors and subsequent mediating the function of serotonin receptors, arachidonic acid metabolism, transcriptional regulation of MECP2, cytochrome P450, biogenic amine-binding receptors, PI3K the aberrant expression, tyrosine-protein kinase signaling pathway, and exogenous foreign body stimulation. These biological targets and molecular signaling pathways may play a therapeutic role in the treatment of functional constipation. **Conclusion** The mechanism of effect of Chaihu Plus Mangxiao Decoction in the treatment of functional constipation is characterized by multiple targets and pathways. Saponins, flavonoids, and sterols may be the material basis for core functions, and serotonin receptors, opioid receptors and chloride channel-regulated receptors may be key targets of Chaihu Plus Mangxiao Decoction.

**Key words:** Chaihu Plus Mangxiao Decoction; functional constipation; network pharmacology; efficacy network; mechanism prediction

功能性便秘 (functional constipation, FC) 是功能性肠病的一种, 是指由非器质性原因引起的便秘, 又称特发性便秘, 可分为排空迟缓型、功能性出口梗阻型和合并或混合型。其典型临床表现为长时间持续性排便困难、排便不尽感或无便意感<sup>[1]</sup>。FC 属中医“便秘”范畴, 基本病机为大肠传导功能失常, 病位在大肠, 从中医学整体观念出发, 认为本病是人体多脏腑互作结果。《素问·五脏别论》<sup>[2]</sup>中的“魄门亦为五脏使”说明便秘的形成与脾、胃、肝、肾、肺等脏腑功能失调有关。据其病机将便秘分为实证和虚证, 实证为肺热下移大肠或胃肠积热, 致大肠津液干枯, 传导失职; 虚证为素体虚弱或久病之后, 气虚大肠传导无力。现代医学对 FC 发病机制研究目前涉及机制较多, 可能与肠道水液的代谢<sup>[3-4]</sup>、肠道菌群的失调<sup>[5]</sup>、肠神经系统相关神经递质的表达<sup>[6]</sup>等多种因素有关。

柴胡加芒硝汤出自《伤寒论》, 由柴胡二两十铢 (8 g)、黄芩一两 (3 g)、人参一两 (3 g)、炙甘草一两 (3 g)、生姜一两 (切) (3 g)、半夏二十铢 (洗) (2.1 g)、大枣四枚、芒硝二两 (6 g) 共 8 味药组成, 从方剂组成和用量来说, 柴胡加芒硝汤是由小柴胡汤三分之一的剂量加入芒硝而成, 方中主要化学成分有柴胡皂苷类、黄芩苷类、人参皂苷类等多种活性物质以及矿物含水硫酸钠, 具有和解少阳、泻热去实的功效。根据《伤寒论》第 104 条的描述“伤寒十三日, 不解, 胸胁满而呕, 日晡所发潮热, 已而微利。此本柴胡证, 下之以不得利, 今反利者, 知医以丸药下之, 此非其治也。潮热者, 实也。先宜服小柴胡汤以解外, 后以柴胡加芒硝汤主之。”与伤寒病结合六经证治的认识<sup>[7]</sup>, 此方与小柴胡汤先后使用, 用于治疗太阳十三日不解旁涉阳明, 波及

肠腑引起的里热实证便秘, 同时还可用于调畅三焦气机治疗因选择“丸药”下法误治太阳旁涉阳明实热便秘引起的正气受损<sup>[8]</sup>。现代临床也发现柴胡加芒硝汤治疗 FC 有一定疗效, 但相关作用靶点和药效物质基础均尚不明确。网络药理学是系统生物学的重要组成部分, 其注重药物间相互作用的特点与中医药学多采用复方配伍治疗相吻合, 通过“成分-靶点”和“疾病-靶点”2 大系统网络的预测, 为传统方剂现代药理研究与机制探讨提高了准确度, 也搭建了“桥梁”。因此, 本研究采用网络药理学方法, 通过构建方剂化合物靶标和疾病靶标的互作网络, 从分子功能和通路机制上预测柴胡加芒硝汤治疗 FC 的关键成分与潜在机制。

## 1 方法

### 1.1 柴胡加芒硝汤所含成分及其对应靶点的收集和筛选

本研究采用中药系统药理学分析平台 TCMSP (<http://lsp.nwu.edu.cn/tcmsp.php>), 以柴胡、黄芩、人参、甘草、生姜、半夏、大枣为关键词, 检索这 7 味药的化学成分。借助 TCMID (<http://www.ehbio.com/TCMIP/index.php/Home/Index/index.html>) 平台查找 TCMSP 未收录的芒硝的化学成分。本研究结合口服生物利用度 ( $OB \geq 30\%$ ) 和类药性 ( $DL \geq 0.18$ ), 对所收集到的化学成分进行筛选, 并结合《中国药典》2015 年版中药物的含量测定项对已筛选的化合物进行补充, 最终建立柴胡加芒硝汤的成分数据库。从 TCMSP 中查询柴胡加芒硝汤化合物对应的靶标蛋白, 并在 Unitprot 数据库 (<http://www.Unitprot.org/>) 查询靶标蛋白的基因名称。对于尚未在 TCMSP 中收录靶点的化合物, 在 PubChem 数据库 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 查询化合物

的 Canonical SMILES 序列, 并利用此序列在 Swiss Target Prediction 在线数据库 (<http://www.swisstargetprediction.ch/>) 中对该化合物的靶点进行预测, 收集预测结果中的靶标蛋白基因名称。

## 1.2 FC 疾病靶点的预测

在 TCMID 数据库、TTD 数据库(<http://bidd.nus.edu.sg/>)、CTD 数据库 (<http://ctdbase.org/>)、PubMed 数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>) 中以关键词 “functional constipation” 或 “constipation” 进行检索, 对 FC 相关的靶点进行收集。通过阅读 FC 临床诊疗指南总结出治疗 FC 的上市药物, 在 DrugBank 数据库中进行检索 (<https://www.drugbank.ca/>), 收集相关药物的作用靶点。将以上检索结果合并, 去除重复值, 作为 FC 的预测靶点库。

## 1.3 成分-靶点网络、蛋白互作 (PPI) 网络的构建

利用 Cytoscape 3.6.0 软件建立柴胡加芒硝汤筛选后成分与成分预测靶点的“柴胡加芒硝汤-活性成分-预测靶点”网络。将柴胡加芒硝汤化合物的作用靶点进行合并, 删除重复值, 利用 String 在线数据库 (<https://string-db.org/>) 对 FC 疾病的预测靶点和柴胡加芒硝汤成分的作用靶点分别构建蛋白互作网络, 并以 TSV 格式导出 2 个 PPI 网络的分析结果。利用 Cytoscape 软件对 2 个网络进行交集分析, 得到化合物-疾病的共有靶点, 利用交集出的共有靶点结合化合物成分建立柴胡加芒硝汤化合物-FC 靶点

的 PPI 网络。利用 Cytoscape 软件对化合物-FC 靶点蛋白互作网络进行节点度 (degree) 值筛选, 得到关键成分和核心靶点, 并构建核心成分-关键靶点互作网络。

## 1.4 GO 生物学功能分析及 KEGG 通路富集分析

利用 Cytoscape 3.6.0 软件中的 ClueGO 插件针对核心成分-靶点互作网络进行 GO 分析和通路富集分析, 通过通路富集结果对柴胡加芒硝汤治疗 FC 的机制进行预测。

## 1.5 FC 机制的文献挖掘

通过检索国内外 FC 机制研究相关的文献, 明确 FC 在现代医学研究中的发病机制, 通过文献挖掘对所预测的柴胡加芒硝汤治疗 FC 的机制进行确认。

## 2 结果与分析

### 2.1 柴胡加芒硝汤成分及其对应靶点的收集与筛选

从 TCMSP、TCMID 数据库中搜索柴胡加芒硝汤各味药的化合物成分, 并依据  $OB \geq 30\%$  及  $DL \geq 0.18$  要求, 得到最终选定的结果为 206 个化合物, 其中柴胡 18 个、黄芩 34 个、人参 24 个、甘草 94 个、生姜 8 个、半夏 12 个、大枣 26 个、芒硝 2 个。从 TCMSP 数据库获取所选化合物的靶标蛋白, 在 TCMSP 信息不足时, 用化合物的 Canonical SMILES 序列在 Swiss Target Prediction 在线数据库进行预测, 将预测靶点作为补充录入成分-靶点库。利用 Cytoscape 软件进行“柴胡加芒硝汤-成分-预测靶点”网络的构建, 见图 1。

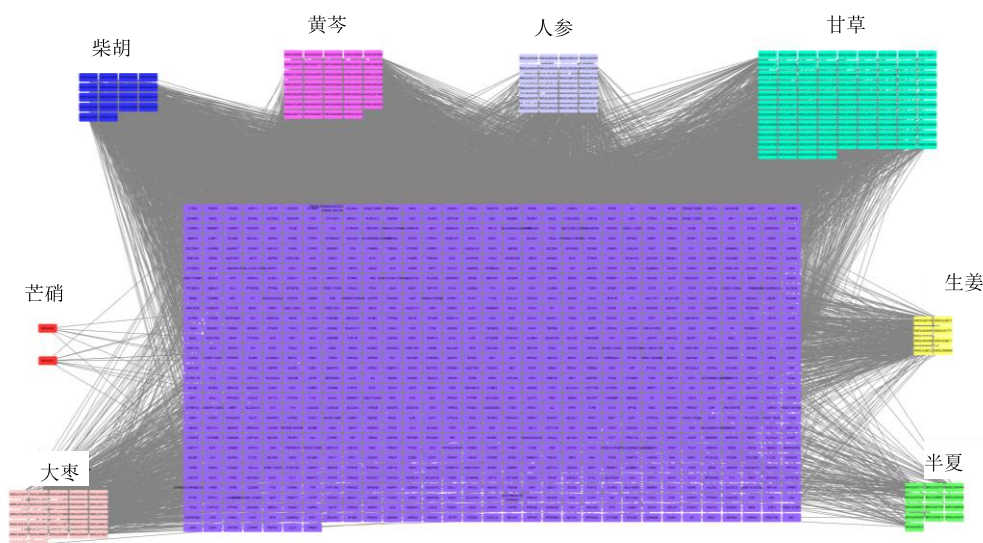


图 1 “柴胡加芒硝汤-成分-预测靶点”网络

Fig. 1 Network of “Chaihu Plus Mangxiao Decoction-ingredients-prediction target”

## 2.2 成分靶点-疾病靶点的互作网络构建与分析

在 TTD、CTD、PubMed、TCMID 数据库中以关键词“functional constipation”或“constipation”进行检索，收集与 FC 相关的靶点，在 DrugBank 数据库检索上市药物的作用靶点。将以上检索结果合并，并去除重复值，得到 326 个疾病靶点。

采用 STRING 在线数据库 (<http://stringdb.org/>) 构建蛋白相互作用网络。利用 Multiple proteins 工具，限定物种为人 (*Homo sapiens*)，获取 PPI 网络，并保存其 TSV 格式文件，得到图 2-A，共涉及 282 个节点，1 524 条边。采用相同方法对柴胡加芒硝汤

成分的靶点进行 PPI 网络的构建，得到图 2-B，共涉及 939 个节点，25 285 条边，并保存其 TSV 格式文件。

利用 TSV 文件在 Cytoscape 中编辑 PPI 网络，使用 Merge 功能整合化合物-疾病的交集靶点，并构建化合物-疾病交集靶点与柴胡加芒硝汤成分的互作网络，采用节点 degree 值筛选的方法对互作网络进行分析，见图 3，其中左侧中心表示皂苷类、黄酮类、甾醇类等关键成分 64 个。右侧中间红色是靶点的筛选结果，共得 OPRD1、CFTR、HTR2A 等 30 个核心靶点。对柴胡芒硝汤治疗 FC 的 30 个核心

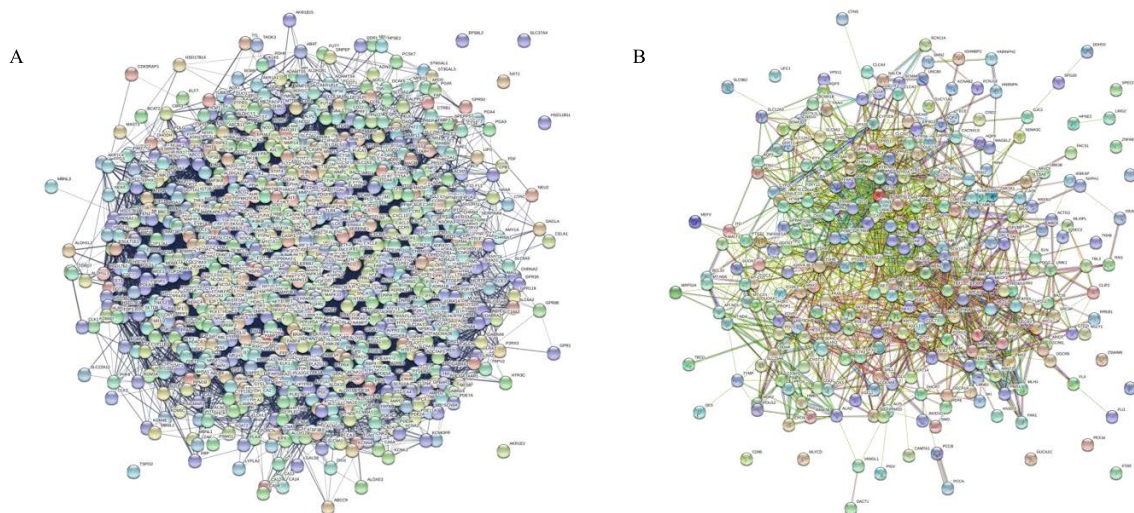
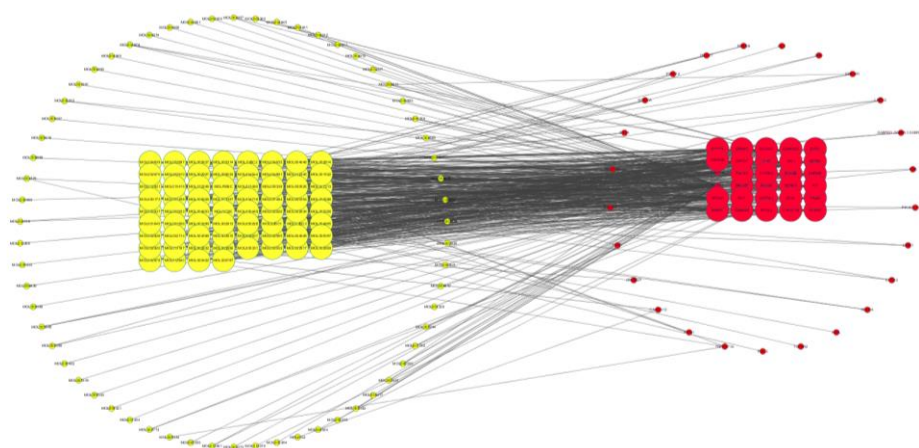


图 2 柴胡加芒硝汤成分靶点 PPI 网络 (A) 及 FC 疾病靶点 PPI 网络 (B)

Fig. 2 PPI network of targets of Chaihu Plus Mangxiao Decoction (A) and FC disease targets (B)



黄色代表成分，红色代表靶点，节点大小与 degree 值呈正比，圆中以方形排列的为筛选后的关键成分与核心靶点

The yellow part represents the components, the red part represents the targets, the node size is proportional to the degree value, and the square shape arranged in circle represents the key components and core targets after screening

图 3 成分-疾病共有靶点的互作网络

Fig. 3 Interaction networks of ingredient-disease target associated components

靶点进行可视化处理, 结果共涉及 30 个节点, 65 条边, 见图 4-A。图中的节点表示蛋白, 边表示蛋白间的相互关联, 互作网络中图节点的大小与此节点的 degree 值呈正比。查阅关键靶点蛋白的生物学活性, 按生物学活性分类, 见图 4-B。从分类结果可知, 核心靶点生物学活性主要分布于 5-羟色胺受体、腺苷酸环化酶相关受体、络氨酸蛋白激酶受体、对外源性异物刺激的反应等几个相关通路中。

### 2.3 成分-疾病交集靶点 GO 生物学功能分析及 KEGG 通路富集分析

将总结的柴胡加芒硝汤治疗 FC 的 30 个核心靶点通过 Cytoscape 中的插件 ClueGO 进行通路富集分析和生物学功能分析。结果见图 5、6。

从 GO 分析的结果可知, 柴胡加芒硝汤治疗 FC 的机制多与磷脂酶 C 激动 (phospholipase C activity)、阿片受体活性 (opioid receptor)、机体的水平衡、

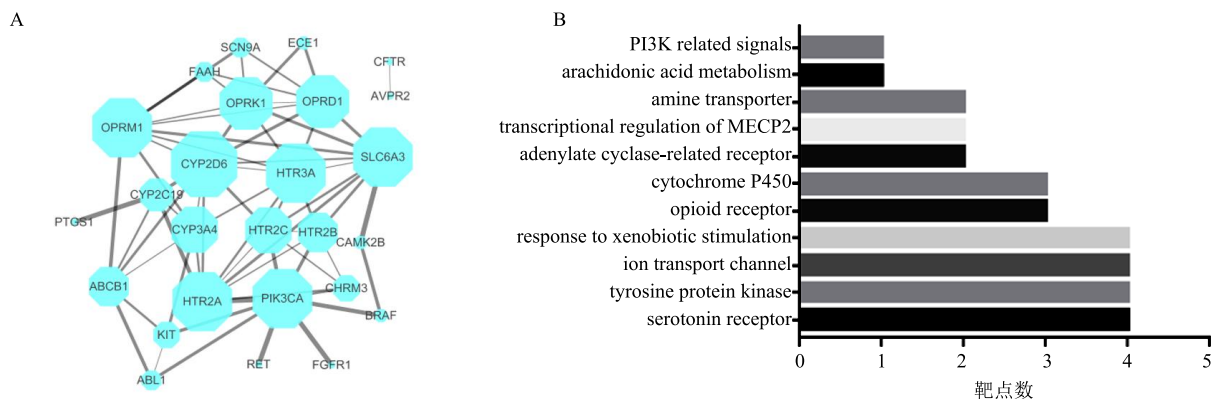


图 4 柴胡加芒硝汤治疗 FC 靶标蛋白 PPI 网络 (A) 及核心靶点生物信息分类 (B)

Fig. 4 PPI network map of FC target protein in treatment of Chaihu Jia Mangxiao Decoction (A) and classification map of core targets bioinformation classification (B)

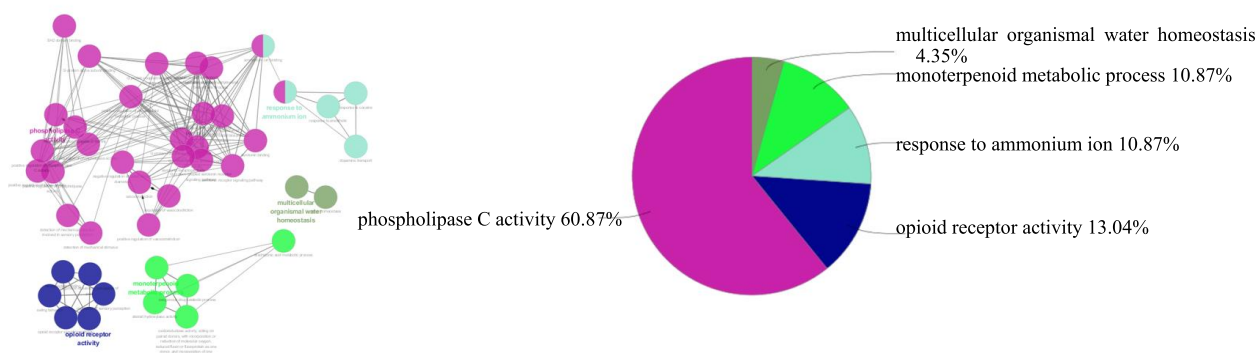


图 5 柴胡加芒硝汤治疗 FC 的靶点 GO 分析

Fig. 5 Target GO analysis of Chaihu Plus Mangxiao Decoction in FC

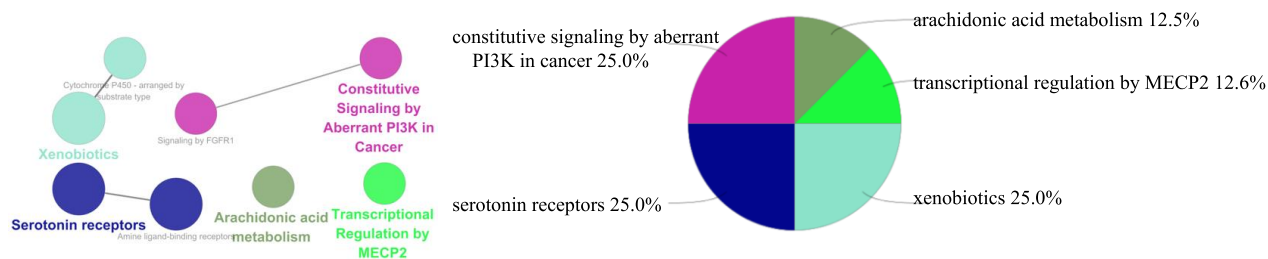


图 6 柴胡加芒硝汤治疗 FC 的靶点 KEGG 通路富集

Fig. 6 Target KEGG pathway enrichment analysis of Chaihu Plus Mangxiao Decoction in FC

胺配基结合受体的活性(response to ammoniumion)等多个生物过程及分子功能相关。

从图 6 可知,对 30 个核心靶标所参与的主要 KEGG 通路富集信息进行分析,得柴胡加芒硝汤主要通过调节花生四烯酸代谢(arachidonic acid metabolism)、MECP2 的转录调控(transcriptional regulation by MECP2)、细胞色素 P450 (cytochrome P450-arranged by substrate type)、生物胺配基结合受体(amine ligand-binding receptors)、5-羟色胺受体(serotonin receptors)、PI3K 的异常表达(constitutive signaling by aberrant PI3K in cancer)、受体型蛋白酪氨酸激酶(signaling by FGFR1)、外源性异物刺激

(xenobiotics)等作用通路发挥对 FC 的治疗作用。

## 2.4 结合文献挖掘的结果对柴胡加芒硝汤治疗 FC 的机制进行确认

通过文献挖掘<sup>[9-21]</sup>,对 FC 的发病机制、一线治疗药物的药效机制和以 FC 为副作用的部分药物作用机制等进行总结,见图 7。总结对应的机制发现柴胡加芒硝汤主要通过调节钙离子受体、调节阿片类受体、激动 5-HT 受体、调节氯离子膜上转运受体、影响 G 蛋白偶连受体等通路发挥对 FC 的治疗作用,预测相关靶点分别为 OPRD1、OPRK1、OPRM1、CFTR、CAMK2B、HTR2A、HTR2B、HTR2C、HTR3A。

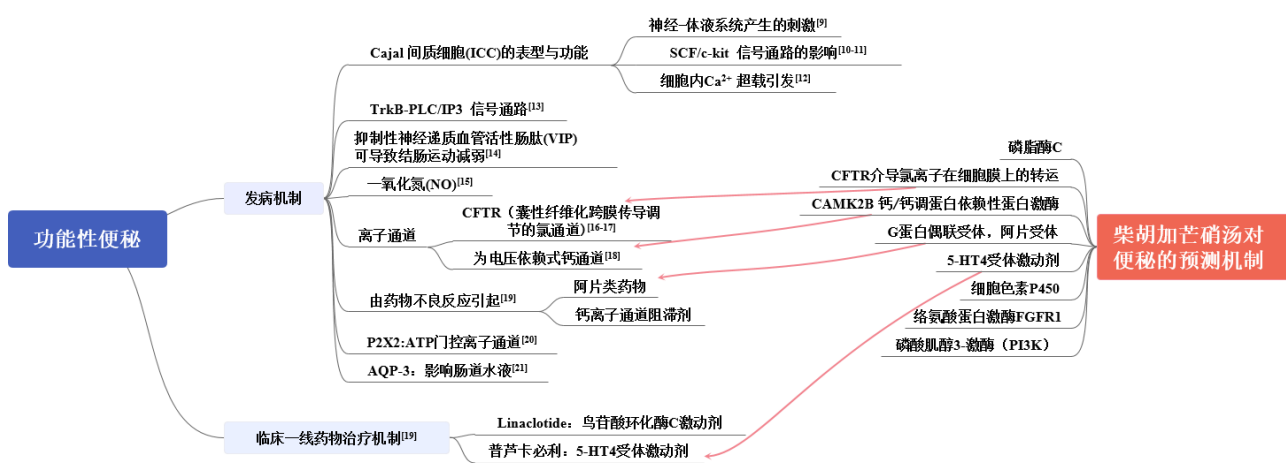


图 7 柴胡加芒硝汤治疗 FC 的潜在机制分析与确认

Fig. 7 Analysis and confirmation in potential mechanism of of Chaihu Jia Mangxiao Decoction in treatment FC

## 3 讨论

柴胡加芒硝汤载于《伤寒论》,属“胆与胃肠兼证用方”为和解少阳,泻热去实之剂<sup>[1]</sup>。目前尚未发现柴胡加芒硝汤治疗 FC 的药理学研究和临床应用的报道。但有小柴胡汤及其加减方治疗肠道气滞型 FC 临床报道与研究<sup>[22]</sup>,可有效缓解心情焦虑引起肝失疏泄,肠气不通、糟粕内停,大肠传导失司,即肠道气滞型 FC。《神农本草经》言柴胡主“肠胃中结气,饮食积聚,寒热邪气,推陈致新”,说明柴胡可促进脏腑的新陈代谢,能推动少阳枢机,并由此起到调和表里作用<sup>[23]</sup>。半夏、生姜能疏通郁滞,调理脾胃升降。胃气以降为顺,胃气不降多由火旺气实所致,故予黄芩清火即是降胃气;脾气以升为常,故用人参、甘草、大枣益气,又能推动大肠传导之力<sup>[24]</sup>。方中芒硝功效为“泻下通便、润燥软坚”,服用后在肠道内形成高渗盐溶液,吸附大量水分,

扩张肠道引起机械刺激,从而促进排便,其导泻机制与容积性泻药接近<sup>[10]</sup>。参考《伤寒论》用法,先服用小柴胡汤去外邪,通畅三焦之郁证,后用柴胡加芒硝汤泻热去实,兼轻通三焦,适用于少阳病兼有里实证或大便不通,苦满难解之里实证,或热入血室如疟状,胸腹胀满,大便不通或坚硬者。以疏泄肝气、通利三焦、顺气通便以达到清气上升、浊气下降、腑气得通的目的,且攻补兼施,在临床上应用于实秘或者虚秘均能取得较好的效果。因此由小柴胡汤和柴胡加芒硝汤的先后使用可推测,柴胡加芒硝汤以调畅气机和泻里实热的治法对 FC 进行了治疗。

本研究利用网络药理学的方法探讨了柴胡加芒硝汤治疗 FC 的成分与作用机制,预测治疗相关成分为柴胡皂苷、黄芩素、人参皂苷、汉黄芩素、槲皮素、 $\beta$ -谷甾醇、 $\alpha$ -菠菜甾醇等 64 个关键成分。预

测此方对 FC 的治疗机制可能是以调节氯离子通路、钙离子通路、兴奋性和抑制性的神经递质和 G-蛋白偶连受体等几个关键的通路,均为临床 FC 治疗药物的明确机制<sup>[10]</sup>。其中 5-HT 是重要的胃肠神经递质<sup>[25]</sup>,几个离子通道和 5-HT 受体均可通过调节神经传导改善胃肠动力<sup>[26]</sup>,文献研究证实,预测的柴胡加芒硝汤对 FC 的治疗机制与部分目前上市产品如鲁比前列酮<sup>[27-28]</sup>、普芦卡必利<sup>[29]</sup>等药物作用机制接近,借此,可确认柴胡加芒硝汤对 FC 治疗的网络药理学分析结果有一定的准确性。另外,此方还可影响花生四烯酸代谢通路和肝脏的细胞色素 P450 酶、络氨酸蛋白激酶等信号通路,调节机体消化、循环等多个系统和机体对药物的代谢。说明柴胡加芒硝汤对 FC 的治疗机制不仅在于调节神经传导,还影响了体内多种代谢途径。

传统方剂对疾病的辨证论治,是多成分、多靶点,通过多味中药的协调配合共同实现对机体功能的调节,本研究中筛选得到的柴胡加芒硝汤治疗 FC 的 64 个关键化合物,但芒硝作为以泻热通便为功效的成分却不在其中,推测原因可能是芒硝作为结晶水矿物通过吸水增大肠道容积促进排便,而不是化合物与靶点的直接作用。另外,也可能因为数据库信息尚不全面,没有在 PPI 网络中发现柴胡芒硝汤成分对肠道结肠肌神经丛的 P 物质<sup>[30]</sup>、抑制神经递质的血管活性肽 VIP<sup>[16]</sup>及调节肠道水液靶点-AQP3<sup>[22]</sup>等便秘病因机制的作用,因此,对所预测的关键成分、调控机制仍需做进一步的实验验证。其调控机制与中医的“和”法治疗中调畅气机、解三焦之郁是否有某种形式的联系,也有待进一步的验证和研究。

#### 参考文献

- [1] 王垂杰. 便秘诊疗指南 [J]. 中国中医药现代远程教育, 2011, 9(17): 126-127.
- [2] 田代华. 黄帝内经 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005.
- [3] Karashi N, Kon R, Iizasa T, *et al.* Inhibition of aquaporin-3 water channel in the colon induces diarrhea [J]. *Biol Pharm Bull*, 2012, 35(6): 957-962.
- [4] 何俊堂, 刘海峰, 房殿春, 等. 慢传输型便秘大鼠结肠肌间神经丛内 VIP 能神经、SP 能神经的免疫组化研究 [J]. 消化外科, 2004, 3(2): 122-124.
- [5] 贾增增, 徐月姣, 李吉, 等. 功能性便秘与肠道菌群的关系及其微生态治疗研究进展 [J]. 医学综述, 2019, 25(8): 1577-1581.
- [6] 满如, 于永铎. 功能型便秘发病机制的最新研究进展 [J]. 中外医学研究, 2019, 17(9): 168-170.
- [7] 尚焱昌, 冀春茹, 苗明三. 仲景方药研究应用精鉴 [M]. 北京: 人民军医出版社, 1999.
- [8] 张国骏. 再论《伤寒论》104 条 [J]. 天津中医学院学报, 1998, 17(1): 26-27.
- [9] Mojgan F, Nazila B, Mohammad D. Chronic constipation: A review of literature [J]. *Medicine*, 2018, 97(20): e10631.
- [10] Lyford G L, He C L, Softer E. *et al.* Pan-colonic decrease in interstitial cells of Cajal in patients with slow-transit constipation [J]. *Gut*, 2002, 51(4): 496-501.
- [11] 刘世举, 李岩, 张慧俭, 等. 通秘合剂对慢传输型便秘大鼠结肠神经节细胞及 Cajal 间质细胞的影响 [J]. 河南中医, 2018, 38(9): 1347-1351.
- [12] 周肸, 颜帅, 张丹, 等. Cajal 间质细胞自噬在慢性传输型便秘中的实验研究进展 [J]. 辽宁中医杂志, 2018, 45(3): 660-662.
- [13] 王赞, 石玉秀. 应激的细胞反应上调细胞自噬的机制 [J]. 解剖科学进展, 2015, 21(4): 439-442.
- [14] Chen F, Yu Y, Wang P, *et al.* Brain-derived neurotrophic factor accelerates gut motility in slow-transit constipation [J]. *Acta Physiol*, 2014, 212(3): 226-238.
- [15] 陆琳. 电针深刺天枢穴治疗中风后便秘的临床疗效观察及其对血清 SP、VIP 含量的影响 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2017.
- [16] 全晓静, 罗和生, 陈炜, 等. 一氧化氮和硫化氢对大鼠结肠平滑肌钙钾电流影响的比较 [J]. 中华实验外科杂志, 2015, 32(12): 3053-3057.
- [17] Mercer A J, Rabl K, Riccardi G E, *et al.* Location of release sites and calcium-activated chloride channels relative to calcium channels the photoreceptor ribbon synapse [J]. *Neurophysiol*, 2011, 105(1): 321-335.
- [18] Jentsch T J. Discovery of CLC transport proteins: Cloning, structure, function and pathophysiology [J]. *J Physiol*, 2015, 593(18): 4091-4109.
- [19] Takayama I, Horiguchi K, Daigo Y, *et al.* The interstitial cells of Cajal and a gastroenteric pacemaker system [J]. *Arch Histol Cytol*, 2002, 65(1): 1-26.
- [20] 付原琰. 化癥通便汤对 STC 模型大鼠结肠组织 P2X2 受体表达的影响 [D]. 大连: 辽宁中医药大学, 2017.
- [21] 周永学, 王郁金, 张红, 等. 血管活性肠肽对便秘大鼠排便及结肠组织中 VIP-cAMP-PKA-AQP3 信号通路的影响 [J]. 中南大学学报: 医学版, 2016, 41(11): 1175-1180.
- [22] 黄洋, 刘伟志, 常欣. 小柴胡汤加减治疗肠道气滞型功能性便秘的临床研究 [J]. 中国医药指南, 2019, 17(8): 183.
- [23] 徐昌万. 小柴胡汤临床应用体会 [J]. 实用中医药杂志, 2017, 33(8): 989-990.

- [24] 周永茂, 王信芳. 小柴胡汤辨证加减治疗小儿功能性便秘疗效观察 [J]. 山西中医, 2016, 32(3): 34-35.
- [25] 王 宏, 唐 方. 5-羟色胺及其受体对胃肠功能影响以及临床用药的研究进展 [J]. 天津医科大学学报, 2008, 14(4): 581-584.
- [26] 苏 静, 林 江. 功能性便秘的发病机制及中西医结合治疗与离子通道关系的研究进展 [J]. 东南国防医药, 2018, 20(6): 618-621.
- [27] Yeoul J J. Role of lubiprostone on gastrointestinal motility [J]. *J Neurogastroenterol Motil*, 2013, 19(3): 277-278.
- [28] Gonzalez-Martinez M A, Ortiz-Olvera N X, Mendez-Navarro J. Novel pharmacological therapies for management of chronic constipation [J]. *J Clin Gastroenterol*, 2014, 48(1): 21-28.
- [29] Anton E, Marina C, Lieve V, *et al.* Prucalopride improves bowel function and colonic transit time in patients with chronic constipation: An integrated analysis [J]. *Am J Gastroenterol*, 2014, 109(6): 887-894.
- [30] 杜立峰, 展淑琴, 郭新奎. P 物质、血管活性肠肽与异常胃肠通过的关系 [J]. 西安交通大学学报: 医学版, 2003, 24(4): 363-364.