

基于网络药理学和分子对接探究肠炎宁颗粒治疗功能性腹泻和腹泻型肠易激综合征的作用机制

田文国^{1,2}, 陈金鹏^{2,3,4}, 王春芳^{1,2}, 刘毅^{2,3,4}, 盖晓红^{2,3,4}, 刘全国⁵, 田成旺^{2,3,4*}, 陈常青^{2,3,4*}

1. 天津中医药大学, 天津 301617

2. 天津药物研究院, 天津 300462

3. 天津市中药质量标志物重点实验室, 天津 300462

4. 释药技术与药代动力学国家重点实验室, 天津 300462

5. 海南葫芦娃药业集团股份有限公司, 海南 海口 570216

摘要: **目的** 运用网络药理学和分子对接方法探究肠炎宁颗粒治疗功能性腹泻 (functional diarrhea, FD) 和腹泻型肠易激综合征 (diarrhea irritable bowel syndrome, IBS-D) 的作用机制。 **方法** 通过 TCMSP 数据库、文献检索肠炎宁颗粒 5 味药材的成分; SwissADME 平台筛选肠炎宁颗粒活性成分; SwissTargetPrediction 平台反向靶标预测肠炎宁颗粒活性成分作用靶点; GeneCards 数据库预测 FD 和 IBS-D 靶点; Venny 2.1.0 获取肠炎宁颗粒治疗 FD 和 IBS-D 的交集靶点; STRING 数据库获取蛋白质相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 网络后导入 Cytoscape 3.9.1 软件获取核心靶点; OmicsBean 数据库对核心靶点进行基因本体 (gene ontology, GO) 功能和京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 通路富集分析; Cytoscape 3.9.1 软件构建“药材-活性成分-靶点”及“关键活性成分-核心靶点-通路”网络; Schrödinger-Maestro 对关键活性成分和核心靶点进行分子对接。 **结果** 从肠炎宁颗粒中筛选得到治疗 FD 和 IBS-D 的活性成分 30 个, 其中 10 个关键活性成分为甲基异茜草素、槲皮素、4',5-二羟基黄酮、山柰酚、鞣花酸、焦性没食子酸、金圣草黄素、咖啡酸、木犀草素、芹菜素; 24 个核心靶点为蛋白激酶 B1 (protein kinase B1, AKT1)、表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR)、基质金属蛋白酶 2 (matrix metalloproteinase 2, MMP2)、MMP9 等。 KEGG 通路富集分析发现其主要涉及内分泌抵抗、磷脂酰肌醇 3-激酶 (phosphatidylinositol-3-kinase, PI3K)/蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt) 信号通路、前列腺癌等通路。分子对接表明关键活性成分与核心靶点均可自发结合。 **结论** 肠炎宁颗粒可能通过多成分、多靶点和多通路, 降低内脏敏感、减少炎症反应、调节肠道菌群, 从而治疗 FD 和 IBS-D。

关键词: 肠炎宁颗粒; 功能性腹泻; 腹泻型肠易激综合征; 网络药理学; 甲基异茜草素; 槲皮素; 4',5-二羟基黄酮; 山柰酚; 鞣花酸; 焦性没食子酸; 金圣草黄素; 咖啡酸; 木犀草素; 芹菜素

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2022)22-7135-13

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.22.017

Mechanism of Changyanning Granules in treatment of functional diarrhea and diarrhea irritable bowel syndrome based on network pharmacology and molecular docking

TIAN Wen-guo^{1,2}, CHEN Jin-peng^{2,3,4}, WANG Chun-fang^{1,2}, LIU Yi^{2,3,4}, GAI Xiao-hong^{2,3,4}, LIU Quan-guo⁵, TIAN Cheng-wang^{2,3,4}, CHEN Chang-qing^{2,3,4}

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

2. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300462, China

3. Tianjin Key Laboratory of Quality Marker of Traditional Medicine, Tianjin 300462, China

4. State Key Laboratory of Drug Delivery and Pharmacokinetics, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300462, China

收稿日期: 2022-09-06

基金项目: 中-德中药与植物药创新研发国际合作基地医药国际合作专项 (0610-2140NF020630)

作者简介: 田文国, 硕士研究生, 研究方向为药物分析与质量标志物。E-mail: tian_wen_guo@163.com

*通信作者: 田成旺, 博士, 研究员, 主要从事中药新药研发及中药质量标准、药效物质基础研究。E-mail: tiancw@tjipr.com

陈常青, 研究员。E-mail: chencq@tjipr.com

5. Hainan Huluwa Pharmaceutical Group Co., Ltd., Haikou 570216, China

Abstract: Objective To explore the mechanism of Changyanning Granules (肠炎宁颗粒) in treatment of functional diarrhea (FD) and diarrhea irritable bowel syndrome (IBS-D) by using network pharmacology and molecular docking. **Methods** The ingredients of five medicinal materials from Changyanning Granules were searched by TCMSP database and literature. SwissADME platform was used to screen the active ingredients of Changyanning Granules; SwissTargetPrediction platform was used to predict the targets of active ingredients of Changyanning Granules; GeneCards database was used to predict FD and IBS-D targets; Venny 2.1.0 was used to collect the intersection targets of Changyanning Granules in treating FD and IBS-D; STRING database was used to acquire protein-protein interaction (PPI) network and then import into Cytoscape 3.9.1 software to acquire the core targets; OmicsBean database was used to carry out gene ontology (GO) function and Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) pathway enrichment analysis on core targets; “Medicinal material-active ingredient-target” and “key active ingredient-core target-pathway” networks were constructed by Cytoscape 3.9.1 software; Schrödinger-Maestro was used to perform molecular docking between key active components and core targets. **Results** Thirty active ingredients for treating FD and IBS-D were screened from Changyanning Granules, among which 10 key active ingredients were rubiadin, quercetin, 4',5-dihydroxyflavone, kaempferol, ellagic acid, pyrogallol, chrysoeriol, caffeic acid, luteolin and apigenin. 24 core targets were protein kinase B1 (AKT1), epidermal growth factor receptor (EGFR), matrix metalloproteinase 2 (MMP2), MMP9, etc. KEGG pathway enrichment analysis found that it mainly involved endocrine resistance, phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/protein kinase B (Akt) signaling pathway, prostate cancer and other pathways. Molecular docking indicated that key active ingredients could spontaneously combine with core targets. **Conclusion** Changyanning Granules may reduce visceral sensitivity, reduce inflammatory reaction and regulate intestinal flora through multiple components, multiple targets and multiple pathways, so as to treat FD and IBS-D.

Key words: Changyanning Granules; functional diarrhea; diarrhea irritable bowel syndrome; network pharmacology; rubiadin; quercetin; 4',5-dihydroxyflavone; kaempferol; ellagic acid; pyrogallol; chrysoeriol; caffeic acid; luteolin; apigenin

功能性腹泻 (functional diarrhea, FD) 是临床上消化系统常见的一种疾病, 以持续性或反复发作性水样便或松散便, 腹痛或腹胀症状不明显, 排便次数增多为主要临床特征^[1]。腹泻型肠易激综合征 (diarrhea irritable bowel syndrome, IBS-D) 作为肠易激综合征的 1 个亚型, 是一种表现为反复发作的腹痛并伴随腹泻的疾病^[2]。FD 和 IBS-D 的发生都不具有典型的胃肠道器质性病变, 一般 FD 患者以腹泻为主而腹痛为次, IBS-D 患者以腹痛为主而腹泻轻微^[3]。FD 与 IBS-D 具有病情复杂、病程较长、迁延难愈的特点, 长期患病对患者生活、工作造成了极大影响, 且两者在病情发展的过程中可相互转化^[4]。目前临床治疗 FD 与 IBS-D 主要以止泻、止痛为主, 但疗效欠佳, 且不良反应多, 无法长期使用, 因此亟需疗效确切的治疗药物。

中药治疗疾病具有多成分、多靶点、多通路的特点, 其临床疗效显著。肠炎宁颗粒为现代中药制剂, 主要由金毛耳草、地锦草、樟树根、枫树叶、香薷组成, 其中金毛耳草为君药, 性平味苦, 具有清热祛湿、止泻的功效; 地锦草与枫树叶均为臣药, 可增强君药的功效, 并能起到清热解毒、利湿止泻的作用; 樟树根具有祛风止痛的功效; 香薷具有祛

湿和中的功效, 诸药合用便可起到清热利湿、行气的功效^[5]。现代医学研究发现^[6], 上述 5 味中药中含有多种有效成分, 包括黄酮类、环烯醚萜苷、鞣质类等, 这些成分具有抗菌、抗炎、止血、抗氧化、增强免疫力等作用。但目前关于肠炎宁颗粒治疗 FD 与 IBS-D 的作用机制尚不明确, 相关研究亦不多见。

网络药理学这一概念由英国 Hopkins 教授于 2007 年提出^[7], 近些年已成为中药药效物质基础与作用机制研究的热门工具^[8-10]。网络药理学可基于系统生物学理论研究药物, 从多成分、多靶点、多通路探究药物的作用机制, 通过网络药理学不同层次的网络构建, 建立“药材-成分-靶点-通路”的网络模型, 在揭示中药复方的复杂作用机制方面起着重要作用, 可全面研究复杂药物对疾病的影响和干预。因此, 本研究通过网络药理学和分子对接技术初步探讨肠炎宁颗粒治疗 FD 与 IBS-D 的作用机制, 以为肠炎宁颗粒治疗 FD 与 IBS-D 的进一步研究及临床应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 肠炎宁颗粒中药材成分库的建立

肠炎宁颗粒由金毛耳草、地锦草、樟树根、枫香树叶、香薷 5 味中药组成。利用 TCMSP 数据库

(<https://old.tcmsp-e.com/tcmsp.php>)^[11]筛选地锦草、香薷 2 味中药的成分,对于 TCMSp 数据库中未收录的金毛耳草、樟树根及枫香树叶通过相关参考文献,查找其所含成分。

1.2 肠炎宁颗粒活性成分及靶点筛选

通过 Pubchem(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)数据库^[12]检索肠炎宁中药成分的 Canonical SMILES 结构,将中药成分的 Canonical SMILES 结构导入 SwissADME 平台(<http://www.swissadme.ch/>)^[13]进行口服生物利用度及类药性分析。将 Pharmacokinetics 项下 GI absorption 满足 High,同时 Druglikeness 项下 Lipinski、Ghose、Veber、Egan、Muegge 满足 2 个 Yes 以上的成分作为候选活性成分,将候选活性成分的 Canonical SMILES 结构导入 SwissTargetPrediction 平台(<http://www.swisstargetprediction.ch/>)^[14],选择物种为“Homo sapiens”,条件设为“Probability>0.3”,进行肠炎宁颗粒候选活性成分靶点预测。

1.3 FD 和 IBS-D 疾病靶点预测

在 GeneCards(<https://www.genecards.org/>)^[15]数据库中以“diarrhea irritable bowel syndrome”和“functional diarrhea”为关键词检索疾病相关的靶点,取 Relevance score>4 作为 FD 和 IBS-D 候选疾病靶点。

1.4 肠炎宁颗粒治疗 FD 和 IBS-D 的“药材-活性成分-靶点”网络构建

将在 GeneCards 数据库中检索得到的 FD 和 IBS-D 靶点与肠炎宁颗粒候选靶点在 Venny 2.1.0(<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/index.html>)^[16]中生成韦恩图,映射筛选出共同靶点。根据“肠炎宁颗粒 5 味中药材”“肠炎宁颗粒活性成分”以及“肠炎宁颗粒活性成分治疗 FD 和 IBS-D 的作用靶点”,在 Excel 表格中建立“药材-活性成分”“活性成分-靶点”的相互对应关系,导入 Cytoscape 3.9.1 软件中构建肠炎宁颗粒治疗 FD 和 IBS-D 的“药材-活性成分-靶点”网络。

1.5 蛋白质相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 网络构建及核心靶点筛选

为探究肠炎宁颗粒相关靶点与 FD 和 IBS-D 的相互作用,将交集靶点导入 String 数据库(https://cn.stringdb.org/cgi/input?sessionId=bgKEhiAlcSw4&input_page_show_search=on)^[17],物种设置为“Homo Sapiens”,构建 PPI 网络,设定置信度为 0.9,隐藏游离靶标,下载 TSV 格式文件并导入 Cytoscape

3.9.1,绘制 PPI 网络图。运用“Network Analyze”进行拓扑参数分析,根据节点连接度值>中位数筛选核心靶点。

1.6 基因本体 (gene ontology, GO) 功能和京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 通路富集分析

运用 Omicsbean 平台(<http://www.omicsbean.cn/>)^[18]对肠炎宁颗粒治疗 FD 和 IBS-D 核心靶点进行 GO 功能以及 KEGG 通路富集分析。GO 功能富集分析主要包括生物过程 (biological process, BP)、细胞组分 (cellular component, CC) 以及分子功能 (molecular function, MF),筛选 GO 功能富集分析前 10 项结果制成柱状图进行可视化;筛选 KEGG 通路富集分析前 10 条通路制成气泡图进行可视化。

1.7 肠炎宁颗粒“关键活性成分-核心靶点-通路”网络构建

根据肠炎宁颗粒治疗 FD 和 IBS-D 的核心靶点所对应的关键活性成分以及核心靶点做 KEGG 富集通路预测结果,在 Excel 表格中建立“关键活性成分-核心靶点”和“核心靶点-通路”的相互对应关系,导入 Cytoscape 3.9.1 软件中构建肠炎宁颗粒治疗 FD 和 IBS-D 的“关键活性成分-核心靶点-通路”网络。

1.8 分子对接

关键活性成分作为小分子配体,通过 PubChem 数据库搜索关键活性成分 CAS 号,从 Chem3D19.0 中导出,对其执行能量最低计算保存为 mol2 格式。核心靶点作为受体,从 Protein Data Bank (PDB) 数据库(<https://www.rcsb.org/>)^[19]下载核心靶点蛋白的 PDB 格式三维结构(核心靶点蛋白遵循:人源蛋白,分辨率及优先选择具有原始配体)。将数据导入 Schrödinger2020Maestro12.4 软件对核心靶点蛋白去水与关键活性成分做分子对接。

2 结果

2.1 肠炎宁颗粒中药材活性成分

如表 1 所示,共筛选得到肠炎宁颗粒在 SwissTargetPrediction 平台有作用靶点的活性成分 88 个,金毛耳草 5 个、地锦草 10 个、樟树根 6 个、枫香树叶 13 个、香薷 60 个。其中金毛耳草、香薷含有共有活性成分 1 个,为槲皮素;地锦草、枫香树叶含有共有活性成分 1 个,为山奈酚;地锦草、香薷含有共有活性成分 2 个,为亚麻子油酸及软脂酸;樟树根、香薷含有共有活性成分 2 个,为桉叶油醇及黄樟素。

表 1 肠炎宁颗粒中活性成分

Table 1 Active ingredients of Changyanning Granules

序号	活性成分	分子式	CAS 号	来源
1	槲皮素	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	117-39-5	金毛耳草、香薷
2	异落叶松脂	C ₂₀ H ₂₄ O ₆	548-29-8	金毛耳草
3	萜荭亭	C ₁₀ H ₈ O ₄	92-61-5	金毛耳草
4	甲基异茜草素	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	117-02-2	金毛耳草
5	左氧氟沙星 N-氧化物	C ₁₈ H ₂₀ FN ₃ O ₅	117678-38-3	金毛耳草
6	鞣花酸	C ₁₄ H ₆ O ₈	476-66-4	地锦草
7	没食子酸甲酯	C ₈ H ₈ O ₅	99-24-1	地锦草
8	7-羟基香豆素	C ₉ H ₆ O ₃	93-35-6	地锦草
9	异萜荭亭	C ₁₀ H ₈ O ₄	776-86-3	地锦草
10	萜荭亭	C ₁₀ H ₈ O ₄	92-61-5	地锦草
11	山柰酚	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	520-18-3	地锦草、枫香树叶
12	亚麻子油酸	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	68424-45-3	地锦草、香薷
13	ayapin	C ₁₀ H ₆ O ₄	494-56-4	地锦草
14	4',5-二羟基黄酮	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	6665-67-4	地锦草
15	软脂酸	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	57-10-3	地锦草、香薷
16	黄樟素	C ₁₀ H ₁₀ O ₂	94-59-7	樟树根、香薷
17	桉叶油醇	C ₁₀ H ₁₈ O	470-82-6	樟树根、香薷
18	樟脑	C ₁₀ H ₁₆ O	76-22-2	樟树根
19	α-萜品醇	C ₁₀ H ₁₈ O	98-55-5	樟树根
20	laurolicsine	C ₁₈ H ₁₉ NO ₄	5890-18-6	樟树根
21	网状番荔枝碱	C ₁₉ H ₂₃ NO ₄	3968-19-2	樟树根
22	香草醛	C ₈ H ₈ O ₃	121-33-5	枫香树叶
23	丁香酸	C ₉ H ₁₀ O ₅	530-57-4	枫香树叶
24	没食子酸乙酯	C ₉ H ₁₀ O ₅	831-61-8	枫香树叶
25	焦性没食子酸	C ₆ H ₆ O ₃	87-66-1	枫香树叶
26	没食子酸	C ₇ H ₆ O ₅	149-91-7	枫香树叶
27	原儿茶酸	C ₇ H ₆ O ₄	99-50-3	枫香树叶
28	12-羟基茉莉酸	C ₁₂ H ₁₈ O ₄	140631-27-2	枫香树叶
29	山柰素	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	491-54-3	枫香树叶
30	黄芩新素	C ₁₉ H ₁₈ O ₈	55084-08-7	枫香树叶
31	对羟基苯甲酸	C ₇ H ₆ O ₃	99-96-7	枫香树叶
32	3,4-二羟基-5-甲氧基-苯甲酸	C ₈ H ₈ O ₅	3934-84-7	枫香树叶
33	4-萜烯醇	C ₁₀ H ₁₈ O	562-74-3	枫香树叶
34	5-羟基-6,7-二甲氧基黄酮	C ₁₇ H ₁₄ O ₅	740-33-0	香薷
35	香芹酚乙酸酯	C ₁₂ H ₁₆ O ₂	6380-28-5	香薷
36	黄芩素-7-甲醚	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	29550-13-8	香薷
37	尼美西洋	C ₁₆ H ₁₃ N ₃ O ₃	2011-67-8	香薷
38	金合欢素	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	480-44-4	香薷
39	2-methylisoborneol	C ₁₁ H ₂₀ O	24393-70-2	香薷
40	麝香草酚	C ₁₀ H ₁₄ O	89-83-8	香薷
41	E-piperitol	C ₁₀ H ₁₈ O	16721-39-4	香薷
42	咖啡酸	C ₉ H ₈ O ₄	331-39-5	香薷
43	华良姜素	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	3301-49-3	香薷
44	(-)-冰片	C ₁₀ H ₁₈ O	464-45-9	香薷
45	4-异丙基-3-甲基苯酚	C ₁₀ H ₁₄ O	3228-02-2	香薷
46	二氢木蝴蝶素 A	C ₁₆ H ₁₄ O ₅	18956-18-8	香薷
47	金圣草黄素	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	491-71-4	香薷
48	木犀草素	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	491-70-3	香薷
49	香薷酮	C ₁₀ H ₁₄ O ₂	488-05-1	香薷
50	乙酸瑞香酯	C ₁₂ H ₁₆ O ₂	528-79-0	香薷
51	桑色素	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	480-16-0	香薷
52	芹菜素	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	520-36-5	香薷
53	苏芥苜黄酮	C ₁₇ H ₁₄ O ₅	3570-62-5	香薷

续表 1

序号	活性成分	分子式	CAS 号	来源
54	(-)-蒎品-4-醇	C ₁₀ H ₁₈ O	20126-76-5	香薷
55	邻苯二甲酸二异丁酯	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	84-69-5	香薷
56	乙酸橙花酯	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	141-12-8	香薷
57	L-芳樟醇	C ₁₀ H ₁₈ O	126-91-0	香薷
58	鼠李柠檬素	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	569-92-6	香薷
59	丁香酚	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	97-53-0	香薷
60	肉豆蔻醚	C ₁₁ H ₁₂ O ₃	607-91-0	香薷
61	isoelemicin	C ₁₂ H ₁₆ O ₃	487-12-7	香薷
62	榄香素	C ₁₂ H ₁₆ O ₃	487-11-6	香薷
63	(-)-石竹烯氧化物	C ₁₅ H ₂₄ O	1139-30-6	香薷
64	2-异丙基-5-甲基茴香醚	C ₁₁ H ₁₆ O	1076-56-8	香薷
65	正己醛	C ₆ H ₁₂ O	66-25-1	香薷
66	邻苯二甲酸二丁酯	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	84-74-2	香薷
67	百秋李醇	C ₁₅ H ₂₆ O	5986-55-0	香薷
68	1-甲基-4-(1-甲基乙烯基)环己醇	C ₁₀ H ₁₈ O	138-87-4	香薷
69	苯甲醛	C ₇ H ₆ O	100-52-7	香薷
70	香叶基丙酮	C ₁₃ H ₂₂ O	3796-70-1	香薷
71	硬脂酸	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	57-11-4	香薷
72	丹皮酚	C ₉ H ₁₀ O ₃	552-41-0	香薷
73	枯名醛	C ₁₀ H ₁₂ O	122-03-2	香薷
74	豆蔻酸	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	544-63-8	香薷
75	过氧法呢基丙酮	C ₁₈ H ₃₆ O	502-69-2	香薷
76	十七烷酸乙酯	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	14010-23-2	香薷
77	[R-(E)]-4-(2,6,6-trimethyl-2-cyclohexen-1-yl)-3-buten-2-one	C ₁₃ H ₂₀ O	24190-29-2	香薷
78	佛手柑内酯	C ₁₂ H ₈ O ₄	484-20-8	香薷
79	顺式 2,4,5-三甲氧基-1-丙烯基苯	C ₁₂ H ₁₆ O ₃	5273-86-9	香薷
80	(1R,5R)-carvyl acetate	C ₁₂ H ₁₈ O ₂	1205-42-1	香薷
81	β-紫罗兰酮	C ₁₃ H ₂₀ O	79-77-6	香薷
82	(S)-(+)-香芹酮	C ₁₀ H ₁₄ O	2244-16-8	香薷
83	十五醛	C ₁₅ H ₃₀ O	2765-11-9	香薷
84	(4R)-1-甲基-4-(1-甲基乙烯)-2-环己烯-1-醇	C ₁₀ H ₁₆ O	861892-40-2	香薷
85	(±)-α-红没药醇	C ₁₅ H ₂₆ O	515-69-5	香薷
86	阿片碱	C ₁₂ H ₁₄ O ₄	523-80-8	香薷
87	顺-茉莉酮	C ₁₁ H ₁₆ O	488-10-8	香薷
88	肉桂酸异丁酯	C ₁₃ H ₁₆ O ₂	122-67-8	香薷

2.2 肠炎宁颗粒治疗 FD 和 IBS-D 作用靶点筛选

通过将肠炎宁颗粒活性成分 Canonical SMILES 结构导入 SwissTargetPrediction 平台, 选择物种为“Homo sapiens”, 条件设为“Probability>0.3”, 预测得到了不重复的靶点共计 171 个。通过 Genecards 数据库以“functional diarrhea”为关键词搜索到 Relevance score>4 的相关靶点 2007 个, 以“diarrhea irritable bowel syndrome”为关键词搜索到 Relevance score>4 的相关靶点 1970 个, 将在 Genecards 数据库中检索得到的 FD 和 IBS-D 靶点与肠炎宁颗粒全方候选靶点在 Venny 2.1.0 中生成韦恩图, 映射筛选出 77 个共有靶点, 作为肠炎宁颗粒治疗 FD 和 IBS-D 的作用靶点, 见图 1。

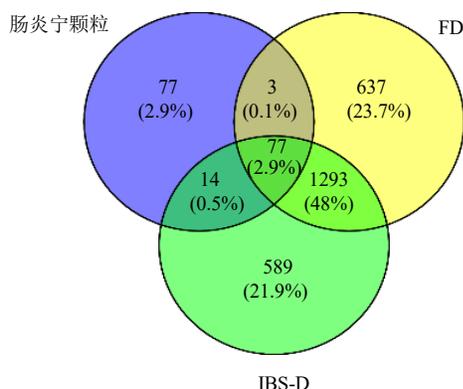


图 1 肠炎宁颗粒治疗 FD 和 IBS-D 靶点的 Venn 图
Fig. 1 Venn diagram of targets of Changyanning Granules in treatment of FD and IBS-D

2.3 肠炎宁颗粒“药材-活性成分-靶点”网络构建

利用 Cytoscape 3.9.1 软件处理得到“药材-活性成分-靶点”网络，见图 2，运用“Network Analyze”进行拓扑分析，该网络有 112 个节点、282 条边，各节点表示药材、成分、靶点，各节点间的边代表

“药材-成分”“成分-靶点”之间的对应关系，网络中平均相邻节点数为 5.212，网络密度 0.051，网络异质性为 1.504，网络中心度 0.424。表明肠炎宁颗粒治疗 FD 和 IBS-D 是基于多成分、多靶点的复杂协同作用。

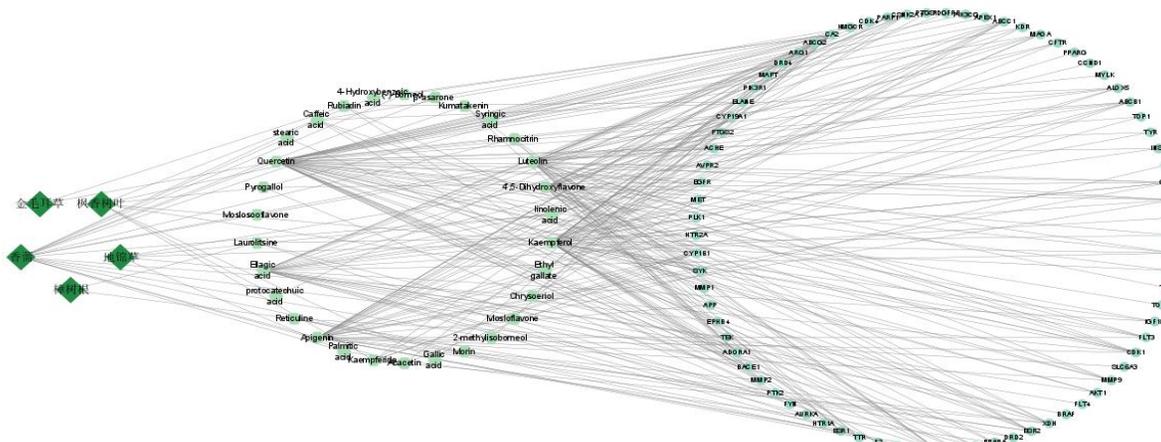


图 2 “药材-活性成分-靶点”网络

Fig. 2 “Traditional Chinese medicine-active ingredient-target” network

2.4 药物与疾病靶点交集 PPI 分析

将肠炎宁颗粒治疗 FD 与 IBS-D 的 77 个作用靶点输入 STRING 数据库，进行 PPI 网络构建，设定置信度为 0.9，隐藏游离靶标，下载 TSV 格式文件并导入 Cytoscape 3.9.1，绘制 PPI 网络图见图 3。运用“Network Analyze”进行拓扑分析，发现此网络中共有 55 个节点，130 条边，节点代表靶点，每条边则代表靶点互动关系，节点的大小与颜色代表

靶点的度值，节点越大，颜色越深，表明作用越关键。以节点连接度值>中位数为核心靶点，经计算度值中位数为 4，其中原癌基因酪氨酸蛋白激酶（proto-oncogene tyrosine-protein kinase, SRC）、磷脂酰肌醇-3 激酶调节亚基 1（phosphoinositide-3-kinase regulatory subunit 1, PIK3R1）、雌激素受体 1（estrogen receptor, ESR1）、酪氨酸激酶 Fyn（tyrosine kinase Fyn, FYN）、蛋白激酶 B1（protein kinase B1, AKT1）、细胞周期蛋白依赖激酶 1（cyclin dependent kinase 1, CDK1）、蛋白酪氨酸激酶 2（protein tyrosine kinase 2, PTK2）、糖原合成酶激酶 3B（glycogen synthase kinase 3B, GSK3B）、细胞周期蛋白 A2（cyclin A2, CCNA2）、表皮生长因子受体（epidermal growth factor receptor, EGFR）、CDK4、CDK6、CCND1、极光激酶 A（aurora kinase A, AURKA）、血小板衍生生长因子受体（platelet-derived growth factor receptor, PDGFRB）、CDK2、淀粉样前体蛋白（amyloid precursor protein, APP）、磷脂酰肌醇-3-激酶（phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate 3-kinase, PIK3CG）、拓扑异构酶 2α（topoisomerase 2α, TOP2A）、erb-b2 受体酪氨酸激酶 2（erb-b2 receptor tyrosine kinase 2, ERBB2）、基质金属蛋白酶 2（matrix metalloproteinase 2, MMP2）、MMP9、激酶插入域受体（kinase insert domain receptor, KDR）、脾酪氨

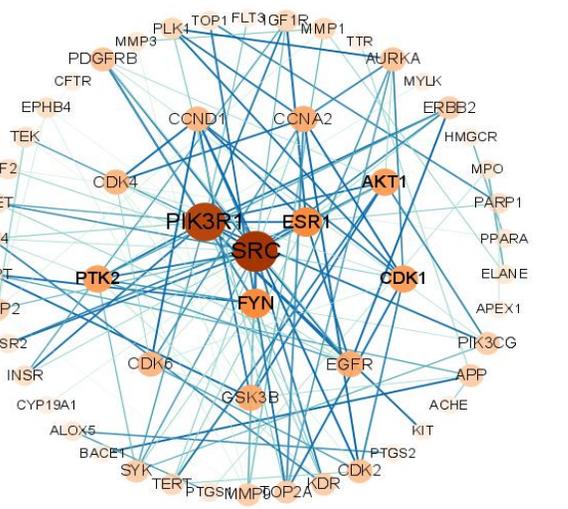


图 3 肠炎宁颗粒治疗 FD 和 IBS-D 潜在作用靶点 PPI 网络
Fig. 3 PPI network of potential targets of Changyanning Granules in treatment of FD and IBS-D

酸激酶 (spleen tyrosine kinase, SYK) 24 个核心靶点的度值中位数值大于 4。

2.5 GO 功能富集分析

利用 OmicsBean 分析平台对 24 个核心靶点进行 GO 功能注释分析, 共得 BP 285 个条目 ($P < 0.05$), CC 270 个条目 ($P < 0.05$), MF 225 个条目

($P < 0.05$), 按 P 值排序, 选取排名前 10 的项目进行可视化展示, 绘制 GO 功能注释分析柱状图, 见图 4。其中, BP 主要涉及大分子代谢过程的正调控、对含氧化合物的反应等; CC 主要涉及细胞质基质、细胞核等; MF 主要涉及激酶活性、作用于蛋白质的催化活性等。

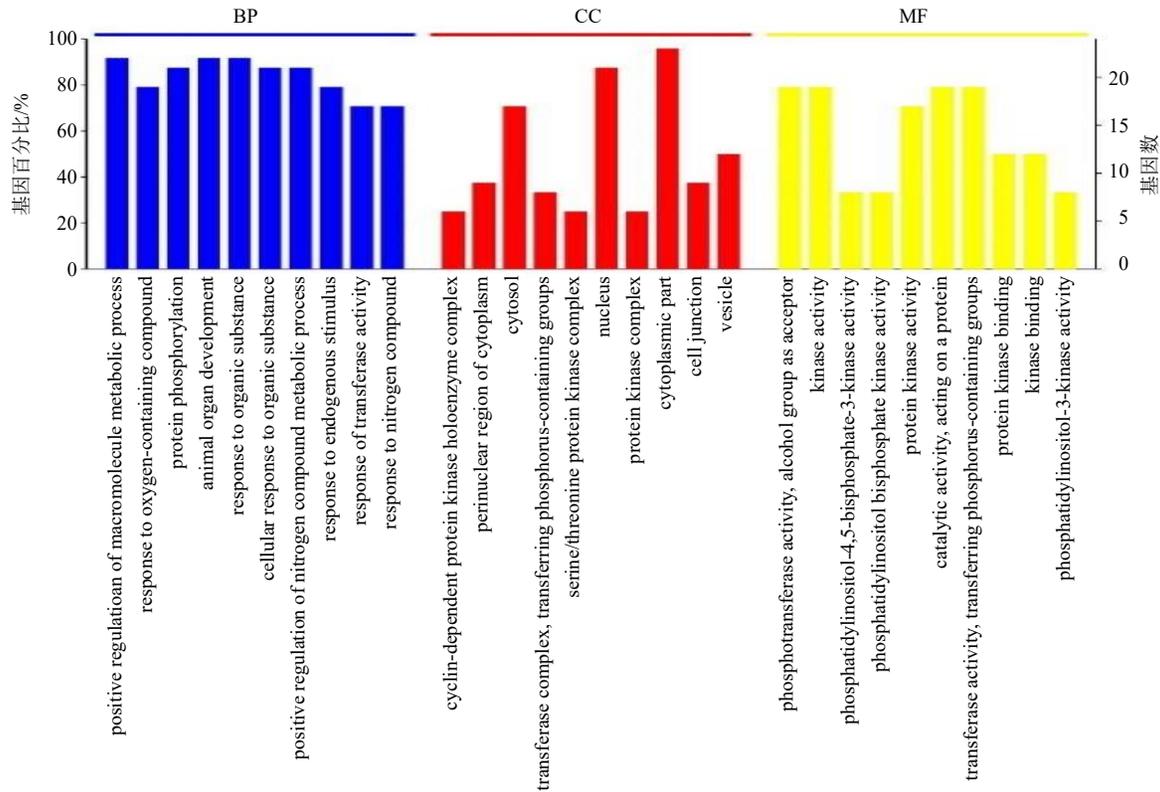


图 4 肠炎宁颗粒治疗 FD 和 IBS-D 的核心靶点 GO 功能富集分析 (前 10)

Fig. 4 GO enrichment analysis of core targets of Changyanning Granules in treatment of FD and IBS-D (top 10)

2.6 KEGG 通路富集分析

利用 OmicsBean 分析平台对 24 个核心靶点进行 KEGG 通路富集分析, 共获得 105 条信号通路 ($P < 0.05$), 选取排名前 10 的通路进行可视化处理, 绘制 KEGG 信号通路气泡图, 见图 5。其中 rich factor 表示相关基因中位于该通路的基因数目与所有注释基因中位于该通路的基因总数的比值, 该值越大代表富集程度越高。分析富集的通路发现, 主要有内分泌抵抗通路、磷脂酰肌醇 3-激酶 (phosphatidylinositol-3-kinase, PI3K)/蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt) 信号通路等。

2.7 肠炎宁颗粒“关键活性成分-核心靶点-通路”网络构建

根据 24 个核心靶点对应出具有治疗 FD 和 IBS-D 的肠炎宁颗粒关键活性成分有 10 个, 其中金毛

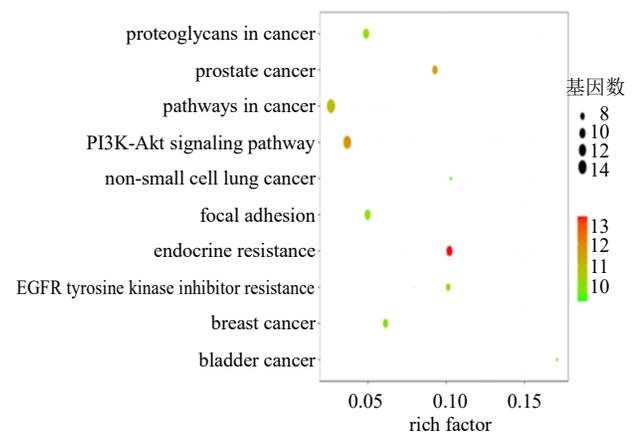


图 5 肠炎宁颗粒治疗 FD 和 IBS-D 的核心靶点 KEGG 通路富集分析 (前 10)

Fig. 5 KEGG pathway enrichment analysis of core targets of Changyanning Granules in treatment of FD and IBS-D (top 10)

耳草 2 个, 为甲基异茜草素、槲皮素; 地锦草 3 个, 为 4',5-二羟基黄酮、山柰酚、鞣花酸; 枫香树叶 2 个, 为焦性没食子酸、山柰酚; 香薷 5 个, 为金圣草黄素、咖啡酸、木犀草素、芹菜素、槲皮素。金毛耳草和香薷含有共有成分 1 个, 为槲皮素; 地锦草和枫香树叶含有共有成分 1 个, 为山柰酚。利用 Cytoscape 3.9.1 软件得到肠炎宁颗粒 24 个核心靶点的“关键活性成分-核心靶点-通路”网络, 见图 6。运用“Network Analyze”进行拓扑分析, 该网络有 139 个节点、576 边, 网络中各节点代表关键活性成

分、核心靶点、信号通路, 各节点间边表示“关键活性成分-核心靶点”“核心靶点-通路的相互作用”, 网络中平均相邻节点数为 8.259, 网络密度为 0.060, 网络异质性为 1.437, 网络中心度为 0.579, 网络结果显示存在 1 个分子与多个核心靶点蛋白的相互作用, 也存在不同分子作用于同 1 个靶点蛋白的现象, 同时也显示了 1 个核心靶点可对应多条信号通路, 表明肠炎宁颗粒可能通过多成分、多靶点、多通路治疗 FD 与 IBS-D, 初步阐释了肠炎宁颗粒治疗 FD 与 IBS-D 的主要药效物质基础和作用机制。

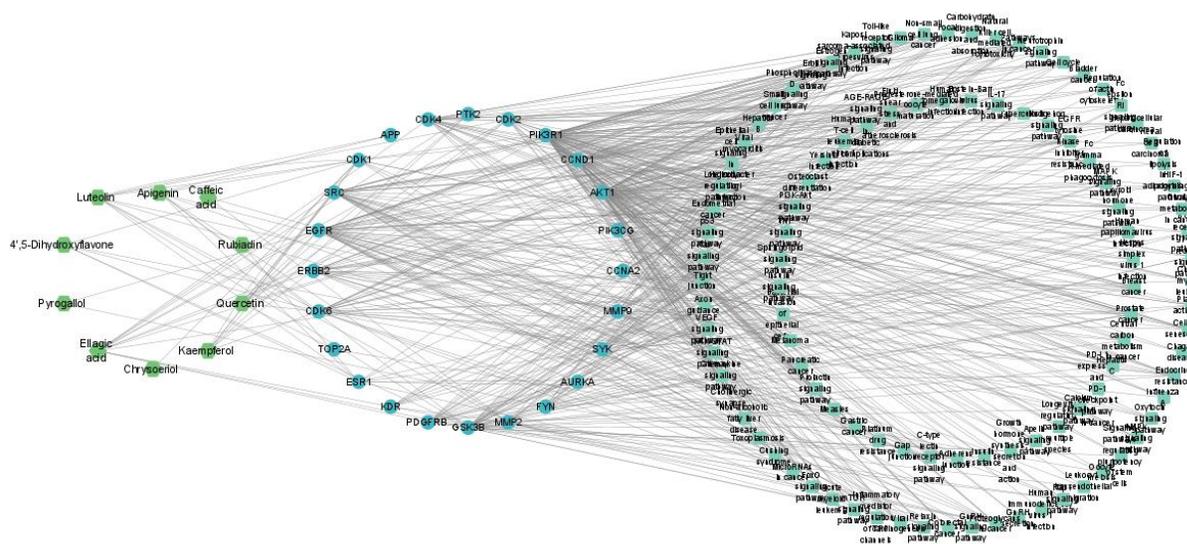


图 6 “关键活性成分-核心靶点-信号通路”网络

Fig. 6 “Key active ingredient-core target-signaling pathway” network

2.8 分子对接结果

利用 Schrödinger2020Maestro12.4 软件将 10 个关键活性成分(甲基异茜草素、槲皮素、4',5-二羟基黄酮、山柰酚、鞣花酸、焦性没食子酸、金圣草黄素、咖啡酸、木犀草素、芹菜素)与 PPI 网络图中 24 个核心蛋白(SRC、PIK3R1、ESR1、FYN、AKT1、CDK1、PTK2、GSK3B、CCNA2、EGFR、CDK4、CDK6、CCND1、AURKA、PDGFRB、CDK2、APP、PIK3CG、TOP2A、ERBB2、MMP2、MMP9、KDR、SYK)进行分子对接。配体和受体结合能越低, 结合越稳定, 发生作用的可能性越大, 一般认为, 结合能小于 0 表示两者间可以自发结合, 小于-20.93 kJ/mol 说明有较好的结合活性, 小于-29.30 kJ/mol 表示有强烈的结合活性^[20]。如表 2 所示, 10 个关键活性成分和 24 个核心蛋白均可以自发结合。其中木犀草素与 16 个核心靶点有强烈的结合活性, 甲

基异茜草素与 15 个核心靶点有强烈的结合活性, 槲皮素与 15 个核心靶点有强烈的结合活性, 鞣花酸与 15 个核心靶点有强烈的结合活性, 芹菜素与 14 个核心靶点有强烈的结合活性, 山柰酚与 14 个核心靶点有强烈的结合活性, 4',5-二羟基黄酮与 13 个核心靶点有强烈的结合活性, 咖啡酸与 6 个核心靶点有强烈的结合活性。选取 10 个关键活性成分与各自对应打分最高的核心蛋白可视化, 其结合模式见图 7。甲基异茜草素与 CDK4 通过氢键作用和氨基酸残基 VALA:83 结合, 通过疏水键与 PHE A:80 结合, 结合能为-40.17 kJ/mol; 槲皮素与 KDR 通过氢键作用和氨基酸残基 CYS A:919、GLU A:917、ASP A:1046 结合, 结合能为-44.77 kJ/mol; 4',5-二羟基黄酮与 KDR 通过氢键作用和氨基酸残基 APS A:1046 结合, 通过疏水键与 PHE A:1047 结合, 结合能为-41.00 kJ/mol; 山柰酚与 KDR 通过氢键作用

表 2 肠炎宁颗粒治疗 FD 和 IBS-D 的关键活性成分与核心蛋白结合能

Table 2 Binding energy of key active ingredients and core proteins of Changyanning Granules in treatment of FD and IBS-D

核心靶点	结合能/(kJ·mol ⁻¹)									
	甲基异茜草素	槲皮素	4',5-二羟基黄酮	山柰酚	鞣花酸	焦性没食子酸	金圣草黄素	咖啡酸	木犀草素	芹菜素
SRC (2BDJ)	-33.89	-6.40	-37.24	-36.40	-30.96	-26.36	-39.75	-29.29	-41.84	-37.66
PIK3R1 (4OVV)	-21.76	-23.43	-17.15	-20.50	-20.08	-21.34	-17.15	-17.15	-21.34	-17.99
ESR1 (7UJY)	-35.98	-36.40	-35.56	-35.98	-31.80	-26.36	-36.82	-26.36	-37.24	-37.66
FYN (2DQ7)	-37.24	-39.75	-38.91	-39.75	-32.64	-25.52	-36.82	-29.29	-35.98	-37.66
AKT1 (3OS5)	-30.54	-29.71	-27.20	-31.38	-30.54	-25.10	-30.12	-26.36	-30.96	-28.03
CDK1 (6GU7)	-24.69	-28.87	-28.45	-28.45	-29.71	-24.27	-27.20	-23.01	-28.87	-28.03
PTK2 (6I8Z)	-34.73	-33.47	-30.54	-22.59	-30.54	-20.50	-30.96	-26.78	-33.47	-29.71
GSK3B (7B6F)	-35.98	-36.82	-37.66	-34.31	-38.91	-22.59	-38.07	-32.22	-36.82	-37.66
CCNA2 (1PKD)	-34.73	-33.89	-34.73	-36.40	-31.80	-22.18	-34.31	-20.08	-35.56	-34.73
EGFR (5Y9T)	-22.59	-22.59	-18.41	-22.59	-17.57	-19.66	-18.83	-18.41	-18.83	-22.18
CDK4 (1GIJ)	-40.17	-35.56	-31.80	-34.73	-39.33	-25.10	-34.31	-29.29	-33.89	-35.98
CDK6 (2EUF)	-36.40	-36.82	-35.15	-33.89	-34.31	-24.69	-37.66	-25.94	-36.40	-34.73
CCND1 (2W96)	-18.41	-17.57	-17.57	-15.48	-17.15	-17.99	-17.15	-16.32	-19.66	-17.57
AURKA (5DT0)	-33.89	-31.80	-34.73	-30.96	-38.91	-25.94	-36.40	-24.69	-36.82	-35.56
PDGFRB (1H9O)	-20.08	-20.50	-18.41	-20.50	-25.10	-21.76	-21.34	-19.25	-21.76	-20.08
CDK2 (2C5Y)	-38.91	-35.98	-38.07	-35.56	-37.24	-28.03	-37.24	-34.31	-33.05	-37.24
APP (4RD9)	-20.92	-19.66	-18.41	-23.43	-19.66	-20.92	-21.34	-15.90	-23.01	-20.92
PIK3CG (7JWE)	-31.38	-35.98	-32.64	-37.66	-26.78	-20.08	-38.49	-25.52	-37.24	-38.07
TOP2A (1ZXM)	-34.31	-30.96	-23.85	-29.71	-30.54	-23.85	-30.96	-40.58	-32.22	-33.89
ERBB2 (7JXH)	-22.59	-24.27	-23.01	-21.34	-22.59	-22.59	-25.52	-22.18	-23.85	-24.69
MMP2 (7XGJ)	-23.01	-20.50	-17.15	-20.50	-23.01	-21.76	-19.25	-26.78	-22.18	-22.18
MMP9 (5I12)	-24.27	-28.45	-28.87	-28.03	-24.69	-25.52	-28.45	-34.31	-30.12	-29.29
KDR (6GQQ)	-35.15	-44.77	-41.00	-46.02	-34.31	-25.94	-43.93	-30.12	-45.19	-45.19
SYK (4FL1)	-30.54	-33.47	-29.71	-31.38	-31.38	-25.94	-31.38	-39.75	-31.80	-30.96

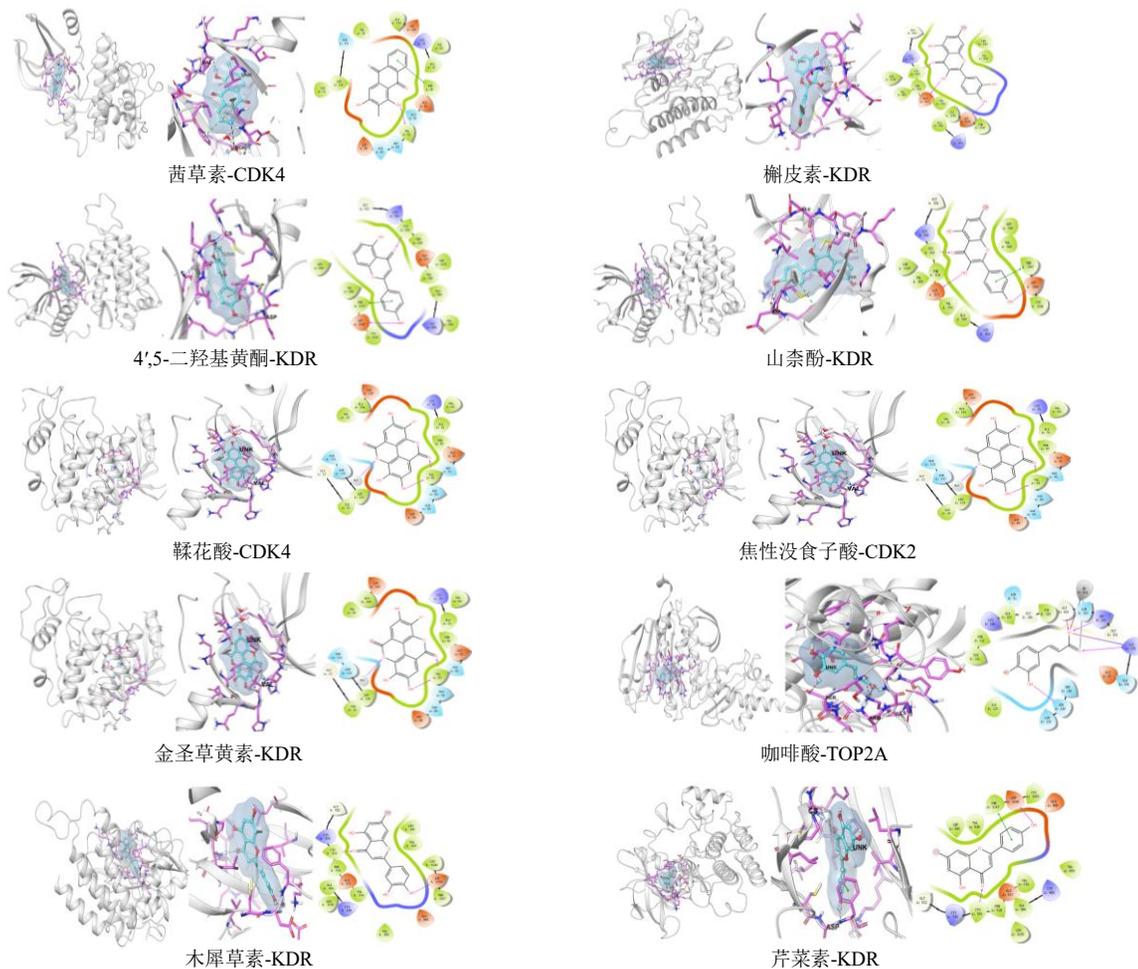


图 7 10 个关键活性成分与各自对应打分最高的核心靶点分子对接

Fig. 7 Molecular docking of 10 key active ingredients and highest scoring core targets

和氨基酸残基 CYS A:919、GLU A:917、ASP A:1046 结合, 通过疏水键与 PHE A:1047 结合, 结合能为 -46.02 kJ/mol; 鞣花酸与 CDK4 通过氢键作用和氨基酸残基 VAL A:83 结合, 结合能为 -39.33 kJ/mol; 焦性没食子酸与 CDK2 通过氢键作用和氨基酸残基 LEU A:83 结合, 结合能为 -28.03 kJ/mol; 金圣草黄素与 KDR 通过氢键作用和氨基酸残基 CYS A:919、ASP A:1046 结合, 结合能为 -43.93 kJ/mol; 咖啡酸与 TOP2A 通过氢键作用和氨基酸残基 GLY B:164、MG B:904、ARG B:162、LYS B:378、SER B:149 结合, 结合能为 -40.58 kJ/mol; 木犀草素与 KDR 通过氢键作用和氨基酸残基 CYS A:919、ASP A:1046 结合, 结合能为 -45.19 kJ/mol; 芹菜素与 KDR 通过氢键作用和氨基酸残基 ASP A:1046 结合, 通过疏水键与 PHE A:1047 结合, 结合能为 -45.19 kJ/mol。

3 讨论

近年来, FD 和 IBS-D 等肠病已成为我国乃至全球范围内的流行病, 严重降低了患者生活质量, 同时也增加了其经济负担, 且目前 FD 和 IBS-D 的病因和发病机制尚未完全明确。研究认为 FD 和 IBS-D 是性别、年龄、遗传、免疫、环境等因素及其相互叠加作用的结果^[21-23]。现代医学认为心理因素、免疫功能异常、内脏高敏感性、肠道菌群失调、消化系统感染、脑肠轴、自主神经功能与其发病相关^[24-25], 现在常用抗生素、吸附剂和调节肠道内环境等方式治疗 FD 和 IBS-D, 短期疗效尚可, 但停药后复发率高且不良反应明显^[26-28]。中医学认为 FD 和 IBS-D 的发病的病因主要为外邪侵袭及饮食内伤, 同时情志不遂、劳倦及久病体虚等也是重要影响因素^[29-30]。肠炎宁颗粒属于中成药, 具有清热利湿、止泻行气的功效^[31], 常用于治疗 FD 和 IBS-D 等肠性疾病, 但其作用机制尚无系统性研究。

本研究运用网络药理学和分子对接技术探索肠炎宁颗粒治疗 FD 和 IBS-D 的作用机制, 以口服生物利用度和类药性为筛选标准, 共得到肠炎宁颗粒活性成分 88 个, 根据“药材-成分-靶点”网络分析筛选出肠炎宁颗粒治疗 FD 和 IBS-D 的活性成分 30 个及作用靶点 77 个, 根据“关键活性成分-核心靶点-通路”网络分析, 最终拟合肠炎宁颗粒治疗 FD 和 IBS-D 的主要活性成分有甲基异茜草素、槲皮素、4',5-二羟基黄酮、山柰酚、鞣花酸、焦性没食子酸、金圣草黄素、咖啡酸、木犀草素、芹菜素。槲皮素是一种天然的黄酮醇, 具有抗炎镇痛、抗氧化、抗

癌和抗菌等多种生物活性^[32-33]。5-羟色胺作为一种广泛存在人体中枢神经及胃肠道中的脑肠肽, 参与内脏疼痛及胃肠道动力, 与 FD 和 IBS-D 密切相关^[34]。研究表明, 槲皮素可降低结肠 5-羟色胺水平, 减轻炎症诱导型肠易激综合征大鼠的内脏高敏感性及内脏运动反应^[35]; 槲皮素可通过增强细胞间紧密连接, 调节肠道免疫反应, 维系肠道微生态稳定, 进而保护肠道黏膜屏障功能^[36]。山柰酚是一种黄酮类化合物, 具有抗炎、抗氧化以及抗癌等作用^[37-38]。研究发现, 槲皮素和山柰酚均可通过调控 Ca^{2+} 通道, 抑制大鼠结肠纵肌的自发收缩, 进而达到解痉作用^[39]。鞣花酸是一种广泛存在于植物中的天然多酚, 大量文献报道鞣花酸在清除自由基、抗突变、抗肿瘤、抗菌、抗过敏、抗衰老以及抗氧化等方面有突出作用^[40-41]。鞣花酸对肠道上皮细胞具有显著的保护作用, 能够促进肠道内容物中营养物质的吸收, 防止肠道中的致病菌在肠道上皮细胞中定殖^[42], 而且其最大优点是其作为亲营养素的一种, 不影响肠道菌群, 并且没有停药期^[43]。此外, 鞣花酸还可通过降低血液炎症因子表达, 进而产生改善小肠上皮细胞炎症水平^[44]。木犀草素是一种具有多种药理活性的黄酮类化合物, 具有抗氧化、抗炎、抗肿瘤、抑菌等活性^[45-46]。研究表明, 木犀草素在调节肠道免疫系统和治疗慢性炎症性肠病中起着重要作用, 可以减少小肠内容物的体积和重量, 从而发挥止泻作用^[47-48]。在 10 个主要活性成分中, 金毛耳草占 2 个, 地锦草占 3 个, 枫香树叶占 2 个, 香薷占 5 个, 由此推测金毛耳草、地锦草、枫香树叶和香薷可能是肠炎宁颗粒治疗 FD 和 IBS-D 的核心中药。

通过构建 PPI 网络图, 筛选得出肠炎宁颗粒治疗 FD 和 IBS-D 的核心靶点有 SRC、PIK3R1、ESR1、FYN、AKT1、PTK2、GSK3B、EGFR、MMP2、MMP9 等, 体现出了中药治疗的多靶点特点。AKT1 作为 Akt 的亚型, 可参与免疫、代谢、生殖等多种生物过程^[49], 研究表明, Akt 是治疗肠易激综合征的焦点分子, 而 AKT1 作为 Akt 的同源基因, 推测其应与肠易激综合征有密切联系^[50-51]。MMP2 和 MMP9 在炎症因子表达等方面起着重要作用, 有研究显示 MMP2 和 MMP9 在肠道局部损伤和肠道炎症中表达水平显著升高^[52]。

GO 功能富集结果显示肠炎宁颗粒作用于 FD 和 IBS-D 的核心靶点影响生物过程主要包括大分子代谢过程的正调控、对含氧化合物的反应、蛋白质

磷酸化、动物器官发育、对有机物质的反应、细胞对有机物质的反应、氮化合物代谢过程的正调控、对内源性刺激的反应、转移酶活性的反应、对氮化合物的反应等,表明这些生物过程可能在 FD 和 IBS-D 的发生和发展中体现了重要作用。

KEGG 通路富集分析结果显示,内分泌抵抗、PI3K/Akt、前列腺癌、癌症、膀胱癌等通路可能是肠炎宁颗粒治疗 FD 和 IBS-D 的潜在信号通路。EGFR 可介导 PI3K/Akt 信号通路,在细胞凋亡和细胞发育中起关键作用^[53]。PI3K 是细胞内磷脂酰肌醇的激酶,激活后的 PI3K 通过质膜上产生的第 2 信使磷脂酰肌醇三磷酸与细胞内含有 PH 结构域的信号蛋白 Akt 结合,从 Akt 转移至细胞膜并改变其构象。研究表明,可通过抑制 PI3K/Akt 信号通路的活化,从而减轻肠道炎症反应,达到保护肠道黏膜的作用^[54]。

分子对接结果显示,肠炎宁颗粒的 10 个主要活性成分与 24 个核心靶点平均结合能为-29.30 kJ/mol,结合能力最高的为 KDR 与山柰酚,结合能为-46.02 kJ/mol;结合能力最低的为 CCND1 与山柰酚,结合能为-15.48 kJ/mol,表明肠炎宁颗粒主要活性成分和核心受体蛋白可稳定结合,其中 KDR、SRC、TOP2A、CDK4、SYK 与主要活性成分对接结果较好,提示其可能为肠炎宁颗粒治疗 FD 和 IBS-D 关键靶点。

综上所述,本研究发现,肠炎宁颗粒主要活性成分甲基异茜草素、槲皮素、4',5-二羟基黄酮、山柰酚、鞣花酸、焦性没食子酸、金圣草黄素、咖啡酸、木犀草素、芹菜素等可能通过与 SRC、PIK3R1、ESR1、FYN、AKT1、PTK2、GSK3B、EGFR、MMP2、MMP9 等蛋白相结合,进一步调节内分泌抵抗、PI3K/Akt、前列腺癌、癌症、膀胱癌、EGFR 酪氨酸激酶抑制剂抵抗等通路,从而增强肠屏障功能、降低内脏敏感、减少炎症反应、调节肠道菌群等治疗 FD 和 IBS-D。从系统生物学角度对肠炎宁颗粒治疗 FD 和 IBS-D 的作用机制进行预测结果的分析,符合中医运用复方中药多靶点、多途径、多系统,整体调理机体、防治疾病的特点,但网络药理学研究方法存在一定的局限性,本研究作为一种预测,是在分子机制层面并结合参考文献进行的预测探讨,后期仍需采用实验验证的方法进一步验证理论分析的准确性。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 陈兴慧,刘力,唐旭东,等.温阳止泻汤治疗功能性腹泻脾肾虚证临床研究[J].现代中医药,2017,37(4):21-24.
- [2] Lembo A, Rao S S C, Heimanson Z, et al. Abdominal pain response to rifaximin in patients with irritable bowel syndrome with diarrhea [J]. *Clin Transl Gastroenterol*, 2020, 11(3): e00144.
- [3] 曾恩锦,唐旭东,王凤云,等.腹泻型肠易激综合征和功能性腹泻辨治探讨[J].中国中医药信息杂志,2021,28(3):16-18.
- [4] 周丽,徐派的,张红星.肠道菌群与常见功能性胃肠病相关性的研究进展[J].华中科技大学学报:医学版,2020,49(6):756-760.
- [5] 钟成梁,李新民,马斯风,等.肠炎宁颗粒治疗小儿急性水样便腹泻(湿热证)的多中心临床研究[J].现代药物与临床,2018,33(8):1995-2000.
- [6] 张蕾,吕健,谢雁鸣.肠炎宁颗粒治疗小儿消化不良有效性和安全性的系统评价与 Meta 分析[J].中国全科医学,2022,25(14):1765-1771.
- [7] Hopkins A L. Network pharmacology [J]. *Nat Biotechnol*, 2007, 25(10): 1110-1111.
- [8] 孟凡翠,汤立达.中药网络药理学研究中存在的问题与发展展望[J].中草药,2020,51(8):2232-2237.
- [9] 牛明,张斯琴,张博,等.《网络药理学评价方法指南》解读[J].中草药,2021,52(14):4119-4129.
- [10] Liu C X, Cheng Y Y, Guo D E, et al. A new concept on quality marker for quality assessment and process control of Chinese medicines [J]. *Chin Herb Med*, 2017, 9(1): 3-13.
- [11] Ru J L, Li P, Wang J N, et al. TCMSP: A database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines [J]. *J Cheminform*, 2014, 6: 13.
- [12] Kim S, Thiessen P A, Bolton E E, et al. PubChem substance and compound databases [J]. *Nucleic Acids Res*, 2016, 44(D1): D1202-D1213.
- [13] Daina A, Michielin O, Zoete V. SwissADME: A free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules [J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 42717.
- [14] Daina A, Michielin O, Zoete V. SwissTargetPrediction: Updated data and new features for efficient prediction of protein targets of small molecules [J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(W1): W357-W364.
- [15] Stelzer G, Rosen N, Plaschkes I, et al. The GeneCards suite: From gene data mining to disease genome sequence analyses [J]. *Curr Protoc Bioinformatics*, 2016, 54: 1.30.1-1.30.1.30.33.

- [16] 孙元芳, 李冰冰, 关永霞, 等. 基于网络药理学和分子对接技术探讨柴银颗粒抗冠状病毒感染潜在分子机制 [J]. 中草药, 2020, 51(19): 4999-5009.
- [17] Szklarczyk D, Morris J H, Cook H, *et al.* The STRING database in 2017: Quality-controlled protein-protein association networks, made broadly accessible [J]. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45(D1): D362-D368.
- [18] 周稼荣, 刘毅, 陈金鹏, 等. 基于网络药理学的夏黄颗粒治疗阿片类药物所致便秘的作用机制研究 [J]. 中草药, 2020, 51(23): 6015-6022.
- [19] Burley S K, Berman H M, Kleywegt G J, *et al.* Protein data bank (PDB): The single global macromolecular structure archive [J]. *Methods Mol Biol*, 2017, 1607: 627-641.
- [20] 单萍, 姚汉云, 王莉, 等. 基于网络药理学和分子对接的苏合香丸治疗缺血性卒中的机制探究 [J]. 药物评价研究, 2022, 45(7): 1294-1311.
- [21] 张梦阳. 毫火针治疗腹泻型肠易激综合征脾虚湿盛证临床疗效观察 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2021.
- [22] 吴宇玲. 调肠克敏方治疗 IBS-D 的临床试验和期中分析 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2021.
- [23] 史林林, 刘力, 刘智斌, 等. 针药结合治疗功能性腹泻 [J]. 中医学报, 2019, 34(9): 1993-1996.
- [24] 刘先秒, 陈佩婵, 郑振. 补充益生菌对功能性腹泻患者焦虑抑郁状态的影响 [J]. 中国微生态学杂志, 2021, 33(4): 454-457.
- [25] Isken O, Langerwisch U, Schönherr R, *et al.* Functional characterization of bovine viral diarrhea virus nonstructural protein 5A by reverse genetic analysis and live cell imaging [J]. *J Virol*, 2014, 88(1): 82-98.
- [26] 周丹, 谢欣城, 朱元东. 匹维溴铵、蒙脱石散及双歧杆菌四联活菌片治疗腹泻型肠易激综合征的临床疗效 [J]. 中国现代医生, 2022, 60(13): 31-33.
- [27] 万丽珠. 针刺联合参苓白术汤辅助西药治疗脾虚型功能性腹泻患者的效果 [J]. 中国民康医学, 2022, 34(1): 85-87.
- [28] 田帝, 王垂杰. 中西医治疗功能性腹泻研究进展 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2019, 21(11): 222-224.
- [29] 张思沅. 解郁健脾饮治疗肝郁脾虚型腹泻型肠易激综合征临床疗效观察 [D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2020.
- [30] 高莹, 王垂杰. 功能性腹泻辨证论治及辨病论治的临床研究进展 [J]. 按摩与康复医学, 2019, 10(5): 57-59.
- [31] 吴育强, 吴玉菡, 林果, 等. 肠炎宁颗粒质量标准控制研究 [J]. 中国医药导刊, 2018, 20(10): 619-622.
- [32] Lesjak M, Beara I, Simin N, *et al.* Antioxidant and anti-inflammatory activities of quercetin and its derivatives [J]. *J Funct Foods*, 2018, 40: 68-75.
- [33] Kumar V D, Verma P R P, Singh S K. Morphological and *in vitro* antibacterial efficacy of quercetin loaded nanoparticles against food-borne microorganisms [J]. *LWT Food Sci Technol*, 2016, 66: 638-650.
- [34] 李杰. 电针不同穴位组合对功能性腹泻大鼠空肠肠嗜铬细胞和 5-HT 的影响研究 [D]. 咸阳: 陕西中医药大学, 2016.
- [35] Qin H Y, Zang K H, Zuo X, *et al.* Quercetin attenuates visceral hypersensitivity and 5-hydroxytryptamine availability in postinflammatory irritable bowel syndrome rats: Role of enterochromaffin cells in the colon [J]. *J Med Food*, 2019, 22(7): 663-671.
- [36] 梅华迪, 李袁飞, 马现永, 等. 槲皮素对动物肠道黏膜屏障功能的影响及其调控机制 [J]. 动物营养学报, 2022, 34(9): 5475-5488.
- [37] Imran M, Salehi B, Sharifi-Rad J, *et al.* Kaempferol: A key emphasis to its anticancer potential [J]. *Molecules*, 2019, 24(12): E2277.
- [38] Dabeek W M, Marra M V. Dietary quercetin and kaempferol: Bioavailability and potential cardiovascular-related bioactivity in humans [J]. *Nutrients*, 2019, 11(10): 2288.
- [39] Nigusse T, Zhang L, Wang R, *et al.* Flavonoids in a crude extract of *Catha edulis* inhibit rat intestinal contraction via blocking Ca^{2+} channels [J]. *Neurogastroenterol Motil*, 2019, 31(7): e13602.
- [40] Li J, Wang G L, Hou C, *et al.* Punicalagin and ellagic acid from pomegranate peel induce apoptosis and inhibits proliferation in human HepG2 hepatoma cells through targeting mitochondria [J]. *Food Agric Immunol*, 2019, 30(1): 897-912.
- [41] Singh B, Singh J P, Kaur A, *et al.* Antimicrobial potential of pomegranate peel: A review [J]. *Int J Food Sci Technol*, 2019, 54(4): 959-965.
- [42] Kilic I, Yeşiloğlu Y, Bayrak Y. Spectroscopic studies on the antioxidant activity of ellagic acid [J]. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, 2014, 130: 447-452.
- [43] Galano A, Francisco Marquez M, Pérez-González A. Ellagic acid: An unusually versatile protector against oxidative stress [J]. *Chem Res Toxicol*, 2014, 27(5): 904-918.
- [44] 郑志, 姜林娟, 朱瑜, 等. 鞣花酸对 DSS 诱导的溃疡性结肠炎小鼠的改善及对 COX2/p38/JNK/ERK/1κB-α/NF-κB 和 iNOS/3-NT/CYP2E1 信号通路的作用 [J]. 食品与药品, 2022, 24(4): 295-300.
- [45] 杨悌, 张代玲, 万启军, 等. 木犀草素对结肠癌细胞生长的影响及作用机制研究 [J]. 实用临床医药杂志, 2022, 26(12): 84-90.
- [46] 胡泽香, 佟雷, 耿艳萌, 等. 木犀草素的药理活性及其制剂研究进展 [J]. 中医临床研究, 2022, 14(10): 141-

- 145.
- [47] Wardill H R, Bowen J M, van Seville Y Z A, *et al.* TLR4-dependent claudin-1 internalization and secretagogue-mediated chloride secretion regulate irinotecan-induced diarrhea [J]. *Mol Cancer Ther*, 2016, 15(11): 2767-2779.
- [48] Pandit M, Acharya S, Gu Y, *et al.* Geranylgeranyl pyrophosphate amplifies Treg differentiation via increased IL-2 expression to ameliorate DSS-induced colitis [J]. *Eur J Immunol*, 2021, 51(6): 1461-1472.
- [49] 郝志晔. 中药对伊立替康所致迟发性腹泻高危人群的临床研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2012.
- [50] Kuo B, Bhasin M, Jacquart J, *et al.* Genomic and clinical effects associated with a relaxation response mind-body intervention in patients with irritable bowel syndrome and inflammatory bowel disease [J]. *PLoS One*, 2015, 10(4): e0123861.
- [51] 卢鑫, 张馨月, 林逸婷, 等. 基于网络药理学-分子对接探讨四逆散“异病同治”溃疡性结肠炎和肠易激综合征的作用机制 [J]. *中药药理与临床*, 2022, 38(4): 167-174.
- [52] Lucafò M, Pugnetti L, Bramuzzo M, *et al.* Long non-coding RNA GAS5 and intestinal MMP2 and MMP9 expression: A translational study in pediatric patients with IBD [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(21): E5280.
- [53] Pei T M, Meng F Z, Xiao P, *et al.* MUC13 promotes intrahepatic cholangiocarcinoma progression via EGFR/PI3K/AKT pathways [J]. *J Hepatol*, 2020, 72(4): 761-773.
- [54] 战晶玉, 袁星星, 王炳予, 等. 连草泻痢胶囊对溃疡性结肠炎小鼠模型肠黏膜炎症因子及 TLR4/PI3K/Akt/mTOR 信号通路的影响 [J]. *海南医学院学报*, 2021, 27(24): 1872-1877.

[责任编辑 李亚楠]