

七十味珍珠丸对小鼠肠道菌群的影响

张斌斌¹，聂雨¹，胡安玲¹，徐尚福¹，杜玉枝²，刘杰^{1*}

(1. 遵义医科大学 基础药理教育部重点实验室暨特色民族药教育部国际合作联合实验室, 贵州 遵义 563003; 2. 中国科学院 西北高原生物研究所, 青海省藏药药理学和安全性评价研究重点实验室, 青海 西宁 810008)

摘要: 目的 探索七十味珍珠丸对小鼠肠道菌群的影响。方法 将雄性昆明种小鼠随机分为空白组, 七十味珍珠丸低、中、高剂量组 (0.15、0.5、1.5 g/kg), 藏药佐太组 (30 mg/kg), HgCl₂组 (33.6 mg/kg), 灌胃给药 1 周后收集小鼠小肠和大肠内容物, 提取细菌基因组 DNA, 以 16S rRNA 为探针, 实时荧光定量 PCR (Real time-PCR) 法进行分析。结果 与空白组比较, 七十味珍珠丸低、中、高剂量小鼠小肠和大肠中内容物的变形菌门 (Proteobacteria) 肠杆菌科 (Enterobacteriaceae) 的表达增加 ($P < 0.05$)。在其它 9 种小肠和 8 种大肠内容物的菌中, 七十味珍珠丸和藏药佐太对于小鼠肠道菌群都具有一定的影响。结论 七十味珍珠丸和藏药佐太对小鼠肠道内容物菌群有一定的影响, 佐太 (主要含 β -HgS) 是七十味珍珠丸组方中的重要组成部分, 但其对肠菌的作用不完全与七十味珍珠丸相同, 也与氯化汞 (HgCl₂) 不一样。

关键词: 七十味珍珠丸; 肠道菌群; 氯化汞; 硫化汞

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2020)03-0626-06

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2020.03.015

Effect of Qishiwei Pearl Pills on intestinal microbiota in mice

ZHANG Bin-bin¹, NIE Yu¹, HU An-ling¹, XU Shang-fu¹, DU Yu-zhi², LIU Jie^{1*}

(1. Key Laboratory of Ministry of Education for Basic Pharmacology and Joint International Research Laboratory of Ministry of Education for Ethnopharmacology, Zunyi Medical University, Zunyi 563003, China; 2. Northwest Plateau Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences/Qinghai Key Laboratory for Tibetan Medicinal Pharmacology and Safety Evaluation, Xining 810008, China)

KEY WORDS: Qishiwei Pearl Pill; intestinal flora; HgCl₂; Hgs

藏医药是世界传统医学中的重要组成部分, 也是世界四大医学之一。七十味珍珠丸是藏医药中最具有代表性的珍宝类藏成药之一, 在藏族地区应用广泛, 其始载于藏医古典巨著《四部医典》当中, 具有调和气血、通经活络等作用, 主要用于治疗黑白脉病、中风、高血压病及神经性障碍等疾病, 现已收载于中华人民共和国药典 2015 版中^[1]。同样在瑞士生产的 Padma-28 (与七十味珍珠丸类似) 在欧洲也受欢迎^[2]。有研究认为, 七十味珍珠丸除具有保肝作用^[3]外, 还具有镇静、抗惊厥、提高学习记忆能力, 改善脑血管及心血管相关疾病的作用^[4-5]。

佐太又称佐台、佐塔, 是七十味珍珠丸的基本成分之一, 主要含 β -HgS^[6]。而汞是属于重金属毒物, 但含汞药物的安全性常与 HgCl₂ 来做比较, 使其临床使用大大受限^[7]。而佐太 (β -HgS) 和 HgCl₂ 相比, 其生物活性作用相差悬殊^[8]。一个主要的原因是因为佐太在肠道吸收很少^[7], 那么佐太很有可能会因此改变肠道菌而发挥治疗作用。

近年研究已表明肠道菌群具有很重要的生理功能^[9], 大脑也可以通过肠道菌群-肠-脑轴影响肠道菌群的物种组成多样性及其丰度变化, 肠道菌群也可以通过这一通路作用于大脑进而影响情绪、食

收稿日期: 2019-05-15

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81560592); 青海省重点实验室特殊发展计划项目 (2017-ZJ-Y08)

作者简介: 张斌斌 (1993—), 男 (土家族), 硕士, 初级药师, 从事药物代谢与毒理研究。Tel: (0856) 8522380, E-mail: 752285218@qq.com

*通信作者: 刘杰 (1953—), 男, 博士, 研究员, 从事药物代谢与毒理研究。Tel: (0851) 28642406, E-mail: jieliu@zmc.edu.cn

欲、生物节律以及一些中枢神经系统疾病发生发展^[10-12]。七十味珍珠丸对脑相关疾病具有很好的治疗效果^[4,13]，但却未见其对肠道菌群的影响报道。而本实验采用临床剂量的藏药七十味珍珠丸、佐太对小鼠进行灌胃给药，在对小鼠具有保肝的有效剂量基础上^[14]，进一步观察药物对于小鼠肠道菌群的影响变化，为藏成药七十味珍珠丸的临床合理使用及有效性机制研究等提供一定的科学依据，同时研究其药理作用机制也是对七十味珍珠丸评价重要的环节^[15]。

1 材料

1.1 动物 SPF 级雄性昆明种小鼠，生产许可证号 SCXXK- (军) 2012-0011，体质量 (25 ± 2) g，购自重庆医科大学实验动物中心，饲养于遵义医科大学基础药理教育部重点实验室 SPF 级动物房，适应性喂养 1 周后用于实验。实验遵照中华人民共和国实验动物保护条例进行，并获遵义医科大学动物使用伦理委员会批准。

1.2 试药 七十味珍珠丸（西藏甘露藏药股份有限公司，国药准字 Z54020062），将药丸研磨成粉，加蒸馏水配制为混悬液使用^[3]；藏药佐太由中国科学院西北高原生物研究所提供^[6]；氯化汞 (HgCl_2 ，美国 Sigma-Aldrich 公司，批号 49H0441)；粪便基因组 DNA 提取试剂盒 (TIANamp Stool DNA Kit，天根生化科技北京有限公司，批号 DP121221)；iQTM SYBR[®] Green SuperMix 荧光试剂盒 (美国 Bio-Rad 公司，批号 64148508)；蛋白酶 K (Proteinase K，天根生化科技北京有限公司，批号 DP121221)；裂解液 GSL (天根生化科技北京有限公司，批号 DP121221)。

1.3 仪器 RM2245 转轮式切片机和 Tp1020 自动组组脱水机 (德国 Leica 公司)；Nanodrop 2 000 分光光度计 (美国 Thermo Scientific 公司)；CFX Connect 实时荧光定量 PCR 仪 (美国 Bio-Rad 公司)。

2 方法

2.1 分组及给药 雄性昆明小鼠随机分为空白组、藏药佐太组 (30 mg/kg) 和 HgCl_2 组 (33.6 mg/kg) 及七十味珍珠丸低、中、高剂量组 (0.15 、 0.5 、 1.5 g/kg)，每组 5 只，灌胃给药 1 周，并记录体质量变化。末次给药 24 h 后，处死动物取材，收集各组小鼠小肠、大肠内容物，提取 DNA。

2.2 肠道病理学观察 取小鼠回肠一段，甲醛 (4%) 固定，常规组织脱水，包埋，切片，HE 染色，在光学显微镜下进行观察，并取影像拍片。

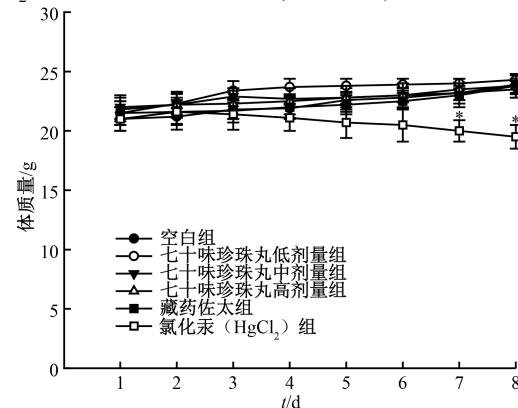
2.3 粪便 DNA 提取 采用粪便基因组 DNA 提取试剂盒进行 DNA 提取，将 $180 \sim 220 \text{ mg}$ 粪便样本放置裂解液 GSL 中， 90°C 孵育 10 min 破碎细菌，释放 DNA。用抑制剂吸附片 InhibitEX 清除杂质。上清液 $200 \mu\text{L}$ 移至新的离心管，加入蛋白酶 K 去残存蛋白。加入乙醇后上 DNA 吸附柱，离心清洗后除杂质后，用去酶水洗脱 DNA。采用 Nanodrop 2000 分光光度计检测菌 DNA 浓度及纯度 (A_{260}/A_{280} 比值在 $1.8 \sim 2.1$ 视为合格)，并用去酶水配置 $20 \text{ ng}/\mu\text{L}$ DNA 备用。

2.4 qRT-PCR 测定 采用实时荧光定量 PCR 仪进行，配置 $15 \mu\text{L}$ PCR 反应体系。SYBR[®] GREEN PCR Master Mix $7.5 \mu\text{L}$ ；上、下游引物预混液 $1 \mu\text{L}$ ； 0.1% DEPC 水 $3.5 \mu\text{L}$ ；DNA 样品 $3 \mu\text{L}$ 。探针序列用 Primer 3 来设计，见表 1，其中总菌和其它 4 个菌的序列来自文献 [16-17]。反应条件， 95°C 10 min， 95°C 15 s， 60°C 1 min，40 个循环； $55 \sim 95^\circ\text{C}$ ，每 0.5°C 1 个循环，80 个循环做溶解曲线。取 C_t 值用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 公式计算，目的基因的表达量与同一标本的内参基因的表达量来校正，并与对照组为 100% 来计算相对的表达量。用总菌做为内参。

2.5 统计学分析 所有数据采用以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示，采用 SPSS17.0 进行单因素方差分析，以 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 七十味珍珠丸对小鼠体质量的影响 如图 1 所示，给药 7 d 后，与空白组比较，七十味珍珠丸低、中、高剂量及藏药佐太组小鼠体质量无变化， HgCl_2 组大鼠体质量下降 ($P < 0.05$)。



注：与空白组比较， $^* P < 0.05$ 。

图 1 七十味珍珠丸对小鼠体质量的影响 ($\bar{x} \pm s, n=5$)

Fig. 1 Effects of Qishiwei Pearl Pills on body weight of mice ($\bar{x} \pm s, n=5$)

表1 16S rRNA 引物序列
Tab. 1 16S rRNA sequence for PCR analysis

门	科	属	基因	上游(5'-3')	下游(5'-3')
变形菌门	肠杆菌科		Eco1457F	CATTGACGTTACCCGAGAAGAAGC	CTCTACGAGACTCAAGCTTGC
变形菌门	肠杆菌科	大肠杆菌	U02514	GATTGTCGCTTCCAGCTC	GTCCGCAACCGTGACTAAT
放线菌门	放线菌科	放线菌属	Act920F3	TACGGCCCGAGGCTA	TCRTCCCCACCTCCTCCG
放线菌门	双歧杆菌科	双歧杆菌属	NR113170	GCCCGTCAAGTCATGAAAGT	CCGGTACGGCTACCTTGTTA
放线菌门	原小单胞菌科	刘志恒菌属	KP076663	AGCTTGTGTTGGGTAATG	GTGCAATATTCCCACCTGCT
拟杆菌门	普雷沃氏菌科	普雷沃氏菌属	Prevot	GGTGTGGCTTAAGTGCAT	CGGACGTAAGGCCGTGC
拟杆菌门	紫单胞菌科	紫单胞菌属	KP076661	ACACGGACCAGACTCCTACG	ACACGTCCCGCAGTTATTTC
梭杆菌门	梭杆菌科	梭杆菌属	NZ_KQ235732	GGAGCCACTATCGACTACGC	GTCCCTGATGCTCGTCATCT
厚壁菌门	厚壁菌科		926-1040 Firm	GGAGATGTGGTTAACCGAAGCA	AGCTGACGACAACCATTGCAC
厚壁菌门	瘤胃球菌属科	瘤胃梭菌属	KU321269	ATATTGCACAATGGGGAAA	AGCCGGAGCTTCTCCTTAG
厚壁菌门	乳杆菌科	乳杆菌属	KX247777	TTTGAGTGACTGGCGAAC	CCAAAAGTGATAGCCGAAGC
Total Bacteria			Eub338-518	ACTCCTACGGGAGGCAGCAG	ATTACCGGGCTGCTGG
Total Bacteria			Universal	TCCTACGGGAGGCAGCAGT	GGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTT

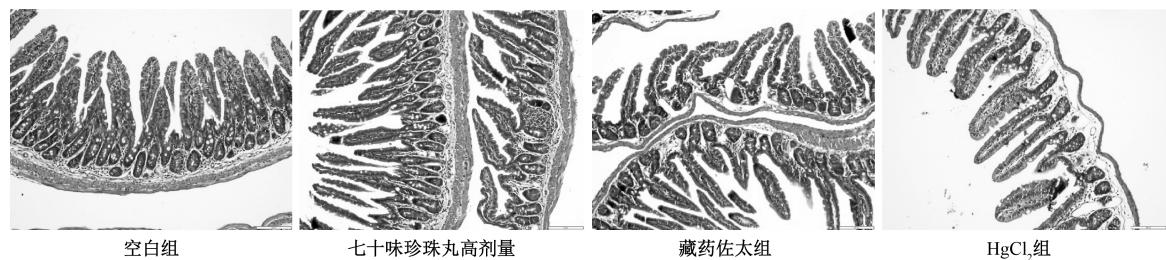


图2 七十味珍珠丸对小鼠回肠组织形态的影响 (HE, $\times 200$)

Fig. 2 Effects of Qishiwei Pearl Pills on morphology of mice ileum (HE, $\times 200$)

3.2 七十味珍珠丸对小鼠肠道病理的影响 如图2所示,与空白组相比,七十味珍珠丸高剂量和藏药佐太口服给药7 d对小鼠肠(回肠)的组织学形态无明显影响;而HgCl₂(与藏药佐太等汞量)口服给药7 d,肠绒毛炎症细胞浸润。

3.3 七十味珍珠丸对变形菌门(Proteobacteria)肠杆菌科(Enterobacteriaceae)的影响 如图3所示,与空白组比较,七十味珍珠丸低、中、高剂量组小鼠小肠和大肠中内容物的变形菌门肠杆菌科(Enterobacteriaceae)的表达(探针Eco1457, U02514)增加(50~500倍)($P<0.05$);藏药佐太组小鼠小肠内容物中肠杆菌的表达增加($P<0.05$),而对小鼠大肠内容物中的肠杆菌的表达差异无统计学意义。HgCl₂组小肠内容物中肠杆菌降低50%~70%($P<0.05$)。

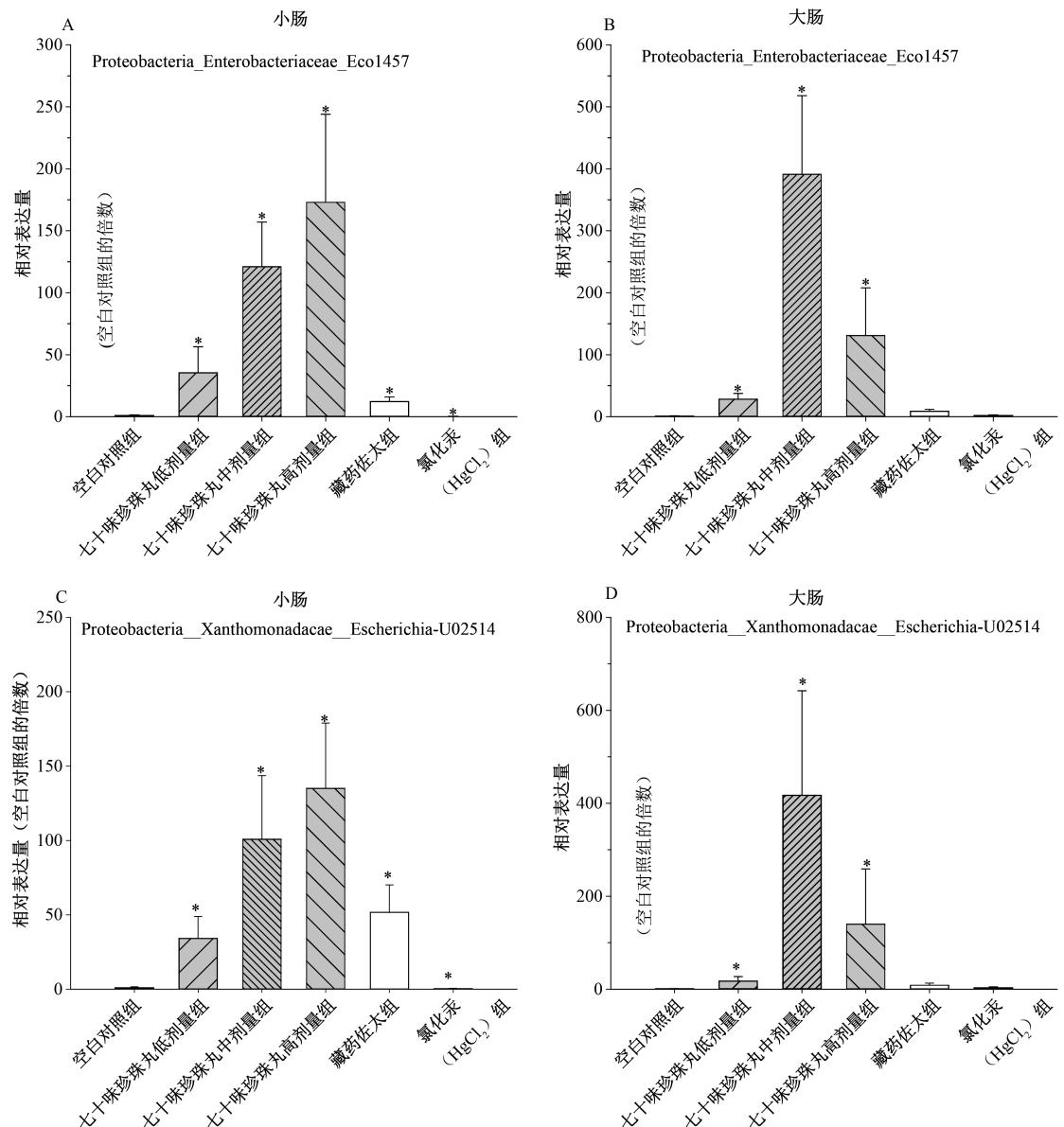
3.4 七十味珍珠丸对小肠9个肠菌科的影响 如表2所示,与空白组比较,七十味珍珠丸低、中、高剂量组及藏药佐太对小鼠小肠内容物中的放线菌门(放线菌科、双歧杆菌科、原小单胞菌科)、拟杆菌门-普雷沃氏菌科、厚壁菌门(厚壁菌科、乳杆菌科)的表达差异无统计学意义,但HgCl₂抑制

放线菌门-原小单胞菌科、厚壁菌门-瘤胃球菌科/属的表达($P<0.05$),促进拟杆菌门-普雷沃氏科、厚壁菌门-乳杆菌科的表达($P<0.05$);七十味珍珠丸低剂量组促进拟杆菌门-紫单胞菌科、梭杆菌门-梭杆菌科的表达($P<0.05$),七十味珍珠丸高剂量组促进厚壁菌门-瘤胃球菌属科的表达($P<0.05$)。

3.5 七十味珍珠丸对大肠8个肠菌科的影响 如表3所示,与小肠不同,七十味珍珠丸对大肠内容物中的放线菌门(放线菌科、双歧杆菌科)、拟杆菌门-紫单胞菌属、梭杆菌门-普雷沃氏菌科、梭杆菌科-梭杆菌科、厚壁菌门(瘤胃球菌科/属、厚壁菌科、乳杆菌科)无影响;藏药佐太组梭杆菌门-梭杆菌科下降($P<0.05$);HgCl₂组拟杆菌门-紫单胞菌属下降($P<0.05$)。

4 讨论

本实验发现七十味珍珠丸显著增加小鼠小肠和大肠内容物中的变形菌门(Proteobacteria)肠杆菌科(Enterobacteriaceae)的表达;藏药佐太次之,但HgCl₂反下降。七十味珍珠丸和藏药佐太对小肠内容物菌群的影响比对大肠内容物菌群明显。七十

注: 与空白组比较, * $P < 0.05$ 。图3 七十味珍珠丸对变形菌门和肠杆菌的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)Fig. 3 Effect of Qishiwei Pearl Pills on proteobacteria and enterobacter ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)表2 七十味珍珠丸对小肠菌群的影响 (% , $\bar{x} \pm s$, $n=5$)Tab. 2 Effects of Qishiwei Pearl Pills on small intestinal flora (% , $\bar{x} \pm s$, $n=5$)

组别	放线菌门-放线菌科	放线菌门-双歧杆菌科	放线菌门-原小单胞菌科	拟杆菌门-普雷沃氏科	拟杆菌门-紫单胞菌科	梭杆菌门-梭杆菌科	厚壁菌门-瘤胃球菌属科	厚壁菌门-厚壁菌科	厚壁菌门-乳杆菌科
探针	Act920F3	NR_113172	KP076663	Prevot	KP076661	KO235732	KU321269	928F-Firm	KX24777
空白组	100±50	100±43	100±38	100±36	100±40	100±32	100±26	100±23	100±47
七十味珍珠丸低剂量组	42±25	158±35	162±88	755±512	213±26*	270±101*	189±28	61±10	153±116
七十味珍珠丸中剂量组	90±42	70±14	145±44	645±335	156±70	204±15	130±30	63±10	112±57
七十味珍珠丸高剂量组	137±42	87±31	204±68	176±100	157±72	202±106	509±139*	77±25	86±18
藏药佐太组	226±98	110±58	67±28	407±390	20±7	226±98	70±15	93±28	83±34
HgCl₂组	105±40	169±37	32±10*	1950±195*	104±52	105±40	32±10*	153±33	432±130*

注:与空白组比较, * $P < 0.05$ 。

表3 七十味珍珠丸对大肠菌群的影响(%, $\bar{x}\pm s$, n=5)Tab. 3 Effects of Qishiwei Pearl Pills on large intestinal flora (%, $\bar{x}\pm s$, n=5)

组别	放线菌门-放线菌科	放线菌门-双歧杆菌科	拟杆菌门-普雷沃氏菌科	拟杆菌门-紫单胞菌科	梭杆菌门-梭杆菌科	厚壁菌门-瘤胃球菌属科	厚壁菌门-厚壁菌科	厚壁菌门-乳杆菌科
探针	Act920F3	NR_113172	Prevot	KP076661	KO235732	KU321269	928F-Firm	KX24777
空白组	100±10	100±20	100±14	100±24	100±17	100±40	100±15	100±8
七十味珍珠丸低剂量组	151±52	130±13	103±24	155±88	260±190	199±38	73±8	118±48
七十味珍珠丸中剂量组	215±47	80±15	88±24	55±23	279±180	73±29	105±25	138±17
七十味珍珠丸高剂量组	94±38	68±19	41±18	32±19	55±22	85±30	159±19	147±12
藏药佐太组	123±21	102±19	111±15	87±24	14±3 *	60±19	107±16	105±12
HgCl ₂ 组	87±41	68±12	167±15	22±12 *	101±20	46±19	49±15	74±10

注:与空白组比较, *P<0.05

味珍珠丸对小肠和大肠内容物的梭形菌门 (Fusobacteria) 有所增加, 对小肠内容物中的普雷沃氏菌 (Prevotella) 和梭菌 (Clostridaceae) 有所增加, 其作用有别于藏药佐太。HgCl₂ 对肠菌的影响与藏药佐太相差很大, 说明藏药佐太 (HgS) 的作用不同于汞含有量相当的 HgCl₂。

七十味珍珠丸是由藏医南方学派代表人物苏喀巴·年尼多杰于15世纪中叶研制, 18世纪被收载于《药方集万部》中, 至今已有五百余年历史, 是传统藏药大组方药品中的典型代表, 现在已收载于中华人民共和国药典2015年版^[1], 搞清其药理作用机制是对七十味珍珠丸评价重要的一环^[4,17]。七十味珍珠丸主治安神、镇静、通经活络、调和气血等, 相关适应症有癫痫、脑出血、脑梗死、中风等。七十味珍珠丸对于慢性脂多糖+MPTP 引起的神经疾病具有明显的改善作用, 能减少黑质中的多巴胺能神经元的丢失, 减少小胶质细胞的激活, 从而减轻脂多糖+MPTP 引起的小鼠神经炎症。本课题组前期研究表明, 七十味珍珠丸对脂多糖+MPTP引起的小鼠肠道菌群的变化也有一定的影响, 能显著防止疣微菌门 (Verrucomicrobia) 的增加, 并能增加肠杆菌科 (Enterobacteriaceae) 的表达。所以此实验进一步探讨七十味珍珠丸对正常小鼠肠道菌群的作用。本研究显示七十味珍珠丸对正常小鼠的肠道菌群具有一定的调节作用, 这对探讨其药理作用打开一个新的视野。

肠道菌群是一个庞大复杂的生态系统, 与宿主之间保持一定的动态平衡, 如果动态平衡被破坏, 则会导致或者加重相应的疾病, 如代谢性疾病^[18]、肥胖、糖尿病; 免疫性疾病肠道炎症、类风湿关节炎; 肿瘤结肠直肠癌、肝癌等等^[8-10]。被称为人体第二大脑的肠道菌群, 主要是有厚壁菌门 (Firmicutes, 占 64%)、拟杆菌门 (Bacteroidetes, 占 23%)、变形菌门 (Proteobacteria, 占 8%)、放线

菌门 (Actinbacteria, 占 3%) 的细菌所构成^[8]。本实验主要研究了七十味珍珠丸及藏药佐太对小鼠肠道菌群包括厚壁菌门、拟杆菌门、变形菌门、放线菌门及梭杆菌门 (Fusobacteria) 中部分细菌的影响。

七十味珍珠丸低、中、高剂量组及藏药佐太组显著升高小鼠小肠内容物中变形菌门肠杆菌科 (Enterobacteriaceae) 的表达 (Eco1457 和 U02514), 且七十味珍珠丸高剂量组增加最多, 藏药佐太组对两种细菌的也有增加, 但 HgCl₂ 组则下调其表达。七十味珍珠丸对小鼠小肠内容物中拟杆菌门的普雷沃氏菌属 (Prevotella) 细菌的表达呈升高趋势, 但随着七十味珍珠丸剂量的增高, 普雷沃氏菌的表达逐渐下降; 与小肠相比, 七十味珍珠丸对大肠内容物中普雷沃氏菌细菌的表达无明显作用, 高剂量组表达下降, 提示小肠菌比大肠菌更为敏感。与空白组相比, 七十味珍珠丸对小肠和大肠内容物的梭形菌门 (Fusobacteria, 探针 KO235732) 有所增加。

在健康肠道中厚壁菌门和拟杆菌门均属厌氧菌, 且数量较多, 肠道在消化食物时, 其可产生有益代谢物^[19]。本实验中, 与空白组相比, 七十味珍珠丸高剂量组对小鼠小肠内容物中厚壁菌门的梭菌属 (Clostridium leptum, 探针 KU321269) 有所增加。

在小肠中, 放线菌门和厚壁菌门分布较多, 属于肠道中的益生菌, 而益生菌是对机体有益作用的微生物, 也是微生态系统中的重要组成部分^[10]。七十味珍珠丸对放线菌门 (Actinobacterias, 探针 Act-920F3, NR 113172, KP076663) 无明显影响。

藏药佐太是七十味珍珠丸复方中的重要组成成分 (约 5.8%)^[20-21], 本实验中的藏药佐太剂量约相当于 0.5 g/kg 的七十味珍珠丸, 但其对于正常小鼠内容物肠道菌群的影响不同于七十味珍珠丸。

用约等汞量的 $HgCl_2$ 来比较, $HgCl_2$ 对肠菌的作用不同于藏药佐太, 更不同于七十味珍珠丸。我们还发现藏药佐太与不同汞化合物对小鼠的肠道病理、汞的蓄积以及肠道转运体和肠道菌群的作用是不一样的^[22], 而汞化合物的化学形式、价态的变化是影响其毒性及生物利用的主要方式。因此不宜以 $HgCl_2$ 或总汞含量来对含 Hg 的传统药物来进行安全性的评价^[7, 23]。本研究显示七十味珍珠丸对正常小鼠的肠道菌群具有一定的调节作用, 这对探讨其药理作用打开一个新的视野。

参考文献:

- [1] 中国药典委员会. 中华人民共和国药典: 2015 年版一部 [S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 450-451.
- [2] Schwabl H, Vennos C. From medical tradition to traditional medicine: a Tibetan formula in the European framework [J]. *J Ethnopharmacol*, 2015, 167(6): 108-114.
- [3] Li Q, Li H J, Xu T, et al. Natural medicines used in the traditional Tibetan medical system for the treatment of liver diseases [J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9(1): 29.
- [4] 杜文兵, 黄福开, 邵杰, 等. 七十味珍珠丸药理及临床研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(6): 367-371.
- [5] 路志强, 岳志丽. 藏药七十味珍珠丸的临床应用及研究 [J]. 中国民族医药杂志, 2000, 6(S1): 91-92.
- [6] Wu P, Luo Y, Zhen L, et al. Rannasangpei is a therapeutic agent in the treatment of vascular dementia [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2016, 2016: 2530105.
- [7] 看召本. 透视藏医珍宝类药品中的“佐太” [J]. 中国中药杂志, 2013, 38(10): 1621-1623.
- [8] 王凡, 王宏娟, 古同男, 等. 肠道微生物与相关疾病的研究进展 [J]. 重庆医学, 2018, 47(18): 2487-2489.
- [9] 李岑, 王东平, 多杰, 等. 藏药佐太安全性研究及其复方当佐的临床安全观察初探 [J]. 中国中药杂志, 2014, 39(13): 2573-2582.
- [10] Liu J, Wei L X, Wang Q, et al. A review of cinnabar (HgS) and/or realgar (As_4S_4) -containing traditional medicines [J]. *J Ethnopharmacol*, 2018; 210: 340-350.
- [11] 郑跃杰. 肠道菌群功能研究进展 [J]. 中国儿童保健杂志, 2017, 25(6): 541-543.
- [12] 李艳, 宋亚刚, 白明, 等. 基于调控肠道菌群探讨中药防治脑卒中 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(1): 228-234.
- [13] 李波, 侍荣华, 李宗杰. 肠道菌群-肠-脑轴与心身疾病的相互关系 [J]. 生理科学进展, 2018, 49(3): 221-226.
- [14] Zhang B B, Li W K, Hou W Y, et al. Zuotai and HgS differ from $HgCl_2$ and methyl mercury in Hg accumulation and toxicity in weanling and aged rats [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2017, 331(4): 76-84.
- [15] Uebanso T, Kano S, Yoshimoto A, et al. Effects of consuming Xylitol on gut microbiota and lipid metabolism in mice [J]. *Nutrients*, 2017, 9(7): E756.
- [16] 聂雨, 张斌斌, 黄波, 等. 70味珍珠丸对 CCl_4 致急性肝损伤小鼠的保护作用及机制研究 (英文) [J]. 遵义医学院学报, 2017, 40(4): 358-363.
- [17] Medina D A, Pedreros J P, Turiel D, et al. Distinct patterns in the gut microbiota after surgical or medical therapy in obese patients [J]. *PeerJ*, 2017, 5: e3443.
- [18] 张宁, 李自辉, 赵洪伟, 等. 寒凝血瘀证大鼠的肠道菌群变化与粪便代谢特征分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(2): 79-85.
- [19] Rivera-Chávez F, Zhang L F, Faber F, et al. Depletion of butyrate-producing clostridia from the gut microbiota drives an aerobic luminal expansion of *Salmonella* [J]. *Cell Host Microbe*, 2016, 19(4): 443-454.
- [20] 黄宇, 王张, 张艺, 等. 藏药七十味珍珠丸上市后再评价研究思路探讨 [J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2014, 16(4): 895-899.
- [21] 索朗. 佐塔的炮制 [J]. 中国民族医药杂志, 2006, 12(5): 40-41.
- [22] Zhang B B, Liu Y M, Hu A L, et al. Hgs and *Zuotai* differ from $HgCl_2$ and methyl mercury in intestinal Hg absorption, transporter expression and gut microbiome in mice [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2019, 379: 114615.
- [23] 陆远富, 时京珍, 石京山, 等. 科学评价含雄黄、朱砂中成药的安全性 [J]. 中国中药杂志, 2011, 36(24): 3402-3405.